

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO CENTRO DE
CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**EMPREGO DE ESPECTRÔMETRO PORTÁTIL NA REGIÃO DO
INFRAVERMELHO PRÓXIMO PARA CONTROLE DE QUALIDADE DE AZEITE
DE OLIVA EXTRAVERGEM**

**EMPLOYMENT OF PORTABLE SPECTROMETER IN THE NEAR INFRARED
REGION FOR QUALITY CONTROL OF EXTRA VIRGIN OLIVE OIL**

FLAVIA TOSATO BORGHI

Tese de Doutorado

VITÓRIA

2022

FLAVIA TOSATO BORGHI

**EMPREGO DE ESPECTRÔMETRO PORTÁTIL NA REGIÃO DO
INFRAVERMELHO PRÓXIMO PARA CONTROLE DE QUALIDADE DE AZEITE
DE OLIVA EXTRA VIRGEM**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Centro de Ciências Exatas da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito para obtenção de Título de Doutor em Química.

Área de Concentração: Química

Linha de Pesquisa: Química Forense

Orientador: Prof. Dr. Wanderson Romão

Co-orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Filgueiras

VITÓRIA

2022

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de
Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

B732e Borghi, Flavia Tosato, 1993-
Emprego de espectrômetro portátil na região do
infravermelho próximo para controle de qualidade de azeite de
oliva extravirgem / Flavia Tosato Borghi. - 2022.
171 f. : il.

Orientador: Wanderson Romão.
Coorientador: Paulo Roberto Filgueiras.
Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do
Espírito Santo, Centro de Ciências Exatas.

1. Azeite de oliva. 2. Controle de qualidade. 3. NIR portátil.
4. Adulteração. I. Romão, Wanderson. II. Filgueiras, Paulo
Roberto. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de
Ciências Exatas. IV. Título.

CDU: 54

Emprego de espectrômetro portátil na região do infravermelho próximo
para controle de qualidade de azeite de oliva extravirgem

Flavia Tosato Borghi

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química do Centro de Ciências Exatas da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para a obtenção do Grau de Doutor(a) em Química.

Aprovada em 30/03/2022 por:

Prof.(a) Dr.(a) Wanderson Romão¹
Instituto Federal do Espírito Santo
Orientador(a)

Prof.(a) Dr.(a) Paulo Roberto Filgueiras¹
Universidade Federal do Espírito Santo
Coorientador(a)

Prof.(a) Dr.(a) Denise Coutinho Endringer¹
Universidade Vila Velha

Prof.(a) Dr.(a) Marcelo Martins De Sena¹
Universidade Federal de Minas Gerais

Prof.(a) Dr.(a) Álvaro Cunha Neto¹
Universidade Federal do Espírito Santo

Prof.(a) Dr.(a) Warley de Souza Borges¹
Universidade Federal do Espírito Santo

¹ O documento será assinado eletronicamente em conformidade com as normas prescritas na Portaria Normativa PRPPG/ UFES nº 08/2021.





Flavia Anexo C - Defesa da Tese

Data e Hora de Criação: 03/04/2022 às 20:58:40

Documentos que originaram esse envelope:

- Anexo C - Defesa da Tese.pdf (Arquivo PDF) - 1 página(s)



Hashs únicas referente à esse envelope de documentos

[SHA256]: d87e63a9a0fc42e6d98949d9a5ddcf8a65a078ca473129a57ee3058ec77cadb2

[SHA512]: e681407d33a426315e2fc233fe9349faa90f306cf5bcc5ba40f918212453802493d580e2ecf6ff4cdb6b496126cf967f0966f6219afe28f510a753d2e92450af

Lista de assinaturas solicitadas e associadas à esse envelope



ASSINADO - Wanderson Romão (wanderson.romao@ufes.br)

Data/Hora: 06/04/2022 - 05:59:11, IP: 191.248.43.247, Geolocalização: [-20.275882, -40.284029]

[SHA256]: b1306f12e99f478304c39ddb7bd0415ebe29cc7989de9e8c5838e9e2a83c2e0a



ASSINADO - Paulo Roberto Filgueiras (filgueiras.pr@gmail.com)

Data/Hora: 06/04/2022 - 09:14:06, IP: 187.115.228.172

[SHA256]: 739deff17bf03b723f43c40c7bcc22652bbf4307a917870fe00e7ab55a81217c



ASSINADO - Denise Coutinho Endringer (endringe@gmail.com)

Data/Hora: 06/04/2022 - 15:21:38, IP: 187.12.85.253, Geolocalização: [-20.348928, -40.301363]

[SHA256]: e17cc4204bfabe2d34269dc102f34bd20f1ff4a3a34bc1d364b83598bdae4d96



ASSINADO - Marcelo Martins De Sena (marcsen@qui.ufmg.br)

Data/Hora: 06/04/2022 - 17:24:22, IP: 201.17.194.226

[SHA256]: 019c5252c9046f780296c22708a90583b8bca6113885d8aaaa66da319cc0e4dd



ASSINADO - Alvaro Cunha Neto (alvarocunhaneto@gmail.com)

Data/Hora: 06/04/2022 - 18:43:03, IP: 187.36.167.70

[SHA256]: a4fc04513c37fe0b498e40172c0f912099d834dde8b5d09c94156adaf9ee4fb8



ASSINADO - Warley de Souza Borges (warley000@yahoo.com.br)

Data/Hora: 06/04/2022 - 19:02:18, IP: 177.91.202.252, Geolocalização: [-20.336971, -40.60996]

[SHA256]: 463b01f966977f254feac150e9fe96923108cfff5f1ae29aae37be2c146fe8d

Histórico de eventos registrados neste envelope

06/04/2022 19:02:18 - Envelope finalizado por warley000@yahoo.com.br, IP 177.91.202.252

06/04/2022 19:02:18 - Assinatura realizada por warley000@yahoo.com.br, IP 177.91.202.252

06/04/2022 19:02:15 - Envelope visualizado por warley000@yahoo.com.br, IP 177.91.202.252

06/04/2022 18:43:03 - Assinatura realizada por alvarocunhaneto@gmail.com, IP 187.36.167.70

06/04/2022 17:24:22 - Assinatura realizada por marcsen@qui.ufmg.br, IP 201.17.194.226

06/04/2022 15:21:38 - Assinatura realizada por endringe@gmail.com, IP 187.12.85.253

06/04/2022 15:21:30 - Envelope visualizado por endringe@gmail.com, IP 187.12.85.253

06/04/2022 09:14:06 - Assinatura realizada por filgueiras.pr@gmail.com, IP 187.115.228.172

06/04/2022 05:59:11 - Assinatura realizada por wanderson.romao@ufes.br, IP 191.248.43.247

03/04/2022 21:02:04 - Envelope registrado na Blockchain por wanderson.romao@ufes.br, IP 177.133.238.56

03/04/2022 21:02:03 - Envelope encaminhado para assinaturas por wanderson.romao@ufes.br, IP 177.133.238.56

03/04/2022 20:58:41 - Envelope criado por wanderson.romao@ufes.br, IP 177.133.238.56

Dedico este trabalho a minha tia Nilceia, maior incentivadora dos meus estudos, que infelizmente devido a complicações da Covid-19 não está mais presente fisicamente.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pois sem Ele eu nada seria, sempre me sustentando, acalentando meus choros e me fortalecendo. A Nossa Senhora minha mãe do Céu que sempre me protege por onde eu caminhar.

A minha mãe, Maria José, que mesmo sem entender, aceita minhas decisões e por me amar de uma forma que não tem explicação, ao meu pai, Wanderley, por me apoiar, amar, cuidar de uma forma sem igual. A minha tia Nilceia que me ensinou durante toda sua vida a ser forte, sem eles eu não chegaria a qualquer lugar.

Agradeço ao meu esposo Guilherme, por grande amor, parceria, pela grande paciência, companheirismo, atenção e pela nossa Catarina, filha linda que Deus nos presenteou. Agradeço a Deus por ter você como meu anjo na Terra.

Aos meus primos, Gabriel e Dayana, por serem como irmãos para mim, sempre me aconselhando e incentivando os meus sonhos e a minha família Zago que sempre estão torcendo por mim. Aos sogros Luiz e Neia, por me acolherem como se fosse da família.

Agradeço as minhas amigas de infância Priscilla, Alanyella, por todo apoio, carinho, preocupação e amizade.

A toda equipe do Laboratório de Petroleômica e Forense que apoiou e incentivou não só esse trabalho, pois muito mais que colegas do dia a dia, se tornaram amigos, Camila, Larissa, Rayana, Nayara, Lindamara, Eliane, Bruna, Francine, Gabriely, Clebson, Natã e Jadson. Aos amigos que já saíram do laboratório Jade, Radigya, Fernandinha, Lilian, Heloisa, Fernanda Endringer.

Ao laboratório de Quimiometria por toda parceria, em especial a Márcia que com muito carinho me auxiliou nas análises quimiométricas desse trabalho. E a todos do LabPetro que não pouparam esforços para ajudar.

Ao professor Wanderson Romão, pela orientação durante todo o desenvolvimento não só deste trabalho, mas desde 2013, quando iniciei na iniciação científica. Seus ensinamentos foram de grande importância, não só para esse trabalho, pois os levarei para minha vida acadêmica profissional e pessoal.

Ao professor Paulo, pela coorientação, disponibilidade e incentivo a não desistir mesmo com as dificuldades encontradas não só em estudos quimiométricos, mas para a vida.

Ao corpo docente do PPGQUI da UFES que tanto contribuiu para conhecimento que adquiri, apoio e ajudou para a minha formação.

Aos membros da banca, Denise Endringer, Marcelo Sena, Álvaro Da Cunha e Warley Borges por terem aceitado o convite e por contribuírem neste trabalho.

A Polícia Civil do Estado do Espírito Santo por disponibilizar o material de pesquisa. Aos órgãos CAPES (23038.007083/2014-40), FAPES (EDITAL CNPq/FAPES Nº 23/2018 - PROGRAMA DE APOIO A NÚCLEOS EMERGENTES - PRONEM), CNPq (422555/2018-5, 305359/2017-7) pelo suporte financeiro.

Aos funcionários da PPGQUI-UFES, principalmente Alex, que desde o mestrado teve paciência em sanar e ajudar em todas as dúvidas desse processo.

A todos que de alguma forma estiveram presente nesse caminho e puderam me auxiliar a tornar esse sonho realidade. Muito do que sou hoje é devido as trocas e experiências vividas também nesse tempo. A todos, meu muito obrigada!

“E ainda que tivesse o dom de profecia, e conhecesse todos os mistérios
e toda a ciência, e ainda que tivesse toda a fé, de maneira tal que
transportasse os montes, e não tivesse amor, nada seria.”

1 Coríntios 13:2

RESUMO

A aplicação da espectroscopia no estudo dos alimentos está em ascensão, em decorrência da demanda do setor de alimentos para enfrentar os desafios relacionados às questões de qualidade e autenticidade dos alimentos. O azeite virgem extravirgem (AOEV), é um dos principais alvos entre os produtos alimentícios. Apesar de existir uma legislação a fim de proteger esse alimento contra fraudes, ainda existem alguns pontos que necessitam de atenção, principalmente voltado a análises de controle de qualidade desse produto. Assim, esta tese tem como objetivo apresentar os avanços em espectroscopia de infravermelho na região do próximo utilizando a abordagem de equipamento portátil, MicroNIR combinado com análise estatística multivariada para controle de qualidade de AOEV. Para isso, foi desenvolvido estudos de caso com foco na classificação e detecção de adulteração de AOEV com óleos vegetais (soja, milho, canola e girassol). Os modelos PCA e SIMCA distinguiram as amostras comerciais de acordo com as informações contidas em seus rótulos; além disso, identificou as amostras de azeite no conjunto de dados com as misturas. Esses resultados estão em excelente concordância com os resultados físico-químicos que corroboram com os limites estabelecidos por lei. A precisão dos modelos PLS foi de 0,5 a 1,8% em massa para o modo de transmitância e de 1,7 a 4,6% em massa para o modo de refletância. A fim de validar os modelos propostos, foi feita a classificação e quantificação de óleo de soja para 60 amostras de azeite comercial apreendidas pela polícia estadual do Espírito Santo. Além disso, foram realizados testes físico-químicos (acidez, peróxido e absorção ultravioleta) em amostras comerciais. O modelo de regressão PLS construído para quantificar o óleo de soja apresentou coeficiente de determinação (R^2) maior que 0,99, mostrando-se satisfatório. Os resultados mostraram que todas as amostras analisadas apresentaram alto teor de adulterante e não podem ser classificadas como azeite extravirgem. Com isso, a aplicação do MicroNIR e ferramentas quimiométricas podem ser utilizadas para o controle de qualidade de AOEV adulterado com óleos vegetais.

Palavras-chave: azeite de oliva, controle da qualidade, NIR portátil, adulteração.

ABSTRACT

The application of spectroscopy in the study of food is on the rise, due to the demand of the food sector to face the challenges related to food quality and authenticity. Extra virgin olive oil (AOEV) is one of the main targets among food products. Although there is legislation to protect this food against fraud, there are still some points that need attention, mainly focused on quality control analysis of this product. Thus, this thesis aims to present the advances in infrared spectroscopy in the near region using the portable equipment approach, MicroNIR combined with multivariate statistical analysis for AOEV quality control. For this, case studies were developed focusing on the classification and detection of AOEV adulteration with vegetable oils (soybean, corn, canola and sunflower). The PCA and SIMCA models distinguished commercial samples according to the information contained on their labels; in addition, it identified the olive oil samples in the dataset with the blends. These results are in excellent agreement with the physical-chemical results that corroborate the limits established by law. The accuracy of the PLS models was 0.5 to 1.8 m% for transmittance mode and 1.7 to 4.6 m% for reflectance mode. In order to validate the proposed models, the classification and quantification of soybean oil was carried out for 60 samples of commercial olive oil seized by the Espírito Santo state police. In addition, physical-chemical tests (acidity, peroxide and ultraviolet absorption) were performed on commercial samples. The PLS regression model built to quantify soybean oil showed a coefficient of determination (R^2) greater than 0.99, proving to be satisfactory. The results showed that all samples analyzed had a high adulterant content and cannot be classified as extra virgin olive oil. With this, the application of MicroNIR and chemometric tools can be used for the quality control of AOEV adulterated with vegetable oils.

Keywords: olive oil, quality control, portable *NIR*, adulteration.

LISTA DE FIGURA

Figura 1. Mapa com a distribuição da produção mundial de azeite ano-safra 2019/2020. (b) Consumo mundial de azeite por ano-safra.	23
Figura 2. (a) Evolução do número de publicações de AO e adulterações em relação aos anos, e (b) Nuvem de palavras a partir das palavras chaves mais utilizadas nas publicações.....	38
Figura 3. a) Histograma do número de registro de publicações realizadas no período de 1998-2022; b) Relação das subáreas de publicações. (pesquisa realizada em 26/02/2022). Fonte: Base de dados web of science e Bibliometrix– Adaptada.....	43
Figura 4. (a) Representação de molécula diatômica por duas esferas de massas m_1 e m_2 conectadas por uma mola (força constante k). (b) Sistema de variação anarmônico e suas possíveis transições eletrônicas representadas pelas setas. (Adaptada de Tibola et al.(2018).....	45
Figura 5. Esquema com os principais componentes de um espectrômetro <i>NIR</i>	47
Figura 6. Esboço do princípio operacional LVF e os compartimentos internos do Micro <i>NIR</i>	55
Figura 7. Acessórios do equipamento Micro <i>NIR</i> 1700.a) Micro <i>NIR</i> ; b) Colar com molas; c) suporte de leitura lateral do do vial; d) suporte de leitura para gotas de líquido e) Suporte de leitura do fundo do vial; f) Suporte de leitura de cubeta para líquidos.....	56
Figura 8. Espectros <i>NIR</i> portáteis das misturas de óleos AOEV/soja, AOEV/milho, AOEV/girassol e AOEV/canola, respectivamente, para o modo de transmitância. Espectros originais (a, c, e e g) e espectros pré-processados (b,d,g, eh) com primeira derivada.....	74
Figura 9. Espectros <i>NIR</i> portáteis das misturas de óleos AOEV/soja, AOEV/milho, AOEV/girassol e AOEV/canola, respectivamente, para o modo de	

reflectância. Espectros originais (a, c, e e g) e espectros pré-processados (b,d,g, eh) com primeira derivada..... 75

Figura 10. Resultados do modelo PLS para as misturas de óleos AOEV/soja (a), AOEV/milho (b), AOEV/girassol (c) e AOEV/canola (d) obtidas no *NIR* portátil usando o modo de transmitância. 79

Figura 11. Resultados do modelo PLS para as misturas de óleos AOEV/soja (a), AOEV/milho (b), AOEV/girassol (c) e AOEV/canola (d) obtidas no *NIR* portátil usando o modo de transmitância. 80

Figura 12. *Loadings* das variáveis latentes para ÓLEOS VEGETAIS AOEV/óleos vegetais adulterados em diferentes concentrações de soja (a/e), milho (b/f), girassol (c/g) e óleo de canola (d/h). Aquisição nos modos de transmissão e reflectância do *NIR* portátil. 81

Figura 13. Gráfico dos Scores (PC1 versus PC2) para as amostras de azeite virgem extra adulterado com diferentes concentrações de óleos de soja (a), milho (b), girassol (c) e canola (d). Dados obtidos de espectros *NIR* adquiridos no modo de transmitância. O tamanho do marcador refere-se ao teor de óleo vegetal em cada amostra..... 86

Figura 14. Gráfico dos Scores (PC1 versus PC2) para as amostras de azeite virgem extra adulterado com diferentes concentrações de óleos de soja (a), milho (b), girassol (c) e canola (d). Dados obtidos de espectros *NIR* adquiridos no modo de transmitância. O tamanho do marcador refere-se ao teor de óleo vegetal em cada amostra..... 86

Figura 15 - *Loadings* de PC1 e PC2 para as amostras de AOEV adulteradas com diferentes concentrações de óleos de soja (a), milho (b), girassol (c) e canola (d). Os dados do espectro *NIR* correspondem ao modo de transmitância. 88

Figura 16. *Loadings* de PC1 e PC2 para as amostras de AOEV adulteradas com diferentes concentrações de óleos de soja (a), milho (b), girassol (c) e canola (d). Os dados do espectro *NIR* correspondem ao modo de reflectância. 89

Figura 17. Scores (a) e *loadings* (b) parcelas de PC1 versus PC2 para as 12 amostras comerciais de azeite analisadas no modo de transmitância do *NIR* portátil. 91

Figura 18. Scores (a) e <i>loadings</i> (b) parcelas de PC1 versus PC2 para as 12 amostras comerciais de azeite analisadas no modo de reflectância do <i>NIR</i> portátil.	92
Figura 19. Modelo SIMCA para amostras comerciais AOEV e marcas AOEV blends, analisadas no modo de transmitância de <i>NIR</i> portátil versus classe de distância normalizada 1.	93
Figura 20. Scores o modelo SIMCA de uma classe (AOEV) para azeites extravirgens comerciais, misturas AOEV e óleos vegetais, analisados no modo de transmissão de <i>NIR</i> portátil com regiões de confiança em nível de confiança de 50%, 90%, 95% e 99%.	94
Figura 21. Projeção de amostras previstas do conjunto de teste em Scores PCA de um modelo SIMCA de uma classe (AOEV) com um nível de confiança de 95%.	96
Figura 22. Gráfico normalizado da distribuição das amostras e à distância da classe AOEV e das amostras previstas de conjunto de teste com quatro misturas definidas: a) AOEV/óleo de soja; b) AOEV/óleo de milho; c) AOEV/óleo de girassol; e, d) óleo AOEV/canola.	97
Figura 23. Acessório para análise de líquidos em cubeta acoplado ao Micro <i>NIR</i> .	105
Figura 24. Valores experimentais para as análises de (a) acidez e (b) peróxido realizadas nas amostras apreendidas	108
Figura 25. Resultado das análises da absorbância no ultravioleta, com os valores de extinção específica nos comprimentos de onda de 270 e 232 nm assim como $\square K$ calculado.	110
Figura 26. Espectros de infravermelho na região do próximo para as amostras de azeites apreendidas (a) brutos, e (b) tratados com a primeira derivada.	118
Figura 27. Gráficos de Scores para amostras de azeite apreendidas juntamente com amostras de óleo composto, AOEV comerciais e óleo de soja, e os (b) <i>loadings</i> referentes as PC's 1 e 2.	119

Figura 28. (a) Gráficos dos valores preditos e de referência de óleo de soja na curva de 40 a 100 m% em AOEV/óleo de soja com 95% de confiança. (b) elipse de confiança EJCR..... 120

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição de ácidos graxos presentes no azeite de oliva.....	25
Tabela 2. Classificação do azeite de oliva em grupos de acordo a processo de extração, matéria-prima e tecnologia empregada.	30
Tabela 3. Limites físico-químicos estabelecidos para qualidade de azeite e óleo de bagaço de oliva.	32
Tabela 4. Resumo dos principais artigos mais citados para classificação e quantificação de azeite de oliva a partir de espectros <i>NIRs</i>	48
Tabela 5. Espectrômetros <i>NIR</i> portáteis e suas principais características, considerando as informações disponíveis de seus fabricantes.	53
Tabela 6. Resultados físico-químicos de acidez, índice de peróxido e valores de extinção ultravioleta.	71
Tabela 7. Ácidos graxos presentes em azeites e óleos vegetais.	76
Tabela 8. Comparação entre modelos PLS para o modo de reflexão e transmissão.	78
Tabela 9. Comparação entre os valores de predição (m%) dos modelos de SS para análise de amostras comerciais de azeite de oliva utilizando <i>NIR</i> portátil no modo de aquisição de transmissão.	83
Tabela 10. Variância explicada do primeiro, segundo e terceiro PC dos dados adquiridos nos modos de transmissão e reflexão.	84
Tabela 11. Matriz de confusão do SIMCA um modelo de classe para AOEV como uma classe alvo.	95
Tabela 12. Valores de acidez, peróxido e extinção específica descritos nos rótulos das marcas analisadas, assim como quantidade de amostras para cada marca.	101
Tabela 13. Valores experimentais para as análises de acidez realizadas nas amostras apreendidas.	111

Tabela 14. Valores experimentais para as análises de peróxido realizadas nas amostras apreendidas.....	113
Tabela 15. Valores experimentais para as análises da absorbância no ultravioleta realizadas nas amostras apreendidas.....	115
Tabela 16. Valores de previsão de óleo de soja presente nas amostras de azeites apreendidas pela PC-ES aplicado ao modelo PLS.	121

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A.C: Antes de Cristo

AD: Azeite desodorizado

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AO: Azeite de oliva

AOEV: Azeite de oliva extravirgem

AOL: Azeite oliva lampante

AOV: Azeite de oliva virgem

AR: Azeite refinado

ATR-FTIR: Attenuated total reflection - Fourier transform infrared - Reflexão total atenuada - infravermelho com transformada de Fourier

Cal: Calibração

CG: Cromatografia Gasosa

CLAE: Cromatografia líquida de alta eficiência

CLS: *Classical Least Squares* - Mínimos quadrados clássicos

CNIRS: Comitê de bibliografia *NIR*

COD: código

COI: Conselho Oleícola Internacional

EFS: Extração em fase sólida

ES: Espírito Santo

EM: Espectrometria de massas

EUA: Estados Unidos da América

FT: *Fourier transform* - Transformada de Fourier

InGaAs: Arseneto de gálio e índio

iPLS: regressão dos mínimos quadrados parciais por intervalo

IV: Infravermelho

LDA: *Linear Discriminant Analysis* - Análise discriminante linear

LED: *light emitting diode* - diodo emissor de luz

LOD: *Limit of detection* - Limite de detecção

LOQ: *Limit of quantification* - Limite de quantificação

LVF: *Linearly variable filter* - filtro linearmente variável

MAPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

meq: miliequivalente

MIR: *Mid-infrared* - infravermelho médio

MLR: *Multiple linear regression* - Regressão linear múltipla

NIR: *Near infrared* – Infravermelho próximo

OA: óleo de avelã

OAM: óleo de amendoim

OC: óleo de canola

OCA: óleo de cartamo

OF: óleo de fritura

OG: óleo de girassol

OGE: óleo de gergelim

OM: Óleo de milho

ON: óleo de noz

OS: óleo de soja

OLL: dilinoleil-oleil glicerol

OOL: Dioleoil-linoleoil-glicerol

OOO: Trioleína

PC: *Principal Components* - Componente principal

PCA: *Principal Components Analysis* – Análise de componentes principais

PC-ES: Polícia Civil do Espírito Santo

PCR: *Principal Component Regression* - Regressão do Componente Principal

PLS: *Partial Least Squares* - Mínimo Quadrado Parciais

PLS-DA: *Partial Least Squares discriminant analysis* - análise discriminante pelo método dos mínimos quadrados parciais

POL: Palmitoil-oleoil-linoleoil-glicerol

POO: Dioleoil-palmitoil glicerol

RDC: Resolução da Diretoria Colegiada

RDCV: repeated double cross-validation - validação cruzada dupla repetida

RMN: Ressonância magnética nuclear

RMSEC: *Root Mean Square Error of Calibration* - Erro quadrático médio de calibração

RMSEP: *Root Mean Square Error of Prediction* - Erro quadrático médio de predição

RMSECV: *Root Mean Square Error of Cross Validation* - Erro quadrático médio da validação cruzada

Rpm: rotações por minuto

SIMCA: *Soft Independent Modeling of Class Analogy* - Modelagem Suave Independente de Analogia de Classe

UV – *spectroscopy*: *Ultraviolet spectroscopy* - Espectroscopia ultravioleta

UV-VIS *spectroscopy*: *Ultraviolet–visible spectroscopy* - Espectroscopia ultravioleta no visível

VL: Variável latente

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 ESTADO DA ARTE	21
2.1 AZEITE DE OLIVA – HISTÓRICO, CONSUMO E PRODUÇÃO	21
2.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA	24
2.3 CONTROLE DE QUALIDADE E CLASSIFICAÇÃO DE AZEITE DE OLIVA	28
2.3.1 Parâmetros de qualidade convencional para azeite de oliva – análises físico-químicas ...	31
2.3.2 Fraudes e adulteração em azeite de oliva extravirgem	33
2.3.3 Técnicas analíticas utilizadas no controle de qualidade de azeite de oliva extravirgem	35
2.4 INFRAVERMELHO	39
2.4.1 Histórico e evolução da espectroscopia de infravermelho na região do próximo	40
2.4.2 Infravermelho na região do próximo	44
2.4.3 <i>NIR</i> e controle de qualidade de azeite de oliva	48
2.4.4 Portabilidade <i>NIR</i>	51
2.4.5 Micro espectrômetro portátil na região do infravermelho próximo (<i>microNIR</i>)	54
2.5 QUIMIOMETRIA	58
2.5.1 ANÁLISE POR COMPONENTES PRINCIPAIS – PCA	59
2.5.2 MODELAGEM SUAVE INDEPENDENTE DE ANALOGIA DE CLASSE - SIMCA	60
2.5.3 REGRESSÃO POR MÍNIMOS QUADRADOS PARCIAIS - PLS	61
3 OBJETIVO GERAL	64
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	64
4 APLICAÇÃO 1	65
4.1 METODOLOGIA	66
4.1.2 Amostras	66
4.1.3 Propriedades físico-químicas	66
4.1.3.1 Acidez	67
4.1.3.2 Peróxido	67
4.1.3.3 Espectrofotometria ultravioleta (UV)	67
4.1.3.4 <i>MicroNIR</i> e quimiometria	68
4.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO	70
4.2.1 Propriedades físico-químicas	70
4.2.2 <i>MicroNIR</i> e Análise Quimiométrica	72
4.2.2.1 PLS	77
4.2.2.2 Modelos PCA e SIMCA	84
4.3 CONCLUSÃO	97
5 APLICAÇÃO 2	99
5.1 METODOLOGIA	100

5.1.1 Amostras e Reagentes.....	100
5.1.2 Análises físico-químicas.....	102
5.1.2.1 Acidez.....	102
5.1.2.2 Peróxido	103
5.1.2.3 Absorbância no Ultravioleta	104
5.1.2.4 Espectroscopia na região do infravermelho próximo (<i>NIR</i>)	104
5.1.2.5 Análise por Componentes Principais (PCA)	105
5.1.2.6 PLS.....	106
5.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO	107
5.2.1 Análises físico-químicas.....	107
5.2.2 Espectroscopia <i>NIR</i> portátil.....	118
5.3 CONCLUSÃO	122
6 CONCLUSÃO	123
7 REFERÊNCIAS.....	124

1 INTRODUÇÃO

O azeite de oliva (AO), diferente dos óleos vegetais que são extraídos de sementes e grãos, é extraído do fruto, especificamente do mesocarpo, parte mais suculenta da azeitona. O processo não utiliza nenhum solvente para tal extração. Além disso, para o consumo, o azeite não precisa passar pelo processo de refino, como os óleos vegetais que necessitam desse processo para retirar alguns compostos, por exemplo, a clorofila¹.

A produção e consumo de azeite de oliva tem crescido consideravelmente não somente na bacia do mediterrâneo, onde sua produção é predominante, mas em todo mundo.² Em decorrência de sua composição química a ingestão desse óleo tem aumentado, por ajudar a prevenir doenças cardiovasculares, câncer e outras enfermidades. Assim como os óleos vegetais, os azeites de oliva, são formados por uma mistura de compostos, tendo principalmente triacilgliceróis, diacilgliceróis, ácidos graxos livres e alguns compostos fenólicos.^{2,3}

Devido a sua composição química, nutricional e sensorial própria, o azeite de oliva tem um alto valor comercial, somado a isso, o grande consumo torna este produto alvo constante de fraudes e adulterações.⁴ Muitos são os fatores que podem alterar a qualidade dos azeites de oliva, esses fatores vão desde o cultivo agrícola, condições sazonais, maturação, armazenamento e processo industrial até chegar ao produto comercializado. Com isso, todas as etapas são levadas em consideração para a boa qualidade.⁵

A adulteração mais comum é a adição de azeites refinados, óleos principalmente vegetais ou minerais de baixo valor. Com isso, se faz necessário o uso de metodologias de análises rápidas para controle de qualidade desse produto.^{6,7} O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) determinou uma normativa (Portaria nº 419)⁸ para a determinação dos tipos de azeite e qualidade no mercado brasileiro, de acordo com critérios internacionais, eles podem ser classificados como: Azeite de oliva extra virgem (com no máximo 0,8%v/v de ácido oleico), Azeite de oliva virgem comum (com no máximo 3,3%v/v de ácido oleico), Azeite de oliva refinado (com no máximo 0,3%V/V de ácido oleico) e azeite de oliva (com no máximo 1%V/V de ácido oleico).

Análises químicas clássicas são bastante empregadas para traçar origem, determinar os compostos presentes em azeites de oliva,⁹ além de observar adulterações e fraudes. Dentre as técnicas pode-se destacar o uso das espectrométricas,^{10,11} de separação acopladas a diferentes sistemas de detecção,¹² e ressonância magnética nuclear (RMN).¹³ Na literatura, há diversos trabalhos utilizando a espectroscopia para a análise de óleos, visto que há muitas regiões de interesse, que diferenciam os óleos vegetais dos azeites. Um estudo aborda a comparação entre o infravermelho na região do médio e próximo para análise de óleos e aplicações quimiométricas.¹⁴ Sánchez, Moreda e García (2013)¹⁵ descreve que a banda de 670 nm, coincide com a absorção de clorofilas, que estão presentes principalmente nos azeites de oliva. Uma ampla faixa de absorbância existe por volta de 1220 nm, possivelmente do óleo e devido aos sobretons das vibrações de estiramento C-H e CH=CH-. Este trabalho demonstra a aplicabilidade do infravermelho para o controle de qualidade de azeites, sendo possível identificar compostos importantes nos óleos. Principalmente com a associação destas técnicas a ferramentas quimiométricas.

2 ESTADO DA ARTE

2.1 AZEITE DE OLIVA – HISTÓRICO, CONSUMO E PRODUÇÃO

O azeite de oliva extravirgem (AOEV), é o produto obtido da azeitona, fruto da oliveira pertencente à família *Oleaceae* e ao gênero *Olea*, e sua espécie denominada *Olea europaea* L. Entre as espécies de oliveiras, apenas esta espécie possui frutos que podem ser consumidos. A origem das oliveiras não é bem definida, há relatos em 10.000 a.C., já era cultivada na região da bacia mediterrânea.¹⁶

A partir então fruto da oliveira, produz-se o azeite, a etimologia da palavra árabe “az-zaitun” tem por significado o suco da azeitona. Em que seu consumo iniciou ao longo dos anos, em paralelo ao crescimento do cultivo das oliveiras e processamento da azeitona. Há registros de que no século VII a.C., já se utilizava na culinária, como combustível, para fins medicinais, religiosos, iluminação, entre outras aplicações do azeite.^{16,17}

Por muitos anos o cultivo desta árvore era apenas restrito as regiões da bacia mediterrânea e alguns países da África, devido as condições climáticas favoráveis (índices pluviométricos, acidez do solo e temperatura) para a produção de bons frutos. Com passar do tempo e as colonizações dos povos o plantio foi disseminando por outros países, como Estados Unidos, Chile, Austrália e outros.¹⁸ As primeiras mudas de oliveira no Brasil, vieram há quase dois séculos. Espécies específicas de oliveiras obtiveram melhor adaptação nos Estados de clima mais frios como Rio Grande do Sul, Santa Catarina a partir de 1948. A expansão para outros Estados como São Paulo, Minas gerais e Espírito Santo só foi possível, após modificações não científicas para que estas plantas pudessem se adequar ao clima, além de estudos em técnicas de cultivo para melhorar a qualidade dos frutos produzidos.^{18,19}

Os povos romanos, também tiveram grande desempenho na disseminação do azeite, bem como para processo de obtenção, devido ao grande comercio e consumo. Com isso, a maneira rudimentar de espremer as azeitonas em pilões de pedra, foram ficando defasadas em relação a demanda crescente do comércio de azeite.¹⁴

A partir disso, o método de obtenção do azeite passou a utilizar britagem e prensas de rosca de madeira ou ferro. Ao longo dos anos foram surgindo processos mais rápidos como a prensagem hidráulica e na segunda metade do século XX, o sistema de centrifugação que contribuíram de maneira eficaz, principalmente, levando em consideração os sistemas automatizados, e a produção podendo ser de forma contínua ou batelada.^{17,18}

As azeitonas após colheita e armazenamento correto, antes de iniciarem os processos físicos ao qual são submetidas para a extração do óleo, são lavadas para que fiquem livres de impurezas e a partir daí, são encaminhadas para o esmagamento do fruto. Uma pasta é o produto deste esmagamento, que pode ser feito por rolos ou discos trituradores. Entre as etapas de produção, destaca-se a malaxação, em que esta pasta sofre o processo de extração em um tanque aquecido com temperatura controlada entre 20° a 35°C e esse processo ocorre sob agitação com velocidade aproximada entre 15- 30 rpm. Nessa etapa, a coalescência favorece a separação da fase aquosa do óleo.²⁰

Após a malaxação, no processo de batelada, o produto obtido é prensado e de fato o sólido restante (torta) é separada do óleo e da fase aquosa, em que esses últimos passam por um decantador e separa o óleo da fase aquosa. Após isso, o óleo extraído é filtrado para remover os sólidos que não ficaram na “torta”. No processo de forma contínua, logo depois da malaxação, o produto obtido é direcionado ao decantador e em seguida a centrífuga, ocorrendo a separação do azeite dos sólidos e da fase aquosa. Entre os dois processos, o de forma contínua apresenta melhores resultados quando comparado de batelada devido a pureza e a eficiência do método devido ao volume de produto gerado, no entanto os gastos com equipamentos é mais elevado.¹⁸

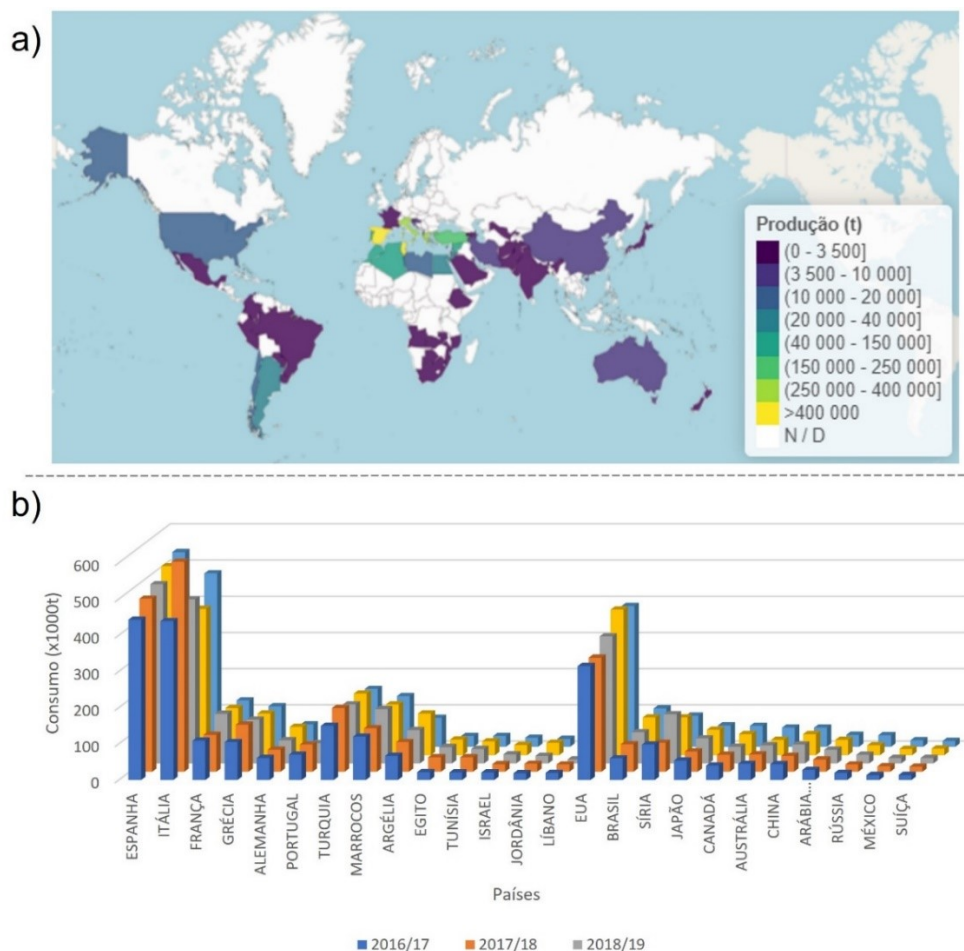
Muitos são os fatores que podem alterar a qualidade dos azeites de oliva, esses fatores vão desde o cultivo agrícola, condições sazonais, maturação, armazenamento e processo industrial até chegar ao produto comercializado. Com isso, todas as etapas são levadas em consideração para a boa qualidade.^{5,21}

A automatização da produção, juntamente com os investimentos na agricultura, além dos benefícios nutricionais dos azeites de alta qualidade fizeram o mercado

expandir de forma exponencial aumentando muito o consumo e por consequência a produção.²²

A **Figura 1**, ilustra (a) a distribuição da produção mundial de azeite, ano-safra 2019/20 (b) o consumo em toneladas de azeite por 25 países nos últimos cinco anos em relação a safras. Os maiores produtores no mundo são Espanha e Tunísia com 1125×10^3 e 440×10^3 toneladas de azeite (2019/20), em relação ao Brasil, a produção está entre 0-3500 toneladas.com base nos dados do Conselho Oleícola Internacional (COI). Em dados mais recentes para o ano da safra de 2020/21 a produção e consumo mundial foi de aproximadamente $3,4 \times 10^6$ e $3,1 \times 10^6$ toneladas, respectivamente. Entre os países produtores, destaca-se a Espanha que domina cerca de 46,1% da produção.^{23,24}

Figura 1. Mapa com a distribuição da produção mundial de azeite ano-safra 2019/2020. (b) Consumo mundial de azeite por ano-safra.



Fonte: (adaptada de COI, disponível em: <https://www.internationaloliveoil.org/wp-content/uploads/2021/12/IOC-Olive-Oil-D>

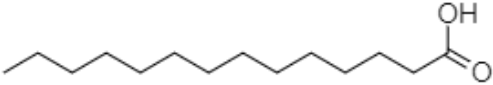
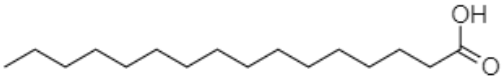
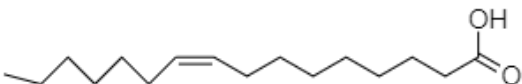
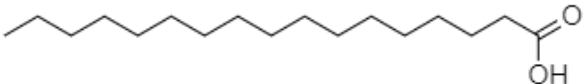
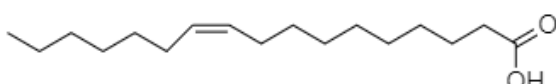
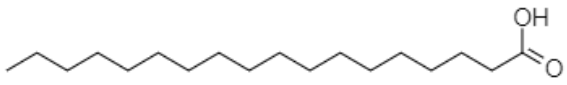
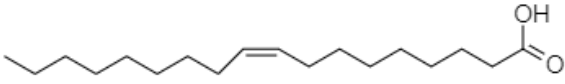
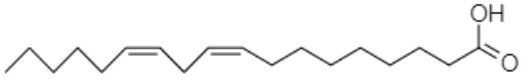
A busca pela qualidade de azeite, faz com que os países que tenham baixa produção, importar este produto. Entre os países que mais importam azeite, destaca-se o Estados Unidos e o Brasil com o primeiro e segundo lugar como os maiores importadores de azeite. Na safra de 2019/2020 esses países importaram cerca de 391 e 103 mil toneladas representando um aumento de 20,7% e 12,8% maior que a safra do ano anterior para Estados Unidos e Brasil, respectivamente.²⁵ Além da qualidade, os consumidores estão interessados no sabor e aroma que este produto oferece para culinária e nos benefícios nutricionais que são provenientes da composição química que o forma.

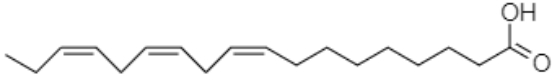
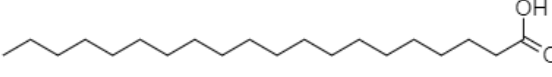
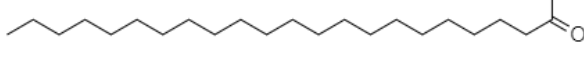
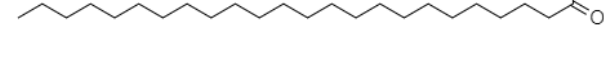
2.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA

O óleo extraído do fruto da oliveira, tem em sua composição uma mistura de compostos, sendo alguns deles responsáveis por características únicas do azeite. Majoritariamente estão presentes os triacilgliceróis, e outros componentes como ácidos graxos livre, hidrocarbonetos, compostos fenólicos voláteis, pigmentos, esteróis e outros que completam a composição química deste produto.^{3,26}

Entre os ácidos graxos (ácidos carboxílicos de cadeia aberta) presentes no azeite, destaca-se por exemplo, o esteárico (C18:0), oleico (C18:1), linoleico (C18:2), linolênico (C18:3), palmítico (16:0) e palmitoleico (16:1) e outros, em menores proporções estão os ácidos eicosanóico (20:0) heptadecanóico (17:0) e o mirístico (14:0) e outros. Esses ácidos podem sofrer alteração em suas quantidades em função da localidade onde o fruto foi colhido devido aos diferentes fatores como clima, solo, latitude, além disso, a composição dos ácidos graxos é dependente do grau de maturação do fruto.^{26,27} O Codex Alimentarius²⁸ e outros órgãos também definem limites para as proporções desses ácidos graxos em azeite, em função da variedade e qualidade, estes valores estão listados na **Tabela 1**

Tabela 1. Composição de ácidos graxos presentes no azeite de oliva.

Ácido graxo	Nº de carbono: nº de insaturações	Variação da %m/m mínima e máxima	Estrutura química
Ácido mirístico	(C14:0)	0,0 – 0,05	
Ácido palmítico	(C16:0)	7,5 – 20,0	
Ácido palmitoleico	(C16:1n9)	0,3 – 3,5	
Ácido heptadecanóico	(C17:0)	0,0 - 0,3	
Ácido heptadecenóico	(C17:1n10)	0,0 - 0,3	
Ácido esteárico	(C18:0)	0,5 – 5,0	
Ácido oleico	(C18:1n9)	55,0 - 83,0	
Ácido linoleico	(C18:2n9,12)	3,5 – 21,0	

Ácido linolênico	(C18:3n9,12,15)	<1,5	
Ácido araquidíco	(C20:0)	0,0 - 0,6	
Ácido behénico	(C22:0)	0,0 -0,2	
Ácido lignocérico	(C24:0)	0,0 -0,2	

Fonte: Codex Alimentarius (2001).

No Brasil, os limites destes ácidos seguem os padrões internacionais mencionados na **Tabela 1**, bem como os limites para os ácidos graxos de isomeria trans (C18:1t, C18:2t e C18:3t) em que são permitidos para o C18:1t e para a soma dos isômeros C18:2t e C18:3t concentrações menores que 0,05% em ambos os casos.^{26,28}

Os ácidos graxos presentes, são classificados de acordo com o número de ligações químicas que fazem, desta maneira são classificados como saturados, aqueles que apresentam apenas ligações simples, por exemplo, o ácido esteárico, mirístico e outros. Os que possuem uma ligação dupla e as demais simples e aqueles que tem duas ou mais duplas, são conhecidos como ácidos monoinsaturados e poli-insaturados, respectivamente. São exemplos dos das duas classificações ácido oleico, palmitoleico e linoleico e linolênico.²⁹ As estruturas químicas dos principais ácidos graxos presentes estão na **Tabela 1**, a configuração natural dos ácidos graxos insaturados é a configuração cis.

A partir das reações de três ácidos graxos com uma molécula de glicerol, são formados os triacilgliceróis. Estes podem ser usados como índice de qualidade de azeite e as composições formadas podem conceder caráter próprio aos azeites, modificando o ponto de fusão, solubilidade e viscosidade.²⁷

No azeite, em sua maioria são os formados a partir da ligação entre os ácidos oleicos, devido a maior concentração destes como pode ser observado na **Tabela 1**,

este composto é conhecido como trioleína (OOO). Os triacilgliceróis em menores proporções são formados pela combinação de outros ácidos graxos, a exemplo, encontra-se o dioleoil-linoleoil-glicerol (OOL), dioleoil-palmitoil-glicerol (POO), palmitoil-oleoil-linoleoil-glicerol (POL), a proporção é determinada pela disponibilidade dos ácidos livres.²⁷

Ainda sobre a fração saponificável do azeite, que inclui os ácidos graxos, triacilgliceróis, há também os compostos glicerídeos, que são resultantes de reações incompletas para a formação dos triacilgliceróis, dando origem aos diacilgliceróis e monoacilgliceróis.^{16,30}

Outros componentes em menor proporção também são considerados, a fração insaponificável, sendo eles, hidrocarbonetos, tocoferóis, pigmentos, compostos fenólicos, esteróis e compostos voláteis³¹ Essa fração também tem a qualidade influenciada conforme as condições de plantio.³²

Os hidrocarbonetos, mais abundantes presentes no azeite são esqualeno e β – caroteno, desses dois, o que possui maior concentração é o esqualeno, tendo pequena participação em efeitos benéficos a saúde.²⁶ O β – caroteno, fonte de vitamina A no azeite, tem função antioxidante, estabilizante natural, além de ser responsável pelo aroma e parte da pigmentação.³³

Outro composto que possui características antioxidantes no azeite são os tocoferóis, que são fontes de vitamina E. Entre os principais, se destaca o α -tocoferol, que auxilia na identificação do grau de maturação do azeite, visto que em frutos mais maduros a concentração é menor.^{26,34}

A coloração do azeite, podendo ser esverdeada ou amarelada é proveniente da junção de derivados da clorofila e compostos carotenoides respectivamente.³⁵ Os derivados da clorofila responsáveis pela pigmentação são principalmente, clorofila a e b, feofitina a e b. Os caratenoides são: β -caroteno, luteína, violaxantina, neoxantina e outras xantofilas).³⁶

Esteróis são afetados pelo plantio, ano de safra, armazenamento do fruto, processamento do óleo e processo de refino. Este último faz com que os esteróis sejam importantes na diferenciação de azeites e óleos vegetais, visto que, a partir do refino do azeite os níveis de esteróis diminuem.^{26,37}

Aos compostos fenólicos, são atribuídas as características de maior benefício à saúde, contribuindo com a composição nutricional do azeite. Entre eles, destacam a oleuropeína, tirosol e o hidroxitirosol, esse último tem a maior capacidade antioxidante, em relação aos outros, por combater radicais livres.³⁸

Os compostos voláteis presentes no azeite, são formados por diversos grupos funcionais, em torno de duzentos e oitenta compostos foram detectados. Evidencia-se que vinte desses compostos são responsáveis pelo sabor e aroma do azeite. Em azeites de pior qualidade, esses compostos apresentam-se em maior proporção, visto que são provenientes de frutos mais maduros.²⁶

Constituintes menores proporções também são encontrados na composição química do azeite, que podem ser reduzidos à medida que o azeite é refinado, ou quando é submetido a filtrações sucessivas. Esses compostos são principalmente fosfolípidios e proteínas.²⁶

Além da qualidade proporcionada pela composição química do azeite, a genuinidade é um assunto que vem despertando interesse em todo mundo, visto o grande número de casos que tem sido visto sobre adulterações neste produto. A partir disto, o controle de qualidade e autenticidade dos azeites tem sido levada em maior consideração não somente pelos consumidores para garantir a proteção do que está sendo consumido, mas também por cientistas que procuram novos métodos para detectar fraudes cada vez mais elaboradas.^{2,39}

2.3 CONTROLE DE QUALIDADE E CLASSIFICAÇÃO DE AZEITE DE OLIVA

A qualidade de um produto de acordo com a ISO 9000, é definida a partir do nível em que as propriedades associadas a esse produto estejam dentro das exigências estabelecidas.⁴⁰ Essas exigências, são normalmente regulamentos que são criados por organizações e autoridades oficiais com intuito de suprimir as fraudes. A preocupação é maior no que se refere ao AO do tipo extravirgem, em razão do valor comercial em relação aos demais tipos. Portanto, a autenticação desse produto engloba avaliar os limites estabelecidos e descritos nos rótulos, possíveis

falsificações, essencialmente com adição de outros óleos vegetais de menor qualidade, além de rastreio de originalidade botânica e geográfica.⁴¹

As normativas que regulam o AO, foram estabelecidos por organizações de diferentes nacionalidades, a exemplo os mais citados: Comissão Europeia de padrões⁴² *Codex Alimentarius*^{43,44} Departamento de Agricultura dos Estados Unidos,⁴⁵ COI.^{46,47} Este último, comumente está sendo mais utilizado como referência na classificação de AO em todo o mundo.

Embora, haja sempre atualizações dos limites estabelecidos, e a inserção de novas técnicas analíticas para o controle de qualidade dos AOs, a discussão entre os pesquisadores da área tem sido cada vez maior em relação aos padrões e limites, e a eficiência das metodologias normatizadas para a qualidade e pureza dos AOs.⁶

No Brasil os órgãos competentes para fiscalizar, garantir a qualidade, autenticidade do azeite, bem como a definição, classificação e tipo, são a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)⁴⁸ e o MAPA⁸. Em que ambos têm seus regulamentos em conformidade com os órgãos internacionais, *Codex Alimentarius* e o COI.

As principais diretrizes que regem o que é o azeite, classificação, registro, rotulagem e qualidade no Brasil, são as INSTRUÇÃO NORMATIVA DE 01/02/2012 publicada pelo MAPA e a Resolução da diretoria colegiada - RDC 270 DE 23/09/2005 reportada pela ANVISA, ambas portarias sofrem revisão e são retificadas à medida que novas pesquisas são conhecidas a respeito desse óleo.

Diante disso, o azeite de oliva é descrito como o óleo extraído de forma exclusiva fruto da oliveira *Oleaceae Olea* L. sem nenhuma adição de outro óleo ou fruto e semente, e sua extração deve ser unicamente mecânica sem interferência de solvente para a produção do azeite.⁸

A partir do fruto da oliveira, também é possível ser extraído o óleo de bagaço de oliva que é definido como produto extraído do bagaço do fruto, podendo ser submetido a processos físicos ou químicos, ou seja, extração com solvente, também não podendo ser adicionado nenhum óleo de fruto ou semente.⁸

Seguindo a normativa do MAPA nº1, Artigo 6º, Inciso 1º, o azeite de oliva e o óleo de bagaço de oliva são classificados em grupos e tipos quanto a matéria-prima,

processo e tecnologias empregadas. Essas classificações estão descritas na **Tabela 2**.

Tabela 2. Classificação do azeite de oliva em grupos de acordo a processo de extração, matéria-prima e tecnologia empregada.

Grupo	Descrição
Azeite de oliva virgem	produto extraído do fruto da oliveira a partir de sistemas mecânicos ou processos físicos com temperatura controlada desde que não haja alteração do produto original, podendo sofrer processos como decantação, filtração, centrifugação e lavagem.
Azeite de oliva refinado	produto proveniente de azeite de oliva do grupo azeite de oliva virgem mediante técnicas de refino que não provoquem alteração na estrutura glicerídica inicial;
Azeite de oliva	produto constituído pela mistura de azeite de oliva refinado com azeite de oliva virgem ou com azeite de oliva extravirgem;
óleo de bagaço de oliva	produto da mistura de óleo de bagaço de oliva refinado com azeite de oliva virgem ou com azeite de oliva extravirgem;
óleo de bagaço de oliva refinado	produto oriundo do bagaço do fruto da oliveira, submetido a refinaria, sem que haja alteração na estrutura glicerídica.

Fonte: Normativa do MAPA nº1, Artigo 6º, Inciso 1º (2012) (Adaptado) ⁸

Uma classificação adicional do azeite de oliva é quanto ao tipo, podendo ser azeite extravirgem, virgem e lampante, e diante desse critério o produto é desclassificado como fora de tipo caso haja divergência nos limites encontrados.⁸

As análises tradicionais físico-química que são descritas por órgãos internacionais, e que o Brasil segue, avaliam quatro principais parâmetros para a qualidade de azeite: acidez, índice de peróxido, absorbância ultravioleta e análise sensorial. Com isso, estas análises laboratoriais convencionais confirmam informações que são obrigatórias no rótulo, como: a deterioração, estabilidade em decorrência do tempo e possíveis inconformidades de acordo com os limites estabelecidos na legislação.^{8,49}

2.3.1 Parâmetros de qualidade convencional para azeite de oliva – análises físico-químicas

Para se enquadrar a esses tipos, os AOs devem seguir os parâmetros de qualidade de óleos e gorduras descritos no Anexo I da normativa MAPA Nº1⁸, que são os índices físico-químicos, como acidez, de peróxido e extinção específica. Segue abaixo a descrição e quais são os limites estabelecidos para cada tipo de azeite de oliva.

A acidez é determinada pela quantidade de hidróxido de potássio (KOH) ou hidróxido de sódio (NaOH) utilizada para neutralizar os ácidos livres em óleo. Para o azeite é medido referente ao ácido oleico (grama de ácido oleico por 100g de produto), ácido graxo em maior proporção. O teor de acidez medido no azeite garante a esse produto a maior ou menor qualidade, sendo azeites com acidez até 1% de acidez melhores, e azeites com níveis de acidez acima de 3,3% são reencaminhados ao processo de refino para serem comercializados.⁵⁰ Esse índice é influenciado pela maturação das azeitonas colhidas, devido disponibilidade dos ácidos graxos livres presentes em cada estágio.²⁶

Índice de Peróxido, indica a degradação dos ácidos graxos insaturados (expressos em miliequivalente de oxigênio ativo por quilograma de amostra). Essa medida está relacionada com a rancidez dos óleos e gorduras, que gera sabor e aroma desagradáveis aos alimentos.⁸ A oxidação ocorre naturalmente nos alimentos, em azeites esse processo pode ser retardado a partir de medidas como por exemplo, utilização de embalagens escuras para proteger o produto da luz, visto que esse processo acelera as reações de oxidação.⁵¹

Com a ocorrência da oxidação dos ácidos graxos, há a formação de dienos conjugados e produtos secundários como trienos conjugados, e estes compostos absorvem a radiação ultravioleta nos comprimentos de onda $\lambda=232$ nm e 272 nm, respectivamente. Assim, a partir da relação das absorbâncias nesses comprimentos (A272/A232) é possível estimar a oxidação ocorrida nos óleos.^{8,52}

Estes parâmetros físico-químicos, possuem limites esperados para garantir a qualidade de azeites de oliva nas suas classificações e tipos, como descrito a seguir na **Tabela 3**.

Tabela 3. Limites físico-químicos estabelecidos para qualidade de azeite e óleo de bagaço de oliva.

Grupo		Azeite de oliva virgem			Azeite de oliva refinado	Azeite de oliva	Óleo de bagaço de oliva	Óleo de bagaço de oliva refinado
Tipo		Extravirgem	Virgem	Lampante	Único	Único	Único	Único
Áidez máxima (*)		0,8	2,0	>2,0	≤0,3	≤1,0	≤1,0	≤0,3
Índice de Peróxido (**)		≤20,0		Não se aplica	≤5,0	≤15,0	≤15,0	≤5,0
Extinção específica no ultravioleta	270 nm	≤0,22	≤0,25	Não se aplica	≤1,1	≤0,90	≤1,70	≤2,0
	Delta K	≤0,01		Não se aplica	≤0,16	≤0,15	≤0,18	≤0,20
	232 nm	≤2,50	≤2,60	Não se aplica	Não se aplica	Não se aplica	Não se aplica	Não se aplica

(*) acidez medida em % de ácido oleico (g/100g de amostra)

(**) medido em miliequivalente de oxigênio ativo por quilograma de amostra (mEq/Kg)

Fonte: Instrução Normativa MAPA Nº1 (adaptada)⁸

Análises, como determinação do teor de ceras, de estradiol, índice de refração, de saponificação, análise sensorial e outras, também podem ser avaliadas no intuito de afirmarem a qualidade e identidade, garantindo que o AO foi submetido a refinarias,

processos químicos, como, misturas com solventes e não houve adições de óleos vegetais.⁵³

2.3.2 Fraudes e adulteração em azeite de oliva extravirgem

Entre as diferentes classes e tipos de AO produzidos, o AOEV se destaca como o mais suscetível a fraudes, em decorrência da qualidade superior, por sua composição nutricional, propriedades antioxidantes, além do alto valor comercial e grande consumo.^{4,54}

A falsificação mais comum, é a adição de AO de outros tipos e/ou óleos de sementes de menor valor. Similar aos AO, os óleos vegetais possuem ácidos graxos e compostos fenólicos em sua composição, alterando apenas as proporções em suas variedades^{55,56} Devido a essas compatibilidades, baixo custo e fácil homogeneização com a AOEV, os óleos de sementes como, óleo de soja, milho, girassol, e outros são utilizados como adulterantes.⁵⁷

Outro tipo de fraude que acontece com frequência é a troca ou omissão de informações nos rótulos. Normalmente essas informações são as propriedades físico-químicas, graus de qualidade do AO, localização geográfica, esta última, tem grande influência no valor que o produto é comercializado.⁴

A adição de óleos vegetais e azeite de outros tipos no AOEV, é mais comum nos países importadores, em relação aos produtores. Visto que, ocorre a falsificação no processo de envasamento desse produto.⁴ Desta maneira, as apreensões de azeites têm crescido consideravelmente ao passar dos anos, no Brasil e no mundo. Isto implica em vários malefícios, haja vista que o Brasil é um grande importador desse produto.¹⁰ Constantemente o MAPA, órgão responsável pela fiscalização, realiza diversas operações com intuito de investigar possíveis fraudes e adulterações. Essa força-tarefa se intensificou a partir do ano de 2017 em que o departamento de inspeção de produtos de origem vegetal (DIPOV) iniciou as operações “Isis” e “papai noel”.

Em 2018, a Operação Isis, avaliou 107 marcas de azeite de oliva e 59,7% ficaram reprovadas. Ao todo foram avaliadas 65 empresas responsáveis por

envasilhar o produto, entre elas 26 estavam fazendo misturas com outros óleos vegetais e com isso, um total 400 mil litros de azeite de 160 lotes diferentes foram rotulados com informações não verdadeiras.⁵⁸

Uma inspeção em todos os estados e no Distrito Federal, no ano de 2019, o MAPA proibiu a comercialização de 45 marcas de AOEV, a partir do envasamento irregular e adição de óleos vegetais e óleos impróprios para consumo⁵⁹. Dos lotes analisados, 38,7% apresentaram problemas, entre esses, 79% estavam ligados a baixa qualidade, ou seja, esses produtos estavam sendo comercializados como produtos de melhor qualidade e consequentemente maior valor de revenda.

A partir de uma fiscalização do Mapa em 2021, Um total de 24 marcas foram proibidas de serem comercializada em seis estados do Brasil (Rio de Janeiro, São Paulo, Ceará, Paraná, Santa Catarina e Goiás). Cerca de 150 mil garrafas de azeites foram apreendidas nesta operação, em consequência de produtos não registrados, contrabandeados e fraudados por empresas clandestinas, a partir da adição de óleos com procedência desconhecida.⁶⁰

No estado do Espírito Santo em 2021, duas mil garrafas de azeite de oliva, foram apreendidas por estarem fora dos limites estabelecidos, e entre as marcas, três estavam sendo envasada por empresas sem autorização dos órgãos competente.⁶¹

As fraudes e adulterações em alimentos no geral, são uma grande preocupação dos consumidores, fornecedores e produtores e tem ocorrido de maneira desenfreada. Principalmente porque a prática criminosa está cada vez mais aprimorada, e com isso dificultando a detecção.^{62,63}

Portanto, novas metodologias têm sido exploradas e Garcia-Gonzalez, Aparicio (2010)⁶⁴ destacaram cinco justificativas para a incentivar a investigação científica para o desenvolvimento de novas pesquisas sobre o azeite de oliva; O primeiro tópico abordado foi sobre saúde e nutrição que o AOEV oferece, em seguida a preocupação com os consumidores, autenticação e rastreabilidade, desenvolvimento de novas metodologias para identificação da adulteração e consequentemente a busca por métodos mais eficientes na qualidade sensorial.

2.3.3 Técnicas analíticas utilizadas no controle de qualidade de azeite de oliva extravirgem

As principais metodologias utilizadas para identificar as fraudes em AOEV, são os métodos físico-químicos, considerados como análises convencionais. Porém essas técnicas têm se tornado obsoletas, devido, as adulterações estarem mais complexas e sofisticadas, e com isso, a dificuldade de detectá-las se torna maior.⁶⁵

O controle de qualidade de AO enfrenta alguns desafios limitantes quando se observa essas metodologias convencionais. Pode-se ressaltar que são experimentos muitas vezes demorados, que necessitam de solvente orgânicos, e seus resultados dependem da reprodução fidedigna do procedimento normatizado. Outras limitações estão relacionadas a inaptidão da técnica para identificar o adulterante adicionado, a exemplo, o óleo de avelã que possui a composição química extremamente similar aos AOs. Ademais, não é possível identificar a origem de produção da azeitona, das amostras analisadas.^{2,66,67}

De tal maneira que se fazem necessário métodos mais confiáveis, para realizar tais análises. Principalmente, porque o controle de qualidade de AO é um crescente desafio, visto o aumento e constâncias nas adulterações.⁶⁸

Bajoub *et al.*(2018)² descreve uma tabela com um resumo de técnicas analíticas citadas para avaliar alguns parâmetros de qualidade do AO, como valores de extinção específica, índice de peróxido, teor de ácidos graxos livres e outros, a partir de técnicas cromatográficas (líquida e gasosa), com destaque para as espectroscópicas (Raman e infravermelho).

Os métodos analíticos citados por Bojoub *et al* (2018)², apesar de oferecerem maior sensibilidade em relação as análises convencionais, apresentam algumas desvantagens como instrumentações mais caras, calibração do equipamento, principalmente se os métodos de análise foram diferentes para cada tipo de AO, e a utilização de solventes ainda se torna necessária em muitos procedimentos.

O *CODEX ALIMENTARIUS* e outras agências reguladoras, também estabelecem diferentes técnicas para cada grupo de compostos químicos do AO. Entre as técnicas, destaca-se o uso das cromatográficas, por exemplo a cromatografia

líquida de alta eficiência (CLAE) e a cromatografia gasosa acoplada a um detector por ionização de chama (CG-FID), e espectrômetro de massas (CG-EM) a fim de garantir a qualidade, autenticidade e não adulteração do AO.^{6, 69} Pois, a partir dessas metodologias se torna possível diferenciar óleos vegetais de azeite, identificando os ácidos graxos presentes.⁷⁰ Bem como alguns marcadores como tocoferóis, compostos fenólicos, compostos voláteis e outros.⁷¹

Um dos trabalhos pioneiros utilizando a CLAE para investigar a adulteração de AOEV com óleo de palma e semente de uva foi publicado em 1995. Foi possível determinar o teor de tocotrienóis (que possui diferentes proporções em cada óleo vegetal) e obtendo uma recuperação de aproximadamente 97% em AOEV. Os autores concluíram que a CLAE viabiliza a detecção de óleo de palma e semente de uva em AOEV.⁷² Zabaras e Gordon (2004)⁷³ utilizou a CLAE para a detecção de óleo de avelã em AOEV a partir de compostos polares. Para isso, a fração polar foi separada por extração em fase sólida (EFS), o que possibilitou detectar o óleo de avelã com precisão de 5% em AOEV. Outros estudos também foram realizados utilizando a CLAE, como para diferenciar azeites de distintos cultivares⁷⁴, análise de ácidos graxos em óleo de soja/AOEV⁷⁵, determinar a origem geográfica de AOEV⁷⁶, associados a métodos quimiométricos de classificação para discriminar AOEV de óleos vegetais, diferenciar o perfil de triacilgliceróis de óleos vegetais e azeites a partir da análise de componentes principais (do inglês, *principal components analysis* - PCA⁷⁷, entre outras aplicações.

A técnica de CG, foi empregado em diferentes objetivos para a análise de AOs, como por exemplo: Dong Sun Lee *et al.* (1998)⁷⁸ utilizaram a CG associada a análise de componentes principais e análise de discriminantes para diferenciar um grupo de óleos vegetais a partir dos ácidos graxos de suas composições. A partir dos resultados obtidos para a PCA, oito grupos foram formados, diferenciando os óleos vegetais em estudo. Amostras desconhecidas foram atribuídas a diferentes grupos, cada qual pertencente ao óleo vegetal com características semelhantes. Cercaci, Rodriguez-Estrada e Lercker (2003)⁷⁹ avaliaram esteróis como marcadores para detectarem adulterações com óleo de avelã em AOEV. O azeite foi fracionado a partir de EFS, e outros processos para isolar os esteróis nos óleos e em seguida foram analisados no CG. O conhecimento da proporção entre a fração esterificada de óleo puro e óleo adulterado possibilitou a identificação de fraudes em amostras desconhecidas. Em um

outro estudo, a partir da combinação de mínimos quadrados parciais e impressões digitais de ácidos graxos (porcentagens normalizadas de alguns ácidos) por CG, foi possível determinar misturas de óleos de girassol, soja e algodão com azeite. Um conjunto de amostras de misturas de óleos sintéticos foram avaliados no modelo e os autores concluem que a abordagem avaliada possibilita a determinação de fraudes nos quatro óleos vegetais utilizados. Outro estudo foi possível reconhecer adulteração de AOEV com óleos refinados a partir de dienos como marcadores, e os autores relatam que os resultados obtidos são superiores aos sugeridos pela norma (CG-FID)⁸⁰. Outra aplicação foi a avaliação da adulteração de óleo de soja com AO associando as técnicas de termogravimetria, CG-EM e ferramentas quimiométricas⁸¹, entre outras.

As metodologias com base em CLAE e CG, possuem alto custo com equipamentos, qualificação do analista, grande parte das amostras precisam passar por alguma preparação antes de analisadas, tornando as análises demoradas e trabalhosas. Dificultando o uso dessas técnicas como triagens rápidas para o controle de qualidade de AO.⁷¹

Diante das restrições e desvantagens que foram apontadas para os métodos convencionais e analíticos oficiais para identificação de adulteração e autenticação de AO, técnicas rápidas, acessíveis e com menor utilização de solventes, se tornam necessárias e estão em constante evolução como ilustrada na **Figura 2**.⁸²

A fim de avaliar as publicações e os métodos mais utilizados para detecção de adulteração em azeite, foi realizada uma pesquisa na base de dados “*Web Of Science*”, com as palavras chaves “*olive oil*” e “*adulteration*”, e foram encontradas 933 publicações. Esses dados foram avaliados a partir do programa *Rstudio*.

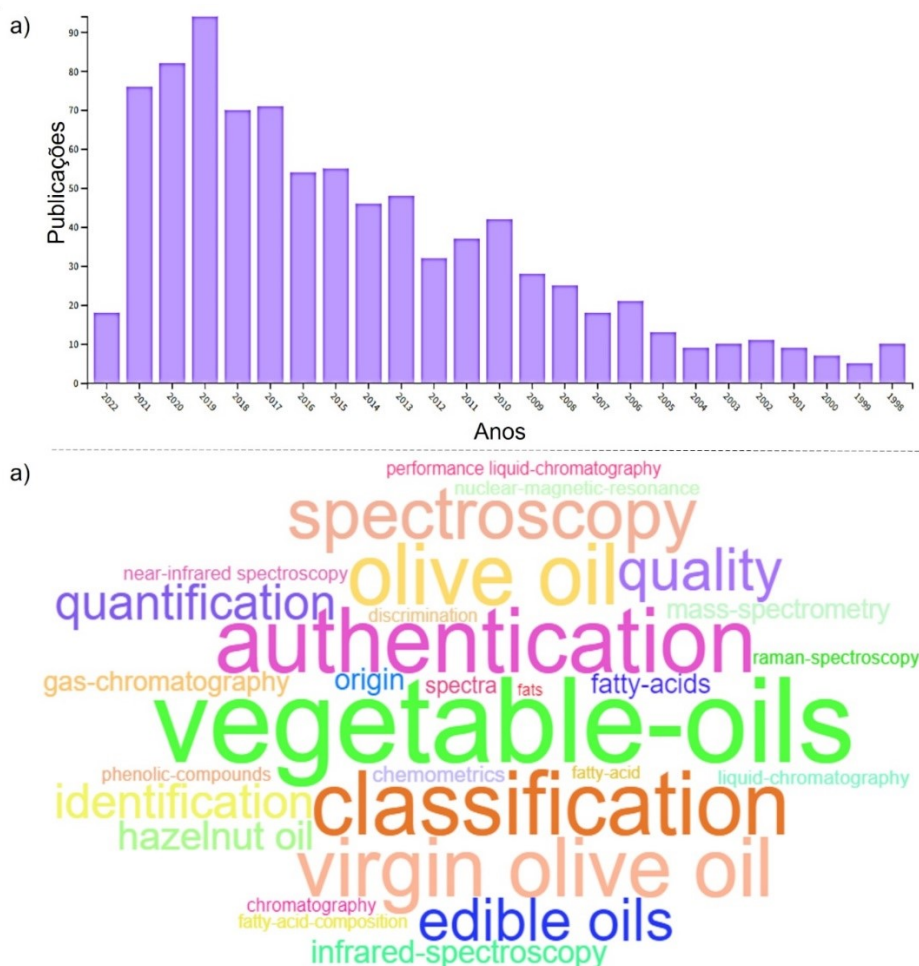
No que tange as palavras chaves AO e adulterações, o número de publicações no decorrer dos anos está em ascensão (**Figura 2a**). Principalmente com aplicações alternativas aos métodos recomendados para desvendar fraudes em AOEV.

A nuvem de palavras (**Figura 2b**), é constituída correlacionando o tamanho da fonte ao número de recorrências (no caso, 25 repetições), das palavras chaves nas publicações. Nota-se que as palavras com mais ênfase são, óleos vegetais, autenticação, azeite de oliva, azeite de oliva virgem, classificação, qualidade e

espectroscopia. As demais palavras também estão entre as mais citadas das 933 publicações encontradas.

Conforme pode ser observado na **Figura 2b**, a nuvem de palavras aborda as técnicas analíticas: Raman, RMN, cromatográficas, espectrometria de massas (EM) e em destaque a espectroscopia. No entanto, parte dessas metodologias demandam procedimentos laboriosos, com preparo de amostras demorados, não praticam a química verde, com utilização de solventes tóxicos e produção de resíduos.^{6,83}

Figura 2. (a) Evolução do número de publicações de AO e adulterações em relação aos anos, e (b) Nuvem de palavras a partir das palavras chaves mais utilizadas nas publicações.



Recentemente, González-Pereira *et al.* (2021)⁸⁴ aborda uma revisão de aplicações do uso de metodologias alternativas como, RMN, EM, CLAE, CG, técnicas

espectroscópicas, entre outras, combinadas a quimiometria para detecção de fraudes e autenticação em AOs.

Entre os métodos mais estudados para controle de qualidade em alimentos destaca-se os espectroscópicos vibracionais (Infravermelho médio e próximo, Raman e imagens hiper espectrais. Tais técnicas, tem seus conceitos estruturados nas transições vibracionais ocorridas no estado fundamental das moléculas a partir da incidência da radiação com frequência determinada.⁸⁵

Em relação a fraudes em AO, o infravermelho é bastante empregado, devido as vantagens oferecidas, como uma técnica não destrutiva, utilizar mínimo ou nenhum preparo de amostra, colaborando com os princípios da química verde, além da rápida aquisição de dados, principalmente se associado a ferramentas quimiometricas.^{86,87}

2.4 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO

A espectroscopia de infravermelho (IV) compreende a faixa espectral em números de ondas entre 12000 a 10 cm^{-1} , no qual equivale a 780 a 10.000 nm em comprimento de onda, e está subdividida em próximo ($780\text{-}2.500\text{ nm}$), médio ($2.500\text{-}5.000\text{ nm}$) e distante ($5.000\text{-}10.000\text{ nm}$).⁸⁸

As mais aplicadas são as regiões do médio (do inglês, *mid-infrared* -MIR) e próximo (do inglês, *near infrared* - NIR). De maneira geral, a região MIR consegue fornecer mais informações sobre os grupos funcionais presente na amostra analisada. Visto que a absorbância nessa faixa se baseia em dois tipos de vibrações fundamentais, estiramento e deformação das ligações covalentes. Estas vibrações permitem promover bandas com mais intensidade e mais bem definidas nos espectros de IV. Gerando assim, uma possível impressão digital espectral única de cada substância ou molécula, que é melhor evidenciada quando utilizado quimiometria para diferencia-las.⁸⁹⁻⁹¹

Para a região NIR, a absorção se dá por meio de combinações e harmônicos das vibrações fundamentais de grupos funcionais específicos. Isto gera nos espectros bandas de menor intensidade, e com isso são mais largas e sobrepostas.^{89,90}

Ao comparar as regiões MIR e *NIR*, a MIR se demonstra mais seletiva e possui maior sensibilidade em relação a *NIR*, por conseguir analisar uma faixa maior de grupos funcionais e devido à alta relação sinal/ruído promovida pelas intensas vibrações promovendo bandas definidas. No entanto, a sensibilidade principalmente, na região *NIR*, pode ser melhorada no momento de adquirir os espectros, aumentando o número e tempo de leitura da amostra. Além disso, a robustez é uma grande vantagem para a *NIR*, pois confere maior capacidade de resistir a variações de parâmetros analíticos; Outra vantagem é o baixo coeficiente de absorção, devido à alta profundidade de penetração nas amostras, que são ocorridas nessa radiação.^{90,92}

2.4.1 Histórico e evolução da espectroscopia de infravermelho na região do próximo

Após a descoberta de Isaac Newton sobre o espectro visível, a radiação eletromagnética na região do infravermelho foi a primeira entre as radiações invisíveis. O cientista William Herschel em 1800, descreveu o experimento em que detectou a temperatura das cores na faixa do espectro visível. O experimento se deu a partir da projeção da luz solar dispersa em uma folha de papel branca, através de um prisma. Ele utilizou três termômetros com o bulbo enegrecido, dois para medições de controle como o ambiente, e o último para a medição do espectro de cores que apareceram no papel. Herschel observou que a temperatura se elevava mesmo após a região de cor vermelha, a esta região ele denominou como “raios caloríficos”. Posteriormente essa região como um todo, ainda desconhecida passou a ser denominada como infravermelho.⁹³

Devido à dificuldade de interpretar os espectros *NIR* com bandas alargadas e sobrepostas, a técnica ficou esquecida. A radiação na faixa do médio se tornou mais popular, mesmo sendo descoberta posteriormente. Coblentz, primeiro cientista a utilizar a região do médio em 1900, conseguiu identificar grupos orgânicos a partir de espectros de absorção de substâncias puras⁹⁴. Avanços teóricos e instrumentais para esta região demonstrou a utilidade em identificar grupos funcionais orgânicos.⁹⁵

No âmbito da química analítica, um trabalho pioneiro para a *NIR*, foi publicado por ELLIS e BATH (1938)⁹⁶, que compararam os espectros de absorção de moléculas

de proteína em gelatina em duas condições (secas em estufa e saturadas com vapor de água deuterada). Nesse artigo foi observado que o momento dipolo das moléculas de proteína é afetado quando secas em estufa e saturadas com o vapor de água, diminuindo bandas de combinação da valência de N-H e evidenciando bandas de combinação de C-H, respectivamente. Mesmo chegando a bons resultados, somente anos depois e com a evolução das pesquisas, um artigo de Wetzel, mostrou o quanto *NIRS* tinha a contribuir para a ciência, relatando em sua publicação que a *NIR* ficou esquecida, pois é dependente da quimiometria, que ainda estava em progresso. Wetzel também demonstrou que a técnica é capaz de quantificar substâncias em amostras sólidas por meio de espectros de reflectância difusa e análises quimiométricas, além de elencar as principais aplicações na indústria, como por exemplo, identificar hidrogenação de ésteres de ácidos graxos insaturados, mistura de hidrocarbonetos de n-hexano, benzeno, ciclobenzeno e iso-octano, umidade em excipientes farmacêuticos e em detergentes em pó, entre outras aplicações. O autor ainda menciona que as análises *NIR* são rápidas e permitem o uso no controle de processos em indústrias e ressalta que o preparo de amostra é mínimo.⁹⁷

Os espectros *NIR* originam dados de grande complexidade para interpretação, e isso foi uma das explicações que fizeram esta técnica ser pouco usual após a sua descoberta. Esses dados aparecem como bandas de combinação e sobretons, e normalmente são de baixa intensidade e muito sobrepostos, com isso a interpretação se torna difícil. A sobreposição torna quase impossível identificar e selecionar comprimentos de ondas de maneira a relacioná-los com uma substância ou a um grupo funcional específico, sendo assim, inviabiliza o uso da calibração univariada nesse caso.⁹⁸

Na tentativa de trazer ainda mais atenção para essa faixa espectral outros trabalhos também foram publicados com aplicações do *NIR*.⁹⁹⁻¹⁰¹ Mas somente a partir das publicações de Karl Norris^{102,103} que marcou a história da espectroscopia *NIR*, dando maior visibilidade ao utilizar dois comprimentos de onda para medir propriedades quantitativas e o uso de calibração multivariada.

As medidas quantitativas que eram feitas a partir de um comprimento de onda (com base na lei de Lambert Beer - que relaciona diretamente a absorção da radiação pela amostra, com a concentração do analito), e assim, passou a ser usado mais

comprimentos de ondas como variáveis, principalmente com a construção de modelos multivariados. A exemplo, Norris e Hart (1996)¹⁰³ utilizaram um conjunto de variáveis do espectro *NIR* de sementes de grãos, para quantificar o teor de umidade nessa matriz. Diante disso, uso das análises diretas, sem nenhum pré-tratamento foi mais empregado, demonstrando que a técnica *NIR*, possui diferentes possibilidades de aplicações e que não era restrita a apenas um comprimento de onda.

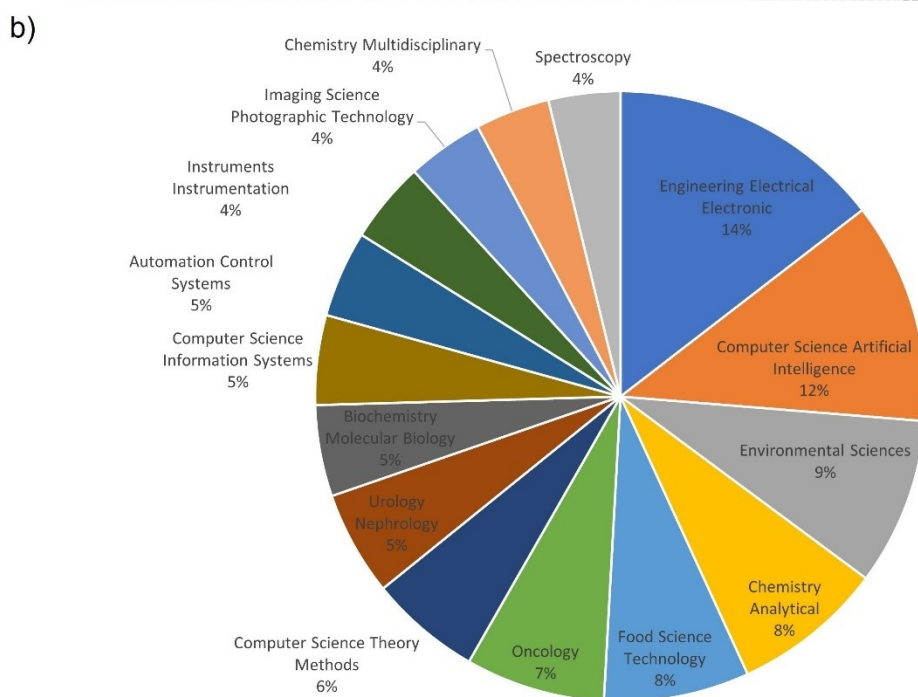
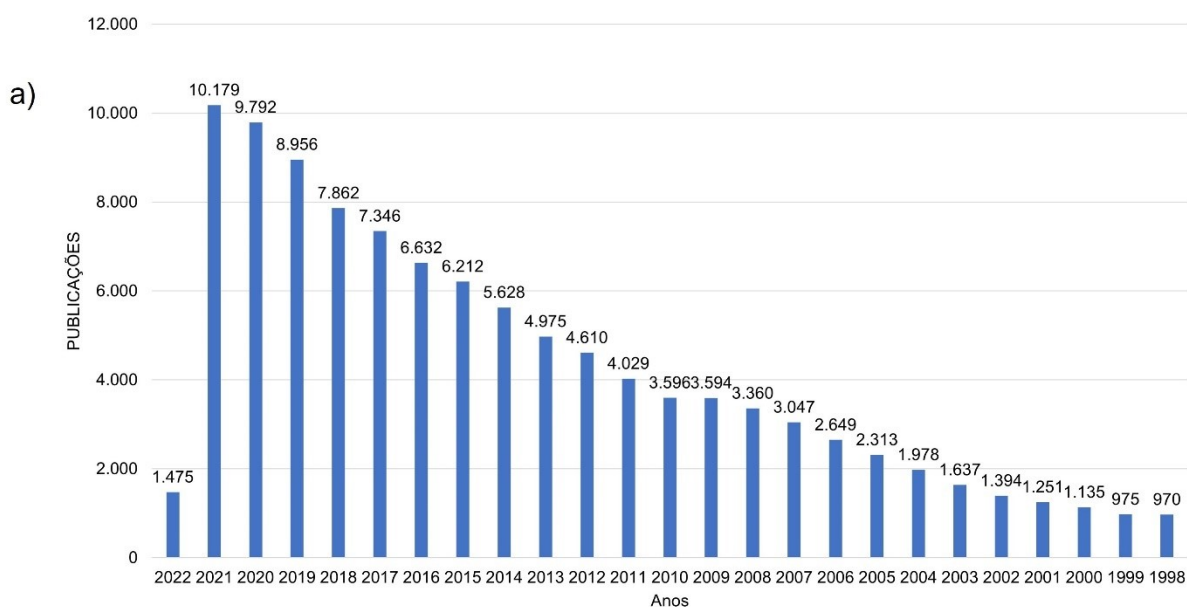
No cenário da pesquisa no Brasil, apenas em 1991 foi publicado o primeiro trabalho envolvendo *NIR*. NISHIYAMA e colaboradores (1991)¹⁰⁴ utilizaram a técnica de forma qualitativa para detectar um adoçante natural proveniente da planta *Stevia rebaudiana*, nativa da América do Sul. No ano seguinte, o mesmo grupo de pesquisa estimou a concentração de esteviosídeo em folhas de *Stevia rebaudiana*, utilizando 64 amostras para calibração multivariada aplicada aos espectros *NIR*, e outras 30 amostras que foram usadas para validação do modelo. Os autores encontraram um a partir da regressão linear múltipla, erro padrão de calibração de 1,4 e coeficiente de determinação 0,90, ressaltando que a técnica é simples na detecção e quantificação de esteviosídeo nas folhas desta espécie.¹⁰⁵

Deste modo, o desenvolvimento e a difusão da técnica *NIR* está baseada nos princípios fundamentais, instrumentação e nos tratamentos de dados a partir da quimiometria.¹⁰⁶ McClure (2003)¹⁰⁷ relaciona as publicações na espectroscopia *NIR* utilizando os dados do comitê de bibliografia *NIR* (CNIRS), e demonstrou que no período de 1800 a 1950 poucas foram as publicações neste tema (apenas 91 artigos). A este número de publicações o autor relaciona à dificuldade de interpretação dos espectros comparados aos espectros do MIR (chamados de impressão digital) e a baixa evolução instrumental da técnica. Por outro lado, cita que a partir de 1970 o crescimento das publicações foi exponencial, visto as melhorias na instrumentação e avanços no tratamento de dados.

A **Figura 3**, evidencia a evolução desta técnica com aplicações quimiométricas. Para isso, foi realizada uma busca com as palavras “*near infrared*”, “PCA” “PLS” no banco de dados “*Web of Science*” até os dias atuais, foram encontradas 110.276 publicações, sendo que, somente há publicações disponíveis para estes temas e nesta base a partir do ano de 1998, como demonstrado na **Figura 3a**. Com isso, nota-se também como ainda é crescente o número de publicações, destacando o ano de

2021 com 10.179 artigos publicados, 9.972 artigos em 2021 e para 2022 o número de 1.475 artigos até a data da pesquisa (**Figura 3a**). Na **Figura 3b**, observa-se entre as subáreas mais comuns de publicação, a química analítica se destaca sendo a quarta área com maior número de publicações (6.460) com aproximadamente 8%.

Figura 3.a) Histograma do número de registro de publicações realizadas no período de 1998-2022; b) Relação das subáreas de publicações. (pesquisa realizada em 26/02/2022).



Fonte: Base de dados web of science e Bibliometrix– Adaptada.

De maneira geral, nota-se na **Figura 3**, o quanto a técnica *NIRS* tem crescido e demonstrado grande relevância em diversas áreas destacando a área da química a partir das publicações nesta base. Este crescimento se deve a evolução no conhecimento quanto aos princípios da técnica *NIR*, bem como avanços em suas aplicações.

2.4.2 Infravermelho na região do próximo

A técnica de espectroscopia na região do Infravermelho (IV) fundamenta-se nas frequências de vibrações específicas das ligações químicas covalentes, que representam níveis discretos de energia bem definidos. A radiação IV, só será absorvida quando uma variação no momento dipolo (sejam movimentos vibracionais ou rotacionais) dessas moléculas estiver acontecendo na mesma frequência da radiação incidente. Essa energia que é incidida na matéria interage diretamente nas vibrações e consequentemente na variação da amplitude destas vibrações.^{88,108}

A energia que é transferida a partir de uma onda eletromagnética pode ser calculada pela **Equação 1**.

$$E = hv \quad \text{Equação 1}$$

Onde h é a constante de Plank ($6,6207 \cdot 10^{-34} \text{ m}^2 \cdot \text{kg/s}$) e v é uma frequência da onda eletromagnética.

A equação da energia (**Equação 1**) pode ser relacionada ao comprimento de onda (λ) incidido com a velocidade da luz (c) como é demonstrado na **Equação 2**.

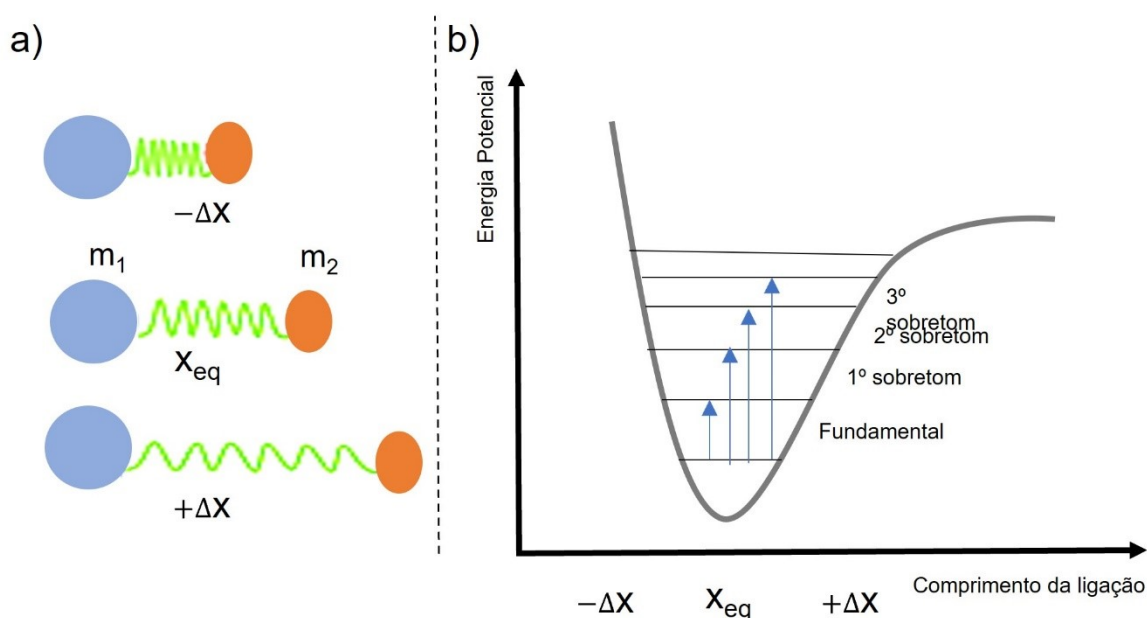
$$E = hv = hc/\lambda \quad \text{Equação 2}$$

Para compreender a interação da radiação *NIR* com a matéria, é necessário entender o comportamento vibracional das moléculas. Com isso, os movimentos das ligações químicas, de compressão gerando repulsão, e de afastamento que pode proporcionar o rompimento da ligação, dão origem a movimentos anarmônicos.¹⁰⁶ Com isso, a intensidade da absorção da radiação *NIR*, se relaciona com as diferenças dos momentos dipolo e a anarmonicidade dos modos vibracionais. Assim, como citado, as ligações com características mais polares geram modos de vibrações mais

anarmônicos e como consequência disso sofrem fortes influências das radiações *NIR*.¹⁰⁹

O modelo anarmônico demonstrado no esquema da **Figura 4** para uma molécula diatômica, descreve em sistemas vibracionais o comportamento da energia potencial (função de Morse).

Figura 4. (a) Representação de molécula diatômica por duas esferas de massas m_1 e m_2 conectadas por uma mola (força constante k). (b) Sistema de variação anarmônico e suas possíveis transações eletrônicas representadas pelas setas. (Adaptada de Tibola et al.(2018))



Ao observar a

Figura 4, pode-se notar que: i) as diferenças entre os níveis de energia não são iguais, e ao considerar os níveis mais altos, essa diferença é mais pronunciada, sendo menores entre si. ii) Outro ponto em destaque, é que a energia vibracional das moléculas, não necessariamente necessita transitar do nível fundamental 0 para 1 e 1 para o 2 etc, essa energia pode ser do nível 0 para o 2 ou mesmo para níveis maiores. Essas transições são chamadas de sobretom, e considera-se o primeiro sobretom do nível 0 para o 2, o segundo sobretom do 0 para o nível 3 e segue assim até chegar ao maior nível de energia para cada molécula (como ilustrado na **Figura 4**). iii) Mais uma consideração importante desse modelo, deve-se ao fato de que as

combinações destes modos vibracionais podem acontecer, e estas bandas são chamadas de bandas de combinação. Ocorre em moléculas com mais de dois átomos, pois nas moléculas diatômicas só um modo de vibração é associado, por isso não é observado na **Figura 4** esse comportamento. Em moléculas maiores em número de átomos, os modos vibracionais podem coexistir, por exemplo estiramentos e deformações angulares. Com isso, as frequências necessárias para elevar a cada um dos modos podem ser somadas.¹⁰⁶

Assim a interação da radiação na região *NIR* é dada por sobretons, combinações e ressonâncias dos modos vibracionais dos estados fundamentais. A energia das transições eletrônicas ocorridas no estado fundamental deve ser alta, para que estas sejam vistas na região *NIR*. As maiores probabilidades de grupos funcionais gerarem bandas de combinação são as que possuam átomos mais pesados como por exemplo, carbono (C), oxigênio (O), nitrogênio (N) e enxofre (S) ligados a átomos de hidrogênio (H). Além de ligações insaturadas entre carbonos e carbonos e oxigênio ($C=C$, $C \equiv C$, $C=O$), que possuem alta energia.^{106,110}

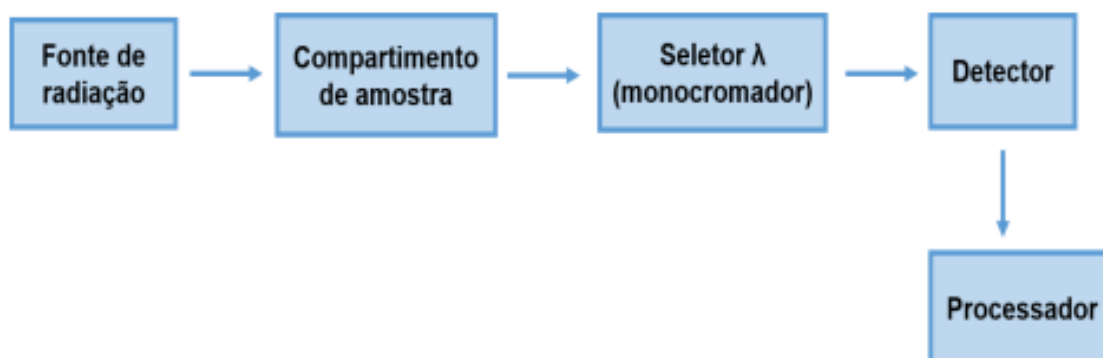
Essas absorções geradas pelos grupos funcionais e as interações químicas (inter e intramolecular) que são lidas no espectro *NIR*, possibilitam o desenvolvimento de métodos qualitativos, que buscam identificar e classificar as amostras. Além disso, os métodos quantitativos relacionam uma propriedade numérica a estas absorções, exemplo quantificar o teor de uma substância.¹⁰⁶ Em contribuição, o uso de quimiometria como ferramenta para as análises qualitativas e quantitativas ampliam ainda mais as áreas de aplicação. Sendo esta técnica uma ótima metodologia para o controle de qualidade de azeite de oliva, pois sua composição química é em sua maioria formada por ácidos graxos que possuem ligações C-H e O-H.

Os espectrômetros *NIR*, possuem basicamente os mesmos componentes que os demais utilizados em outras regiões do espectro eletromagnético, apenas diferencia, pois, neste é possível alterar acessórios, como por exemplo o compartimento de leitura de amostras (podendo ser sólida, líquida ou gasosa), tornando assim uma técnica flexível.¹¹¹

Em geral a instrumentação é composta por uma fonte de radiação, o compartimento da amostra, um seletor de comprimento de ondas (monocromador), um detector e um processador que é responsável por receber os sinais detectados e

transformar em espectros.¹⁰⁸ Os componentes do espectrômetro foram colocados em um esquema geral na **Figura 5**.

Figura 5. Esquema com os principais componentes de um espectrômetro *NIR*.



O espectrômetro *NIR* evoluiu muito com o passar dos anos, assim, as fontes de radiação mais utilizadas são em geral de diodos emissores de luz (do inglês, light emitting diode - LEDs), lâmpadas de halogênio ou filamentos de tungstênio. O compartimento de amostras, nos equipamentos mais novos, torna possível a troca de acessório para a leitura de diferentes tipos de amostras em diferentes estados físicos. O seletor de comprimento de onda, foi um dos componentes que mais tiveram mudanças, desde o mais simples baseado em filtros ópticos, sendo possível selecionar comprimentos de ondas específicos, até os interferométricos, baseados em Transformada de Fourrie, em que utilizam processos matemáticos para transformar o interferograma que é expresso em domínio de tempo para as frequências e comprimentos de ondas gerando o espectro *NIR*.^{109,111} Um outro seletor de comprimento de onda que também destaque é baseado na rede de difração, com o uso de um filtro de interferência linearmente variável (do inglês, *linearly variable filter* - LVF), sendo um elemento dispersivo que depende da posição espacial e possibilita a seleção de comprimentos de ondas. Este tipo de seletor é amplamente empregado em equipamentos portáteis.^{25,26} Dentre os detectores, os baseados em semicondutores são os mais comuns, e estes são considerado os mais empregados devido a qualidade. Entre eles, destaca-se os detectores semicondutores InGaAs (arseneto de gálio e índio), outros também empregados são os de PbS e detectores de multicanais.¹¹¹

Na espectroscopia *NIRs*, a leitura das amostras pode ser medida de diferentes modos. Isso vai depender da maneira como ocorre a interação da radiação com a matéria, podendo ser transmitida, refletida ou absorvida.^{95,108} No modo transmitância a incidência da radiação é arranjada de frente para o detector, possibilitando que a radiação atravesse a amostra. Amostras líquidas são comumente analisadas nesse modo de leitura, sendo utilizado cubetas de quartzo ou vidro como suporte. Outro modo de leitura é a transfectância, em que a radiação incidida na amostra passa por um caminho óptico e em seguida refletida ao detector. Sondas de fibra óptica são frequentemente usadas. As medidas de reflectância difusa, a fonte de radiação está posicionada normalmente a um ângulo de 45° do detector, para diminuir a reflexão especular. Amostras sólidas são lidas neste modo de aquisição, e esse tipo de material pode sofrer espalhamento devido a distribuição das partículas, contribuindo para o aumento da relação da intensidade sinal/ruído.^{95,108}

Devido a evolução destes componentes da instrumentação *NIR*, o uso do infravermelho portátil em diversas análises demonstra grande potencial, pois apresenta análises rápidas, não destrutivas e pode ser aplicado diretamente no local, dispensando muitas vezes levar as amostras para a análise em laboratório.^{95,111}

2.4.3 *NIR* e controle de qualidade de azeite de oliva

A *NIR* está se destacando devido a possibilidade de ser utilizado em matrizes complexas, e principalmente a sua eficácia na classificação e quantificação de óleos vegetais em azeite.^{7,112-115}

A **Tabela 4**, aborda um resumo dos artigos com maior número de citações ao realizar uma pesquisa com as palavras chaves “*NIR*”, “*OLIVE OIL*” e “*ADULTERATION*” na base de dados “*Web of Science*”. Além disso, a tabela descreve os principais adulterantes, faixa espectral utilizada e a ferramenta quimiométrica aplicada.

Tabela 4. Resumo dos principais artigos mais citados para classificação e quantificação de azeite de oliva a partir de espectros *NIRs*.

Amostra	Adulterantes	faixa espectral	Análise multivariada	Referência
AOEV	OS, OG, OM, ON, OA	833 – 2500 nm	PCA, PLS	CHRISTY, Alfred A. et al. (2004) ¹⁷⁹
AO	OS	833 – 2500 nm	PCA, PLS	MENDES, Thiago O. et al. (2015) ¹¹⁶
AO	OG, OM	1000 - 2500 nm	GILS	ÖZDEMİR, Durmuş; ÖZTÜRK, Betül. (2007) ¹¹⁷
AO	OA,OM, OG,OS	833 - 2198 nm	PLS	KASEMSUMRAN, Sumaporn et al. (2005) ¹¹⁸
AO	OM, OS, OC, OG	833 – 2500 nm	GILS	ÖZTÜRK, Betül; YALÇIN, Ayşegül; ÖZDEMİR, Durmuş (2010) ¹¹⁹
AOEV	AD, AR	2500 - 15000 nm	PCR, PLS	WÓJCICKI, Krzysztof et al.(2015) ¹²⁰
AOEV	OM, OG, OC, OS	833 – 2500 nm	SIMCA, PCA	VANSTONE, Nick et al.(2018) ¹²¹
AOEV	OM, OS, OG, OCA,OAM, OP, OA	800 - 2500 nm	SIMCA	KARUNATHILAKA, Sanjeewa R. et al. (2016) ¹²²
AOEV	OS, OG, OM, OC	3125 e 15385 nm	PLS	FILODA, Paula Freitas et al. (2019) ¹²³

AOEV	OS, OM, OG, OC	708 a 1676 nm	PCA, PLS	BORGHI, Flavia T. et al (2020) ¹²⁴
AOEV	OM, OA, OP,AR	833 – 2500 nm	PLS, PCA	AZIZIAN, Hormoz et al. (2016) ¹²⁵
AOV	OS, OG, OGE	833 – 2703 nm	PCA, PLS	WENG, Xin-Xin et al.(2009) ¹²⁶
AO	OF	400 a 2500 nm	SiPLS, iPLS	XIAN, R. Y. et al. ¹²⁷
AOEV	OS, OM, OC, OG, AOV, AOL, AO	1000 a 2500 nm	PLS-DA	VIEIRA, Laurence Souza et al. (2021) ¹²⁸

Óleo de milho - OM, óleo de canola – OC, óleo de girassol - OG, óleo de soja - OS, óleo de noz -ON, óleo de avelã – OA, óleo de cartamo – ACA, óleo de amendoim – OAM, óleo de gergelim – OGE, óleo de fritura - OF, azeite refinado – AR, azeite de oliva virgem – AOV, azeite oliva lampante – AOL, azeite desodorizado – AD.

Destaca-se entre os trabalhos mais publicados, o estudo da aplicação *NIR* para misturas de azeite com diferentes adulterantes e classificados e quantificados a partir de PCA e PLS. Os autores afirmam que os modelos de PLS construídos são capazes de prever os óleos vegetais com limites variando de 0,56-1,32% em massa. Bem como os modelos PCA de classificar as misturas com aproximadamente 100% de certeza. Trazendo grande relevância a associação de *NIR* e quimiometria para o controle de qualidade de azeite.¹⁷⁹

Em 2018, Vanstone et al. (2018)¹²¹ aplicaram *NIRS* e PCA para detectar não conformidades do AOEV sem o uso de amostras de referência (ou seja, sem conhecimento de origem ou tipo de adulterante). Portanto, o conjunto de dados consistiu em 47 amostras de AOEV e cinco amostras de quatro óleos vegetais (soja, milho, girassol e canola) de mercados canadenses. O modelo detectou adulteração acima de 10% em peso. Com o uso de amostras de referência, a técnica se mostrou capaz de detectar concentrações de adulterantes abaixo de 2,7% em peso. Da mesma forma, Filoda et

al. (2018)¹²³ [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026265X20323134 - b0115](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026265X20323134-b0115) investigaram a aplicação de *NIR* usando refletância total atenuada com espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (do inglês, Attenuated total reflection - Fourier transform infrared - ATR-FTIR) combinada com regressão de mínimos quadrados parciais (PLS) para determinar o teor de ácidos graxos oleico, linoleico e linolênico em azeite adulterado pelos óleos vegetais (soja, canola, girassol e milho). O erro médio para valores do conjunto de predição (RMSEP) de 4,44, 1,92 e 0,62% foi obtido para os ácidos oleico, linoleico e linolênico.

Recentemente, VIEIRA, Laurence Souza et al. (2021)¹²⁸ aplicou o uso da técnica FT-*NIR* para desenvolver modelos robustos individuais de PLS-DA para discriminar diferentes tipos de azeite de oliva e óleos vegetais de AOEV. O melhor modelo construído para classificar os azeites, apresentou valores de especificidade e precisão de 99,7% e 99,9% respectivamente. E entre os modelos para classificar os adulterantes apresentou especificidade de 96% e acurácia de 95,5% para as variedades de óleo vegetal. Os autores afirmam que é possível discriminar os tipos de azeite, bem como adulterantes presentes nas amostras.

No que tange a aplicação de *NIR* portáteis, o trabalho de BORGHI, Flavia T. et al (2020)¹²⁴ se destaca entre os artigos mais citados segundo a pesquisa realizada na base de dados “web of science” no dia 28 de janeiro de 2022. Este trabalho será mais bem discutido na sessão 4. Aplicação 1.

2.4.4 Portabilidade *NIR*

O progresso nos instrumentos *NIR* possibilitaram a miniaturização, principalmente no que tange a ausência das partes móveis destes equipamentos, destaca-se o avanço nos seletores de comprimentos de onda que auxiliaram na redução do tamanho e sem diminuir a robustez da técnica *NIR*.¹⁰⁹

Na literatura, destaca-se o trabalho de Mitchell *et al.* (1990)¹²⁹ como o primeiro *NIR* portátil. Esse trabalho avaliou teores de fitomassas em alfafa para o ganho de peso em ovelhas, utilizando os comprimentos de onda na região próxima, adquirindo os espectros no modo de reflectância difusa. Os resultados encontrados possibilitaram

o uso do *NIR* portátil para avaliar fitomassas em alfafa. Outro trabalho que se destacou entre os pioneiros a descrever um espectrômetro *NIR* portátil foi feito por Lysaght e colaboradores em 1991, o equipamento era acoplado a um computador e utilizou uma lâmpada de tungstênio como fonte de radiação, o seletor de comprimento de onda utilizado era baseado em dispersão por grade de difração e como detector arranjos de diodos de silício. Os autores também reportam que o equipamento pesava aproximadamente nove quilos e apresentava 15x35x45 cm de tamanho (altura, largura e comprimento).¹³⁰ Anos depois Malinen *et al.* (1998)¹³¹ também relataram a construção de um espectrômetro na região do (*NIR*), com 32 comprimentos de onda, contendo como fonte, uma lâmpada de *LED* a fim de otimizar processos automotivos. Desde então os equipamentos portáteis para análises químicas começaram a aparecer, principalmente a partir dos anos 2000.¹³²

O número de pesquisas envolvendo espectrômetros *NIR* miniaturizados está em crescimento, isso se deve as aplicações *in loco* frente ao uso da espectroscopia de bancada que é exclusivo de uso em laboratório.¹³³

Além disso, se justifica devido às vantagens já observadas nos equipamentos de bancada, como baixos resíduos químicos em vista do pouco ou nenhum preparo de amostra, as leituras são rápidas, possui menor custo quando comparados aos de bancada e a facilidade de analisar as amostras em campo, diminuindo assim riscos de contaminação, tempo e custos de transporte.^{131,132}

A instrumentação de equipamentos *NIRs*, seguem o mesmo esquema dos instrumentos de espectroscopia de absorção ótica. Contendo uma fonte de luz, seletor de comprimento de onda e um detector. O seletor de comprimento de onda pode diferir nos equipamentos, podendo ser dispersivo (grade de difração), possibilitando selecionar comprimentos de onda, e os dispositivos de transformada de Fourier, este permite que todos os comprimentos de onda cheguem ao detector, melhorando a relação sinal- ruído do espectro.¹³³

A miniaturização dos equipamentos *NIRs*, no entanto, utilizam de tecnologias e ferramentas ligeiramente diferente dos convencionais, para aquisição dos espectros. Como fonte de luz, duas opções são mais utilizadas, lâmpada de tungstênio, produzindo uma luz intensa com alto brilho, seu perfil de emissão vai depender da temperatura do filamento bem como da parede da lâmpada. Outra sugestão é a

utilização de diodos emissores de luz (*LEDs*), como vantagens esta última fonte, apresenta pequeno consumo de energia, dimensão compacta, são baratos e necessita de baixa tensão para operação. Porém, possui uma faixa estreita de emissão.^{133,134}

Os seletores de comprimento de onda, possuem uma variedade maior. Os mais comuns são filtro variavelmente linear (*LVF*), matriz de micro espelhos, interferômetro Fabry-Pérot. O primeiro, é muito econômico e funciona como um filtro a partir de um revestimento óptico. Ademais, os espectrômetros podem possuir caminhos ópticos curtos, tendo equipamentos mais compactos. A partir da escolha do seletor, toma-se a decisão quanto ao detector utilizado.¹³³

Quanto aos detectores mais usuais nesses equipamentos portáteis, observa-se os baseados em arranjos de diodo de InGaAs, que possibilita um tempo de resposta mais rápida, boa relação sinal-ruído, e outras vantagens.¹³⁵ A **Tabela 5**, faz uma relação de alguns equipamentos *NIRs* portáteis comercializados e suas principais características, conforme disponível no site de seus fabricantes. Não foram listados todos os equipamentos já disponibilizados no mercado, apenas aqueles que apresentam maiores informações, e ainda sim alguns não apresentam todas as informações destacadas.

Tabela 5. Espectrômetros *NIR* portáteis e suas principais características, considerando as informações disponíveis de seus fabricantes.

Fabricante	Modelo	Resolução espectral (nm)	Faixa espectral (nm)	Detector (Elementos)	Relação sinal/ruído	Taxa de varredura ou tempo de integração	Peso
Stellar Inc.	Red-Wave-Micro	10	1750-2150	InGaAS (1)	5000: 1	0,1–10 ms	<125 g
Texas Instruments	Nano <i>NIR</i>	10	900–1700/1350-2490	Elemento único (1)	6000: 1	0,3 s	85 g

Soluções Viavi/JDSU	MicroNIR OnSite	12-20	908-1676	InGaAs (128)	25000: 1	0,25-0,50 s	100g
Young Green	NIR Scan	10-12	900–1700	InGaAS (1)	6000: 1	0,3 s	120 g
SI-Ware Systems	NeoSpectra-Micro	8-16	1250–1700	InGaAs (1)	2000: 1	2 s	-
Spectral evolution	LF – 2500	10-20	1000–2500	InGaAs (256)	5000:1	0,5–15 ms	1,5 kg
IOR3 Srl	PoliSpec NIR	2,2	900–1700	InGaAS (256)	-	0,1–100 s	1,5 kg
ThermoFisher Scientific	MicroPhasir	11	900-1690	InGaAs (1)	-	~1 s	1,25 kg
Felix Instruments	F 750	8–13	310–1100	Si (256)	-	4-6 s	1,05 kg
Ocean Optics	Flame NIR	~10	950-1650	InGaAs (128)	6000: 1	1 ms - 60 s	265 g
Spectral engines	NIRONE 2.0	16–2	1550–1950	InGaAS (1)	10000: 1	0,5 s	15 g

Segundo outras informações disponíveis no site dos fabricantes, observa-se que as miniaturizações destes equipamentos listados apresentam variação de peso de 15 gramas a 1,5 quilos, sendo possível colocá-los na palma da mão. Há também variação nos modelos citados desses equipamentos. Além disso, a exportação dos dados adquiridos pode ser feita via USB quando conectado a algum dispositivo como computadores, *tablets*, celulares etc., ou por servidores online, conexões *WI-FI* ou *bluetooth*.

A maioria desses instrumentos utilizam fontes de energia elétrica para a incidência da radiação *NIR*, que na maioria são feitas medições de reflectância difusa, destaca-se o *MicroPhazir* e *MicroNIR* que realizam leituras em transmitância e transreflectância, atribuindo maiores aplicações destes equipamentos em diversas áreas¹³⁶

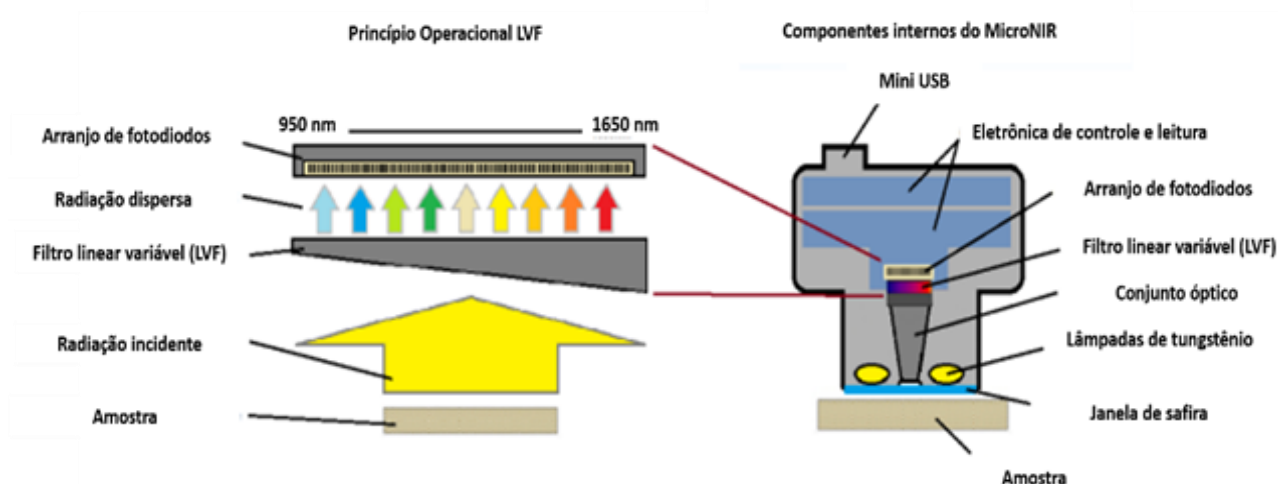
2.4.5 Micro espectrômetro portátil na região do infravermelho próximo (*microNIR*)

O equipamento *MicroNIR* foi desenvolvido pela Viavi *Solutions* para a leitura de espectros principalmente para reflexão difusa na região do próximo e posteriormente para submissão dos dados a tratamentos quimiométricos.

O tamanho miniaturizado e a robustez desse equipamento se devem ao elemento dispersivo utilizado (*LVF*) e ao detector (*InGaAs*), não possuindo partes móveis. Seu funcionamento depende da incidência da radiação, o que permite a seleção dos comprimentos de onda (multicanal) que passarão e chegarão ao detector, acarretando uma melhor qualidade do espectro e menor tempo de medição.¹³³

Na **Figura 6** demonstra como é o funcionamento do equipamento *MicroNIR*. O *LVF* é um filme fino que é colocado sobre o arranjo de fotodiodos com 124 sensores *InGaAs*.^{107, 141} Os sensores são responsáveis por uma faixa estreita de comprimentos de onda no espectro *NIR*, que para esse equipamento varia de 908 nm a 1676 nm. O tempo de integração da faixa espectral e o número de varreduras para calcular a média podem melhorar a relação sinal/ruído, e esses parâmetros podem ser monitorados ao conectar o *MicroNIR* a um computador ou outro tipo de dispositivo eletrônico através do USB. As demais informações estão detalhadas na **Tabela 5**.

Figura 6. Esboço do princípio operacional *LVF* e os compartimentos internos do *MicroNIR*.



Fonte: Adaptado de Pederson C. et al. (2014).¹³⁷

Os diferentes modelos do *MicroNIR*, estão sendo melhorados a cada nova versão, os mais recentes adicionaram a função de correção de temperatura, e com isso melhoraram a estabilidade em função do tempo de análise.¹³³

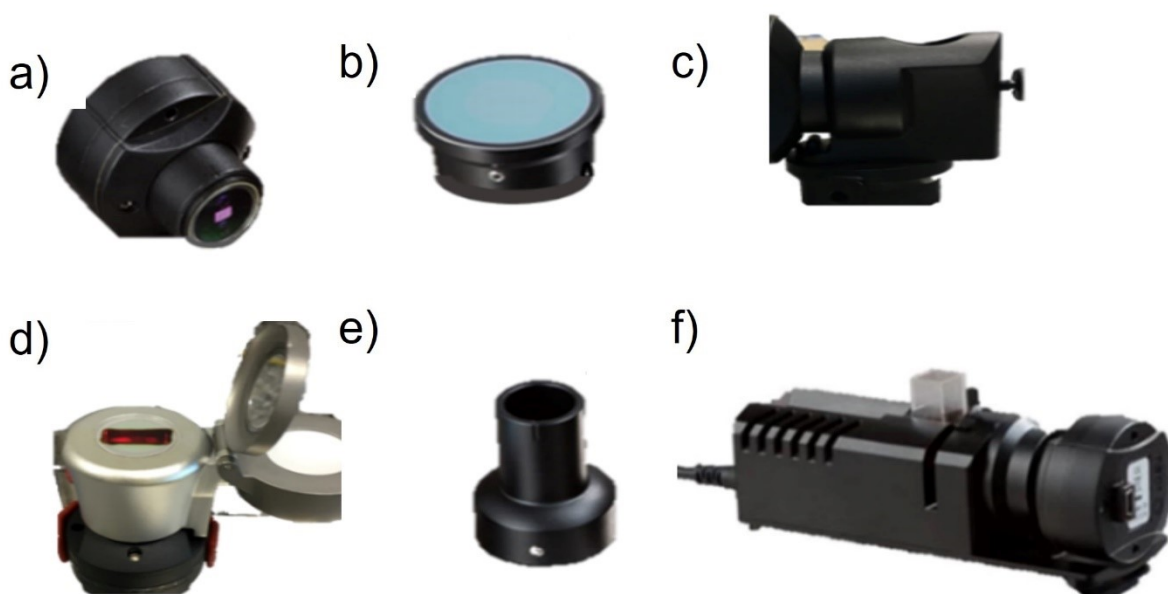
Entre os modelos, destaca-se o *MicroNIR 1700*, esse utiliza interface USB, tendo como obrigatoriedade uma contínua conexão a um dispositivo (celular,

computador ou tablet, por exemplo). Uma outra versão é o *MicroNIR OnSite*, utilizados em processos de monitoramento online e linha de montagens, principalmente nas indústrias. Outros modelos também são utilizados como os *MicroNIR PAT* e suas variações, em que se modifica a resistência a agentes externos, utilização de sonda de fibra para leitura das amostras e outros recursos que podem aumentar a robustez do método.¹³³ O *microNIR 1700*, representado na **Figura 7**, possui diferentes acessórios para leitura das amostras.

O *MicroNIR* tem demonstrado potencial em análises químicas, por sua confiabilidade, rapidez analítica, além dos instrumentos serem compactos, sensíveis e não destrutivos.^{138,139,140}

Outras vantagens que o *microNIR* oferece são baixos custos de aquisição e operação; baixo consumo de energia; baixo ou nenhum uso de reagentes; pouco ou nenhum tratamento da amostra; alta segurança do analisador; fácil operação, além de possibilitar monitorar e determinar propriedades das amostras no local de coleta e eliminando possíveis fontes de erros a partir do transporte de amostras.¹⁴¹

Figura 7. Acessórios do equipamento *MicroNIR 1700*. a) *MicroNIR*; b) Colar com molas; c) suporte de leitura lateral do do vial; d) suporte de leitura para gotas de líquido e) Suporte de leitura do fundo do vial; f) Suporte de leitura de cubeta para líquidos.



O micro*NIR* possibilita o monitoramento de processos, a caracterização de amostras e a determinação de possíveis adulterantes, levando a um melhor controle de qualidade, reduzindo o tempo e custo de análises na indústria alimentícia,^{34,142} dentre outros setores.

Recentemente, o uso deste equipamento foi empregado para controle de qualidade de azeite de oliva. Yan, Stuijvenberg e Ruth (2019)¹⁴³ desenvolveram modelos de classificação (OCKNN, SIMCA e OCSVM) para 130 amostras de azeite comercial com intuito de diferenciar os graus de azeite (extravirgem, refinado e óleo de bagaço de azeitona). Os autores concluíram que a técnica *NIRs* portátil é promissora na distinção do grau de azeite de oliva. Santos *et al.* (2020)¹⁴⁴ utilizou o Micro*NIR* associado a análise de componentes principais e regressão de mínimos quadrados parciais para determinar a autenticidade de 60 amostras apreendidas pela polícia estadual do Espírito Santo e quantificar possíveis adulterantes como óleo de soja. Os modelos construídos a partir dos espectros *NIRs* foram capazes de classificar as amostras como não sendo AOEV, bem como a quantificação de óleo de soja em altos teores nas amostras. Outro trabalho utilizando o Micro*NIR* e ferramentas quimiométricas, foi feito para classificar e quantificar adulterações em AOEV. Os autores avaliaram também os métodos de aquisição de amostra, comparando as análises de transmitância e reflectância para AOEV, blenda com diferentes óleos vegetais e amostras comerciais de AOEV. Os modelos de classificação se mostraram eficientes para distinguir os azeites de óleos vegetais e amostras comerciais. Os modelos quantitativos obtiveram precisão de 0,5 a 1,8% em massa para o modo de transmitância e de 1,7 a 4,6% em massa para o modo de reflectância.¹²⁴

Assim como para os instrumentos *NIRs* de bancada, os portáteis, mesmo com uma faixa menor de leitura, geram como resposta, uma grande quantidade de informação e dados, estes resultados muitas vezes são muito difíceis de interpretar sem auxílio de outras ferramentas. A evolução computacional possibilitou as análises multivariadas, e assim o uso de ferramentas matemáticas e estatísticas para a análise e a interpretação dos dados de equipamentos analíticos mais modernos como os gerados pelos espectrômetros *NIR*.¹⁴⁵

2.5 QUIMIOMETRIA

A quimiometria possui muitas definições, desta maneira, Svante Wold (1972)¹⁴⁶ a definiu como uma ferramenta capaz de extrair informações químicas a partir de modelos matemáticos. Posteriormente um conceito mais amplo foi definido, que a caracteriza como uma disciplina na área de química que utiliza a matemática, lógica e a estatística a fim de retirar a máxima informação relevante dos dados químicos e otimização e planejamentos de experimentos.^{147,148} Além disso, a União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC, do inglês *International Union of Pure and Applied Chemistry*) atualiza o conceito citando-a como uma ciência que relaciona “medições feitas em um sistema ou processo químico ao estado do sistema por meio da aplicação de métodos matemáticos ou estatísticos”.¹⁴⁹

Desta forma, a quimiometria, ainda pode ser dividida de maneira generalizada entre planejamento de experimentos, reconhecimento de padrões, no qual inclui métodos supervisionados e não supervisionados, e a calibração multivariada.¹⁴⁸

Os modelos de reconhecimento de padrões são utilizados para a construção de modelos qualitativos de classificação. Os métodos de KNN (do inglês, *Kth Nearest Neighbor*), SIMCA (do inglês, *soft independent modeling of class analogy*) e PLS-DA (do inglês, *Partial Least Squares-Discriminant Analysis*), são considerados modelos supervisionados. Para os modelos não supervisionados, as informações sobre origem das amostras não são utilizadas na construção desses modelos como por exemplo a PCA (do inglês, *principal component analysis*). Este, pode ser considerado um dos métodos quimiométricos de classificação mais aplicado.¹⁴⁸

Os principais métodos de calibração multivariada clássicas são mínimos quadrados clássicos (do inglês, *Classical Least Squares* - CLS), e regressão linear múltipla (do inglês, *multiple linear regression* - MLR), estes dois métodos utilizam todas as informações espectrais para a construir os modelos de predição, incluindo as informações que são de maneira geral irrelevantes para a construção destes. Outro método de calibração é a regressão de mínimos quadrados parciais (do inglês, *partial least square* - PLS), no qual difere dos modelos anteriores, pois leva em consideração todas as variáveis relevantes aos modelos e desprezando as variáveis com nenhuma relevância.^{148,150,151} Sendo este último mais aplicado associado a trabalhos analíticos.

2.5.1 ANÁLISE POR COMPONENTES PRINCIPAIS – PCA

A PCA, é utilizada para projetar dados multivariados em uma menor dimensão, ou seja, diminuindo a dimensão do conjunto de dados originais de maneira a perder o mínimo de informação. Este método, consiste em uma transposição da matriz de dados, em que há a maximização da variância da matriz original. Essa redução dimensional é feita a partir da projeção dos dados em um subespaço vetorial, em que os novos eixos são variáveis ortogonais entre si, denominadas componentes principais (do inglês, *principal componentes* – PCs). Estas componentes armazenam a maior quantidade informação oriundas da matriz original.^{151,152}

O modelo pode ser descrito a partir da decomposição da matriz de dados $\mathbf{X}_{m \times n}$ em que m são as amostras, organizadas nas linhas, e n as variáveis organizadas nas colunas em duas matrizes $\mathbf{T}$ (amostras x componentes principais) e $\mathbf{P}$ (variáveis x componentes principais), que são matrizes de escores e pesos, respectivamente.^{106,148} Do ponto de vista matemático, o modelo é calculado a partir da **equação 3**.

$$X = TP^T + E$$

Equação 3

Além das matrizes de escores, que são as amostras projetadas nos novos eixos (PCs) e a matriz de pesos, que são as informações das variáveis armazenadas nas PCs, há também a matriz de resíduos $\mathbf{E}$, que armazena as variâncias que não foram incluídas nessas componentes.^{106,148}

As componentes principais são formadas a partir do produto da entre os vetores da coluna da matriz e o vetor coluna dos *loadings*, seguindo então de forma análoga da multiplicação dos vetores ($t1 \times p1$), ($t2 \times p2$) e assim por diante obtendo dessa maneira as componentes. As novas componentes formadas são ortogonais umas às outras, ou seja, elas são independentes, e assim favorecendo o modelo descrever a máxima variância.^{148,153}

A associação de dados instrumentais ao modelo PCA, traz como vantagens a possibilidade de reduzir a matriz de dados, sem que se perca informações relevantes,

facilitando o processo de interpretação dos dados.¹⁴⁸ Principalmente para análises de espectros *NIRs*, em que a interpretação dos espectros é mais difícil.

2.5.2 MODELAGEM SUAVE INDEPENDENTE DE ANALOGIA DE CLASSE - SIMCA

O método de modelagem suave independente de analogia de classe (SIMCA) é utilizado para classificar amostras em um espaço multidimensional e tem base no reconhecimento de padrões e similaridade entre as amostras.¹⁵¹ De maneira geral, o modelo SIMCA, classifica uma amostra introduzida a uma classe, quando esta tem sua resposta instrumental ou variáveis semelhantes ao grupo de originou aquela classe.

Este método se baseia no modelo PCA, primeiramente se faz a decomposição da matriz **X**, matematicamente expressa na equação 3. Em um segundo processo, são estimados os valores das distâncias de escores e as distâncias ortogonais as amostras de treinamento de maneira individual, a partir das componentes principais, as chamadas hipercaixas. A terceira etapa na construção do modelo é a mais importante, pois os limites para as classes são estimados, com base nos erros. Esses erros podem ser, amostras que não é classificada na classe certa ou amostras classificadas na classe errada.¹⁵⁴

Após o modelo construído, está apto para classificar amostras desconhecidas, em que podem ser classificadas como pertencentes a classe ou não. A essa classe, a delimitação ocorre pelas distâncias calculadas na segunda etapa. (Os cálculos estão detalhados apresentados na literatura)^{154,155}

Para avaliar a predição do modelo, as figuras de mérito de sensibilidade e especificidade são utilizadas (equação 4 e 5)

$$\text{Sensibilidade (\%)} = (100 \times (VP)) / ((VP + FN))$$

Equação 4

$$\text{Especificidade (\%)} = (100 \times (VN)) / ((VN + FP))$$

Equação 5

Onde, FN é falso negativo, FP - falso positivo, VP - verdadeiro positivo e VN verdadeiro negativo.¹⁵⁶

2.5.3 REGRESSÃO POR MÍNIMOS QUADRADOS PARCIAIS - PLS

Além do método de classificação PCA na quimiometria, o PLS, tem sido um dos métodos mais aplicados para calibração multivariada em química analítica. Esta ferramenta matemática, pode-se apresentar de duas formas, conhecidas como PLS1 e PLS2. A diferença entre os dois está principalmente relacionada as propriedades a serem modeladas. O PLS1, apenas uma propriedade vai ser modelada, estando então esta propriedade em um vetor. Para o PLS2, outras propriedades serão modeladas ao mesmo tempo, e com isso armazenadas em uma matriz Y .¹⁵⁷ Neste trabalho abordaremos a aplicação do modelo de PLS1.

O PLS utiliza uma matriz de dados X , para construir modelos para predição, principalmente quando o conjunto de dados tem muitas variáveis correlacionadas a uma matriz Y , caso tenha mais de uma propriedade a ser investigada, ou a um vetor y , no caso de apenas uma propriedade.¹⁵⁸ Inicialmente as matrizes são decompostas em componentes principais, destaca-se o algoritmo NIPALS para tal finalidade, no entanto o objetivo do PLS é extrair a máxima covariância da matriz X em y , estas decomposições ocorrem simultaneamente. As PCs originadas são transformadas a partir da rotação dos dados e com isso são renomeadas de variáveis latente (VL). As equações 4 e 5 abaixo correlacionam matematicamente o modelo PLS.¹⁵⁷

$$X = T_A P_A' + E \quad \text{Equação 4}$$

$$y = T_A q + e \quad \text{Equação 5}$$

Em que A são as quantidades de variáveis latentes utilizadas no modelo; P_A e T_A são as matrizes de pesos e escores; E é a matriz de resíduo de X ; y é o vetor com os valores da propriedade de interesse; q é o vetor dos coeficientes de regressão; e é vetor de resíduos de y .^{157,159}

A correlação entre os dados para cada variável latente e feita alterando os valores das matrizes de escores, com isso é possível modelar a regressão de PLS. A equação 6, representa a equação linear representando a máxima covariância da matriz X com o vetor y .

$$y = X.b + e \quad \text{Equação 6}$$

O coeficiente **b**, representa o vetor de regressão que considera a matriz de Scores (decomposta da matriz **X**) e o vetor de *loadings* (decomposta do vetor **y**), além disso esse coeficiente também está correlacionado a matriz de covariância dos dados de **X** em **y**. O **e**, são os erros da regressão linear.¹⁵⁷

A quantidade de VL utilizadas no modelo deve ser levada em consideração, visto que, a escolha de muitas VLs pode fazer com o que o modelo construído seja baseado em excesso de informações, inclusive as que não são de interesse. O contrário, também pode gerar prejuízos ao modelo, pois ele pode não conter as informações necessárias para a predizer a propriedade de interesse.¹⁶⁰

Para realizar a escolha certa do número de VL, se torna importante a validação do modelo, e isso ocorre primeiramente com a separação das respostas instrumentais em dois conjuntos. O primeiro utilizado para a calibração e outro chamado teste, tem a finalidade de avaliar a predição do modelo e avaliar para que não haja sobreajuste.¹⁶⁰

Os métodos possíveis para a validação do modelo são a validação externa e interna, esta última, conhecida com CV (do inglês *cross validation*). Neste método, são avaliados os dados que são separados em conjuntos e subconjuntos, aplicados de tal maneira que todas as amostras sejam utilizadas na calibração e teste, de maneira que não haja sobreajuste do modelo em que a mesma amostra esteja no conjunto de calibração e teste.¹⁵⁹

A repeated double Cross Validation (rdCV) é um algoritmo utilizado para otimizar a complexidade dos modelos de regressão e pode ser usado quando a faixa amostral é pequena gerando uma estimativa realista dos erros de predição. Assim, esse método é bem empregado a conjuntos de dados menores. As amostras são divididas e são feitas repetidas vezes um loop de calibração e para cada vez que é feita a calibração com determinado conjunto, um outro conjunto de teste é aplicado ao modelo e com isso valores de Y previstos são avaliados e determinados os parâmetros ótimos. Isso é feito de maneira que todas as amostras sejam avaliadas como calibração e como teste em algum momento. Com isso, no rdCV a dupla validação cruzada é feita muitas vezes (normalmente umas 100 vezes) com as divisões aleatórias dos conjuntos.¹⁶⁵

Para avaliar o modelo, outras métricas também são calculadas, como a raiz quadrada do erro médio de validação cruzada (do inglês, *Root Mean Square Error of Cross Validation* – *RMSECV*), os coeficientes de regressão linear de calibração (R^2_c) e predição (R^2_p), os valores da raiz quadrada dos erros médios de calibração e predição (do inglês, *Root Mean Square Error of Calibration* – *RMSEC* e *Root Mean Square Error of Prediction* - *RMSEP*).^{160,161,162}

As ferramentas quimiométricas, de modo geral, tem sido comumente empregada às técnicas analíticas, e como já discutido anteriormente, principalmente a dados de *NIRs* e azeite.

3 OBJETIVO GERAL

Avaliar o desempenho do micro*NIR* para classificar e quantificar adulteração de azeites de oliva extravirgem com óleos vegetais a partir de análise de dados multivariados.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o melhor método de aquisição e leitura de amostras a partir dos acessórios disponíveis do micro*NIR*;
- Identificar os principais adulterantes (óleo de soja, milho, canola e girassol) em azeite extravirgem por do Micro*NIR*;
- Quantificar a adulteração em azeite extravirgem por do Micro*NIR* e PLS;
- Construir modelos quimiométricos de calibração para cada curva de azeite/óleo vegetal estudado a partir dos dados obtidos por Micro*NIR*.
- Avaliar o uso do micro*NIR* no controle da qualidade de azeites apreendidos no Espírito Santo.

4 APLICAÇÃO 1

O artigo que será apresentado está publicado na revista *Microchemical Journal*, volume 159, 105544 disponível no link:

[https://www-](https://www-sciencedirect.ez43.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0026265X20323134?via%3Dihub)

[sciencedirect.ez43.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0026265X20323134?](https://www-sciencedirect.ez43.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0026265X20323134?via%3Dihub)
[via%3Dihub](https://www-sciencedirect.ez43.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0026265X20323134?via%3Dihub)

Quantification and classification of vegetable oils in extra virgin olive oil samples using a portable near-infrared spectrometer associated with chemometrics

Resumo

O azeite é um produto alimentar importante para a saúde humana. A adição de óleos vegetais é a forma mais comum de adulteração de óleo. Neste artigo, foi desenvolvida uma metodologia para identificar e estimar adulterações em azeite de oliva extravirgem (AOEV) usando um espectrômetro portátil de infravermelho próximo (MicroNIR). Dois modos diferentes de aquisição espectral foram testados: refletância e transmitância. Os conjuntos de amostras constituem misturas binárias de AOEV com óleo de soja, girassol, milho e canola. Modelos de regressão de mínimos quadrados parciais (PLS) foram construídos para quantificar adulterações em azeite extravirgem. Após, foi verificado o teor de óleo de soja em 12 azeites adquiridos em um mercado local. Além disso, as propriedades físico-químicas: acidez, índice de peróxido, e a absorbância ultravioleta das amostras comerciais foram determinadas seguindo o método padrão do Instituto Adolfo Lutz e CEE n. 2568/91. A precisão dos modelos PLS foi de 0,5 a 1,8% em peso para o modo de transmitância e de 1,7 a 4,6% em peso para o modo de refletância. As adulterações das amostras comerciais de azeite, as misturas binárias de amostras comerciais, os óleos vegetais e as misturas binárias AOEV/óleos vegetais foram avaliadas por análise de componentes principais (PCA) e analogia de classe de modelagem independente suave (SIMCA). Os modelos PCA e SIMCA distinguiram as amostras comerciais de acordo com as informações contidas em seus rótulos; além disso, identificou as amostras de azeite no conjunto de dados com as misturas. Esses resultados estão em excelente concordância com os resultados físico-químicos que corroboram com os limites de regulação.

4.1 METODOLOGIA

4.1.2 Amostras

Uma amostra AOEV foi escolhida para produzir misturas binárias com óleos vegetais (soja, girassol, milho e canola). Este AOEV foi escolhido, por ter sido descrito na lista controle de qualidade do MAPA, como um dos azeites que sempre esteve dentro das conformidades nos últimos cinco anos. Outras 12 amostras de azeite de oliva, foram adquiridas em um mercado local (no estado do Espírito Santo, região sudeste do Brasil) e nomeadas aleatoriamente como amostras de **A** a **L**. As informações nutricionais e demais parâmetros contidos no rótulo das amostras foram descritos nas **Tabelas 1S a 5S** disponíveis no Anexo 1.

As misturas binárias de AOEV com óleos vegetais (soja, milho, girassol e canola) foram preparadas em triplicata. Para isso, uma massa total de 4 g do AOEV adulterado com 19 diferentes concentrações de óleo vegetal (0; 1; 3; 5; 10; 15; 20; 25; 30; 35; 40; 45; 50; 55; 60; 70, 80, 90 e 100% em massa foram obtidos, cuja média dos respectivos valores de massa estão descritos nas **Tabelas 6S - 9S** (ANEXO 1). Este procedimento gerou um conjunto de 228 amostras de AOEV com óleos vegetais. Todas as medições no microNIR também foram realizadas em triplicata de forma aleatória.

Para a construção do modelo SIMCA, outras sete marcas de AOEV foram adquiridas no mercado local nas mesmas condições de armazenamento. As amostras foram abertas, pesadas e os espectros adquiridos no mesmo dia. Em seguida, foram preparadas blendas binárias entre essas sete marcas de AOEV. As misturas de AOEVs foram pesadas nas proporções de 25:75 e 50:50% em massa. As massas das pesagens estão descritas na **Tabela 10S**, no Anexo 1). O conjunto final dessas blendas é composto por 40 amostras, onde foram adquiridos os espectros no microNIR em triplicata aleatória.

4.1.3 Propriedades físico-químicas

4.1.3.1 Acidez

A acidez foi determinada por titulação com solução de NaOH 0,01 mol L⁻¹.¹⁶³ Para o preparo da amostra, foram utilizados 2 g de amostra com 25 mL de solução de éter dietílico:etanol (2:1) e fenolftaleína como indicador. Todas as análises foram realizadas em triplicado.

4.1.3.2 Peróxido

O valor de peróxido foi determinado por titulação com 0,01 mol L⁻¹ de tiosulfato.⁴² Foram utilizados 2,5 g de amostra com 10 mL de cloroformio, 15 mL de ácido acético glacial e 1 mL de iodeto de potássio saturado. Em seguida, foram adicionados 30 mL de água e o indicador, que foi 1 mL de uma solução saturada de amido.

4.1.3.3 Espectrofotometria ultravioleta (UV)

As leituras foram feitas em espectrofotômetro de feixe duplo UV-Vis, modelo UV-Vis Cary 60, da Agilent Technologies (Santa Clara, CA – EUA).⁴² Uma solução foi preparada a partir de 0,25 g de amostra com 25 mL de ciclohexano. Os coeficientes de extinção foram obtidos em 232 nm, e 270 nm e ΔK foram obtidos pela **Equação 1**:

$$K_{270} = \frac{A_{270}}{cl} \quad K_{232} = \frac{A_{232}}{cl} \quad \Delta K = A_{270} - \frac{A_{266} + A_{274}}{2} \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde, K_{232} = Coeficiente de extinção (absortividade) em $\lambda = 232$ nm; K_{270} = Coeficiente de extinção em $\lambda = 270$ nm; ΔK = Coeficiente de extinção na maior absorção em 270 nm; A_{270} , A_{232} , A_{266} e A_{274} são as absorbâncias, c é a concentração de AOEV (g por 100 mL), e l é o comprimento do caminho da luz (1 cm).

4.1.3.4 *MicroNIR* e quimiometria

Utilizou-se um espectrômetro portátil *MicroNIR*™ Pro 1700 em miniatura e versão de software 2.1, da Viavi Solutions Inc (Santa Rosa, CA - EUA). Os espectros foram coletados na faixa de 1676 a 908 nm, com 100 varreduras, tempo de integração de 8 ms, 125 pontos por varredura e uma resolução de 6,20 nm entre os pontos.

As amostras foram analisadas em dois acessórios (para modos de transmissão e refletância), a fim de comparar sua influência no perfil espectral. Para o modo de transmissão foi utilizada uma cubeta de quartzo de 2 mL com caminho óptico de 1 cm. Para o modo de refletância difusa foi utilizado frasco de 4 mL de borossilicato. O feixe de luz atinge o fundo do frasco para ser realizado a coleta dos dados.

Todos os espectros *NIR* foram pré-processados usando a primeira derivada do algoritmo Savitzky-Golay¹⁶⁴ com um polinômio de segunda ordem e janela de sete pontos. Os espectros médios da amostra triplicada foram usados para construir modelos qualitativos e quantitativos. Todos os cálculos foram realizados usando o MATLAB Software 7.0 (R2013a).

Modelos PLS foram construídos para cada um dos quatro conjuntos de misturas AOEV/óleo vegetal (AOEV/soja, AOEV/milho, AOEV/girassol e AOEV/canola). Utilizou-se a validação cruzada (do inglês, *repeated double cross-validation* - RDCV)¹⁶⁵ e foi selecionado o número ótimo de variáveis latentes para a construção dos modelos. O conjunto de teste foi utilizado para avaliar a acurácia do modelo por meio da raiz quadrada média do erro de predição (RMSEP) (**Eq. 4**) .

$$RMSEP = \sqrt{(1/npred \sum_{i=1}^{npred} (y_i - \hat{y}_i)^2)} \quad (\text{Eq. 4})$$

Onde, $npred$ é o número de amostras no conjunto de teste, y_i e $\hat{y}_i$ são o valor de referência e predito, respectivamente, do teor de adulterante adicionado no AOEV (19 teores diferentes para cada AOEV /óleo vegetal). Em seguida, os valores de limite de detecção (LOD) foram calculados pelas equações 5 e 6, respectivamente¹⁶⁶:

$$LOD_{min} = 3.3 [SEN^{-2} var(x) + h0_{min} SEN^{-2} var(x) + h0_{min} SEN^{-2} var(y_{cal})]^{1/2} \quad (\text{eq. 5})$$

e

$$LOD_{max} = 3.3 [SEN^{-2} var(x) + h0_{max} SEN^{-2} var(x) + h0_{max} SEN^{-2} var(ycal)]^{1/2} \quad \text{(eq. 6)}$$

A SEN é a sensibilidade, $h0_{min}$ e $h0_{max}$ são as alavancagens mínima e máxima, $var(x)$ é a variância dos sinais espectrais e $var(ycal)$ é a variação na concentração das amostras do conjunto de calibração. Em seguida, os valores de limite de quantificação (LOQ) foram calculados pelas equações 7 e 8, respectivamente¹⁶⁶:

$$LOQ_{min} = 10 [SEN^{-2} var(x) + h0_{min} SEN^{-2} var(x) + h0_{min} SEN^{-2} var(ycal)]^{1/2} \quad \text{(eq. 5)}$$

e

$$LOQ_{max} = 10 [SEN^{-2} var(x) + h0_{max} SEN^{-2} var(x) + h0_{max} SEN^{-2} var(ycal)]^{1/2} \quad \text{(eq. 6)}$$

A precisão dos modelos PLS no modo de transmitância e refletância foi comparada pelo teste F e teste aleatório para precisão. Para isso, foi considerado o valor RMSEP para cada óleo vegetal. Além disso, os modelos PLS construídos foram aplicados para prever o teor de óleo vegetal nos doze azeites como conjunto de teste externa.

Para distinguir as amostras de AOEV, modelos de PCA foram construídos com misturas de óleo AOEV/vegetal (AOEV/soja, AOEV/milho, AOEV/girassol e AOEV/canola). Além disso, um modelo de classificação de classe, SIMCA, foi desenvolvido, cuja classe alvo (AOEV) foi atribuída às amostras comerciais de AOEV e às misturas binárias das diferentes marcas comerciais AOEV. O SIMCA é construído a partir de modelos de classificação baseados em PCA, onde é calculado um modelo de PCA para cada classe de objetos, de forma independente. Em seguida, novos objetos podem ser classificados pelo modelo de classe construído. Assim, fornece uma classificação probabilística.¹⁶⁷

O modelo SIMCA foi construído a partir dos espectros de transmitância do conjunto de dados da matriz de treinamento ($[X_{trein}]_{((57,125))}$) que foi composto da média espectral de dois lotes de marcas AOEV diferentes (13 espectros), 36 blendas binárias AOEV, como pertencimento à classe 1 (AOEV). Para a classe 2, os quatro azeites comerciais com diferentes porcentagens do óleo de soja (como identificado no rótulo), e quatro amostras de óleos vegetais (não AOEV).

Quatro conjuntos de dados de amostras testes, foram utilizadas para avaliar a capacidade do modelo em classificar AOEV com diferentes quantidades de adulterantes no azeite e a influência do tempo de envelhecimento na discriminação

das amostras de AOEV. Para isso, os espectros médios das misturas binárias AOEV/óleo vegetal (AOEV/soja, AOEV/milho, AOEV/girassol e AOEV/canola), com 18 espectros cada mistura, sete amostras comerciais de AOEV envelhecidas e oito amostras de AOEV foram adicionados ao conjunto de dados de teste. O modelo classificou cada amostra de teste como AOEV ou não pertence à classe AOEV. Os conjuntos de dados foram centrados na média e o modelo foi avaliado pela sensibilidade e especificidade, além da matriz de confusão.

4.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.2.1 Propriedades físico-químicas

A acidez do óleo está diretamente relacionada à qualidade e pureza da matéria-prima. Este parâmetro é usado para determinar o teor de ácidos graxos livres, expresso em porcentagem de ácido oleico para o azeite. Os ácidos graxos livres são formados a partir de uma reação de hidrólise. Consequentemente, é possível determinar mudanças durante a fabricação do AOEV. Os valores de acidez estão entre 0,13 e 0,63% em peso para amostras de AOEV (ácido oleico, % em peso) e 0,12-0,22 mg KOH g⁻¹ para óleos vegetais (**Tabela 6**. Resultados físico-químicos de acidez, índice de peróxido e valores de extinção ultravioleta.). Esses valores estão dentro dos limites permitidos pela regulamentação,^{8,48} onde é permitido 0,8 % em peso de ácido oleico para AOEV e 0,3 mg KOH g⁻¹ para óleos vegetais refinados. Não há limites estabelecidos para misturas de AOEV /óleos vegetais. No entanto, se comparadas à legislação AOEV, essas amostras estão em conformidade.

O índice de peróxido das amostras variou de 1,58 a 14,75 meq kg⁻¹. Os limites regulamentares são 10 meq kg⁻¹ para óleos vegetais refinados e 20 meq kg⁻¹ para AOEV. **A Tabela 6** ilustra que a maioria das amostras estão em conformidade, com exceção dos óleos de girassol e canola (14,75 e 11,36 meq kg⁻¹, respectivamente). Essa não conformidade pode estar relacionada ao envelhecimento após a abertura da embalagem. O tempo para realizar esses testes foi de três semanas, e isso pode interferir na oxidação dos óleos. Makni *et al.* (2015)¹⁶⁸ mostraram que os valores do

índice de peróxido aumentam em função do tempo de armazenamento de AOEV e óleos vegetais e apenas cinco dias são suficientes para observar a oxidação da amostra de óleo ultravioleta informam a identidade e o grau de preservação do AOEV e se o produto mudou para fabricação. O valor de absorbância em 270 nm refere-se à presença de trienos conjugados e produtos de oxidação secundária. Por outro lado, o valor de absorbância em 232 nm está relacionado à presença de compostos carboxílicos, dienos conjugados e hidroperóxidos de ácido linoleico.¹⁶⁹

De acordo com MAPA e ANVISA^{8,48}, os limites de AOEV para K_{270} , K_{232} e ΔK são 0,22, 2,5 e 0,01, respectivamente. Geralmente, os resultados encontrados concordam para amostras AOEV A – L (0,14 – 0,22 em K_{270} e 1,9 – 2,35 em K_{232}). Para as misturas AOEV /óleos vegetais, os valores ultrapassaram os limites estabelecidos pela legislação (0,27 – 0,70 em K_{270} , e 2,46 – 2,60 em K_{232}). Isso é esperado porque no processo de refino dos óleos vegetais é formado dieno e compostos conjugados de trienos (ácidos graxos insaturados).

Tabela 6. Resultados físico-químicos de acidez, índice de peróxido e valores de extinção ultravioleta.

Acidez (ácido oleico, m%)						Acidez (mg KOH g ⁻¹)	
A	0.42	E	0.25	I	0.05	Óleo de soja	0.12
B	0.38	F	0.24	J	0.63	Óleo de girassol	0.17
C	0.13	G	0.46	K	0.30	Óleo de canola	0.22
D	0.51	H	0.35	L	0.69	Óleo de milho	0.16
AOEV (amostra padrão)	0.32						
Índice de peróxido (meq Kg ⁻¹)							
A	12.33	E	7.50	I	1.59	Óleo de soja	2.77
B	6.37	F	5.56	J	8.32	Óleo de girassol	14.75
C	5.93	G	1.58	K	6.30	Óleo de canola	11.36

D	6.72	H	3.16	L	7.13	Óleo de milho	0.79
AOEV (amostra padrão)	10.09						
Absorção ultravioleta K270 K232						ΔK	
AOEV (amostra padrão)			0.16		1.93		-0.02
A			0.18		2.33		-0.02
B			0.22		2.01		0.00
C			0.19		2.05		0.00
D			0.66		2.46		-1.81
E			0.14		1.92		-0.02
F			0.17		1.90		0.00
G			0.33		2.60		-2.10
H			0.70		2.53		-0.77
I			0.27		2.49		-0.84
J			0.20		2.02		-0.02
K			0.14		2.35		-0.11
L			0.14		1.98		-0.02

4.2.2 *MicroNIR* e Análise Quimiométrica

Os espectros *MicroNIR* obtidos para a mistura óleo vegetal/AOEV, nos modos transmitância e reflectância são mostrados na **Figura 8a-h** e **Figura 9a-h**, respectivamente. Na primeira coluna (**Figura 8a,c,e,g** e **Figura 9a,c,e,g**) estão os espectros brutos de *microNIR* para as misturas de AOEV com óleo de soja, milho, girassol e canola, respectivamente. Enquanto na segunda coluna, observa-se a correção dos espectros após aplicar a primeira derivada (**Figura 8b,d,f,h** e **Figura 9b,d,f,h**).

Observa-se um perfil espectral semelhante para ambos os modos de aquisição transmitância e reflectância (**Figura 8** e **Figura 9**, respectivamente). Porém, o perfil dos espectros apresenta diferenças no que se refere a maior intensidade de absorção nos espectros no modo de reflectância, o qual também apresenta bandas mais alargadas prejudicando a resolução das bandas. Isso pode ser observado com a

expansão da região de 1100 – 1200 nm, para os dois modos de leitura após a aplicação da primeira derivada (**Figura 8b,d,f,h e Figura 9b,d,f,h**), com diferenças mínimas na região de 1100 e 1200 nm, para o modo de refletância, e no modo transmitância pode ser observado bandas menos alargadas e não sobrepostas.

As bandas majoritárias estão localizadas na região de 1100 a 1300 nm e de 1350 a 1550 nm para os modos de transmitância e reflectância. A região de 1100 – 1300 nm é característica do segundo harmônico da vibração CH, referindo-se aos grupos funcionais $-\text{CH}_2$, $-\text{CH}_3$ e $-\text{CH}=\text{CH}-$.^{170,179} Hourant *et al.* (2000)¹⁷¹ estudaram óleos e gorduras, notando que os óleos, os quais são ricos em ácidos graxos insaturados, apresentam uma absorção mais intensa próximo a 1164 nm. Ademais, os autores relacionam a banda de absorção em 1180 nm à vibração CH de ácidos graxos puros contendo ligações duplas do tipo cis. A região de 1390 – 1490 nm está relacionada a combinações de vibrações de estiramento de CH.^{95,181} Sinelli *et al* (2010)¹⁸⁰ reporta que o ácido oleico absorve energia na região aproximadamente de 1725 nm e outros compostos presentes no AOEV, como carotenóides e clorofila, absorvem a 450 nm e 670 nm, respectivamente.¹⁷⁰ No entanto, não foi possível evidenciar essas duas últimas bandas, pois o *NIR* portátil aqui utilizado absorve na faixa de 908 a 1676 nm.

Figura 8. Espectros *NIR* portáteis das misturas de óleos AOEV/soja, AOEV/milho, AOEV/girassol e AOEV/canola, respectivamente, para o modo de transmitância. Espectros originais (a, c, e e g) e espectros pré-processados (b,d,g, eh) com primeira derivada.

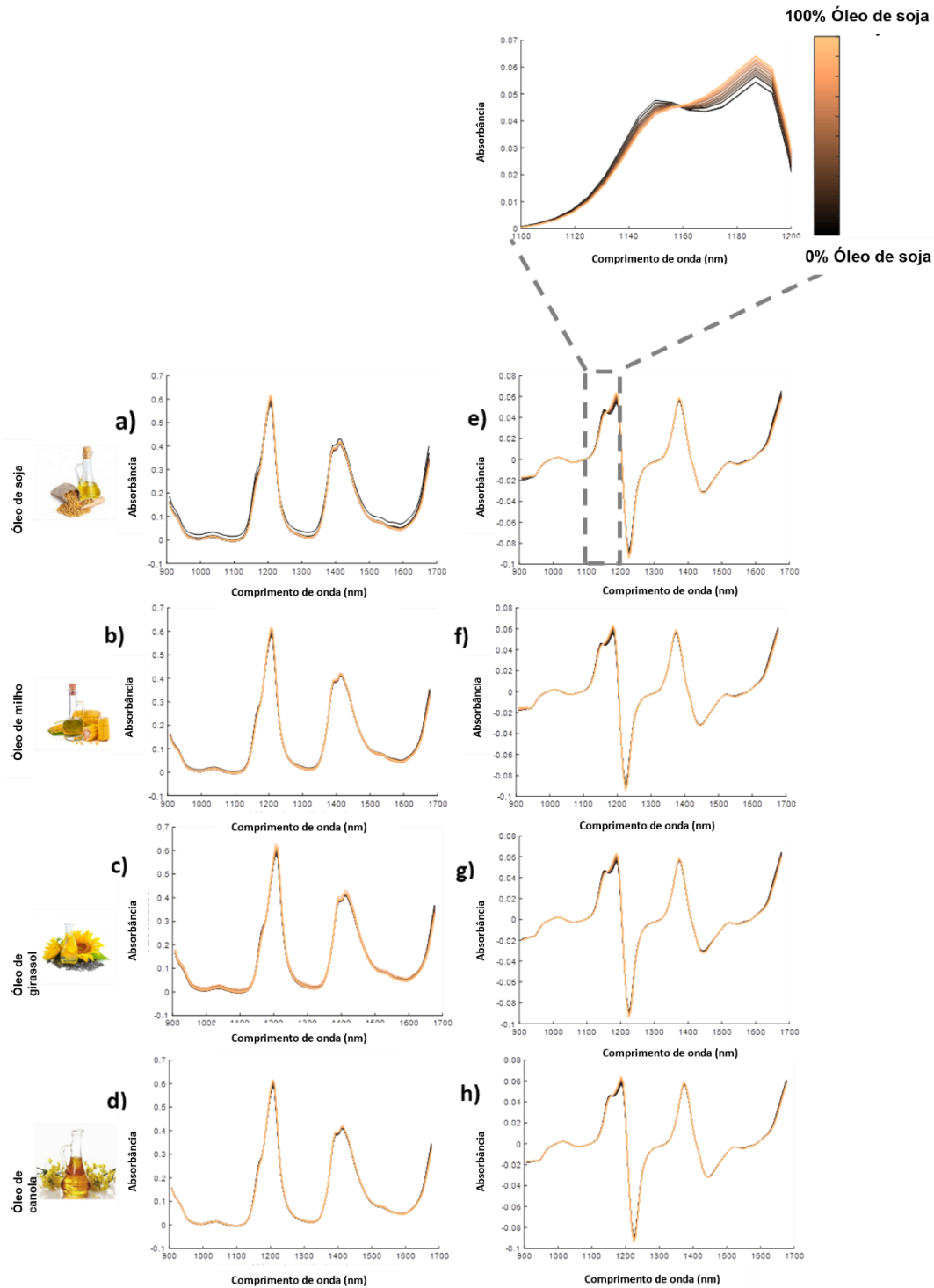
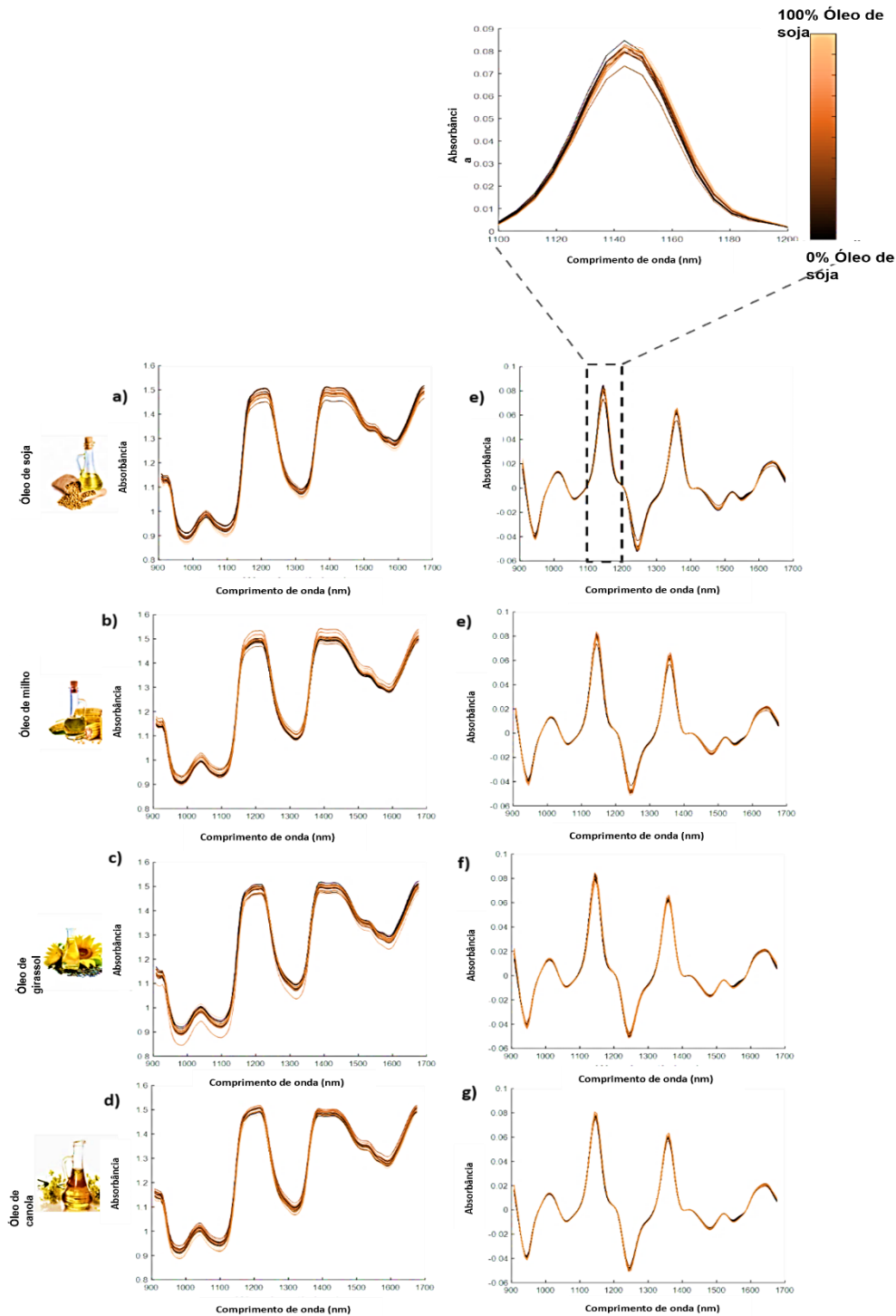


Figura 9. Espectros *NIR* portáteis das misturas de óleos AOEV/soja, AOEV/milho, AOEV/girassol e AOEV/canola, respectivamente, para o modo de reflectância. Espectros originais (a, c, e e g) e espectros pré-processados (b,d,g, eh) com primeira derivada.



A **Tabela 7** mostra os valores estimados para as concentrações mais comuns de ácidos graxos em óleos vegetais e azeites. Embora existam variações entre os produtos, esses limites estão de acordo com diversos estudos da literatura.^{117,172}

Tabela 7. Ácidos graxos presentes em azeites e óleos vegetais.

Ácidos graxos	Azeite de oliva	Óleo de soja	Óleo de girassol	Óleo de milho	Óleo de Canola
Ácido palmítico (C16:0)	7.5 – 20	9.7 - 13.3	5.0-8.0	9.2-16.5	3.3-6.0
Ácido palmitoleico (C16:1)	0.5 - 3.5	≤ 0,2	≤ 0,3	≤ 0,4	0.1-0.6
Ácido esteárico (C18:0)	0.5 – 5	3.0 - 5.4	2.5-7.0	≤ 3.3	1.1-2.5
Ácido oleico (C18:1) 18:1n-9	55 – 83	17.7-28.5	13.0 - 40	20 - 42.2	52.0-67
Ácido linoleico (C18:2) 18:2n-6	3.5 – 21	49.8-57.1	48.0-74.0	39.4-65.6	16-25
Ácido linolenico (C18:3) 18:3n-3	-	5.5-9.5	≤ 0,3	0.5-1.5	6.0-14.0

4.2.2.1 PLS

Os modelos PLS construídos com o modo de transmitância apresentaram melhor desempenho analítico e uma boa linearidade em relação ao modo de reflectância (**Tabela 8**), (**Figura 10** e **Figura 11**). Os modelos de acurácia do PLS foram verificados pelo teste F, com nível de significância de 5%. Mendes et al.⁵² relataram valores de RMSEP por técnicas de *NIR* (1,76% em massa), FTIR (4,89% em massa) e Raman (1,57% em massa) aplicadas para quantificar o teor de óleo de soja em amostras de azeite. Aqui, foi utilizado um *NIR* portátil e valores de RMSEP de 0,17, 1,4, 0,64 e 0,60% em massa foram encontrados para adulteração de óleo de soja, milho, girassol e canola, respectivamente, no modo de transmitância. Este resultado demonstra que a miniaturização e a portabilidade podem ser empregadas na detecção de adulterantes presentes no AOEV como outros óleos vegetais com desempenho analítico semelhante ao de equipamentos de bancada. Além disso, através dos *loadings* das variáveis *NIR* no modelo PLS (**Figura 12**) pode-se verificar que a região de 1100 a 1400 nm apresentou a maior influência para a estimativa de quantificação, sendo esta região importante para diferenciar óleos e gorduras. Esta região que compreende o segundo sobretom de vibração de grupos funcionais, e combinações de estiramento CH. Além disso, está relacionada à absorção mais intensa dos óleos ricos em ácidos graxos.¹⁷¹

Tabela 8. Comparação entre modelos PLS para o modo de reflexão e transmissão.

Transmitância				
Parâmetro	Óleo de soja	Óleo de milho	Óleo de girassol	Óleo de canola
Variável latente	2	3	3	2
RMSEP (m%)	0,17	1,4	0,64	0,60
R ²	0.99	0.99	0.99	0.99
Vies (m%)	<0.01	<0.01	<0.01	0.04
LOD _{min} – LOD _{max} (m%)	0.83–1.92	1.88–4.62	1.18–2.58	1.07–2.13
LOQ _{min} – LOQ _{max} (m%)	2.52–5.82	5.70–14.02	3.58–7.83	3.25–6.45
Refletância				
Parâmetro	Óleo de soja	Óleo de milho	Óleo de girassol	Óleo de canola
Variável latente	2	2	4	4
RMSEP (m%)	1,72	4.65	3.52	2.29
R ²	0.99	0.98	0.99	0.99
viés (m%)	0.05	-0.38	0.43	0.12
LOD _{min} – LOD _{max} (m%)	1.85–3.58	2.83–6.20	1.93–5.20	1.99–5.41
LOD _{min} – LOD _{max} (m%)	5.62–10.87	8.57–18.80	5.86–15.77	6.04–16.40

Figura 10. Resultados do modelo PLS para as misturas de óleos AOEV/soja (a), AOEV/milho (b), AOEV/girassol (c) e AOEV/canola (d) obtidas no *NIR* portátil usando o modo de transmitância.

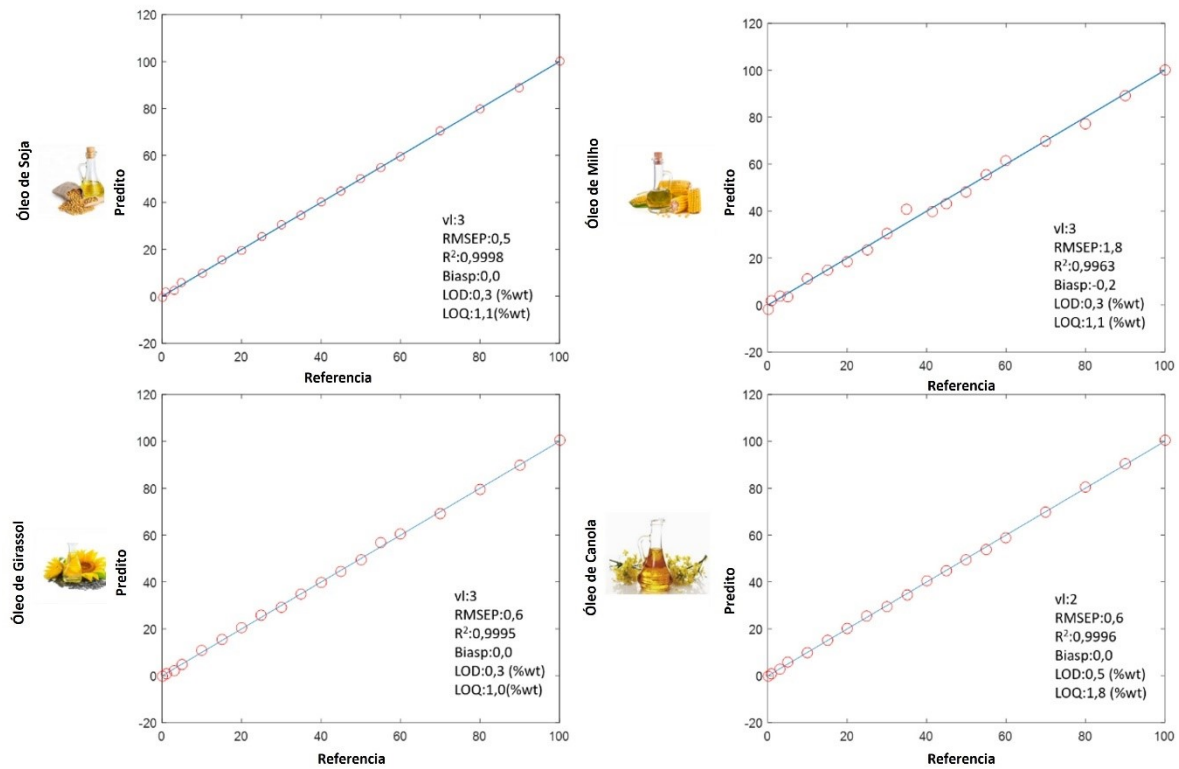


Figura 11. Resultados do modelo PLS para as misturas de óleos AOEV/soja (a), AOEV/milho (b), AOEV/girassol (c) e AOEV/canola (d) obtidas no *NIR* portátil usando o modo de transmitância.

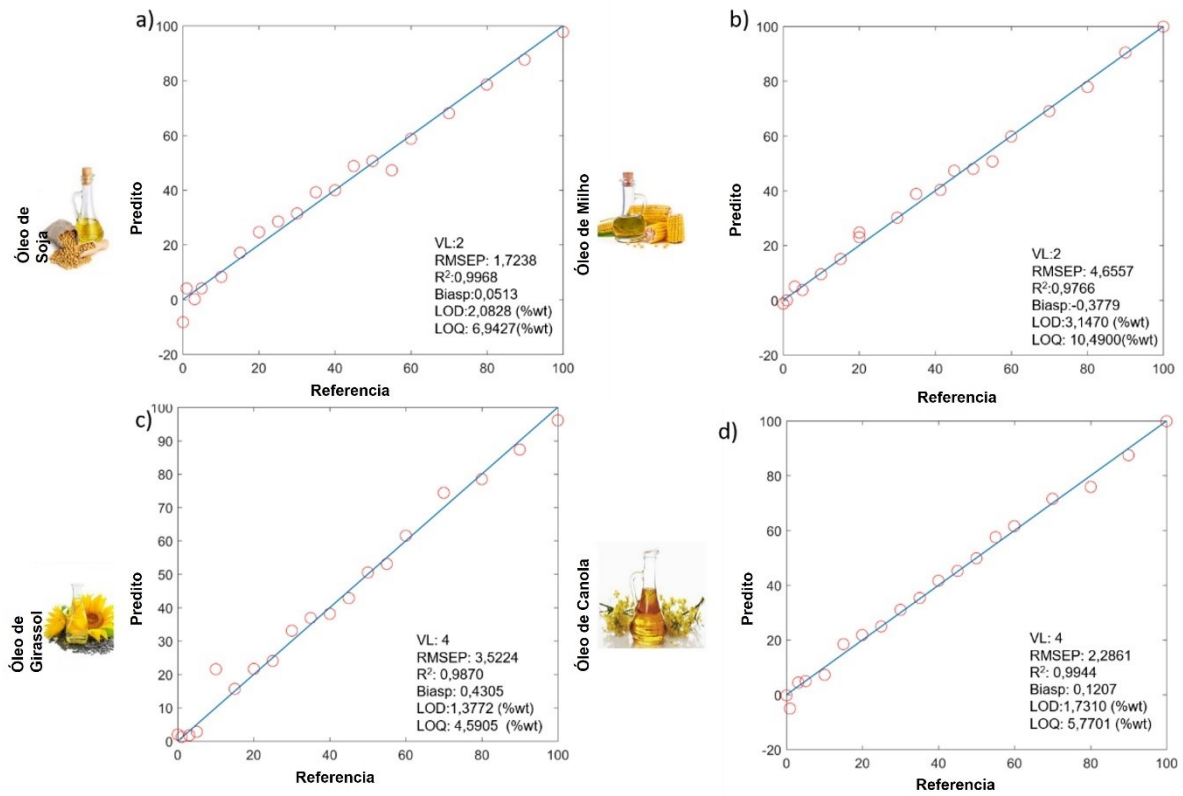
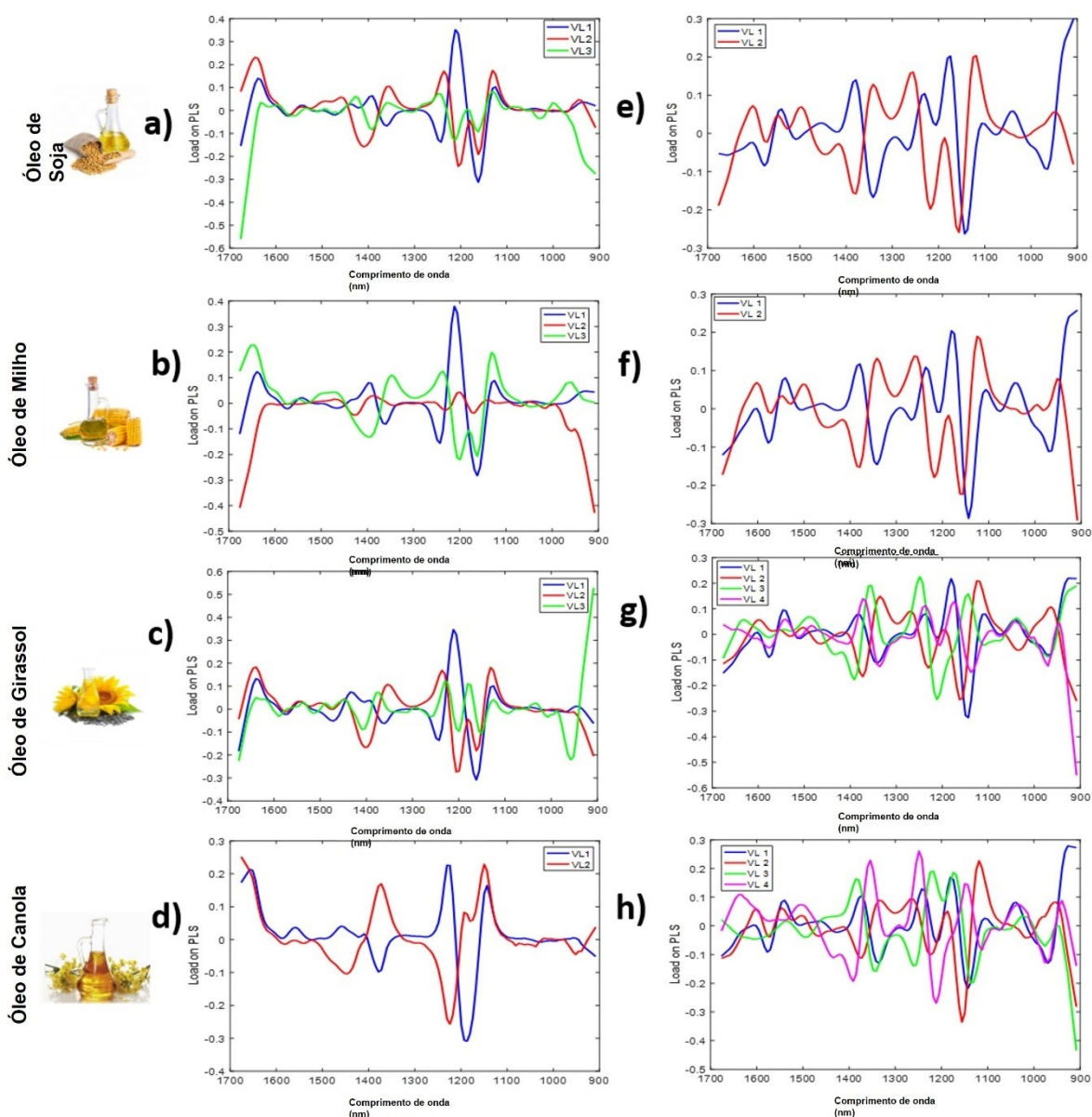


Figura 12. Loadings das variáveis latentes para ÓLEOS VEGETAIS AOEV/óleos vegetais adulterados em diferentes concentrações de soja (a/e), milho (b/f), girassol (c/g) e óleo de canola (d/h). Aquisição nos modos de transmissão e reflectância do NIR portátil.



O modelo PLS construído anteriormente foi aplicado para prever o teor de óleo vegetal para 12 amostras de azeites comerciais e os resultados são apresentados na **Tabela 9**. As amostras de azeite comercial **A a C, E, F e J a L** apresentaram valores de previsão sempre negativos ou próximo de zero para os quatro tipos de adulterantes investigados (óleos de soja, milho, girassol e canola). Esses valores previstos sugerem que essas amostras apresentam conteúdo adulterante zero devido às

incertezas dos modelos e valores previstos inferiores ao LOD e LOQ dos modelos. Em contrapartida, foram previstos para as amostras comerciais **D, G, H, I** os valores de óleo de soja de 93, 82, 86 e 95% em massa, respectivamente. O rótulo dessas amostras informa o teor de óleo vegetal de 95, 88, 70 e 49% em massa de óleo de soja, respectivamente (**Tabela 2S** disponíveis no Anexo 1).

Além disso, valores superiores a 100% em massa de óleos de milho e canola foram previstos para essas mesmas amostras (**D, G, H e I**). Os resultados estão relacionados à similaridade da composição de ácidos graxos nesses óleos vegetais. Os valores previstos de óleo de soja, milho e canola apresentam alta correlação entre essas amostras (**Tabela 11S** disponíveis no Anexo 1).

Então, não foi possível estimar qual óleo vegetal é utilizado na adulteração, impossibilitando a diferenciação individualmente de cada um deles em amostras de teste externas. No entanto, a correlação entre os valores previstos desses adulterantes confirma a presença de adulteração com óleos vegetais nestas amostras. Óleos ricos em ácidos graxos insaturados com dupla ligação causam aumento da intensidade de absorção em regiões do espectro *NIR* em 1100 a 1300 nm, resultando no comportamento quando essas amostras foram aplicadas ao modelo PLS. *FILODA et Al (2018)¹²³* fazem adulterações de azeite com óleos vegetais (soja, milho, canola e girassol) para estimar o teor de ácidos graxos presentes, os autores afirmam que não é possível distinguir o tipo de óleo vegetal utilizado para adulteração baseado no teor de ácidos graxos avaliados.

Tabela 9. Comparação entre os valores de predição (m%) dos modelos de SS para análise de amostras comerciais de azeite de oliva utilizando *NIR* portátil no modo de aquisição de transmissão.

Amostras comerciais de azeite de oliva	Óleo de soja (m%)	Óleo de milho (m%)	Óleo de girassol (m%)	Óleo de canola (m%)
A	0.5	-5.1	-133	-7.5
B	-0.4	-11	-145	-8.8
C	-5.7	-19	-127	-17
D	93	121	-126	143
E	-5.9	-17	-129	-17
F	-3.7	-16	-156	-13
G	82	103	-161	127
H	86	115	-122	132
I	95	132	-34	145
J	-7.5	-19	-180	-18
K	-4.4	-16	-115	-13
L	-3.5	-15	-160	-12

O modelo girassol apresentou valores preditos das amostras **D**, **G**, **H** e **I** inferiores aos demais modelos. Isso pode ocorrer devido a composição química do óleo de girassol, em que possui uma alta variedade da relação ácido oleico e ácido linoleico, como visto na **Tabela 7**. O ácido oleico e o ácido linoleico podem variar em uma porcentagem maior de cerca de 13,0-40 e 48,0-74,0% em massa, respectivamente. Em geral, o perfil espectral da mistura AOEV/óleo de girassol (**Figura. 8 c**) é semelhante ao milho (**Figura. 8 b**) e canola (**Figura 8e**). No entanto, os espectros da mistura AOEV/óleo de girassol apresentam variabilidade na

região de 1400 a 1500 nm, não observada nos demais óleos. Quando verificadas as *loadings* para esses modelos PLS (**Figura. 12**), a região de interesse para todos os modelos é destacada em 1500 a 1100 nm, comprovando que as proporções de ácidos graxos podem influenciar na quantificação.

4.2.2.2 Modelos PCA e SIMCA

Nos modelos de PCA do AOEV com diferentes óleos vegetais, foram obtidos aproximadamente 99% da variância explicada dos dados originais com as três primeiras PCs como descrito na **Tabela 10**. Nota-se que a resposta dos modelos de no modo de transmitância apresentaram maior variância explicada nas duas primeiras PCs (99,71, 99,58, 99,83 e 99,85% para os óleos soja, milho, girassol e canola, respectivamente), quando comparados ao modelo do modo de refletância (98,05, 96,67, 87,65, e 93,07%, para os óleos soja, milho, girassol e canola, respectivamente).

Tabela 10. Variância explicada do primeiro, segundo e terceiro PC dos dados adquiridos nos modos de transmissão e reflexão.

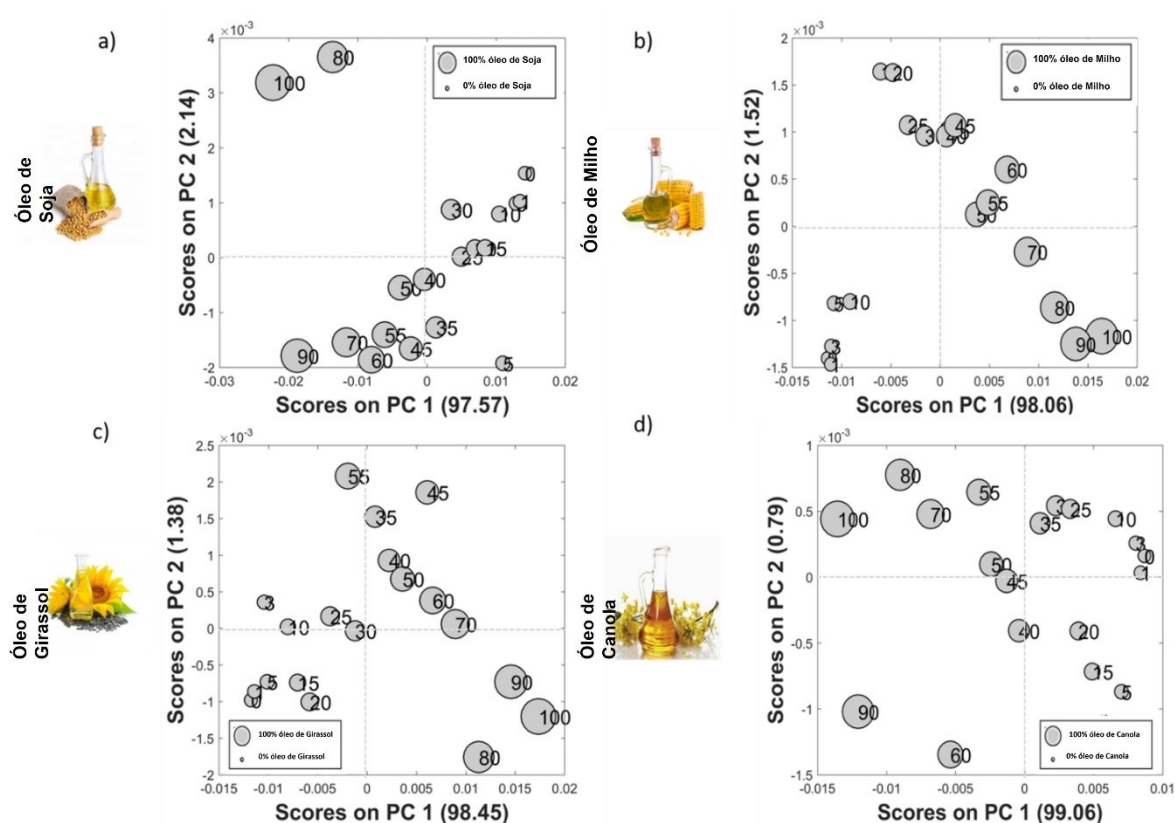
%PCs	Transmitância			
	AOEV/Óleo de soja	AOEV/Óleo de milho	AOEV/Óleo de Girassol	AOEV /Óleo de Canola
PC 1	97,57	98,06	98,45	99,06
PC 2	2,14	1,52	1,38	0,79
PC 3	0,22	0,34	0,08	0,06
%PC's	Refletância			
	AOEV/Óleo de soja	AOEV/Óleo de milho	AOEV/Óleo de Girassol	AOEV /Óleo de Canola
PC 1	66,67	75,05	54,27	73,89
PC 2	31,38	21,62	33,38	19,18
PC 3	1,05	1,55	10,20	3,39

Observa-se que o grau de adulteração pode ser distinguindo a partir das análises do gráfico de Scores de PC1xPC2 (**Figura 13 e**

Figura 14). Para as análises por transmitância, a adulteração aumenta no sentido das regiões PC1>0 para PC1<0, nas blendas AOEV /óleo de soja e AOEV /óleo de canola (**Figura 13.a e Figura 13.d**). O inverso ocorre para a adulteração nas blendas de AOEV /óleo de girassol e AOEV /óleo de milho que aumentam no sentido das regiões PC1<0 para PC1>0 (**Figura 13.b e Figura 13.c**).

A partir da distribuição da adulteração dos óleos nos gráficos de Scores e as variáveis nos *Loadings*, pode-se supor uma relação com o teor de ácidos graxos nos óleos e azeites. Ao observar as tendencias das amostras com maior teor das adulterações, para as amostras de óleo de soja e canola, a banda com maior influência em PC1<0 nos gráficos de *loadings* (**Figura 15.a e Figura 15.d**) está em torno de 1160 nm. No qual, essa região é relacionada com ácidos graxos mais insaturados¹⁷¹ e de acordo com a **Tabela 7** observa-se que a variação de ácido linolênico (18:3n-3) está em maior quantidade para as amostras de soja e canola e menor ou não presente para azeites puros. Um comportamento oposto é notado, para as blendas de girassol e milho com azeite (**Figura 14b e Figura 14c**) em que o teor de adulteração aumenta e nota-se a influência da banda de 1160 nm em PC>1.

Figura 13. Gráfico dos Scores (PC1 versus PC2) para as amostras de azeite virgem extra adulterado com diferentes concentrações de óleos de soja (a), milho (b), girassol (c) e canola (d). Dados obtidos de espectros *NIR* adquiridos no modo de transmitância. O tamanho do marcador refere-se ao teor de óleo vegetal em cada amostra.

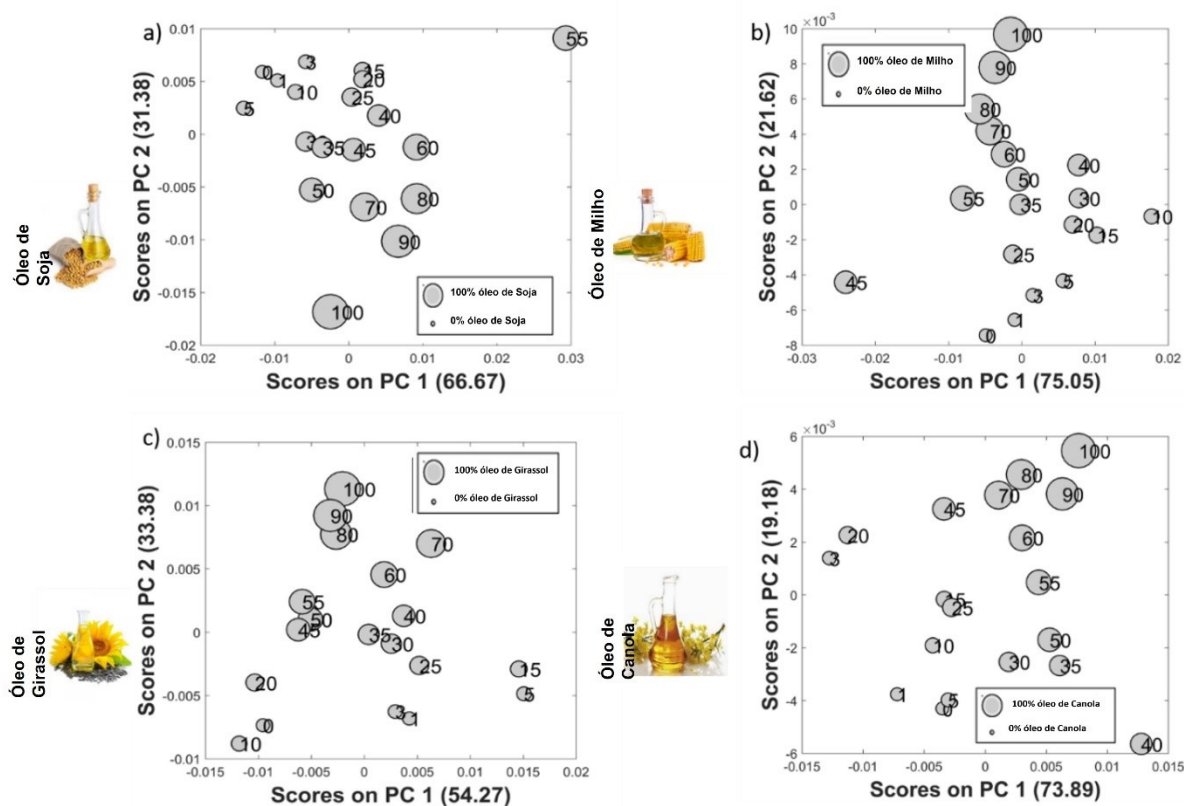


Para as análises por reflectância, pode-se observar que a influência das duas componentes principais (PC1 e PC2) utilizadas no gráfico dos scores (**Figura 14**) são importantes para distinguir o teor de adulteração.

Com isso, nota-se a PC1 tem maior influência nas blendas de azeite com óleo de soja, girassol e canola. Para a PC2 observa-se que a adulteração aumenta no sentido das regiões $PC2 < 0$ para $PC2 > 0$, nas blendas AOEV /óleo de girassol, AOEV /óleo de milho e AOEV /óleo de canola (**Figura 14b**, **Figura 14c** e **Figura 14d**). O inverso ocorre para a adulteração na blenda de AOEV /óleo de soja (**Figura 14a**).

Ao relacionar as principais bandas nos *Loadings* que contribuem para a distribuição das amostras nos gráficos de *Scores*, pode-se supor uma relação com o teor de ácidos graxos nos óleos e azeites. Ao observar as tendências das amostras com maior teor das adulterações, para as amostras de óleo de girassol, milho e canola, a banda com maior influência em $PC2 > 0$ nos gráficos de *loadings* (**Figura 16.b**, **Figura 16.c** e **Figura 15.d**) está em torno de 1160 nm (região é relacionada com ácidos graxos mais insaturados).¹⁷¹ O contrário é observado para as blends de soja e azeite (**Figura 16.a**) em que o teor de adulteração aumenta em $PC2 < 0$, com influência da banda em torno de 1160nm.

Figura 14. Gráfico dos Scores (PC1 versus PC2) para as amostras de azeite virgem extra adulterado com diferentes concentrações de óleos de soja (a), milho (b), girassol (c) e canola (d). Dados obtidos de espectros *NIR* adquiridos no modo de reflectância. O tamanho do marcador refere-se ao teor de óleo vegetal em cada amostra.



As variáveis responsáveis pelo comportamento observado nos gráficos de scores da **Figura 13** são mais importantes na região de 1100 a 1400 nm, como observado nos *loadings* da **Figura 15**. Para o modo de reflectância, as bandas com maior influência para a disposição da adulteração nos gráficos de Scores da **Figura 14**, estão localizadas de 1100 a 1400 nm como pode ser observado nos gráficos de *loadings* da **Figura 16**. Como mencionado anteriormente, esta região está relacionada às combinações de estiramento de vibração CH, sendo mais intensa para óleos ricos em ácidos graxos.¹⁷¹ Além disso, pode ser observado que as bandas nos gráficos de *loadings* de reflectância são mais intensas, alargadas e sobrepostas, o que é refletido no gráfico de Scores na distribuição das blendas em relação ao teor de adulteração, quando comparado os dois modos de aquisição.

Figura 15 - *Loadings* de PC1 e PC2 para as amostras de AOEV adulteradas com diferentes concentrações de óleos de soja (a), milho (b), girassol (c) e canola (d). Os dados do espectro NIR correspondem ao modo de transmitância.

~

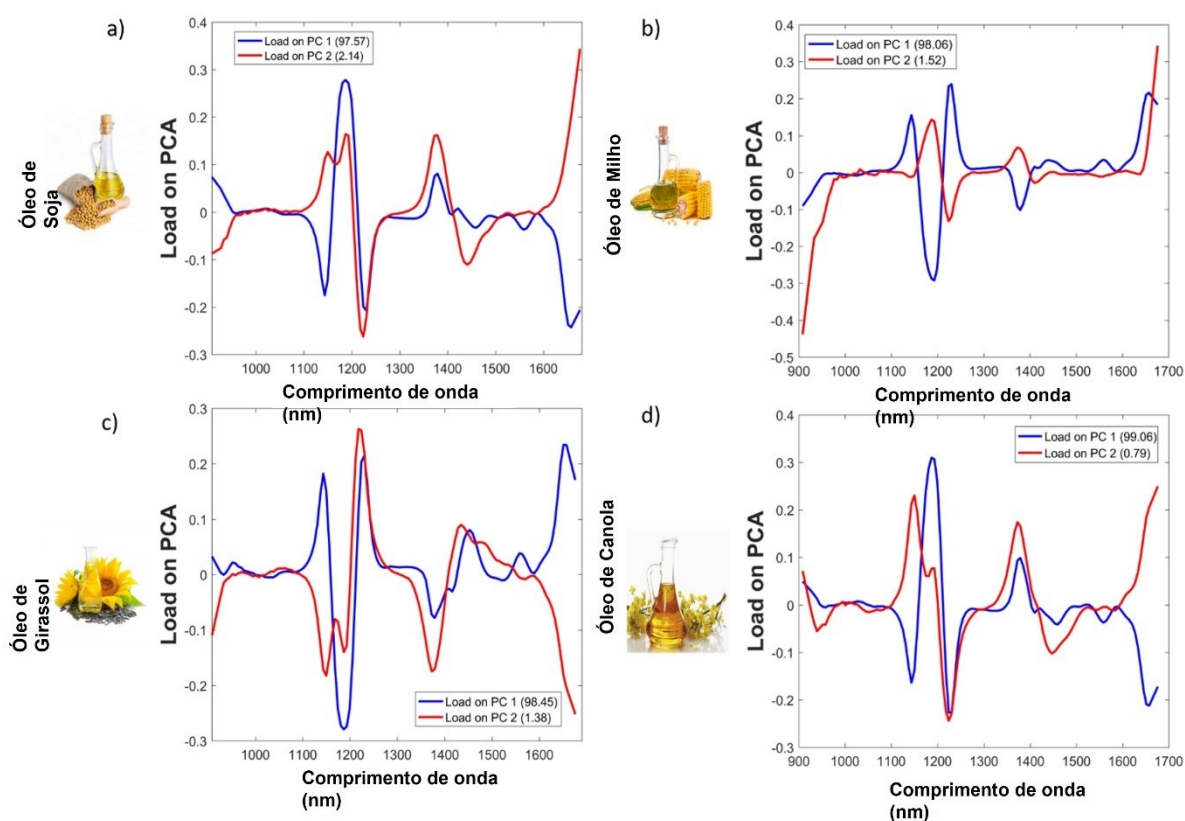
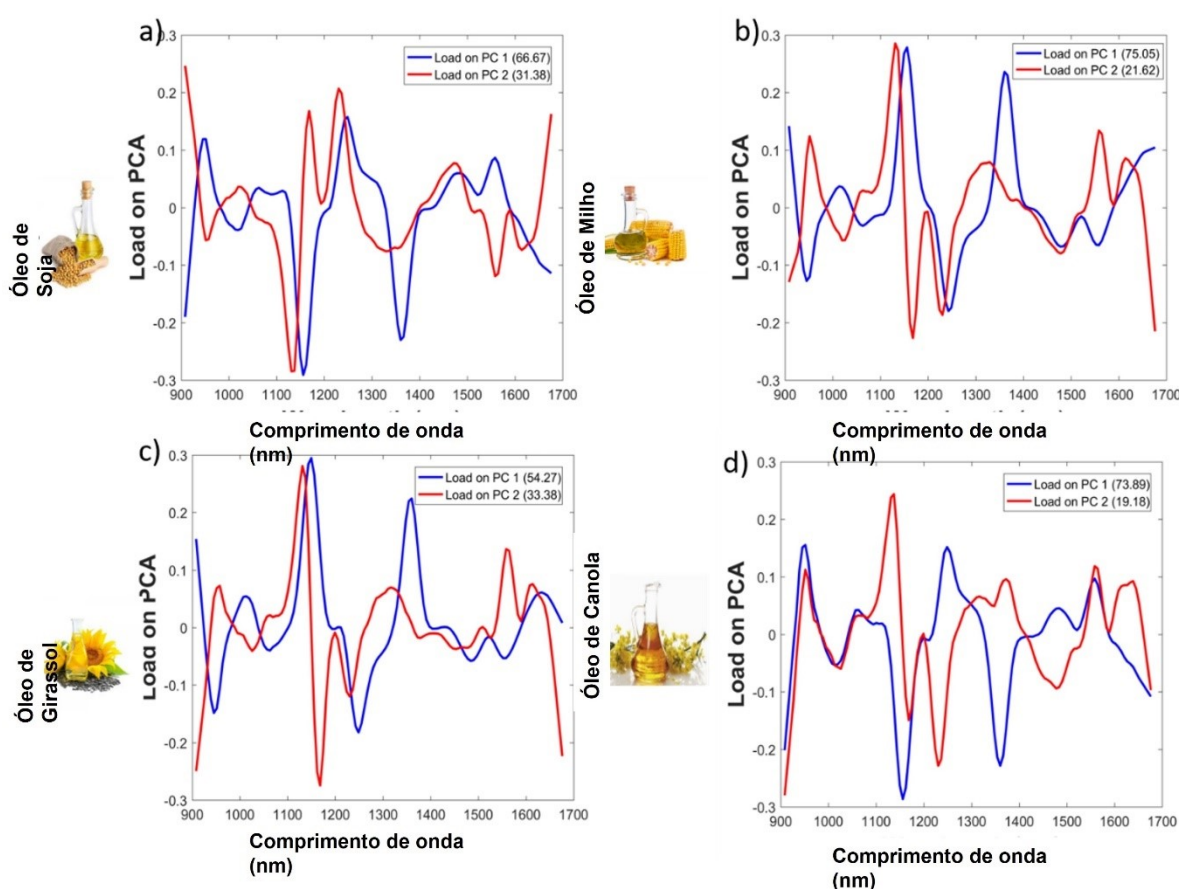


Figura 16. *Loadings* de PC1 e PC2 para as amostras de AOEV adulteradas com diferentes concentrações de óleos de soja (a), milho (b), girassol (c) e canola (d). Os dados do espectro *NIR* correspondem ao modo de reflectância.



No modelo PCA, para as amostras de azeite comercial para o modo de transmitância (**Figura 17**), ocorreu a formação de três grupos : G1 (amostras E , K , J e L) nas regiões $PC1 < 0$ e $PC2 > 0$; G2 (amostras A , B , C e F) nas regiões $PC1 < 0$ e $PC2 < 0$; e G3 (amostras I , H , G e D) na região $PC1 > 0$. Destaca-se que as amostras AOEV para o modo transmitância nas regiões $PC1 < 0$ foram separadas em G1 e G2 a partir da PC2.

Para o modo reflectância, (**Figura 18**), duas componentes também foram responsáveis para a distinção das amostras em dois principais grupos. Em $PC1 > 0$ as

amostras B, F e L, em $PC1 < 0$ destaca-se as amostras A, C, E, J e K, e $PC2 > 0$ no geral separou as amostras D, G, I, H das demais amostras.

Para ambos os modos transmitância e reflectância, apesar da menor variância, principalmente para transmitância, a $PC2$ (0,44% e 10,74%, respectivamente), possui as maiores contribuições no comportamento das amostras. Nesta PC , as regiões de 1400–1500 nm e entre 1160 e 1300 nm, correspondem aos óleos contendo uma maior absorbância de ácidos graxos insaturados (—vibração de estiramento CH, o primeiro sobretom de H_2O , o segundo sobretom da vibração CH do — CH_2 , — CH_3 e —CH = CH—).^{123,171}

Os grupos G1 e G2, são as mesmas amostras separadas pela $PC2$ no modo reflectância, e essas amostras apresentam valores semelhantes de extinção ultravioleta em 270 nm (**Tabela 2S**), com valores de 0,14 para o grupo G1 e 0,17–0,19 para o grupo G2. Essa análise está relacionada à presença de trienos conjugados e produtos de oxidação secundária. As amostras foram agrupadas em G1 ou G2 devido ao conteúdo semelhante de trienos conjugados. Além disso, as semelhanças de composição podem variar devido ao processo de fabricação ou região geográfica dos azeites (**Figura 17**). Outro fator que pode ser levado em consideração que as amostras D, G, H e I são amostras que em seus rótulos constam a presença de óleo vegetal em sua composição.

Figura 17. Scores (a) e *loadings* (b) parcelas de PC1 versus PC2 para as 12 amostras comerciais de azeite analisadas no modo de transmitância do *NIR* portátil.

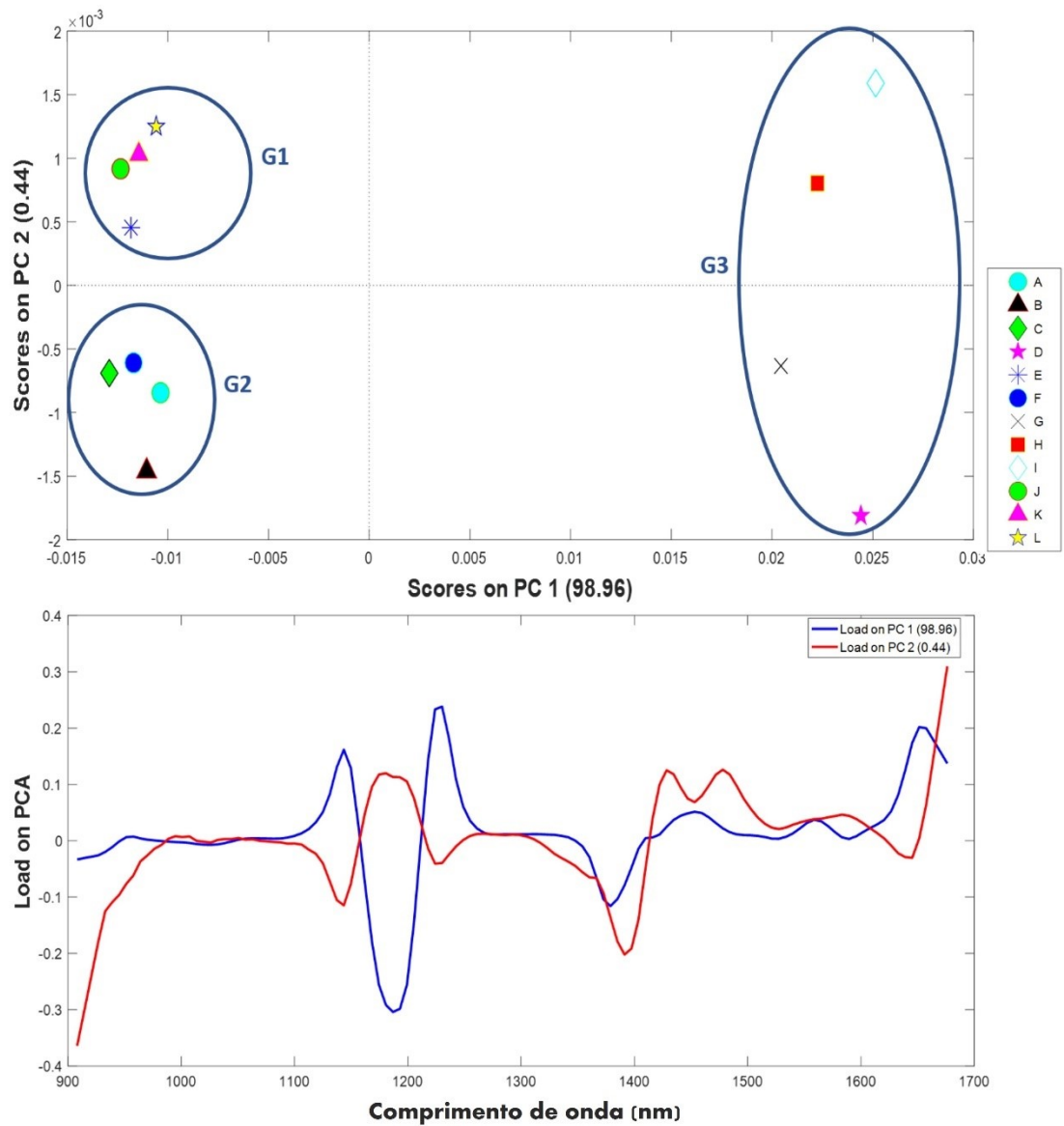
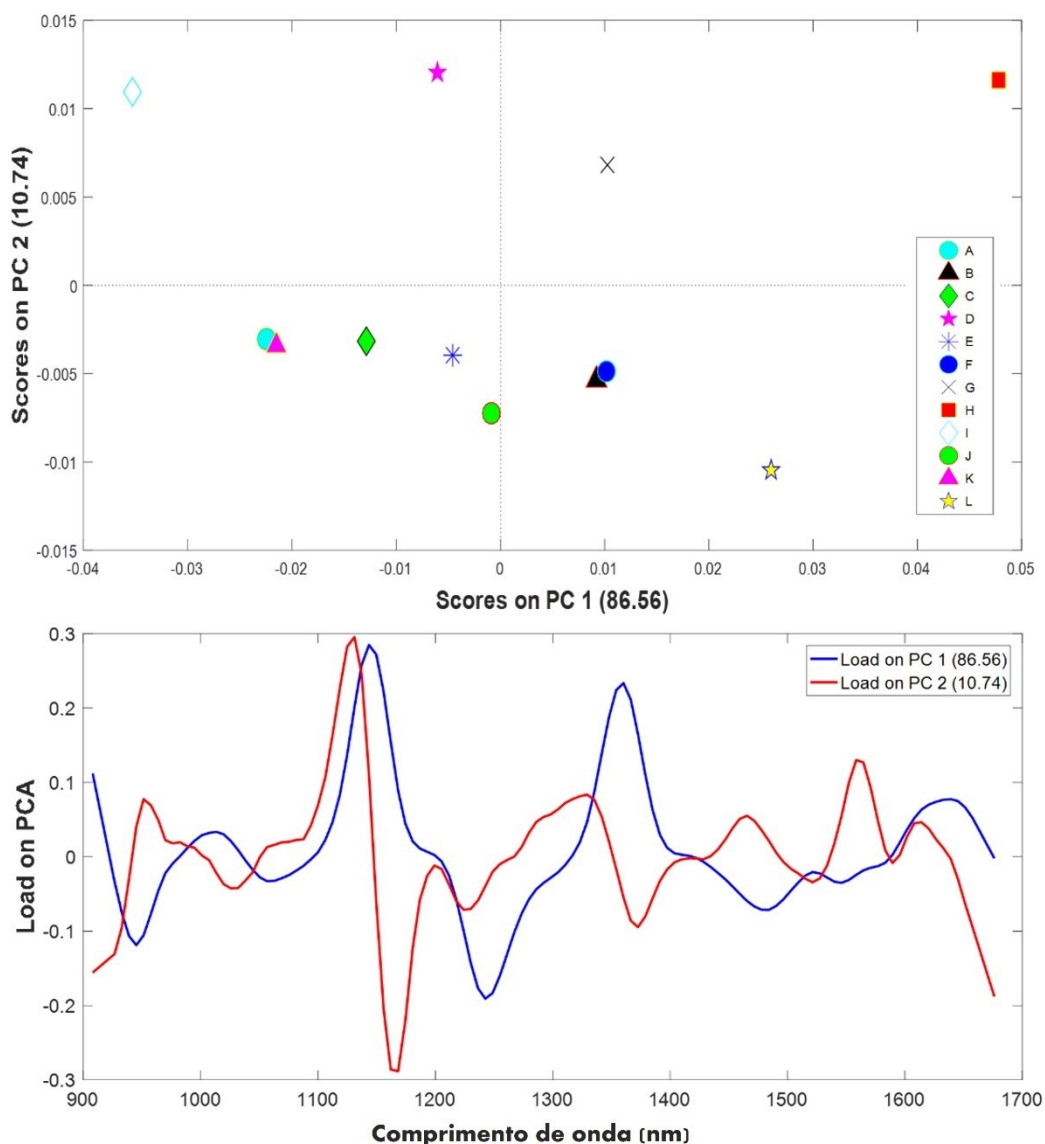
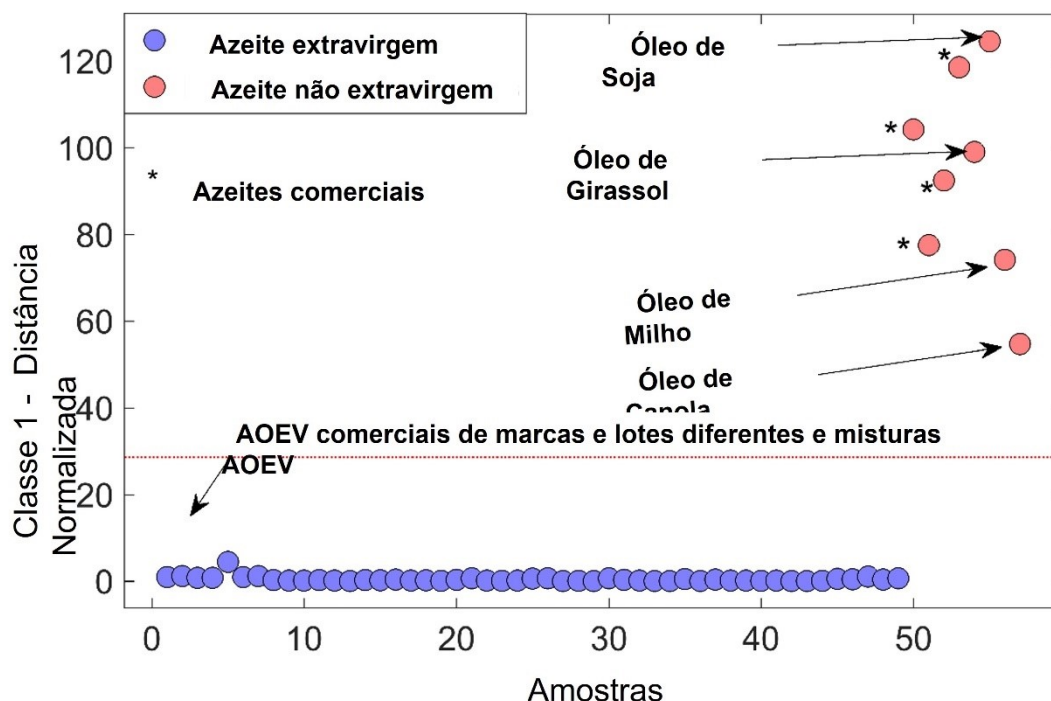


Figura 18. Scores (a) e *loadings* (b) parcelas de PC1 versus PC2 para as 12 amostras comerciais de azeite analisadas no modo de reflectância do *NIR* portátil.



O modelo SIMCA de uma classe foi construído para distinguir o AOEV entre o óleo vegetal, as amostras adulteradas em diferentes porcentagens de AOEV /misturas de óleo vegetal. O resultado do modelo construído é mostrado na **Figura 19**, onde as amostras foram distribuídas de acordo com a distância normalizada da classe alvo. O modelo classificou corretamente as amostras AOEV e suas misturas como classe alvo AOEV. Os óleos vegetais foram apresentados com valores de distância normalizadas mais elevadas. Da mesma forma, as amostras comerciais que continham no rótulo informações sobre a mistura com diferentes porcentagens de óleo de soja, foram classificadas como não pertencentes à classe AOEV.

Figura 19. Modelo SIMCA para amostras comerciais AOEV e marcas AOEV blends, analisadas no modo de transmitância de *NIR* portátil versus classe de distância normalizada 1.



O gráfico contorno de erro foi feito com diferentes níveis de confiança (50%, 90%, 95% e 99%) é desenhado no gráfico de pontuação (**Figura 20**), baseado na distância de *Mahalanobis* para cada limite. Em cada limite de confiança, envolve a determinação do limite em torno de um conjunto de amostras dentro das quais se espera que caiam no grupo a respectiva porcentagem de amostras. Qualquer amostra a uma distância de *Mahalanobis* do centroide correspondente ao nível de confiança (α) tem $1 - \alpha$ chance de ser membro da classe. Existem quatro azeites extravirgens comerciais fora desse limite, limite de confiança de 95%.

As amostras do in-group podem ser consideradas positivas ou verdadeiras classe 1 (ou seja, classe AOEV), e outras são negativas ou verdadeiras não classe 1 (**Tabela11**). Uma classe 1 verdadeira (49 amostras) são as amostras conhecidas como pertencentes ao grupo e previstas como tal pelo modelo. Caso contrário, um verdadeiro não classe 1 (8 amostras) é o inverso. Não há amostras falsas positivas, falsas negativas e ambíguas no modelo de classificação construído. Com duas componentes principais e 97,04% de variância explicada, a classificação foi possível

com 100% de acurácia, sensibilidade e especificidade de 1,0, respectivamente, e taxa de erro de 0%.

Figura 20. Scores o modelo SIMCA de uma classe (AOEV) para azeites extravirgens comerciais, misturas AOEV e óleos vegetais, analisados no modo de transmissão de *NIR* portátil com regiões de confiança em nível de confiança de 50%, 90%, 95% e 99%.

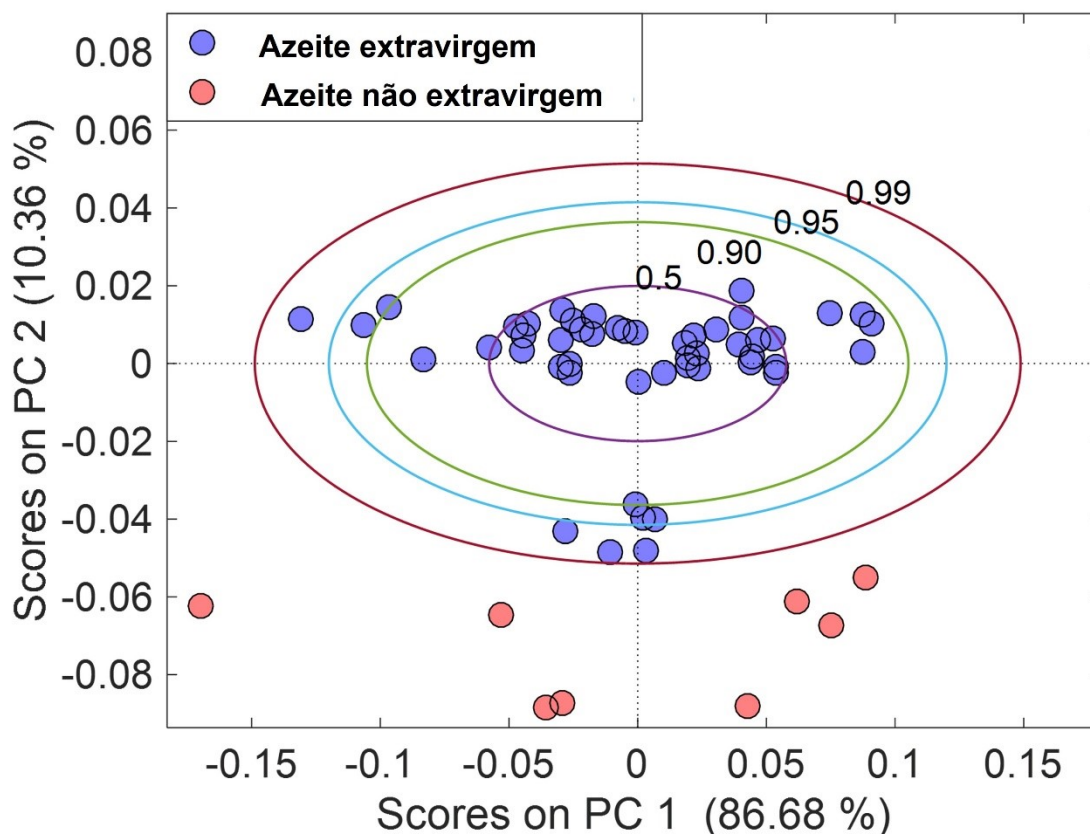


Tabela 11. Matriz de confusão do SIMCA um modelo de classe para AOEV como uma classe alvo.

Classe alvo1	COMPUTADOR PESSOAL	Verdadeira classe 1	Verdadeira Não classe 1	Não atribuído
Conjunto de treinamento				
Classe prevista 1	2	49	0	0
Previsto não classe 1	2	0	8	0
Validação cruzada				
Classe prevista 1	2	49	0	0
Previsto não classe 1	2	0	7	1

A **Figura 21** ilustra a projeção das amostras de teste previstas no modelo com um limite de confiança de 95%. A **Figura 22** demonstra a distribuição das amostras e à distância da classe AOEV. O previsto para as misturas de soja (Erro! Fonte de referência não encontrada.a) apresentou classificação ambígua (**Tabela 12S**) para a mistura AOEV /soja na concentração de 5 a 30% em peso. Concentrações mais baixas (1 e 3% em peso) de óleo de soja na mistura foram classificadas erroneamente como membros da classe AOEV e exibidas no nível de confiança (**Tabela 11S, Figura 21a**), que está de acordo com o LOD obtido nos modelos PLS. Para amostras de previsão com mistura AOEV /óleo de milho, a concentração de 15 a 45% em peso obteve classificação ambígua (**Tabela 12S**) e exibida mais próxima do limite de confiança (**Figura 21b**). Da mesma forma, a uma concentração mais baixa de óleo de milho (1 a 10% em peso), as amostras foram atribuídas à classe AOEV (**Tabela 13S**). O mesmo comportamento foi observado na previsão da mistura AOEV /óleo de girassol (**Tabela 14S**), com classificação ambígua (10 a 45% em peso) e atribuição errônea (1 a 5% em peso) (**Figura 21c**). Finalmente, a predição da mistura de óleo AOEV /canola (**Tabela 15S**) apresentou classificação ambígua para amostras de 20 a 55% em peso, e a classificação incorreta (1 a 15% em peso) (**Figura 21d**).

Figura 21. Projeção de amostras previstas do conjunto de teste em Scores PCA de um modelo SIMCA de uma classe (AOEV) com um nível de confiança de 95%.

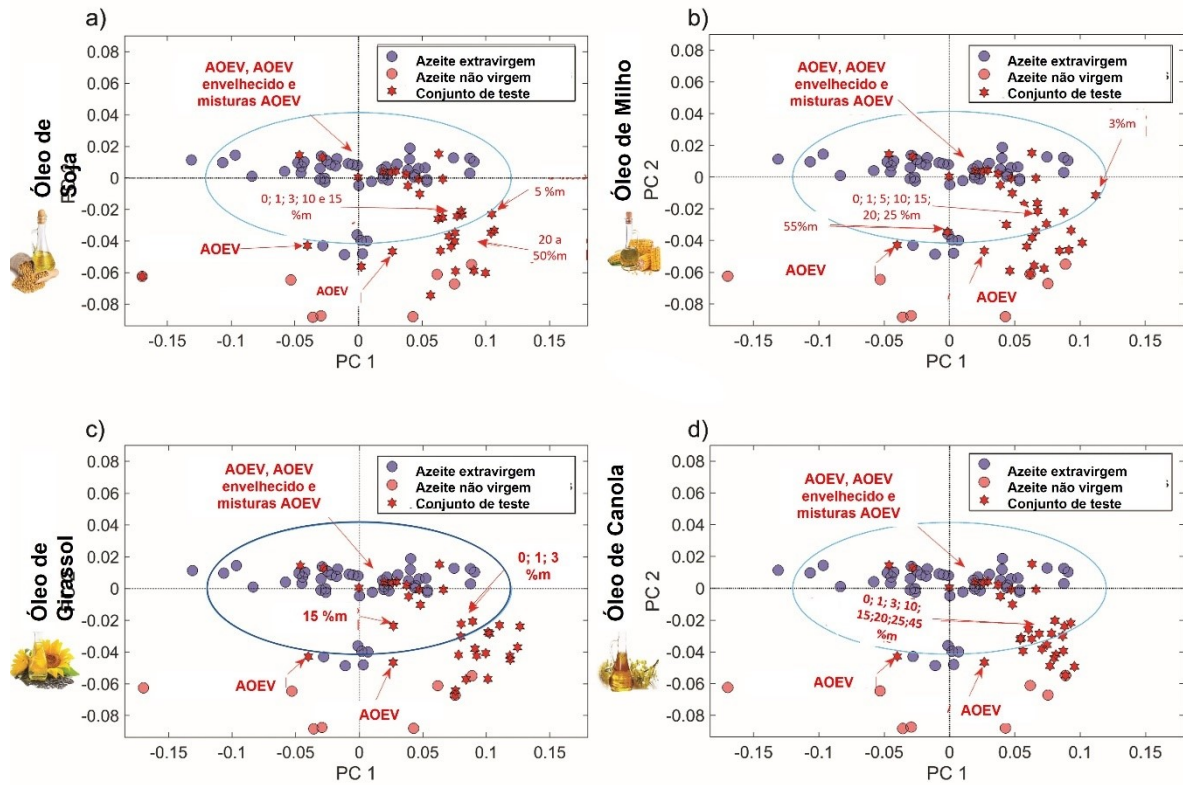
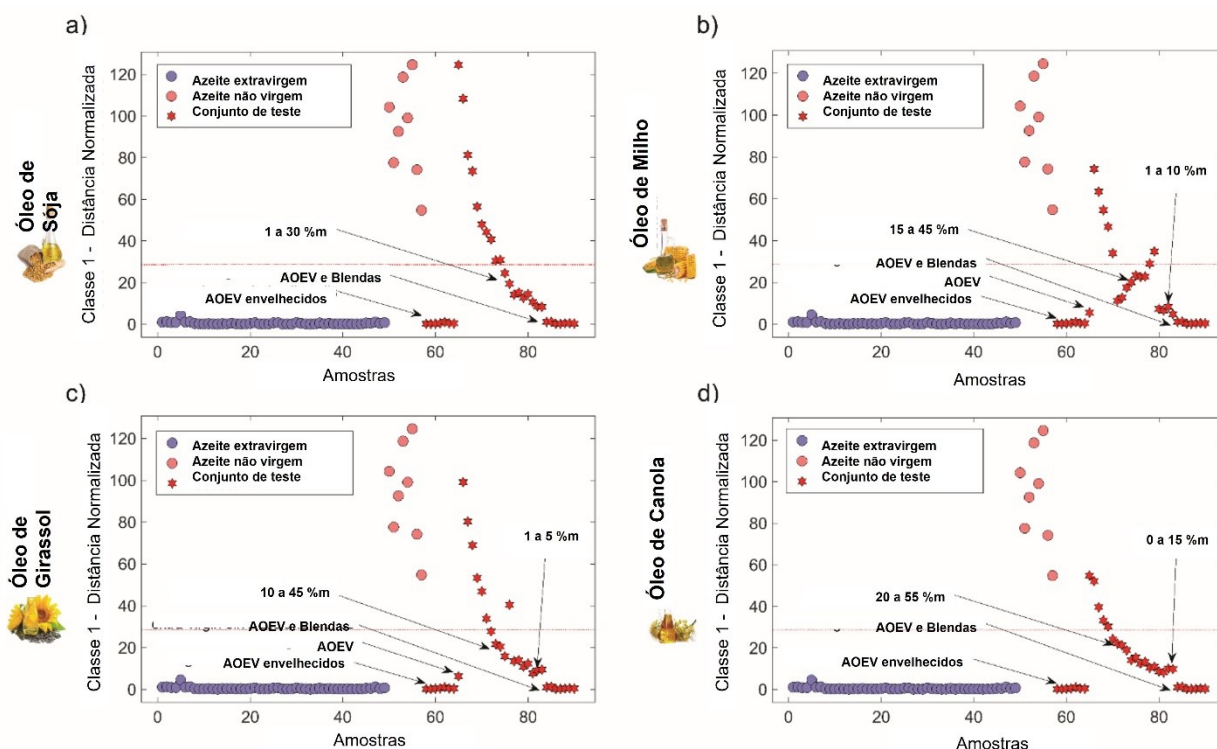


Figura 22. Gráfico normalizado da distribuição das amostras e à distância da classe AOEV e das amostras previstas de conjunto de teste com quatro misturas definidas: a) AOEV/óleo de soja; b) AOEV/óleo de milho; c) AOEV/óleo de girassol; e, d) óleo AOEV/canola.



Esses resultados sugerem que a identificação de adulteração com o instrumento portátil, pode ser ambígua em caso de baixas concentrações, o que implica na necessidade de confirmação técnica, como os modelos PLS com o objetivo de quantificar esses valores e mesmo técnicas mais específicas. Ademais, a presença de análises qualitativas como estas, pode indicar suspeitas de adulterações. No entanto, é importante destacar que em todos os modelos, o AOEV, blendas e amostras envelhecidas foram corretamente atribuídos à classe AOEV, embora dois tenham ficado fora do nível de confiança, demonstrando que não ocorreu influência no modelo com a variação do tempo de armazenamento.

4.3 CONCLUSÃO

O uso de um espectrômetro portátil associado ao processamento de dados multivariados é uma ferramenta confiável para identificar, classificar e quantificar o teor de óleos vegetais em azeites extravirgens.

Modelos PLS de regressão multivariada de ambos os modos de aquisição (refletância e transmitância) apresentaram valores de RMSEP variando de 1,72 a 4,65% em peso; e 0,45 a 1,86% em peso, respectivamente. O modo de aquisição de transmitância é mais eficiente, apresentando valores de LOD mais baixos (0,30 - 0,54% em peso versus 1,03 - 1,82% em peso). Os modelos apresentam uma boa capacidade de prever a adulteração nas amostras de azeite comercial, quatro delas foram previstas com óleo vegetal em sua composição. Os modelos de classificação de uma classe por *NIR* associados ao SIMCA podem identificar a adulteração com baixa concentração de adição de óleos vegetais e classificar com um nível de confiança de 95% nos casos de maior teor de adulterantes.

5 APLICAÇÃO 2

O artigo que será apresentado está publicado na revista Química Nova, volume 43, nº 7. Está disponível no link:

https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422020000700891&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt.

DETERMINAÇÃO DA AUTENTICIDADE DE AMOSTRAS DE AZEITE COMERCIAIS APREENDIDAS NO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO USANDO UM ESPECTROFOTÔMETRO PORTÁTIL NA REGIÃO DO *NIR*

RESUMO

Muitas técnicas instrumentais estão sendo utilizadas para monitorar a qualidade dos produtos alimentícios, com destaque para a espectroscopia no infravermelho próximo (*NIRS*). Com o objetivo de determinar a autenticidade de 60 amostras de óleo comercial apreendidas pela polícia estadual do Espírito Santo, este trabalho utilizou um espectrômetro portátil na região do *NIR* associado a ferramentas quimiométricas como análise de componentes principais (PCA) e regressão de mínimos quadrados parciais (PLS) para classificar e quantificar possíveis adulterantes presentes, como óleo de soja. Além disso, foram realizados testes físico-químicos (acidez, peróxido e absorção ultravioleta) em amostras comerciais. O modelo de regressão PLS construído para quantificar o óleo de soja apresentou coeficiente de determinação (R^2) maior que 0,99, mostrando-se satisfatório. Os resultados mostraram que todas as amostras analisadas apresentaram alto teor de adulterante e não podem ser classificadas como azeite virgem extra.

Keywords: *NIR*; quimiometria, azeite de oliva; óleo de soja.

5.1 METODOLOGIA

5.1.1 Amostras e Reagentes

Um total de 60 amostras de azeite comercial, das marcas Anna®, Fazenda herdade®, Oliveiras do Conde®, Porto Galo® e Serra de Montejunto®, foram fornecidas pela Polícia Civil do Estado do Espírito Santo (PC-ES), provenientes de uma operação de busca e apreensão, em diferentes estabelecimentos de coleta (supermercados e atacados). Uma das marcas apreendidas amostras se apresenta como AOEV e óleo composto contendo uma mistura 51:49 m% AOEV:óleo de soja. As demais marcas são identificadas como amostras de AOEV. As marcas foram aleatoriamente nomeadas de A – E conforme apresentado na **Tabela 12** juntamente com as informações descritas nos rótulos das mesmas. Além disso, para a elaboração do modelo PCA, outras amostras foram também estudadas como: amostras comerciais de AOEV (marcas Santiago®, O-live® (esta utilizada como referência), Midas®, Komili®, Cocinero®, Borges®, Nova oliva®, Ecolive® e Gallo®); e também o óleo vegetal de soja (da marca Liza®, Cargill agrícolas S A, Mairinque, Brasil) e óleos compostos (Dom João® - 30 m% de AOEV; Maria® - 12 m% de AOEV, Vittoria - 51 m% de AOEV; e Faisão® - 5 m% de AOEV).

Tabela 12. Valores de acidez, peróxido e extinção específica descritos nos rótulos das marcas analisadas, assim como quantidade de amostras para cada marca.

Marca	Acidez	Peróxido	Extinção específica a 270	Extinção específica a 232	delta K	Quantidade de amostras
A – (EV)	< 0,4%	≤ 20 meq/kg	≤ 0,22	≤ 2,5	≤ 0,01	14
B – (EV)	< 0,5%	≤ 20 meq/kg	≤ 0,22	≤ 2,5	≤ 0,01	20
B – (51%)	-	-	-	-	-	3
C – (EV)	< 0,2%	≤ 20 meq/kg	≤ 0,22	≤ 2,5	≤ 0,01	5
D – (EV)	< 0,4%	≤ 20 meq/kg	≤ 0,22	≤ 2,5	≤ 0,01	6
E – (EV)	< 0,2%	≤ 20 meq/kg	≤ 0,22	≤ 2,5	≤ 0,01	12

Todos os reagentes utilizados (clorofórmio, éter etílico, ambos da marca Hexis®, Indaiatuba, Brasil); álcool etílico, cicloexano, ácido acético, iodeto de potássio, fenolftaleína, e tiosulfato de sódio (Neon®, Suzano, Brasil) e hidróxido de sódio (Dinâmica®, Indaiatuba, Brasil) possuíam grau analítico.

Para o desenvolvimento do método de quantificação de óleo de soja em amostras de AOEV, misturas binárias foram produzidas, cada concentração em triplicata real, a partir da pesagem de uma massa total de 4 g de AOEV com dezenove concentrações de óleo vegetal (0, 1, 3, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45;50;55;60;70;80;90 e 100m%).

5.1.2 Análises físico-químicas

5.1.2.1Acidez

Compreende-se o índice de acidez como um ensaio volumétrico para avaliar a qualidade e a pureza de azeite. Com esse teste, é possível avaliar se o azeite esteve em contato com água durante o processo de fabricação, uma vez que determina o teor de ácidos graxos livres resultantes de reações de hidrólise, por meio da porcentagem de ácido oleico. Dessa forma, quanto maior o índice de acidez, maior o nível de deterioração do azeite.¹⁷³ A legislação determina um valor de acidez máximo de 0,8 m% de ácido oléico para AOEV.

Para a análise do índice de acidez das amostras de azeite comercial, a norma do Instituto Adolfo Lutz foi utilizada como referência.¹⁷⁴ Assim, uma massa de 2 gramas de amostra foi pesada em um erlenmeyer de 125 mL, adicionando-se 25 mL de solução éter-álcool etílico (2:1) neutra e 3 gotas de fenolftaleína. Após, a titulação foi efetuada com solução de NaOH 0,01M.

Todas as análises foram realizadas em triplicata, e os valores de acidez (% de ácido oléico) foram calculados de acordo com a Equação 1, onde **V** corresponde ao volume de hidróxido de sódio gasto na titulação (L), **C** é a concentração da solução

de hidróxido de sódio (dado em mol L⁻¹), **M** é a massa molar do ácido oleico (em g mol⁻¹) e **m** corresponde a massa da amostra (em g).

$$acidez = \frac{VxCxM}{10xm} \quad (1)$$

5.1.2.2 Peróxido

Determinado de acordo com o anexo III do regulamento da Comissão Europeia nº 2568 de 11 de julho de 1991,⁴² o índice de peróxido trata-se de um teste volumétrico utilizado para determinar a oxidação inicial, a rancidez e deterioração que pode ter ocorrido nos antioxidantes naturais presentes no azeite.¹⁷⁵ A legislação estabelece um limite de 20 meq/kg para AOEV.

Dessa forma, uma massa de 2,5 grama de cada amostra foi pesada em um erlenmeyer de 250 mL, sendo essa dissolvida em 8 mL de clorofórmio, 12 mL de ácido acético glacial e 0,5 mL de solução saturada de iodeto de potássio, e deixada por 1 minuto em repouso em ambiente isento de luz. Após, foram adicionados 15 mL de água destilada e 0,5 mL de solução saturada de amido, utilizado como indicador para posterior titulação.

Em sequência, titulou-se com solução de tiosulfato 0,01N, além de um ensaio em branco, que consiste na titulação sem o analito. Com os dados obtidos nas titulações em triplicata, o índice de peróxido foi calculado conforme a Equação 2.

$$índice\ de\ peróxido = (A - B)xNx1000/m \quad (2)$$

Onde, **A** corresponde ao volume da solução de tiosulfato de sódio (L) gasto na titulação da amostra, **B** ao volume da solução de tiosulfato de sódio gasto na titulação do branco (L), **N** (m.Eg⁻¹L⁻¹) à normalidade da solução de tiosulfato de sódio e **m** à massa da amostra (g).

5.1.2.3 Absorbância no Ultravioleta

A absorbância no ultravioleta é um exame espectrofotométrico para avaliar a qualidade do AOEV por informar sobre a identidade e estado de conservação do mesmo, além de indicar possíveis alterações advindas do processamento. Foi determinado segundo o anexo IX do regulamento da Comissão Europeia nº 2568 de 11 de julho de 1991.¹⁷⁶

Assim, uma massa de aproximadamente 0,25 g de amostra foi dissolvida em 25 mL de cicloexano e, lidas as absorbâncias em espectrofotômetro UV/VIS de feixe duplo modelo UV-vis Cary 60 da Agilent. Os coeficientes de extinção foram lidos nos comprimentos de onda de 232 nm, 270 nm e ΔK foram calculados conforme a Equação 3.

$$K_{270} = \frac{A_{270}}{cl} \quad K_{232} = \frac{A_{232}}{cl} \quad \Delta K = A_{270} - \frac{A_{266} + A_{274}}{2} \quad (3)$$

K_{232} = Extinção específica a $\lambda = 232$ nm;

K_{270} = Extinção específica a $\lambda = 270$ nm;

ΔK = Extinção específica no comprimento de onda para a máxima absorção em torno de 270 nm;

A_{270} , A_{232} , A_{266} e A_{274} são absorbâncias, c é a concentração do azeite em g/100 mL, e l é o percurso óptico (= 1 cm).

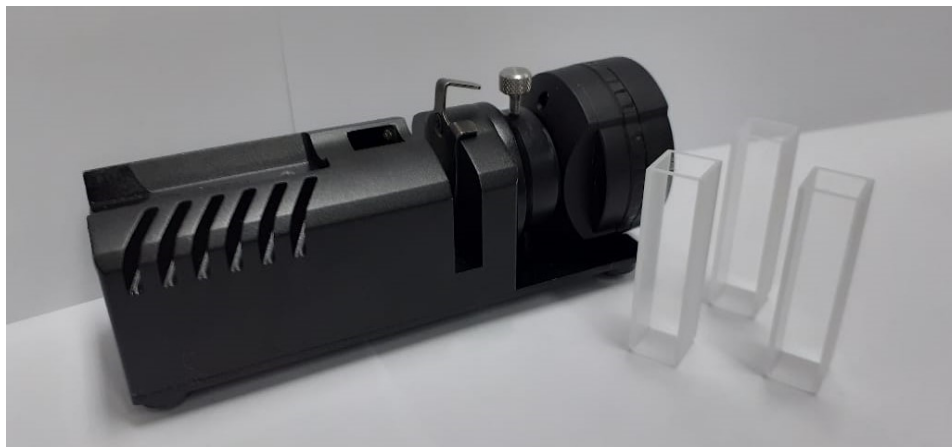
As absorbâncias foram adquiridas nos comprimentos de 232 e 270 nm, por decorrência da presença de sistemas dienos e trienos conjugados, os valores são datados em termos de extinção específica.¹³⁸

5.1.2.4 Espectroscopia na região do infravermelho próximo (NIR)

A análise de espectroscopia de infravermelho foi realizada utilizando um instrumento modelo miniatura *MicroNIR*™ Pro 1700. Os dados foram obtidos do software 3.0 da Viavi Solutions Inc. Os espectros foram adquiridos na faixa de 908-1676 nm, com varredura de 100 espectros, um tempo de integração de 8 ms, aquisição de 125 pontos por varredura, e com uma resolução de 6,20 nm¹³⁰.

As amostras foram analisadas a partir do acessório de transmitância (**Figura 23**) e foi utilizada uma cubeta de quartzo de 2 mL com um caminho óptico de 1 cm. A leitura do espectro de referência é feita com a cubeta vazia.

Figura 23. Acessório para análise de líquidos em cubeta acoplado ao MicroNIR.



5.1.2.5 Análise por Componentes Principais (PCA)

Ao todo, um de conjunto de 96 amostras de AOEV amostras foram analisadas, e correspondem a 12 amostras de AOEV, quatro de óleos compostos, uma de óleo de soja e 19 das misturas preparadas de AOEV e óleo vegetal e as 60 amostras, correspondem as amostras apreendidas pela PC-ES. Para a construção dos modelos PCA utilizou-se os espectros médios das triplicatas de cada amostra e todos os cálculos foram realizados usando o MATLAB Software 7.0 (R2013a).

Como os espectros *NIR* normalmente apresentam desvios na linha de base e efeitos de espalhamento de luz⁹⁵, os espectros foram tratados com o algoritmo de Savitzky-Golay com primeira derivada, janela de sete pontos e polinômio de ajuste de segunda ordem.¹⁶⁴

Na construção dos modelos PCA os espectros foram centrados na média. Para a PCA, os dados são projetados em menores dimensões, calculadas por combinações lineares ótimas (componentes principais, PC), em particular, a partir dos valores de absorbância para cada comprimento de onda. As duas primeiras PC's foram

responsáveis pela maior variabilidade total dos dados originais e foram avaliados em função do teor de adulteração (óleo vegetal adicionado ao AOEV).

5.1.2.6 PLS

Modelos PLS foram construídos utilizando o MATLAB Software 7.0 (R2013a), para a curva da mistura AOEV/óleo de soja no modo transmitância. O PLS foi usado para determinar o teor de óleo de soja na mistura com AOEV, sendo utilizado o procedimento de *repeated double cross validation* (RDCV)¹⁶⁵. O número correto de variáveis latentes foi determinado pelo procedimento *k-fold*, utilizando k igual a 4. Durante o procedimento RDCV, aproximadamente 25% do total de amostras foi separado em cada interação. O erro quadrado médio de predição (RMSEP) foi determinado conforme Equação 4.

$$RMSEP = \sqrt{(1/npred \sum_{i=1}^{npred} (y_i - \hat{y}_i)^2)} \quad (4)$$

Onde ***npred*** é o número de amostras utilizadas e $\hat{y}_i$ é o valor previsto pelos modelos PLS (teor de óleo vegetal em AOEV) do conjunto de dados de 19 concentrações da mistura AOEV/óleo vegetal. Os valores de viés e ***R*²** foram calculados utilizando as Equações 5 a 8.^{177,178}

$$viés = \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i) / N \quad (5)$$

$$R^2 = 1 - (\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2) / (\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2) \quad (6)$$

Em seguida, os valores de limite de detecção (LOD) foram calculados pelas equações 7 e 8, respectivamente¹⁶⁶:

$$LOD_{min} = 3.3 [SEN^{-2} var(x) + h_{0min} SEN^{-2} var(x) + h_{0min} SEN^{-2} var(ycal)]^{1/2} \quad (7)$$

e

$$LOD_{max} = 3.3 [SEN^{-2} var(x) + h_{0max} SEN^{-2} var(x) + h_{0max} SEN^{-2} var(ycal)]^{1/2} \quad (8)$$

A SEN é a sensibilidade, h_{0min} e h_{0max} são as alavancagens mínima e máxima, $var(x)$ é a variância dos sinais espectrais e $var(ycal)$ é a variação na concentração das amostras do conjunto de calibração. Em seguida, os valores de limite de quantificação (LOQ) foram calculados pelas equações 9 e 10, respectivamente¹⁶⁶:

$$LOQ_{\min} = 10 [SEN^{-2} \text{var}(x) + h0_{\min} SEN^{-2} \text{var}(x) + h0_{\min} SEN^{-2} \text{var}(ycal)]^{1/2} \quad (9)$$

e

$$LOQ_{\max} = 10 [SEN^{-2} \text{var}(x) + h0_{\max} SEN^{-2} \text{var}(x) + h0_{\max} SEN^{-2} \text{var}(ycal)]^{1/2} \quad (10)$$

5.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

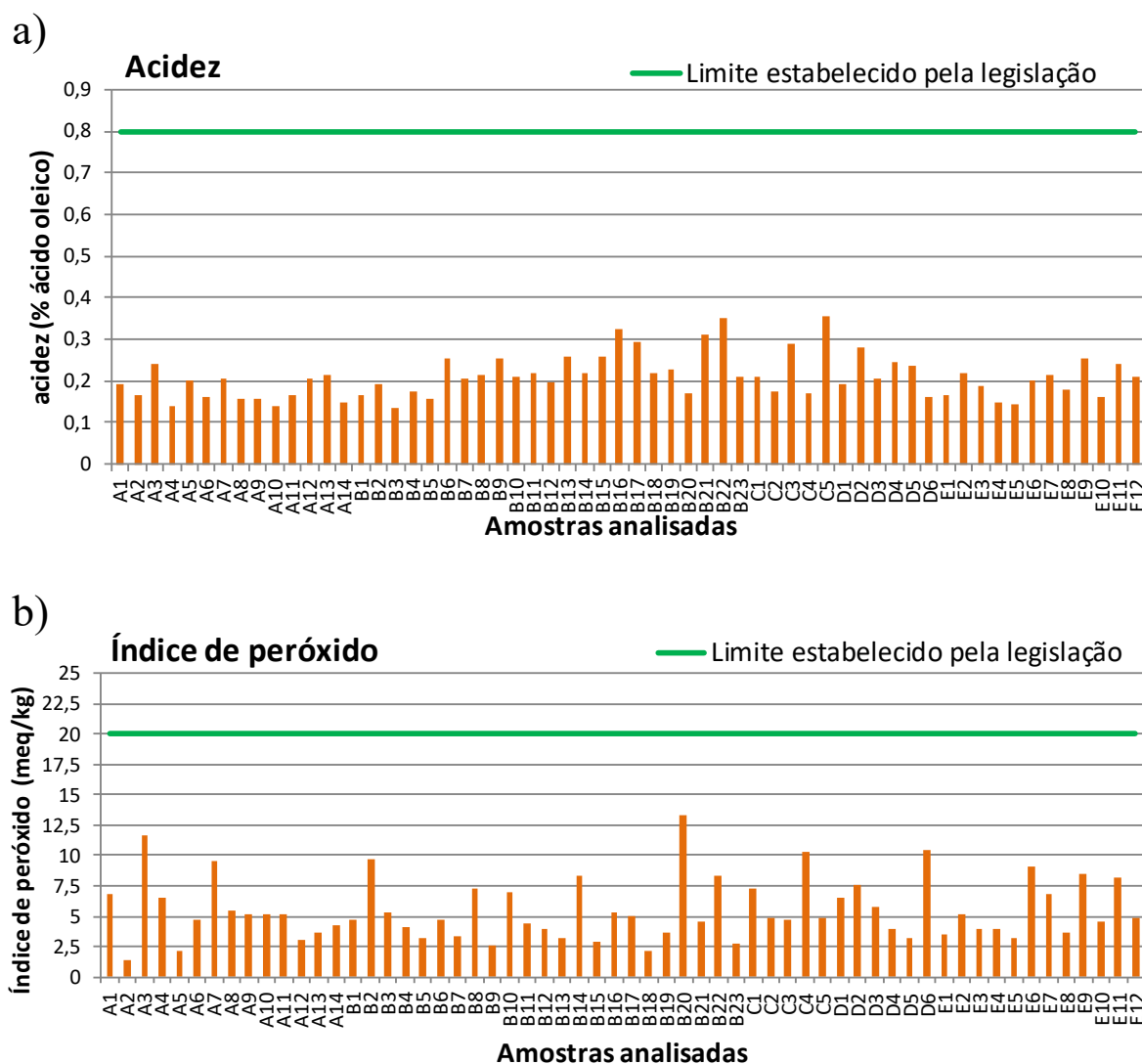
5.2.1 Análises físico-químicas

De uma maneira geral, os resultados das análises físico-químicas das amostras comerciais evidenciaram que para os testes de acidez e índice de peróxido todas as amostras se apresentaram dentro da conformidade. No entanto, algumas amostras demonstraram não conformidades mediante o teste de extinção específica, que analisa comprimentos de onda no UV-VIS.

O resultado para o teste de acidez está apresentado na **Figura 24(a)**. Embora todas as amostras apresentarem conformidade no que diz respeito ao limite estabelecido para o índice de acidez (0,8% ácido oleico), as quais apresentaram valores de 0,13 - 0,36 m% ácido oleico, algumas amostras das marcas C (C1, C3 e C5) e E (E2, E6, E7, E9, E11 e E12) encontram-se acima do valor de acidez, 0,2 m% ácido oleico, descrito em seus rótulos.

No que tange a análise do índice de peróxido, os valores variaram de 1,44 – 13,33 meq/kg. A legislação estabelece um limite de 20 meq/kg para AOEV. Como apresentado na **Figura 24(b)**, os valores encontram-se dentro do estabelecido. Assim, a presença de peróxidos e outros compostos com semelhanças químicas, resultantes da oxidação dos ácidos graxos insaturados são observadas em meq O₂/kg (miliequivalente de oxigênio ativo por quilograma).

Figura 24. Valores experimentais para as análises de (a) acidez e (b) peróxido realizadas nas amostras apreendidas



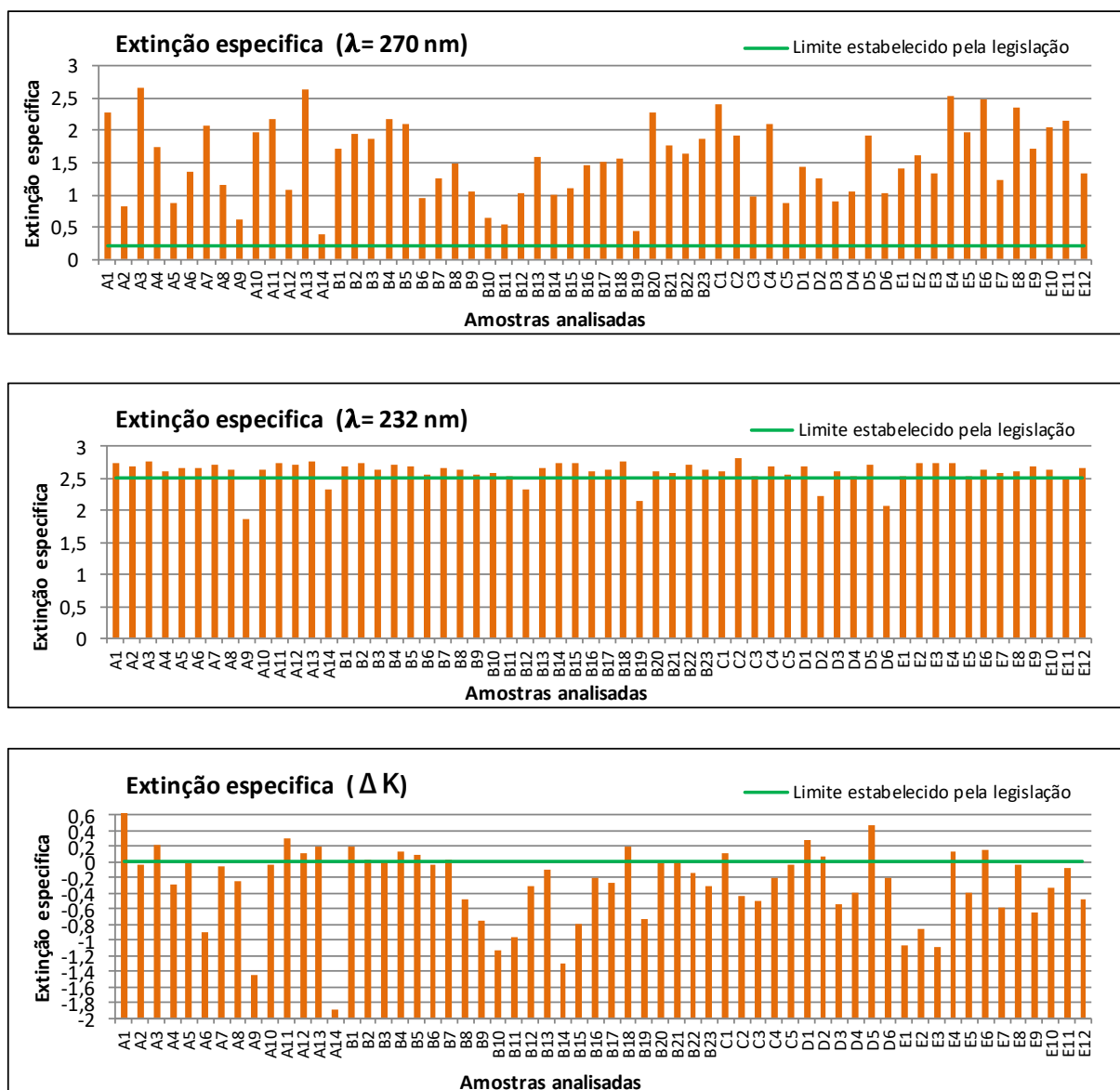
Em relação à análise da absorvância no ultravioleta, os valores, como apresentado na **Figura 25**, variaram de 0,396 – 2,649 para K_{270} , 1,470 – 2,820 para K_{232} e -1,894 – 0,498 para ΔK . Todas as amostras se encontram fora dos padrões

estabelecidos tendo em vista, que segundo a legislação referente ao AOEV, os limites para os valores K_{270} , K_{232} e ΔK são de 0,22, 2,5 e 0,01, respectivamente.

A análise de absorção no ultravioleta indica a presença de trienos conjugados e produtos de oxidação secundária (270 nm) assim como a presença de compostos carboxílicos, dienos conjugados e hidroperóxidos de ácido linoleico (232 nm). Um alto valor de absorção nestes comprimentos de onda evidencia a presença de óleos refinados, tendo em vista que o processo do refino é responsável por formar, a partir de ácidos graxos insaturados, compostos dienos e trienos conjugados.⁵²

Portanto, tanto para o teste de extinção específica como para os outros parâmetros, o azeite só pode ser classificado como extravirgem quando este atender a todos os limites de tolerância de qualidade estabelecidos. Caso contrário, o azeite é classificado como fora de tipo e não pode ser comercializado como sendo extravirgem.⁸

Figura 25. Resultado das análises da absorbância no ultravioleta, com os valores de extinção específica nos comprimentos de onda de 270 e 232 nm assim como ΔK calculado.



Os valores detalhados dos resultados obtidos para as análises de acidez, peróxido e absorção no ultravioleta, também se encontram nas **Tabelas 13-15**.

Tabela 13.Valores experimentais para as análises de acidez realizadas nas amostras apreendidas.

COD	acidez (% ácido oleico)	COD	acidez (% ácido oleico)	COD	acidez (% ácido oleico)
A1	0,193501723	B7	0,205525	C4	0,169
A2	0,166848517	B8	0,21332	C5	0,357
A3	0,241352675	B9	0,252906	D1	0,194
A4	0,139585545	B10	0,209601	D2	0,280
A5	0,203428229	B11	0,217515	D3	0,206
A6	0,162155407	B12	0,197251	D4	0,248
A7	0,207331135	B13	0,257355	D5	0,238
A8	0,157382648	B14	0,219405	D6	0,162
A9	0,157863184	B15	0,257432	E1	0,167
A10	0,13942953	B16	0,323532	E2	0,217
A11	0,16466056	B17	0,295609	E3	0,187
A12	0,206045633	B18	0,217071	E4	0,149
A13	0,216659351	B19	0,225593	E5	0,144
A14	0,148598608	B20	0,170912	E6	0,203
B1	0,167200387	B21	0,312964	E7	0,217
B2	0,194254234	B22	0,351228	E8	0,180
B3	0,135123693	B23	0,211434	E9	0,253
B4	0,175681468	C1	0,212	E10	0,161

B5	0,157861096	C2	0,176	E11	0,243
B6	0,252742282	C3	0,289	E12	0,211

Tabela 14. Valores experimentais para as análises de peróxido realizadas nas amostras apreendidas.

COD	índice de peróxido (meq/kg)	COD	índice de peróxido (meq/kg)	COD	índice de peróxido (meq/kg)
A1	6,849162	B7	3,366045	C4	10,34878
A2	1,443203	B8	7,214864	C5	4,923035
A3	11,63078	B9	2,525683	D1	6,471991
A4	6,483802	B10	6,93727	D2	7,563202
A5	2,161711	B11	4,429815	D3	5,767086
A6	4,665086	B12	3,938744	D4	3,94128
A7	9,499481	B13	3,119196	D5	3,249866
A8	5,414175	B14	8,300435	D6	10,43964
A9	5,157711	B15	2,885288	E1	3,478924
A10	5,124391	B16	5,266166	E2	5,178567
A11	5,158368	B17	5,039131	E3	3,930094
A12	3,003893	B18	2,160231	E4	3,961914
A13	3,59289	B19	3,600224	E5	3,125847
A14	4,198078	B20	13,32515	E6	9,023683
B1	4,676785	B21	4,554953	E7	6,840021
B2	9,723436	B22	8,359606	E8	3,704838
B3	5,279216	B23	2,748518	E9	8,496981
B4	4,091146	C1	7,283187	E10	4,54262

B5	3,246893	C2	4,910878	E11	8,163795
B6	4,635069	C3	4,670091	E12	4,92409

Tabela 15. Valores experimentais para as análises da absorvância no ultravioleta realizadas nas amostras apreendidas.

COD	k270	k232	k274	k266	ΔK	COD	k270	k232	k274	k266	ΔK
A1	2,268	2,736	1,115	2,09561	0,66208	B17	1,512	2,646	1,71	1,86001	-0,27347
A2	0,83	2,681	0,842	0,90221	-0,04248	B18	1,573	2,757	1,386	1,36759	0,19651
A3	2,649	2,774	2,418	2,42062	0,22986	B19	0,441	2,14	1,134	1,21311	-0,73193
A4	1,738	2,6	1,966	2,06938	-0,27965	B20	2,278	2,599	2,228	2,37219	-0,02179
A5	0,883	2,652	0,817	0,97886	-0,015	B21	1,764	2,589	1,693	1,83009	0,00299
A6	1,348	2,654	2,241	2,26619	-0,90556	B22	1,627	2,705	1,634	1,8767	-0,12875
A7	2,072	2,704	2,118	2,15408	-0,06414	B23	1,878	2,641	2,155	2,19703	-0,29811
A8	1,151	2,637	1,338	1,47087	-0,25346	C1	2,411	2,604	2,218	2,39286	0,10619
A9	0,613	1,867	1,687	2,41991	-1,4402	C2	1,931	2,82	2,271	2,46508	-0,43718
A10	1,968	2,625	2,009	2,01001	-0,04198	C3	0,987	2,528	1,432	1,5481	-0,50337
A11	2,181	2,729	1,855	1,87853	0,3138	C4	2,095	2,698	2,255	2,33185	-0,19898

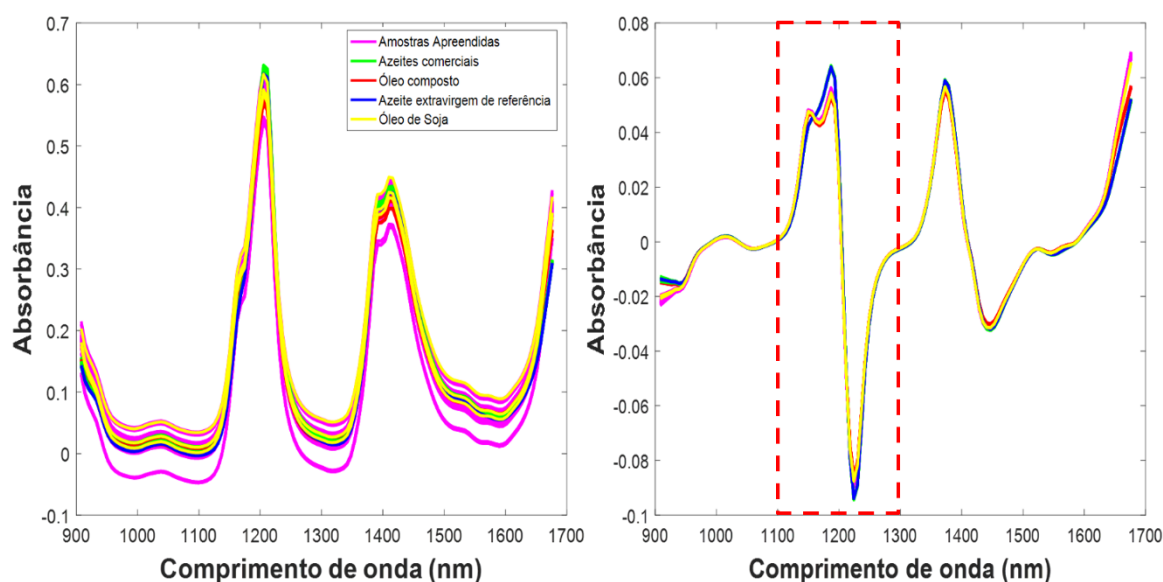
A12	1,075	2,726	0,893	1,01651	0,11978	C5	0,869	2,554	0,845	0,95986	-0,0334
A13	2,636	2,757	2,403	2,45203	0,20819	D1	1,434	2,676	1,155	1,13706	0,28779
A14	0,396	2,335	2,252	2,32689	-1,89399	D2	1,262	2,219	1,13	1,26447	0,06513
B1	1,704	2,677	1,521	1,50755	0,18952	D3	0,908	2,603	1,355	1,55916	-0,54951
B2	1,939	2,727	1,922	1,88159	0,03765	D4	1,063	2,546	1,369	1,53384	-0,38882
B3	1,876	2,626	1,833	1,89729	0,01084	D5	1,923	2,706	1,373	1,5093	0,4822
B4	2,176	2,715	2,054	2,01764	0,14052	D6	1,04	2,071	1,2	1,29524	-0,20801
B5	2,091	2,698	1,916	2,08928	0,08787	E1	1,413	2,546	2,425	2,51415	-1,05668
B6	0,945	2,559	0,952	1,02615	-0,04343	E2	1,612	2,743	2,384	2,54849	-0,85415
B7	1,268	2,666	1,187	1,2773	0,03608	E3	1,323	2,747	2,368	2,46075	-1,0909
B8	1,48	2,627	1,721	2,18104	-0,47131	E4	2,539	2,748	2,349	2,47167	0,12852
B9	1,056	2,572	1,701	1,92606	-0,75727	E5	1,966	2,539	2,327	2,36932	-0,3823
B10	0,64	2,596	1,677	1,88372	-1,14038	E6	2,474	2,648	2,276	2,36547	0,15317

B11	0,532	2,544	1,441	1,5579	-0,96787	E7	1,242	2,581	1,721	1,91736	-0,57709
B12	1,016	2,339	1,116	1,54002	-0,31173	E8	2,347	2,622	2,349	2,41796	-0,03647
B13	1,586	2,667	1,565	1,78518	-0,08914	E9	1,714	2,676	2,294	2,44237	-0,65376
B14	0,995	2,728	2,286	2,31128	-1,30311	E10	2,056	2,629	2,331	2,44715	-0,33291
B15	1,106	2,738	1,929	1,88903	-0,80318	E11	2,155	2,508	2,122	2,35854	-0,08522
B16	1,469	2,602	1,39	1,95186	-0,20252	E12	1,344	2,651	1,721	1,91912	-0,47596

5.2.2 Espectroscopia NIR portátil

A **Figura 26** ilustra os espectros NIR brutos (**Figura 26a**) e após a aplicação da primeira derivada (**Figura 26b**) para as amostras de azeite apreendidas, AOEV comerciais, óleos compostos e óleo de soja. Note que, em geral, os espectros são bastante semelhantes, não sendo possível uma diferenciação visual do adulterante. Logo, se faz necessário uma análise mais detalhada dos dados, usando os modelos quimiométricos.

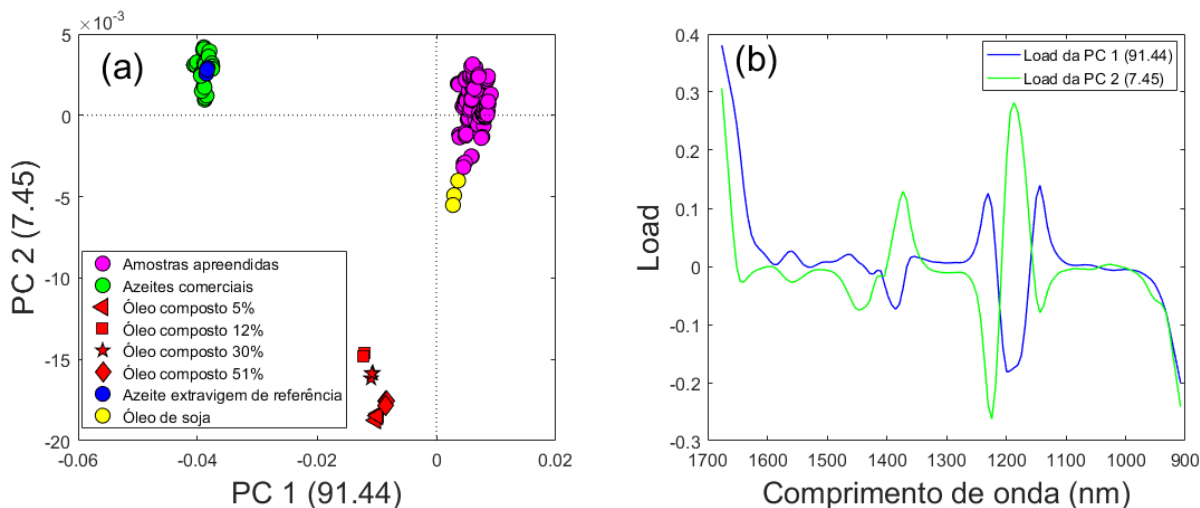
Figura 26. Espectros de infravermelho na região do próximo para as amostras de azeites apreendidas (a) brutos, e (b) tratados com a primeira derivada.



No perfil espectroscópico, observa-se as principais bandas de absorção localizadas em duas regiões: de 1100 a 1300 nm e 1350 a 1550 nm. A região de 1100 – 1300 nm é característica do segundo sobretom de vibrações das ligações C-H, referentes aos grupos funcionais $-\text{CH}_2$, $-\text{CH}_3$ e $-\text{CH}=\text{CH}-$.^{179,180} Essas bandas são coerentes com a composição química formada por triacilgliceróis, ácidos graxos, entre outros. Em um estudo feito por Hourant *et al.* (2000)¹⁷¹ em óleos e gordura, percebeu-se que os óleos os quais são ricos em ácidos graxos insaturados, apresentaram uma absorção mais evidente próximo a 1164 nm. Outro comprimento de onda característico de absorção na região de 1180 nm está relacionada com o grupo C-H de ácidos graxos puros contendo ligações duplas cis. A região de 1390 – 1490 nm está relacionada à combinação de vibração de estiramento C-H.¹⁸¹

Para identificar padrões nas amostras, o modelo PCA foi construído, a partir dos espectros *NIR* das amostras apreendidas juntamente com amostras de outros AOEV comerciais, óleos compostos e uma amostra de óleo de soja (**Figura 27a**). Pode-se observar que as duas primeiras componentes (98,89 % variância explicada) foram responsáveis para explicar os grupos formados, demonstrando grande homogeneidade das amostras que foram apreendidas. As amostras de azeite apreendidas se agrupam na região de $PC1 > 0$, distantes das demais marcas comerciais que são classificadas como AOEV. Destaca-se também que a amostra de óleo de soja está na mesma região da $PC1 > 0$. Isso indica semelhança química entre as amostras, onde o gráfico de *loadings* (**Figura 27b**), evidencia a região de 1100 a 1150 nm e 1200 a 1300 responsável pela variância dessas amostras (regiões que caracterizadas pelo segundo sobretom de vibrações das ligações C-H).

Figura 27. Gráficos de Scores para amostras de azeite apreendidas juntamente com amostras de óleo composto, AOEV comerciais e óleo de soja, e os (b) *loadings* referentes as PC's 1 e 2.

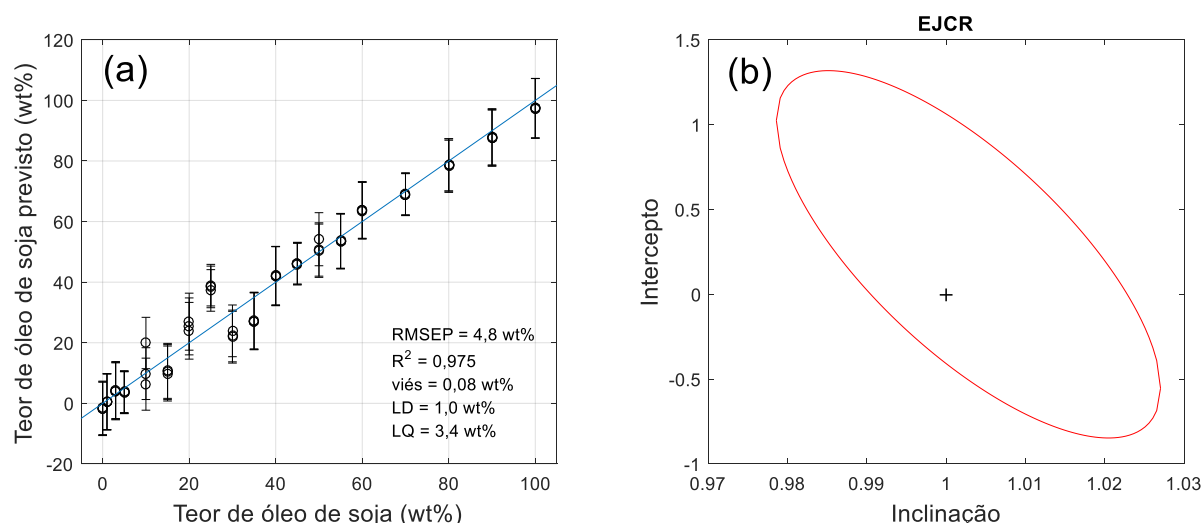


Após a observação de padrões no perfil químico dos *loadings* da PCA das amostras apreendidas, um modelo quantificação foi construído para estimar o teor de óleo de soja nas amostras apreendidas.

Para isso, foram utilizadas 19 blendas de óleo de soja em AOEV (com valores de 0 a 100 m%), o modelo PLS construído com duas variáveis latentes (**Figura 28**) apresentou um erro quadrático médio de previsão (RMSEP) de 4,8 m% e um coeficiente de determinação (R^2) de 0.975, viés do modelo de 0,08 m% e valores de

LOD e LOQ de 1,0 m% e 3,4 m% respectivamente (**Figura 28.a**). Os valores de intervalo com 95% de confiança (IC95) das estimativas variam de 6,9 a 9,8 m%, valores acima do LQ. Devido ao IC95 ser 6,9 m% para o ponto inicial da curva, este modelo não se aplica para valores de adulteração abaixo de 7 m%. O valor de viés apresentou ser não significativo no teste-t ao nível de significância de 5%. O valor de R^2 mostra a uma boa relação dos valores estimados pelo PLS com os de referência. A elipse de confiança contém o ponto ideal (1,0) confirmando a validade modelo é válido (**Figura 28.b**).

Figura 28. (a) Gráficos dos valores preditos e de referência de óleo de soja na curva de 0 a 100 m% em AOEV/óleo de soja com 95% de confiança. (b) elipse de confiança EJCR.



As amostras de azeite apreendidas foram aplicadas ao modelo de quantificação construído, onde que, a partir dos valores preditos (**Tabela 16**) observa-se que todas as amostras apresentaram alto teor de óleo de soja presente. Entre as amostras, apenas quatro (B1, B9, B13 e B16) foram quantificadas com menos de 100 m% de óleo de soja. O modelo PLS também foi aplicado para as amostras sendo conhecida como azeite de oliva extravirgem AOEV (AZ) e óleo de soja (OS), e os valores encontrados foram 0,01% e 105,7 m% de óleo de soja, respectivamente. Os valores estimados do teor de óleo de soja acima de 100 m% estão dentro do intervalo de 95% de confiança na estimativa (9,8 m% para 100% de óleo de soja).

Tanto as análises físico-químicas quanto as espectroscópicas apontaram adulteração nas amostras apreendidas. Apesar dos testes: acidez e índice de

peróxido não estarem relacionados com adulteração, estes evidenciaram que as amostras possuíam boa qualidade, resultado esperado devido às amostras estarem armazenadas a pouco tempo, não sofrendo alta exposição da luz, oxigênio ou umidade. Por outro lado, os resultados das análises de absorção no ultravioleta indicaram a presença de óleo refinado nas amostras analisadas. O que também é observado através dos resultados da PCA, em que as amostras apreendidas se agruparam próximas as amostras de óleo de soja ($PC1 > 0$) e da quantificação, na qual as amostras apresentaram alto teor desse adulterante.

Tabela 16. Valores de previsão de óleo de soja presente nas amostras de azeites apreendidas pela PC-ES aplicado ao modelo PLS.

COD	% de óleo prevista	COD	% de óleo prevista	COD	% de óleo prevista
A1	104,2	B8	102	D1	102,1
A2	105,8	B9	97,9	D2	101,7
A3	101,5	B10	100,5	D3	107
A4	104,8	B11	103,6	D4	107,6
A5	106,5	B12	103,5	D5	107,6
A6	103,7	B13	97,6	D6	101,5
A7	104,2	B14	101,6	E1	109,1
A8	100,9	B15	100,8	E2	102,5
A9	105,3	B16	98,5	E3	108,9
A10	104,1	B17	104,9	E4	109,2
A11	104,3	B18	103,5	E5	109,1

A12	106,6	B19	101,1	E6	107,6
A13	104,5	B20	108,5	E7	102,9
A14	104,1	B21	104,4	E8	109,1
B1	97,3	B22	104,5	E9	106,8
B2	101,9	B23	101,5	E10	109,1
B3	105,3	C1	109,4	E11	107,6
B4	101,8	C2	109,2	E12	102,3
B5	101,6	C3	104,6	AZ	0,01
B6	100,9	C4	108,9	OS	105,7
B7	100,2	C5	104,4		

5.3 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos mostram que o *MicroNIR*, em conjunto com os modelos quimiométricos (PCA e PLS), se mostrou uma ferramenta analítica eficaz na determinação da autenticidade das amostras de azeite apreendidas. Através do modelo PCA foi possível identificar as amostras como sendo AOEV autêntico; AOEV adulterado com 100% de óleo de soja (amostras apreendidas); e óleo composto (misturas de AOEV com óleo de soja). A partir do modelo PLS foi possível estimar o teor de óleo de soja, encontrando valores de até 100 m %, na maior parte dos casos. Comparando esses dados aos resultados das análises físico-químicas, todas as amostras foram classificadas como sendo composta apenas de azeite extravirgem podendo conter óleo vegetal adicionado as amostras, apresentando não conformidade para a propriedade de extinção específica.

6 CONCLUSÃO

Diante do trabalho realizado, torna-se possível a utilização da espectroscopia de infravermelho na região do próximo, a partir de um micro espectrômetro portátil combinado a análise de dados multivariados no controle de qualidade de azeite de oliva extravirgem.

Os modelos de regressão apresentam uma boa capacidade de prever a adulteração de óleo vegetal em azeite de oliva. O modo de aquisição de transmitância é mais eficiente quando comparado ao modo de reflectância, apresentando valores de LOD mais baixos (0,30 - 0,54% em massa versus 1,03 -1,82% em massa). Possibilitando avaliar a autenticidade de amostras apreendidas pela polícia Civil do Espírito Santo.

Os modelos de classificação SIMCA podem identificar a adulteração em azeites de oliva com adição de óleos vegetais e classificar com um nível de confiança de 95% em maiores concentrações.

A partir da aplicação de análises de componentes principais em espectros NIR de azeites, é possível distinguir os azeites de oliva extravirgem de azeites de oliva compostos e óleos vegetais.

Portando, o uso do microNIR, como ferramenta facilitadora para o controle de qualidade de azeite de oliva extravirgem se torna promissora, visto as inúmeras vantagens oferecidas não somente pela portabilidade da técnica de infravermelho como também sua aplicação quando associadas a quimiometria.

7 REFERÊNCIAS

- ¹ Baccouri, O., Bendini, A., Cerretani, L., Guerfel, M., Baccouri, B., Lercker, G., ... & Miled, D. D. B. Comparative study on volatile compounds from Tunisian and Sicilian monovarietal virgin olive oils. **Food Chem.** 111, 322–328. novembro. 2008.
- ² Bajoub, A., Bendini, A., Fernández-Gutiérrez, A., & Carrasco-Pancorbo, A. Olive oil authentication: A comparative analysis of regulatory frameworks with especial emphasis on quality and authenticity indices, and recent analytical techniques developed for their assessment. A review. **A review. Crit Rev Food Sci Nutr.** , v. 58, n. 5, p. 832-857, marco. 2018.
- ³ Ruiz G., V., M. , F. J. G., V., J. & V., J. El aceite de oliva virgen y las enfermedades cardiovasculares. Perfil lipídico en plasma y composición lipídica de la membrana de eritrocito humano. **Grasas y Aceites** v.49, p. 9–29. 1998.
DOI:<http://dx.doi.org/10.3989/gya.1998.v49.i1.703>
- ⁴ Casadei, E., Valli, E., Panni, F., Donarski, J., Gubern, J. F., Lucci, P., ... & Toschi, T. G. Emerging trends in olive oil fraud and possible countermeasures. **Food Control**, v. 124, p. 107902, 2021.
- ⁵ Guzmán, E., Baeten, V., Pierna, J. A. F., & García-Mesa, J. A. A portable Raman sensor for the rapid discrimination of olives according to fruit quality. **Talanta** v. 93, p. 94–98. Maio.2012
- ⁶ Aparicio, R., Morales, M. T., Aparicio-Ruiz, R., Tena, N., & García-González, D. L. Authenticity of olive oil: Mapping and comparing official methods and promising alternatives. **Food Res. Int.** v. 54, p. 2025–2038 dezembro. 2013.
- ⁷ Lohumi, S., Lee, S., Lee, H., & Cho, B. K. A review of vibrational spectroscopic techniques for the detection of food authenticity and adulteration. **Trends Food Sci. Technol.** V. 46, p. 85–98 novembro. 2015.
- ⁸ BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento Gabinete do Ministro. **INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 1, DE 30 DE JANEIRO DE 2012.** Disponível em:

<http://www.lex.com.br/doc_22871594_INSTRUCAO_NORMATIVA_N_1_DE_30_DE_JANEIRO_DE_2012.aspx>. Acesso em: 20 abr. 2018.

⁹ Dupuy, N., Duponchel, L., Huvenne, J. P., Sombret, B., & Legrand, P. Classification of edible fats and oils by principal component analysis of Fourier transform infrared spectra. **Food Chem.**, v. 57, p. 245-251. outubro. 1996.

¹⁰ da Silveira, R., Vágula, J. M., de Lima Figueiredo, I., Claus, T., Galuch, M. B., Junior, O. O. S., & Visentainer, J. V. Rapid methodology via mass spectrometry to quantify addition of soybean oil in extra virgin olive oil: A comparison with traditional methods adopted by food industry to identify fraud. **Food Res. Int.** v. 102, p. 43–50. Dezembro. 2017.

¹¹ Lara-Ortega, F. J., Beneito-Cambra, M., Robles-Molina, J., García-Reyes, J. F., Gilbert-López, B., & Molina-Díaz, A. Direct olive oil analysis by mass spectrometry: A comparison of different ambient ionization methods. **Talanta**. v. 180, p. 168–175 abril. 2018.

¹² Aparicio-Ruiz, R., García-González, D. L., Morales, M. T., Lobo-Prieto, A., & Romero, I. Comparison of two analytical methods validated for the determination of volatile compounds in virgin olive oil: GC-FID vs GC-MS. **Talanta**. 187, p. 133–141 maio. 2018.

¹³ Merchak, N., Rizk, T., Silvestre, V., Remaud, G. S., Bejjani, J., & Akoka, S. Olive oil characterization and classification by ¹³C NMR with a polarization transfer technique: A comparison with gas chromatography and ¹H NMR. **Food Chem.** v. 245, p. 717–723. Dezembro. 2018.

¹⁴ Dupuy, N., Galtier, O., Ollivier, D., Vanloot, P., & Artaud, J. Comparison between **NIR**, MIR, concatenated **NIR** and MIR analysis and hierarchical PLS model. Application to virgin olive oil analysis. **Anal. Chim. Acta**. v. 666, p. 23–31. Maio. 2010.

¹⁵ CAYUELA SÁNCHEZ, J. A.; MOREDA, W.; GARCÍA, J. M. Rapid determination of olive oil oxidative stability and its major quality parameters using Vis/**NIR**

transmittance spectroscopy. **J. Agric. Food Chem.**, v. 61, n. 34, p. 8056-8062. Agosto. 2013.

¹⁶ MOREAU, Robert; KAMAL-ELDIN, Afaf (Ed.). **Gourmet and health-promoting specialty oils**. Elsevier, 2015.

¹⁷ KALOGIANNI, E. P.; GEORGIU, D.; HASANOV, J. H. Olive Oil Processing: Current Knowledge, Literature Gaps, and Future Perspectives. **J Am Oil Chem Soc**, v. 96, n. 5, p. 481–507, 2019.

¹⁸ VOSSEN, Paul. Olive oil: history, production, and characteristics of the world's classic oils. **HortSci**, v. 42, n. 5, p. 1093-1100. agosto. 2007.

¹⁹ MELLO, L. D.; PINHEIRO, M. F. Aspectos físico-químicos de azeites de oliva e de folhas de oliveira provenientes de cultivares do RS, Brasil **Alim. Nutr**, v. 23, n. 4, p. 548. Dezembro. 2012.

²⁰ Azbar, N., Bayram, A., Filibeli, A., Muezzinoglu, A., Sengul, F., & Ozer, A. A review of waste management options in olive oil production. **Crit Rev Environ Sci Technol**, v. 34, n. 3, p. 209–247, 2004.

²¹ DI GIOVACCHINO, L; SESTILI, S; DI VINCENZO, D. Influence of olive processing on virgin olive oil quality. **Eur J Lipid Sci Technol**, v. 104, n. 9-10, p. 587-601. outubro. 2002.

²² APARICIO, R. CALVACANTE, J.J., ALONSO, M.V, MORALES, M.T.. Good control practices underlined by an on-line fuzzy control database. **Grasas y aceites**, v. 45, n. 1-2, p. 75-81 1994.

²³ INTERNATIONAL OLIVE OIL - IOC,. Changes in production olive oil. 2021 Disponível em: <<https://www.internationaloliveoil.org/wp-content/uploads/2021/12/IOC-Olive-Oil-Dashboard-1.html#production-2>>. Acesso em: 21 de jan. de 2022

-
- ²⁴ INTERNATIONAL OLIVE OIL – IOC . Consumo mundial de azeite de oliva. 2021 Disponível em: <<https://www.internationaloliveoil.org/wp-content/uploads/2021/12/IOC-Olive-Oil-Dashboard-1.html#consumption-1>>. Acesso em: 21 de jan. de 2022
- ²⁵ INTERNATIONAL OLIVE OIL - IOC. Consumo mundial de azeite de oliva. 2021 Disponível em: <<https://www.internationaloliveoil.org/wp-content/uploads/2021/12/IOC-Olive-Oil-Dashboard-1.html#imports-2>>. Acesso em: 21 de jan. de 2022
- ²⁶ BOSKOU, Dimitrios. **Olive oil: chemistry and technology**. 2. ed. Illinois AOCS Publishing, 2006.
- ²⁷ Maggio, R. M., Barnaba, C., Cerretani, L., Paciulli, M., & Chiavaro, E. Study of the influence of triacylglycerol composition on DSC cooling curves of extra virgin olive oil by chemometric data processing. **J. Therm. Anal. Calorim.**, v. 115, n. 3, p. 2037–2044, 2014.
- ²⁸ CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION – FAO/WHO. Codex Standard for olive oil, virgin and refined and for refined olive-pomace oil. CODEX STAN 33 -1981 (Rev. 1-1989). Roma: Secretariat of the Joint FAO/WHO Food Standards Programme, FAO, Roma, 2001. v.8, p.25 – 39.
- ²⁹ RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A.G. **Química de alimentos**. 2.ed. Editora Blucher, 2007.
- ³⁰ SPYROS, A.; PHILIPPIDIS, A.; DAIS, P. Kinetics of diglyceride formation and isomerization in virgin olive oils by employing ³¹P NMR spectroscopy. Formulation of a quantitative measure to assess olive oil storage history. **J. Agric. Food Chem.**, v. 52, n. 2, p. 157-164, 2004.
- ³¹ GARCÍA-GONZÁLEZ, D. L.; APARICIO-RUIZ, R.; APARICIO, R.. Virgin olive oil- Chemical implications on quality and health. **Eur J Lipid Sci Technol**, v. 110, n. 7, p. 602-607, julho. 2008.

-
- ³² Rousseaux, M. C., Cherbiy-Hoffmann, S. U., Hall, A. J., & Searles, P. S. Fatty acid composition of olive oil in response to fruit canopy position and artificial shading. **Scientia Horticulturae**, v. 271, p. 109477, setembro. 2020.
- ³³ Samaniego-Sánchez, C., Quesada-Granados, J. J., de la Serrana, H. L. G., & López-Martínez, M. C. β -Carotene, squalene and waxes determined by chromatographic method in picual extra virgin olive oil obtained by a new cold extraction system. **J Food Compost Anal**, v. 23, n. 7, p. 671–676, novembro. 2010.
- ³⁴ Rosa, A., Deiana, M., Casu, V., Paccagnini, S., Appendino, G., Ballero, M., & Dessí, M. A. Antioxidant activity of capsinoids. **J. Agric. Food Chem.** v. 50, n. 25, p. 7396-7401, novembro. 2002.
- ³⁵ LAZZERINI, C.; CIFELLI, M.; DOMENICI, V. Pigments in extra-virgin olive oil: Authenticity and quality. **Products from olive tree**, p. 99-114, outubro. 2016.
- ³⁶ LAZZERINI, C.; DOMENICI, V.. Pigments in extra-virgin olive oils produced in Tuscany (Italy) in different years. **Foods**, v. 6, n. 4, p. 25, Abril. 2017.
- ³⁷ Lerma-García, M. J., Simó-Alfonso, E. F., Méndez, A., Lliberia, J. L., & Herrero-Martínez, J. M. Classification of extra virgin olive oils according to their genetic variety using linear discriminant analysis of sterol profiles established by ultra-performance liquid chromatography with mass spectrometry detection. **Food Res. Int.**, v. 44, n. 1, p. 103–108, 2011. c
- ³⁸ NIETO, L. M; HODAIFA, G.; LOZANO PEÑA, J. L.. Changes in phenolic compounds and Rancimat stability of olive oils from varieties of olives at different stages of ripeness. **J. Sci. Food Agric.**, v. 90, n. 14, p. 2393-2398, novembro. 2010
- ³⁹ Ben-Ayed, R., Grati-Kamoun, N., Sans-Grout, C., Moreau, F., & Rebai, A. Characterization and authenticity of virgin olive oil (*Olea europaea* L.) cultivars by microsatellite markers. **Eur. Food Res. Technol.**, v. 234, n. 2, p. 263-271, fevereiro. 2011. DOI:10.1007/s00217-011-1631-5

⁴⁰ INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 9000**:

Sistema de gestão da qualidade: fundamentos e vocabulário. Rio de Janeiro: ABNT, 2008.

⁴¹ Kakouri, E., Revelou, P. K., Kanakis, C., Daferera, D., Pappas, C. S., & Tarantilis, P. A. Authentication of the botanical and geographical origin and detection of adulteration of olive oil using gas chromatography, infrared and raman spectroscopy techniques: a review. **Foods**, v. 10, n. 7, p. 1565, julho. 2021.

⁴² EUROPEAN COMMISSION. Commission Regulation (EEC) No 2568/91 of 11 July 1991 on the characteristics of olive oil and olive-residue oil and on the relevant methods of analysis. **Official Journal L 248**. European Communities Chapter 3 Volume 38 p. 0174, 11 jul. 1991.

⁴³ Alimentarius, Codex. Codex standard for olive oils and olive pomace oils. Roma: FAO/WHO .1981.

⁴⁴ CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION – FAO/WHO. Codex Standard for olive oil, virgin and refined and for refined olive-pomace oil. CODEX STAN 33 -1981 (Rev. 1-1989). Roma: Secretariat of the Joint FAO/WHO Food Standards Programme, FAO, Roma,. v.8, p.25 – 39. 2001

⁴⁵ USDA. "United States standards for grades of olive oil and olive-pomace oil." Fed Regist 75 (2010): 22363-22368.

⁴⁶ IOC, IOC. "COI/T. 15/NC No 3/Rev. 14-Trade standard applying to Olive Oils and Olive-Pomace Oils." International olive council, coi, Madrid, Spain. 2019.

⁴⁷ COI. Conselho Oleícola Internacional. Sensory Analysis of olive oil – Method for the assessment of virgin olive oil. 2015.

⁴⁸ BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução nº 270, de 22 de setembro de 2005. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e

Qualidade de Óleos e Gorduras Vegetais. Diário Oficial [da] União, Brasília, DF, 23 set. 2005.

⁴⁹ ARMENTA, S.; GARRIGUES, S.; DE LA GUARDIA, M. Determination of edible oil parameters by near infrared spectrometry. **Anal. Chim. Acta**, v. 596, n. 2, p. 330-337, junho. 2007

⁵⁰ DE OLIVEIRA, M. A. L., WATSON, R. **Determination of olive oil acidity**: in Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention. Academic Press, 2010. p. 545-552.

⁵¹ RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Quím. nova**, v. 29, n. 4 p. 755-760. dezembro. 2006..

⁵² Aued-Pimentel, S., Takemoto, E., Kumagai, E. E., & Cano, C. B. Determinação da diferença entre o valor real e o teórico do triglicerídeo ECN 42 para a detecção de adulteração em azeites de oliva comercializados no Brasil. **Quím. Nova**, v. 31, n. 1, p. 31-34, dezembro, 2008.

⁵³ BERTONCINI, E. I.; TERAMOTO, J. R. S.; PRELA-PANTANO, A. Desafios para produção de azeite no Brasil. **Campinas: Infobibos**, 2010.

⁵⁴ GÓMEZ-CARAVACA, A. M.; MAGGIO, R. M.; CERRETANI, L. Chemometric applications to assess quality and critical parameters of virgin and extra-virgin olive oil. A review. **Anal. Chim. Acta**, v. 913, p. 1-21, março. 2016.

⁵⁵ Christopoulou, E., Lazaraki, M., Komaitis, M., & Kaselimis, K. Effectiveness of determinations of fatty acids and triglycerides for the detection of adulteration of olive oils with vegetable oils. **Food Chem.**, v. 84, n. 3, p. 463-474, fevereiro. 2004.

⁵⁶ DE OLIVEIRA, D. N.; CATHARINO, R. R. Direct metabolic fingerprinting of olive oils using STELDI-MS. **J Food Compost Anal.** v. 38, p. 131-134, março. 2015.

⁵⁷ SQUEO, G. et al. FT-IR extra virgin olive oil classification based on ethyl ester content. **Food Control**, v. 102, p. 149-156, agosto. 2019.

⁵⁸ BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO GABINETE DO MINISTRO. **Fiscalização reprovou 59,7% das amostras de azeite de oliva.** Disponível em: < <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/fiscalizacao-reprovou-59-7-das-amostras-de-azeite-de-oliva>>.

Acesso em: 02 fev. 2022.

⁵⁹ BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO GABINETE DO MINISTRO. Ministério da Agricultura reprovou 45 marcas de azeite de oliva. Disponível em: < <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/mapa-identifica-45-marcas-de-azeite-fraudados>>. Acesso em: 02 fev. 2022.

⁶⁰ Canal cultural. Mapa suspende comercialização de 150 mil garrafas de azeite em seis estados. Disponível em: < <https://www.canalrural.com.br/noticias/mapa-suspende-comercializacao-de-150-mil-garrafas-de-azeite-em-seis-estados/>>. Acesso em: 02 fev. 2022.

⁶¹ BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO GABINETE DO MINISTRO. **Ação conjunta apreende azeite de oliva irregular em estabelecimentos do ES.** Disponível em: < <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/acao-conjunta-apreende-azeite-de-oliva-irregular-em-estabelecimentos-do-espírito-santo>>. Acesso em: 02 fev. 2022.

⁶² López, M. I., Trullols, E., Callao, M. P., & Ruisánchez, I. Multivariate screening in food adulteration: untargeted versus targeted modelling. **Food Chem**, v. 147, p. 177-181, 2014.

⁶³ Van Ruth, S. M., Luning, P. A., Silvis, I. C., Yang, Y., & Huisman, W. Differences in fraud vulnerability in various food supply chains and their tiers. **Food Control**, v. 84, p. 375-381, fevereiro. 2018.

⁶⁴ GARCIA-GONZALEZ, D. L.; APARICIO, R. Research in olive oil: challenges for the near future. **J. Agric. Food Chem.** v. 58, n. 24, p. 12569-12577, novembro. 2010.

-
- ⁶⁵ AZADMARD-DAMIRCHI, S.; TORBATI, M. Adulterations in some edible oils and fats and their detection methods. **J Food Qual Hazards Control**. v. 2, n. 2, p. 38-44, Janeiro. 2015.
- ⁶⁶ DAIS, P., and HATZAKIS, E. Quality assessment and authentication of virgin olive oil by NMR spectroscopy: A critical review" **Anal. Chim. Acta**. v. 765 n.26 p. 1-27. Fevereiro. 2013
- ⁶⁷ ZABARAS, Dimitrios. Chapter 49 - Olive Oil Adulteration with Hazelnut Oil and Analytical Approaches for Its Detection,. In: PREEDY, Victor R.; WATSON, Ronald Ross (ed.). **Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention**. Austrália: Academic Press, 2010. p. 441-450.
- ⁶⁸ McGrath, T. F., Haughey, S. A., Patterson, J., Fauhl-Hassek, C., Donarski, J., Alewijn, M., ... & Elliott, C. T. What are the scientific challenges in moving from targeted to non-targeted methods for food fraud testing and how can they be addressed? Spectroscopy case study. **Trends Food Sci Technol**, v. 76, p. 38-55, junho. 2018
- ⁶⁹ CODEX ALIMENTARIUS. Standard for Olive Oils and Olive Pomace Oils. **International Food Standard**, p. 1–8, 2015.
- ⁷⁰ MORALES M.T., LEÓN-CAMACHO, M. Gas and Liquid Chromatography: Methodology Applied to Olive Oil. In: Harwood J., Aparicio R. (eds) Handbook of Olive Oil. Springer, Boston, 2000 7
- ⁷¹ MEENU, M., QIANXI, C., and BAOJUN, X.. A critical review on analytical techniques to detect adulteration of extra virgin olive oil. **Trends Food Sci Technol** v. 91p. 391-408. Setembro. 2019
- ⁷² DIONISI, F., PRODOLLIET, J., TAGLIAFERRI, E.. Assessment of olive oil adulteration by reversed-phase high-performance liquid chromatography/amperometric detection of tocopherols and tocotrienols. **J Am Oil Chem Soc**. v.72, p. 1505-1511. Dezembro. 1995

-
- ⁷³ ZABARAS, D., GORDON, M. H.. Detection of pressed hazelnut oil in virgin olive oil by analysis of polar components: improvement and validation of the method. **Food Chem.** v. 84, n. 3 p. 475-483. Fevereiro. 2004
- ⁷⁴ Nagy, K., Bongiorno, D., Avellone, G., Agozzino, P., Ceraulo, L., & Vékey, K. High performance liquid chromatography–mass spectrometry based chemometric characterization of olive oils. **J Chromatogr Sci.** v.1078, n. 1-2 p. 90-97. Junho. 2005
- ⁷⁵ FASCIOTTI, M., ANNIBAL D., P. N.. Optimization and application of methods of triacylglycerol evaluation for characterization of olive oil adulteration by soybean oil with HPLC–APCI-MS–MS. **Talanta.** v.81, n. 3 p. 1116-1125. Fevereiro. 2010
- ⁷⁶ Gil-Solsona, R., Raro, M., Sales, C., Lacalle, L., Díaz, R., Ibanez, M., ... & Hernández, F. J. . Metabolomic approach for Extra virgin olive oil origin discrimination making use of ultra-high performance liquid chromatography–Quadrupole time-of-flight mass spectrometry. **Food Control** v. 70 p. 350-359. Dezembro. 2016.
- ⁷⁷ Green, H. S., Li, X., De Pra, M., Lovejoy, K. S., Steiner, F., Acworth, I. N., & Wang, S. C. A rapid method for the detection of extra virgin olive oil adulteration using UHPLC-CAD profiling of triacylglycerols and PCA. **Food Control** v. 107 106773. Janeiro. 2020
- ⁷⁸ Lee, Dong-Sun, Bong-Soo Noh, Sun-Young Bae, and Kun Kim. Characterization of fatty acids composition in vegetable oils by gas chromatography and chemometrics. **Anal. Chim. Acta** v. 358, n. 2 163-175. 1998
- ⁷⁹ Cercaci, LLuisito, M. T. R-E, LERCKER, G.. Solid-phase extraction–thin-layer chromatography–gas chromatography method for the detection of hazelnut oil in olive oils by determination of esterified sterols. **J. Chromatogr., A** .v. 985, n. 1-2 p. 211-220. Janeiro. 2003

-
- ⁸⁰ Yang, Y., Ferro, M. D., Cavaco, I., & Liang, Y. Detection and identification of extra virgin olive oil adulteration by GC-MS combined with chemometrics. **J. Agric. Food Chem.** v. 61, n. 15 p. 3693-3702. Março. 2013
- ⁸¹ Zhou, X., Zhang, Q., Chen, X., Li, X., & Han, C. In-situ assessment of olive oil adulteration with soybean oil based on thermogravimetric-gas chromatography/mass spectrometry combined with chemometrics. **Food Control** v.130 p. 108251. Dezembro. 2021
- ⁸² Tena, N., Wang, S. C., Aparicio-Ruiz, R., García-González, D. L., & Aparicio, R. In-depth assessment of analytical methods for olive oil purity, safety, and quality characterization. **J. Agric. Food Chem.**, v. 63, n. 18, p. 4509-4526, abril, 2015.
- ⁸³ FRANKEL, E. N. Chemistry of extra virgin olive oil: Adulteration, oxidative stability, and antioxidants. **J. Agric. Food Chem.**, v. 58, n. 10, p. 5991–6006, abril. 2010.
- ⁸⁴ González-Pereira, A., Otero, P., Fraga-Corral, M., Garcia-Oliveira, P., Carpena, M., Prieto, M. A., & Simal-Gandara, J. State-of-the-art of analytical techniques to determine food fraud in olive oils. **Foods**, v. 10, n. 3, p. 484, fevereiro. 2021.
- ⁸⁵ Abbas, Ouissam, Audrey Pissard, and Vincent Baeten. Near-infrared, mid-infrared, and Raman spectroscopy. **Chem. Anal. of Food**, p. 77-134. 2020.
- ⁸⁶ MOROS, J.; GARRIGUES, S.; DE LA GUARDIA, M.. Vibrational spectroscopy provides a green tool for multi-component analysis. **Trends Anal. Chem.**, v. 29, n. 7, p. 578-591, julho-agosto. 2010.
- ⁸⁷ Gredilla, A., de Vallejuelo, S. F. O., Elejoste, N., de Diego, A., & Madariaga, J. M. Non-destructive Spectroscopy combined with chemometrics as a tool for Green Chemical Analysis of environmental samples: A review. **Trends Anal. Chem.**, v. 76, p. 30-39, fevereiro. 2016.
- ⁸⁸ SILVERSTEIN, R. M., FRANCIS, X. W., DAVID, J. K. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 6° Ed. Ltc. 136 - 148p, 2007.

-
- ⁸⁹ GRIFFITHS, P. R.; DE HASETH, J. A. **Fourier transform infrared spectrometry**. John Wiley & Sons, 2007.
- ⁹⁰ REICH, G.. Mid and near infrared spectroscopy. In: **Analytical Techniques in the Pharmaceutical Sciences**. Springer, New York, NY, 2016. p. 61-138.
- ⁹¹ GRIFFITHS, P. R. Infrared and Raman instrumentation for mapping and imaging. **Infrared and Raman spectroscopic imaging**, v. 2, p. 1-56, 2009.
- ⁹² MUNIZ, G. I. B.; MAGALHÃES, W. L. E.; CARNEIRO, M. E.; VIANA, L. C. Fundamentos e estado da arte da espectroscopia no infravermelho próximo no setor de base florestal. **Ciência Florestal**, 22(4), 865-875, 2012.
- ⁹³ HERSCHEL, William. XIV. Experiments on the refrangibility of the invisible rays of the sun. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, n. 90, p. 284-292, 1800.
- ⁹⁴ COBLENTZ, William Weber. **Investigations of Infra-red Spectra**.. Carnegie institution of Washington, 1905.
- ⁹⁵ PASQUINI, Celio. Near Infrared Spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications. **Journal Of The Brazilian Chemical Society**, [S.L.], v. 14, n. 2, p. 198-219, abr. 2003. FapUNIFESP (SciELO)..
- ⁹⁶ JOSEPH W. E.. Modifications in the Near Infra-Red Absorption Spectra of Protein and of Light and Heavy Water Molecules When Water is Bound to Gelatin. **J. Chem. Phys.**, , v. 6, n. 11, p. 723-729, novembro. 1938..
- ⁹⁷ WETZEL, D. L. Near-infrared reflectance analysis. **Analytical chemistry**, v. 55, n. 12, p. 1165A-1176A, 1983.
- ⁹⁸ DAVIES, T. The history of near infrared spectroscopic analysis: past, present and future. **Analusis**, v. 26, n. 4, p. 17-19, maio 1998.

-
- ⁹⁹ BARCHEWITZ, P. Use of near infrared in chemical analysis (Application to the analysis of fuels). **J. Chem. Phys**, v. 45, p. 40-43, 1943.
- ¹⁰⁰ WHITE, Locke; BARRETT, W. J. Determination of water in fuming nitric acid by near-infrared absorption. **Anal. Chem.**, v. 28, n. 10, p. 1538-1542, outubro. 1956.
- ¹⁰¹ MCCLURE, W. Fred. Near-infrared spectroscopy. The giant is running strong. **Anal. Chem.**, , v. 66, n. 1, p. 43-53, janeiro.1994..
- ¹⁰² HART, J. R.; NORRIS, K. H.; GOLUMBIC, C. Determination of the moisture content of seeds by near-infrared spectrophotometry of their methanol extracts. **Cereal Chem.**, v. 39, n. 2, p. 94-99, 1962.
- ¹⁰³ NORRIS, K. H.; HART, J. R. Direct spectrophotometric determination of moisture content of grain and seeds. **J. Near Infrared Spectrosc.**, v. 4, n. 1, p. 23-30, janeiro. 1996.
- ¹⁰⁴ NISHIYAMA, Paula; ALVAREZ, Mauro; VIEIRA, Luiz GE. Determination of levels of stevioside and water soluble carbohydrates in leaves of Stevia rebaudiana by near infrared reflectance spectroscopy. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v. 34, n. 2, p. 361-374, 1991.
- ¹⁰⁵ NISHIYAMA, P.; ALVAREZ, M.; VIEIRA, L. G. E. Quantitative analysis of stevioside in the leaves of Stevia rebaudiana by near infrared reflectance spectroscopy. **J. Sci. Food Agric.**, v. 59, n. 3, p. 277-281, 1992.
- ¹⁰⁶ TIBOLA, C. S., DE MEDEIROS, E. P., SIMEONE, M. L. F., & DE OLIVEIRA, M. A. Espectroscopia no infravermelho próximo para avaliar indicadores de qualidade tecnológica e contaminantes em grãos. **Embrapa Trigo-Livro científico**, 2018.
- ¹⁰⁷ MCCLURE, W. Fred. 204 Years of near Infrared Technology: 1800::2003. **J. Near Infrared Spectrosc.**, v. 11, n. 6, p. 487-518, dezembro. 2003..
- ¹⁰⁸ SKOOG, Douglas A. **Princípios de Análise Instrumental**. 6. ed. Porto Alegre: Bookman, 2009. 1056 p.

-
- ¹⁰⁹ PASQUINI, Celio. Near infrared spectroscopy: a mature analytical technique with new perspectives ∴ a review. **Anal. Chim. Acta** , v. 1026, p. 8-36, outubro. 2018..
- ¹¹⁰ WILLIAMS, Phil et al. **Near-infrared technology in the agricultural and food industries**. American Association of Cereal Chemists, Inc., 1987.
- ¹¹¹ BLANCO, M.; VILLARROYA, I. N. I. R. **NIR** spectroscopy: a rapid-response analytical tool. **Trends Anal. Chem.**, v. 21, n. 4, p. 240-250, abril. 2002.
- ¹¹² JIMÉNEZ-CARVELO, A. M.; LOZANO, v. A.; OLIVIERI, A. C. Comparative chemometric analysis of fluorescence and near infrared spectroscopies for authenticity confirmation and geographical origin of Argentinean extra virgin olive oils. **Food Control**, v. 96, p. 22-28, Agosto. 2018.
- ¹¹³ Mendez, J., Mendoza, L., Cruz-Tirado, J. P., Quevedo, R., & Siche, R.. Trends in application of **NIR** and hyperspectral imaging for food authentication. **Sci Agric** v. 10 n.1 : 143-161. Março. 2019
- ¹¹⁴ Li, X., Zhang, L., Zhang, Y., Wang, D., Wang, X., Yu, L., ... & Li, P. Li, X., Zhang, L., Zhang, Y., Wang, D., Wang, X., Yu, L., ... & Li, P. Review of **NIR** spectroscopy methods for nondestructive quality analysis of oilseeds and edible oils. **Trends Food Sci. Technol.**, v. 101, p. 172-181, julho. 2020.
- ¹¹⁵ ABU-KHALAF, N.; HMIDAT, M.. Visible/Near Infrared (VIS/**NIR**) spectroscopy as an optical sensor for evaluating olive oil quality. **Comput. Electron. Agric.**, v. 173, p. 105445, 2020.
- ¹¹⁶ Mendes, T. O., da Rocha, R. A., Porto, B. L., de Oliveira, M. A., dos Anjos, V. D. C., & Bell, M. J. Quantification of extra-virgin olive oil adulteration with soybean oil: a comparative study of **NIR**, MIR, and Raman spectroscopy associated with chemometric approaches. **Food Anal Methods**, v. 8, n. 9, p. 2339-2346, fevereiro. 2015.

-
- ¹¹⁷ ÖZDEMİR, Durmuş; ÖZTÜRK, Betül. Near infrared spectroscopic determination of olive oil adulteration with sunflower and corn oil. **J. Food Drug Anal.**, 2007.
- ¹¹⁸ Kasemsumran, S., Kang, N., Christy, A., & Ozaki, Y. Partial least squares processing of near-infrared spectra for discrimination and quantification of adulterated olive oils. **Spectrosc. Lett.**, v. 38, n. 6, p. 839-851, 2005.
- ¹¹⁹ ÖZTÜRK, B.; YALÇIN, A.; ÖZDEMİR, D. Determination of olive oil adulteration with vegetable oils by near infrared spectroscopy coupled with multivariate calibration. **J. Near Infrared Spectrosc.**, v. 18, n. 3, p. 191-201, 2010.
- ¹²⁰ Wójcicki, K., Khmelinskii, I., Sikorski, M., Caponio, F., Paradiso, V. M., Summo, C., ... & Sikorska, E. Spectroscopic techniques and chemometrics in analysis of blends of extra virgin with refined and mild deodorized olive oils. **Eur. J. Lipid Sci. Technol.**, v. 117, n. 1, p. 92-102, julho. 2015.
- ¹²¹ Vanstone, N., Moore, A., Martos, P., & Neethirajan, S. Detection of the adulteration of extra virgin olive oil by near-infrared spectroscopy and chemometric techniques. **Food Qual. Saf.**, v. 2, n. 4, p. 189-198, dezembro. 2018.
- ¹²² Karunathilaka, S. R., Kia, A. R. F., Srigley, C., Chung, J. K., & Mossoba, M. M. Nontargeted, Rapid Screening of Extra Virgin Olive Oil Products for Authenticity Using Near-Infrared Spectroscopy in Combination with Conformity Index and Multivariate Statistical Analyses. **J. Food Sci.** v. 81, n. 10, p. C2390-C2397, outubro. 2016.
- ¹²³ Filoda, P. F., Fetter, L. F., Fornasier, F., Schneider, R. D. C. D. S., Helfer, G. A., Tischer, B., ... & da Costa, A. B. Fast methodology for identification of olive oil adulterated with a mix of different vegetable oils. **Food Anal. Methods**, v. 12, n. 1, p. 293-304, setembro. 2019.
- ¹²⁴ Borghi, F. T., Santos, P. C., Santos, F. D., Nascimento, M. H., Correa, T., Cesconetto, M., ... & Filgueiras, P. R. Quantification and classification of vegetable

oils in extra virgin olive oil samples using a portable near-infrared spectrometer associated with chemometrics. **Microchem. J.**, v. 159, p. 105544, dezembro. 2020.

¹²⁵ Azizian, H., Mossoba, M. M., Fardin-Kia, A. R., Karunathilaka, S. R., & Kramer, J. K. Developing FT-**NIR** and PLS1 methodology for predicting adulteration in representative varieties/blends of extra virgin olive oils. **Lipids**, v. 51, n. 11, p. 1309-1321, setembro. 2016.

¹²⁶ Weng, X. X., Lu, F., Wang, C. X., & Qi, Y. P. Discriminating and quantifying potential adulteration in virgin olive oil by near infrared spectroscopy with BP-ANN and PLS. **Spectroscopy and Spectral Analysis**, v. 29, n. 12, p. 3283-3287, dezembro 2009.

¹²⁷ Xian, R. Y., Huang, F. R., Li, Y. P., Pan, S. S., Chen, Z., Chen, Z. Q., & Wang, Y. Quantitative analysis of deep-frying oil adulterated virgin olive oil using Vis-**NIR** spectroscopy with iPLS. **Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi.**, v. 36, n. 8, p. 2462-2467, Agosto. 2016.

¹²⁸ Vieira, L. S., Assis, C., de Queiroz, M. E. L. R., Neves, A. A., & de Oliveira, A. F. Building robust models for identification of adulteration in olive oil using FT-**NIR**, PLS-DA and variable selection. **Food Chem.**, v. 345, p. 128866, maio. 2021.

¹²⁹ MITCHELL, A. R.; PINTER, P. J.; GUERRERO, J. N.; HERNANDEZ, C. B.; MARBLE, V. L. Spectral Reflectance Measurements of Alfalfa under Sheep Grazing. **Agron. J.**, v. 82, n. 6, p. 1098-1103, novembro. 1990.

¹³⁰ LYSAGHT, M. J.; VAN ZEE, J. A.; CALLIS, J. B. Laptop chemistry: A fiberoptic, field portable, near infrared spectrometer. **Rev. Sci. Instrum.** . v. 62, n. 2, p. 507-515, 1991

¹³¹ MALINEN, J. et al. LED-based **NIR** spectrometer module for hand-held and process analyser applications. **Sens. Actuators, B.**, v. 51, n. 1-3, p. 220-226, 1998.

-
- ¹³² CAPITÁN-VALLVEY, L. F.; PALMA, A. J.. Recent developments in handheld and portable optosensing—A review. **Anal. Chim. Acta**, [S.L.], v. 696, n. 1-2, p. 27-46, junho. 2011..
- ¹³³ BEĆ, K. B.; GRABSKA, J.; HUCK, C. W. Principles and applications of miniaturized near-infrared (**NIR**) spectrometers. **Chem.–Eur. J.**, v. 27, n. 5, p. 1514-1532, agosto. 2021.
- ¹³⁴ Dos Santos, C. A. T., Lopo, M., Páscoa, R. N., & Lopes, J. A. A Review on the Applications of Portable Near-Infrared Spectrometers in the Agro-Food Industry. **Appl. Spectrosc.** , , v. 67, n. 11, p. 1215-1233, novembro. 2013..
- ¹³⁵ GUILLEMAIN, A.; DÉGARDIN, K.; ROGGO, Y.. Performance of **NIR** handheld spectrometers for the detection of counterfeit tablets. **Talanta**, , v. 165, p. 632-640, abril. 2017..
- ¹³⁶ FRIEDRICH, D. M. Miniature near-infrared spectrometer for point-of-use chemical analysis. In: **Photonic Instrumentation Engineering**. International Society for Optics and Photonics, v. 899203. 2014
- ¹³⁷ Pederson, C. G., Friedrich, D. M., Hsiung, C., von Gunten, M., O'Brien, N. A., Ramaker, H. J., ... & Dreischor, M. Pocket-size near-infrared spectrometer for narcotic materials identification. In: **Next-generation spectroscopic technologies VII. SPIE**, V. 9101. p. 185-195. 2014
- ¹³⁸ Pérez-Marín, D., Paz, P., Guerrero, J. E., Garrido-Varo, A., & Sánchez, M. T. Miniature handheld **NIR** sensor for the on-site non-destructive assessment of post-harvest quality and refrigerated storage behavior in plums. **J. Food Eng.**, v. 99, n. 3, p. 294-302, agosto. 2010.
- ¹³⁹ POREP, J. U.; KAMMERER, D. R.; CARLE, R.. On-line application of near infrared (**NIR**) spectroscopy in food production. **Trends Food Sci. Technol.**, v. 46, n. 2, p. 211-230, dezembro. 2015..

-
- ¹⁴⁰ Balage, J. M., e Silva, S. D. L., Gomide, C. A., de Nadai Bonin, M., & Figueira, A. C. Predicting pork quality using Vis/**NIR** spectroscopy. **Meat Science**, v. 108, p. 37-43, out. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.04.018>.
- ¹⁴¹ O'Brien, N. A., Hulse, C. A., Friedrich, D. M., Van Milligen, F. J., von Gunten, M. K., Pfeifer, F., & Siesler, H. W. N.. Miniature near-infrared (**NIR**) spectrometer engine for handheld applications. **Next-Generation Spectroscopic Technologies V**, v. 8374, p. 1-8, 1 maio 2012.
- ¹⁴². Ecarnot, M., Bączyk, P., Tessarotto, L., & Chervin, C. Rapid phenotyping of the tomato fruit model, Micro-Tom, with a portable VIS–**NIR** spectrometer. **Plant Physiol. Biochem.**, v. 70, p. 159-163, setembro. 2013.
- ¹⁴³ YAN, J.; VAN STUIJVENBERG, L.; VAN RUTH, S. M. Handheld Near-Infrared Spectroscopy for Distinction of Extra Virgin Olive Oil from Other Olive Oil Grades Substantiated by Compositional Data. **Eur. J. Lipid Sci. Technol.**, v. 121, n. 12, p. 1900031, setembro. 2019.
- ¹⁴⁴ Santos, P. C., Tosato, F., Cesconetto, M., Corrêa, T., Santos, F. D., Lacerda Jr, V., ... & Romão, W. Determination of the authenticity of commercial olive oil samples seized in the Espírito Santo state using a portable spectrophotometer in the **nir** region. **Quím. Nova**, v. 43, p. 891-900, maio. 2020.
- ¹⁴⁵HARYNUK, James J.; DE LA MATA, A. Paulina; SINKOV, Nikolai A. Application of chemometrics to the interpretation of analytical separations data. In: **Chemometrics in Practical Applications**. IntechOpen, 2012.
- ¹⁴⁶ WOLD, S. Spline-funktioner-ett nytt verktyg i dataanalysen. **Kemisk Tidskrift**, v. 3, p. 34-37, 1972.
- ¹⁴⁷D.L. Massart, et. Al. **Handbook of Chemometrics and Qualimetrics-data Handling in Science and Technology, Part A** Elsevier, Amsterdam. 1997

-
- ¹⁴⁸ FERREIRA, M. M. C. **Quimiometria**: conceitos, métodos e aplicações. 1.ed. Campinas. Editora UNICAMP, 2015.
- ¹⁴⁹ **IUPAC** Compendium of Chemical Terminology – the Gold Book. Disponível em: <http://goldbook.iupac.org/CT06948.html> acesso em 28 fev 2021.
- ¹⁵⁰ FERREIRA, M.C.; ANTUNES, A.M.; MELGO, M.S.; VOLPE, P.L.O. Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial. **Quím. Nova**, v.22, n.5, p. 724-731., setembro. 1999.
- ¹⁵¹ BEEBE K. R.; PELL, R. J.; SEASHOLTZ, M. B.; **Chemometrics**: a practical guide, John Wiley & Sons: New York, 1997.
- ¹⁵² CORREIA, P. R. M.; FERREIRA, M. M. C. Reconhecimento de padrões por métodos não supervisionados: explorando procedimentos quimiométricos para tratamento de dados analíticos. **Quím. Nova**, v. 30, n. 2, p. 481-487, abril. 2007..
- ¹⁵³ BALLABIO, D. A MATLAB toolbox for Principal Component Analysis and unsupervised exploration of data structure. **Chemom. Intell. Lab. Syst.**, v. 149, p. 1 –9, dezembro. 2015.
- ¹⁵⁴ POMERANTSEV, A. L. Acceptance areas for multivariate classification derived by projection methods. **J. Chemom.**, v. 22, n. 11-12, p. 601-609, julho. 2008.
- ¹⁵⁵ POMERANTSEV, Alexey L.; RODIONOVA, Oxana Ye. On the type II error in SIMCA method. **J. Chemom.**, v. 28, n. 6, p. 518-522, fevereiro. 2014.
- ¹⁵⁶ OLIVERI, Paolo. Class-modelling in food analytical chemistry: development, sampling, optimization and validation issues—a tutorial. **Anal. Chim. Acta**, v. 982, p. 9-19, Agosto. 2017.
- ¹⁵⁷ HIBBERT, D. B. Vocabulary of concepts and terms in chemometrics (IUPAC Recommendations 2016). **Pure Appl. Chem.**, v. 88, n. 4, p. 407–443, 2016.

-
- ¹⁵⁸ HÖSKULDSSON, Agnar. PLS regression methods. **J. Chemom.**, v. 2, n. 3, p. 211-228, junho. 1988.
- ¹⁵⁹ Souza, A. M. D., Breitzkreitz, M. C., Filgueiras, P. R., Rohwedder, J. J. R., & Poppi, R. J. Experimento didático de quimiometria para calibração multivariada na determinação de paracetamol em comprimidos comerciais utilizando espectroscopia no infravermelho próximo: um tutorial, parte II. **Quím. Nova**, v. 36, n. 7, p. 1057-1065, abril. 2013.
- ¹⁶⁰ SALKIND, N. Partial Least Square Regression. **Encyclopedia of Measurement and Statistics**, 2015.
- ¹⁶¹ De Bleye, C., Chavez, P. F., Mantanus, J., Marini, R., Hubert, P., Rozet, E., & Ziemons, E. Critical review of near-infrared spectroscopic methods validations in pharmaceutical applications. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 69, p. 125–132, outubro. 2012.
- ¹⁶² WOLD, S.; SJÖSTRÖM, M.; ERIKSSON, L. PLS-regression: A basic tool of chemometrics. **Chemom. Intell. Lab. Syst.**, v. 58, n. 2, p. 1109–130, outubro. 2001.
- ¹⁶³ INSTITUTO ADOLFO. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: **métodos químicos e físicos para análise de alimentos (Vol. 1)**. São Paulo: IMESP, 1985.
- ¹⁶⁴ SAVITZKY, A.; GOLAY, M.J.E. Smoothing and differentiation of data by simplified least squares procedures. **Anal. Chem.**, v. 36, n. 8, p. 1627-1639, julho. 1964.
- ¹⁶⁵ FILZMOSER, P.; LIEBMANN, B.; VARMUZA, K. Repeated double cross validation. **J. Chemom.**, v. 23, n. 4, p. 160-171, fevereiro. 2009.
- ¹⁶⁶ ALLEGRINI, F.; OLIVIERI, A. C. IUPAC-consistent approach to the limit of detection in partial least-squares calibration. **Anal. Chem.**, v. 86, n. 15, p. 7858-7866, julho. 2014.
- ¹⁶⁷ BALLABIO, D.; CONSONNI, V.. Classification tools in chemistry. Part 1: linear models. PLS-DA. **Anal. Methods**, v. 5, n. 16, p. 3790-3798, 2013.

-
- ¹⁶⁸ Makni, M., Haddar, A., Fraj, A. B., & Zeghal, N. Physico-chemical properties, composition, and oxidative stability of olive and soybean oils under different conditions. **Int. J. Food Prop.**, v. 18, n. 1, p. 194-204, 2015.
- ¹⁶⁹ MADHAVI, DI L.; DESHPANDE, S. S.; SALUNKHE, DattajiraD. K. **Food antioxidants** - Technological: Toxicological and health perspectives. 1.ed. CRC Press, 1995.
- ¹⁷⁰ Özdemir, İ. S., Dağ, Ç., Özinanç, G., Suçsoran, Ö., Ertaş, E., & Bekiroğlu, S. . Quantification of sterols and fatty acids of extra virgin olive oils by FT-NIR spectroscopy and multivariate statistical analyses. **LWT**, v. 91, p.125-132, maio 2018
- ¹⁷¹ Hourant, P., Baeten, V., Morales, M. T., Meurens, M., & Aparicio, R. Oil and fat classification by selected bands of near-infrared spectroscopy. **Appl. Spectrosc.** v. 54, n. 8, p. 1168-1174, Agosto. 2000.
- ¹⁷² MONFREDA, M.; GOBBI, L.; GRIPPA, A. Blends of olive oil and sunflower oil: Characterization and olive oil quantification using fatty acid composition and chemometric tools. **Food Chem.**, v. 134, n. 4, p. 2283-2290, outubro. 2012.
- ¹⁷³. RIOS, H. C. S.; PEREIRA, I. R. O.; DE ABREU, E S. Avaliação da oxidação de óleos, gorduras e azeites comestíveis em processo de fritura. **Ciência & Saúde**, v. 6, n. 2, p. 118-126, agosto. 2013.
- ¹⁷⁴. Instituto Adolfo Lutz; **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**, 3th ed., São Paulo: IMESP, 1985.
- ¹⁷⁵. Cardoso, L. G. V., Barcelos, M. D. F. P., de Oliveira, A. F., Pereira, J. D. A. R., de Abreu, W. C., de Araujo Pimentel, F., ... & de Angelis Pereira, M. C.v. Características físico-químicas e perfil de ácidos graxos de azeites obtidos de diferentes variedades de oliveiras introduzidas no Sul de Minas Gerais–Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina v. 31, n. 1, p. 127-135, 2010.

-
- ¹⁷⁶. PEIXOTO, E. R. M; SANTANA, D.; ABRANTES, S. Avaliação dos índices de identidade e qualidade do azeite de oliva-proposta para atualização da legislação brasileira. **Food Sci. Technol. Int.** v. 18, p. 444-452, 1998.
- ¹⁷⁷. Portela, N. A., Oliveira, E. C., Neto, A. C., Rodrigues, R. R., Silva, S. R., Castro, E. V., & Filgueiras, P. R. Quantification of biodiesel in petroleum diesel by ¹H NMR: evaluation of univariate and multivariate approaches. **Fuel**, v. 166, p. 12-18, fevereiro. 2016.
- ¹⁷⁸. de Souza, A. M., Filgueiras, P. R., Coelho, M. R., Fontana, A., Winkler, T. C. B., Valderrama, P., & Poppi, R. J. Validation of the near infrared spectroscopy method for determining soil organic carbon by employing a proficiency assay for fertility laboratories. **J. Near Infrared Spec.** v. 24, n. 3, p. 293-303, Janeiro. 2016.
- ¹⁷⁹ Christy, A. A., Kasemsumran, S., Du, Y., & Ozaki, Y. The detection and quantification of adulteration in olive oil by near-infrared spectroscopy and chemometrics. **Anal Sci**, v. 20, n. 6, p. 935-940, junho. 2004.
- ¹⁸⁰. Sinelli, N., Casale, M., Di Egidio, V., Oliveri, P., Bassi, D., Tura, D., & Casiraghi, E. Varietal discrimination of extra virgin olive oils by near and mid infrared spectroscopy. **Food Res. Int.** , v. 43, n. 8, p. 2126-2131, outubro. 2010.
- ¹⁸¹. Galtier, O., Dupuy, N., Le Dréau, Y., Ollivier, D., Pinatel, C., Kister, J., & Artaud, J. Geographic origins and compositions of virgin olive oils determined by chemometric analysis of **NIR** spectra. **Anal. chim. acta**, v. 595, n. 1-2, p. 136-144, julho. 2007.

ANEXO 1

Tabela 1S. Valores físico-químicos de acidez, índice de peróxido e valores de extinção ultravioleta encontrados nos rótulos

Acidez (ácido oleico, m%)						Acidez (mg KOH g ⁻¹)	
A	0.42	E	0.25	I	0.05	Óleo de soja	0.12
B	0.38	F	0.24	J	0.63	Óleo de girassol	0.17
C	0.13	G	0.46	K	0.30	Óleo de canola	0.22
D	0.51	H	0.35	L	0.69	Óleo de milho	0.16
AOEV (amostra padrão)	0.32						

Índice de peróxido (meq kg ⁻¹)							
A	12.33	E	7.50	I	1.59	Óleo de soja	2.77
B	6.37	F	5.56	J	8.32	Óleo de girassol	14.75
C	5.93	G	1.58	K	6.30	Óleo de canola	11.36
D	6.72	H	3.16	L	7.13	Óleo de milho	0.79
AOEV (amostra padrão)	10.09						

Absorção ultravioleta		K270	ΔK	K232
AOEV (amostra padrão)		0.16	1.93	-0.02
A		0.18	2.33	-0.02
B		0.22	2.01	0.00
C		0.19	2.05	0.00
D		0.66	2.46	-1.81
E		0.14	1.92	-0.02
F		0.17	1.90	0.00
G		0.33	2.60	-2.10
H		0.70	2.53	-0.77
I		0.27	2.49	-0.84
J		0.20	2.02	-0.02
K		0.14	2.35	-0.11
L		0.14	1.98	-0.02

Tabela 2s. Informações nutricionais dos rótulos das amostras comerciais de azeite de oliva.

Marca	Informações nutricionais – Tamanho da porção 13 ml (1 colher de sopa)											
	Calorias		Proteína		Carboidrato total		Gordura Total		Gordura saturada		Gordura Trans	
	Quantidade por porção	%DV (*)	Quantidade por porção	%DV (*)	Quantidade por porção	%DV (*)	Quantidade por porção	%DV (*)	Quantidade por porção	%DV (*)	Quantidade por porção	%DV (*)
Midas (AOEV)	117 kcal=491 kJ	6%	0 g	0%	0 g	0%	13 g	24%	1,8 g	8%	0 g	(**)
Komili (AOEV)	106 kcal=447 kJ	5%	0 g	0%	0 g	0%	12 g	20%	2,0 g	10%	0 g	(**)
Cozinheiro (AOEV)	108 kcal=454 kJ	5%	0 g	0%	0 g	0%	12 g	22%	2,2 g	10%	0 g	(**)
Andorinha (AOEV)	108 kcal=454 kJ	5%	0 g	0%	0 g	0%	12 g	22%	1,9 g	9%	0 g	(**)
O-live (AOEV)	108 kcal=454 kJ	5%	0 g	0%	0 g	0%	12 g	22%	1,9 g	9%	0 g	(**)
Borges (AOEV)	108 kcal=444 kJ	5%	0 g	0%	0 g	0%	12 g	22%	1,9 g	9%	0 g	(**)
Nova Oliva (AOEV)	108 kcal=454 kJ	5%	0 g	0%	0 g	0%	12 g	22%	1,9 g	9%	0 g	(**)
Ecolive (AOEV)	108 kcal=454 kJ	5%	0 g	0%	0 g	0%	12 g	22%	1,9 g	9%	0 g	(**)
Dom João (30%)	108 kcal=454 kJ	5%	0 g	0%	0 g	0%	12 g	22%	1,9 g	9%	0 g	(**)
Maria (12%)	108 kcal=454 kJ	5%	0 g	0%	0 g	0%	12 g	22%	1,9 g	9%	0 g	(**)
Vitória (51%)	108 kcal=454 kJ	5%	0 g	0%	0 g	0%	12 g	22%	2,0 g	8%	0 g	(**)
Faisão (5%)	108 kcal=454 kJ	5%	0 g	0%	0 g	0%	12 g	22%	1,9 g	9%	0 g	(**)

Tabela 3S. Informações nutricionais dos rótulos das amostras comerciais de azeite de oliva

Informações nutricionais – Tamanho da porção 13 ml (1 colher de sopa)								
Marcas	Gorduras monoinsaturadas		Gorduras Poli-insaturadas		Fibra Alimentar		Sódio	
	Quantidade por porção	%DV (*)	Quantidade por porção	%DV (*)	Quantidade por porção	%DV (*)	Quantidade por porção	%DV (*)
Midas (AOEV)	10 g	(**)	1,0 g	(**)	0 g	0%	0 mg	0%
Komili (AOEV)	-	-	-	-	0 g	0%	0 mg	0%
Cozinheiro (AOEV)	-	-	-	-	0 g	0%	0 mg	0%
Andorinha (AOEV)	9,3 g	(**)	0,8 g	(**)	0 g	0%	0 mg	0%
O-live (AOEV)	-	-	-	-	0 g	0%	0 mg	0%
Borges (AOEV)	-	-	-	-	0 g	0%	0 mg	0%
Nova Oliva (AOEV)	-	-	-	-	0 g	0%	0 mg	0%
Ecolive (AOEV)	-	-	-	-	0 g	0%	0 mg	0%
Dom João (30%)	3,7 g	(**)	6,4 g	(**)	0 g	0%	0 mg	0%
Maria (12%)	3,7 g	(**)	6,4 g	(**)	0 g	0%	0 mg	0%
Vitória (51%)	9,3 g	(**)	0,8 g	(**)	0 g	0%	0 mg	0%
Faisão (5%)	-	-	-	-	0 g	0%	0 mg	0%

Tabela 4s. Informações nutricionais dos rótulos das amostras de óleos vegetais.

Marca	Informações nutricionais – Tamanho da porção 13 ml (1 colher de sopa)							
	Calorias		Proteína		Carboidrato total		Gorduras Totais	
	Quantidade por porção	%DV (*)	Quantidade por porção	%DV (*)	Quantidade por porção	%DV (*)	Quantidade por porção	%DV (*)
Liza (óleo de soja)	108 kcal=454 kJ	5%	0 g	0%	0 g	0%	12 g	22%
Vitaliv (oill girassol)	108 kcal=454 kJ	5%	0 g	0%	0 g	0%	12 g	22%
Vitaliv (óleo de canola)	108 kcal=454 kJ	5%	0 g	0%	0 g	0%	12 g	22%
Soja (óleo de milho)	108 kcal=454 kJ	5%	0 g	0%	0 g	0%	12 g	22%

Tabela 5s. Informações nutricionais dos rótulos das amostras de óleos vegetais.

Marca	Informações nutricionais - Porção de sizde 13 ml (1 colher de sopa)							
	Gorduras Trans		Gorduras monoinsaturadas		Gorduras Poli-insaturadas		Ômega 9 (Ácido Oleico)	
	Quantidade por porção	%DV (*)	Quantidade por porção	%DV (*)	Quantidade por porção	%DV (*)	Quantidade por porção	%DV (*)
Liza (óleo de soja)	-	(**)	2,9 g	(**)	7,1 g	(**)	-	-
Vitaliv (oill girassol)	0,4 g	(**)	5,0 g	(**)	5,6 g	(**)	-	-
Vitaliv (óleo de canola)	0,4 g	(**)	7,3 g	(**)	3,1 g	(**)	7,2 g	(**)
Soja (óleo de milho)	0 g	(**)	4,3 g	(**)	5,8 g	(**)	-	-

Tabela 6S Valores de adulteração de óleo de soja (m%) em amostras de AOEV

Massa médio do azeite (mg)	Massa médio do óleo vegetal (mg)	Teor AOEV (m%)	Teor de óleo vegetal (m%)
4001.9	0.0	100.0	0.0
3963.1	38.9	99.0	1.0
3880.9	123.2	96.9	3.1
3837.2	197.6	95.1	4.9
3597.6	404.2	89.9	10.1
3402.8	602.3	85.0	15.0
3201.3	802.3	80.0	20.0
3000.6	1002.5	75.0	25.0
2802.1	1202.5	70.0	30.0
2606.4	1401.9	65.0	35.0
2403.4	1602.9	60.0	40.0
2202.6	1796.5	55.1	44.9
2007.8	1997.5	50.1	49.9
1801.3	2198.7	45.0	55.0
1602.8	2403.0	40.0	60.0
1202.2	2801.4	30.0	70.0
804.4	3202.6	20.1	79.9
404.2	3595.3	10.1	89.9
0.0	4001.6	0.0	100.0

Tabela 7S. Valores de adulteração de óleo de milho (m%) em amostras de AOEV

Massa médio do azeite (mg)	Massa médio do óleo vegetal (mg)	Teor AOEV (m%)	Teor de óleo vegetal (m%)
4001.5	0.0	100.0	0.0
3959.3	38.2	99.0	1.0
3876.9	121.3	97.0	3.0
3803.0	202.4	94.9	5.0
3603.0	397.9	90.0	10.0
3402.1	603.8	84.9	15.1
3203.1	802.0	80.0	20.0
2999.4	1004.2	74.9	25.1
2800.9	1199.9	70.0	30.0
2601.2	1399.7	65.0	35.0
2269.8	1600.2	58.7	41.3
2200.7	1799.3	55.0	45.0
2000.8	1999.2	50.0	50.0
1798.2	2199.8	45.0	55.0
1601.7	2399.3	40.0	60.0
1199.2	2798.4	30.0	70.0
797.1	3199.0	19.9	80.1
399.3	3599.4	10.0	90.0
0.0	4002.1	0.0	100.0

Tabela 8s. Valores de adulteração de óleo de girassol (m%) em amostras de AOEV

Massa médio do azeite (mg)	Massa médio do óleo vegetal (mg)	Teor AOEV (m%)	Teor de óleo vegetal (m%)
4000.0	0.0	100.0	0
3961.7	40.4	99.0	1.0
3880.5	122.0	97.0	3.0
3801.0	200.6	95.0	5.0
3599.9	400.9	90.0	10.0
3400.2	600.1	85.0	15.0
3200.5	801.2	80.0	20.0
3000.0	999.3	75.0	25.0
2800.4	1202.0	70.0	30.0
2599.8	1399.1	65.0	35.0
2400.0	1600.5	60.0	40.0
2199.7	1800.4	55.0	45.0
2000.5	2002.5	50.0	50.0
1800.7	2200.3	45.0	55.0
1599.2	2400.2	40.0	60.0
1200.6	2801.0	30.0	70.0
800.2	3200.6	20.0	80.0
400.8	3599.5	10.0	90.0
0.0	3999.8	0.0	100.0

Tabela 9s. Valores de adulteração de óleo de canola (m%) em amostras de AOEV

Massa médio do azeite (mg)	Massa médio do óleo vegetal (mg)	Teor AOEV (m%)	Teor de óleo vegetal (m%)
4003.3	0.0	100.0	0
3960.7	36.3	99.1	0.9
3879.9	123.4	96.9	3.1
3802.5	200.9	95.0	5.0
3599.0	401.4	90.0	10.0
3402.2	599.7	85.0	15.0
3200.4	795.7	80.1	19.9
2998.1	994.9	75.1	24.9
2799.9	1199.6	70.0	30.0
2599.2	1402.3	65.0	35.0
2395.5	1595.3	60.0	40.0
2197.9	1798.9	55.0	45.0
2005.4	2003.5	50.0	50.0
1801.1	2201.8	45.0	55.0
1603.4	2397.7	40.1	59.9
1201.0	2800.6	30.0	70.0
797.8	3203.9	19.9	80.1
400.5	3596.6	10.0	90.0
0.0	4004.4	0.0	100.0

Tabela 10S. Massas de diferentes azeites em cada mistura para o modelo de classificação

Número da amostra	Marcas	Azeite I (mg)	Azeite II (mg)	Massa total (mg)
1	Olive:Gallo	1004.0	2992.0	3996.0
2	Gallo:Andorinhas	1010.7	3022.0	4033.3
3	Andorinhas:Midas	1035.4	3020.9	4056.3
4	Midas:Cook	1006.1	2993.5	3999.6
5	Cozinheiro:Komilli	1090.3	3004.5	4094.8
6	Komilli:Borges	1129.9	3122.6	4252.5
7	Oliveira:Borges	1090.0	3070.0	4160.0
8	Olive:Komilli	1008.0	3044.1	4052.1
9	Azeitona:Cozinhe	1071.0	3075.2	4146.2
10	Oliveira:Midas	1144.0	3070.1	4214.1
11	Olive:Andorinhas	1055.0	2993.3	4048.3
12	Galo:Borges	1072.5	3091.0	4163.5
13	Gallo:Komilli	1030.9	3056.4	4087.3
14	Galo:Cozinhe	1108.8	3060.0	4168.8
15	Gallo:Midas	1026.6	2979.1	4005.7
16	Gallo:Azeitona	1001.0	2994.0	3995.0
17	Andorinhas:Gallo	992.9	3063.7	4056.6

18	Midas:Andorinhas	1068.0	2987.4	4055.4
19	Cozinheiro:Midas	1118.1	3005.9	4124.0
20	Komilli:Cook	1032.4	3036.0	4068.4
21	Borges:Komilli	1036.7	3081.2	4117.9
22	Borges:Azeitona	1001.9	3085.0	4086.9
23	Komilli:Oliveira	1002.2	3040.0	4042.2
24	Cozinheira:Azeitona	1027.1	3060.0	4087.1
25	Midas:Azeitona	1050.2	3067.0	4117.2
26	Andorinhas:Olive	1026.4	3036.0	4062.4
27	Borges:Galo	1022.4	3020.6	4043.0
28	Komilli:Gallo	1068.8	3014.4	4083.2
29	Cozinheiro:Galo	1129.3	3084.8	4214.1
30	Midas:Gallo	1065.3	3021.0	4086.3
31	Olive:Gallo	2059.9	2340.4	4400.3
32	Gallo:Andorinhas	2114.5	2051.4	4165.9
33	Andorinhas:Midas	2114.8	2070.0	4184.8
34	Midas:Cook	2021.1	2070.1	4091.2
35	Cozinheiro:Komilli	2083	2154.8	4237.8
36	Komilli:Borges	2090.6	1986.5	4077.1
37	Oliveira:Borges	2054.9	2002.5	4057.4
38	Gallo:Azeitona	2099.9	2068.7	4168.6
39	Andorinhas:Cozinheiro	2029.2	2005.4	4034.6
40	Midas:Gallo	2003.8	2104.2	4108.0

Tabela 11S. Coeficientes de correlação (Pearson) e p-valor de PLS previram Teor de óleo vegetal em conjunto de teste externo de azeite comercial

Coeficiente de correlação				
	Óleo de soja	Óleo de milho	Óleo de girassol	Óleo de canola
Óleo de soja	1	0.9990	0.4793	0.9999
Óleo de milho	0.9990	1	0.5054	0.9987
Óleo de girassol	0.4793	0.5054	1	0.4717
Óleo de canola	0.9999	0.9987	0.4717	1
p-valor				
	Óleo de soja	Óleo de milho	Óleo de girassol	Óleo de canola
Óleo de soja	1	<0.05	0.1149	<0.05
Óleo de milho	<0.05	1	0.0937	<0.05
Óleo de girassol	0.1149	0.0937	1	0.1216
Óleo de canola	<0.05	<0.05	0.1216	1

Tabela 12S. Resultados da classe de previsão de um modelo SIMCA de uma classe do conjunto de teste externo 01 – amostras com óleo de soja

Número da amostra	Classe real (Rótulo)	Atribuições previstas		
		Classe de adesão 1	Classe sem adesão 1	Não é atribuído
1	AOEV (envelhecido)	1	0	0
2	AOEV (envelhecido)	1	0	0
3	AOEV (envelhecido)	1	0	0
4	AOEV (envelhecido)	1	0	0
5	AOEV (envelhecido)	1	0	0
6	AOEV (envelhecido)	1	0	0
7	AOEV (envelhecido)	1	0	0
8	Óleo de soja	0	1	0
9	Óleo de soja de 90 m%	0	1	0
10	Óleo de soja de 80 m%	0	1	0
11	Óleo de soja de 70 m%	0	1	0
12	Óleo de soja de 60 m%	0	1	0
13	Óleo de soja de 55 m%	0	1	0
14	Óleo de soja de 50 m%	0	1	0
15	Óleo de soja de 45%	0	1	0
16	Óleo de soja de 40 m%	0	1	0
17	35 m% óleo de soja	0	1	0
18	Óleo de soja de 30 m%	1	1	0
para continuar...				

Continuação

Número da amostra	Classe real (Rótulo)	Atribuições previstas		
		Classe de adesão 1	Classe sem adesão 1	Não é atribuído
19	Óleo de soja de 25 m%	1	1	0
20	Óleo de soja de 20 m%	1	1	0
21	15 m% óleo de soja	1	1	0
22	Óleo de soja de 10 m%	1	1	0
23	Óleo de soja de 05 m%	1	1	0
24	Óleo de soja 03 m%	1	0	0
25	Óleo de soja 01 m%	1	0	0
26	AOEV	1	0	0
27	AOEV	1	0	0
28	AOEV	1	0	0
29	AOEV (Blenda)	1	0	0
30	AOEV (Blenda)	1	0	0
31	AOEV (Blenda)	1	0	0
32	AOEV	1	0	0
33	AOEV (Blenda)	1	0	0

Tabela 13S. Resultados da classe de previsão de um modelo SIMCA de uma classe do conjunto de teste externo 02 – amostras com óleo de milho

Número da amostra	Classe real (Rótulo)	Atribuições previstas		
		Classe de adesão 1	Classe sem adesão 1	Não é atribuído
1	AOEV (envelhecido)	1	0	0
2	AOEV (envelhecido)	1	0	0
3	AOEV (envelhecido)	1	0	0
4	AOEV (envelhecido)	1	0	0
5	AOEV (envelhecido)	1	0	0
6	AOEV (envelhecido)	1	0	0
7	AOEV (envelhecido)	1	0	0
8	AOEV	1	0	0
9	Óleo de milho	0	1	0
10	90 m% óleo de milho	0	1	0
11	80 m% óleo de milho	0	1	0
12	70 m% óleo de milho	0	1	0
13	60 m% óleo de milho	0	1	0
14	15 m% óleo de milho	1	1	0
15	20 m% óleo de milho	1	1	0
16	25 m% óleo de milho	1	1	0
17	30 m% óleo de milho	1	1	0
18	35 m% óleo de milho	1	1	0
19	40 m% óleo de milho	1	1	0
para continuar...				

Continuação

Número da amostra	Classe real (Rótulo)	Atribuições previstas		
		Classe de adesão 1	Classe sem adesão 1	Não é atribuído
20	45 m% óleo de milho	1	1	0
21	50 m% óleo de milho	0	1	0
22	55 m% óleo de milho	0	1	0
23	10 m% óleo de milho	1	0	0
24	05 m% óleo de milho	1	0	0
25	03 m% óleo de milho	1	0	0
26	01 m% óleo de milho	1	0	0
27	AOEV	1	0	0
28	AOEV	1	0	0
29	AOEV (Blenda)	1	0	0
30	AOEV (Blenda)	1	0	0
31	AOEV (Blenda)	1	0	0
32	AOEV	1	0	0
33	AOEV (Blenda)	1	0	0

Tabela 14S. Resultados da classe de previsão de um modelo SIMCA de uma classe do conjunto de teste externo 03 – amostras com óleo de girassol

Número da amostra	Classe real (Rótulo)	Atribuições previstas		
		Classe de adesão 1	Classe sem adesão 1	Não é atribuído
1	AOEV (envelhecido)	1	0	0
2	AOEV (envelhecido)	1	0	0
3	AOEV (envelhecido)	1	0	0
4	AOEV (envelhecido)	1	0	0
5	AOEV (envelhecido)	1	0	0
6	AOEV (envelhecido)	1	0	0
7	AOEV (envelhecido)	1	0	0
8	AOEV	1	0	0
9	Óleo de girassol	0	1	0
10	Óleo de girassol de 90%	0	1	0
11	Óleo de girassol de 80%	0	1	0
12	Óleo de girassol de 70 m%	0	1	0
13	Óleo de girassol de 60%	0	1	0
14	Óleo de girassol de 50%	0	1	0
15	Óleo de girassol de 45%	1	1	0
16	Óleo de girassol de 40%	1	1	0
17	35 m% óleo de girassol	1	1	0
18	Óleo de girassol de 30%	1	1	0
19	55 m% óleo de girassol	0	1	0
para continuar...				

Continuação

Número da amostra	Classe real (Rótulo)	Atribuições previstas		
		Classe de adesão 1	Classe sem adesão 1	Não é atribuído
20	Óleo de girassol de 25%	1	1	0
21	Óleo de girassol de 20 m%	1	1	0
22	Óleo de girassol de 15%	1	0	0
23	Óleo de girassol de 10%	1	1	0
24	Óleo de girassol de 05%	1	0	0
25	Óleo de girassol de 03 m%	1	0	0
26	Óleo de girassol de 01 m%	1	0	0
27	AOEV	1	0	0
28	AOEV	1	0	0
29	AOEV (Blenda)	1	0	0
30	AOEV (Blenda)	1	0	0
31	AOEV (Blenda)	1	0	0
32	AOEV	1	0	0
33	AOEV (Blenda)	1	0	0

Tabela 15S. Resultados da classe de previsão de um modelo SIMCA de uma classe do conjunto de teste externo 04 – amostras com óleo de canola

Número da amostra	Classe real (Rótulo)	Atribuições previstas		
		Classe de adesão 1	Classe sem adesão 1	Não é atribuído
1	AOEV (envelhecido)	1	0	0
2	AOEV (envelhecido)	1	0	0
3	AOEV (envelhecido)	1	0	0
4	AOEV (envelhecido)	1	0	0
5	AOEV (envelhecido)	1	0	0
6	AOEV (envelhecido)	1	0	0
7	AOEV (envelhecido)	1	0	0
8	Óleo de canola	0	1	0
9	Óleo de canola de 90 m%	0	1	0
10	Óleo de canola de 80%	0	1	0
11	Óleo de canola de 70 m%	0	1	0
12	Óleo de canola de 60 m%	0	1	0
13	Óleo de canola de 55 m%	1	1	0
14	Óleo de canola de 50 m%	1	1	0
15	Óleo de canola de 45 m%	1	1	0
16	Óleo de canola de 40 m%	1	1	0
17	Óleo de canola de 35 m%	1	1	0
18	Óleo de canola de 30 m%	1	1	0
19	Óleo de canola de 25 m%	1	1	0
				para continuar...

Continuação

Número da amostra	Classe real (Rótulo)	Atribuições previstas		
		Classe de adesão 1	Classe sem adesão 1	Não é atribuído
20	Óleo de canola de 20 m%	1	1	0
21	Óleo de canola de 15 m%	1	0	0
22	Óleo de canola de 10 m%	1	0	0
23	Óleo de canola 05 m%	1	0	0
24	Óleo de canola 03 m%	1	0	0
25	Óleo de canola 01 m%	1	0	0
26	AOEV	1	0	0
27	AOEV	1	0	0
28	AOEV (Blenda)	1	0	0
29	AOEV (Blenda)	1	0	0
30	AOEV (Blenda)	1	0	0
32	AOEV	1	0	0
33	AOEV (Blenda)	1	0	0