



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
LABORATÓRIO DE QUIMIOMETRIA DO TRIÂNGULO

Felipe Bachion de Santana

USO DE ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO MÉDIO E
ANÁLISE DISCRIMINANTE POR QUADRADOS MÍNIMOS PARCIAIS
NA DETERMINAÇÃO DE ADULTERAÇÕES EM ÓLEOS DE
ANDIROBA, PRÍMULA E ROSA MOSQUETA

Uberlândia

2015

Felipe Bachion de Santana

**Uso de espectroscopia no infravermelho médio e análise discriminante
por quadrados mínimos parciais na determinação de adulterações em
óleos de Andiroba, Prímula e Rosa Mosqueta**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para obtenção de título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Waldomiro Borges Neto

Uberlândia

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

- S232u
2015 Santana, Felipe Bachion de.
 Uso de espectroscopia no infravermelho médio e análise discriminante por quadrados mínimos parciais na determinação de adulterações em óleos de andiroba, prímula e rosa mosqueta / Felipe Bachion de Santana. - 2015.
 77 f. : il.
- Orientador: Waldomiro Borges Neto.
 Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Química.
 Inclui bibliografia.
1. Química - Teses. 2. Óleos vegetais - Teses. 3. Quimiometria - Teses. 4. Análise espectral - Teses. I. Borges Neto, Waldomiro. II. Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

CDU: 54



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



Ata da defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO junto ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia
DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO ACADÊMICO, NÚMERO 222/PPQUI.

DATA: 24/07/2015

DISCENTE: Felipe Bachion de Santana

MATRÍCULA: 11322QMI003

TÍTULO DO TRABALHO: Uso de espectroscopia no Infravermelho Médio e análise discriminante por quadrados mínimos parciais na determinação de adulterações em óleos de andiroba, primula e rosa mosqueta.

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Química

LINHA DE PESQUISA: Espectroanalítica Aplicada

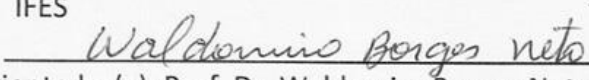
PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO: Aplicação de espectroscopia no Infravermelho e análise discriminante por quadrados mínimos parciais para controle de qualidade de óleos vegetais.

Às quatorze horas do dia vinte e quatro de julho do ano dois mil e quinze, no Auditório 5R-A, Bloco 5R, no Campus Santa Mônica, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos Professores Doutores Ernesto Correa Ferreira, Instituto Federal do Espírito Santo, Sebastião de Paula Eiras e Waldomiro Borges Neto, do Instituto de Química da UFU, professor(a) orientador(a) e presidente da mesa. Iniciando os trabalhos, o(a) presidente da mesa apresentou o(a) candidato(a) e a Banca Examinadora, agradeceu a presença do público e discorreu sobre as normas e critérios para a realização desta sessão, baseadas na Norma Interna nº 03/2013/PPQUI. Em seguida, o(a) presidente da mesa concedeu a palavra ao(à) candidato(a) para a exposição do seu trabalho e, em seqüência, aos examinadores, em ordem sucessiva, para arguir o(a) apresentador(a). A duração da apresentação e o tempo de arguição e resposta deram-se conforme as normas do Programa. Ultimada a arguição, desenvolvida dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais e A provou o(a) candidato(a). Por sugestão da Banca Examinadora, o título do trabalho será mantido o original

Esta defesa de Dissertação de Mestrado Acadêmico é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento do estabelecido nas normas do Programa, legislação e regulamentação internas da UFU. As correções observadas pelos examinadores deverão ser realizadas no prazo máximo de 30 dias. Nada mais havendo a tratar, deu-se por encerrada a sessão às 17 horas e 02 minutos e lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora.


Prof. Dr. Ernesto Correa Ferreira
IFES


Prof. Dr. Sebastião de Paula Eiras
IQUFU


Orientador(a): Prof. Dr. Waldomiro Borges Neto – IQUFU

*Dedico este trabalho a minha família,
Cristina, Carolina e Joa Nilson, e amigos
que sempre me apoiaram nos momentos
mais difíceis da minha vida.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela vida e pelas oportunidades que me foram dadas.

A minha mãe, Cristina, minha irmã, Carolina e minha namorada Jéssyca por todo o apoio e carinho.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Waldomiro Borges Neto, por ter me aceito em seu excelente grupo de pesquisa, pela orientação para vida e acadêmica além dos conhecimentos transmitidos e apoio durante todo este período.

Aos colegas do Laboratório de Quimiometria do Triângulo: Lucas Caixeta Gontijo, Eloíza Guimarães, Letícia Maria de Souza, Hery Mitsutake, José Eduardo Buaitte, Edvando Souza Teles, Sarmento Junior Mazivila e Baltazar Vasco Siteo, por todos os momentos de conhecimentos e alegrias compartilhados.

À FAPEMIG pelo financiamento do projeto 17.014/11.

À CAPES pela concessão da bolsa de mestrado durante a realização deste trabalho.

À UFU e ao Instituto de Química pelo apoio e por fornecer toda a infraestrutura física e tecnológica para a realização deste trabalho.

Aos meus professores tanto da graduação quanto do mestrado, funcionários e colegas do Instituto de Química, que contribuíram direta ou indiretamente para a minha formação acadêmica.

RESUMO

Os óleos vegetais e gorduras vegetais são os produtos obtidos a partir de glicerídeos de ácidos graxos de espécies vegetais, sendo muito empregados em diversos ramos das indústrias alimentícia, cosmética, farmacêutica, dentre outras. Dentre as indústrias a indústria de cosméticos apresenta um mercado altamente dinâmico, com o lançamento de novos produtos em velocidade acelerada. Nos últimos anos, novos conceitos também foram surgindo, como é o caso dos óleos cosmecêuticos e dos nutricosméticos. Tais fatos aumentam a demanda por determinados óleos, paralelamente produtores e comerciantes no intuito de aumentar os lucros e atender a demanda pelo produto, podem vir a adulterar óleos autênticos com óleos de menor valor econômico, o que é uma das principais preocupações dos órgãos fiscalizadores. No mercado de cosméticos, grande destaque é dado aos óleos de Andiroba, Rosa Mosqueta e Prímula, principalmente por suas propriedades terapêuticas resultando numa alta valorização. Neste contexto, o presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a viabilidade no uso de Espectroscopia no Infravermelho Médio aliada ao método de Análise Discriminante por Quadrados Mínimos Parciais para detectar possíveis adulterações em óleos de Andiroba (*Carapa guianensis*), Prímula (*Prímula veris* ou *Oenothera biennis*) e Rosa Mosqueta (*Rosa moschata* ou *Rosa rubiginosa*). Foram utilizadas 40 amostras para cada um dos óleos autênticos, para o óleo de Andiroba foram adulteradas 192 amostras contendo óleo de Milho (96 amostras) e óleo de Soja (96 amostras) preparadas nas seguintes proporções: 5%, 10%, 15% e 20% (m/m), com 24 amostras para cada concentração de adulterante. Já para os óleos de Prímula e Rosa Mosqueta, foram realizadas 288 adulterações com óleo de Milho (96 amostras), óleo de Soja (96 amostras) e óleo de Girassol (96 amostras) nas mesmas proporções do óleo de Andiroba: 5%, 10%, 15% e 20% (m/m). As amostras foram analisadas por Espectroscopia no Infravermelho Médio - MIR associada ao método quimiométrico Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais - PLS-DA com o intuito de discriminar as amostras autênticas das adulteradas. Foram construídos 3 modelos PLS-DA, um para cada tipo de óleo estudado. Todos os modelos desenvolvidos apresentaram alta sensibilidade e especificidade com valores iguais a 100% (máxima classificação), isto é, todas as amostras foram classificadas corretamente independentemente da classe/óleo adulterante, tanto para o conjunto de treinamento quanto para o conjunto de teste. Assim, as metodologias empregadas podem ser aplicadas para fiscalização e no controle de qualidade dos óleos de Andiroba, Prímula e Rosa Mosqueta e suas misturas adulteradas com óleos de Soja, Milho e Girassol inclusive na análise *in-situ*.

Palavras-Chave: Óleos vegetais; FT-MIR; Quimiometria; Classificação; PLS-DA.

ABSTRACT

Vegetable oils and fats are the products obtained from the glycerides of fatty acids of vegetable species and are widely employed in various branches of industry i.e: food, cosmetic, pharmaceutical, among others. Throughout the industries, the cosmetics industry is a highly dynamic market with the launch of new products at an accelerated rate. In recent years, new concepts are also emerging as is the case of cosmeceuticals and nutricosmetics oils. These facts increase the demand for certain oils, therefore, producers and traders may adulterate authentic oils, with lower valued oils, in order to increase profits and attend the demand for the products, thus becoming a major concern for regulatory agencies. In the cosmetics market, great emphasis is given to Andiroba oil, Rosehip and Evening Primrose, especially for therapeutic properties resulting in a high valuation. In this context, the present work was developed with the purpose to evaluate the viability of Mid-infrared Spectroscopy measurements combined with the method of Discriminant Analysis by Partial Least Squares to detect possible adulterations in Andiroba (*Carapa guianensis*), Evening Primrose (*Prímula veris* ou *Oenothera biennis*) and Rosehip (*Rosa moschata* ou *Rosa rubiginosa*) oils. Forty samples were used for each of the authentic oils, for the Andiroba oil 192 samples were adulterated with corn oil (96 samples) and soybean oil (96 samples) prepared in the following proportions: 5%, 10%, 15% and 20% (m/m) with 24 samples for each concentration of adulterant. While for the Evening Primrose and Rosehip oils, were made 288 adulterations with corn oil (96 samples), Soybean oil (96 samples) and sunflower oil (96 samples) in the same proportions as andiroba oil: 5%, 10%, 15% and 20% (m/m). The samples were analyzed by Mid-infrared spectroscopy - MIR associated with the chemometric method Discriminant Analysis by Partial Least Square - PLS-DA in order to discriminate the authentic of the adulterated samples. They were built 3 PLS-DA models, one for each type of oil study. All developed models showed high sensitivity and specificity with values equal to 100% (highest rating), i.e all samples were classified correctly independently of type of adulterant oil, in either the training set and test set. Thus, the employed methodologies can be applied to monitoring the product of Andiroba, Primrose and Rosehip oils and their blends adulterated with soybean, corn and sunflower oils. The methodologies can be used in analysis *in-situ*.

Keywords: Vegetal oils; FT-MIR; Chemometric; Classification; PLS-DA.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Exemplos de ácidos graxos com suas respectivas nomenclaturas	16
Figura 2 –	Investimentos realizados pelas principais empresas na indústria de cosméticos de 2000 até 2012	18
Figura 3 –	Classificação dos óleos vegetais de acordo com sua aplicação interindustrial	19
Figura 4 –	Fotos da (a) árvore, (b) fruto e (c) castanha da Andiroba	21
Figura 5 –	Produtos derivados da castanha da Andiroba	22
Figura 6 –	Fotos de (a) arbusto, (b) sementes e (c) óleo da semente de Prímula	23
Figura 7 –	Fotos da (a) flor, (b) fruto e (c) sementes da Rosa Mosqueta	25
Figura 8 –	Processo de reflexão no ATR horizontal	29
Figura 9 –	Cristal de ZnSe do acessório ATR	30
Figura 10 –	Organização dos espectros MIR no formato de uma matriz de dados X	31
Figura 11 –	Espectros MIR (a) originais e (b) corrigidos por <i>baseline</i>	32
Figura 12 –	Espectros MIR de óleo de Prímula (a) originais e (b) centrados na média	34
Figura 13 –	Espectros MIR de óleo de Prímula (a) originais e (b) após a aplicação do SNV	35
Figura 14 –	Representação da matriz de dados X e o vetor de classes y usados no PLS-DA	36
Figura 15 –	Resultado gráfico do modelo PLS-DA	40
Figura 16 –	Parâmetros utilizados para a escolha do número de Variáveis Latentes	50
Figura 17 –	Espectros das amostras autênticas e adulteradas com diferentes óleos em diferentes concentrações, óleo de (a) Andiroba, (b) Prímula e (c) Rosa Mosqueta	52
Figura 18 –	Gráfico de resíduos espectral versus <i>leverage</i> em nível de significância de 95% para modelo de classificação PLS-DA de amostras do óleo de Andiroba autêntico e adulterados com óleos de Soja e Milho	54
Figura 19 –	Estimativas do modelo PLS-DA para a classificação de amostras autênticas e adulteradas do óleo de Andiroba	55
Figura 20 –	Variável importante na projeção (VIP) do modelo PLS-DA para classificação do óleo de Andiroba autêntico e adulterado com óleos de Soja e Milho	57

Figura 21 –	Gráfico de resíduos espectral versus <i>leverage</i> em nível de significância de 95% para modelo de classificação PLS-DA de amostras do óleo de prímula autêntico e adulterados com óleos de Soja, Milho e Girassol.	59
Figura 22 –	Estimativas do modelo PLS-DA para a classificação de amostras autênticas e adulteradas do óleo de Prímula	59
Figura 23 –	Variável importante na projeção (VIP) do modelo PLS-DA para classificação do óleo de Prímula autêntico e adulterado com óleos de Soja, Milho e Girassol	62
Figura 24 –	Gráfico de resíduos espectral versus <i>leverage</i> em nível de significância de 95% para modelo de classificação PLS-DA de amostras do óleo de Rosa Mosqueta autêntico e adulterados com óleos de Soja, Milho e Girassol	63
Figura 25 –	Estimativas do modelo PLS-DA para a classificação de amostras autênticas e adulteradas do óleo de Rosa Mosqueta	64
Figura 26 –	Variável importante na projeção (VIP) do modelo PLS-DA para classificação do óleo de Rosa Mosqueta autêntico e adulterado com óleos de Soja, Milho e Girassol	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Composição dos ácidos graxos presentes no óleo de Andiroba	20
Tabela 2 –	Composição dos ácidos graxos presentes no óleo de Prímula	24
Tabela 3 –	Composição dos ácidos graxos presentes no óleo de Rosa Mosqueta	26
Tabela 4 –	Resultados das análises físico-químicas exigidas pela FAO de alguns óleos vegetais	27
Tabela 5 –	Trabalhos empregando técnicas alternativas na análise de óleos vegetais	28
Tabela 6 –	Número de amostras adulteradas em cada modelo PLS-DA	48
Tabela 7 –	Principais grupos responsáveis pela absorção MIR das amostras de óleos	53
Tabela 8 –	Parâmetros de classificação obtidos do modelo PLS-DA para classificação dos óleos de Andiroba autênticos dos adulterados com Soja e Milho	56
Tabela 9 –	Composição química do óleo de Andiroba e de outros óleos vegetais (m/m) %	57
Tabela 10 -	Parâmetros de classificação obtidos do modelo PLS-DA para classificação dos óleos de Prímula autênticos dos adulterados com Soja, Milho e Girassol	61
Tabela 11 -	Composição química do óleo de Prímula e de outros óleos vegetais (m/m) %	62
Tabela 12	Parâmetros de classificação obtidos do modelo PLS-DA para classificação dos óleos de Rosa Mosqueta autênticos do adulterados com Soja, Milho e Girassol	65
Tabela 13	Composição química do óleo de Rosa Mosqueta e de outros óleos vegetais (m/m) %	66

LISTA DE SIGLAS

ABIHPEC	Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATR	Reflectância Total Atenuada, do inglês <i>Attenuated Total Reflectance</i>
CCM	Coeficiente de Correlação de Matthew's
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
DA	Análise Discriminante, do inglês <i>Discriminant Analysis</i>
FAO	Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura, do inglês <i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>
FN	Falsos Negativos
FP	Falsos Positivos
FT-MIR	Infravermelho Médio com Transformada de Fourier, do inglês <i>Fourier Transform Mid Infrared</i>
GC-MS	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas, do inglês <i>Gas Chromatography coupled Mass Spectrometry</i>
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, do inglês <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada, do inglês <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
LC-MS	Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massa, do inglês <i>Liquid Chromatography coupled Mass Spectrometry</i>
NBR	Norma Brasileira
NIR	Infravermelho Próximo, do inglês <i>Near Infrared</i>
PC	Componentes Principais, do inglês <i>Principal Components</i>
PCA	Análise de Componentes Principais, do inglês <i>Principal Components Analysis</i>
PLS	Quadrados Mínimos Parciais, do inglês <i>Partial Least Squares</i>
PLS-DA	Análise Discriminante por Quadrados Mínimos Parciais, do inglês <i>Partial Least Squares – Discriminant Analysis</i>
R	Coeficiente de Correlação

RMSEC	Erro Quadrático Médio de Calibração, do inglês <i>Root Mean Square Error of Calibration</i>
RMSECV	Erro Quadrático Médio de Validação Cruzada, do inglês <i>Root Mean Square Error of Cross-Validation</i>
RMSEP	Erro Quadrático Médio de Previsão, do inglês <i>Root Mean Square Error of Prediction</i>
SNV	Padrão Normal de Variação, do inglês <i>Standard Normal Variate</i>
UV-VIS	Ultravioleta-visível
VIP	Variável Importante na Projeção
VN	Verdadeiros Negativos
VP	Verdadeiros Positivos
VL	Variável Latente

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
1.1	ÓLEOS VEGETAIS.....	15
1.1.1	Óleo de Andiroba.....	19
1.1.2	Óleo de Prímula.....	22
1.1.3	Óleo de Rosa Mosqueta.....	24
1.1.4	Adulterações em Óleos Vegetais.....	26
1.2	ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO MÉDIO COM REFLECTÂNCIA TOTAL ATENUADA (MIR-ATR).....	28
1.3	QUIMIOMETRIA.....	30
1.3.1	Pré-Processamento de dados.....	32
1.3.2	Análise Discriminante por Quadrados Mínimos Parciais (PLS-DA).....	35
<i>1.3.2.1</i>	<i>Parâmetros de Avaliação do Modelo PLS-DA.....</i>	<i>38</i>
<i>1.3.2.2</i>	<i>Representação Gráfica do Modelo PLS-DA.....</i>	<i>40</i>
1.3.3	Revisão Bibliográfica.....	41
2	OBJETIVOS	
2.1	OBJETIVO GERAL	
2.1.2	Objetivos Específicos.....	
3	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	47
3.1	OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS.....	47
3.2	PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS ADULTERADAS.....	47
3.3	AQUISIÇÃO DOS ESPECTROS.....	49
3.4	CONSTRUÇÃO DOS MODELOS PLS-DA.....	49
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	52
4.1	ESPECTROS MIR DAS AMOSTRAS DOS ÓLEOS VEGETAIS.....	52
4.2	CLASSIFICAÇÃO MULTIVARIADA POR PLS-DA.....	54
4.2.1	Discriminação entre as amostras Autênticas e Adulteradas do Óleo de Andiroba.....	54
4.2.2	Discriminação entre as amostras Autênticas e Adulteradas do Óleo de Prímula.....	58
4.2.3	Discriminação entre as amostras Autênticas e Adulteradas do Óleo de Rosa Mosqueta.....	63
5	CONCLUSÕES.....	69
	REFERÊNCIAS.....	71

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

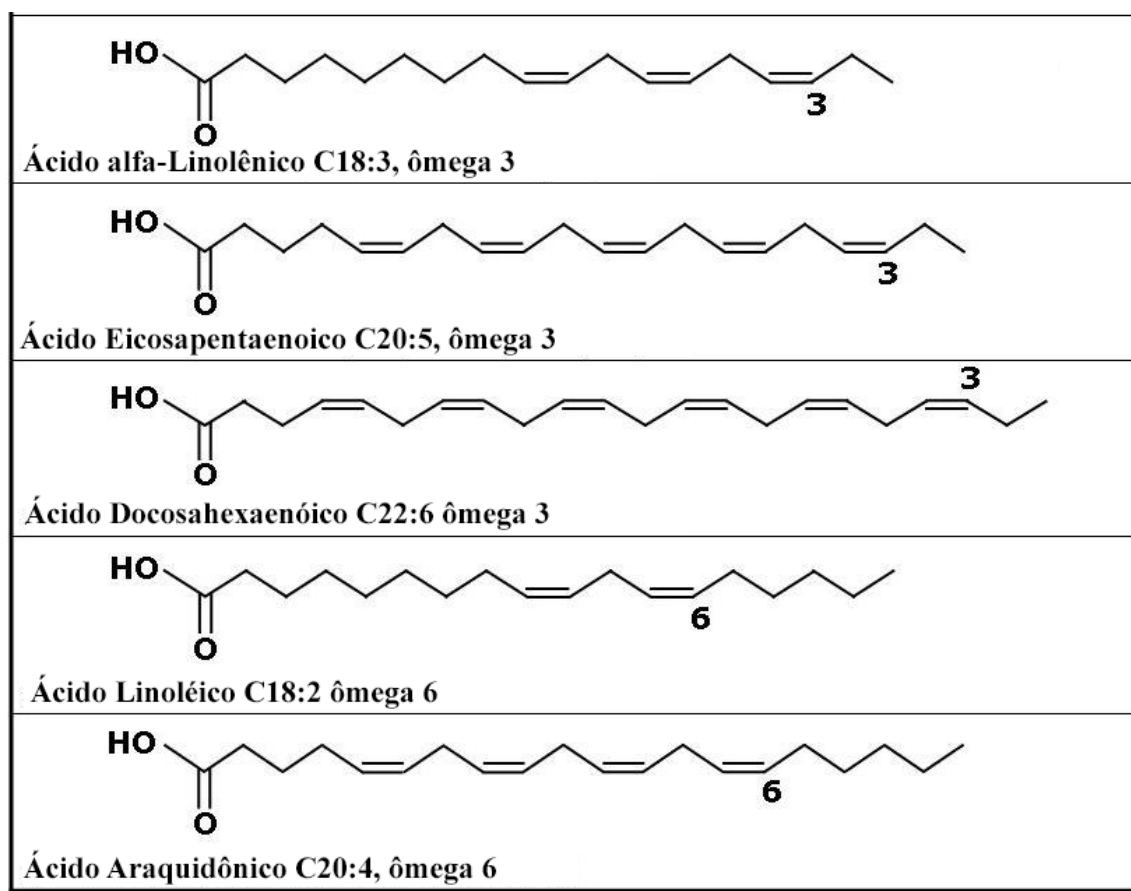
1.1 ÓLEOS VEGETAIS

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), os óleos vegetais e gorduras vegetais são definidos como “produtos constituídos principalmente de glicerídeos de ácidos graxos de espécie(s) vegetal(is). Podem conter pequenas quantidades de outros lipídeos como fosfolipídios, constituintes insaponificáveis e ácidos graxos livres naturalmente presentes no óleo ou na gordura” (ANVISA, 2005, p. 2).

Os ácidos graxos, são ácidos orgânicos, possuindo de 4 átomos a 24 átomos de carbono. Eles podem ser de cadeias curtas (4 a 6 átomos de carbono), de cadeias médias (8 a 12 átomos) e de cadeias longas (mais do que 12). Além do tamanho da cadeia de carbono, os ácidos graxos se diferenciam pelo número e pela posição das duplas ligações. A contagem da posição da dupla ligação começa a partir do grupamento metil terminal (Numeração Ômega) por exemplo o ácido oléico (18:1; ω -9) tem 18 carbonos e possui uma ligação dupla no Carbono 9 contando a partir do grupamento metil terminal, o ácido Linoleico (18:2 ω -6) tem 18 carbonos e possui duas ligações duplas sendo que a primeira ocorre no carbono de número 6. A Figura 1 ilustra diversos ácidos graxos com suas respectivas nomenclaturas.

O grau de saturação de um ácido graxo é definido pelo número de ligações duplas entre os átomos de carbono nas cadeias. A cadeia que não apresenta ligações duplas é considerada ácido graxo saturado, enquanto que a cadeia que apresenta uma ligação dupla é considerada um ácido graxo monoinsaturado e os ácidos que apresentam mais de uma dupla ligação é um ácido graxo poliinsaturado.

Figura 1 – Exemplos de ácidos graxos com suas respectivas nomenclaturas



Fonte: O autor.

O crescente aumento no consumo de óleos vegetais no mundo é motivado por diversas razões, destacando-se: a substituição de parte do consumo de gorduras animais, a fabricação de biodieséis (SINGH; SINGH, 2010), o uso como emolientes e princípio ativo em cosméticos (DA SILVA et al., 2008; ROHMAN; CHE MAN, 2011; ROHMAN et al., 2014) e em medicamentos (WU et al., 2008; MIRANDA JUNIOR et al., 2012), além de serem muito utilizados atualmente como alimentos nutracêuticos. Os óleos vegetais também são utilizados em diversos processos industriais, inclusive na alimentação humana e animal. Devido a este aumento no consumo, a baixa produção e o não aproveitamento de toda a sua matéria-prima durante o processo de extração, alguns óleos vegetais adquirem grande importância econômica.

O óleo pode ser o principal produto comercial das oleaginosas como: palma, Rosa Mosqueta, Prímula, Andiroba, oliva, mamona, linhaça, cártamo e ginkgo biloba, girassol ou então pode ser considerado um subproduto da produção de farelo, fibras e sementes, como é o caso do milho, arroz, algodão e soja [ALVES et al., 2015;

ANTONIASSI; FREITAS, 2007]. Devido a um melhor aproveitamento de todas as partes das plantas, os óleos vegetais que são considerados subprodutos apresentam menores valores econômicos quando comparados aos óleos vegetais considerados produtos principais.

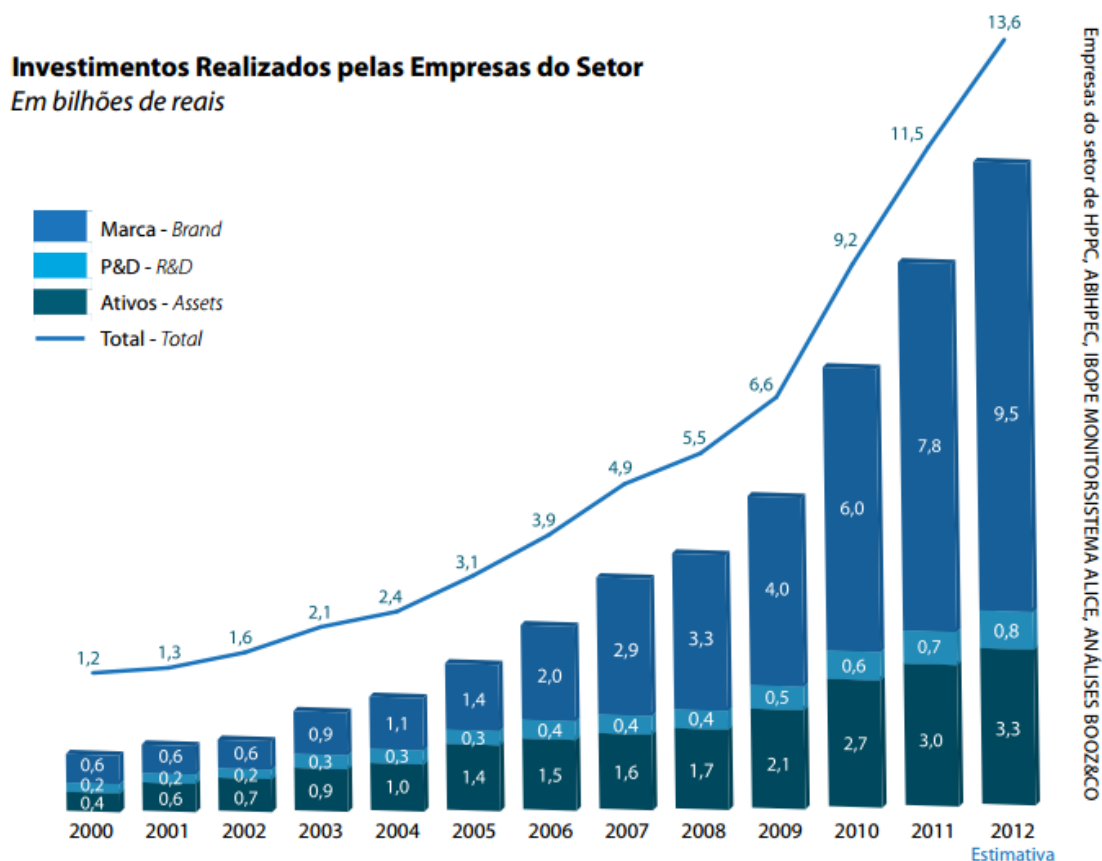
Nas últimas décadas, o aumento no interesse pelos produtos naturais em diversas áreas é um reflexo da comprovação da sua eficácia e segurança por órgãos de saúde tal como a Organização Mundial da Saúde e seu uso não é considerado mais como um modismo. Assim, é cada vez mais comum encontrarmos alimentos utilizando em sua composição óleos vegetais de maiores valores nutracêuticos, cosméticos e fármacos empregando extratos naturais como veículo ou princípio ativo. Um grande número de matérias-primas e compostos são empregados nas formulações cosméticas com diversas finalidades, tais como proteção da pele, recuperação de cicatrizes, redução da acne, hidratação da pele, prevenção de perda de água da epiderme para o ambiente, amenização das estrias e retardamento do envelhecimento da pele (ABIHPEC, 2012).

Destas substâncias utilizadas nos cosméticos, destacam-se os óleos vegetais devido as suas propriedades emolientes (Substâncias como óleos ou lipídios, que têm finalidade de suavizar, amaciar ou tornar a pele mais flexível), não serem comedogênicos (não favorecem ou aumentam a obstrução dos poros, podendo ser usados em peles oleosas) e principalmente por apresentar composição semelhante ou idêntica aos lipídios encontrados na pele humana (DE OLIVEIRA; BLAISE, 1995). Desta forma, eles estão sendo muito utilizados como veículos para incorporação de vários princípios ativos ou como insumos benéficos à pele, além de serem largamente usados como matéria-prima para a formação de emulsões na fase oleosa. Segundo a ABIHPEC, os investimentos das principais indústrias de cosméticos no Brasil aumentaram em até 15 vezes nos últimos 12 anos (Figura 2) (ABIHPEC, 2012).

Vários fatores impulsionaram o aumento de investimentos no setor de pesquisa e desenvolvimento na indústria de cosméticos, destacando-se o crescente número de vendas. Um dos motivos que alavancaram a venda de cosméticos no Brasil foi o aumento no poder de consumo das classes C e D, em que cerca de 40 milhões de brasileiros foram incorporados às classes médias emergentes, e a adição de itens de perfumaria e cosméticos à sua cesta básica de produtos alterando o perfil da economia brasileira. Com o aumento do consumo de cosméticos, mais empresas começaram a investir no mercado para ampliar a concorrência, estimulando um maior investimento no setor de pesquisa e

desenvolvimento para descobrir e melhorar as matérias-primas utilizadas (ABIHPEC, 2012).

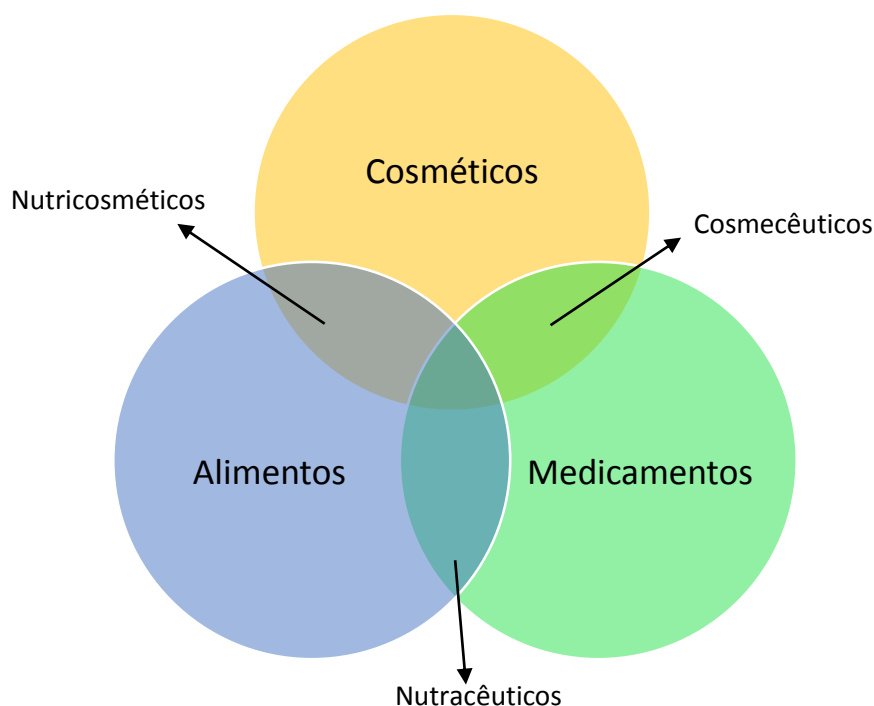
Figura 2 – Investimentos realizados pelas principais empresas na indústria de cosméticos de 2000 até 2012



Fonte: Anuário 2012 - ABIHPEC (2012, p. 112).

Entre as várias matérias-primas estudadas pelos setores de pesquisa e desenvolvimento, podemos citar os óleos nutracêuticos (possuem propriedades de nutrição e medicina), cosmecêuticos (utilizado em cosméticos e na medicina) e nutricosméticos (usado como alimento e cosmético) resumidos na Figura 3 (MELLAGE, 2008). Dentre os óleos empregados nestes setores industriais destacam-se os óleos de: Oliva, Coco, Cártamo, Linhça, Amendoim, Ginkgo Biloba, Canola, Rosa Mosqueta, Pequi, Castanha, Camomila, Avelã, Andiroba, Chia, Argan, Prímula, Gérmen de Trigo, Alho, entre outros.

Figura 3 – Classificação dos óleos vegetais de acordo com sua aplicação interindustrial



Fonte: adaptado de MELLAGE (2008, p. 5).

Devido ao aumento no consumo de óleos vegetais de maiores valores econômicos e por outro lado a limitação dos produtores em atender tal demanda, em certos casos falsários visando obter maiores lucros, aproveitam-se da semelhança físico-química de óleos de menores qualidade e preço para adulterar óleos puros. Nesse cenário, os órgãos responsáveis pela fiscalização destes produtos necessitam do desenvolvimento de metodologias analíticas eficientes, rápidas, de baixo custo, portáteis e, que minimizem a geração de resíduos e o uso de solventes ou reagente tóxicos.

1.1.1 Óleo de Andiroba

A *Carapa procera* e *Carapa guyanensis* conhecidas ambas como Andiroba é uma espécie pertencente à família Meliaceae, a qual abrange muitas plantas que dão origem a uma valiosa madeira com extenso uso na etnomedicina (área da pesquisa da etnologia voltada para recuperação e conservação da saúde). Essa família de plantas também é muito conhecida pela ocorrência de limonóides (triterpenos altamente oxigenados que ocorrem naturalmente nas espécies de *citrus*), na composição do óleo extraídos das suas castanhas e frutos, os quais possuem ampla atividade biológica e podem ser utilizados

como ação inseticida capaz de repelir o mosquito vetor da dengue e malária, o *Aedes aegypti* (AMBROZIN et al., 2006; CABRAL et al., 2013; SILVA, 2005). Atualmente, o óleo de Andiroba é empregado na fabricação de velas, cremes, sabonetes, repelentes, incensos entre outros produtos.

Seu óleo é popularmente conhecido como óleo de Andiroba, carapinha e iandiroba (SILVA, 2005), sendo composto principalmente pelos ácidos palmítico, palmitoléico, esteárico, linoleico entre outros, conforme mostra a Tabela 1 (SINGH; SINGH, 2010).

Tabela 1 – Composição dos ácidos graxos presentes no óleo de Andiroba

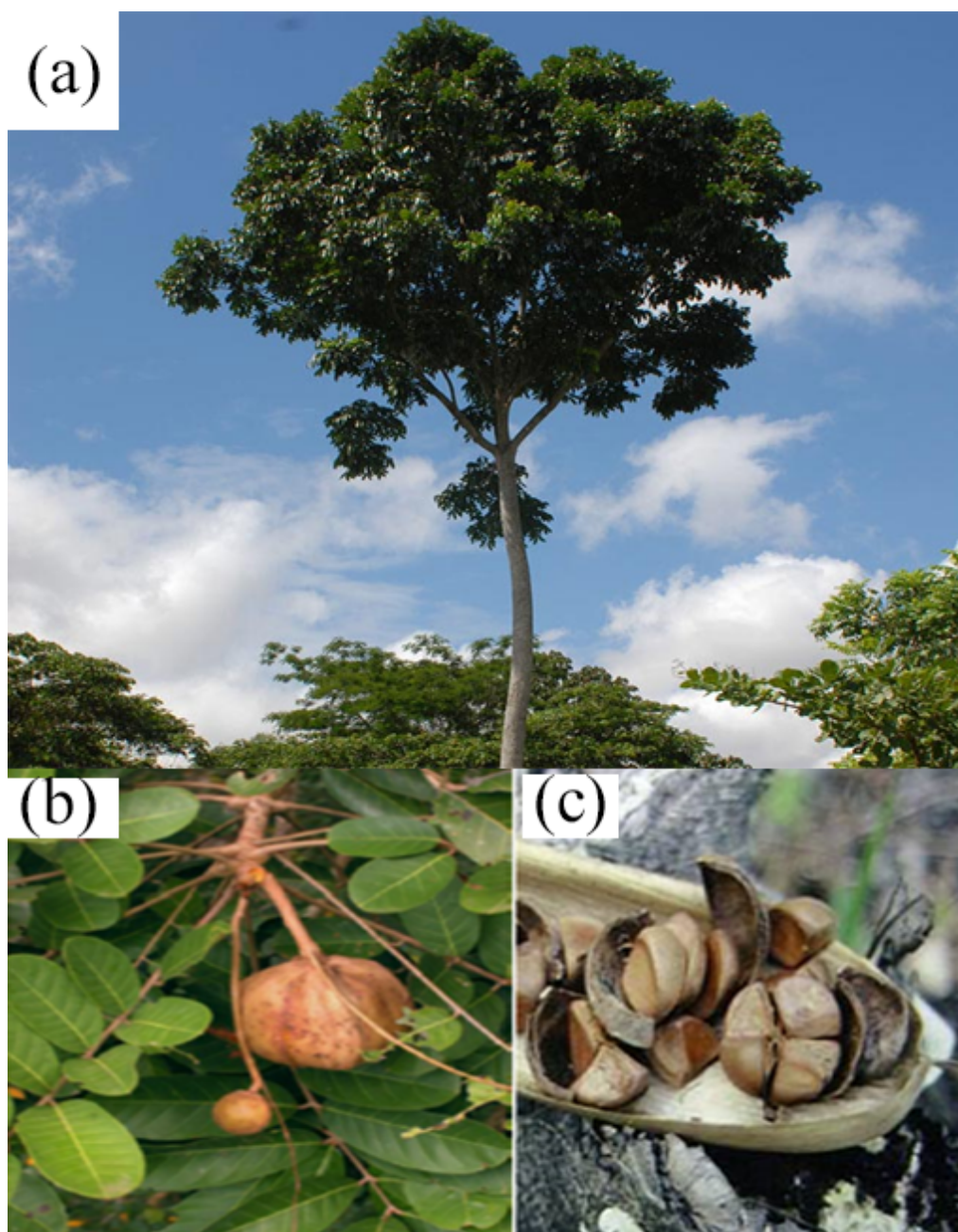
Nome	Composição, % (m/m)
Ácido Palmítico (16:0)	27
Ácido Palmitoléico (16:1, ω -7)	1
Ácido Esteárico (18:0)	7
Ácido oleico (18:1, ω -9)	49
Ácido Linoleico (18:2, ω -6)	16

Fonte: adaptado de SINGH; SINGH (2010, p. 204).

A árvore de Andiroba, considerada de grande porte, atinge 30 metros, apresenta flores com sabores e odores característicos e suas castanhas são de cor marrom, das quais o óleo é extraído (Figura 4). Seu período de frutificação geralmente ocorre nos meses de março a abril e estudos demonstram que uma árvore adulta gera de 108 a 120 kg de óleo por ano (CONAB, 2013).

O termo Andiroba provém da língua indígena (*landi* = óleo e *rob* = amargo) e denominam as árvores do gênero *Carapa*, composto pelas duas espécies *Carapa procera* e *Carapa guyanensis*, pertencentes à mesma família que o mogno. A primeira espécie ocorre na África e América do Sul, enquanto que a segunda é cultivada na América Central até o Norte da América do Sul.

Figura 4 – Fotos da (a) árvore, (b) fruto e (c) castanha da Andiroba



Fonte: CONAB (2013, p. 1)

No Brasil, ambas as espécies são encontradas principalmente na região Amazônica, principalmente nos estados do Pará, Amapá, Amazonas, Maranhão e Roraima, com predominância nas várzeas e faixas alagáveis ao longo dos cursos d'água (CONAB, 2013). O óleo extraído de suas sementes é responsável pela renda de diversas famílias, principalmente devido a agricultura familiar e venda em feiras livres de comércio nas mais diversas formas tais como: óleos, velas, sabonetes, inseticida entre outros produtos (Figura 5).

Além de ser utilizado como inseticida, o óleo de Andiroba apresenta propriedades emolientes que auxiliam na maciez da pele e do cabelo, sendo muito empregado na fabricação de shampoos, condicionadores, máscaras de tratamentos capilares além de loções e cremes corporais, facilmente encontrados em lojas de produtos de beleza (CORREA, 1984).

Figura 5 – Produtos derivados da castanha da Andiroba



Fonte: CONAB (2013, p. 10).

O óleo de Andiroba também é um dos óleos medicinais mais vendidos na Amazônia e conseqüentemente existem muitas receitas caseiras envolvendo o óleo de Andiroba. Por exemplo, ele é misturado ao mel e copaíba, sendo este um remédio anti-inflamatório muito popular no combate a infecções de garganta e em processos de gripe em geral; quando misturado a um creme hidratante, também é utilizado como antialérgico e seu óleo puro tem utilização como vermífica (FERRAZ; CAMARGO; SAMPAIO, 2003). Devido a sua boa absorção pela pele, este óleo é frequentemente utilizado como creme de massagem para aliviar baques, luxações, artrite e reumatismo, atuando também como clareador de manchas superficiais. Além disso, é muito utilizado como repelente para afastar os mosquitos principalmente na forma de velas, loções e incensos.

1.1.2 Óleo de Prímula

O óleo de Prímula (*Primula Veris*) é extraído de uma planta herbácea da família das Primuláceas, nativa da América do Norte e também conhecida como “Prímula da noite”, uma vez que suas flores se abrem ao entardecer.

A primula é um arbusto que cresce em regiões de clima frio e seco. Seus talos e ramas estão cobertos de afiados espinhos, suas flores são brancas ou rosadas, com 3 a 6 cm de diâmetro, dispostas em cachos que contêm de 7 a 15 unidades de flor. Apresentam 5 sépalas e 5 pétalas, com numerosos estames (Figura 6-a). Seu fruto tem forma ovóide, carnoso, de cor vermelho intenso quando maduro, e contém um grande número de sementes no seu interior.

Figura 6 – Fotos de (a) arbusto, (b) sementes e (c) óleo da semente de Prímula



Fonte: PLANTAS MEDICINAIS FITOTERAPIA, 2010; SEEDS GALLERY, 2012.

O óleo extraído de suas sementes (Figura 6-b,c) tem atraído muito interesse devido ao seu alto teor de ácidos graxos poliinsaturados, em especial, o ácido γ -linolênico (18:3, ω -6) (HUDSON, 1984). Ele é amplamente usado como um suplemento dietético e tem apresentado efeitos benéficos em tratamento de condições reumáticas, artríticas, dermatite atópica, psoríase, síndrome pré-menstrual, menopausa e neuropatia diabética (BELCH; HILL, 2000; MAHADY, 2001;), sendo um dos fitoterápicos mais utilizados do mundo.

Conforme se observa na Tabela 2, o óleo de Prímula apresenta alto teor de ácido γ -linoleico, fato que é associado aos seus efeitos benéficos, uma vez que os ácidos graxos ω -6 são precursores de eicosanóides da série 1 (grupo de moléculas de carácter lipídico originadas da oxigenação dos ácidos graxos 20 carbonos do tipo omega-3 e omega-6) e exercem um efeito inibidor sobre a síntese de leucotrienos (Lipídio que provoca a contração da musculatura lisa) (BELCH; HILL, 2000). Devido a todos os fatores já citados, seu óleo é empregado na indústria de fármacos e cosméticos,

destacando-se os cremes corporais, shampoos, condicionadores e sabonetes líquidos. Como fármaco, a maneira mais comum de consumo deste óleo é na forma de cápsulas.

Tabela 2 – Composição dos ácidos graxos presentes no óleo de Prímula

Nome	Composição (%)
Ácido Palmítico (16:0)	6,31
Ácido Esteárico (18:0)	1,88
Ácido oleico (18:1, ω -9)	6,93
Ácido Vacênico (18:1, ω -7)	0,81
Ácido Linoleico (18:2, ω -6)	73,88
Ácido Eicosanóico (20:0)	0,31
Ácido Gama linolênico (18:3, ω -6)	9,24
Ácido Eicosenoico (20:1, ω -9)	0,55
Ácido Docosanóico (22:0)	0,10

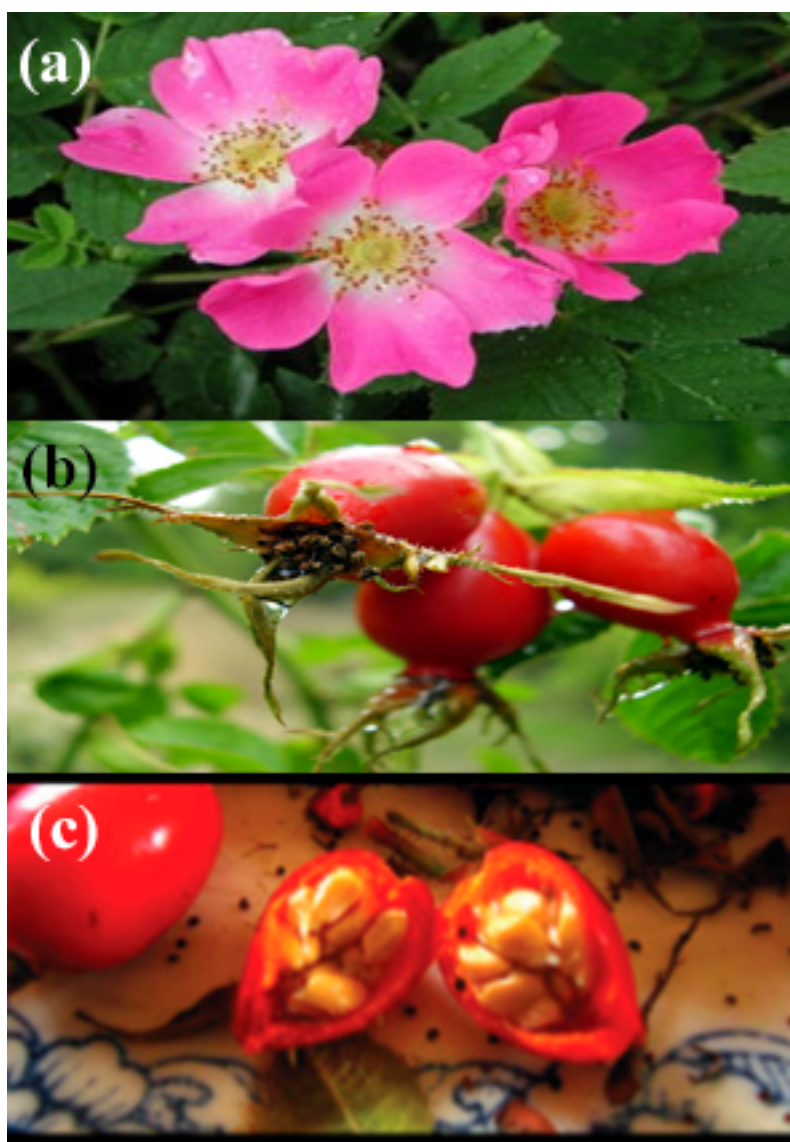
Fonte: adaptado de MONTSERRAT-DE LA PAZ et al., 2014.

1.1.3 Óleo de Rosa Mosqueta

A *Rosa eglanteria* L., conhecida popularmente como Rosa Mosqueta, é um arbusto que pertence à família das rosáceas e é encontrada normalmente em regiões de clima frio. Essa espécie é originária da Europa e foi trazida à América, difundindo-se principalmente na região das Cordilheiras dos Andes no Chile (FRANCO et al., 2007).

As flores da Rosa Mosqueta (Figura 7a) são brancas e rosadas, mas em alguns casos apresenta a coloração amarela. Quando as pétalas caem, a planta produz um fruto de cor avermelhada de forma oval de 1,5 a 3 cm de diâmetro (Figura 7b), e a casca desse fruto é muito utilizada para produção de chás. Já as sementes contidas dentro do fruto (Figura 7c), que é a matéria-prima para a extração do óleo de Rosa Mosqueta, são muito aplicadas nas indústrias de cosméticos, farmacêutica e alimentícia.

Figura 7 – Fotos da (a) flor, (b) fruto e (c) sementes da Rosa Mosqueta



Fonte: BALANCE AND DISEAS, 2014; LUSH COSMÉTICOS FRESCOS FEITOS A MÃO, 2014; EVENING PRIMROSE OIL, 2014.

As sementes da Rosa Mosqueta contêm menos de 10% (m/m) de óleo, o qual é composto principalmente pelos ácidos linoleico e oleico (Tabela 3), além de apresentar valores significantes do ácido trans-retinóico em sua composição que apresenta propriedades regenerativas para a pele (ERCISLI, 2007; KAZAZ; BAYDAR; ERBAS, 2009). Devido ao este elevado teor de ácido trans-retinóico, ele é muito utilizado em clinicas médicas na forma de cremes corporais, loções e até mesmo na sua forma natural, tendo por objetivo regenerar as cicatrizes da pele (KAZAZ; BAYDAR; ERBAS, 2009).

Tabela 3 – Composição dos ácidos graxos presentes no óleo de Rosa Mosqueta

Nome	Composição (%)
Ácido Palmítico (16:0)	5,26
Ácido Esteárico (18:0)	3,13
Ácido oleico (18:1, ω -9)	22,14
Ácido Linoleico (18:2, ω -6)	48,84
Ácido Alfa-Linoleico (18:3, ω -3)	20,65
Ácido Trans-retinóico	0,01 – 0,10

Fonte: adaptado ERCISLI, 2007; KAZAZ; BAYDAR; ERBAS, 2009.

Além de ser utilizado para auxiliar na regeneração da pele, o óleo de Rosa Mosqueta apresenta várias outras propriedades, tais como bactericida, fungicida, anti-inflamatória e inibição da proliferação de células cancerígenas (OLSSON et al., 2004; DA SILVA et al., 2008). Seus frutos também apresentam vitaminas A, B1, B2, C, E e K e minerais tais como K, Ca, Na, Fe, e Mg, sendo utilizados na indústria de alimentos, principalmente para o processamento de doces, tortas, pães, geleias, chás e sucos (ERCISLI, 2007; FRANCO et al., 2007; GONZALEZ-SARRIAS et al., 2013).

1.1.4 Adulterações em Óleos Vegetais

Óleos vegetais e gorduras têm sido alvos de adulterações intencionais ou acidentais (erros operacionais durante a sua extração ou manuseio) (NUNES, 2014). Cresce o número de denúncias e reportagens de companhias que vendem blendas de óleos como óleos puros. Em geral, os adulterantes presentes nas blendas apresentam propriedades físico-químicas semelhantes com o óleo em questão, além de apresentarem um baixo custo e fácil acesso.

A detecção de adulteração em óleos vegetais puros exige por parte de produtores, distribuidores e principalmente dos órgãos de fiscalização metodologias analíticas eficientes, rápidas e de baixo custo para a análise de óleos vegetais. Dentre os órgãos de fiscalização podemos citar os internacionais: Administração de Drogas e Comidas do inglês *Food and Drug Administration* (FDA), Organização das Nações Unidas para Agricultura e Organização do inglês *Food and Agriculture Organization of the United*

Nations (FAO), Organização Mundial da Saúde do inglês *World Health Organization* (WHO) e o órgão os órgãos nacionais tais como Ministério da Saúde e Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Os óleos adulterantes possuem menor preço e qualidade, havendo assim uma concorrência desleal entre o preço final atingido na cadeia produtiva dos óleos puros versus a redução de valores obtidas nos processos de falsificação do produto. Conforme mencionado anteriormente, a detecção de substâncias adulterantes principalmente semelhantes aos produtos puros, torna-se uma tarefa árdua que exige uma série de métodos oficiais para avaliar a qualidade de óleos e gorduras. Neste sentido a ANVISA criou o RDC nº 270 onde recomenda que as análises a serem realizadas são as mesmas da realizada pela Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO). Na avaliação da qualidade de óleos vegetais são exigidos diversos métodos físico-químicos, além da Cromatografia Gasosa com Detector de Ionização em Chama (CG-FID) para a quantificação dos ácidos graxos presentes nos óleos vegetais, na Tabela 4 são apresentados exemplos dos testes físico químicos exigidos pela FAO com as oleaginosas estudadas nesta dissertação.

Tabela 4 – Resultados das análises físico-químicas exigidas pela FAO de alguns óleos vegetais

Óleo	Gravidade específica 25°C	Índice de refração 25°C	Índice de Iodo I ₂ /100g	Índice de saponificação mg KOH/g (%)	Ponto de solidificação °C
Soja	0,916-0,922	1,473	118–139	188–195	–18 até –8
Milho	0,916-0,921	1,470–1,474	107–135	156–196	–18 até –10
Girassol	0,918-0,923	1,472–1,476	115–145	186–196	–18 até –16
Andiroba	0,900-0,950	1,460-1,470	58–76	165-210	19 até 5
Rosa Mosqueta	0,900-0,925	1,478	152–169	189	–15
Prímula	0,900-0,930	1,478	147–155	187–198	–10

Fonte: (FAO, 2007).

Se durante o processo de adulteração dos óleos vegetais forem utilizados substâncias adulterantes com propriedades físico-químicas semelhantes, mesmo após o processo fraudulento o produto pode apresentar características dentro das especificações recomendadas, o que também pode ocorrer em casos específicos com adulterantes que possuam propriedades diferentes.

Devido aos motivos citados, são encontrados na literatura científica diversos trabalhos propondo metodologias similares as encontradas em normas e resoluções padrões ou que apresentem eficiência e confiabilidade superiores conforme apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5 – Trabalhos empregando técnicas alternativas na análise de óleos vegetais

Técnicas	Referências
UV-Vis	GONÇALVES; MARÇO; VALDERRAMA, 2014; INSAUSTI et al., 2012; LANKMAYR et al., 2004
MIR	BALABIN; SMIRNOV, 2011; CASALE et al., 2012; DE LA MATA et al., 2012
NIR	DUPUY et al., 2010; SINELLI et al., 2010; ROHMAN et al., 2014; LAROUSSI-MEZGHANI et al., 2015
Raman	ALMEIDA et al., 2013
Eletroquímicos	APETREI, 2012; TORMIN et al., 2012
HPLC	MORALES et al., 2014; TAAMALLI et al., 2012
RMN	GUILLÉN; RUIZ, 2001

Essa gama de trabalhos demonstra a necessidade e a busca incessante por novas metodologias precisas, robustas, de respostas rápidas, baixos custos, menor ou eliminação da geração de resíduos e possível portabilidade que permita análise “*in situ*”.

1.2 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO MÉDIO COM REFLECTÂNCIA TOTAL ATENUADA (MIR-ATR)

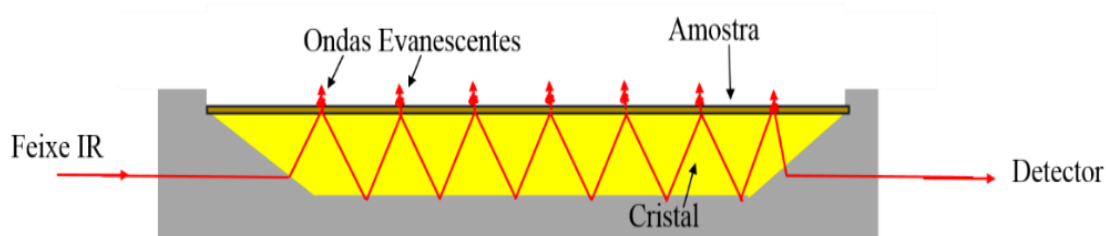
As técnicas espectroscópicas são baseadas na medida da quantidade de radiação produzida ou absorvida por moléculas ou espécies químicas de interesse e podem ser classificadas conforme a região do espectro eletromagnético envolvida na medição (SKOOG et al., 2007). O espectro na região do infravermelho médio refere-se a transições vibracionais e rotacionais nas ligações das moléculas na região de 4.000 a 200 cm^{-1} , e tem sua utilização em grande parte voltada para a caracterização de compostos orgânicos (BARBOSA, 2007; PASQUINI, 2003).

Na região do infravermelho médio (MIR) existe uma faixa espectral de 1200 a 700 cm^{-1} conhecida como região de impressão digital ou “*fingerprint*”, onde pequenas diferenças na estrutura e na constituição de uma molécula resultam em mudanças significativas nas intensidades ou perfis das bandas de absorção e por esse fato são usadas como parâmetro de identificação ou distinção entre compostos (BARBOSA, 2007).

Os espectros MIR são ricos em informação, onde a absorvância em uma frequência particular pode caracterizar um grupo funcional presente no composto químico, por exemplo a banda na região por volta de 1655 cm^{-1} pode ser atribuída às vibrações de deformação axial da ligação C=C, característica de alquenos enquanto que próximo a 3010 cm^{-1} às vibrações de deformação axial da ligação C—H proveniente de dupla ligação. Outro fato importante é que as intensidades das bandas espectrais são diretamente proporcionais as concentrações, fazendo com que os espectros MIR sejam utilizados tanto em análise qualitativa quanto quantitativa (SKOOG et al., 2007).

A técnica de ATR baseia-se no fato de que parte do feixe de radiação, passe de um meio mais denso, o cristal de ATR, para um menos denso (amostra), sendo parte dessa absorvida pela amostra e o restante sofrerá várias reflexões ao longo do cristal de ATR. A fração do feixe que é refletida aumenta com o ângulo de incidência ocorrendo a reflexão total e comportando como se penetrasse um pouco no meio menos denso antes de ser refletida e varia em função do número de onda. Essa radiação penetrante é denominada de onda evanescente. Nos números de onda em que a radiação foi absorvida o feixe é atenuado, e denominamos esse processo de Reflectância Total Atenuada (ATR), como demonstrado na Figura 8 (SKOOG et al., 2007).

Figura 8 – Processo de reflexão no ATR horizontal



Fonte: O autor.

A técnica de Espectroscopia MIR aliada à de ATR ampliou as vantagens pois possibilitou a inserção direta das amostras evitando quase sempre a etapa de preparo onde

geralmente faz-se uso de solventes ou acrescenta etapas que demandam outros equipamentos como na digestão ácida ou forno de micro-ondas. Assim uma vasta categoria de amostras sólidas ou líquidas como polímeros, fibras, pós, pastas, suspensões, filmes, matérias viscosos, oleosos e outras matérias podem ser analisados bastando garantir o contato físico da amostra com a superfície sobre o cristal do ATR, cujo acessório possui configurações semelhantes as apresentadas na Figura 9.

Figura 9 – Cristal de ZnSe do acessório ATR



Fonte: O autor.

Vale destacar que os espectros MIR podem apresentar um grau de semelhança e complexidade que dificulta extrair informações relevantes por análise visual ou interpretação do analista bem como correlacionar com propriedades de interesse. Faz-se então necessário a aplicação de métodos quimiométricos de análise multivariada para tal finalidade.

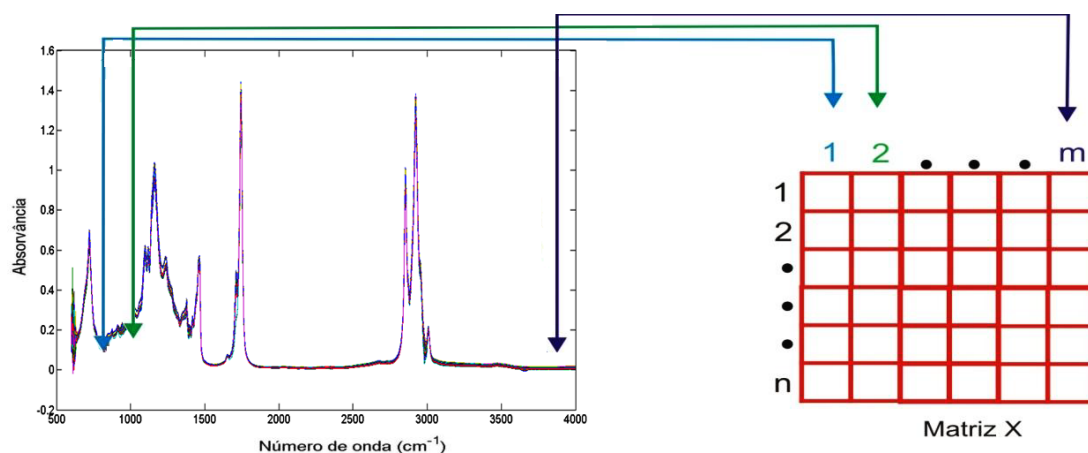
1.3 QUIMIOMETRIA

Hoje em dia, os instrumentos analíticos geram grande quantidade de informação (variáveis ou características) para um grande número de amostras (objetos) que podem ser analisadas em um período de tempo relativamente curto. A partir destas informações são construídas matrizes de dados multivariados, os quais serão tratados por métodos quimiométricos, para extrair de forma eficiente o máximo de informação útil a partir destes dados (BERRUETA; ALONSO-SALCES; HÉBERGER, 2007; BEEBE; PELL; SEASHOLTZ, 1998).

A Quimiometria pode ser definida como a aplicação de métodos matemáticos, estatísticos e de lógica formal para o tratamento de dados químicos de forma a extrair uma maior quantidade de informações e otimizar os resultados analíticos (MASSART et al., 1998; MILLER; MILLER, 2010; BEEBE; PELL; SEASHOLTZ, 1998).

O conjunto de espectros MIR deve ser organizado na forma de uma matriz numérica a partir dos valores de absorvâncias denominada matriz de dados \mathbf{X} , onde as linhas representam as n amostras enquanto que as colunas representam as m variáveis como mostrada na Figura 10.

Figura 10 – Organização dos espectros MIR no formato de uma matriz de dados \mathbf{X}



Fonte: O autor.

A Quimiometria é dividida em função da área em que é aplicada, sendo as principais: processamento de sinais analíticos, planejamento e otimização de experimentos, reconhecimento de padrões e classificação de dados, calibração multivariada, monitoramento e modelagem de processos multivariados, métodos de inteligência artificial, entre outros (MASSART et al., 1998). Tem sido empregada aliada a diferentes técnicas para a análise de diversas matrizes complexas, tais como óleos, grãos, polímeros, alimentos, bebidas, combustíveis, medicamentos, cosméticos, entre outras (ALMEIDA et al., 2013; ALVES et al., 2010; DE SOUZA et al., 2014; MAZIVILA et al., 2015b; VERAS et al., 2010).

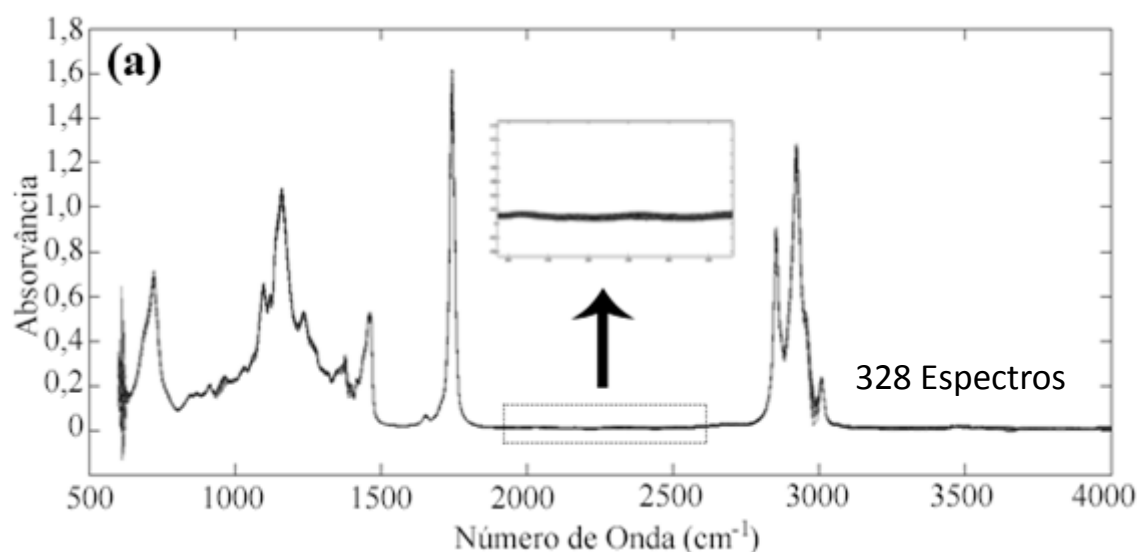
1.3.1 Pré-Processamento de dados

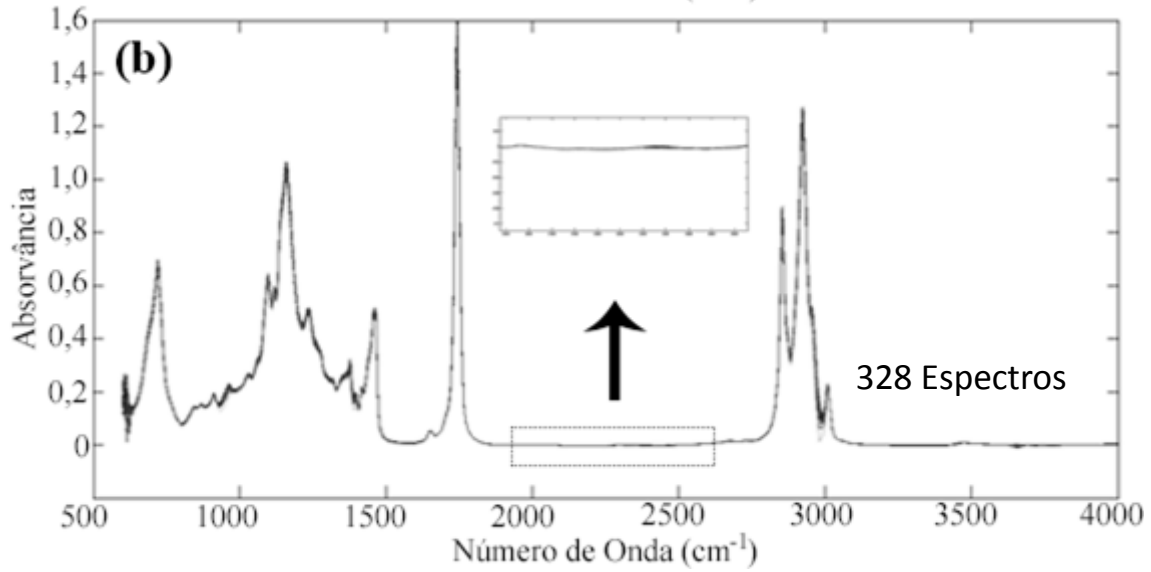
Os dados originais provenientes de técnicas instrumentais podem apresentar alterações não desejadas, como ruídos instrumentais, intensidade com magnitudes diferentes e variação sistemática da linha de base. Em geral, essas alterações espectrais não possuem relação com a composição da amostra e, portanto, não contribuem para os modelos multivariados, sendo necessário sua remoção por meio de técnicas de pré-processamento (MASSART et al., 1997).

Em medidas baseadas em espectros MIR, geralmente é possível observar ruído aleatório e variação da linha de base. O método mais simples para corrigir tais variações não informativas é a correção da linha de base por meio do algoritmo *baseline*. Este algoritmo cria uma função polinomial que descreve o comportamento em regiões espectrais escolhidas onde os valores de absorvâncias são próximos de zero (linha de base do espectro). Em seguida de toda a região espectral é subtraída ponto a ponto os valores que representam o nível das variações na linha de base (WISE et al., 2006).

Um exemplo de visualização da correção da linha de base de espectros MIR é apresentado na Figura 11 onde estão presentes 328 espectros, na Figura 11 (a) observa-se na região ampliada uma maior variação da linha de base quando comparada a Figura 11 (b) que é após a correção da linha de base, mostrando assim que a correção por *baseline* foi eficaz na redução do ruído da linha de base do espectro.

Figura 11 – Espectros MIR (a) originais e (b) corrigidos por *baseline*





Fonte: O autor.

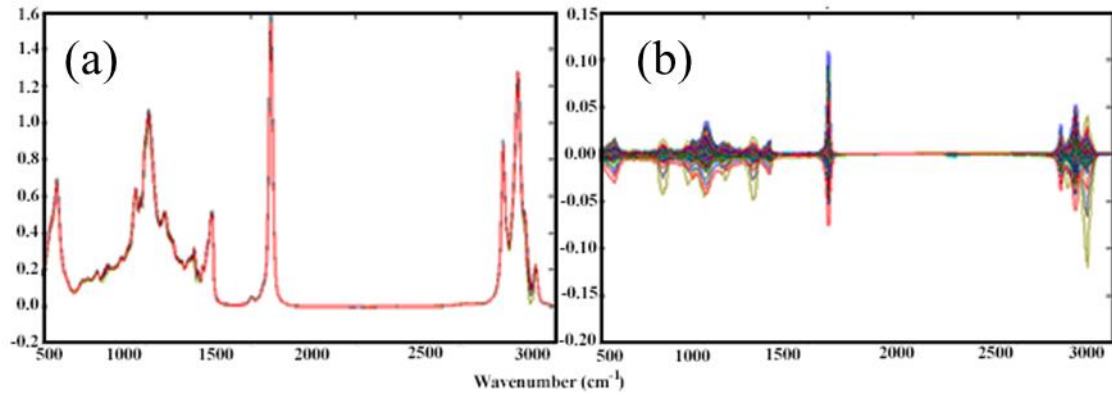
Após minimizar os ruídos aleatórios dos espectros, avalia-se a necessidade de pré-processar os dados, com o objetivo de adequá-los de maneira a maximizar ou minimizar o efeito de certas variáveis no conjunto total de dados. É o caso de quando as variáveis medidas conterem informações correlacionadas como ocorre no caso de dados espectroscópicos. Os pré-processamentos das variáveis podem ser feitos de várias maneiras, dentre elas destaco as utilizadas no presente trabalho como centrar os dados na média e Variação de Padrão Normal do inglês *Standard Normal Variate* (SNV).

A centralização dos dados na média é usada quando todas as variáveis forem medidas numa mesma unidade possuindo uma mesma magnitude, este é o caso de dados espectroscópicos. Tal pré-processamento permite que a presença de ruídos não afete negativamente na análise, fazendo com que o centroide da matriz de dados \mathbf{X} é levado à origem pela subtração do valor medido de cada elemento da coluna pela média da respectiva coluna segundo a Equação 1 (OTTO, 2007).

$$x_{ij(cm)} = x_{ij} - x_j \quad (1)$$

onde $x_{ij(cm)}$ é o valor centrado na média para a variável j na amostra i , x_{ij} é o valor da variável j na amostra i e x_j representa a média dos valores das amostras na coluna j . A Figura 12 mostra um exemplo de espectros de óleo de Prímula antes e após serem centrados na média.

Figura 12 – Espectros MIR de óleo de Prímula (a) originais e (b) centrados na média.



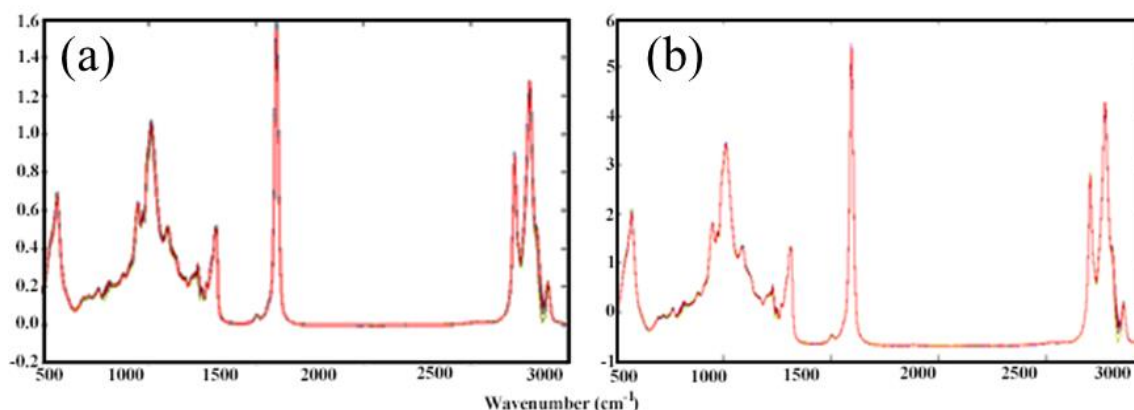
Fonte: O autor.

O pré-processamento a partir do método de Variação de Padrão Normal (SNV) é utilizado para corrigir as interferências de espalhamento e seus efeitos além de realizar a suavização dos espectros. Seu cálculo consiste na normalização ponderada, isto é, considera que nem todas as variáveis (absorvâncias) contribuem para a normalização igualmente. Primeiro calcula-se os desvios padrões correspondentes a cada linha da matriz de dados \mathbf{X} , o que produzirá um vetor contendo os valores dos desvios. Em seguida cada um dos valores de uma linha é dividido pelo desvio padrão da linha correspondente, o processo se repete para cada linha até o final da matriz de dados \mathbf{X} . Os desvios padrões (w_i) podem ser calculados usando a Equação 2 (WISE et al., 2006).

$$w_i = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n (x_{i,j} - \bar{x}_i)^2}{(n-1)}} + \delta^{-1} \quad (2)$$

onde n é o número de variáveis, x_{ij} é o valor da variável j para a amostra i , e δ é um valor limite definido inicialmente como zero, indicando que a normalização das amostras serão pelo desvio padrão não ponderado. Dependendo da escala das variáveis o valor deve ser aproximado ao nível de ruído esperado. Um Exemplo da aplicação do pré-processamento SNV para espectros MIR é apresentado na Figura 13.

Figura 13 – Espectros MIR de óleo de Prímula (a) originais e (b) após a aplicação do SNV



Fonte: O autor.

Observa-se que além da mudança da escala no eixo Y do gráfico os espectros apresentam menos variações na linha de base e também ao longo de todo o espectro, ou seja, foram eliminados ruídos ao longo de todo o espectro MIR, aumentando assim a eficácia do modelo multivariado uma vez que foram eliminadas informações desnecessárias.

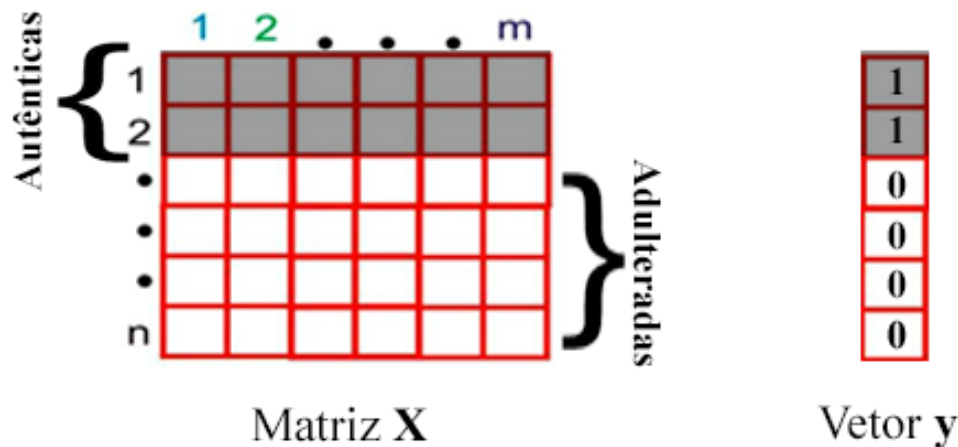
1.3.2 Análise Discriminante por Quadrados Mínimos Parciais (PLS-DA)

Métodos de Reconhecimento de Padrões Supervisionados são aplicados a uma ampla variedade de dados químicos com diversas finalidades, tais como identificação de perfis e impressões digitais, autenticação, detecção de falsificação, avaliação da qualidade dos alimentos, interpretação de dados, etc (MASSART et al., 1998).

A Análise Discriminante por Quadrados Mínimos Parciais (PLS-DA) é uma variação do algoritmo de regressão por Quadrados Mínimos Parciais (PLS), método de calibração inversa que busca correlacionar a resposta instrumental (matriz **X**) com um vetor **y** de concentrações. No caso do PLS-DA a diferença está no fato de que o vetor **y** conterá valores da classe a qual a amostra pertence (MASSART et al., 1998; BARKER; RAYENS, 2003).

No caso deste trabalho foram utilizadas duas classes, os óleos vegetais autênticos e adulterados, para os quais foram atribuídos os valores 1 e 0, respectivamente. A Figura 14 apresenta um esquema de organização das matrizes para o cálculo do PLS-DA.

Figura 14 – Representação da matriz de dados X e o vetor de classes y usados no PLS-DA



Fonte: O autor.

Idealmente, os valores previstos pelo modelo PLS-DA seriam 0 ou 1, mas na prática os valores previstos são próximos de 0 e 1. Uma vez que os valores previstos não são idealmente 0 ou 1 é necessário calcular um valor limite para separar as classes, denominado de “*threshold*” representado em gráfico por uma linha tracejada e cujo o cálculo é baseado no teorema de Bayes, que leva em consideração que a distribuição das amostras no conjunto de treinamento será semelhante a observada no conjunto de previsão. Usando a distribuição dos resultados, um limite é calculado de tal maneira que o número de falsos positivos e falsos negativos sejam minimizados quando classificadas as amostras do conjunto teste (ALMEIDA et al., 2013; WISE et al., 2006).

Quando a amostra apresentar um valor previsto acima do *threshold*, ela é considerada como pertencente a classe 1 e as amostras abaixo deste valor limite são pertencentes a classe 0.

Para a construção do modelo PLS-DA, procura-se encontrar a quantidade de variáveis latentes (VL) que descrevam a covariância nas amostras das matrizes e que tenham a correlação máxima com a classe de valores conhecida, dando menos peso para a classe irrelevante ou a variância do ruído (BARKER; RAYENS, 2003).

Dois problemas que podem ocorrer quando são utilizados métodos de regressão multivariados, um quando escolhemos o número de Variáveis Latentes (VL) abaixo do número ideal, e informações relevantes são descartadas do modelo, isto é denominado subajuste, o outro problema é quando o número de Variáveis Latentes forem excessivos

e por consequência haverá a modelagem de ruídos e informações não relevantes para o modelo tendo assim um sobreajuste do modelo multivariado.

Para a identificação destes problemas durante a etapa de modelagem será realizada uma validação nas amostras do conjunto de treinamento, neste trabalho optou-se pela validação cruzada do tipo “*leave one out*” (deixar uma de fora por vez). Nesta validação durante a etapa de treinamento uma amostra é retirada aleatoriamente da matriz de dados \mathbf{X} , utilizando as amostras restantes é construído um modelo PLS-DA e previsto a classe a que pertencerá a amostra retirada, com menor valor de erro. Esse processo é repetido até que todas as amostras tenham sido retiradas e previstas pelos modelos construídos. Para cada variável latente a eficiência da validação é expressa pelo Erro Quadrático Médio de Validação Cruzada (RMSECV), calculada a partir da Equação 3.

$$\text{RMSECV} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n-1} (\hat{y}_i - y_i)^2}{n}} \quad (3)$$

Onde \hat{y}_i é o valor de classe previsto, y_i é o valor de classe real, e n é o número de amostras do conjunto de treinamento.

O número ideal de variáveis latentes deve ser escolhido de acordo com o menor valor de RMSECV em análise combinada com a variação acumulada nos blocos \mathbf{X} e \mathbf{y} (LI et al., 2012).

Outro critério importante na construção do modelo PLS-DA é a detecção de amostras anômalas (do inglês *outliers*). Deve-se assegurar que no conjunto de treinamento constem apenas amostras representativas de cada classe, e que amostras muito diferentes ou que apresentam erros grosseiros de medição (anômalas) sejam devidamente identificadas e retiradas do conjunto de treinamento. Se mantidas serão responsáveis pela inserção de erros durante a etapa de previsão de novas amostras. A ocorrência de anomalias deve-se a várias razões como erros instrumentais, experimentais, presença de compostos químicos não pertencentes ao grupo que está sendo analisado ou de diferentes composições químicas, entre outras.

A detecção de *outliers* pode ser feita através do gráfico de influência (*leverage*) versus resíduos de Student (*Q Residuals*), onde as amostras fora do limite de confiança de 95% são consideradas amostras anômalas. O *leverage* representa a distância da amostra em relação ao centro de distribuição das amostras em um espaço n dimensional, e indica capacidade da amostra influenciar na estimativa dos coeficientes de regressão,

geometricamente uma amostra que está próxima ao centro do modelo possui baixo valor de *leverage* enquanto que uma mais distante apresenta um maior valor.

Enquanto que o resíduo de Student representa a diferença entre o valor experimental e o valor calculado pelo modelo de regressão já padronizado, que é obtido dividindo-se o resíduo por uma estimativa de seu próprio desvio padrão (CORREIA; FERREIRA, 2007).

Após a construção do modelo PLS-DA, pode-se fazer a análise da Variável Importante na Projeção (VIP) com intuito de identificar quais variáveis dos espectros MIR foram mais relevantes para separação das classes das amostras, como também podem ser utilizadas em métodos de seleção de variáveis visando aumentar a eficiência do modelo ao eliminar variáveis não informativas (CHONG; JUN, 2005).

As variáveis com escores maiores que 1 são consideradas as principais variáveis do modelo. O parâmetro VIP expressa a importância de cada variável j , sendo refletida por w em cada variável latente, sendo definido conforme a Equação 4 (MEHMOOD et al., 2012).

$$v_j = \sqrt{p \sum_{a=1}^A [(q^2 at' ata)(waj / \| wa \|)^2] / \sum_{a=1}^A (q^2 at' ata)} \quad (4)$$

onde:

v_j é a medida de VIP;

q são os pesos de \mathbf{Y} ;

t são os escores;

$(waj / \| wa \|)^2$ representa a importância da variável j ;

$(q^2 at' ata)$ é a variância explicada por cada VL.

1.3.2.1 Parâmetros de Avaliação do Modelo PLS-DA

A avaliação dos parâmetros de desempenho do modelo de classificação é feita através da Tabela Confusão que fornece a base para descrever os resultados do modelo de classificação e caracterizar os erros, ajudando a refinar a classificação. Os parâmetros utilizados foram as taxas de Falsos Positivos (FP), Falsos Negativos (FN), Verdadeiros Positivos (VP) e Verdadeiros Negativos (VN), sensibilidade, especificidade, precisão, eficiência e o Coeficiente de Correlação de Matthew's (CCM). É importante notar que

alguns parâmetros de desempenho têm o mesmo nome, mas diferem da definição utilizada em química analítica e metrologia.

A taxa de FP é a probabilidade de uma amostra negativa (não pertencente a classe) ser classificada como uma amostra positiva (pertencente a classe). Por exemplo, no caso deste trabalho, seria uma amostra de óleo de Andiroba adulterada ser classificada como autêntica. Por outro lado, a taxa de FN representaria uma amostra autêntica ser classificada como adulterada, o mesmo raciocínio é aplicado no cálculo das taxas de VP e VN.

A sensibilidade é a capacidade do modelo de classificar corretamente as amostras verdadeiras positivas, nesse trabalho seria a classificação correta das amostras autênticas. Este parâmetro é calculado conforme a Equação 5 (XU et al., 2012).

$$\text{Sensibilidade} = \frac{VP}{VP+FN} \quad (5)$$

A especificidade é a capacidade do modelo de classificar corretamente as amostras verdadeiras negativas, nesse trabalho seria a classificação correta das amostras adulteradas. Este parâmetro é calculado conforme a Equação 6 (XU et al., 2012).

$$\text{Especificidade} = \frac{VN}{VN+FP} \quad (6)$$

A precisão é a proporção de classificação correta independente da classe a qual a amostra pertence sendo calculada conforme a Equação 7 (XU et al., 2012).

$$\text{Precisão} = \frac{VN+VP}{VN+VP+FN+FP} \quad (7)$$

Ambos os parâmetros eficiência e o Coeficiente de Correlação de Matthew's (CCM) expressam através de seus valores o grau de eficiência dos modelos construídos. A eficiência é determinada pela média aritmética dos valores de sensibilidade e especificidade sendo que o valor 1 corresponde a uma eficiência de 100%, isto é, todas as amostras foram corretamente classificadas conforme sua classe de origem. Enquanto que o CCM é calculado conforme a Equação 8 e tem resultados com valores entre -1 e

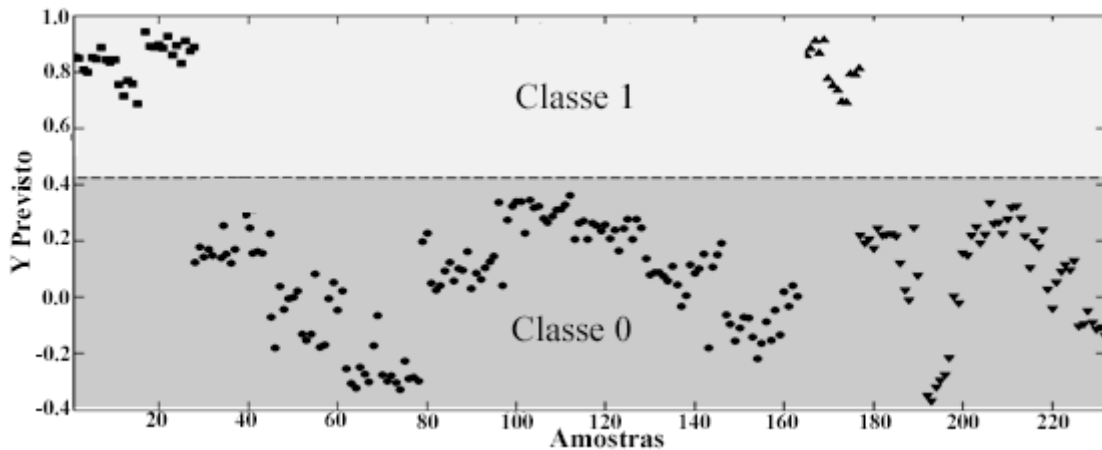
+1, onde um valor de +1 corresponde a uma eficiência de 100%, valor igual a 0 uma classificação errada e igual a -1 uma classificação inversa (ALMEIDA et al., 2013).

$$CCM = \frac{(VP \times VN - FP \times FN)}{\sqrt{(VP + FN)(VP + FP)(VN + FN)(VN + FP)}} \quad (8)$$

1.3.2.2 Representação Gráfica do Modelo PLS-DA

Os resultados do modelo PLS-DA geralmente são expressos através de um gráfico de estimativas de classes, onde as amostras posicionadas acima da linha tracejada que representa o limite para separação das classes (*threshold*) são classificadas como pertencentes a classe 1, isto é a classe de interesse. Já as amostras localizadas abaixo da linha tracejada, são classificadas como pertencentes a classe 0 ou seja, a classe que não é de interesse. A Figura 15 mostra um exemplo do gráfico de estimativas para um modelo PLS-DA.

Figura 15 – Resultado gráfico do modelo PLS-DA



Fonte: O autor.

Através do gráfico de predição do modelo PLS-DA é observado que todas as amostras da classe 1 do conjunto de treinamento (■) foram classificadas corretamente, e o mesmo ocorreu para as amostras autênticas do conjunto de previsão (▲). Isto é, todas as amostras da Classe 1 ficaram acima da linha de separação das classes (*threshold*). Enquanto que as amostras da Classe 0 tanto do conjunto de treinamento (●) quanto de

previsão (▼) ficaram abaixo a linha de separação de classes (*threshold*) conforme se observa na Figura 15.

1.3.3 Revisão Bibliográfica

Na literatura científica são encontrados diversos trabalhos que referenciam o uso de técnicas analíticas aliadas a métodos quimiométricos aplicados a diferentes matrizes, incluindo óleo vegetais dentre os quais destacarei os seguintes:

Rohman e Che Man (2011) utilizaram FTMIR-ATR para a detecção e quantificação de adulterações em óleo de coco virgem com óleos Girassol e Milho em blendas na faixa de concentração de 0,0 a 100,0% (v/v). Para a classificação entre amostras autênticas e adulteradas foi utilizada a Análise Discriminante (DA), a qual obteve uma classificação 100% correta. Já o modelo de quantificação foi construído por meio de regressão por Quadrados Mínimos Parciais (PLS), o qual apresentou os valores de Erro Quadrático Médio de Calibração (RMSEC) de 0,866 e 0,374% (v/v) para Girassol e Milho, respectivamente, Erro Quadrático Médio de Previsão (RMSEP) de 0,994 e 1,060% (v/v) para Milho e Girassol, respectivamente, e Coeficiente de Correlação (R^2) de 0,998.

Casale et al. (2012) utilizaram a espectroscopia UV-VIS, NIR e MIR para identificar a origem de azeite de oliva *Chianti Classico*. Para cada uma das respostas instrumentais foram utilizadas as ferramentas quimiométricas Modelagem Independente Flexível por Analogia de Classe (SIMCA) e Classes Dispersas Desiguais (UNEQ). Foi observado que os melhores modelos de classificação foram obtidos através da espectrometria NIR e UV-VIS; a combinação das três respostas instrumentais apresentou uma pequena melhora nos resultados, porém na visão do autor o aumento não foi suficiente para justificar o emprego do UV-VIS, NIR e MIR juntos.

De La Mata et al. (2012) utilizaram o MIR com acessório ATR para identificar blendas no óleo de oliva com diferentes óleos. Para tal propósito, os autores utilizaram a ferramenta quimiométrica Análise Discriminante por Quadrados Mínimos Parciais (PLS-DA) para classificar amostras com blendas superiores e inferiores a 50%, com classificação 100% correta todas as amostras com blendas superiores a 50%, independente do óleo utilizado.

Balabin e Smirnov (2011) propuseram o uso da espectrometria MIR e NIR para a detecção e quantificação de melamina (base orgânica) em leites líquidos, em pó e infantil.

Foram utilizadas as seguintes ferramentas quimiométricas para a quantificação: PLS, Redes Neurais Artificiais (ANN), Regressão por Vetores de Suporte (SVR) e Quadrados Mínimos por Máquina de Vetor de Suporte (LS-SVM), onde conseguiram um limite de detecção abaixo de 1 ppm. Os autores concluíram que a metodologia é rápida, sensível e robusta, além de apresentar um baixo custo.

De Souza et al. (2014) utilizaram o MIR equipado com o acessório HATR para quantificar óleo lubrificante residual no diesel S-10. Foram realizadas 87 adulterações na faixa de 1,75 a 30% (m/m) as amostras, as quais ficaram armazenadas por 36 horas conforme recomendação da Norma Brasileira (NBR) 15568 em abrigo seco e sem contato com a luz. A metodologia foi validada conforme as recomendações da ASTM E1655-05 e da União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC). A metodologia apresentou um limite de detecção e de quantificação de 0,14 e 0,41% (m/m) respectivamente, com valor de R^2 igual a 0,9989, Erro Quadrático Médio de Validação Cruzada (RMSECV) e RMSEP 0,37 e 0,40 % (m/m), respectivamente.

Szydlowska-Czerniak (2007) utilizou a espectroscopia MIR e PLS para a determinação de fosfolipídios na faixa de concentração de 1,5 a 120 mg/ml em óleos de canola em vários estágios de processo de produção. A validação da metodologia foi feita através dos valores de RMSEC e RMSEP, os quais forneceram valores entre 0,77 a 2,35 % (m/m) e 0,85 a 2,79 % (m/m), respectivamente. Eles demonstraram que a metodologia proposta pode ser utilizada para determinar a concentração de fosfolipídios em qualquer etapa da produção, a qual ainda apresenta as vantagens de ser rápida, sem preparo de amostras ou uso de reagente tóxico, além de ser uma metodologia não destrutiva.

Kassouf et al. (2014) utilizaram a espectroscopia MIR para classificar os plásticos de acordo com o polímero utilizado na sua produção. Os plásticos estudados foram tereftalato de polietileno, polietileno, polipropileno, poliestireno biodegradável e polilactida. Os autores utilizaram a ferramenta quimiométrica Análise de Componentes Independentes (ICA) para a classificação de acordo com sua matéria-prima e o resultado obtido no modelo de classificação foi de 100% de classificação correta.

Mazivila et al. (2015a) utilizaram a espectrometria MIR para a classificação das blendas biodiesel/diesel de acordo com a oleaginosa e o álcool utilizados na sua produção. Os biodieseis estudados foram: etílico de Soja, etílico e metílico de pinhão manso, etílico e metílico de óleo de fritura usado. Foram utilizados 21 lotes diferentes para cada tipo de biodiesel e a ferramenta quimiométrica utilizada foi o PLS1-DA. Todos os modelos

construídos conseguiram identificar a mistura de interesse, além de apresentarem baixos valores de RMSEC, RMSECV, RMSEP.

Javidnia et al. (2013) utilizaram FT-MIR para a classificação dos óleos de Milho, Canola, girassol, soja, azeite e manteiga, os métodos quimiométricos empregados foram: PLS-DA, PLS-DA por intervalos (iPLS-DA), Análise das Variáveis Canônicas Extendidas (ECVA) e ECVA por intervalos (iECVA). O melhor modelo de classificação foi utilizando o iECVA onde todas as amostras foram classificadas corretamente e o pior modelo de classificação foi utilizando o PLS-DA onde todas as amostras dos óleos de Canola e Milho foram classificadas erroneamente e somente parte das amostras de manteiga foram classificadas corretamente.

2 OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Empregar a Espectroscopia no infravermelho Médio aliada ao método quimiométrico de Análise Discriminante por Quadrados Mínimos Parciais (PLS-DA) para identificar os óleos de Andiroba, Prímula e Rosa Mosqueta autênticos dos adulterados com oleaginosas de menor valor econômico.

Empregar metodologias analíticas e valida-las para classificar os óleos autênticos de Andiroba, Prímula e Rosa Mosqueta dos adulterados com oleaginosas de menor valor econômico empregando Espectroscopia no Infravermelho Médio aliada ao método quimiométrico de Análise Discriminante por Quadrados Mínimos Parciais (PLS-DA) e analisar quais as bandas principais responsáveis pela classificação dos óleos autênticos dos adulterados.

2.1.2 Objetivos Específicos

Construir modelos PLS-DA para classificar os óleos autênticos de Andiroba, Prímula e Rosa Mosqueta através de dados de espectroscopia MIR;

Validar os modelos PLS-DA desenvolvidos, através dos valores da tabela de confusão: Verdadeiros Positivos e Negativos, Falsos Positivos e Negativos, Sensibilidade, Especificidade, Eficiência e Coeficiente de correlação de Matthew's, para modelo construído.

Utilizar o gráfico de Variáveis Importantes na Projeção (VIP) para determinar quais as bandas que foram mais importantes na discriminação das classes do modelo PLS-DA.

3 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

3.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras dos óleos de Prímula e Rosa Mosqueta foram adquiridas na loja virtual Mundo dos Óleos (www.mundodosoleos.com), e as do óleo de Andiroba em uma cooperativa da cidade Ilha de Marajó, no estado do Pará. As amostras dos óleos de Soja, Milho e Girassol usadas como adulterantes foram adquiridas em estabelecimentos comerciais da cidade de Uberlândia e região.

3.2 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS ADULTERADAS

As amostras adulteradas foram preparadas pela adição de quantidades do óleo adulterantes nas concentrações de 5, 10, 15 e 20% (m/m), sendo obtidas 24 amostras para cada concentração por óleo adulterante, totalizando assim 96 amostras para cada um dos óleos adulterantes. Para os óleos de Prímula e Rosa Mosqueta as adulterações foram feitas utilizando os óleos de Soja, Milho e Girassol, no caso do óleo de Andiroba somente Soja e Milho. Após a preparação das soluções elas foram armazenadas em vidro âmbar, local fresco, seco e longe da luz direta do sol.

Para a construção dos modelos PLS-DA as amostras foram separadas aleatoriamente para compor os conjuntos de treinamento e teste, conforme a Tabela 6.

Tabela 6 – Número de amostras adulteradas em cada modelo PLS-DA

Misturas	Calibração	Teste
Andiroba com 5% Soja	16	8
Andiroba com 10% Soja	16	8
Andiroba com 15% Soja	16	8
Andiroba com 20% Soja	16	8
Andiroba com 5% Milho	16	8
Andiroba com 10 Milho	16	8
Andiroba com 15% Milho	16	8
Andiroba com 20% Milho	16	8
Prímula com 5% Soja	16	8
Prímula com 10% Soja	16	8
Prímula com 15% Soja	16	8
Prímula com 20% Soja	16	8
Prímula com 5% Milho	16	8
Prímula com 10% Milho	16	8
Prímula com 15% Milho	16	8
Prímula com 20% Milho	16	8
Prímula com 5% Girassol	16	8
Prímula com 10% Girassol	16	8
Prímula com 15% Girassol	16	8
Prímula com 20% Girassol	16	8
Rosa Mosqueta 5% Soja	16	8
Rosa Mosqueta 10% Soja	16	8
Rosa Mosqueta 15% Soja	16	8
Rosa Mosqueta 20% Soja	16	8
Rosa Mosqueta 5% Milho	16	8
Rosa Mosqueta 10% Milho	16	8
Rosa Mosqueta 15% Milho	16	8
Rosa Mosqueta 20% Milho	16	8
Rosa Mosqueta 5% Girassol	16	8
Rosa Mosqueta 10% Girassol	16	8
Rosa Mosqueta 15% Girassol	16	8
Rosa Mosqueta 20% Girassol	16	8

Fonte: O autor.

3.3 AQUISIÇÃO DOS ESPECTROS

Os espectros MIR foram obtidos com 5 replicatas na região de $4.000\text{-}600\text{ cm}^{-1}$ com resolução de 4 cm^{-1} , 16 varreduras, utilizando um Espectrômetro de Infravermelho Médio modelo Spectrum Two (Perkin Elmer, Inc.), equipado com o dispositivo amostrador Horizontal por Reflectância Total Atenuada (HATR) (Pike Technologies, Inc.) com cristal de ZnSe. Na limpeza do cristal foi utilizado o álcool isopropílico (QUIMEX, grau de pureza PA) e algodão, sendo monitorada através do programa PerkinElmer Spectrum versão 3.10 usando a comparação com a medida anterior do branco.

3.4 CONSTRUÇÃO DOS MODELOS PLS-DA

As matrizes de dados iniciais para os modelos PLS-DA dos óleos de Andiroba, Prímula e Rosa Mosqueta foram constituídas de 232, 328 e 328 espectros respectivamente com 2401 variáveis por espectro. Os pré-processamento e a construção dos modelos PLS-DA foram realizadas usando os programas MATLAB versão 7.5 (Mathworks) e PLS_TOOLBOX versão 7.5, (Eigenvector Technologies).

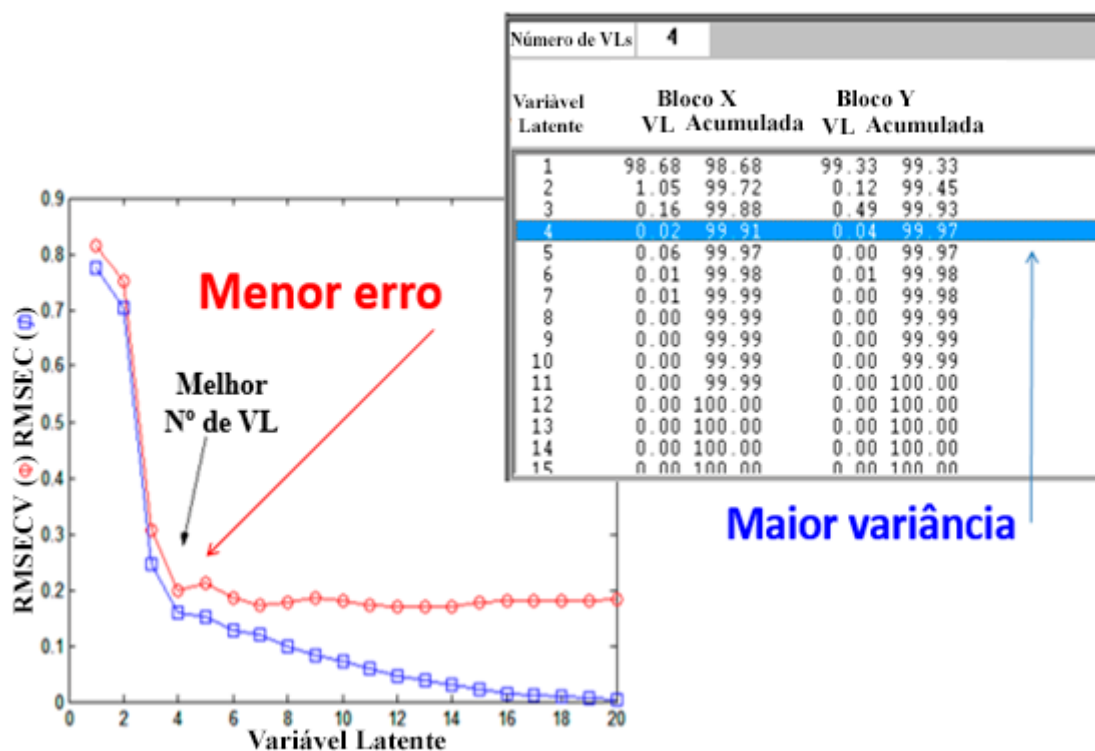
Para o desenvolvimento dos modelos de classificação PLS-DA, inicialmente é escolhido o melhor pré-processamento de dados. Foram testados os seguintes métodos: centrar na média, Variação Normal Padrão (SNV), primeira derivada, e a combinação entre eles: SNV + primeira derivada, primeira derivada + SNV, SNV + centrar na média, centrar na média + SNV, primeira derivada + centrar na média e por fim centrar na média + primeira derivada.

Após o pré-processamento, o conjunto de dados da matriz **X** inicial foi dividido em dois subconjuntos, um para o treinamento (calibração) e outro para teste (validação). Durante a construção do modelo PLS-DA a partir da matriz de dados **X** do conjunto de treinamento foi escolhido o melhor número de Variáveis Latentes (VL) através do critério de menor RMSECV na análise conjunta da variância acumulada em **X** e **y**, conforme é ilustrado na Figura 16.

Neste caso foram escolhidas 4 VL devido ao menor valor de RMSECV e ao alto valor de variância acumulada nos blocos **X** 99,91% e **y** 99,91%. Um outro possível número de Variáveis Latentes seria 7 com 99,99% de variância acumulada no bloco **X**, porém com essa alta capturância possivelmente estão sendo capturados além de

informações úteis ruídos dos espectros o que não é de interesse para a construção dos modelos multivariados.

Figura 16 – Parâmetros utilizados para a escolha do número de Variáveis Latentes



Fonte: O autor.

Após a construção do modelo PLS-DA é feita a análise de *outliers* através do gráfico de influência (*leverage*) versus resíduos de Student (*Q Residuals*), em seguida a qualidade dos modelos construídos é avaliada através da tabela de confusão e os parâmetros RMSEC, RMSECV e RMSEP. O parâmetro VIP também foi analisado e associado aos grupos funcionais responsáveis pela separação das classes de amostras autênticas e adulteradas.

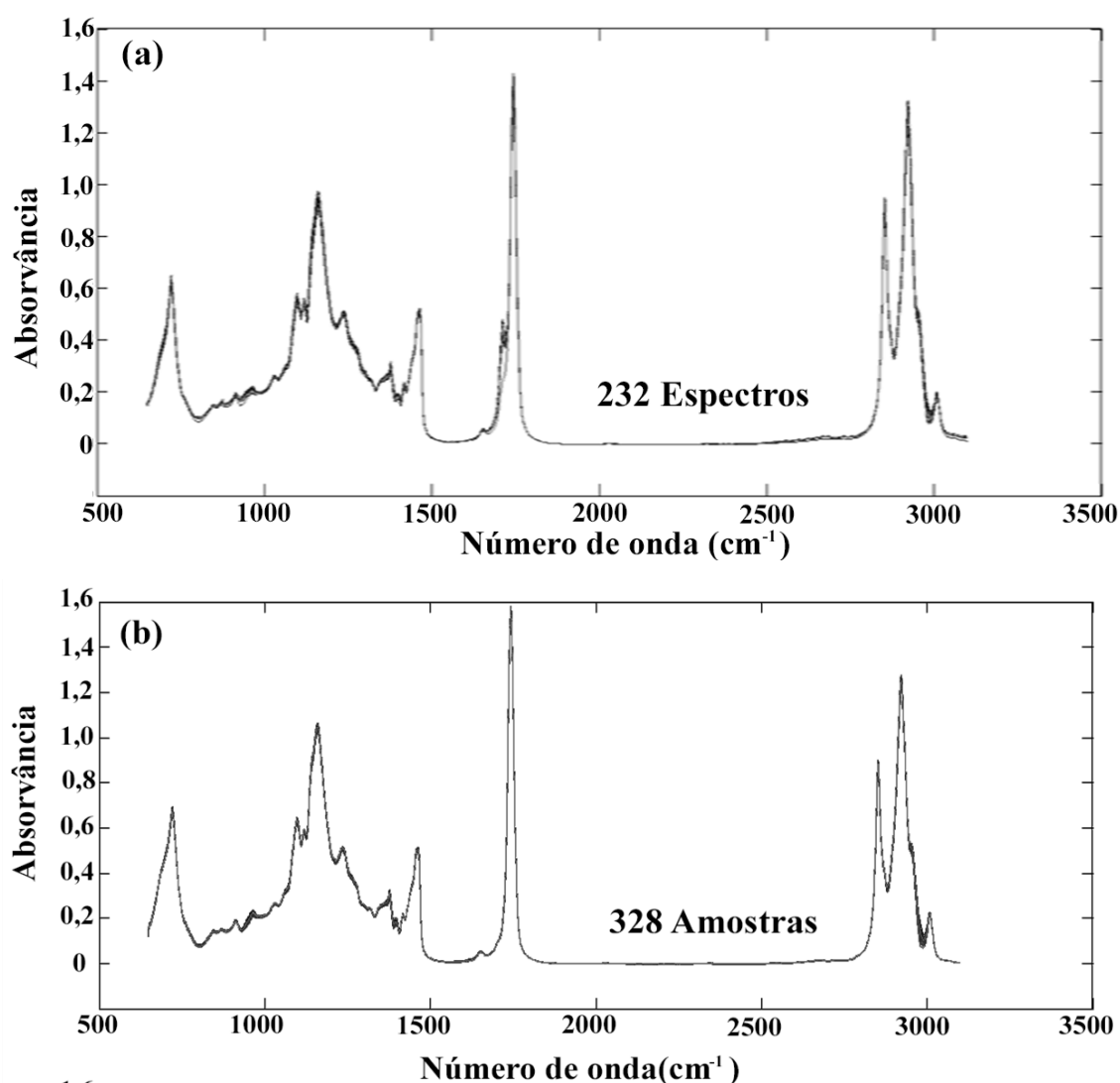
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

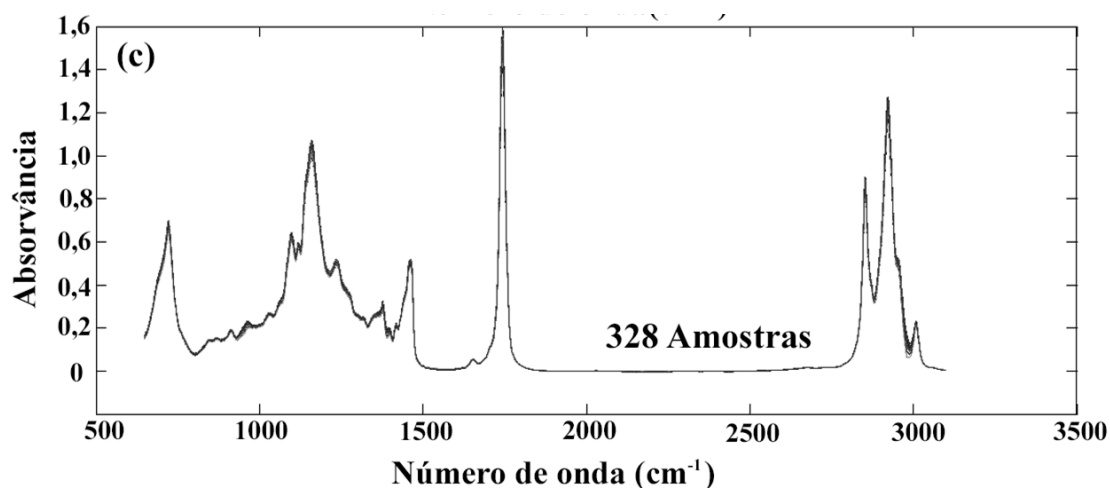
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 ESPECTROS MIR DAS AMOSTRAS DOS ÓLEOS VEGETAIS

A Figura 17 mostra os espectros dos óleos de Andiroba (a), Prímula (b) e Rosa Mosqueta (c) autênticos e adulterados. Nota-se que todos os espectros, independentemente do tipo de óleo, adulterante ou teor apresentam grande semelhança entre si. As diferenças nas composições químicas de cada óleo não causam uma grande diferença visual no espectro MIR das amostras autênticas e das adulteradas, dificultando assim a distinção entre cada uma das amostras.

Figura 17 – Espectros das amostras autênticas e adulteradas com diferentes óleos em diferentes concentrações, óleo de (a) Andiroba, (b) Prímula e (c) Rosa Mosqueta





Os espectros MIR das amostras autênticas e adulteradas possuem essencialmente absorções correspondentes aos modos vibracionais característicos e comuns a maioria dos óleos vegetais com destaque para as regiões apresentadas na Tabela 7.

Tabela 7 – Principais grupos responsáveis pela absorção MIR das amostras de óleos

Número de onda (cm ⁻¹)	Grupos funcionais
3.010 – 3.000	Estiramento de C=CH (<i>cis</i>)
2.960 a 2.855	Vibração de estiramento simétrico e assimétrico C–H de –CH ₃
1.750 - 1.730	Carbonila de éster, C=O
1.675 – 1.645	Estiramento C=C
1.470 - 1.430	Deformação angular de -(CH ₂) _n -
1.390 – 1.370	Deformação angular de CH ₃
1.200 - 730	Impressão Digital (Estiramento e deformação angular de CC, CO e deformação angular CH)
1.160 – 1.150	–CH no plano
1.118 e 1.097	C–O de éster
965	Estiramento de CH=CH (<i>trans</i>)
710 - 730	Deformação angular fora do plano –CH=CH

Fonte: adaptado de ROHMAN; CHE MAN (2011, p. 584).

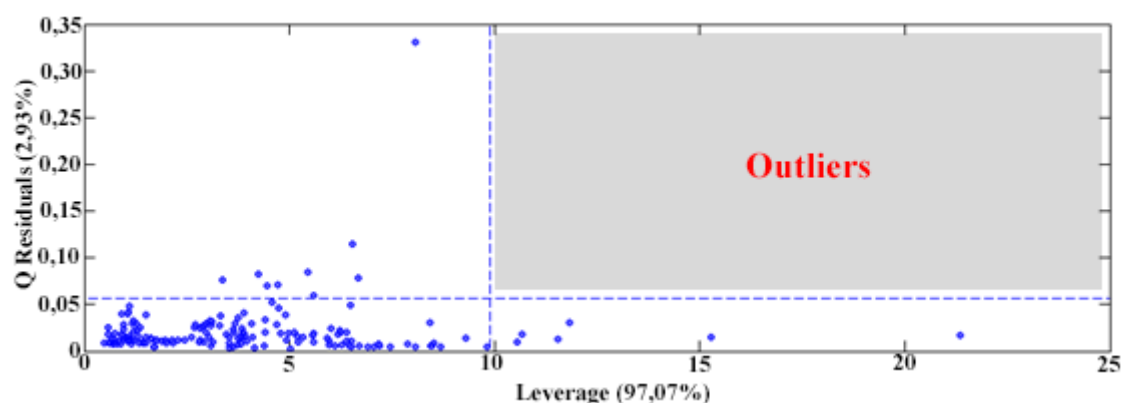
4.2 CLASSIFICAÇÃO MULTIVARIADA POR PLS-DA

4.2.1 Discriminação entre as Amostras Autênticas e Adulteradas do Óleo de Andiroba

No modelo PLS-DA para distinção das amostras dos óleos de Andiroba autênticas e adulteradas, o método de pré-processamento com o melhor desempenho foi o SNV + centrar na média, onde com 4 Variáveis Latentes (VL) apresentou o menor valor de RMSECV (0,2119) e altos valores de variância acumulada nos blocos **X**(97,07%) e **y**(68,64%). Nestas condições foi feita a avaliação da presença de *outliers* através do gráfico de influência (*leverage*) versus resíduos de Student (*Q Residuals*), onde as amostras fora do limite de confiança de 95% (região destacada na Figura 18) são consideradas amostras anômalas.

Conforme observa-se na Figura 18 nenhuma das amostras do conjunto de treinamento encontram-se na região fora do limite de confiança de 95%, concluindo assim que não houve amostras anômalas no conjunto de treinamento.

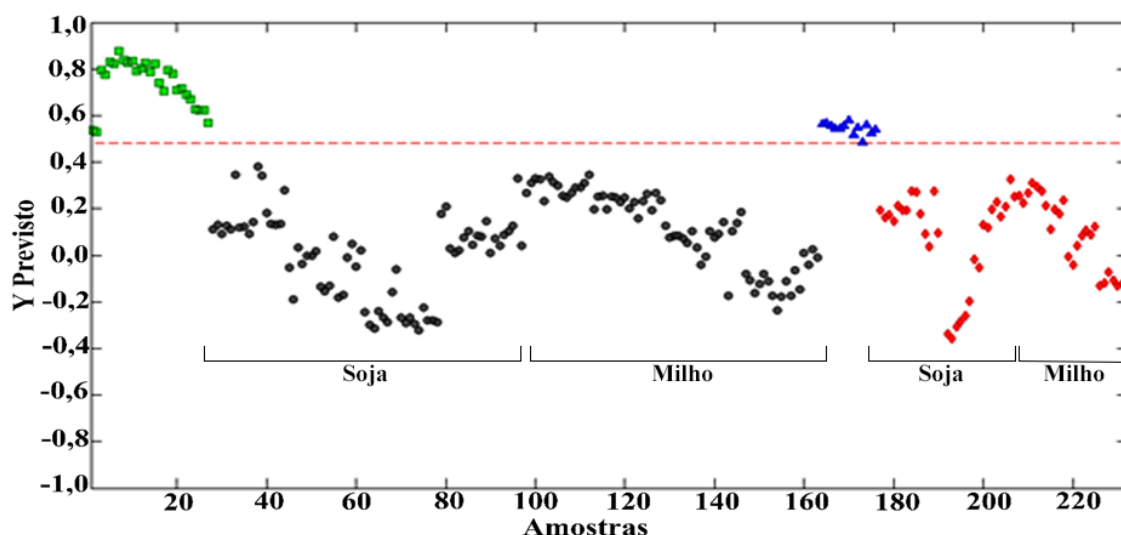
Figura 18 – Gráfico de resíduos espectral versus *leverage* em nível de significância de 95% para modelo de classificação PLS-DA de amostras do óleo de Andiroba autêntico e adulterados com óleos de Soja e Milho



Através do gráfico de previsão (Figura 19) observa-se que o modelo construído com 4 Variáveis Latentes classificou corretamente as amostras de óleo de Andiroba autêntico (■ e ▲ para os conjuntos de treinamento e validação, respectivamente), uma vez que todas estavam acima do limite *threshold*, das amostras de óleo de Andiroba adulterado contendo óleo de Soja ou Milho (● e ◆ para os conjuntos de treinamento e

validação, respectivamente), as quais ficaram todas abaixo da linha limite estabelecida. Os valores de RMSEC e RMSEP para o modelo PLS-DA foram 0,2081 e 0,2675 respectivamente, indicando assim a ausência de um sobreajuste no modelo de classificação, pois os valores de erros obtidos foram próximos (LI et al., 2012).

Figura 19 – Estimativas do modelo PLS-DA para a classificação de amostras autênticas e adulteradas do óleo de Andiroba



■ Amostras de Treinamento: Óleo de Andiroba Autêntico, ● Amostras de Treinamento: Óleo de Andiroba adulterado, ▲ Amostras Teste: Óleo de Andiroba Autêntico, ◆ Amostras Teste: Óleo de Andiroba adulterado.

Observa-se no gráfico de previsão (Figura 19) a existência de grupos de amostras distribuídos ao longo do gráfico. Ao analisar esses grupos, nota-se a diminuição sistemática nos valores de Y previstos conforme se varia de grupo, essa diminuição dos valores de Y deve-se ao aumento da concentração dos adulterantes e consequentemente diminuindo a semelhança do perfil espectral das amostras adulteradas em relação as amostras autênticas. Após um decaimento os grupos voltam a apresentar valores de Y previstos próximos a linha de separação seguido novamente de um decaimento nos valores de Y isso deve-se ao fato da troca do óleo adulterante e ao aumento de sua concentração.

Através da análise da Figura 19 nota-se que todas as amostras autênticas do óleo de Andiroba em ambos os conjuntos de treinamento e teste foram classificadas corretamente, indicando assim que o modelo construído foi capaz de distinguir as amostras autênticas das amostras adulteradas.

Uma outra forma de avaliar o modelo PLS-DA é através dos parâmetros presentes na Tabela de Confusão apresentados na Tabela 8. Ao analisar os valores de sensibilidade, especificidade, precisão e eficiência observa-se que todos foram iguais a 100% tanto para o conjunto de treinamento quanto para o conjunto de teste, indicando assim que houve uma excelente separação entre as amostras dos óleos de Andiroba autênticos (Classe 1) e adulterados (Classe 0). O valor obtido pelo Coeficiente de Correlação de Matthew's (MCC) foi igual a + 1, ou seja, todas as amostras foram classificadas corretamente de acordo com suas classes, portanto o modelo de classificação PLS-DA construído foi capaz de realizar uma classificação 100% correta, ou seja, classificou todas as amostras corretamente independentemente da classe da amostra.

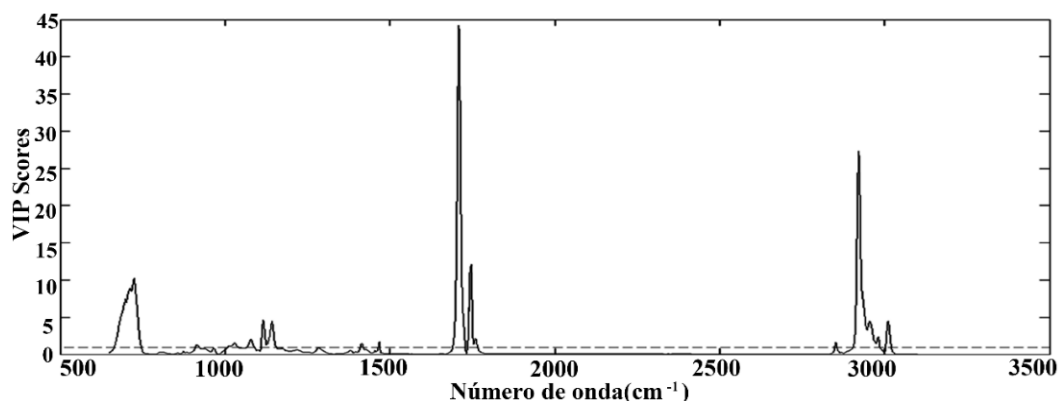
Tabela 8 – Parâmetros de classificação obtidos do modelo PLS-DA para classificação dos óleos de Andiroba autênticos dos adulterados com Soja e Milho

Parâmetros	Conjunto de treinamento	Conjunto de teste
Taxa de Falso Positivo e Negativo (%)	0	0
Taxa de Verdadeiro Positivo e Negativo (%)	100	100
Sensibilidade (%)	100	100
Especificidade (%)	100	100
Exatidão (%)	100	100
Eficiência (%)	100	100
Coeficiente correlação de Matthew's	1	1

A análise discriminante é baseada no perfil dos espectros MIR das amostras autênticas e adulteradas do óleo de Andiroba. A partir do estudo das Variáveis Importantes na Projeção (VIP) foi possível identificar as variáveis que tiveram mais influência para a discriminação entre os óleos. Estas variáveis estão representadas na Figura 20; onde as variáveis que apresentam Scores VIP superiores a 1 são consideradas importantes para o modelo PLS-DA (ALMEIDA et al., 2013).

Observa-se que as regiões que apresentaram importância para a classificação das amostras foram: Deformação angular fora do plano --CH=CH ($730\text{--}710\text{ cm}^{-1}$), Carbonila de éster ($1.750\text{--}1.730\text{ cm}^{-1}$), vibrações de estiramento simétrico e assimétrico C–H de CH_3 ($2.960\text{--}2.855\text{ cm}^{-1}$) e estiramento de ligação *cis*-C=CH ($3.000\text{--}3.010\text{ cm}^{-1}$).

Figura 20 – Variável importante na projeção (VIP) do modelo PLS-DA para classificação do óleo de Andiroba autêntico e adulterado com óleos de Soja e Milho



Podemos concluir que a diferença espectral entre as amostras dos óleos de Andiroba autênticos e os adulterados com óleos de Soja, e Milho são associadas principalmente as diferentes composições e proporções dos ácidos graxos presentes em seus óleos conforme se observa na Tabela 9.

Tabela 9 Composição química do óleo de Andiroba e de outros óleos vegetais (m/m) %

Ácidos Graxos	Óleo de Andiroba	Óleo de Soja	Óleo de Milho
Ácido Mirístico (14:0)	0 – 1,7
Ácido Palmítico (16:0)	27	9,5 – 13,3	8 – 16,5
Ácido Palmitoleico (16:1)	1
Ácido Esteárico (18:0)	7	3,0 – 6,1	0 – 4,5
Ácido Oleico (18:1)	49	17,0 – 28,5	20 – 42,2
Ácido Linoleico (18:2)	16	53,7	44,7
Ácido Alfa-Linolênico (18:3)	...	5,5 – 11,0	0 – 1,5
Ácido Eicosanóicos (20:0)	...	0 – 0,6	0 – 0,7

Fonte: (FAO, 2007).

Ao analisar a Tabela 9 observa-se que o óleo de Andiroba apresenta uma maior concentração do Ácido Palmítico quando comparado aos demais óleos. Assim, em uma

mesma massa teremos uma maior quantidade de moléculas de ácidos graxos no óleo de Andiroba e, conseqüentemente um maior número de carbonilas. Este fato é refletido no alto valor da Carbonila de éster ($1.750\text{--}1.730\text{ cm}^{-1}$) no gráfico de VIP (Figura 20).

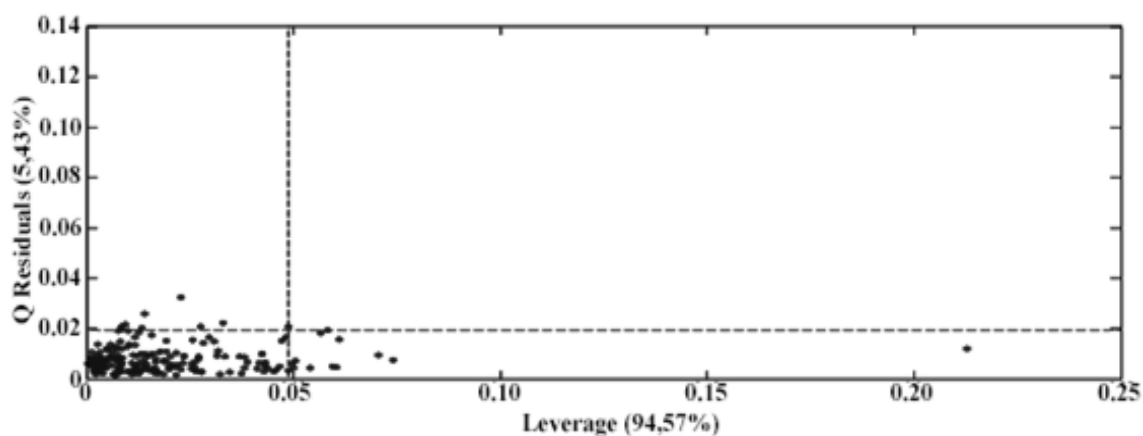
O óleo de Andiroba apresenta menos insaturações quando comparado aos demais óleos, pois possui menores concentrações dos ácidos Linoleico e Linolênico, o que também se observa pelo seu valor de Índice de Iodo (Tabela 4). Isso se reflete no gráfico de VIP (Figura 20) nas regiões de $730\text{--}710\text{ cm}^{-1}$ ($-\text{CH}=\text{CH}$) e $3.000\text{--}3.010\text{ cm}^{-1}$ (*cis*- $\text{C}=\text{CH}$) onde apresenta altos valores de VIP Scores.

4.2.2 Discriminação entre as Amostras Autênticas e Adulteradas do Óleo de Prímula

Para o modelo de classificação PLS-DA de discriminação entre os óleos de Prímula autênticos e adulterados com óleos de Soja, Milho e Girassol o melhor pré-processamento de dados foi o SNV + centrar na média. Durante a construção do modelo PLS-DA foram utilizadas 4 VL uma vez que apresentou o menor valor de RMSECV (0,1128) e uma grande variância acumulada dos blocos **X** (94,57%) e **y** (89,60%). Em seguida foi feita a avaliação da presença de amostras anômalas (*outliers*) através do gráfico de influência (*leverage*) versus resíduos de Student (*Q Residuals*) (Figura 21), onde foi observado que nenhuma das amostras ficaram na região acima do limite de 95% simultaneamente de *leverage* e *Q Residuals* e conseqüentemente nenhuma das amostras do conjunto de treinamento foi considerada anômala.

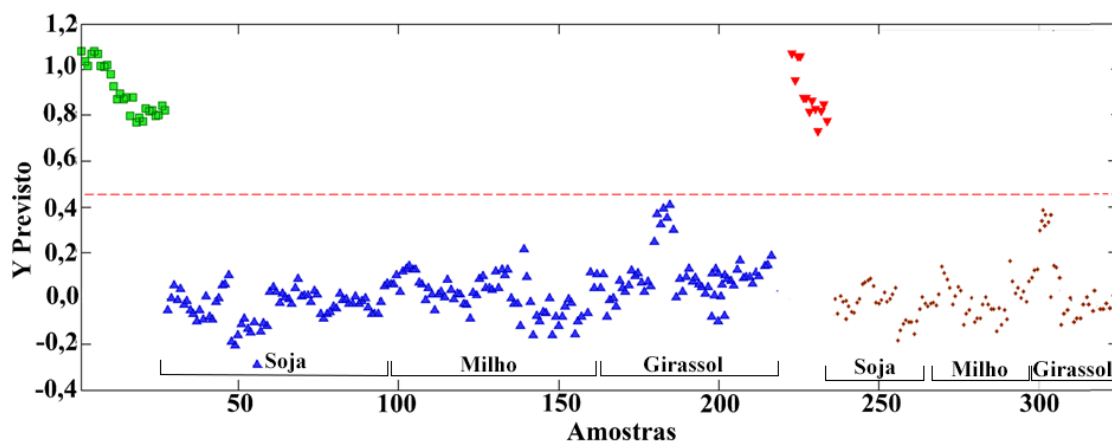
Os valores de RMSEC e RMSEP para o modelo PLS-DA foram 0,1121 e 0,1143 respectivamente, indicando assim a ausência de um sobreajuste no modelo de classificação, pois os valores de erros obtidos foram são próximos um do outro (LI et al., 2012).

Figura 21 – Gráfico de resíduos espectral versus *leverage* em nível de significância de 95% para modelo de classificação PLS-DA de amostras do óleo de prímula autêntico e adulterados com óleos de Soja, Milho e Girassol.



O modelo PLS-DA construído a partir de 4 Variáveis Latentes foi capaz de classificar corretamente as amostras dos óleos de Prímula autênticas tanto do conjunto de treinamento quanto do conjunto de teste (acima da linha de *threshold*) das adulteradas com óleos de Soja, Milho e Girassol em ambos os conjuntos (abaixo da linha de *threshold*), conforme se observa no gráfico de predição (Figura 22).

Figura 22 – Estimativas do modelo PLS-DA para a classificação de amostras autênticas e adulteradas do óleo de Prímula



■ Amostras de Treinamento: Óleo de Prímula Autêntico, ▲ Amostras de Treinamento: Óleo de Prímula adulterado, ▼ Amostras Teste: Óleo de Prímula Autêntico, ◆ Amostras Teste: Óleo de Prímula adulterado.

Através da análise do gráfico de predição é possível notar que existe um grupo de amostras na calibração e previsão que ficaram mais próximos a linha de separação do que as demais amostras, essas amostras pertencem ambas ao grupo do óleo de Prímula adulterado com 5% de óleo de Girassol. Além disso, ao longo do gráfico de predição é observado um decaimento dos valores Y de previstos seguidos de um aumento, o decaimento é devido a maior concentração dos óleos adulterantes, enquanto que o aumento é devido a troca do óleo adulterante que é seguido novamente de uma queda nos valores de predição devido novamente a maior adição de adulterantes diminuindo assim a similaridade entre as amostras.

Através da análise da Figura 22 nota-se que todas as amostras autênticas do óleo de Prímula em ambos os conjuntos de treinamento e teste foram classificadas corretamente, indicando assim que o modelo construído foi capaz de distinguir as amostras autênticas das amostras adulteradas independentemente do óleo empregado como adulterante.

A avaliação do modelo foi feita através dos parâmetros contidos na tabela de confusão (Tabela 10). Durante a análise dos valores de sensibilidade, especificidade, precisão e eficiência é observado que todos valores foram iguais a 100% tanto para o conjunto de treinamento quanto para o conjunto de teste, indicando assim que houve uma excelente separação entre as amostras dos óleos de Prímula autênticos (Classe 1) e adulterados (Classe 0). O valor obtido pelo Coeficiente de Correlação de Matthew's (MCC) foi igual a + 1, ou seja, todas as amostras foram classificadas corretamente de acordo com suas classes, portanto o modelo de classificação PLS-DA construído foi capaz de realizar uma classificação 100% correta, ou seja, classificou todas as amostras corretamente independentemente da classe da amostra.

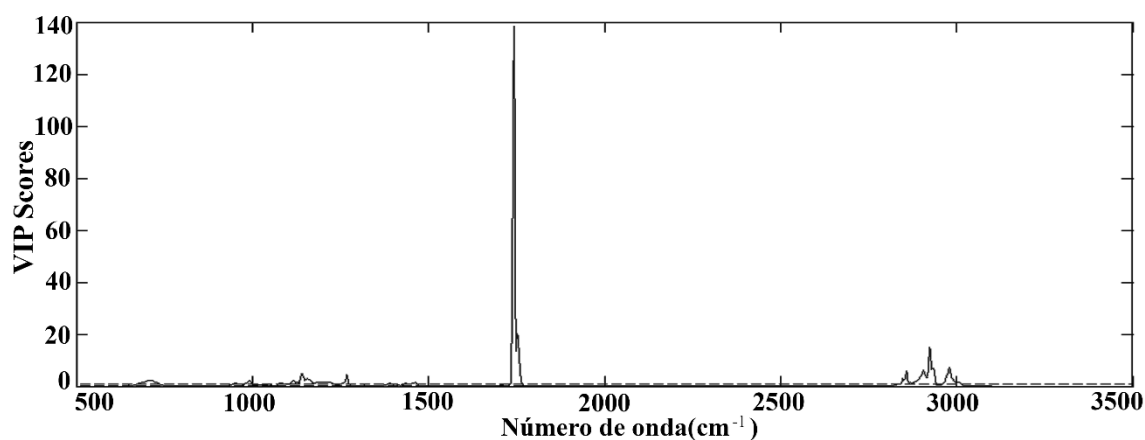
Tabela 10 – Parâmetros de classificação obtidos do modelo PLS-DA para classificação dos óleos de Prímula autênticos dos adulterados com Soja, Milho e Girassol

Parâmetros	Conjunto de treinamento	Conjunto de teste
Taxa de Falso Positivo e Negativo (%)	0	0
Taxa de Verdadeiro Positivo e Negativo (%)	100	100
Sensibilidade (%)	100	100
Especificidade (%)	100	100
Exatidão (%)	100	100
Eficiência (%)	100	100
Coeficiente correlação de Matthew's	1	1

A partir do estudo das Variáveis Importantes na Projeção (VIP) foi possível identificar as variáveis que tiveram mais influência para a discriminação entre os óleos. Estas variáveis estão representadas na Figura 23.

Observa-se que as regiões que apresentaram importância para a distinção das amostras foram: Carbonila de éster ($1.750\text{-}1.730\text{ cm}^{-1}$), vibrações de estiramento simétrico e assimétrico C–H de CH_3 ($2.960\text{-}2.855\text{ cm}^{-1}$) e estiramento de ligação *cis*-C=CH ($3.000\text{--}3.010\text{ cm}^{-1}$), onde a banda de carbonila de éster apresentou um valor de 140 e se destacou dentre as demais variáveis, indicando assim que a diferença entre o óleo de Prímula dos demais óleos deve-se principalmente ao grupo carbonila de éster. Ou seja, podemos concluir que a diferença espectral entre as amostras dos óleos de Prímula autênticos e os adulterados com óleos de Soja, Milho e Girassol são associadas principalmente as diferentes composições e proporções dos ácidos graxos presentes em seus óleos.

Figura 23 – Variável importante na projeção (VIP) do modelo PLS-DA para classificação do óleo de Prímula autêntico e adulterado com óleos de Soja, Milho e Girassol



A diferença espectral entre as amostras dos óleos de Prímula autênticos e os adulterados com óleos de Soja, Milho e Girassol são associadas principalmente as diferentes composições e proporções dos ácidos graxos presentes em seus óleos conforme mostra a Tabela 11.

Tabela 11 Composição química do óleo de Prímula e de outros óleos vegetais (m/m) %

Ácidos Graxos	Óleo de Prímula	Óleo de Soja	Óleo de Milho	Óleo de Girassol
Ácido Mirístico (14:0)	0 – 1,7	...
Ácido Palmítico (16:0)	6,31	9,5 – 13,3	8 – 16,5	4,9 – 8,0
Ácido Palmitoleico (16:1)
Ácido Esteárico (18:0)	1,88	3,0 – 6,1	0 – 4,5	1,3 – 7,0
Ácido Oleico (18:1)	6,93	17,0 – 28,5	20 – 42,2	13 – 40
Ácido Linoleico (18:2)	73,88	53,7	44,7	17 – 85
Ácido α -Linolênico (18:3)	...	5,5 – 11,0	0 – 1,5	0 – 0,5
Ácido γ -Linolênico (18:3)	9,24
Ácido Eicosanóicos (20:0)	0,31	0 – 0,6	0 – 0,7	0,1 – 4,0

Fonte: (FAO, 2007; MONTSERRAT-DE LA PAZ et al., 2014)

Ao analisar a Tabela 11 observa-se que o óleo de Prímula apresenta uma maior concentração dos ácidos Linoleico e Ácido γ -Linolênico, quando comparado aos demais óleos. Assim, em uma mesma massa teremos um menor número de moléculas de ácidos graxos no óleo de Prímula e, conseqüentemente um menor número de carbonilas. Sendo

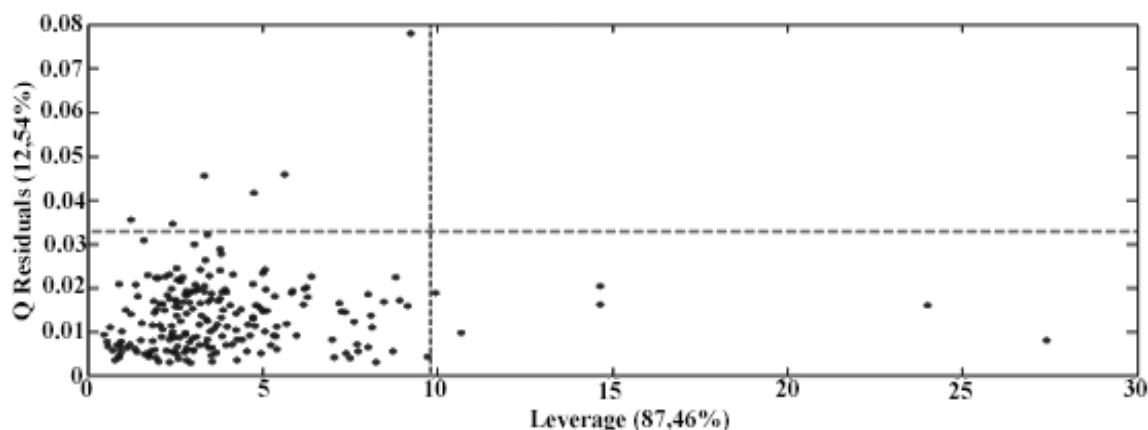
este fato é refletido no alto valor da Carbonila de éster ($1.750\text{-}1.730\text{ cm}^{-1}$) do gráfico de VIP (Figura 23).

O óleo de Prímula apresenta mais insaturações quando comparado aos demais óleos, pois possui maiores concentrações dos ácidos Linoleico e Linolênico, o que também se observa pelo seu valor de Índice de Iodo (Tabela 4). Isso também se reflete no gráfico de VIP nas regiões de $730\text{-}710\text{ cm}^{-1}$ ($-\text{CH}=\text{CH}$) e $3.000\text{--}3.010\text{ cm}^{-1}$ (*cis*- $\text{C}=\text{CH}$) onde apresenta altos valores de VIP Scores.

4.2.3 Discriminação Entre as Amostras Autênticas e Adulteradas do Óleo de Rosa Mosqueta

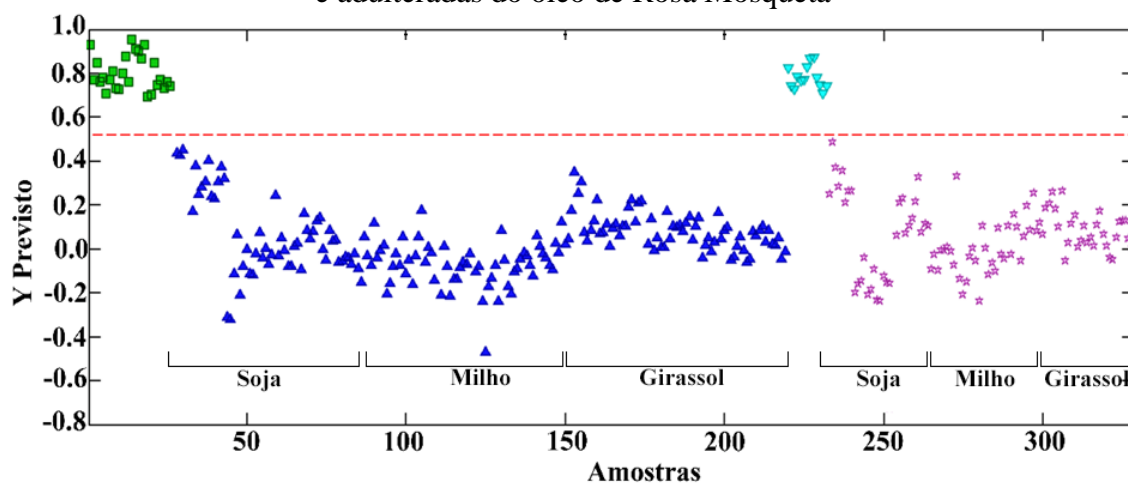
O melhor pré-processamento para o modelo PLS-DA de discriminação entre os óleos de Rosa Mosqueta autênticos e adulterados com óleos de Soja, Milho e Girassol foi o SNV + centrar na média. Durante a construção do modelo PLS-DA foram utilizadas 4 VL uma vez que apresentou o menor valor de RMSECV (0,1649) e uma grande variância acumulada dos blocos **X** (87,46%) e **y** (74,57%). Nestas condições foi feita a avaliação da presença de *outliers* através do gráfico de influência (*leverage*) versus resíduos de Student (*Q Residuals*) (Figura 24), onde foi constatado que nenhuma das amostras ficaram acima do limite de 95% simultaneamente de *leverage* e *Q Residuals* e consequentemente nenhuma das amostras do conjunto de treinamento foi considerada anômala.

Figura 24 – Gráfico de resíduos espectral versus *leverage* em nível de significância de 95% para modelo de classificação PLS-DA de amostras do óleo de Rosa Mosqueta autêntico e adulterados com óleos de Soja, Milho e Girassol



O modelo PLS-DA construído a partir de 4 Variáveis Latentes foi capaz de classificar corretamente as amostras dos óleos de Rosa Mosqueta autênticas tanto do conjunto de treinamento quanto do conjunto de teste (acima da linha de *threshold*) das adulteradas com óleos de Soja, Milho e Girassol em ambos os conjuntos (abaixo da linha de *threshold*), conforme se observa no gráfico de predição (Figura 25).

Figura 25 – Estimativas do modelo PLS-DA para a classificação de amostras autênticas e adulteradas do óleo de Rosa Mosqueta



■ Amostras de Treinamento: Óleo de Rosa Mosqueta Autêntico, ▲ Amostras de Treinamento: Óleo de Rosa Mosqueta adulterado, ▼ Amostras Teste: Óleo de Rosa Mosqueta Autêntico, ★ Amostras Teste: Óleo de Rosa Mosqueta adulterado.

Através da análise do gráfico de predição é possível notar que existe um grupo de amostras na calibração e previsão que ficaram mais próximos a linha de separação do que as demais amostras, essas amostras pertencem ambas ao grupo do óleo de Rosa Mosqueta adulterada com 5% de óleo de Soja. Além disso, ao longo do gráfico de predição é observado um decaimento dos valores Y de previstos seguidos de um aumento. O decaimento é devido a maior concentração dos óleos adulterantes, enquanto que o aumento é devido a troca do óleo adulterante que é seguido novamente de uma queda nos valores de predição devido novamente a maior adição de adulterantes diminuindo assim a similaridade entre as amostras.

Através da análise da Figura 25 nota-se que todas as amostras autênticas do óleo de Rosa Mosqueta em ambos os conjuntos de treinamento e teste foram classificadas corretamente, indicando assim que o modelo construído foi capaz de distinguir as

amostras autênticas das amostras adulteradas independentemente do óleo empregado como adulterante.

Os parâmetros de avaliação do modelo foram organizados também na tabela de confusão (Tabela 12). Ao analisar os valores de sensibilidade, especificidade, precisão e eficiência observa-se que todos foram iguais a 100% tanto para o conjunto de treinamento quanto para o conjunto de teste, indicando assim que houve uma excelente separação entre as amostras dos óleos de Rosa Mosqueta autênticos (Classe 1) e adulterados (Classe 0). O valor obtido pelo Coeficiente de Correlação de Matthew's (MCC) foi igual a + 1, ou seja, todas as amostras foram classificadas corretamente de acordo com suas classes, portanto o modelo de classificação PLS-DA construído foi capaz de realizar uma classificação 100% correta, ou seja, classificou todas as amostras corretamente independentemente da classe da amostra.

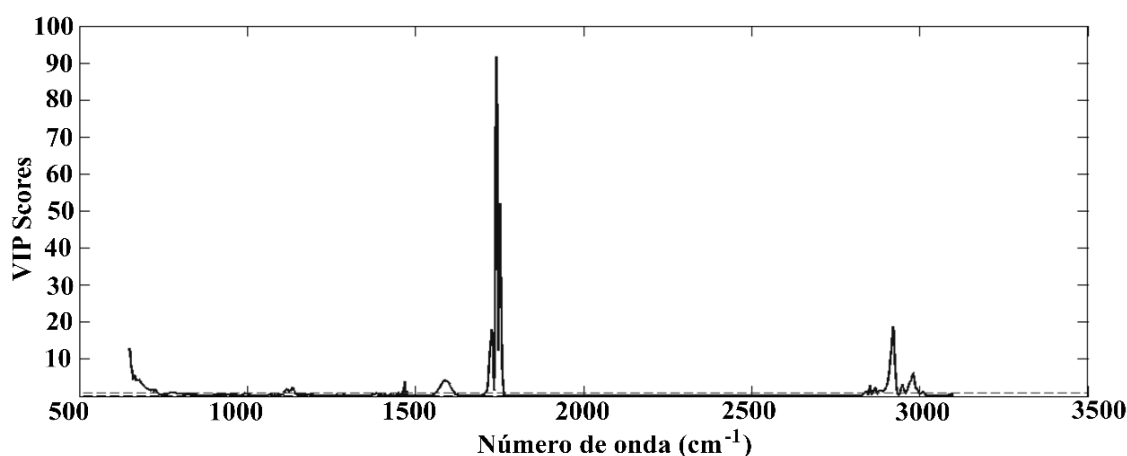
Tabela 12 – Parâmetros de classificação obtidos do modelo PLS-DA para classificação dos óleos de Rosa Mosqueta autênticos do adulterados com Soja, Milho e Girassol

Parâmetros	Conjunto de treinamento	Conjunto de teste
Taxa de Falso Positivo e Negativo (%)	0	0
Taxa de Verdadeiro Positivo e Negativo (%)	100	100
Sensibilidade (%)	100	100
Especificidade (%)	100	100
Exatidão (%)	100	100
Eficiência (%)	100	100
Coeficiente correlação de Matthew's	1	1

A partir do estudo das Variáveis Importantes na Projeção (VIP) foi possível identificar as variáveis que tiveram mais influência para a discriminação entre os óleos. Estas variáveis estão representadas na Figura 26.

Observa-se que as regiões que apresentaram importância para a distinção das amostras foram: Deformação angular fora do plano --CH=CH ($730\text{--}710\text{ cm}^{-1}$), Carbonila de éster ($1.750\text{--}1.730\text{ cm}^{-1}$), vibrações de estiramento simétrico e assimétrico C--H de CH_3 ($2.960\text{--}2.855\text{ cm}^{-1}$) e estiramento de ligação *cis*- C=CH ($3.000\text{--}3.010\text{ cm}^{-1}$).

Figura 26 –Variável importante na projeção (VIP) do modelo PLS-DA para classificação do óleo de Rosa Mosqueta autêntico e adulterado com óleos de Soja, Milho e Girassol



A diferença espectral entre as amostras dos óleos de Rosa Mosqueta autênticos e os adulterados com óleos de Soja, Milho e Girassol são associadas principalmente as diferentes composições e proporções dos ácidos graxos presentes em seus óleos conforme mostra a Tabela 13.

Tabela 13 Composição química do óleo de Rosa Mosqueta e de outros óleos vegetais (m/m) %

Ácidos Graxos	Óleo de Rosa Mosqueta	Óleo de Soja	Óleo de Milho	Óleo de Girassol
Ácido Mirístico (14:0)	0 – 1,7	...
Ácido Palmítico (16:0)	5,26	9,5 – 13,3	8 – 16,5	4,9 – 8,0
Ácido Estearico (18:0)	3,13	3,0 – 6,1	0 – 4,5	1,3 – 7,0
Ácido Oleico (18:1)	22,14	17,0 – 28,5	20 – 42,2	13 – 40
Ácido Linoleico (18:2)	48,84	53,7	44,7	17 – 85
Ácido α -Linolênico (18:3)	20,65	5,5 – 11,0	0 – 1,5	0 – 0,5
Ácido Eicosanóicos (20:0)	...	0 – 0,6	0 – 0,7	0,1 – 4,0

Fonte: (FAO, 2007; ERCISLI, 2007)

Através da análise da Tabela 13 observa-se que o óleo de Rosa Mosqueta apresenta uma maior concentração do ácido α -Linolênico quando comparado aos demais óleos. Assim, em uma mesma massa teremos uma menor quantidade de moléculas de ácidos graxos no óleo de Rosa Mosqueta e, conseqüentemente um menor número de

carbonilas. Portanto, este fato é refletido no alto valor da Carbonila de éster ($1.750\text{-}1.730\text{ cm}^{-1}$) do gráfico de VIP (Figura 26).

O óleo de Rosa Mosqueta apresenta, mais insaturações quando comparado aos demais óleos, pois possui maiores concentrações dos ácidos Linoleico e Linolênico, o que também se observa pelo seu valor de Índice de Iodo (Tabela 4). Isso também se reflete no gráfico de VIP na região de (*cis*-C=CH) onde apresenta altos valores de VIP Scores.

5 CONCLUSÕES

5 CONCLUSÕES

Neste trabalho, foi possível classificar os óleos vegetais autênticos de Andiroba, Prímula e Rosa Mosqueta através de metodologias baseadas na utilização da técnica de espectroscopia MIR aliada ao método quimiométrico PLS-DA.

As metodologias analíticas propostas demonstraram ser eficientes na classificação dos óleos vegetais, apresentando os resultados máximos da Tabela de Confusão ou seja 100% de classificação correta independentemente do tipo e da concentração do óleo adulterante utilizado. Também foi analisado os principais grupos funcionais responsáveis pela classificação dos óleos autênticos dos adulterados através do gráfico de VIP, onde conclui-se que a principal diferença entre os espectros MIR dos óleos autênticos dos adulterados ocorre principalmente na região da Carbonila de éster, C=O ($1.750 - 1.730 \text{ cm}^{-1}$) seguida das regiões de Vibração de estiramento simétrico e assimétrico C-H de $-\text{CH}_3$ ($2960 - 2885 \text{ cm}^{-1}$) e Estiramento de C=CH (*cis*) ($3010 - 3000 \text{ cm}^{-1}$).

As metodologias desenvolvidas podem vir a ser empregadas na indústria e em órgãos de controle de qualidade com o intuito de identificar falsificações destes produtos, uma vez que é uma técnica rápida, de amostragem direta, não destrutiva garantindo assim a integridade das amostras que poderão ser novamente analisadas, além de utilizar um volume reduzido da amostra (cerca de 0,5 mL) por análise. Uma outra vantagem da técnica é que existem equipamentos de infravermelho médio portáteis, neste sentido as análises podem ser feitas no próprio local após a produção *in-situ*.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- ABIHPEC - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE HIGIENE PESSOAL, PERFUMARIA E COSMÉTICOS. **Anuário 2012**. São Paulo: Public Projetos Editoriais. 2012. Disponível em: < https://www.abihpec.org.br/wp-content/uploads/2012/12/ABIHPEC_2012_internet.pdf>. Acesso em: 12 maio 2015.
- ALMEIDA, M. R.; FIDELIS, C. H.; BARATA, L. E.; POPPI, R. J. Classification of Amazonian rosewood essential oil by Raman spectroscopy and PLS-DA with reliability estimation. **Talanta**, Londres, v. 117, p. 305-311, dez. 2013.
- ALVES, J. O.; BORGES NETO, W.; MITSUTAKE, H.; ALVES, P. S.; AUGUSTI, R. Extra virgin (EV) and ordinary (ON) olive oils: distinction and detection of adulteration (EV with ON) as determined by direct infusion electrospray ionization mass spectrometry and chemometric approaches. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, Chichester, v. 24, n. 13, p. 1875-80, jul. 2010.
- ALVES, L. R.; ZINLY, A. A.; SILVA, D. K. P.; VIEIRA, R. M.; TOLOTTI, C. O.; OLIVEIRA, B. A. G.; OLIVEIRA, S. G.; MIRANDA, J. F. **Análise sobre o mercado de soja elaborada pelo Cepea** [S.l.], 2015. Disponível em < http://www.cepea.esalq.usp.br/agromensal/2015/06_junho/Soja.htm> Acesso em: 27 julho. 2015.
- ANTONIASSI, R.; FREITAS, S. C., **Matérias-primas - Agência Embrapa** [S.l.], 2013. Disponível em: < http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/tecnologia_de_alimentos/arvore/CONT000gc8yujq302wx5ok01dx9lcm4gg3zt.html#> Acesso em: 27 julho. 2015.
- AMBROZIN, A. R. P.; LEITE, A. C.; BUENO, F. C.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B.; BUENO, O. C.; DA SILVA, M. F. D. G. F.; PAGNOCCA, F. C.; HEBLING, M. J. A.; BACCI JUNIOR, M. Limonoids from Andiroba oil and *Cedrela fissilis* and their insecticidal activity. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 17, n. 3, 2006.
- ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Resolução RDC nº 270, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, DF, 23 set. 2005. Disponível em: < http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/82d8d2804a9b68849647d64600696f00/RDC_n_270.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 12 maio 2015.
- APETREI, C. Novel method based on polypyrrole-modified sensors and emulsions for the evaluation of bitterness in extra virgin olive oils. **Food Research International**, Barking v. 48, n. 2, p. 673-680, jun. 2012.
- BALABIN, R. M.; SMIRNOV, S. V. Melamine detection by mid- and near-infrared (MIR/NIR) spectroscopy: a quick and sensitive method for dairy products analysis including liquid milk, infant formula, and milk powder. **Talanta**, Londres, v. 85, n. 1, p. 562-568, jul. 2011.

BALANCE AND DISEAS. **Evening primrose oil supplement** [S.l], 2014. Disponível em: <<http://www.dbreexportsindia.com/product-categories/evening-primerose-oil-oenothera-biennis-oil.html>>. Acesso em: 28 julho 2015.

BARBOSA, L. C. A. **Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos**. Viçosa: Ed. UFV, 2007. 189 p.

BARKER, M.; RAYENS, W. Partial least squares for discrimination. **Journal of Chemometrics**, Chichester, v. 17, n. 3, p. 166-173, mar. 2003.

BEEBE, K.R.; PELL, R.J.; SEASHOLTZ, M.B. **Chemometrics: a practical guide**. 1 ed. New York: Wiley-Interscience, 1998.

BELCH, J. J.; HILL, A. Evening primrose oil and borage oil in rheumatologic conditions. **The American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 71, n. 1, p. 352S-356S, jan. 2000.

BERRUETA, L. A.; ALONSO-SALCES, R. M.; HÉBERGER, K. Supervised pattern recognition in food analysis. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1158, n. 1-2, p. 196-214, jul. 2007.

CABRAL, E. C.; DA CRUZ, G. F.; SIMAS, R. C.; B. SANVIDO, G.; DE V. GONÇALVES, L.; LEAL, R. V. P.; DA SILVA, R. C. F.; DA SILVA, J. C. T.; BARATA, L. E. S.; DA CUNHA, V. S.; DE FRANÇA, L. F.; DARODA, R. J.; DE SÁ, G. F.; EBERLIN, M. N. Typification and quality control of the Andiroba (*Carapa guianensis*) oil via mass spectrometry fingerprinting. **Analytical Methods**, [S.l], v. 5, n. 6, p. 1385, mar. 2013.

CASALE, M.; OLIVERI, P.; CASOLINO, C.; SINELLI, N.; ZUNIN, P.; ARMANINO, C.; FORINA, M. LANTERI, S. Characterisation of PDO olive oil *Chianti Classico* by non-selective (UV-visible, NIR and MIR spectroscopy) and selective (fatty acid composition) analytical techniques. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 712, p. 56-63, jan. 2012.

CHONG, I. G.; JUN, C. H. Performance of some variable selection methods when multicollinearity is present. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, Amsterdam, v. 78, n. 1-2, p. 103-112, jul. 2005.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO(Brasil). **Semente de Andiroba Outubro de 2013**. Brasília, DF. 2013. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_10_17_13_39_58_conjuntura_Andiroba_outubro_2013.pdf>. Acesso em: 12 maio 2015.

CORREA, M. P. **Dicionário de Plantas Uteis do Brasil e Exóticas Cultivadas**. Brasília: IBDF, 1984. 6 v.

CORREIA, P. R. M.; FERREIRA, M. M. C. Reconhecimento de padrões por métodos não supervisionados: explorando procedimentos quimiométricos para tratamento de dados analíticos. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 481-487, abr. 2007.

- DE LA MATA, P.; DOMINGUEZ-VIDAL, A.; BOSQUE-SENDRA, J. M.; RUIZ-MEDINA, A.; CUADROS-RODRÍGUEZ, L.; AYORA-CAÑADA, M. J. Olive oil assessment in edible oil blends by means of ATR-FTIR and chemometrics. **Food Control**, Guildford, v. 23, n. 2, p. 449-455, fev. 2012.
- DE OLIVEIRA, L. C.; BLAISE, M. I. Extratos e óleos naturais vegetais funcionais. **Cosmetics & Toiletries**, São Paulo, v. 7, n. 2, p.30-37, mar/abr. 1995.
- DA SILVA, C. E.; VANDENABEELE, P.; EDWARDS, H. G.; DE OLIVEIRA, L. F. NIR-FT-Raman spectroscopic analytical characterization of the fruits, seeds, and phytotherapeutic oils from rosehips. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Heidelberg, v. 392, n. 7-8, p. 1489-1496, dez. 2008.
- DE SOUZA, L. M.; MITSUTAKE, H.; GONTIJO, L. C.; BORGES NETO, W. Quantification of residual automotive lubricant oil as an adulterant in Brazilian S-10 diesel using MIR spectroscopy and PLS. **Fuel**, Londres, v. 130, p. 257-262, ago. 2014.
- 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. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 666, n. 1-2, p. 23-31, maio 2010.
- ERCISLI, S. Chemical composition of fruits in some rose (*Rosa* spp.) species. **Food Chemistry**, Londres, v. 104, n. 4, p. 1379-1384, 2007.
- EVENING PRIMROSE OIL, **Benefits & Information, History**, 2014. Disponível em: <<http://www.evening-primrose-oil.com/news/tag/evening-primrose-oil/>>. Acesso em: 28 julho 2015.
- FAO - ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A ALIMENTAÇÃO E A AGRICULTURA. **Food Labelling**. 5 ed. Roma: Organização das Nações Unidas, 2007. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/codex/publications/Booklets/Labelling/Labelling_2007_EN.pdf>. Acesso em: 12 maio 2015.
- FERRAZ, I. D. K.; CAMARGO, J. L. C.; SAMPAIO, P. T. B. Andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.; *Carapa procera*, D.C) Meliaceae. In: **Manual de sementes da Amazônia**. Manaus: INPA, 2003. n. 1. Disponível em: <https://www.inpa.gov.br/sementes/manuais/fasciculo1_carapa.pdf>. Acesso em: 12 maio 2015.
- FRANCO, D.; PINELO, M.; SINEIRO, J.; NÚÑEZ, M. J. Processing of *Rosa rubiginosa*: Extraction of oil and antioxidant substances. **Bioresource Technology**, Essex, v. 98, n. 18, p. 3506-3512, 2007.
- GONÇALVES, R. P.; MARÇO, P. H.; VALDERRAMA, P. Thermal edible oil evaluation by UV-Vis spectroscopy and chemometrics. **Food Chemistry**, Londres, v. 163, p. 83-86, nov. 2014.

- GONZALEZ-SARRIAS, A.; LARROSA, M.; GARCIA-CONESA, M. T.; TOMAS-BARBERAN, F. A.; ESPIN, J. C. Nutraceuticals for older people: facts, fictions and gaps in knowledge. **Maturitas**, Amsterdam, v. 75, n. 4, p. 313-334, ago. 2013.
- GUILLÉN, M. A. D.; RUIZ, A. High resolution ^1H nuclear magnetic resonance in the study of edible oils and fats. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 12, n. 9, p. 328-338, set. 2001.
- HUDSON, B. J. F. Evening Primrose (*Oenothera* Spp.) Oil and Seed. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 61, n. 3, p. 540-543, mar. 1984.
- INSAUSTI, M.; GOMES, A. A.; CRUZ, F. V.; PISTONESI, M. F.; ARAUJO, M. C.; GALVAO, R. K.; PEREIRA, C. F.; BAND, B. S. Screening analysis of biodiesel feedstock using UV-vis, NIR and synchronous fluorescence spectrometries and the successive projections algorithm. **Talanta**, Londres, v. 97, p. 579-583, ago. 2012.
- JAVIDNIA, K.; PARISH, M.; KARIMI, S.; HEMMATEENEJAD, B. Discrimination of edible oils and fats by combination of multivariate pattern recognition and FT-IR spectroscopy: a comparative study between different modeling methods. **Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc**, Amsterdã v. 104, p. 175-81, Mar 2013.
- KASSOUF, A.; MAALOUY, J.; RUTLEDGE, D. N.; CHEBIB, H.; DUCRUET, V. Rapid discrimination of plastic packaging materials using MIR spectroscopy coupled with independent components analysis (ICA). **Waste Management**, Oxford, v. 34, n. 11, p. 2131-2138, nov. 2014.
- KAZAZ, S.; BAYDAR, H.; ERBAS, S. Variations in chemical compositions of *Rosa damascena* Mill, and *Rosa canina* L. fruits. **Czech Journal of Food Sciences**, Prague, v. 27, n. 3, p. 178-184, 2009.
- LANKMAYR, E.; MOCAK, J.; SERDT, K.; BALLA, B.; WENZI, T.; BANDONIENE, D.; GFRERER, M.; WAGNER, S. Chemometrical classification of pumpkin seed oils using UV-Vis, NIR and FTIR spectra. **Journal of Biochemical and Biophysical Methods**, Amsterdam, v. 61, n. 1-2, p. 95-106, out. 2004.
- LAROUSSI-MEZGHANI, S.; VANLOOT, P.; MOLINET, J.; DUPUY, N.; HAMMAMI, M.; GRATI-KAMOUN, N.; ARTAUD, J. Authentication of Tunisian virgin olive oils by chemometric analysis of fatty acid compositions and NIR spectra. Comparison with Maghrebian and French virgin olive oils. **Food Chemistry**, Londres, v. 173, p. 122-132, abr. 2015.
- LI, X.; XIE, C.; HE, Y.; QIU, Z.; ZHANG, Y. Characterizing the moisture content of tea with diffuse reflectance spectroscopy using wavelet transform and multivariate analysis. **Sensors**, Basel, v. 12, n. 7, p. 9847-9861, jul. 2012.
- LUSH COSMÉTICOS FRESCOS FEITOS A MÃO, **Óleo de Prímula orgânica extraído a frio** [S.l], 2014. Disponível em: <<https://www.lush.com.br/ingredientes/oleo-de-primula-organica-extraido-a-frio>>. Acesso em: 28 julho 2015.

- MAHADY, G. B. Global Harmonization of Herbal Health Claims. **The Journal of Nutrition**, Rockville, v. 131, n. 3, p. 1120S-1123S, mar. 2001.
- MASSART, D. L.; VANDEGINSTE, B. G. M.; BUYDENS, L. M. C.; JONG, S. D.; LEWI, P. J.; SMEYERS-VERBEKE, J. **Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Part A**. Amsterdam: Elsevier, 1998. v. 20, 867 p.
- MASSART, D. L.; VANDEGINSTE, B. G. M.; BUYDENS, S. J.; LEWI, P. J.; SMEYERS-VERBEKE. **Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Part B**. Amsterdam: Elsevier, 1997. v. 20, 713 p.
- MAZIVILA, S. J.; DE SANTANA, F. B.; MITSUTAKE, H.; GONTIJO, L. C.; SANTOS, D. Q.; NETO, W. B. Discrimination of the type of biodiesel/diesel blend (B5) using mid-infrared spectroscopy and PLS-DA. **Fuel**, Londres, v. 142, p. 222-226, fev. 2015a.
- MAZIVILA, S. J.; GONTIJO, L. C.; SANTANA, F. B. D.; MITSUTAKE, H.; SANTOS, D. Q.; BORGES NETO, W. Fast Detection of Adulterants/Contaminants in Biodiesel/Diesel Blend (B5) Employing Mid-Infrared Spectroscopy and PLS-DA. **Energy & Fuels**, Washington, v. 29, n. 1, p. 227-232, jan. 2015b.
- MEHMOOD, T.; LILAND, K. H.; SNIPEN, L.; SÆBØ, S. A review of variable selection methods in Partial Least Squares Regression. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, Amsterdam, v. 118, p. 62-69, ago. 2012.
- MELLAGE, C. **Nutricosmetics-decoding the convergence of beauty and healthcare**. 2008. Trabalho apresentado ao In-Cosmetics, Amsterdam, 2008. Não publicado. Disponível em: < <http://cepigene.ir/component/phocadownload/category/22-cepigene-library.html?download=396:nutricosmetics>>. Acesso em: 12 maio 2015.
- MILLER, J. N.; MILLER, J. C. **Statistics and chemometrics for analytical chemistry**. 6 ed. Essex: Pearson, 2010. 278 p.
- MIRANDA JUNIOR, R. N.; DOLABELA, M. F.; DA SILVA, M. N.; POVOA, M. M.; MAIA, J. G. Antiplasmodial activity of the Andiroba (*Carapa guianensis* Aubl., Meliaceae) oil and its limonoid-rich fraction. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 142, n. 3, p. 679-683, ago. 2012.
- MONTSERRAT-DE LA PAZ, S.; FERNÁNDEZ-ARCHE, M. A.; ÁNGEL-MARTÍN, M.; GARCÍA-GIMÉNEZ, M. D. Phytochemical characterization of potential nutraceutical ingredients from Evening Primrose oil (*Oenothera biennis* L.). **Phytochemistry Letters**, [S.l.], v. 8, p. 158-162, maio 2014.
- MORALES, A.; MARMESAT, S.; RUIZ-MÉNDEZ, M. V.; MÁRQUEZ-RUIZ, G.; VELASCO, J. Formation of oxidation products in edible vegetable oils analyzed as FAME derivatives by HPLC-UV-ELSD. **Food Research International**, v. 62, p. 1080-1086, maio. 2014.

NUNES, C. A. Vibrational spectroscopy and chemometrics to assess authenticity, adulteration and intrinsic quality parameters of edible oils and fats. **Food Research International**, Barking, v. 60, p. 255-261, jun. 2014.

OLSSON, M. E.; GUSTAVSSON, K. E.; ANDERSSON, S.; NILSSON, A.; DUAN, R. D. Inhibition of cancer cell proliferation in vitro by fruit and berry extracts and correlations with antioxidant levels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 24, p. 7264-7271, dez. 2004.

OTTO, M. **Chemometrics: Statistics and Computer application in Analytical Chemistry**. 2 ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2007. 343 p.

PASQUINI, C. Near Infrared Spectroscopy: Fundamentals, Practical Aspects and Analytical Applications. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 14, n. 2, p. 198-219, 2003.

PIKE TECHNOLOGIES. **Installation and User Guide, HATR Horizontal ATR Accessory** [S.l.], 2013. Disponível em: < https://www.piketech.com/files/user-manuals/HATR_Manual.pdf >. Acesso em: 12 maio 2015.

PLANTAS MEDICINAIS FITOTERAPIA. **Rosa de Mosqueta – Rosa Canina** [S.l.], 2010. Disponível em: < <http://www.plantasmedicinaisfitoterapia.com/plantas-medicinais-rosa-de-mosqueta.html> >. Acesso em: 28 julho 2015.

POTENCIAL DE DIVERSIFICAÇÃO DA INDÚSTRIA QUÍMICA BRASILEIRA RELATÓRIO 4 - **Cosméticos e higiene pessoal** [S.l.], 2014. Disponível em: < http://www.bndes.gov.br/SiteBNDES/export/sites/default/bndes_pt/Galerias/Arquivos/produtos/download/aep_fep/chamada_publica_FEPprospec0311_Quimicos_Relat4_cosmesticos.pdf >. Acesso em: 27 julho 2015.

ROHMAN, A.; CHE MAN, Y. B. The use of Fourier transform mid infrared (FT-MIR) spectroscopy for detection and quantification of adulteration in virgin coconut oil. **Food Chemistry**, Londres, v. 129, n. 2, p. 583-588, nov. 2011.

ROHMAN, A.; RIYANTO, S.; SASI, A. M.; YUSOF, F. M. The use of FTIR spectroscopy in combination with chemometrics for the authentication of red fruit (*Pandanus conoideus Lam*) oil from sunflower and palm oils. **Food Bioscience**, [S.l.], v. 7, p. 64-70, set. 2014.

SEEDS GALLERY. **Sementes de Rosa silvestre ou Rosa mosqueta (Rosa canina)** [S.l.], 2012. Disponível em: < <http://www.seeds-gallery.com/pt/sementes-rosa-silvestre.html> > Acesso em: 28 julho 2015.

SILVA, C. L. M. **Obtenção de ésteres etílicos a partir da transesterificação do óleo de Andiroba com etanol**. 2005. 78 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2005.

SINELLI, N.; CERRETANI, L.; EGIDIO, V. D.; BENDINI, A.; CASIRAGHI, E. Application of near (NIR) infrared and mid (MIR) infrared spectroscopy as a rapid tool

to classify extra virgin olive oil on the basis of fruity attribute intensity. **Food Research International**, Barking, v. 43, n. 1, p. 369-375, jan. 2010.

SINGH, S. P.; SINGH, D. Biodiesel production through the use of different sources and characterization of oils and their esters as the substitute of diesel: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [S.l.], v. 14, n. 1, p. 200-216, jan. 2010.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; STANLEY, R. C. **Fundamentos de Química Analítica**, Tradução da 8 ed. norte-americana. São Paulo, Ed. Cengage Learning, 2007. 999 p.

SZYDLOWSKA-CZERNIAK, A. MIR spectroscopy and partial least-squares regression for determination of phospholipids in rapeseed oils at various stages of technological process. **Food Chemistry**, Londres, v. 105, n. 3, p. 1179-1187, 2007.

TAAMALLI, A.; ARRÁEZ ROMÁN, D.; ZARROUK, M.; SEGURA-CARRETERO, A.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A. Classification of 'Chemlali' accessions according to the geographical area using chemometric methods of phenolic profiles analysed by HPLC-ESI-TOF-MS. **Food Chemistry**, Londres, v. 132, n. 1, p. 561-566, maio 2012.

TORMIN, T. F.; CUNHA, R. R.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. Fast simultaneous determination of BHA and TBHQ antioxidants in biodiesel by batch injection analysis using pulsed-amperometric detection. **Talanta**, v. 99, p. 527-31, set. 2012.

VERAS, G.; GOMES A. A.; DA SILVA, A. C.; DE BRITO, A. L. B.; DE ALMEIDA, P. B. A.; DE MEDEIROS, E. P. Classification of biodiesel using NIR spectrometry and multivariate techniques. **Talanta**, Londres, v. 83, n. 2, p. 565-568, dez. 2010.

WISE, B. M.; GALLAGHER, N. B.; BRO, R.; SHAVER, J. M.; WINDIG, W.; KOCH, R. S. **PLS_Toolbox 4.0 for use with MATLAB™**. Wenatchee: Eigenvector Research Inc., 2006. 414 p.

WU, Y. W.; SUN, S. Q.; ZHOU, Q.; LEUNG, H. W. Fourier transform mid-infrared (MIR) and near-infrared (NIR) spectroscopy for rapid quality assessment of Chinese medicine preparation Honghua Oil. **Journal of Pharmaceutical Biomedical Analysis**, Amsterdam, v. 46, n. 3, p. 498-504, fev. 2008.

XU, L.; CAI, C. B.; CUI, H. F.; YE, Z. H.; YU, X. P. Rapid discrimination of pork in Halal and non-Halal Chinese ham sausages by Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy and chemometrics. **Meat Science**, Barking, v. 92, n. 4, p. 506-510, dez. 2012.