

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
DIRETORIA DE GRADUAÇÃO E EDUCAÇÃO PROFISSIONAL  
COORDENAÇÃO DO CURSO DE TECNOLOGIA EM PROCESSOS QUÍMICOS

DANIELE CERRI VALERIO

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA DETERMINAR  
ADULTERAÇÃO DE AZEITE DE OLIVA COM ÓLEO DE CANOLA  
POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO MÉDIO ASSOCIADA  
À CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

TOLEDO  
2015

DANIELE CERRI VALERIO

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA DETERMINAR  
ADULTERAÇÃO DE AZEITE DE OLIVA COM ÓLEO DE CANOLA  
POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO MÉDIO ASSOCIADA  
À CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA**

Trabalho de conclusão de Curso apresentado a Coordenação do Curso Superior de Tecnologia em Processos Químicos – COPEQ – da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR *Campus* Toledo, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Processos Químicos.

Orientador: Clayton Antunes Martin

TOLEDO  
2015

**TERMO DE APROVAÇÃO  
DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**DANIELE CERRI VALERIO**

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA DETERMINAR  
ADULTERAÇÃO DE AZEITE DE OLIVA COM ÓLEO DE CANOLA  
POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO MÉDIO ASSOCIADA  
À CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA**

Trabalho apresentado como forma de avaliação para o Trabalho de Conclusão de Curso do curso de Tecnologia em Processos Químicos da UTFPR, *Campus* Toledo, e aprovado pela banca examinadora abaixo.

---

Prof. Dr. Clayton Antunes Martin

---

Profª Drª. Solange Maria Cottica

---

Profª Drª. Janesca Alban Roman

Toledo, Dezembro de 2015

\*A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso.

## RESUMO

VALERIO, DANIELE.C. **DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA DETERMINAR ADULTERAÇÃO DE AZEITE DE OLIVA COM ÓLEO DE CANOLA POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO MÉDIO ASSOCIADA À CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA.** 2015. Trabalho de Conclusão de Curso – Curso Superior de Tecnologia em Processos Químicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná –UTFPR.

Dentre os óleos vegetais comestíveis comercializados mundialmente, o azeite de oliva (*Olea europaea sativa*) é um dos mais importantes e antigos do mundo. A prática de vender um produto misturado como azeite de oliva puro permite que algum fabricante exerça uma concorrência desleal no mercado, conseguindo preços mais competitivos para seu produto, além de lesar o consumidor, que compra a mistura como se fosse azeite de oliva. Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar qualitativamente e quantitativamente a pureza de azeites de oliva extra virgem com óleo de canola por meio da espectroscopia no infravermelho. Preparou-se misturas de azeite de oliva e óleo de canola nas proporções de 0,00 a 100,00 % (m/m), em duplicata. Os espectros foram obtidos com espectrofotômetro infravermelho Perkin Elmer, modelo Spectrum 65, com acessório de refletância total atenuada, na faixa de 650 a 3500  $\text{cm}^{-1}$ , com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ , sendo realizadas 40 varreduras para a aquisição do espectro. Para cada replicata das amostras foram obtidos dois espectros. A calibração foi realizada com a eliminação dos *outliers*, com base nas amostras com *leverage*, o valor encontrado para a RMSECV (Root Mean Square Error of Cross Validation) foi de 7,8144 e o valor do coeficiente de correlação de 0,9188. Os valores anômalos foram retirados e o valor final da raiz quadrada do erro médio de validação cruzada foi de 6,952 e o valor do coeficiente de correlação de 0,9353, com isso o modelo apresentou uma capacidade preditiva razoável com coeficiente de correlação menor quando comparado com a literatura.

**Palavras-chave:** Azeite de oliva. Óleo de canola. Infravermelho. Misturas. Calibração

## ABSTRACT

VALERIO, DANIELE.C. **DEVELOPMENT OF METHOD FOR THE DETECTION ADULTERATION OF OLIVE OIL WITH CANOLA OIL BY MID INFRARED SPECTROSCOPY ASSOCIATED WITH MULTIVARIATE CALIBRATION.** 2015. Trabalho de Conclusão de Curso – Curso Superior de Tecnologia em Processos Químicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná –UTFPR.

Among the edible vegetable oils sold worldwide, the olive oil (*Olea europaea sativa*) is one of the most important and oldest in the world. The practice of selling a product mixed with pure olive oil allows that some manufacturer exert an unfair competition in the market, achieving more competitive prices for their product, as well as harm the consumer who buys the mixture as if it was olive oil. So, this study aimed to evaluate qualitatively and quantitatively the purity of olive oil extra virgin olive with canola oil by infrared spectroscopy. Prepared mixtures of olive oil and rapeseed oil in the proportions of the 100.00 0,00% (m / m), in duplicate. The spectrum were obtained with infrared spectrophotometer Perkin Elmer, Spectrum 65 model with accessory attenuated total reflectance in the range 650-3500  $\text{cm}^{-1}$ , with a resolution of 4  $\text{cm}^{-1}$ , being held 40 scans for spectrum acquisition. For each duplicate sample spectra were obtained. The calibration was performed with the elimination of outliers, on the basis of samples with leverage, the value found for the RMSECV (Root Mean Square Error of Cross Validation) was 7.8144, and the value of the correlation coefficient of 0.9188. Anomalous values were removed and the final value of the square root of the cross-validation average error was 6.952 and the value of the correlation coefficient of 0.9353, thus the model showed reasonable predictive capacity with lower correlation coefficient compared to the literature.

**Keywords:** Extra virgin olive oil. Canola oil. Infrared. Mixtures. Calibration

## LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

$\mu\text{m}$	Micrômetro
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATR	Attenuated Total Reflectance
CNNPA	Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos
COI	Conselho Oleícola Internacional
CV	Cross Validation
DPDC	Departamento de Proteção e Defesa do Consumidor
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAO	Food and Agriculture Organization
FTIR	Espectroscopia Infravermelho com transformada de Fourier
HDL	High Density Lipoproteins
iPLS	Interval Partial Least Square
IR	Espectroscopia Infravermelho
ISO	International Organization for Standardization
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
IV	Infravermelho
LDL	Low Density Lipoproteins
LV	Variáveis Latentes
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
Mg	Miligrama
MSC	Multiplicative Scatter Correction
NIR	Espectroscopia Infravermelho próximo
OMS	Organização Mundial de Saúde
PC	Componentes Principais
PCA	Principal Component Analysis
Planta/ha	Plantas por Hectare
PLS	Partial Least Squares
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RMSEC	Root Mean Square Error of Calibration
RMSECV	Root Mean Square Error of Cross Validation

RMSEP	Root Mean Square Error of Prediction
SNV	Standard Normal Variate Method
WHO	World Health Organization

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Sistema ATR de múltipla reflexão .....	23
<b>Figura 2.</b> Espectro infravermelho das misturas de azeite de oliva e óleo de canola	34
<b>Figura 3.</b> Valores mínimos de RMSECV obtido para cada segmentação .....	35
<b>Figura 4.</b> Valores máximos do coeficiente de correlação para as segmentações realizadas.....	36
<b>Figura 5.</b> Espectros no infravermelho para misturas de azeite de oliva e óleo de canola, destacando a região espectral selecionada para a aplicação da calibração por PLS.....	37
<b>Figura 6.</b> Espectro representativo das amostras de azeite de oliva puro, do óleo de canola puro e de uma mistura de 50% de azeite de oliva com óleo de canola	38
<b>Figura 7.</b> Valores de RMSECV para os modelos PLS com 1 a 15 VL, obtidos para o intervalo 6 da sexta segmentação.....	39
<b>Figura 8.</b> Comparação entre os valores de RMSECV para os modelos global (linha pontilhada) e para os modelos da sexta segmentação .....	39
<b>Figura 9.</b> Gráfico leverage <i>versus</i> resíduos estudentizados .....	40
<b>Figura 10.</b> Valores de referência <i>versus</i> Valores previstos pelo modelo de calibração .....	40
<b>Figura 11.</b> Gráfico leverage <i>versus</i> resíduos estudentizados, após remoção de outliers.....	41
<b>Figura 12.</b> Valores de referência <i>versus</i> Valores previstos pelo modelo de validação .....	42

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>10</b>
1.1 OBJETIVOS .....	12
1.1.1 Objetivo Geral .....	12
1.1.2 Objetivos específicos .....	12
1.2 JUSTIFICATIVA .....	12
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>14</b>
2.1 AZEITE DE OLIVA .....	14
2.2 ADULTERAÇÃO .....	16
2.3 ÓLEO DE CANOLA .....	17
2.4 COMPOSIÇÃO EM ÁCIDOS GRAXOS .....	19
2.5 ESPECTROSCOPIA INFRAVERMELHO .....	20
2.5.1 Refletância total atenuada (ATR) .....	22
2.6 QUIMIOMETRIA .....	24
2.7 PRÉ-PROCESSAMENTO DE DADOS .....	25
2.8 ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA) .....	26
2.9 CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA .....	28
2.10 VALIDAÇÃO CRUZADA .....	29
2.11 <i>OUTLIERS</i> .....	30
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>32</b>
3.1 MATERIAIS .....	32
3.2 EQUIPAMENTOS .....	32
3.3 MÉTODOS .....	32
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>34</b>
4.1 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO MÉDIO .....	34
4.2 CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA .....	35
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>43</b>
<b>7 REFERÊNCIAS</b> .....	<b>44</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Dentre os óleos vegetais comestíveis comercializados mundialmente, o azeite de oliva (*Olea europaea sativa*) é um dos mais importantes e antigos do mundo. (PEIXOTO *et al.*, 1998).

No Brasil, o azeite de oliva é classificado em três tipos: virgem, refinado e de extração refinado, de acordo com a Resolução nº 22/77 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA) do Ministério da Saúde (BRASIL, 1977).

No exterior, existem vários órgãos governamentais ou não, que regulam a comercialização do azeite de oliva através de padrões de identidade e qualidade, como a Comissão do Codex Alimentarius e da União Européia.

Conforme legislação específica, Resolução nº 22/77 CNNPA, do Ministério da Saúde, para ser considerado azeite de oliva, o produto não pode apresentar mistura com qualquer outro tipo de óleo (BRASIL, 1977).

A prática de vender um produto misturado como azeite de oliva puro permite que algum fabricante exerça uma concorrência desleal no mercado, conseguindo preços mais competitivos para seu produto, além de lesar o consumidor, que compra a mistura como se fosse azeite de oliva (INMETRO, 2013).

O tipo de adulteração mais comum é a adição de outros óleos vegetais de menor valor comercial, principalmente quando o azeite é envasado no Brasil. Os índices físico-químicos clássicos e a composição de ácidos graxos, os quais são aplicados frequentemente nos laboratórios brasileiros para a avaliação dos azeites, detectam apenas as fraudes mais comuns (AUDE-PIMENTEL *et al.*, 2008).

As metodologias recomendadas para a determinação dos diferentes parâmetros previstos nas normas do COI foram desenvolvidas por organizações internacionais como: a International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), International Organization for Standardization (ISO), Conselho Oleícola Internacional e empregam, em grande parte, técnicas cromatográficas na avaliação da identidade e qualidade dos diferentes tipos de azeite (AUDE-PIMENTEL *et al.*, 2008).

Para se avaliar a pureza e a qualidade do azeite de oliva, foi estabelecido, além dos limites para a composição química, categorias de classificação mais específicas para comercialização e rotulagem. O azeite de oliva apresenta uma composição em esteróis bastante particular, que tem sido utilizada para detectar

adulteração com outros óleos. Os espectros de infravermelho podem ser usados para identificar compostos puros ou para a detecção ou identificação de impurezas, através da composição de ácidos graxos presentes (ANTONIASS, 1998).

A espectroscopia no infravermelho engloba os fenômenos associados à absorção e à emissão de energia radiante que ocorre em três regiões do espectro eletromagnético, quando uma molécula absorve radiação infravermelha, seus átomos vibram com maior amplitude, podendo ser uma análise rápida, simples, limpa e não destrutiva (PEREIRA, 2007).

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo Geral

Estudar a pureza de azeites de oliva extra virgem adulterados com óleo de canola, utilizando o infravermelho médio associado a calibração multivariada.

### 1.1.2 Objetivos específicos

Obter os espectros no infravermelho para o azeite de oliva extra virgem, óleo de canola e para as misturas destes óleos.

Determinar a região do espectro que é mais apropriada para a aplicação da calibração por meio dos mínimos quadrados parciais (PLS).

Aplicar o modelo obtido para a quantificação do teor de óleo de canola em misturas com azeite de oliva, visando avaliar a capacidade preditiva do modelo.

## 1.2 JUSTIFICATIVA

O mercado de azeites no Brasil apresenta vendas de aproximadamente 32.000 ton, similar ao Japão e superior à Austrália e Canadá. O Brasil está posicionado entre os 10 países de maior consumo no mundo, com taxas anuais de crescimento satisfatórias. O aumento contínuo desse mercado demonstra que, cada vez mais, o brasileiro aprecia as características únicas e o prazer que um bom azeite pode proporcionar aos seus pratos, sendo assim, é de grande valia o estudo da composição de azeites, verificando alguma fraude (OLIVA, 2013).

O azeite de oliva extra virgem é obtido da primeira prensagem a frio dos frutos das oliveiras, tendo assim uma produção limitada. Devido ao grande consumo do azeite de oliva, este pode sofrer adulteração por adição de outros óleos vegetais

como o de milho, soja, girassol e canola. O emprego da quimiometria permite determinar em que proporções se encontram os componentes adicionados ao azeite de oliva extra virgem (OLIVEIRA, *et al.*2009).

Considerando os benefícios ao sistema cardiovascular que estão associados ao consumo do azeite de oliva puro é de grande importância que o consumidor tenha a certeza de que está consumindo um azeite cujas informações do rótulo correspondam as características do azeite. Para isso é preciso desenvolver métodos que possibilitem a determinação rápida do teor de azeite de oliva e de seus adulterante.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 AZEITE DE OLIVA

A oliveira (*olea europaea l.*) é uma planta frutífera da família botânica *oleaceae*, sendo a única da espécie que origina frutos comestíveis, trata-se de uma planta de cultivo tão antigo quanto o trigo e a videira. O nome genérico *olea* vem do latim oliva (azeitona) ou do grego *elai* que significa óleo (MELLO; PINHEIRO, 2012).

Para que o azeite seja comercializado no Brasil, precisa estar dentro dos padrões exigidos pela Anvisa. Nesse sentido, o azeite extra virgem é o produto extraído do fruto da oliveira unicamente por processos mecânicos ou outros meios físicos, sob controle de temperatura adequada, mantendo-se a natureza original do produto e observados os valores dos parâmetros de qualidade com base em análises físico-químicas que o qualificarão (AUED-PIMENTEL *et al.*, 2008).

De acordo com a legislação RDC nº 270 o azeite de oliva é classificado em quatro tipos, quanto a acidez (BRASIL, 2005):

- i. Azeite de Oliva Extra Virgem: máximo 0,8% de ácido oleico.
- ii. Azeite de Oliva Virgem: máximo 2% de ácido oleico.
- iii. Azeite de Oliva: máximo 1% de ácido oleico.
- iv. Azeite de Oliva Refinado: máxima 0,3% de ácido oleico.

O azeite de oliva é o único produto no setor de óleos e gorduras que possui seu próprio acordo internacional de comércio. O conselho Oleícola Internacional (COI) é a organização intergovernamental responsável pela administração desse acordo. A norma de comércio do COI estabelece teores mínimos de pureza do produto e critérios de qualidade para cada categoria de azeite de oliva. Também são estabelecidas normas de higiene, embalagem e rotulagem, além da recomendação de aplicação de determinados métodos analíticos (AUED-PIMENTEL *et al.*, 2008).

De acordo com dados da EMBRAPA (2013b), no mundo existem cerca de 10 milhões de hectares de oliveiras plantadas, sendo que 90% da área encontra-se na costa do mar mediterrâneo. Em geral, a produção de oliveiras se destaca pela reduzida densidade de plantio (<300 plantas/ha) e baixa tecnificação.

Aproximadamente 10% dos plantios de oliveira, no mundo, são irrigadas. Apenas 5% possui o sistema de produção (plantio, poda e colheita) totalmente mecanizado.

A produção mundial de azeite de oliva, em 2008, foi de aproximadamente 2.870 milhões de toneladas. Entretanto, desde de 1990, tem apresentado grande variação (Tabela 1). A Argentina é o único país da América do Sul que aparece entre os dez maiores produtores (8º lugar – 20.000 toneladas) (EMBRAPA, 2013a).

**Tabela 1.** Produção mundial de azeite em 2008/09 e principais países produtores.

<b>Países</b>	<b>Produção (1.000 toneladas)</b>
Comunidade Européia	2.140
Tunísia	160
Turquia	159
Síria	125
Marrocos	90
Argélia	35
Palestina	32
Argentina	20
Jordânia	17
Líbia	15
<b>TOTAL</b>	<b>2.866,5</b>

**Fonte:** International Olive Oil Council, 2008<sup>1</sup> apud EMBRAPA, 2013a

Dentre os diferentes tipos de alimentos, o azeite de oliva é considerado como a opção mais saudável entre os azeites comestíveis, razão pela qual a produção e consumo têm crescido, nos últimos anos, em todo o mundo. Além disso, novos e ricos mercados, entre eles os Estados Unidos, Japão, países do Sudeste Asiático e do norte da Comunidade Européia constituem-se nos mercados em expansão mais rápida (EMBRAPA, 2013b).

O azeite de oliva é muito apreciado por suas características sensoriais e nos últimos anos, o cultivo de oliveiras adquiriu especial relevância em todo o mundo pelas propriedades benéficas do azeite à saúde. O consumo de azeite de oliva está associado a baixa mortalidade por doenças cardiovasculares, o que tem sido observada nas populações da região mediterrânea. Esta condição tem sido relacionada ao elevado percentual de ácido oleico no azeite de oliva (CERQUEIRA, *et al.*, 2007).

O Brasil possui regiões com condições climáticas adequadas para o cultivo de oliveiras, no entanto, em termos de produção comercial, está ainda é uma atividade agrícola recente, porém em expansão. Existem áreas com plantio

<sup>1</sup> **INTERNATIONAL OLIVE OIL COUNCIL.** Madrid, 2010. Disponível em: <http://www.internationaloliveoil.gov>. Acesso em: 20/jan/2010.

comerciais nos estados do Rio Grande do Sul, Minas Gerais e em Santa Catarina (CARDOZO *et al.*, 2012).

A composição química e a qualidade do azeite de oliva são influenciadas por vários fatores, como índice de maturação, área geográfica (altitude, latitude, composição do solo), condições climáticas prevalentes no ano de produção, cultivares e processo de extração (CARDOZO *et al.*, 2012).

Os benefícios associados ao consumo do azeite de oliva estão diretamente relacionados a sua composição que é rica em ácidos graxos monoinsaturados, como o ácido oléico, e baixo em saturados o que favorece o controle do colesterol, pois pode ajudar a reduzir o colesterol "ruim" (LDL) no sangue, mantendo o nível de colesterol "bom" (HDL). Desse modo permitindo um equilíbrio saudável entre os dois tipos de colesterol (OLIVA, 2013).

## 2.2 ADULTERAÇÃO

As fraudes em alimentos, visam sempre a conferir maiores lucro, se verificam através de várias operações, que procuram ocultar ou mascarar as más condições estruturais e sanitárias dos produtos, e atribuir-lhes requisitos que não possuem. A venda de produtos mistificados está sujeita a sanções penais, infelizmente porém, as infrações dessas disposições são, entre nós, muito mais frequentes de que se julga, por culpa, em grande parte, de deficiente fiscalização dos órgãos competentes (EVANGELISTA, 2005).

De acordo com Evangelista (2005), as fraudes são classificadas por:

1) Fraudes por alteração: a alteração de alimentos se relaciona com as modificações operadas em seus caracteres organolépticos, estado sanitário e às vezes em seu conteúdo nutritivo. Nas causas dessas alterações, se evidencia fraude, quando o vendedor, sabendo que o produto se encontra em condições impróprias, efetua ou ordena a sua comercialização.

2) Fraudes por adulteração: o alimento adulterado é aquele que foi privado em forma parcial ou total, de seus elementos úteis ou característicos, substituídos ou não por outros inertes ou estranhos, que tenha sido adicionado de aditivos não

autorizados ou submetidos a tratamento de qualquer natureza, para dissimilar ou ocultar alterações, deficiente qualidade de matéria-prima ou defeitos de elaboração.

3) Fraudes por sofisticação: é uma variante da falsificação, na qual ocorre com maior dose de argúcia. Muitos produtos sofisticados, principalmente bebidas, conseguem compradores e consumidores, que não se apercebem de sua falsa autenticidade.

Vários trabalhos realizados no Brasil e no mundo ressaltam a alta incidência de adulterações em óleos vegetais, principalmente azeite de oliva. O tipo de adulteração mais comum é a adição de outros óleos vegetais de menor valor comercial, principalmente quando o azeite é envasado no Brasil. Os índices físico-químicos e a composição de ácidos graxos, os quais são aplicados frequentemente nos laboratórios brasileiros para a avaliação dos azeites, detectam apenas as fraudes mais comuns (AUED-PIMENTEL *et al.*, 2008).

As análises físico-químicas efetuadas nos azeites de oliva visam a identificar duas situações: a sua qualidade e a sua identidade, isto é, a qualidade é o estado físico-químico do azeite de oliva, pois alteram-se com o tempo a sua qualidade, aumenta-se a sua acidez, aumenta os peróxidos presente e a sua identidade visa a checar se o produto trata-se de azeite de oliva propriamente e não um azeite de oliva adulterado: misturado com outro tipo de óleo que não seja azeite de oliva ou não estar dentro dos parâmetros da qual é denominado, Azeite de Oliva Extra Virgem, Azeite de Oliva Virgem ou Azeite de Oliva (nome específico do produto).

Conforme estabelecido na RDC 270 Anvisa de 22/09/2005 a identidade de óleos vegetais, incluindo azeites de oliva, e de gorduras vegetais deve atender aos requisitos de composição estabelecidos em normas do Codex Alimentarius - FAO/OMS (BRASIL, 2005).

### 2.3 ÓLEO DE CANOLA

A canola (*Brassica napus* L. e *Brassica rapa* L.) planta da família das crucíferas (como o repolho e as couves), pertence ao gênero *Brassica*. Os grãos de canola produzidos no Brasil possuem em torno de 24 a 27% de proteína e de 34 a 40% de óleo. A canola ocupa o terceiro lugar entre as oleaginosas cultivadas no

mundo. A chegada do óleo de Canola ao Brasil ocorreu em 1974 procedente do México. A expansão da cultura encontrou vários obstáculos até o momento, com crescimento bastante lento ganhando notoriedade nas últimas duas safras (CONAB, 2010).

Canola é uma sigla canadense para "*canadian oil low acid*". É o nome registrado para uma variedade geneticamente modificada da colza, contendo menos que 2% do total de ácidos graxos, em ácido erúico (22:1 13c), e menos que 3 mg/g de glicosinolatos. É uma cultura de inverno que vem sendo utilizada para realização de rotação de culturas com o milho, introduzindo outra família, a crucífera, no lugar da também gramínea trigo, proporcionando melhor utilização, recuperação e conservação da fertilidade do solo (BETT *et al*, 1999).

O óleo de canola tem um alto percentual de gorduras insaturadas (93%), e menor percentual de gordura saturada (7%). O principal ácido graxo encontrado no óleo de canola é o ácido oléico, em torno de 70% (PEDERSSETTI, 2008).

As utilidades são na produção de grãos, produção de óleos comestíveis, produção de óleos para biocombustíveis para transesterificação, produção de farelo para ração, estruturação e aeração de solos, rotação de culturas (CONAB, 2010).

As vantagens do cultivo da canola é o uso do nitrogênio residual, interrupção do ciclo de doenças fúngicas do trigo e milho (giberela, glomerela, septória e cercosporiose), controle de ervas daninhas, tolerância ao estresse hídrico (CONAB, 2010).

A estabilidade de óleo de canola é limitada principalmente pela presença de ácido linolênico, clorofila, e seus produtos de decomposição e outros componentes tais como pequenas quantidades de ácidos graxos com mais de três duplas ligações. Estes ácidos graxos altamente insaturados podem possivelmente ser formados durante refino e branqueamento. A presença de 7% a 11% de ácido linolênico na composição do óleo de canola coloca este óleo na mesma categoria que o óleo de soja em relação a sabor e estabilidade oxidativa (FUENTES, 2011).

O plantio da canola constitui uma alternativa para a diversificação de cultivos de inverno, pois reduz a ocorrência de doenças, contribuindo para que o trigo semeado no inverno seguinte produza mais, tenha maior qualidade e menor custo de produção (PEDERSSETTI, 2008).

## 2.4 COMPOSIÇÃO EM ÁCIDOS GRAXOS

Os óleos vegetais podem ser classificados de várias maneiras, sendo uma delas a classificação por composição de ácidos graxos. A lista dos ácidos graxos naturais é superior a 1000, mas os de interesse comercial estão limitados a um menor número, a cerca de 20. Nos óleos vegetais três ácidos graxos são dominantes: palmítico, oleico, linoleico e por vezes acompanhado de ácido esteárico e pelo ácido linolênico (FUENTES, 2011).

Os ácidos graxos são moléculas constituídas por cadeias hidrocarbonadas, com vários comprimentos e graus de insaturação, contendo um grupo carboxila numa das extremidades (ALVES, 2010).

Na Tabela 2, são apresentados alguns grupos de ácido graxos, e onde podem ser encontrados.

**Tabela 2.** Grupos de óleos vegetais por tipo de ácido graxo

Ácido Graxo	Óleo Vegetal	Estrutura Química
Láurico	Óleo de Palmeira	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$
Palmítico	Óleo de Palmeira	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$
Oléico	Azeite de oliva, óleo de canola, óleo de soja	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
Linoléico	Óleo de soja e óleo de canola	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3(\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH})_2(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
Linolênico	Óleo de linhaça, canola e soja	$\text{CH}_3(\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH})_3(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$

Fonte: GUNSTONE, 2005; UFRGS, 2015.

De acordo com GUNSTONE (2005), os grupos de ácidos graxos mais importantes são:

Oléico e linoleico: grupo mais comum dos óleos vegetais, e indica que outros ácidos graxos estão em menor concentração. O ácido Linoleico contém em sua composição Ômega 6.

Oléico: o óleo de oliva é um importante exemplo de óleo alto oléico (78%). Este óleo é consumido geralmente na forma não refinada, o que mantém naturalmente a matéria insaponificável e inclui valiosos antioxidantes fenólicos.

Alfa linolênico: o mais comum com alto teor de ácido linolênico é o óleo de linhaça (50-60%), mas os óleos de canola e soja são importantes óleos comestíveis

comerciais que contém teores de ácido linolênico de 10% e 8% respectivamente. Este ácido graxo poli-insaturado possui vantagens nutricionais e desvantagens devido à facilidade para sofrer com o processo oxidativo.

As propriedades físicas e químicas de um óleo estão relacionadas principalmente com a sua composição em ácidos graxos, com o grau de insaturação e posição destes na molécula de glicerol e com o comprimento da cadeia carbônica dos mesmos (ALVES, 2010).

A obtenção do óleo vegetal bruto é feita por meio de métodos físicos e químicos sobre as sementes de oleaginosas usando-se um solvente como extrato e prensagem. Nesta fase, o óleo vegetal contém impurezas como ácidos graxos livres, prejudiciais à qualidade e estabilidade do produto, sendo necessário remover estas impurezas, pelos processos de refino que envolve a remoção do solvente, a degomagem, o branqueamento, a neutralização e a desodorização (REDA, 2007).

A estabilidade térmica dos óleos depende de sua estrutura química: óleos com ácidos graxos saturados são mais estáveis do que os insaturados. Como estes óleos são muito utilizados na culinária e na indústria, tem-se exigido de pesquisadores e técnicos especializados, novos métodos analíticos capazes de avaliar as condições de processamento e estocagem, sendo, portanto, de fundamental importância o conhecimento da estabilidade térmica dos óleos vegetais para um rigoroso controle de qualidade (REDA, 2007).

## 2.5 ESPECTROSCOPIA INFRAVERMELHO

A região do infravermelho do espectro eletromagnético pode ser dividida em três partes principais:

Infravermelho próximo (região das harmônicas) 0,8 – 2,5  $\mu\text{m}$  (12500 – 4000  $\text{cm}^{-1}$ ).

Infravermelho médio (região de vibração- rotação) 2,5 – 50  $\mu\text{m}$  (4000 – 200  $\text{cm}^{-1}$ ).

Infravermelho distante (região de rotação) 50 – 1000  $\mu\text{m}$  (200 – 10  $\text{cm}^{-1}$ ) (VOGEL, 2002).

Embora o espectro de infravermelho seja característico da molécula como um todo, certos grupos de átomos dão origem a bandas que ocorrem mais ou menos na mesma frequência, independentemente da estrutura da molécula. É justamente a presença dessas bandas características de grupos que permite ao químico a obtenção, através do exame do espectro e consulta a tabelas, de informações estruturais úteis, e é nesse fato que se baseia para fazer a identificação de estruturas e compostos (SILVERSTEIN *et al.*, 2007).

O objetivo da espectroscopia infravermelho em conjunto com outros dados espectrais é determinar a estrutura molecular (SILVERSTEIN *et al.*, 2007). Neste sentido esta técnica possibilita determinação dos grupos funcionais de um dado material. Cada grupo funcional absorve em frequência característica de radiação no IV. Desta forma, um gráfico de intensidade de radiação *versus* frequência, o espectro de IV, permite caracterizar os grupos funcionais de um padrão ou de um material desconhecido (CIENFUEGOS *et al.*, 2000).

A radiação no infravermelho em frequências inferiores a  $100\text{ cm}^{-1}$ , converte-se, quando absorvida por uma molécula orgânica, em energia de rotação molecular. Na faixa de  $10000$  a  $100\text{ cm}^{-1}$ , converte-se, em energia de vibração molecular. E converte-se em energia rotacional, quando absorvida, na faixa de  $4000$  a  $400\text{ cm}^{-1}$  (SILVERSTEIN *et al.*, 2007).

Os espectros de infravermelho podem ser usados para identificar compostos puros ou para a detecção ou identificação de impurezas. As principais aplicações referem-se a compostos orgânicos, principalmente porque a água, o solvente mais importante para os compostos inorgânicos, absorve fortemente acima de  $1,5\text{ }\mu\text{m}$ . Além disso, os compostos inorgânicos tem numerosas bandas agudas. De uma certa forma, o espectro de absorção no infravermelho pode ser olhado como a impressão digital do composto. Assim, para a identificação de um composto puro, o espectro da substância desconhecida é comparado com os espectros de um número limitado de substâncias sugeridas por outras propriedades. Quando dois espectros são idênticos, a identificação será completa. Este procedimento é especialmente útil na distinção entre dois isômeros estruturais, mas não entre isômeros ópticos (VOGEL, 2002).

O espectro de uma mistura de compostos é essencialmente a soma dos espectros dos componentes, desde que não ocorra associação, dissociação, polimerização ou formação de compostos. Para detectar impurezas em uma

substância, seu espectro pode ser comparado com o espectro da substância pura. As impurezas farão aparecer outras bandas no espectro. O caso mais favorável é quando as impurezas tem grupos característicos que não existem constituintes principal (VOGEL, 2002).

As bases para a aplicação da análise de espectroscopia vibracional em gorduras e óleos foram estabelecidas na década de 1940 e 1950, quando estudos detalhados sobre o IR e NIR foram utilizados como referência (DOBSON, 2001).

Conforme Dobson (2001), numerosos estudos relativos à caracterização, classificação e autenticação de gorduras e óleos comestíveis, por todos os três tipos de vibração espectroscópica tem sido feitos. Embora o espectro de gorduras e óleos puros parecem bastante semelhantes visualmente, refletem a diferenças na composição de ácidos graxos que existem entre diferentes tipos de gorduras e óleos. Estudos detalhados dos espectros de uma grande variedade de gorduras e óleos tem resultado na identificação de bandas específicas ou razão de bandas que pode ser útil na caracterização e classificação de gorduras e óleo.

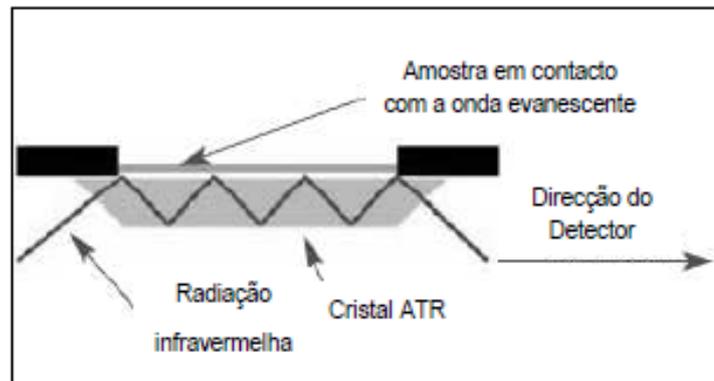
De acordo com esse mesmo autor, a capacidade de distinguir diferentes tipos de óleos com base nas diferenças vibracionais dos espectros levou a investigações sobre o potencial utilidade de IR, NIR, ou espectroscopia de Raman, como um meio de detectar adulteração de óleos. As capacidades destas técnicas são exemplificadas pelo uso bem sucedido de FTIR, em conjunto com discriminante análise, para diferenciar entre extra-virgem e azeites refinados, apesar das fortes semelhanças entre os espectros dos diferentes tipos óleos.

### 2.5.1 Refletância total atenuada (ATR)

O modo de refletância total atenuada (ATR – *Attenuated Total Reflectance*) é usado na análise da superfície de materiais sólidos ou líquidos. É também adequado para a caracterização de materiais que sejam demasiado finos ou que absorvam intensamente quando analisados por espectroscopia de transmitância.

Nesta técnica, a superfície da amostra é colocada em contato com a superfície de um cristal óptico, a radiação infravermelha proveniente da fonte passa através do cristal incidindo várias vezes na superfície da amostra. Quando o ângulo

de incidência na interface amostra/cristal excede o ângulo crítico, a reflexão total interna da radiação ocorre e uma onda é estabelecida na interface. A radiação é refletida através do cristal penetrando na amostra a cada reflexão, ao longo da superfície do cristal, de acordo com a Figura 1 (SANTOS, 2007).



**Figura 1.** Sistema ATR de múltipla reflexão  
Fonte: Santos, 2007

A radiação de penetração é chamada onda evanescente. Se a amostra absorve em certo comprimento de onda evanescente, há uma atenuação do feixe a comprimentos de onda correspondentes às bandas de absorção no infravermelho, originando o espectro (PUCRIO, 2014).

A profundidade de penetração é da ordem de pouco micrômetros e segue a equação 1 (UNICAMP, 2014 - a).

$$d_p = \frac{\lambda}{2\pi n_1 \sqrt{\sin^2 \theta - \frac{n_2^2}{n_1^2}}} \quad (1)$$

Onde:  $d_p$  é definido como a distância necessária para causar um decréscimo na amplitude do campo elétrico por um fator  $e^{-1}$ .

$n_2$  é o meio de maior índice de refração (cristal)

$n_1$  é o meio de menor índice de refração (amostra)

$\theta$  é o ângulo de incidência

$\lambda$  é o comprimento de onda da radiação

Uma limitação do ATR é que o método requer que a amostra tenha um contato íntimo com o elemento refletância interna. O trabalho quantitativo utilizando o ATR é dificultado pelo fato que a refletividade em um dado comprimento de onda é função do índice de refração da amostra, ângulo de polarização de incidência de radiação, bem como da concentração de absorção da espécie (UNICAMP, 2014a).

## 2.6 QUIMIOMETRIA

A quimiometria pode ser definida como sendo a aplicação de métodos matemáticos e estatísticos no planejamento ou otimização de procedimentos e na obtenção de informações químicas através da análise de resultados relevantes (VOGEL, 2002). Permite relacionar medidas num dado sistema (absorvância, refletância) como o estado ou propriedade do sistema (concentração). O objetivo de muitas técnicas quimiométricas é o desenvolvimento de um modelo empírico ou semi-empírico derivado dos dados, usado para estimar uma ou mais propriedades de um sistema a partir de medições de outras propriedades (SANTOS, 2007).

A análise de dados multivariados tem se tornado uma importante área da química e de outras ciências. Isto sugere que a tendência atual do pensamento científico envolve um raciocínio multivariado, principalmente devido ao desenvolvimento tecnológico atingido neste último século (TEÓFILO, 2013).

Atualmente a quimiometria está suficientemente estabelecida e seu uso disseminado. Cada vez mais, metodologias quimiométricas estão sendo aperfeiçoadas e/ou desenvolvidas de maneira direcionada para os problemas de origem química (FERREIRA, *et al.*, 1999).

Informações químicas tais como, voltamograma, espectros, cromatogramas, curvas de titulação e outras fontes podem ser digitalizadas formando uma série de números que podem ser representadas como vetores e matrizes. Na quimiometria, os processamentos destes dados exigem, na maioria das vezes, operações algébricas bem definidas. Portanto, torna-se necessário padronizar as notações e convenções destas operações para em seguida apresentar as metodologias quimiométricas (TEÓFILO, 2013).

Dentre as diversas subáreas da quimiometria pode-se destacar o planejamento de experimentos, o reconhecimento de padrões e a calibração multivariada. Na área de planejamento de experimentos busca-se encontrar quais as variáveis que mais afetam um determinado processo, assim como a interação entre elas. No reconhecimento de padrões, a partir de uma vasta gama de informações (medidas químicas ou espectrais, por exemplo) sobre uma série de objetos, pretende-se encontrar agrupamentos de amostras (objetos) que são similares entre si e, assim, detectar tendências nos dados. A calibração multivariada busca

estabelecer um série de medidas, que relacione as medidas realizadas em uma amostra com uma determinada propriedade (SOUZA; POPPI, 2012).

## 2.7 PRÉ-PROCESSAMENTO DE DADOS

A etapa de pré-processamento dos dados é fundamental para o sucesso da análise multivariada. Os principais objetivos da aplicação das técnicas de pré-processamento são eliminar informações não relevantes do ponto de vista químico e tornar a matriz de dados melhor condicionada para a análise, possibilitando a subsequente análise exploratória do conjunto de dados com eficiência. Existe uma vasta literatura disponível a respeito dos diversos métodos de processamento de dados em espectroscopia. Normalizar os espectros, centrar os dados na média, derivar e suavizar utilizando o algoritmo de Savitzky-Golay e aplicar a correção de espalhamento multiplicativo (MSC, *Multiplicative Scatter Correction*) são alguns dos métodos mais aplicados (SOUZA; POPPI, 2012).

Os Filtros de Savitzky-Golay têm como principais objetivos aumentar a percentagem do sinal face ao ruído existente nos dados originais e derivação dos sinais pela subtração da linha de base com conseqüente melhoria da resolução visual. Esta operação envolve a derivação matemática de uma função, sendo a função o espectro de uma amostra em vários comprimentos de onda. Estes filtros são essencialmente funções locais que são aplicadas a cada espectro sendo posteriormente aplicada a derivada. Em aplicações espectroscópicas a primeira derivada remove as variações aditivas de linha de base do espectro nos perfis espectrais (SANTOS, 2007).

Normalização é um tipo de pré-processamento que tem como objetivo reduzir a influência de variações indesejadas presentes no conjunto de dados, garantindo que cada observação seja representada de forma adequada e consistente. O objetivo da normalização de área total é principalmente reduzir o efeito da intensidade total de perfis de resposta, devido a variações na concentração da amostra e do caminho ótico. A normalização para a área total do espectro é realizada pela divisão de cada variável pela soma dos valores absolutos de todas as variáveis para uma dada amostra (SOUZA; POPPI, 2012).

A centralização na média ou remoção da média envolve a subtração da resposta de cada variável sobre a resposta média dessa variável nos dados em todas as amostras. Esta operação de remoção da média remove a intensidade absoluta da informação de cada variável, tornando-se possível focar-se nas variações da resposta. O objetivo da remoção da média é eliminar dos dados o valor da intensidade de cada variável revelando apenas flutuações dos dados em torno do valor médio (SANTOS, 2007).

A Correção Multiplicativa de Sinal (ou *Multiplicative Scatter Correction*, MSC) é usada em aplicações onde existem variações multiplicativas entre os perfis de resposta das amostras. Estas variações podem ser causadas por diferenças no percurso óptico das amostras ou em consequência de processos de dispersão de luz (SANTOS, 2007).

A Variação de Padrão Normal (ou *Standard Normal Variate Method*, SNV) é utilizada em muitas aplicações espectroscópicas. Este pré-processamento realiza um ajuste aditivo e multiplicativo tal como o MSC, embora os fatores de correção sejam determinados de modo diferente (SANTOS, 2007).

## 2.8 ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA)

A análise dos componentes principais – PCA (do inglês *Principal Component Analysis*) é um método que tem por finalidade básica, a análise dos dados usados visando sua redução, eliminação de sobreposições e a escolha das formas mais representativas a partir de combinações lineares das variáveis originais (VASCONCELOS, 2014).

A PCA é um método que permite a redução da dimensionalidade através da representação do conjunto de dados em um novo sistema de eixos, denominados componentes principais (PC), permitindo a visualização da natureza multivariada dos dados em poucas dimensões. No espaço original, as amostras são pontos localizados em um espaço n-dimensional, sendo n igual ao número de variáveis. Com a redução de dimensionalidade proporcionada pela PCA, as amostras passam a ser pontos localizados em espaços de dimensões reduzidas definidos pelas PCs, por exemplo, bi- ou tridimensionais. Matematicamente, na PCA, a matriz  $\mathbf{X}$  é

decomposta em um produto de duas matrizes, denominadas escores (**T**) e pesos (**P**), mais uma matriz de erros (**E**) (SOUZA; POPPI, 2012). Como mostrado nas equações 2 a 5:

$$x = TP^T + E \quad (2)$$

O primeiro passo para a análise de componentes principais é a formação de uma matriz de variância/covariância dos dados (**Z**) que irá isolar a fonte de variação dos dados (VALDERRAMA, 2005):

$$Z = X_t X \quad (3)$$

Segundo Valderrama (2005), a matriz de covariância é, então, diagonalizada por uma transformação unitária:

$$\Lambda = P^{-1}ZP \quad (4)$$

Em que  $\Lambda$  é uma matriz diagonal cujos elementos são autovalores de **Z**, **P** é a matriz de autovetores, denominada *loadings* (pesos) que formam uma nova base ortonormal que explica a variância dos dados de **X** e a projeção dos dados nessa base é denominada *scores* (escores), (**T**).

$$x = TP^T \quad (5)$$

Onde o conjunto *loadings* e *scores* são denominados de PC (componente principal). Idealmente, o número de PC deveria ser igual ao número de espécies químicas presentes na amostra. Isso permite que técnicas quimiométricas, que empregam PCA, possam ser utilizadas em circunstâncias onde se deseja determinar apenas algumas espécies de interesse em um meio complexo (VALDERRAMA, 2005).

## 2.9 CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA

Na calibração multivariada, busca-se estabelecer um modelo que relacione uma série de medidas (químicas ou espectrais) realizadas em amostras com uma determinada propriedade (concentração, por exemplo). Na literatura podem ser encontrados diversos experimentos didáticos em calibração multivariada, reconhecimento de padrões e planejamento de experimentos (SOUZA; POPPI, 2012).

A calibração multivariada é empregada de forma bastante efetiva justamente nos casos onde existe o problema da superposição de sinais analíticos e para determinações simultâneas. Um modelo é produzido, baseado em todas as informações disponíveis, que consegue fazer uma relação entre todo o sinal analítico e a propriedade de interesse (concentração em muitos casos) (UNICAMP, 2014 - b).

A aplicação da calibração multivariada em química analítica teve um avanço significativo tornando-a tão popular atualmente, com a utilização do método dos mínimos quadrados parciais (partial least squares) ou PLS como é mais conhecido. Com a utilização deste método, muitos problemas de cálculo puderam ser superados e um grande número de aplicações analíticas começaram a aparecer. Mais recentemente, com a utilização de técnicas de inteligência artificial no tratamento de dados químicos, como redes neurais e algoritmos genéticos, certos problemas que ainda não eram resolvidos com a utilização do PLS, como a modelagem de sistemas não lineares, puderam ser suplantados. Isso ampliou ainda mais a aceitação da calibração multivariada em química analítica (UNICAMP, 2014 - b).

O método PLS é assim usado para calibração multivariada onde as variáveis dependentes,  $Y$  (dados analíticos), intervêm diretamente na decomposição, em componentes principais, das variáveis independentes,  $X$  (espectros). O desenvolvimento de um modelo PLS envolve usualmente duas fases. Na primeira fase, a de calibração, são estimados os parâmetros do modelo de regressão multivariada a partir das matrizes conhecidas,  $X$  e  $Y$ . Na segunda fase, a de previsão, o modelo estabelecido é usado num novo conjunto de dados,  $X'$  com o objetivo de prever novos valores,  $Y'$  (sem recurso aos métodos analíticos de referência) (SANTOS, 2007).

De acordo com Santos (2007), neste método pretende-se determinar um número pequeno de variáveis latentes

(LV) ou fatores (semelhantes a PCs), que possibilitem a previsão de Y, ou seja, de valores analíticos, o mais eficientemente possível, usando os valores contidos em X. O PLS utiliza assim fatores que capturem a maior variância dos dados e ao mesmo tempo sejam os que permitem uma correlação máxima entre as variáveis originais e as previstas, maximizando a covariância dos dados.

## 2.10 VALIDAÇÃO CRUZADA

A validação tem por objetivo, verificar o desempenho de um método analítico proposto ou desenvolvido e se este apresenta as condições nas quais será aplicado (ANNUAL BOOK OF ASTM STANDARDS, 2000).

Para determinação do número de componentes principais o método mais utilizado na validação cruzada (CV, Cross Validation), o qual se baseia na habilidade de previsão de um modelo de calibração construído por parte de um conjunto de dados seguido pelo conjunto de validação do restante do conjunto de dados, que é realizada pelo modelo construído. O processo é repetido até que todas as amostras tenham sido previstas e a RMSECV é calculado a partir da Equação 6 (OTTO, 1999; BRERETON, 2000):

$$RMSECV = \frac{\sum_{i=1}^k RMSEPi}{k} \quad (6)$$

Em quem, k é o número de blocos e a raiz quadrada do erro médio de predição (RMSEP) é calculada com a Equação 7:

$$RMSEP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\hat{Y}_i - Y_i)^2}{n}} \quad (7)$$

Onde:

$\hat{Y}_i$  = valores previstos

$Y_i$  = valores de referência para a propriedade de interesse

n = número de amostras de calibração.

O cálculo é realizado para o número de componentes de 1 até A, e os resultados de RMSECV são plotados em um gráfico em função do número de PCs. O comportamento típico para esses gráficos é a observação de um mínimo ou um patamar, que indica a melhor dimensionalidade do modelo de regressão, o melhor número de PCs que produziu o menor erro de previsão sem perda significativa da variância dos dados (OTTO, 1999; BRERETON, 2000).

## 2.11 OUTLIERS

*Outliers* é o termo empregado para indicar amostras anômalas que podem estar presentes nos conjuntos de calibração e de validação, que serão utilizados na construção e validação de um modelo de calibração multivariada. Normalmente, essas amostras anômalas possuem um comportamento desigual das demais amostras do conjunto de dados (VANDEGINSTE *et al*, 1998).

A presença das amostras anômalas no conjunto de calibração pode acarretar modelos com baixa capacidade de previsão e quando presente no conjunto de validação, influenciam nos resultados e apontam que o modelo não é adequado ou que sua capacidade é inferior à que poderia ser apresentada na ausência destas amostras anômalas. Identificar as anomalias é um etapa imprescindível no processo de otimização de calibração e validação, sendo que, a exclusão destes permite a construção de modelos mais eficientes, precisos e com melhor capacidade de previsão (MARTENS; NAES, 1996).

Os *outliers* na calibração são avaliados com base no *leverage* extremo, este representa o quão distante a amostra está da média do conjunto de dados, ou seja, o peso relativo de uma amostra em relação às demais presentes em um mesmo conjunto. O *leverage* mede o quanto o espectro de uma amostra difere dos espectros das demais amostras presentes no conjunto de dados. Podendo ser representado pela Equação 8:

$$h_i = \hat{t}_i^T (\hat{T}^T \hat{T})^{-1} \hat{t}_i \quad (8)$$

Onde:

T= são os *scores* de todas as amostras de calibração

$T_i$  = é o vetor de scores de uma amostra em particular.

Amostras com altos valores de  $h$  podem ser consideradas como amostras anômalas. De acordo com a ASTM E1955-0061, amostras com  $h > 3k/n$ , onde  $n$  corresponde ao número de amostras da calibração, devem ser removidas do conjunto de calibração, e o modelo deve ser reconstruído. É comum um novo espectro apresentar  $h > 3k/n$  após a construção do novo modelo, quando aplicações repetidas do teste continuam a apresentar  $h > 3k/n$  identificando novas amostras como sendo *outliers*, um fenômeno conhecido como “*snowball*” (efeito bola de neve) pode acontecer. Se este fenômeno ocorrer, é indicativo de que algum problema com a estrutura dos dados espectrais pode acontecer. O espaço das variáveis do modelo podem ser examinados por uma distribuição de “*clusterings*” (agrupamentos) não usual. Se for observado a ocorrência de “*snowball*” na sequência de desenvolvimento dos modelos, o teste para identificação de *outliers* com base no *leverage* pode ser realizado. Um primeiro modelo é construído a partir do conjunto de calibração inicial, então espectros de calibração com  $h > 3k/n$  são eliminados do conjunto de calibração, assim, um segundo modelo usando o mesmo número ( $k$ ) de variáveis latentes é construído com o subconjunto de espectros de calibração e os espectros de calibração com  $h > 3k/n$  são identificados no segundo modelo. O segundo modelo pode ser utilizado como critério de parada do teste para identificação de *outliers* baseado no *leverage*, desde que as amostras de calibração apresentem valor de  $h$  menor do que 0,5 (ANNUAL BOOK OF ASTM STANDARDS, 2000).

Com relação aos resíduos não modelados na variável dependente, os *outliers* são identificados através da comparação de Raiz Quadrada do Erro Médio (RMSEC, Root Mean Squadre Error) com o erro absoluto da amostra. Se a amostra apresentar erro absoluto 3 vezes maior do que RMSEC, esta é definida como sendo um *outlier* (MARTENS, NAES, 1996). O RMSEC é determinado com a Equação 9:

$$\text{RMSEC} = \frac{1}{n-A-1} \sqrt{\sum_{i=1}^n (Y_i - \hat{Y}_i)^2} \quad (9)$$

Onde:

$Y_i$  = é o valor de referência

$\hat{Y}_i$  = é o valor estimado

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 MATERIAIS

Foram utilizados azeite de oliva extra virgem e óleo de canola, adquiridos no comércio da cidade de Toledo. As misturas foram preparadas em frascos *ependorf* e em tubos de ensaio.

#### 3.2 EQUIPAMENTOS

Na etapa de pesagem das amostras, utilizou-se a balança analítica Shimadzu, modelo AY220 e micropipeta HTL (100 a 1000  $\mu\text{L}$ ), modelo HT65. Para realizar a homogeneização das amostras, usou-se o agitador de tubos de ensaio Phoenix, modelo AP56. Na fase de obtenção dos espectros, utilizou-se um espectrofotômetro infravermelho Perkin Elmer, modelo Spectrum 65, com módulo de refletância total atenuada.

#### 3.3 MÉTODOS

As análises foram realizadas no laboratório de Análise Instrumental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Toledo.

Preparou-se misturas de azeite de oliva e óleo de canola nas proporções de 0,00 a 100,00 % (m/m), em duplicata. Os espectros foram obtidos com espectrofotômetro infravermelho Perkin Elmer, modelo Spectrum 65, com acessório de refletância total atenuada, na faixa de 650 a 3500  $\text{cm}^{-1}$ , com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ , sendo realizadas 40 varreduras para a aquisição do espectro. Para cada replicata das amostras foram obtidos dois espectros.

Os espectros tiveram seus dados normalizados, para a absorvância máxima de 1,0. O conjunto de amostras foi dividido em conjunto de calibração, com 73

amostras e conjunto de validação, com 23 amostras, por meio do algoritmo de Kennard-Stone. Para essa etapa foi utilizado o software MATLAB versão 7.8.0, com pacote SPA\_GUI.

A seguir, o espectro foi dividido em segmentos que variaram de 1 a 100, sendo aplicada a correção do espalhamento multiplicativo (MSC) e a centralização dos dados na média, respectivamente, para cada intervalo da segmentação. Um modelo de calibração por mínimos quadrados parciais foi desenvolvido para cada intervalo das segmentações, com o número de variáveis latentes (VLs) sendo determinado através dos resultados da RMSECV. Na validação cruzada do modelo, o conjunto de amostras foi dividido em 15 blocos. Para cada segmentação do espectro foi determinado o intervalo que resultou no menor valor de RMSECV. A partir destes 100 intervalos foi selecionado o intervalo que apresentou o menor valor para a RMSECV. Para o pré-processamento do espectros e a obtenção dos modelos foi utilizado software MATLAB versão 7.8.0, com pacote iToolbox.

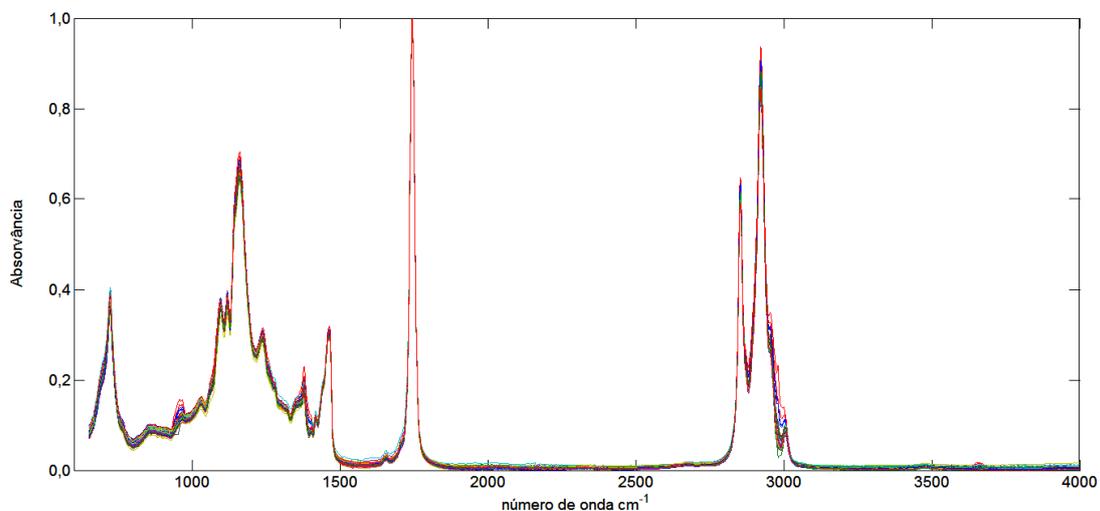
A avaliação de amostras anômalas (*outliers*) foi realizada por meio dos resíduos estudentizados e do *leverage* extremo, sendo considerados *outliers* as amostras cujos valores de *leverage* ( $h$ ) foram maiores que  $3k/n$ , onde:  $k$  = número de variáveis latentes e  $n$  = número de amostras de calibração. Em seguida, foi obtido um novo modelo, que foi novamente submetido ao teste para identificação de *outliers* baseado no *leverage*, sendo empregado como critério de parada do teste, a condição em que todas as amostras apresentem valor menor que 0,5 para  $h$  (ANNUAL BOOK OF ASTM STANDARDS, 2000).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 ESPECTROCOPIA NO INFRAVERMELHO MÉDIO

Os espectros na região do infravermelho médio das misturas de azeite de oliva e óleo de canola foi caracterizado por bandas intensas nas regiões de 723, 1159, 1745, 2924  $\text{cm}^{-1}$  (Figura 2). Na região de 723  $\text{cm}^{-1}$  apresenta uma sobreposição no balanço de  $\text{CH}_2$  e uma vibração de *cis*. De acordo com VLACHOS (2006) de 1163 a 1238  $\text{cm}^{-1}$  ocorre vibração de estiramento característico do grupo de ésteres. Na faixa de 1654 a 1746  $\text{cm}^{-1}$  apresenta-se bandas de ester carbonila comum no grupo funcional de triglicerídeos, ácidos graxos livres, uma vibração de estiramento *cis* e uma vibração de estiramento *cis* do grupo  $\text{CH}_2$  alifático da ligação dupla (CH) simétrica e assimétrica.

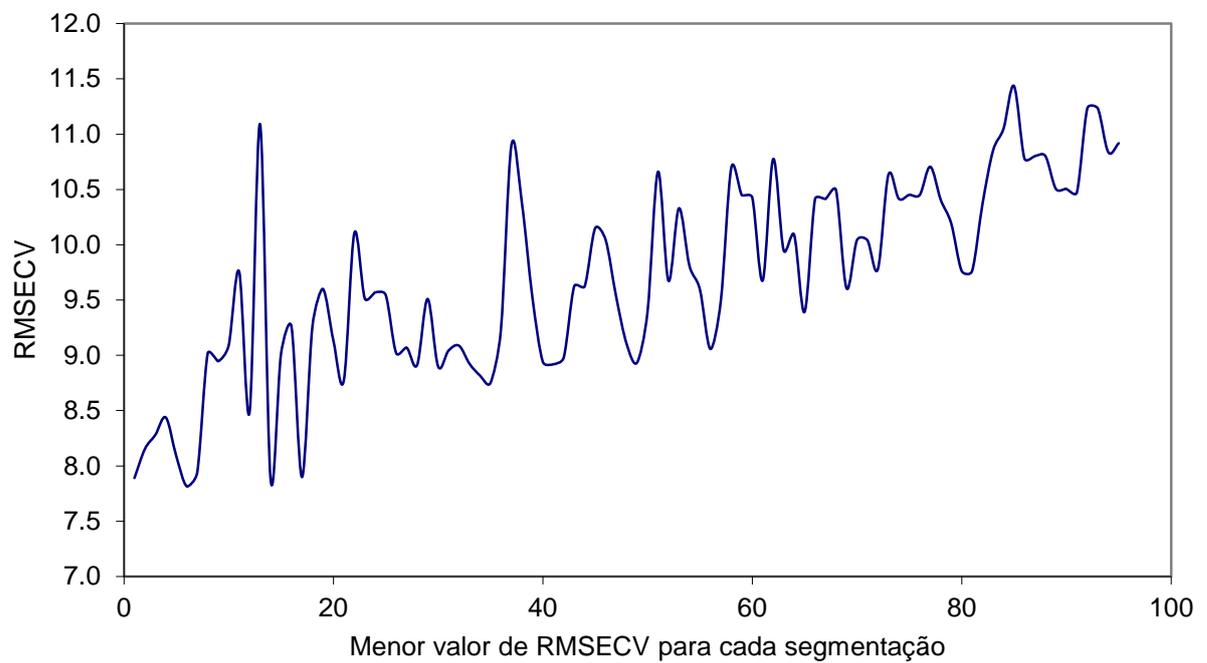
A região de 2850 a 3025  $\text{cm}^{-1}$  é dominada por bandas fortes, que são características das absorções dos estiramentos  $-\text{CH}$  dos grupos metila e metileno, presentes nas cadeias dos ácidos graxos. A banda observada em 3010  $\text{cm}^{-1}$  está relacionada com o estiramento dos carbonos envolvidos em duplas ligações (CH=CH) com a configuração *cis*. A absorção correspondente à duplas ligações na configuração *trans* ocorre em frequências maiores, mas com baixa intensidade (DOBSON, 2001).



**Figura 2.** Espectro infravermelho das misturas de azeite de oliva e óleo de canola

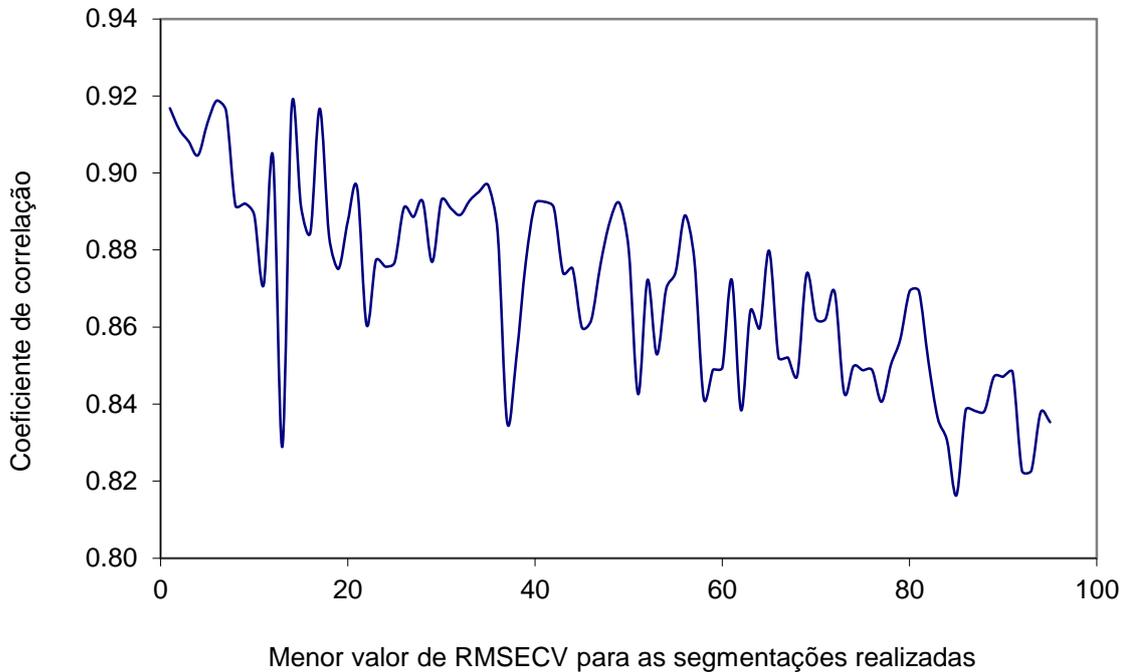
## 4.2 CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA

As análises realizadas por iPLS nas segmentações de 1 a 100, possibilitaram determinar para cada segmentação, qual foi o intervalo que apresentou menor valor para a raiz quadrada do erro médio quadrático de validação cruzada (RMSECV) e maior valor para o coeficiente de correlação (Figuras 3 e 4).



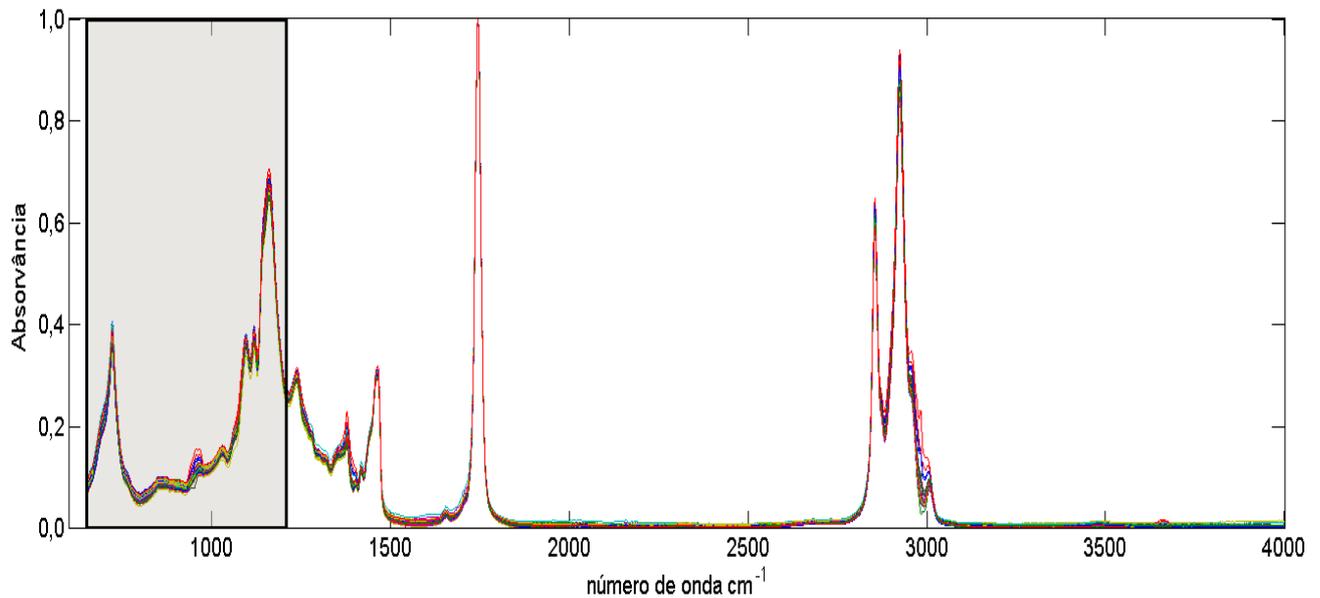
**Figura 3.** Valores mínimos de RMSECV obtido para cada segmentação

Os valores de RMSECV variaram de 7,8144 a 11,089, com o intervalo 6, da sexta segmentação, apresentando o menor valor de RMSECV. O coeficiente de correlação (R) variou de 0,8163 a 0,9188.



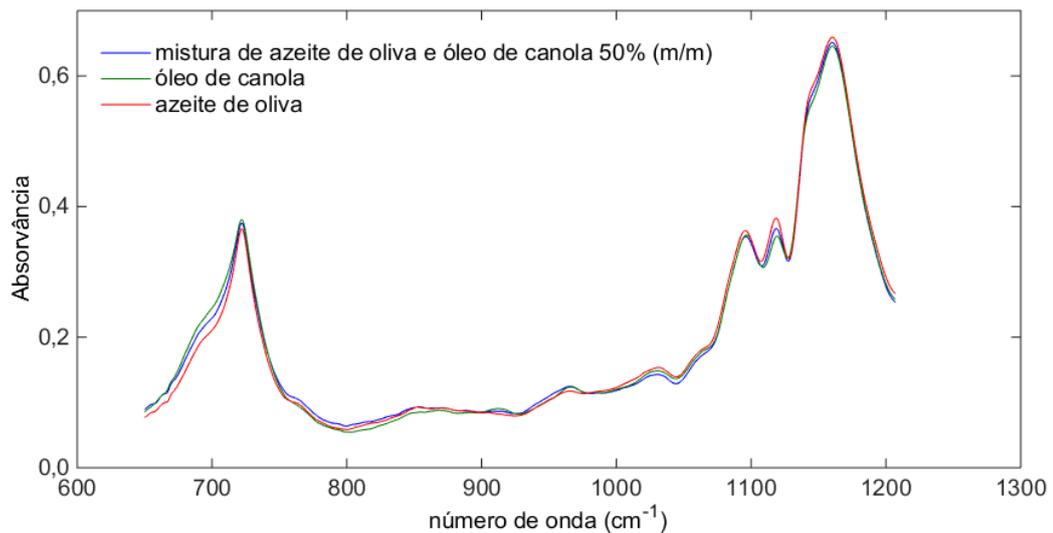
**Figura 4.** Valores máximos do coeficiente de correlação para as segmentações realizadas

A seleção de variáveis realizada pelo método iPLS resultou no intervalo de 650 a 1208  $\text{cm}^{-1}$ , conforme pode ser observado na Figura 5. Nessa região é predominante a absorção relativa ao primeiro sobretom dos grupos C-H presente nos lipídeos. É característico a vibração de estiramento do grupo éster, sobreposição do balanço CH<sub>2</sub> (VLACHOS *et al*, 2006).



**Figura 5.** Espectros no infravermelho para misturas de azeite de oliva e óleo de canola, destacando a região espectral selecionada para a aplicação da calibração por PLS

Esta região é caracterizada pelas vibrações moleculares que podem ser elas de dois tipos: deformações axiais e deformações angulares. Quando a deformação ocorre na direção do eixo da molécula, a distância interatômica aumenta e diminui alternadamente e o modo de vibração é denominado estiramento ou deformação axial. As vibrações de deformação angular correspondem ao movimento de um grupo de átomos em relação ao resto da molécula, sem que as posições relativas dos átomos do grupo se alterem. Essas deformações recebem a denominação de deformação angular simétrica e assimétrica no plano e deformação angular simétrica e assimétrica fora do plano, conforme figura 6 (SILVERSTEIN,2007).

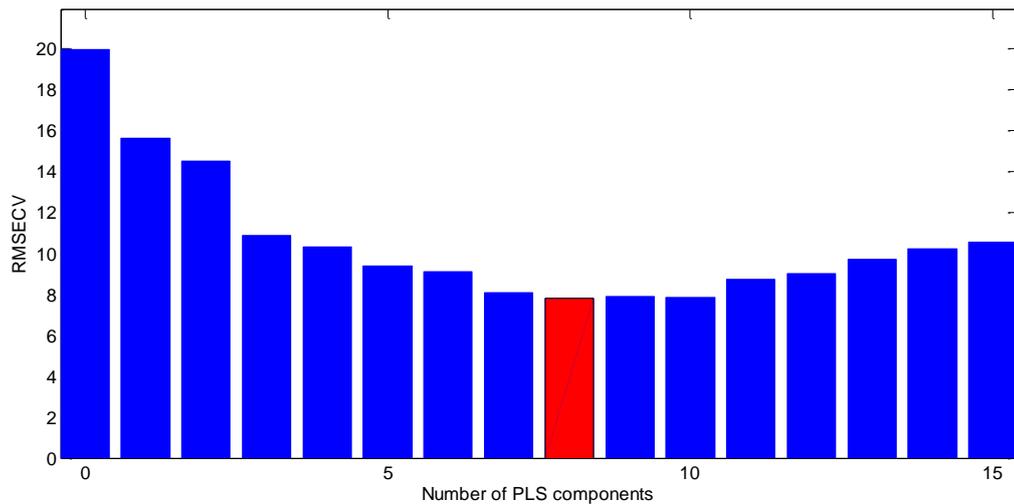


**Figura 6.** Espectro representativo das amostras de azeite de oliva puro, do óleo de canola puro e de uma mistura de 50% de azeite de oliva com óleo de canola

É possível verificar a diferença entre os espectros das amostras na região de aproximadamente  $690 \text{ cm}^{-1}$ , nessa região para o azeite de oliva puro foi obtida a menor intensidade, seguido pela mistura de azeite de oliva com óleo de canola ao nível de 50 % e pelo óleo de canola puro, onde ocorrem as vibrações de estiramento do grupo  $\text{CH}_2$ .

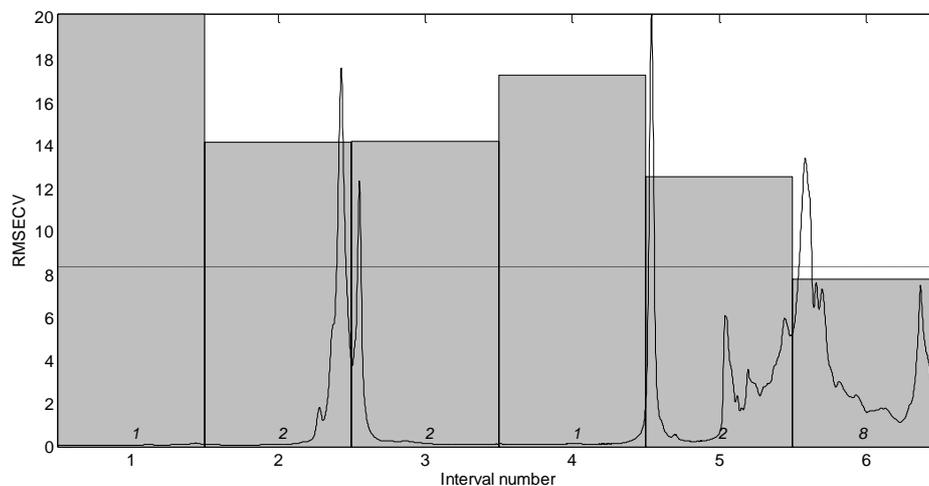
Outra região que pode ser observada diferença de intensidade entre os espectros, é a região de aproximadamente  $1050 \text{ cm}^{-1}$ , onde o pico de menor intensidade é representado pela banda óleo de canola puro, seguida das misturas e azeite de oliva puro, ocorrendo sobreposição do grupo  $\text{CO}$ .

A determinação do número de variáveis latentes (VL) a serem utilizadas na calibração por PLS, para o intervalo espectral selecionado, foi realizada com base no valor de RMSECV obtido para cada modelo, com o número de VL variando de 1 a 15 (Figura 7).



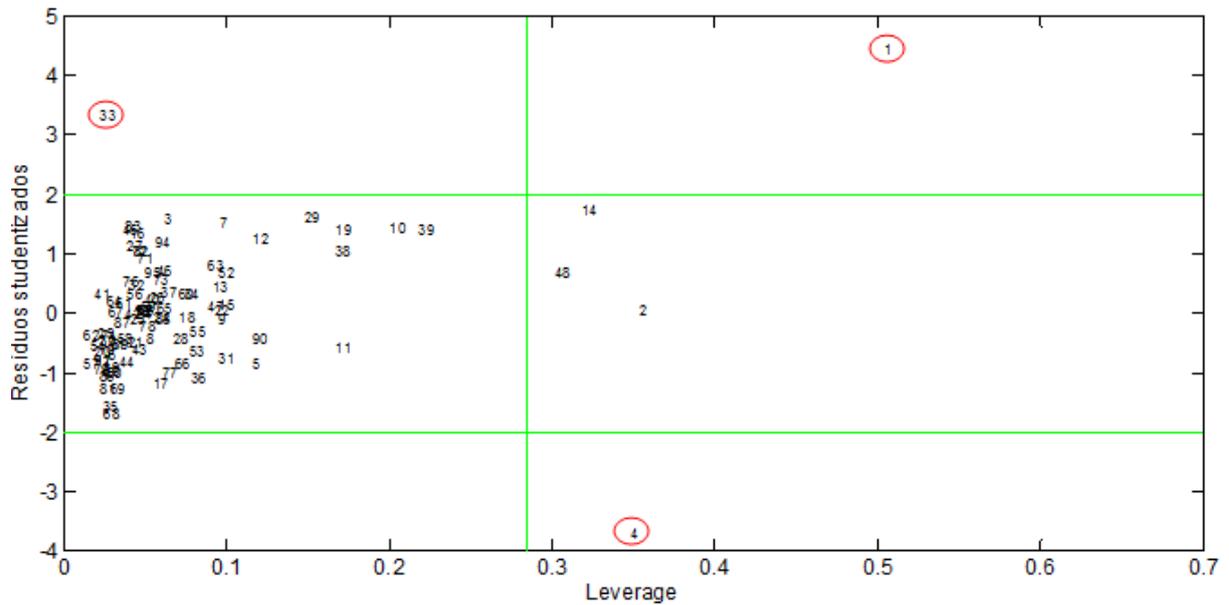
**Figura 7.** Valores de RMSECV para os modelos PLS com 1 a 15 VL, obtidos para o intervalo 6 da sexta segmentação.

O modelo com 8 VL apresentou um menor valor de RMSECV (7,814) que o modelo global, que utilizou todo o espectro, cujo valor de RMSECV foi 8,1906 (Figura 8).



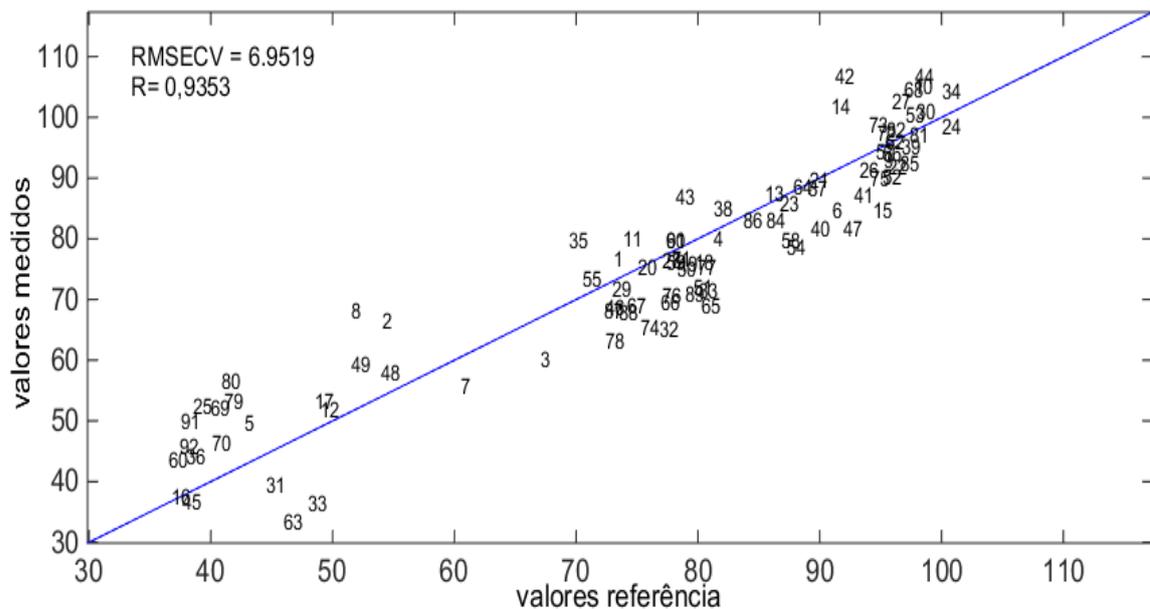
**Figura 8.** Comparação entre os valores de RMSECV para os modelos global (linha pontilhada) e para os modelos da sexta segmentação

A avaliação da presença de *outliers* no conjunto de calibração, indicou que as amostras 1 e 4 apresentaram valor de *leverage* superior ao valor crítico (0,284), tendo os seus resíduos estudentizados fora do intervalo aceito para os resíduos [-2, 2] (Figura 9). A amostra 33 apresentou o valor para o resíduo estudentizado que esteve bem acima ao valor crítico, sendo excluída conjunto de calibração, juntamente com as amostras 1 e 4.



**Figura 9.** Gráfico leverage VS resíduos estudentizados

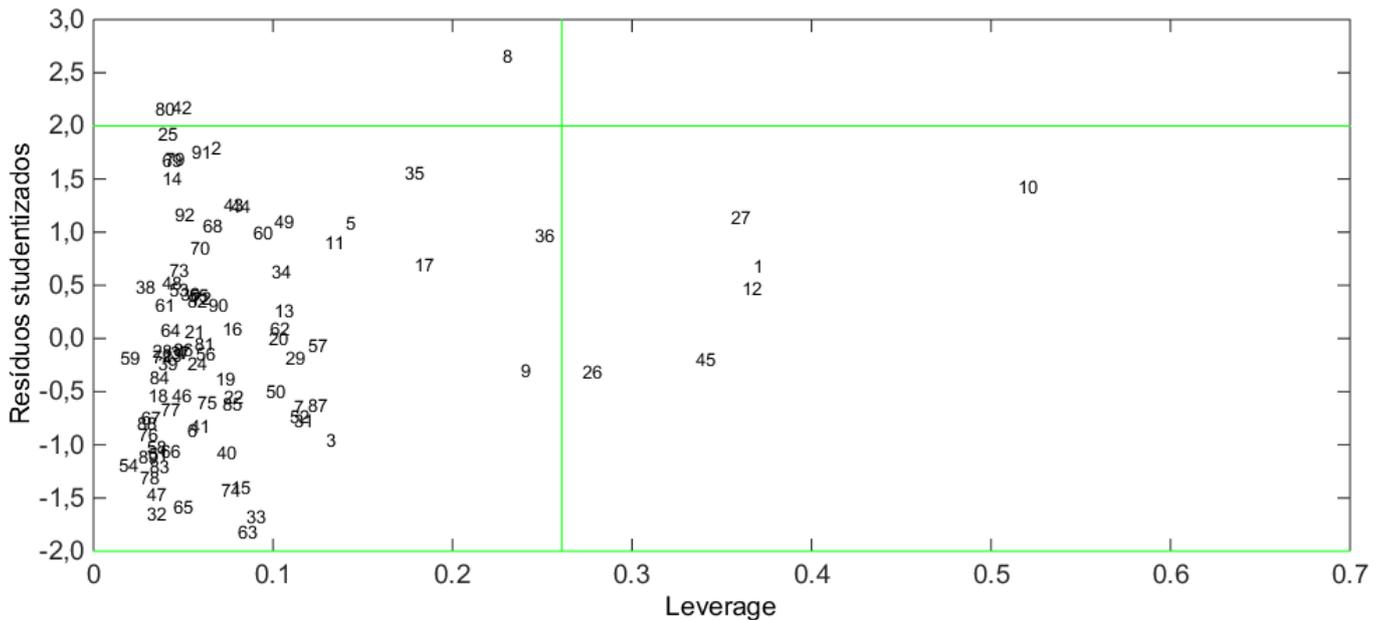
O novo modelo obtido para o intervalo 6, da sexta segmentação, utilizou 7 VL e apresentou os valores de 6,952 e 0,9353, respectivamente, para o RMSECV e coeficiente de correlação (Figura 10). A comparação com o modelo anterior, tendo a presença das amostras 1, 4 e 33, indicou que ocorreu a diminuição do valor de RMSECV e o aumento do coeficiente de correlação.



**Figura 10.** Valores de referência vs Valores previstos pelo modelo de calibração

A avaliação dos resíduos estudentizados e da *leverage* para o novo modelo indicou que a amostra 10 teve o valor de *leverage* de 0,515 (Figura 11). Após a

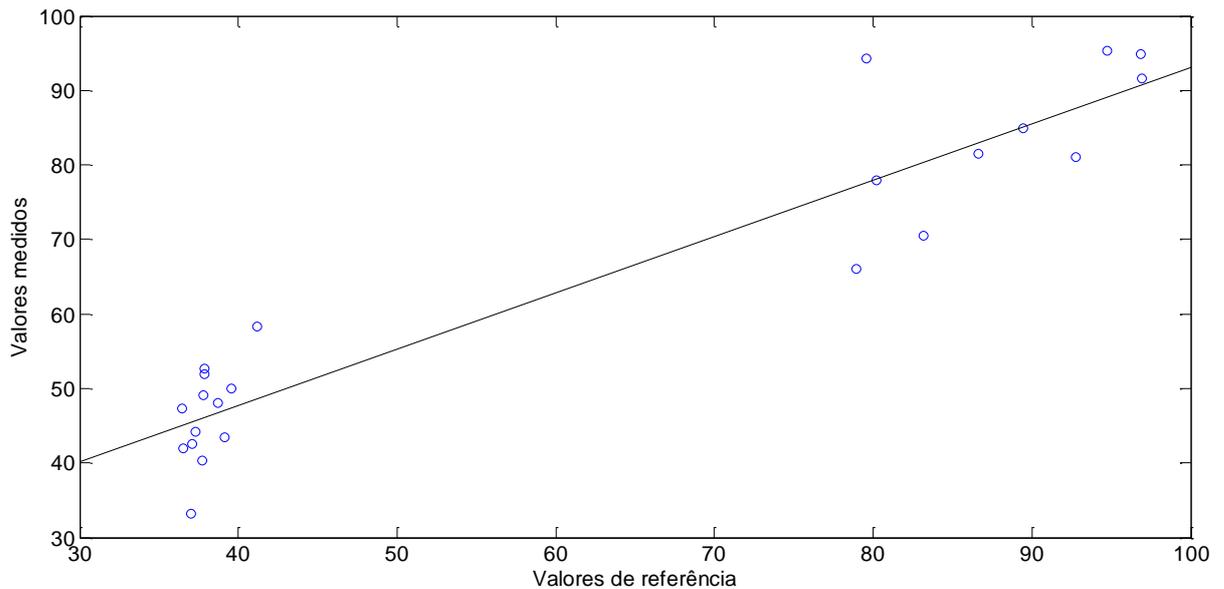
exclusão dessa amostra foi obtido um modelo, cujos os valores de RMSECV e R, foram respectivamente de 6,970 e 0,9350. Assim, devido ao aumento do valor de RMSECV e da diminuição de R, a amostra 10 foi mantida no conjunto de calibração.



**Figura 11.** Gráfico leverage VS resíduos estudentizados, após remoção de outliers

A capacidade preditiva do modelo foi avaliada pelo conjunto de validação, constituído de 23 misturas, cujos teores de óleo de canola variaram de 37,1 a 97,0%. A exatidão foi estimada pela determinação da raiz quadrada do erro médio de predição (RMSEP), cujo valor foi 9,47. Também foi determinado o valor da raiz quadrada do erro médio de calibração (RMSEC), que foi 7,28. O valor de R entre o valores de referência e os valores preditos pelo modelo, para o conjunto de calibração foi 0,9466 (Figura 12).

Maggio et al (2010) desenvolveram um método para determinação dos seguintes adulterantes de azeite de oliva extravirgem: óleo de canola, óleo de avelã, óleo de girassol e o óleo obtido da torta da azeitona após a extração por prensagem. Os autores utilizaram a espectroscopia no infravermelho médio e a calibração por PLS, centrando na média e realizando a derivada primeira dos espectros. Para a adulteração com óleo de canola a faixa de concentração do óleo de canola variou de 10,0 a 50,0%. O coeficiente de correlação entre os valores de referência e os preditos pelo modelo foi 0,9996.



**Figura 12.** Valores de referência vs Valores previstos pelo modelo de validação

Em outro estudo, MILDNER e JELEN (2010) desenvolveram um método para quantificar óleo de colza e girassol em misturas com azeite de oliva extra virgem, foi utilizada a micro extração em fase sólida com headspace acoplada a espectrometria de massas e calibração PLS. Para o modelo obtido na determinação de óleo de colza o coeficiente de correlação foi de 0,9940.

A comparação do coeficiente de correlação entre os valores de referência e os preditos pelo modelo, obtido no presente estudo com o valor descrito por Maggio et al (2010) indicou que valor encontrado foi 5,30% menor. Considerando que estes autores utilizaram o método por espectrometria de massas e o utilizado no presente estudo foi por espectrometria infravermelho, com custo inferior ao de massas e também realizaram a primeira derivada no pré-processamento dos espectros, o que não realizado neste estudo, a diferença observada para o coeficiente de correlação deve ter sido influenciada pelo método e o pré-processamento dos espectros. O presente trabalho mostra um coeficiente de correlação de 0,9466.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os espectros obtidos para o azeite de oliva, óleo de canola e as suas misturas, apresentaram diferença na região de aproximadamente  $690\text{ cm}^{-1}$ . Outra região em que ocorreram diferenças de intensidade foi ao redor de  $1050\text{ cm}^{-1}$ , com a menor intensidade para o óleo de canola, seguido das misturas e do azeite de oliva puro.

Para a calibração multivariada a aplicação do iPLS permitiu demonstrar que a região do infravermelho médio, de  $650$  a  $1208\text{ cm}^{-1}$  resultou no menor erro associado a validação cruzada. O modelo obtido demonstrou uma capacidade preditiva razoável, quando comparado a literatura, visto que o coeficiente correlação apresentou um valor menor e o RMSECV um valor maior, devido possivelmente as diferenças no método de pré-processamento dos espectros.

## 7 REFERÊNCIAS

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 de mestrado. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2010.

ANTONIASS, R., *et al.* **Avaliação das características de identidade e Qualidade de amostras de azeite de oliva.** Braz. J. Food Technol., Campinas. 1998.

ANNUAL BOOK OF ASTM STANDARDS. **Standards practices for infrared, multivariate, quantitative analysis.** E1655.nASTM International, West Conshohocken, Pennsylvania, USA. 2000

AUED-PIMENTEL, Sabria *et al.* **Determinação da diferença entre o valor real e o teórico do triglicérideo ECN 42 para a detecção de adulteração em azeites de oliva comercializados no Brasil.** Quim. Nova, Vol. 31, No. 1, 31-34, 2008 – São Paulo.

BETT, Vanderlei, *et al.* **Desempenho e digestibilidade *in vivo* de cordeiros alimentados com dietas contendo canola em grão integral em diferentes formas.** Revista Brasileira Zootecnia. vol.28 no.4 Viçosa Jul/Ago 1999

BRASIL, 1977. RESOLUÇÃO Nº 22/77 DE 6 DE SETEMBRO DE 1977. **Estabelece padrão de identidade e qualidade para os óleos e gorduras comestíveis, destinados à alimentação humana.**

BRASIL, 2005. **RESOLUÇÃO RDC nº 270, de 22 de setembro de 2005 – ANVISA.** Disponível em:  
<[http://www.oliva.org.br/pdf/RDC\\_270\\_2005\\_oleos\\_gorduras\\_vegetais\\_azeite\\_de\\_oliva.PDF](http://www.oliva.org.br/pdf/RDC_270_2005_oleos_gorduras_vegetais_azeite_de_oliva.PDF)> Acesso em: 09/dez/2013

BRERETON, R. G. **Introduction to multivariate calibration in analytical chemistry, Analyst.** v. 125, p. 2125-2154. 2000.

CARDOZO, C. M. M *et al.* **Perfil de ácidos graxos de azeites de oliva obtidos de variedades cultivadas em Bagé/RS.** Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2012.

CERQUEIRA, F. M *et al.* **Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas.** Química Nova, vol.30, no.2. São Paulo Mar/Abr. 2007

CIENFUEGOS, Freddy; VAITSMAN, Delmo. **Análise instrumental.** Rio de Janeiro: Interciência, 2000. 606 p.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION - FAO/WHO, **Codex Alimentarius, Fats, Oils and Related Products.** 2.ed. Roma: Secretariat of the Joint FAO/WHO Food Standards Programme, FAO, Roma, 1993. v.8, 133p

**CONAB. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – Canola, 2010.** Disponível em:

<[http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/camaras\\_setoriais/Oleaginosas\\_e\\_biodiesel/10\\_reuniao/Apresentacao.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/camaras_setoriais/Oleaginosas_e_biodiesel/10_reuniao/Apresentacao.pdf)> Acesso em: 09/dez/2013

DOBSON, Gary. **Spectroscopy and spectrometry of lipids – Part 1.** Scottish Crop Research Institute, Invergowrie, Dundee (DD2 5DA), United Kingdom. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 815–840. 2001.

**EMBRAPA, Cultivo de Oliveira (Olea europaea L.). Disponível em:** <[http://www.cpact.embrapa.br/publicacoes/catalogo/tipo/sistemas/sistema16\\_novo/11\\_mercados\\_e\\_comercializacao.htm](http://www.cpact.embrapa.br/publicacoes/catalogo/tipo/sistemas/sistema16_novo/11_mercados_e_comercializacao.htm)> Acesso em: 11/dez/2013a

**EMBRAPA. Definição e Histórico de Canola.** Disponível em:

<<http://www.cnpt.embrapa.br/culturas/canola/definicao.htm>> Acesso em: 09/dez/2013b

EVANGELISTA, José. **Alimentos: um estudo abrangente.** São Paulo, SP: Atheneu, 2005. 450 p.

FERREIRA, M. C. *et al.* **Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial.** Química Nova. vol.22, n.5. São Paulo; Set./Out. 1999

FUENTES, P. H.A. **Avaliação da qualidade de óleos de soja, canola, milho e girassol durante o armazenamento.** Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de pós-graduação em ciências dos alimentos. Florianópolis, 2011.

GUNSTONE, Frank D. **Vegetable Oils.** In: SHAHIDI, Fereidoon. **Bailey's Industrial Oil & Fat Products: Edible Oil & Fat Products Chemistry, Properties & Health Effects.** 6. ed. New Jersey: Wiley Interscience, 2005. v.1. Cap. 6, p. 213-268.

HORWITZ, W. **Pure Appl. Chem.** 1995.

**INMETRO. Azeite de Oliva II.** Disponível em:  
<<http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/azeite2.asp>> Acesso em:  
11/dez/2013

KENNARD, R. W; STONE, L. A. **Technometrics.** p. 11-137. 1969.

MARTENS, H; NAES, T. **Multivariate calibration.** New York: Wiley, 1996.

MAGGIO, R.M. *et al.* **A novel chemometric strategy for the estimation of extra virgin olive oil adulteration with edible oils.** Food Control. Vol. 21. Pág. 890–895. 2010

MELLO, L. D; PINHEIRO, F. M. **Aspectos físico-químicos de azeites de oliva e de folhas de oliveira provenientes de cultivares do RS, Brasil.** Alim. Nutr., Araraquara, v. 23, n. 4, p. 537-548, out./dez. 2012

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Secretaria de Defesa Agropecuária.** Instrução Normativa Nº 24, Brasil, 2009.

MILDNER, S.S; JELEN, H.H. **Detection of olive oil adulteration with rapeseed and sunflower oils using mos electronic nose And SMPE-MS.** Journal of Food Quality. Vol. 33. Pág. 21–41.2010

**OLIVA. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTOS IMPORTADOS E COMERCIANTES DE AZEITE DE OLIVEIRA.** Disponível em:  
<<http://www.oliva.org.br/conhecendo-o-azeite.php>> Acesso em: 11/dez/2013

OLIVEIRA, Samuel M, *et al.* **Estudo da adulteração de azeite de oliva extra virgem com óleo de milho utilizando ESI-MS e PLS.** Sociedade Brasileira de Química, Laboratório de Quimiometria do Triângulo, Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, MG, 2009.

OTTO, M. **Chemometrics.** Weinheim: Wiley. 1999.

PEDERSSETTI, Márcia M. **Análise dos efeitos da temperatura e pressão na extração supercrítica do óleo essencial de canola com dióxido de carbono supercrítico e n- propano pressurizado.** Programa de pós-graduação “stricto sensu” em Engenharia Química – nível de mestrado. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Toledo, 2008.

PEDRO, A.M.K. **Determinação simultânea e não-destrutiva de sólidos totais e solúveis, licopeno e beta-caroteno em produtos de tomate por espectroscopia no infravermelho próximo utilizando calibração multivariada.** Unicamp, p. 81. Campinas, 2004.

PEIXOTO, E. R. M, *et al.* **Avaliação dos índices de identidade e qualidade do azeite de oliva — Proposta para atualização da legislação brasileira.** Ciênc. Tecnol. Aliment. vol. 18 n. 4 Campinas Oct./Dec. 1998.

PEREIRA, A. F. C. **Determinação simultânea de acidez, índice de refração e viscosidade em óleos vegetais usando espectrometria NIR, calibração multivariada e seleção de variáveis.** Programa de pós-graduação em química – Dissertação de mestrado. Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 2007.

**PUCRIO. Espectroscopia no Infravermelho.** Disponível em:  
<[http://www2.dbd.pucrio.br/pergamum/tesesabertas/0114349\\_03\\_cap\\_03.pdf](http://www2.dbd.pucrio.br/pergamum/tesesabertas/0114349_03_cap_03.pdf)>  
Acesso em: 02/fev/2014.

REDA, S.Y. **Óleos e gorduras: aplicações e implicações.** Universidade Federal do Paraná. Pós-graduação em Processos Biotecnológicos – Doutorado. Revista Analytica - Fevereiro/Março 2007.

RINNAN, A; VAN DEN BERG; ENGELSEN, S. B. **TrAC – Trends Anal. Chem.** 2009

SANTOS, M.F.P. **Desenvolvimento e validação de métodos espectroscopia no infravermelho próximo e médio para caracterização de lamas de ETAR para uso agrícola.** Universidade Técnica de Lisboa. 2007

SILVERSTEIN, Robert M.; WEBSTER, Francis X.; KIEMLE, David J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos.** 7. ed. Rio de Janeiro, RJ: LTC, 2007. xiv, 490 p.

SOUZA, A.M; POPPI, R.J. **Teaching experiment of chemometrics for exploratory analysis of edible vegetable oils by mid infrared spectroscopy and principal component analysis: a tutorial, part 1.** Departamento de Química Analítica, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas. Campinas – SP, Brasil. Quim. Nova, Vol. 35, No. 1, 223-229, 2012

TEÓFILO, R.F. **Métodos Quimiométricos: Uma Visão Geral – Conceitos Básicos de Quimiometria.** Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, Vol. 1, 2013.

UFRGS. **Ácidos Graxos**. Disponível em:  
<<http://www.iq.ufrgs.br/ead/quimicapop/material/acidograxo.pdf>> Acesso em:  
24/nov/2015

UNICAMP. **Determinação de Açúcares**. Disponível em:  
<<http://biq.iqm.unicamp.br/arquivos/teses/vtIs000132729B.pdf>> Acesso em:  
02/fev/2014a.

UNICAMP. **Calibração multivariada em química analítica**. Disponível em:  
<<http://laqqa.iqm.unicamp.br/CalibMultQui.html>> Acesso em: 02/fev/2014b.

VALDERRAMA, Patricia. **Avaliação de figuras de mérito em calibração multivariada na determinação de parâmetros de controle de qualidade em indústria alcooleira por espectroscopia no infravermelho próximo**. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas. Campinas – SP. 2005.

VANDEGINSTE, B. G. M; MASSART, D. L; BUYDENS, L. M. C; JING, S; LEWI, P. J; SMEYERS-VERBEKE, J. **Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Part B**. Amsterdam: Elsevier. 1998.

VASCONCELOS, Simone. **Análise de componentes principais (PCA)**. Universidade Federal Fluminense. 2014

VLACHOS, N. *et al.* **Applications of Fourier transform-infrared spectroscopy to edible oils**. *Analytica Chimica Acta* 573–574 (2006) 459–465

VOGEL, Arthur Israel. **Análise química quantitativa**. 6. ed. Rio de Janeiro, RJ: LTC, 2002, 462 p.

WORKMAN, J. J; WEYER, L. **Practical Guide to Interpretative Near-Infrared Spectroscopy**. CRC Press: Boca Raton, 2008.

ZAMBLAZI, R.C; PRZYBYLSKI, R; ZAMBLAZI, M.W; MENDONÇA, C.B. **Fatty acid composition of vegetable oils and fats**. *B.CEPPA*, Curitiba, v. 25, n. 1, p. 111-120, jan./jun. 2007