



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**INSTITUTO DE QUÍMICA**

**CAIO CESAR SOUZA MACHADO**

**METODOLOGIA DE DETECÇÃO DE ADULTERAÇÕES EM ÓLEO DE  
MACADÂMIA USANDO ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO MÉDIO E  
FERRAMENTAS QUIMIOMÉTRICAS**

**UBERLÂNDIA/MG**  
**JULHO/2018**

CAIO CESAR SOUZA MACHADO

**METODOLOGIA DE DETECÇÃO DE ADULTERAÇÕES EM ÓLEO DE  
MACADÂMIA USANDO ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO MÉDIO E  
FERRAMENTAS QUIMIOMÉTRICAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Graduação em Química Industrial do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Química Industrial.

Área de Concentração: Química Analítica  
Orientador: Prof. Dr. Waldomiro Borges Neto

UBERLÂNDIA/MG

JULHO/2018

CAIO CESAR SOUZA MACHADO

**METODOLOGIA DE DETECÇÃO DE ADULTERAÇÕES EM ÓLEO DE  
MACADÂMIA USANDO ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO MÉDIO E  
FERRAMENTAS QUIMIOMÉTRICAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Graduação em Química Industrial do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Química Industrial.

Área de Concentração: Química Analítica  
Orientador: Prof. Dr. Waldomiro Borges Neto

COMISSÃO EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Waldomiro Borges Neto  
Universidade Federal de Uberlândia

---

Prof. Dr. Eduardo de Faria Franca  
Universidade Federal de Uberlândia

---

Dra. Letícia Maria de Souza  
Universidade Federal de Uberlândia

Uberlândia, 12 de julho de 2018

## **Agradecimentos**

Agradeço a Deus pelo dom da vida. À UFU e ao IQUFU, pelo apoio e por fornecer toda a estrutura física e tecnológica para a realização deste trabalho.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Waldomiro Borges Neto, por ter aceitado a minha entrada em seu grupo de pesquisa, pela orientação, pelos conhecimentos passados e pelo apoio durante este período.

Ao CNPq, pela concessão da Bolsa de Iniciação Científica durante a realização deste trabalho.

Aos meus pais, Sueli e Ademar, por todo esforço e tempo que desprenderam em função da minha educação e formação. Ao meu irmão, Luís Gustavo, que viveu tudo isso antes de mim e sempre me ajudou com conselhos valiosos. A toda minha família que sempre acreditou em mim.

À minha namorada, Mari, por todo o companheirismo nos momentos bons e ruins, e pela ajuda e apoio durante todo o período de minha formação.

Aos professores, funcionários e colegas do Instituto de Química, que contribuíram direta ou indiretamente para a minha formação acadêmica.

## RESUMO

O óleo de macadâmia extravirgem, obtido através da árvore *Macadamia integrifolia*, consiste em uma mistura complexa de ácidos graxos e caracteriza-se como um produto natural de qualidades sensoriais e nutracêuticas benéficas ao ser humano. Possui alto valor econômico, sendo, portanto, alvo de adulterações, principalmente pela adição de óleos de menor valor agregados. Assim, cria-se a necessidade de desenvolvimento de métodos capazes de quantificar estes óleos adulterantes em óleo de macadâmia extravirgem. Neste trabalho, foram determinados os teores dos óleos mineral e de girassol em misturas binárias com óleo de macadâmia extravirgem, com a concentração variando de 5,0 a 31,5% (m/m). Os instrumentos utilizados foram o Espectrômetro FT-MIR Spectrum Two da Perkin Elmer equipado com um Acessório de Reflectância Total Atenuada (ATR) de seleneto de zinco (ZnSe) com as seguintes configurações: número de onda de 600 a 4000  $\text{cm}^{-1}$  com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$  e 16 varreduras por espectro, bem como o método de calibração multivariada por Quadrados Mínimos Parciais (PLS). Os modelos obtidos foram avaliados através do erro quadrático médio de calibração e previsão (RMSEC e RMSEP, respectivamente). Apresentaram RMSECs de 0,3363 e 0,3592; RMSEPs de 0,4927 e 0,8034. Os métodos desenvolvidos, além de se mostrarem eficientes, também são rápidos e detectam as adulterações em concentrações menores que as descritas na literatura. Os resultados foram satisfatórios, com perspectivas de que os métodos desenvolvidos neste trabalho possam ser utilizados como uma alternativa viável no controle de qualidade de óleo de macadâmia extravirgem.

**PALAVRAS-CHAVE:** óleo vegetal, FT-MIR, calibração multivariada, PLS.

## ABSTRACT

The extra virgin macadamia oil, obtained through the *Macadamia integrifolia* tree, consists of a complex mixture of fatty acids and is characterized as a natural product of differentiated sensorial qualities. It has high economic value, being, therefore, subject to adulterations, mainly by the addition of lower value-added oils. Thus, it is necessary to develop new methods capable of quantifying these adulterants oils in extra virgin macadamia oil. In this work, mineral and sunflower oils contents were determined in binary mixtures with extra virgin macadamia oil, with concentration ranging from 1.0 to 31.5% (w/w). The instruments used were the Perkin Elmer Spectrum Two FT-MIR Spectrometer equipped with an Attenuated Total Reflectance accessory (ATR) of zinc selenide (ZnSe) with the follow configurations: wave number from 600 to 4000  $\text{cm}^{-1}$  with resolution of 4  $\text{cm}^{-1}$  and 16 scans per spectrum, as well as the multivariate calibration method Partial Least Squares (PLS). The obtained models were evaluated through the mean square error of calibration and prediction (RMSEC and RMSEP, respectively). They presented RMSECs of 0.3363 and 0.3592; RMSEPs of 0.4927 and 0.8034. The methodologies developed, besides being efficient, are also fast and detect adulterations in concentrations lower than those described in the literature. The results were satisfactory, with prospects that the methodologies developed in this work could be used as a viable alternative in the quality control of extra virgin macadamia oil.

**KEY WORDS:** vegetable oil, FT-MIR, multivariate calibration, PLS.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Gráfico representativo da quantidade de lipídios totais em diferentes tipos de nozes e castanhas.....	11
<b>Figura 2.</b> Gráficos quantitativos da composição das nozes e castanhas em relação aos tipos de lipídeos presentes.....	11
<b>Figura 3.</b> (a) Reflectância de radiação no interior do cristal de ZnSe; (b) Acessório de Reflectância total de ZnSe acoplado ao suporte FT-MIR SpectrumTwo (Perkin Elmer).....	12
<b>Figura 4.</b> Representação da construção da Matriz <b>X</b> para modelagem multivariada.....	14
<b>Figura 5.</b> Equações utilizadas para cálculo e desenvolvimento das figuras de mérito .....	20
<b>Figura 6.</b> Espectros obtidos no FT-MIR. Os espectros apresentados referem-se aos óleos puros, sem adulterações. (a) óleo mineral; (b) óleo de girassol e; (c) óleo de macadâmia.....	21
<b>Figura 7.</b> Espectros originais obtidos a partir da análise em triplicata de cada amostra de óleo de macadâmia adulterado com: (a) OM-OM e; (b) OM-OG.....	22
<b>Figura 8.</b> Espectros finais após o corte dos ruídos e correção da linha de base. (a) OM-OM e; (b) OM-OG .....	23
<b>Figura 9.</b> Valores de RMSEC, RMSECV e RMSEP em função do número de variáveis latentes para cada modelo. (a) OM-OM e; (b) OM-OG.....	24
<b>Figura 10.</b> Representação gráfica dos valores previstos versus valores reais. (a) OM-OM e; (b) OM-OG.....	26
<b>Figura 11.</b> Elipses EJCR. (a) OM-OM e; (b) OM-OG.....	28

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Valores de RMSEC, RMSECV, RMSEP e VL para cada modelo construído.....	25
<b>Tabela 2.</b> Significado de correlação dos valores de R .....	27
<b>Tabela 3.</b> Valores das figuras de mérito obtidas em cada um dos modelos construídos.....	28

## LISTA DE SIGLAS

ATR – Acessório de Reflectância Total Atenuada

FT-MIR – Infravermelho médio com transformada de Fourier

OM – Óleo de macadâmia extravirgem

OMin – Óleo mineral puro

OG – Óleo de girassol puro

OM-OM – Óleo de macadâmia adulterado com óleo mineral

OM-OG – Óleo de macadâmia adulterado com óleo de girassol

PLS- Quadrados Mínimos Parciais (do inglês: *Partial Least Square*)

RMSEC- Erro quadrático médio do conjunto de calibração (do inglês: *root mean square error of calibration*)

RMSECV- Erro quadrático médio do conjunto de validação cruzada (do inglês: *root mean square error of cross validation*)

RMSEP- Erro quadrático médio do conjunto de previsão (do inglês: *root mean square error of prediction*)

VL- Variável Latente

## SUMÁRIO

1. Introdução .....	10
1.1. Óleo de Macadâmia .....	10
1.2. Espectroscopia no Infravermelho Médio .....	12
1.3. Quimiometria .....	13
1.3.1. Método dos Quadrados Mínimos Parciais (PLS) .....	13
2. Justificativa .....	17
3. Objetivo Geral .....	18
3.1. Objetivos específicos .....	18
4. Metodologia .....	19
5. Resultados e Discussão .....	21
6. Conclusão .....	29
7. Referência Bibliográficas .....	30

## 1. INTRODUÇÃO

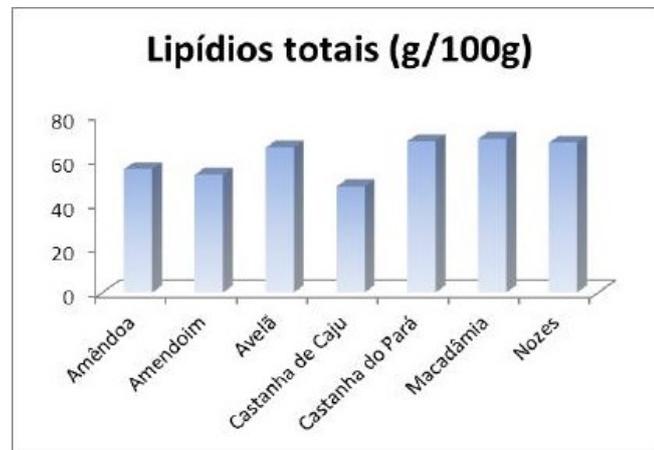
### 1.1. Óleo de Macadâmia

*Macadamia integrifolia* é uma árvore nativa das densas florestas naturais de Queensland, Austrália. Catalogada entre os anos de 1840 e 1860, é cultivada comercialmente por suas nozes comestíveis, além de ser amplamente utilizada na indústria de cosméticos. Foi introduzida no Brasil no ano de 1935, em cultivos domésticos. Em 1948, iniciou-se os experimentos para a adaptabilidade de seu cultivo comercial às condições climáticas. Na década de 90, tal prática de cultivo sofreu uma grande alta (PIZA & MORIYA, 2014). Em 2012, o Brasil possuía 6500 hectares plantados da espécie. Em 2018, a expectativa é de que, em todo o país, a safra gire em torno de 6 mil toneladas.

O cultivo da macadâmia representa apenas 1% do cultivo de todas as nozes populares no Brasil. Entretanto, seu faturamento é dobrado em relação às nozes mais comuns, como pistache e castanha-do-Pará. O alto valor agregado das nozes de macadâmia deve-se ao fato de ser uma valiosa fonte de nutriente. As nozes contêm altos níveis de gordura monoinsaturada e são fonte de proteínas, minerais, vitaminas, fitoesteróis e compostos fenólicos. As Figuras 1, 2 e 3 ilustram e comparam a composição da macadâmia frente a outras nozes comestíveis.

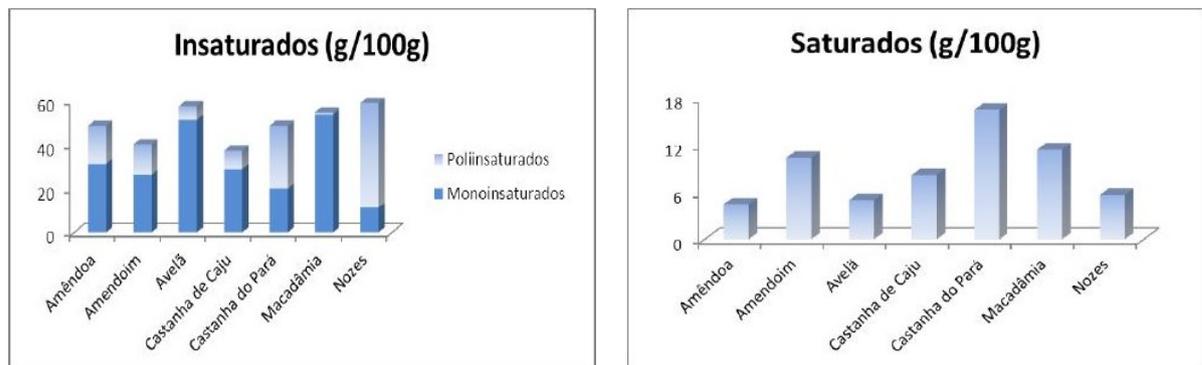
Assim, o consumo de macadâmia implica na melhoria de vários fatores de risco para doenças cardiovasculares, incluindo hipercolesterolemia, peso corporal e estresse oxidativo (WOOD & GARG, 2011).

**Figura 1:** Gráfico representativo da quantidade de lipídios totais em diferentes tipos de nozes e castanhas.



**Fonte:** Benvenuti, 2013

**Figura 2:** Gráficos quantitativos da composição das nozes e castanhas em relação aos tipos de lipídeos presentes.



**Fonte:** Benvenuti, 2013

Ao comparar-se diferentes óleos vegetais, inclusive extravirgens, nota-se uma grande semelhança nas características físico-químicas e em suas composições químicas, sendo compostos por uma mistura de ácidos graxos com diferenças nas quantidades – fato que pode alterar, totalmente, a especificidade do óleo (ROHMAN & CHE MAN, 2011). Desta forma, a percepção da adulteração causada pela adição de um óleo vegetal de menor valor nutricional e comercial é, em muitos casos, de difícil execução (GURDENIZ & OZEN, 2009). Faz-se necessário, então, a criação de métodos de identificação e quantificação de tais adulterações em óleos vegetais extravirgem de grande interesse e valor agregado.

## 1.2. Espectroscopia no Infravermelho Médio

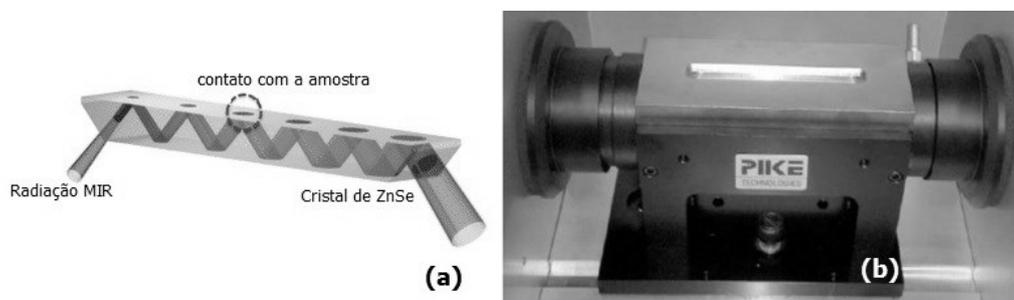
A espectroscopia no infravermelho gera espectros de absorção através de um feixe de luz na região do infravermelho incidido sobre uma substância de interesse, identificando quais frequências foram absorvidas. Cada molécula possui frequências específicas, ou seja, cada molécula possui um espectro próprio de absorção. A absorbância em uma frequência particular é característica de um grupo funcional presente no composto químico (LEITE & PRADO, 2012).

O software adequado gera um espectro, que compreende a radiação com números de onda de 4000 a 200  $\text{cm}^{-1}$ , para que se possa interpretar os sinais emitidos pelo sensor. Por serem energias e frequências baixas, as mesmas não são suficientes para arrancar ou mudar a configuração eletrônica das moléculas (LEITE & PRADO, 2012).

Há quatro possíveis tipos de reflexão para a radiação: especular, difusa, interna e total atenuada (ATR). A reflexão ATR consiste em uma técnica simples que requer uma mínima preparação da amostra e os espectros são de fácil obtenção mesmo entre materiais espessos (OLINGER & GRIFFITHS, 1988).

É necessária a utilização de um cristal feito de algum material que possua um alto índice de refração (como o ZnSe), fazendo, assim, com que uma pequena parte do feixe incidente seja refletido ao atingir o cristal. Esta reflexão permite a obtenção dos espectros de substâncias líquidas, sólidos insolúveis, filmes poliméricos, adesivos, pós e pastas de forma direta por meio de uma pequena quantidade de amostra (OLINGER & GRIFFITHS, 1988).

**Figura 3:** (a) Reflectância de radiação no interior do cristal de ZnSe; (b) Acessório de Reflectância total de ZnSe acoplado ao suporte FT-MIR SpectrumTwo (Perkin Elmer)



**Fonte:** Letícia Maria de Souza, 2014

As informações contidas nos espectros obtidos são muito semelhantes e complexas, impossibilitando a análise direta. Sendo assim, faz-se necessário a aplicação de métodos quimiométricos que possibilitem o alcance de informações qualitativas e quantitativas a respeito dos espectros obtidos no infravermelho. Evidencia-se, então, que, devido à complexidade apresentada por suas matrizes, os óleos vegetais são estudados, frequentemente, por análise de dados multivariados (SKOOG et al., 1998).

A espectroscopia no infravermelho médio oferece vantagens para o controle de qualidade e vem conquistando espaço nos laboratórios analíticos. Tais vantagens consistem em: velocidade, facilidade – devido ao fato de que a amostra não necessita tratamento prévio –, pequena quantidade de amostra utilizada (aproximadamente 0,50 mL), além de ser uma técnica de alta seletividade utilizada para determinações tanto qualitativas quanto quantitativas quando associada à ferramentas quimiométricas (SOARES et al., 2008).

### 1.3. Quimiometria

A quimiometria é o ramo da química que utiliza o conjunto de recursos matemáticos, estatísticos e de lógica para obter e extrair informações de análises químicas. A química analítica é o núcleo da química que mais faz uso da quimiometria, sendo, assim, a mais afetada pela evolução da mesma. Para além disto, os químicos analíticos são membros majoritários da *Chemometrics Society* (Sociedade de Quimiometria, em tradução livre) – organização responsável pelo desenvolvimento da quimiometria (ALVES, 2010).

A quimiometria abrange várias áreas, como calibração multivariada, análise exploratória, planejamento e otimização de experimentos. Neste trabalho, focou-se na utilização da calibração multivariada através do método dos quadrados mínimos parciais (partial least squares – PLS).

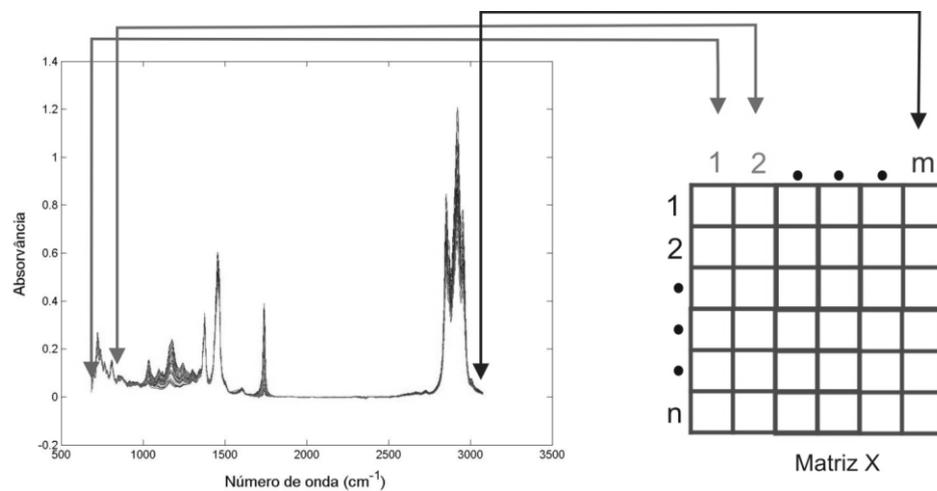
#### 1.3.1. Método dos Quadrados Mínimos Parciais (PLS)

O método dos quadrados mínimos parciais é uma regressão utilizada com o intuito de construir modelos de calibração multivariada de primeira ordem. Desenvolvido por Herman Wold em 1960, apresenta como vantagem a possibilidade de previsão da quantidade do analito desejado, inclusive na presença de interferentes, desde que estes estejam presentes no conjunto de calibração (BORGES NETO, 2005).

Realiza-se a calibração a partir da organização dos espectros das amostras em uma Matriz  $X$  representante das variáveis independentes. A construção da Matriz  $X$  está representada na Figura 5. A matriz possui  $m$  colunas e  $n$  linhas ( $m \times n$ ) e é representada como:

$$X = \begin{bmatrix} X_{11} & X_{12} & \dots & X_{1m} \\ X_{21} & X_{22} & \dots & X_{2m} \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ X_{n1} & X_{n2} & \dots & X_{nm} \end{bmatrix}$$

**Figura 4:** Representação da construção da Matriz  $X$  para modelagem multivariada.



**Fonte:** Letícia Maria de Souza, 2014

A calibração é dividida em dois passos: o primeiro passo é a modelagem, em que se estabelece uma relação matemática entre a Matriz  $X$  e o vetor  $y$ ; o segundo passo é a validação. Realiza-se a validação através da relação obtida na modelagem com o intuito de descrever melhor a concentração (FERREIRA et al., 1999). Por fim, após a calibração, o sistema obtido pode ser utilizado para previsão de outras amostras.

Um número de Variáveis Latentes (VL) é utilizado para a construção do modelo de calibração. Neste número, devem estar contidas informações suficientes para modelar o sistema de forma que não seja superajustado. Um grande número de VL implica em um modelo mais ajustado, porém, há a possibilidade de modelação de ruídos indesejados. E por outro lado, um número muito baixo de VL elimina os ruídos, porém, não modela informações importantes (BORGES NETO, 2005; MORGANO, 2005).

No presente trabalho, cada coluna representa a absorvância obtida e cada linha representa o espectro obtido para cada amostra. O vetor  $y$ , das variáveis dependentes, possui um total de elementos igual a  $n$ , e representa a propriedade de interesse que, neste caso, são as concentrações dos óleos adulterantes (FERREIRA et al., 1999).

Os modelos são validados através da validação cruzada – método baseado, em um primeiro momento, na habilidade de previsão de um modelo construído por parte de um conjunto de dados e, em um segundo momento, na habilidade de previsão do restante do conjunto de dados realizada a partir do modelo construído. A validação cruzada do tipo *leave-one-out* (deixe uma fora, em tradução livre), concretiza-se a partir do fato de que uma amostra é deixada de lado na construção do modelo e, logo, é prevista pelo próprio modelo. Este processo é repetido para as demais amostras e, então, calcula-se o erro quadrático médio da validação cruzada – RMSECV (VANDEGINSTE et al., 1988). Os erros são medidos para o conjunto de calibração e para o conjunto de previsão (NETO, 2005; MORGANO, 2005).

Para a avaliação dos modelos, utiliza-se os valores de: RMSEC (*root mean square error calibration*, termo em inglês) que é o erro do conjunto de calibração e o RMSEP (*root mean square error prediction*, termo em inglês) que é o erro do conjunto de previsão. O valor de RMSEC é tão menor quanto for menor o número de variáveis, enquanto que o valor de RMSEP atinge um valor mínimo e depois volta a aumentar com o aumento das variáveis latentes.

A validação de um procedimento analítico pode ser atestada através da determinação de parâmetros conhecidos como figuras de mérito que variam dependendo das especificidades do método ou do órgão fiscalizador ao qual estará sujeito, sendo os fundamentais: sensibilidade, seletividade, seletividade analítica, limite de detecção e limite de quantificação.

Seletividade é o grau de sobreposição entre o sinal da espécie de interesse e os interferentes presentes na amostra, que indicam, também, a parte do sinal que é perdida devido à sobreposição (VALDERRAMA et al., 2009; SOUZA et al., 2015); sensibilidade é a fração do sinal responsável pelo acréscimo de uma unidade de concentração à propriedade de interesse (ROCHA et al., 2012; SILVA et al., 2012); sensibilidade analítica é a sensibilidade do método em termos da unidade de concentração que é utilizada, sendo definida como a razão entre a sensibilidade e o desvio padrão do sinal de referência (VALDERRAMA et al., 2009; ROCHA et al., 2012); limite de detecção equivale à menor concentração da substância de interesse que pode ser detectada, mesmo que não necessariamente seja quantificada (LORBER et al., 1997); o limite de quantificação representa a menor concentração do analito

de interesse que pode ser medida com uma incerteza máxima de 10% (VALDERRAMA et al., 2007; SILVA et al., 2012).

O teste para erro sistemático é feito calculando-se a diferença entre a média da população e o valor verdadeiro para o conjunto de validação. Depois é calculado o desvio padrão dos erros de validação. Por fim é determinado o valor de *t* bias. Se o valor de *t* bias apresentar menor valor que *t* crítico para *n* graus de liberdade e 95% de confiança, significa que não há erros sistemáticos significativos (ROCHA et al., 2012).

## 2. JUSTIFICATIVA

Por ser um produto natural de qualidades sensoriais diferenciadas, além de benéfico à saúde do ser humano, o óleo de macadâmia possui alto valor agregado e alto valor de mercado quando comparado aos demais óleos (WOOD & GARG, 2011). Torna-se, portanto, alvo de adulterações, especialmente a partir da adição de outros óleos, com o intuito de diminuição de custos e aumento de lucro, gerando uma consequente perda na qualidade do produto final. Desta forma, a comercialização deste óleo adulterado lesa o consumidor que compra a mistura acreditando ser óleo extravirgem de macadâmia.

Ressalta-se, então, que a escolha do equipamento utilizado neste trabalho deve-se aos seguintes aspectos: boa portabilidade, boa disponibilidade e capacidade de identificação e quantificação das adulterações em baixas concentrações (SKOOG et al., 1998).

Por fim, partindo-se dos pressupostos acima explicitados, contempla-se que o estudo e o cuidado acerca do desenvolvimento de metodologias para a identificação e quantificação de óleos adulterantes em óleo de macadâmia extravirgem devem ser geridos de forma a propiciar uma prática eficiente e seletiva que possa ser implementada em análises de rotina e no controle de qualidade deste óleo por produtores, comerciantes e órgãos fiscalizadores.

### 3. OBJETIVO GERAL

Este trabalho propõe o desenvolvimento de um método de análise química por espectroscopia no infravermelho médio e utilização de métodos quimiométricos de análise quantitativa como a Calibração Multivariada por Quadrados Mínimos Parciais com o intuito de determinar a quantidade de possíveis adulterantes em amostras de óleo extravirgem de macadâmia. Sendo assim, o foco do trabalho é a criação de um método rápido, eficiente e seletivo que possa ser implementado em análises de rotina e no controle de qualidade deste óleo por produtores, comerciantes e órgãos fiscalizadores.

#### 3.1. Objetivos específicos

- Preparação manual de amostras de óleo de macadâmia adulteradas com óleo mineral e óleo de girassol.
- Desenvolver um método analítico usando MIR e calibração multivariada para obtenção de espectros de amostras de óleo de macadâmia puras e adulteradas; obtenção de modelos de calibração multivariada usando PLS de amostras de óleo de macadâmia adulteradas com óleo mineral e óleo de girassol analisadas por MIR;
- Validar e avaliar a eficiência dos modelos através de cálculos de erros, RMSEC e RMSEP.

#### 4. METODOLOGIA

Os óleos de macadâmia, mineral e de girassol foram adquiridos no comércio local. Preparou-se as amostras de óleo de macadâmia adulteradas com os óleos de menor valor agregado. Neste trabalho, as amostras de óleo de macadâmia adulteradas com óleo mineral serão chamadas de OM-OM e as amostras de óleo de macadâmia adulteradas com óleo de girassol serão chamadas de OM-OG. Para cada adulterante preparou-se um total de 48 amostras destinadas ao conjunto de calibração e 29 amostras destinadas ao conjunto de previsão. As amostras foram preparadas pela mistura do óleo de macadâmia extravirgem e do óleo adulterante na qual a proporção massa/massa de adulterante por adulterado foi calculada através das massas obtidas utilizando-se uma balança analítica.

Os espectros foram obtidos utilizando o Espectrômetro FT-MIR Spectrum Two da Perkin Elmer equipado com um Acessório de Reflectância Total Atenuada (ATR) de seleneto de zinco (ZnSe) com as seguintes configurações: número de onda de 600 a 4000  $\text{cm}^{-1}$  com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$  e 16 varreduras por espectro. Os espectros MIR foram obtidos em triplicata.

Utilizando-se o pacote de programas PLS toolbox 3.5 (Eigenvector Research) em ambiente MATLAB 6.5 (MathWorks Inc.) foram plotados os espectros que, em seguida, foram corrigidos por baseline e cortados afim de eliminar-se os ruídos oriundos do aparelho utilizado. Os modelos foram então construídos segundo a norma ASTM E1655-05.

Na quantificação das amostras utilizou-se o método do PLS o qual é o mais utilizado na construção de modelos de calibração multivariada a partir de dados de primeira ordem. Para essa regressão, a informação de uma matriz  $Y$  (matriz de resposta) é incorporada a informação da Matriz  $X$  (matriz dos dados) de forma que cada componente variável sofra uma pequena modificação para buscar a máxima covariância entre  $X$  e  $Y$  (VL).

Para a validação do modelo, determinou-se também algumas figuras de mérito que são parâmetros importantes no desenvolvimento de uma metodologia analítica. As figuras são: Seletividade, sensibilidade, sensibilidade analítica, limite de detecção, limite de quantificação e teste para erro sistemático.

**Figura 5:** Equações utilizadas para o cálculo e desenvolvimento das figuras de mérito.

$$\text{Sensibilidade} = S_{k,j}^{\text{mas}} = \frac{\widehat{X}_{A,k}^{\text{mas}}}{y_i} \quad \text{Eq. 1}$$

$$\text{Seletividade} = \widehat{SEL}_{k, \text{un}} = \frac{n \widehat{s}_{k, \text{un}}}{\|\mathbf{x}_{k, \text{un}}\|} \quad \text{Eq. 2}$$

$$\text{Sensibilidade Analítica} = \gamma = \frac{S\widehat{EN}}{\|\sigma x\|} \quad \text{Eq. 3}$$

$$\text{Limite de detecção} = \text{LOD} = 3\delta x \|\mathbf{b}_k\| = 3\delta x \frac{1}{S\widehat{EN}} \quad \text{Eq. 4}$$

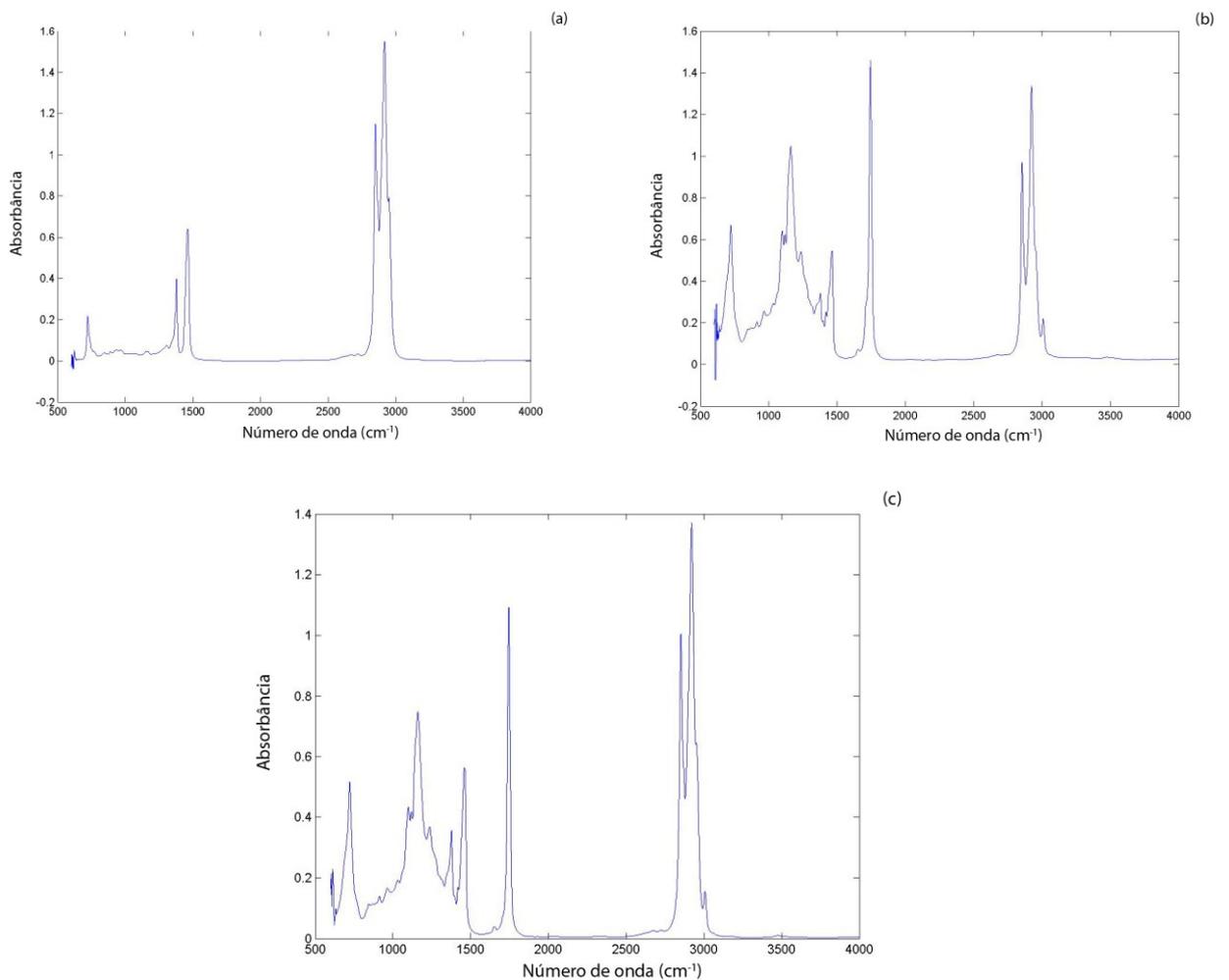
$$\text{Limite de quantificação} = \text{LOQ} = 10\delta x \|\mathbf{b}_k\| = 10\delta x \frac{1}{S\widehat{EN}} \quad \text{Eq. 5}$$

**Fonte:** Ademar Domingos Viagem Máquina, 2016

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise da Figura 7 reforça a necessidade da utilização de métodos quimiométricos, uma vez que, os espectros dos três óleos são muito semelhantes e praticamente impossibilita uma identificação visual da adulteração.

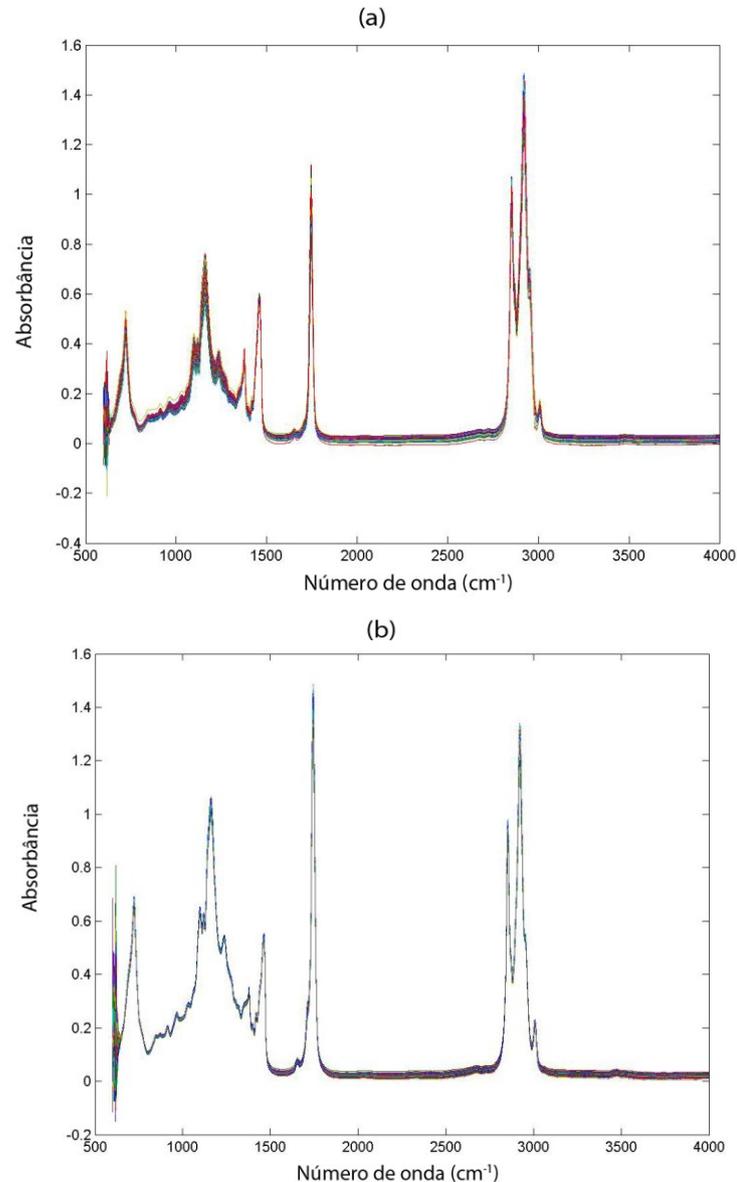
**Figura 6:** Espectros obtidos no FT-MIR. Os espectros apresentados referem-se aos óleos puros, sem adulterações. (a) óleo mineral; (b) óleo de girassol e; (c) óleo de macadâmia.



**Fonte:** O autor, 2018

A Figura 8 representa a junção de todos os espectros. Desde o espectro do óleo de macadâmia puro, até os espectros das amostras com maior porcentagem de adulteração. A partir da análise das figuras nota-se a diferença dos espectros, que aumentam e diminuem seu valor de absorbância em função das diferentes concentrações de adulterantes.

**Figura 7:** Espectros originais obtidos a partir da análise em triplicata de cada amostra de óleo de macadâmia adulterado com: (a) OM-OM e; (b) OM-OG.

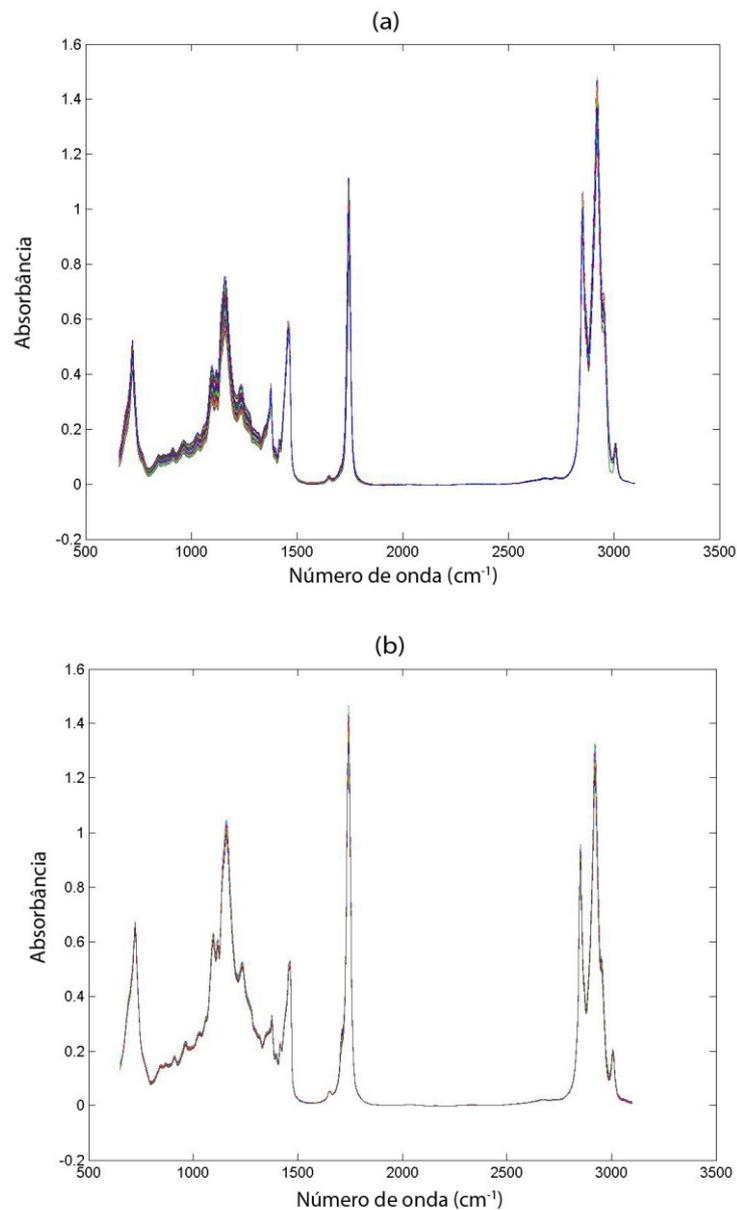


**Fonte:** O autor, 2018

Percebe-se que a região inicial dos espectros (menor número de onda) possui grande quantidade de ruídos que são inerentes ao equipamento. Para que esses ruídos não influenciem na construção do modelo é necessário que se faça um corte nos espectros nas faixas iniciais a fim de eliminar essas informações interferentes. Da mesma forma, na região final dos espectros (maiores números de onda) não há informações relevantes sobre a absorbância relativa aos números de onda. Sendo assim, essa região também é cortada minimizando assim possíveis erros na construção do modelo.

A região central dos espectros (números de onda intermediários) é uma região com absorvância aproximadamente zero. A fim de garantir essa aproximação, faz-se uma correção do espectro através do método de baseline. Esse método consiste em aplicar o método matemático da derivada, pois derivada de uma constante é igual a zero. A figura abaixo mostra o resultado dos espectros gerados após os cortes e a correção por baseline.

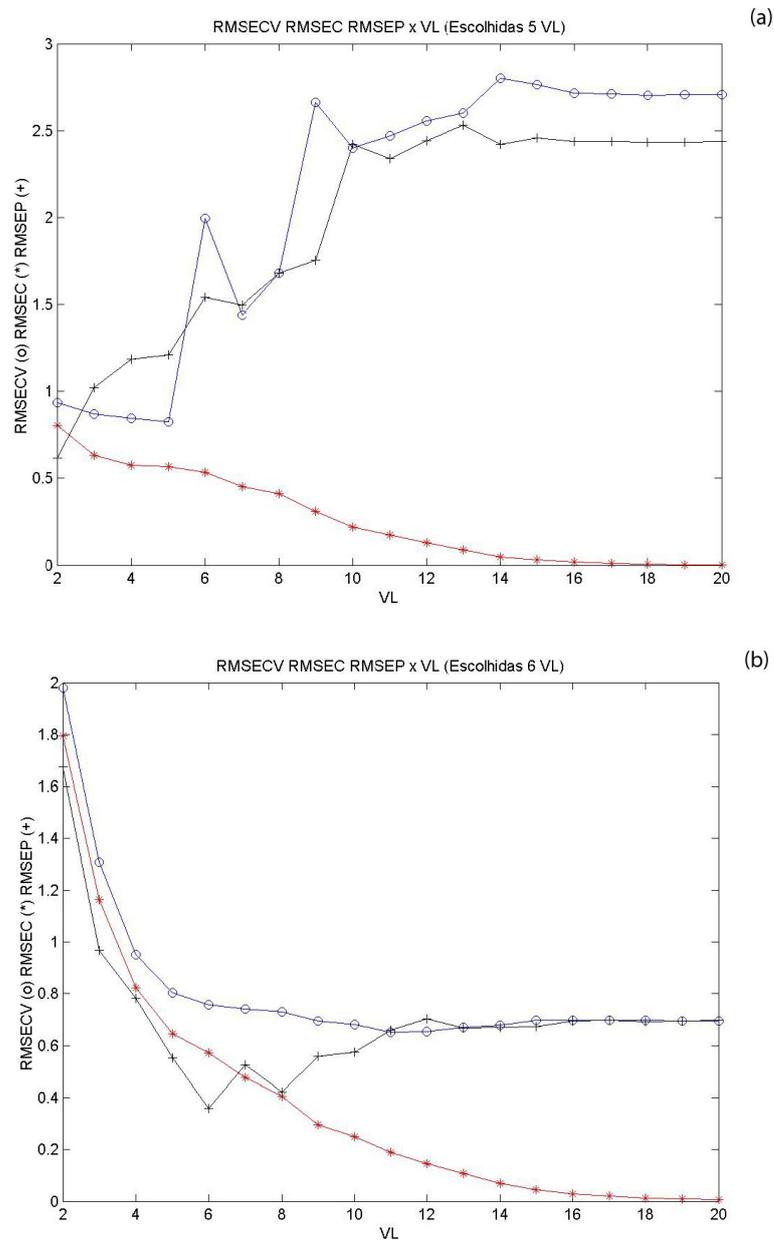
**Figura 8:** Espectros finais após o corte dos ruídos e correção da linha de base. (a) OM-OM e; (b) OM-OG



**Fonte:** O autor, 2018

A Figura 10 mostra a correlação entre os valores dos erros obtidos versus a quantidade de variáveis latentes de cada modelo construído. Escolheu-se o número de variáveis latentes de forma a minimizar os valores dos erros.

**Figura 9:** Valores de RMSEC, RMSECV e RMSEP em função do número de variáveis latentes para cada modelo. (a) OM-OM e; (b) OM-OG



Fonte: O autor, 2018

O número de variáveis latentes selecionadas para a construção dos modelos de macadâmia-mineral e macadâmia-girassol de 5 e 6 respectivamente. A partir da escolha do número de variáveis latentes os modelos foram construídos e os resultados estão descritos na Tabela 1.

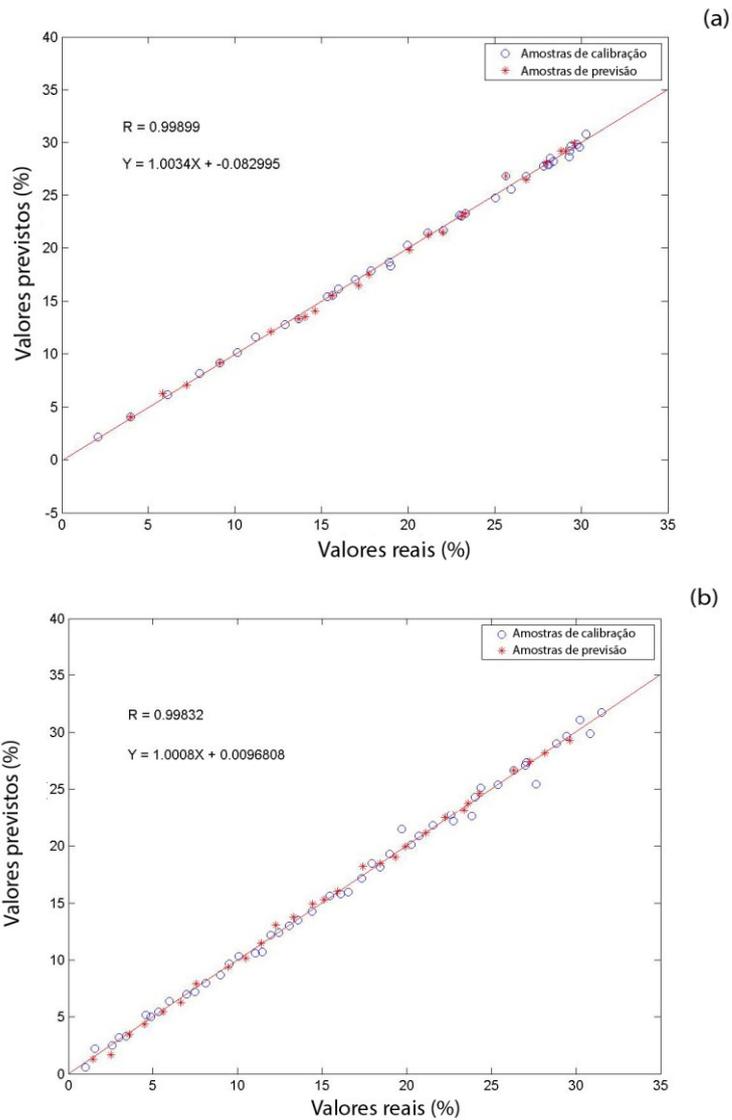
**Tabela 1:** Valores de RMSEC, RMSECV, RMSEP, VL e R para cada modelo obtido.

<b>Modelo</b>	<b>RMSEC</b>	<b>RMSECV</b>	<b>RMSEP</b>	<b>VL.</b>	<b>R</b>
OM-OM	0,3363	0,4056	0,4927	5	0,9990
OM-OG	0,3592	0,6445	0,8034	6	0,9983

**Fonte:** O autor, 2018

A Figura 11 mostra a análise da eficácia dos modelos construídos, construiu-se uma curva comparando os valores previstos de concentração versus os valores reais de concentração.

**Figura 10:** Representação gráfica dos valores previstos versus valores reais. (a) OM-OM e; (b) OM-OG.



**Fonte:** O autor, 2018

Em um modelo ideal, a linearização da curva seria perfeita e os pontos teriam as coordenadas iguais ( $x,x$ ). Para análise da linearização dessa curva verifica-se o valor de correlação R. A Tabela 2 a seguir mostra os significados dos valores de R.

**Tabela 2.** Significado de correlação dos valores de  $R^2$ 

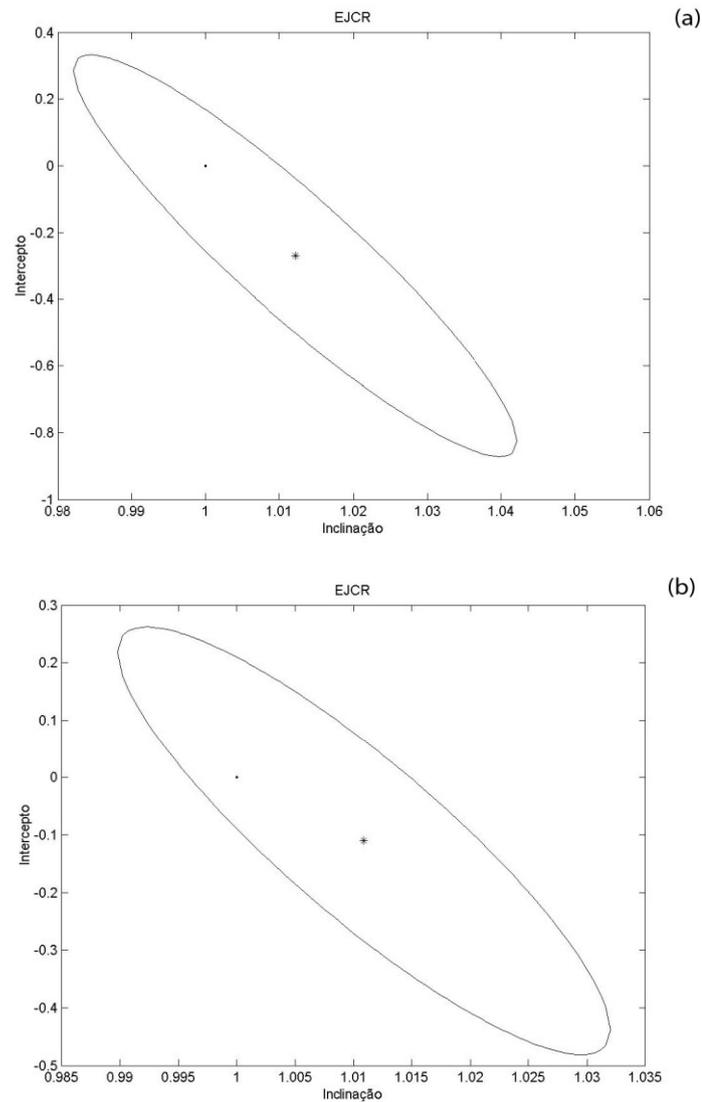
<b>R</b>	<b>Correlação</b>
=1	Perfeita
$0,91 < R^2 < 0,99$	Fortíssima
$0,61 < R^2 < 0,91$	Forte
$0,31 < R^2 < 0,60$	Média
$0,01 < R^2 < 0,30$	Fraca
=0	Nula

**Fonte:** O autor, 2018

Os valores obtidos de R explicitam que os modelos construídos possuem uma correlação fortíssima entre os valores reais e os valores previstos por ambos os modelos.

Para avaliar os coeficientes angular e linear obtidos pelo ajuste de reta na curva dos valores previstos frente aos valores esperados, construiu-se uma *elliptical joint confidence region* (Em tradução livre: região de confiança conjunta elíptica). Essa elipse corresponde ao intervalo de confiança conjunta dos coeficientes obtidos pela linearização entre valores nominais e preditos dos modelos. O ponto representado por um asterisco deve estar contido dentro da elipse uma vez que os valores estarão de acordo com os valores de RMSEP. A elipse representativa de cada modelo se encontra na Figura 12. Percebe-se então que os valores obtidos de coeficiente linear e angular para cada um dos modelos foram satisfatórios.

**Figura 11:** Elipses EJCR. (a) OM-OM e; (b) OM-OG.



**Fonte:** O autor, 2018

A Tabela 3 mostra os resultados de todas as figuras de mérito determinadas neste trabalho:

**Tabela 3:** Valores das figuras de mérito obtidas em cada um dos modelos construídos, utilizando as equações de 1 a 5 elucidadas na Figura 6.

Modelo	Sensibilidade	Sensibilidade analítica	Seletividade	LOD(%)	LOQ(%)
OM-OM	0,0883	244,11	0,0293	0,0135	0,0410
OM-OG	0,0638	176,50	0,0153	0,0187	0,0567

**Fonte:** O autor, 2018

## 6. CONCLUSÃO

Os modelos obtidos para quantificação de adulteração no óleo de macadâmia extravirgem com óleo mineral e óleo de girassol apresentaram excelente linearidade, com valores de  $R^2$  0,9990 e 0,9983 respectivamente. Esses valores próximos a 1, significam que os valores previstos pelos modelos estiveram muito próximos dos valores reais.

Os valores de RMSEP e RMSEC obtidos foram baixos o que traz credibilidade aos modelos. O valor de RMSEP sendo menor que o de RMSEC é favorável visto que significa que o modelo de calibração possui erros menores do que os calculados para o modelo de previsão o que mostra que os modelos não foram tendenciosos.

A análise de amostras de óleo de macadâmia extravirgem utilizando-se o infravermelho médio e a calibração multivariada através de métodos quimiométricos se mostrou muito eficiente na quantificação das adulterações desse óleo por óleo mineral de óleo de girassol.

Frente aos objetivos e justificativas pressupostos neste trabalho, tem-se a avaliação positiva da execução do mesmo, visto que todos os resultados foram satisfatórios e dentro das normas ASTM. O método desenvolvido mostrou-se viável no controle de qualidade do óleo de macadâmia pois o equipamento utilizado, MIR, requer uma pequena quantidade de amostra, não requer preparação da mesma e é de fácil utilização.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, J. O. **Espectrometria de Massas com Ionização Electrospray (ESI-MS) e Métodos Quimiométricos: Caracterização de Azeites de Oliva (Extra Virgem e Puro) e Outros Óleos Vegetais e Quantificação de Óleos Adulterantes em Azeite de Oliva Extra Virgem**. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

FERREIRA, M. H.; BRAGA, J. W. B.; SENA, M. M. **Development and validation of a chemometric method for direct determination of hydrochlorothiazide in pharmaceutical samples by diffuse reflectance near infrared spectroscopy**. *Microchemical Journal*, vol. 109, p. 158-164, 2013.

FERREIRA, M. M. C.; ANTUNES, A. M.; MELGO, M. S.; VOLPE, P. L. O. **Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial**. *Química Nova*, São Paulo, v. 22, n.5, p.724-731, 1999.

GURDENIZ, G.; OZEN, B. **Detection of adulteration of extra-virgin olive oil by chemometric analysis of mid-infrared spectral data**. *Food Chemistry*, v. 116, p. 519-525, 2009.

LEITE, D. O.; PRADO, R. J. **Espectroscopia no infravermelho: uma apresentação para o Ensino Médio**. *Revista Brasileira de Ensino de Física*. Cuiabá, v. 34, n. 2, p. 2504-1 – 2504-9, 2012. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbef/v34n2/v34n2a15.pdf>>. Acesso em: 26 de março de 2018.

LORBER, A.; FABER, K.; KOWALSKI, B. R. **Net Analyte Signal Calculation in Multivariate Calibration**. *Analytical Chemistry*, v. 69, p. 1620-1626, 1997.

MORGANO, M. A. **Aplicação de Métodos Quimiométricos em Análise de Alimentos**. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

BORGES NETO, W. **Parâmetros de Qualidade de Lubrificantes e óleo de oliva através de espectroscopia vibracional, calibração multivariada e seleção de variáveis**. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

OLINGER, J.M.; GRIFFITHS, P.R. **Quantitative effects of absorbing matrix on near-infrared diffuse reflectance spectra**. *Anal Chem.*, v. 60, p. 2427-2435, 1988.

PIZA, P. L. B. T.; MORIYA, L. M. **Cultivo da macadâmia no Brasil**. *Revista Brasileira de Fruticultura*. Jaboticabal, v. 36, n. 1, 2014. Disponível em:

<[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-29452014000100006](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452014000100006)>.  
Acesso em: 22 de março de 2018.

**POR NOSSO CAMPO. Município de Dois Córregos é um dos maiores produtores nacionais de macadâma.** G1: TV TEM, 2017. Disponível em: <<https://g1.globo.com/sao-paulo/sorocaba-jundiai/nosso-campo/noticia/municipio-de-dois-corregos-e-um-dos-maiores-produtores-nacionais-de-macadamia.ghtml>>. Acesso em: 22 março de 2018.

ROCHA, W. F. D. C.; NOGUEIRA, R.; VAZ, B. G. **Validation of model of multivariate calibration: An application to determination of biodiesel blend levels in diesel by near-infrared spectroscopy.** Journal of Chemometrics, v. 26, n. 8-9, p. 456-461, 2012.

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, v. 129, p. 583-588, 2011.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, A. T. **Principles of Instrumental Analysis.** 5ª Edição. Philadelphia: Harcourt Brace & Company, p. 404-428, 1998.

SILVA, M. A. M., FERREIRA, M. H., BRAGA J. W. B., SENA, M.M. **Development and analytical validation of multivariate calibration method for determination of amoxicillin in suspension formulations by near infrared spectroscopy.** Talanta, v. 89, p. 342-351, 2012.

SOARES, I. P.; REZENDE, T. F.; SILVA, R. C.; CASTRO, E. V. R.; FORTES, I. C. P. **Multivariate Calibration by Variable Selection for Blends of Raw Soybean Oil/Biodiesel from Different Sources Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) Spectra Data.** Energy & Fuels, v. 22, n. 3, p. 2079-2083, 2008.

SOUZA, L. M., SANTANA, F. B., GONTIJO, L. C., MAZIVILA, S. J., BORGES NETO, W. **Quantification of adulterations in extra virgin flexseed oil using MIR and PLS.** Food Chemistry, v. 182, p. 35-40, 2015.

VALDERRAMA, P.; BRAGA, J. W. B.; POPPI, R. J. **Variable selection, outlier detection, and figures of merit estimation in a partial least-squares regression multivariate calibration model: A case study for the determination of quality parameters in the alcohol industry by Near-Infrared Spectroscopy.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 55, p. 8331-8338, 2007.

VALDERRAMA, P.; BRAGA, J. W. B.; POPPI, R. J. **Estado da arte de figuras de mérito em calibração multivariada.** Química Nova, v. 32, p. 1278-1287, 2009.

VANDEGINSTE, B. G. M., MASSART, D. L., BUYDENS, L. M. C., DE JONG, S., LEWI, P.J., SMEYERS-VERBEKE, J. **Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Part B.** SCIENCE, E. Amsterdam, 1988.

WOOD L.G.; GARG, M.L. **Macadamia Nuts (*Macadamia integrifolia* and *tetraphylla*) and their Use in Hypercholesterolemic Subjects.** Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention. Londres: Academic Press, p. 717–725, 2011.