

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**MÔNICA ADRIELY GALVÃO**

**ESPECTROMETRIA DE MASSAS E ANÁLISE DISCRIMINANTE NA AVALIAÇÃO  
DE ESPECIARIAS ORGÂNICAS E CONVENCIONAIS**

**CAMPO MOURÃO**

**2024**

**MÔNICA ADRIELY GALVÃO**

**ESPECTROMETRIA DE MASSAS E ANÁLISE DISCRIMINANTE NA AVALIAÇÃO  
DE ESPECIARIAS ORGÂNICAS E CONVENCIONAIS**

**mass spectrometry and discriminant analysis in the evaluation of organic and  
conventional spices**

Dissertação apresentada como requisito para a  
obtenção do título de Mestre em Tecnologia de  
alimentos do Programa de Pós-Graduação em  
Tecnologia de Alimentos - PPGTA, da  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná -  
UTFPR - Câmpus Campo Mourão.  
Orientadora: Profa. Dra. Patrícia Valderrama.

**CAMPO MOURÃO**

**2024**



Esta licença permite compartilhamento, remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



**Ministério da Educação**  
**Universidade Tecnológica Federal do Paraná**  
**Campus Medianeira**



MONICA ADRIELY GALVAO

**ESPECTROMETRIA DE MASSAS E ANÁLISE DISCRIMINANTE NA AVALIAÇÃO DE ESPECIARIAS  
ORGÂNICAS E CONVENCIONAIS**

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre Em Tecnologia De Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Tecnologia De Alimentos.

Data de aprovação: 28 de Outubro de 2024

Patricia Valderrama, - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dra. Carla Porto Da Silva, Doutorado - Universidade Estadual de Maringá (Uem)

Dra. Larissa Naida Rosa, Doutorado - Faculdade Integrado de Campo Mourão (Ceí)

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 28/10/2024.

## RESUMO

Alimentos cultivados de forma convencional frequentemente contêm resíduos de produtos químicos, como fertilizantes e agrotóxicos, que podem oferecer riscos à saúde humana. Em contraste, alimentos orgânicos são cultivados sem insumos sintéticos, respeitando normas rigorosas de certificação. Especiarias, tradicionalmente valorizadas desde os séculos XIV e XV na Europa Ocidental por seus sabores e aromas intensos, têm hoje seu consumo crescente devido ao interesse em produtos mais naturais. No entanto, a escassez de dados científicos conclusivos sobre os benefícios dos alimentos orgânicos e seus custos elevados ainda representam desafios para sua produção e aceitação no mercado. Diante disso, este estudo propõe uma abordagem analítica rápida e inovadora para diferenciar especiarias orgânicas e convencionais. Utilizando espectrometria de massas com ionização e dessorção a laser assistida por matriz (MALDI-TOF) e análise de componentes independentes com análise discriminante (IC-DA), a metodologia permite uma avaliação precisa de especiarias como canela, orégano, alecrim e hortelã, independente do sistema de cultivo. Este método promete ser uma ferramenta eficaz para autenticar alimentos orgânicos e convencionais, contribuindo para a segurança alimentar e a confiança do consumidor.

Palavras-chave: orégano; canela; alecrim; hortelã; IC-DA; MALDI-TOF.

## **ABSTRACT**

Conventionally grown foods frequently contain chemical residues, such as fertilizers and pesticides, which may pose potential health risks. In contrast, organic foods are cultivated without synthetic inputs, adhering to rigorous certification standards. Spices, highly valued since the 14th and 15th centuries in Western Europe for their potent flavors and aromas, are experiencing increased demand due to a growing consumer preference for natural products. However, the limited availability of conclusive scientific data on the advantages of organic foods, alongside their higher costs, presents ongoing challenges to their production and market acceptance. This study presents a rapid and innovative analytical approach for differentiating between organic and conventional spices. Employing matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF) and independent component analysis with discriminant analysis (IC-DA), this method enables precise evaluation of spices, such as cinnamon, oregano, rosemary, and mint, independent of cultivation practices. This approach promises to be an effective tool for authenticating organic and conventional foods, enhancing food safety measures and bolstering consumer confidence.

Keywords: oregano; cinnamon; rosemary; mint; IC-DA; MALDI-TOF.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

|                                                                                                                                                                                                                                      |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 - Representação esquemática da diferença entre ICA e PCA.....                                                                                                                                                               | 23 |
| Quadro 1 - Amostras orgânicas e convencionais do estudo.....                                                                                                                                                                         | 25 |
| Figura 2 - Organização dos espectros de massas para aplicação de IC-DA.....                                                                                                                                                          | 30 |
| Figura 3 - Espectro de massas para canela orgânica (A), canela não orgânica (B), hortelã orgânico (C), hortelã não orgânico (D), orégano orgânico (E), orégano não orgânico (F), alecrim orgânico (G), alecrim não orgânico (H)..... | 31 |
| Figura 4 - Scores do IC-DA para canela (A), hortelã (B), orégano (C), alecrim (D).<br>(●) amostras orgânicas. (★) amostras não orgânicas.....                                                                                        | 33 |
| Figura 5 - Sinais do IC-DA para canela (A), hortelã (B), orégano (C), alecrim (D).<br>(●) íons importantes para amostras orgânicas. (★) íons importantes para amostras não orgânicas.....                                            | 34 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|                 |                                                                                                                          |
|-----------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ACN             | Acetonitrila                                                                                                             |
| BTS             | <i>Bacterial Test Standad</i>                                                                                            |
| CAN             | Canadense                                                                                                                |
| CG-MS           | Cromatografia Gasosa/ Espectrometria de massas                                                                           |
| CG-QqQ-MS/MS    | Cromatografia Gasosa-Triplo quadrupolo acoplada-<br>Espectrometria de Massas                                             |
| CGSB            | Conselho Padrão Geral Canadense                                                                                          |
| <i>DD-SIMCA</i> | <i>Data Drive Soft Independent Modeling of Class<br/>Analogy</i>                                                         |
| DPPH            | <i>1,1-difenil-2-picrilidrazil</i>                                                                                       |
| ED-XRF          | Espectrometria Fluorescência de Raio X por<br>Energia Dispersiva                                                         |
| ESI             | Ionização por <i>Eletrospray</i>                                                                                         |
| FAO             | Organização das Nações Unidas para Agricultura e<br>Alimentação                                                          |
| FastICA         | <i>Fast Independent Component Analysis</i>                                                                               |
| FI-ESI-IT-MS    | Espectrometria de Massas com Ionização por<br><i>Eletrospray</i> , analisador tipo <i>Ion Trap</i> e Injeção em<br>Fluxo |
| FI-MS           | Espectrometria de Massa por Injeção em Fluxo                                                                             |
| GC-FID          | Cromatografia Gasosa com Detecção de Ionização<br>de Chamas                                                              |
| GC-MS/MS        | Cromatografia gasosa-Espectrometria de Massas<br>tandem                                                                  |
| GC-QqQ-MS/MS    | Cromatografia Gasosa- Espectrometria de massas<br>Quadrupolo Tandem.                                                     |
| HCCA            | <i>a-Cyano-4- hydroxycinnamic-acid</i>                                                                                   |
| HPLC com UV     | Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com<br>Detector Ultra Violeta                                                   |
| ICA             | Análise de Componentes Independentes                                                                                     |

|                     |                                                                                                                                             |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| IC-DA               | Análise de Componentes Independentes com Análises Discriminantes                                                                            |
| IC-Q-Orbitrap-MS/MS | Espectrometria de Massa por Cromatografia iônica (IC-MS) Q Espectrometria de Massa <i>Orbitrap</i> Quadruplo Híbrido Exativo de modo Tandem |
| ICs                 | Componentes Independentes                                                                                                                   |
| IFOAM               | Federação Internacional dos Movimentos da Agricultura Orgânica                                                                              |
| Infomax.            | <i>Information maximization ICA</i>                                                                                                         |
| JADE                | <i>Joint Aproximation Diagonalization of Eigenmatrices</i>                                                                                  |
| KICA                | <i>Kernel ICA</i>                                                                                                                           |
| LC-MS               | Cromatografia Líquida- Espectrometria de massas                                                                                             |
| LC-QqQ-MS/MS        | Cromatografia Líquida-Triplo quadrupolo acoplada- Espectrometria de massas                                                                  |
| LC-QTOF-MS          | Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de massas por Tempo de Voo                                                                  |
| MALDI               | <i>Matrix-Assistid Laser Desorption Ionization</i>                                                                                          |
| MAPA                | Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento                                                                                          |
| MATLAB              | <i>Matrix Laboratory</i>                                                                                                                    |
| MFICA               | <i>Mean-Field ICA</i>                                                                                                                       |
| MILCA               | <i>Mutual Information based on Least Dependent Component</i>                                                                                |
| MIR                 | Espectroscopia de Infravermelho Médio                                                                                                       |
| NIR                 | Espectroscopia de Infravermelho Próximo                                                                                                     |
| OPLS-DA             | Regressão de Mínimos Quadrados Parciais com Análise Discriminante                                                                           |
| PARAFAC             | Fator Paralelo Análise                                                                                                                      |
| PCA                 | Análise de Componentes Principais                                                                                                           |
| PCs                 | Componentes Principais                                                                                                                      |
| PLS-DA              | Mínimos Quadrados Parciais com Análise Discriminante                                                                                        |

|        |                                                             |
|--------|-------------------------------------------------------------|
| SisOrg | Sistema Brasileiro de Avaliação de Conformidade<br>Orgânica |
| SNICA  | <i>Stochastic Nonnegative ICA</i>                           |
| TFA    | Ácido trifluoracético                                       |
| TOF    | Tempo de Voo                                                |
| WICA   | <i>Window ICA</i>                                           |

## SUMÁRIO

|                                                                                              |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO.....</b>                                                                     | <b>10</b> |
| <b>2 OBJETIVO GERAL.....</b>                                                                 | <b>12</b> |
| <b>2.1 Objetivos específicos.....</b>                                                        | <b>12</b> |
| <b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>                                                          | <b>13</b> |
| <b>3.1 Certificações.....</b>                                                                | <b>13</b> |
| <b>3.2 Especiarias.....</b>                                                                  | <b>15</b> |
| <b>3.3 Canela.....</b>                                                                       | <b>16</b> |
| <b>3.4 Alecrim.....</b>                                                                      | <b>17</b> |
| <b>3.5 Orégano.....</b>                                                                      | <b>17</b> |
| <b>3.6 Hortelã.....</b>                                                                      | <b>18</b> |
| <b>3.7 A espectrometria de massa.....</b>                                                    | <b>19</b> |
| <b>3.8 Quimiometria.....</b>                                                                 | <b>22</b> |
| <b>3.9 Análise de Componentes Independentes (ICA) com análise discriminante (IC-DA).....</b> | <b>22</b> |
| <b>4 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>                                                            | <b>25</b> |
| <b>4.1 Matéria prima.....</b>                                                                | <b>25</b> |
| <b>4.2 Granulometria da matéria-prima.....</b>                                               | <b>28</b> |
| <b>4.3 Preparo da amostra para Espectrometria de massas MALDI-TOF.....</b>                   | <b>28</b> |
| <b>4.4 Aquisição dos espectros de massas.....</b>                                            | <b>28</b> |
| <b>4.5 Processamento dos dados.....</b>                                                      | <b>29</b> |
| <b>5 RESULTADO E DISCUSSÃO.....</b>                                                          | <b>30</b> |
| <b>6 CONCLUSÃO.....</b>                                                                      | <b>35</b> |
| <b>REFERÊNCIAS.....</b>                                                                      | <b>36</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

Estudos apontam uma crescente preocupação global em relação ao consumo de alimentos mais nutritivos, saudáveis, seguros e livres de resíduos tóxicos. Em respostas a essa demanda, a tendência por alimentos orgânicos vem sendo fortalecida e consolidada mundialmente. Os alimentos orgânicos tem se destacado por questões de qualidade sensorial, valor nutricional, segurança alimentar e respeito ao meio ambiente. Além disso, o procedimento de produção dos alimentos orgânicos desempenha papel fundamental no avanço da sustentabilidade (De-Magistris; Garcia, 2016; Souza, 2003; Bourn; Prescott, 2002; Borguini; Torres, 2015; Gan; Cohen; 2014; Gonzales *et al.*, 2019; Kesse-guyot *et al.*, 2018; Chekima *et al.*, 2017; Torjusen *et al.*, 2001). Neste contexto, os alimentos orgânicos surgem como uma abordagem alternativa e promissora em relação aos alimentos convencionais (Lau *et al.*, 2020; Vega-Zamora; Torres-Ruiz; Parras-Rosa, 2019).

Os alimentos cultivados de forma convencional frequentemente contêm, em sua composição, resíduos de produtos químicos, como fertilizantes e agrotóxicos, o que pode representar possíveis riscos à saúde humana. Desta forma, parte da população vem mostrando resistência em adquirir e consumir alimentos oriundos deste cultivo (Liorente-Martinez *et al.*, 2010).

Existe assim um mercado potencial para o consumo de produtos orgânicos, e para serem considerados orgânicos, os alimentos devem estar livres de resíduos de fertilizantes sintéticos. Além disso, a rotulagem orgânica identifica que o produto atende as normas de produção devidamente certificadas, estabelecidas por agências reguladoras específicas de cada país (Gonzales *et al.*, 2019; BRASIL, 2003).

De acordo com a Lei Federal 10.831/2003, que regulamenta as normas de produção e certificação de alimentos orgânicos no Brasil, um sistema orgânico de produção é aquele em que são adotadas técnicas específicas, mediante a otimização do uso de recursos naturais e socioeconômicos disponíveis, respeitando a integridade cultural das comunidades rurais, tendo como objetivo a sustentabilidade econômica e ecológica, maximizando os benefícios sociais, minimizando a dependência de energia não-renovável, empregando métodos culturais e biológicos, para promover e respeitar as relações culturais existentes, em contraposição ao uso de materiais sintéticos. O objetivo é produzir alimentos saudáveis, sem a presença dos contaminantes químicos,

ao mesmo tempo que se otimiza o uso de recursos naturais e socioeconômicos disponíveis preservando a diversidade do ecossistema (BRASIL, 2003).

Estudos conduzidos por Popa *et al.*, (2019) demonstram que os alimentos oriundos da agricultura orgânica são preferidos por parte dos consumidores por diferentes razões. Além de serem benéficos a saúde, esses alimentos apresentam um sabor sensorial mais pronunciado e um valor nutricional mais elevado, especialmente em termos de vitaminas e minerais, quando comparados aos alimentos convencionais. Por outro lado, o preço dos alimentos orgânicos pode ser um fator limitante para o consumo (Borguini; Mattos, 2002; Souza, 2003).

O termo especiaria é utilizado desde os séculos XIV e XV na Europa Ocidental, para designar diversos produtos de origem vegetal, com aroma ou sabor acentuados, devido a presença de óleos essenciais, e sendo usados na culinária. As especiarias são uma das culturas mais relevantes na produção de alimentos orgânicos (Willer *et al.*, 2019). De acordo com a literatura, diferentes técnicas analíticas e ferramentas quimiométricas já foram empregadas na avaliação e autenticação de especiarias orgânicas (Valderrama e Bruni, *in press*). Entretanto, muitas das técnicas já utilizadas necessitam de um extensivo preparo de amostra e empregam muitos reagentes ou solventes, que deverão ser descartados adequadamente.

Nesse sentido, este estudo propõe desenvolver um método rápido para avaliar especiarias provenientes do cultivo orgânico e não orgânico empregando espectrometria de massas com ionização por laser assistida por matriz (MALDI - do inglês, *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization*) e análise discriminante em componentes independentes (IC-DA).

## **2 OBJETIVO GERAL**

Desenvolver um método analítico rápido para avaliar e diferenciar especiarias orgânicas e convencionais empregando as ferramentas específicas da espectrometria de massas por MALDI-TOF e quimiométrica como IC-DA. Visando autenticar produtos e identificar características únicas entre cultivos orgânicos e convencionais.

### **2.1 Objetivos específicos**

- Aplicar a técnica de espectrometria de massas MALDI-TOF para identificar perfis de íons nas especiarias estudadas;
- Avaliar a aplicação da técnica MALDI-TOF na identificação e diferenciação de canela, hortelã, orégano e alecrim cultivados de forma orgânica e convencional;
- Desenvolver modelos de classificação supervisionada usando IC-DA para discriminar entre amostras orgânicas e convencionais, visando obter alta precisão na autentificação das especiarias;
- Investigar o potencial da ferramenta quimiométrica IC-DA na diferenciação de especiarias orgânicas e convencionais na análise discriminante das espécies estudadas, identificando entre cultivos.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Certificações

A agricultura orgânica é caracterizada pela restrição ao uso de fertilizantes sintéticos e pesticidas no seu cultivo (Gonzáles *et al.*, 2019). No Brasil, as regulamentações que definem o sistema orgânico de produção são dadas pela Lei nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003. De acordo com a mesma...

Considera-se sistema orgânico de produção agropecuária todo aquele em que se adotam técnicas específicas, mediante a otimização do uso dos recursos naturais e socioeconômicos disponíveis e o respeito à integridade cultural das comunidades rurais, tendo por objetivo a sustentabilidade econômica e ecológica, a maximização dos benefícios sociais, a minimização da dependência de energia não-renovável, empregando, sempre que possível, métodos culturais, biológicos e mecânicos, em contraposição ao uso de materiais sintéticos, a eliminação do uso de organismos geneticamente modificados e radiações ionizantes, em qualquer fase do processo de produção, processamento, armazenamento, distribuição e comercialização, e a proteção do meio ambiente.

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2021) estabelece os regulamentos técnicos para os sistemas orgânicos de produção, considerando como produto orgânico, todos aqueles *in natura* ou processados, obtidos a partir de um sistema orgânico de produção sustentável e não prejudicial ao meio ambiente, que sejam isentos de contaminantes e insumos que coloquem em risco o meio ambiente, assim como a saúde do produtor, trabalhador ou consumidor; aqueles que utilizam produtos e processos que mantenham ou incrementem a fertilidade do solo; práticas de produção que contemplem o uso saudável do solo, da água e do ar, reduzindo todas as formas de contaminação.

Para ser comercializado no Brasil os produtos orgânicos devem possuir certificação do Organismo da Avaliação da Conformidade Orgânica (OAC), credenciada junto ao MAPA. Em caso de venda direta, sem certificação por produtor, este deve-se organizar em grupo e se cadastrar junto ao MAPA.

Quaisquer produtos comercializados como agricultura orgânica no Brasil, (em exceção os pequenos produtores que realizam a venda direta aos consumidores). Devem apresentar uma documentação chamada declaração de cadastro. Os produtos comercializados em mercados e lojas, sejam eles nacionais ou importados, necessitam t

er um selo estampado na embalagem. Este selo federal é concedido pelo SisOrg – Sistema Brasileiro de Avaliação de Conformidade Orgânica (Organis, 2020). O selo do SisOrg apresenta validade somente em território Brasileiro. Em caso onde, o produto a venda em loja estiver em embalagem original e não expuser o selo a responsabilidade recai sobre o produtor que pode ser autuado e multado. Em caso onde, o produto orgânico esteja em outra embalagem da própria loja, mercado, ou a granel, a responsabilidade pela irregularidade é atribuída tanto ao ponto de venda, como também ao produtor. O consumidor tem o direito de exigir do produtor/vendedor que os rótulos dos produtos venham com selo federal do SisOrg.

A produção orgânica no Canadá, é regulamentada pela Lei CAN/CGSB-32.310-2018. Esta Lei, baseia-se no princípio de desenvolvimento de operações sustentáveis em harmonia com o meio ambiente. A agricultura biológica é norteadada por 4 princípios: saúde, ecologia, justiça e cuidado. Desta forma, a produção deve visar a melhoria da saúde do solo, plantas, animais, seres humanos e do planeta, construindo relações que garantam ao ambiente comum as oportunidades de vida, protegendo a saúde e o bem-estar das gerações futuras, atuais e do meio ambiente. De acordo com a legislação vigente, as práticas orgânicas norteadas pela lei, não podem garantir que os produtos estejam totalmente livres de resíduos de contaminantes proibidos. Uma vez que a exposição a tais compostos presentes na atmosfera, solo e água, podem ser inevitáveis. Entretanto está normativa, visa garantir que as práticas permitidas contenham o mínimo de resíduos possíveis nos mais baixos níveis (CGSB, 2018).

Na França as certificações e rotulagem para alimentos orgânicos é regulada pela União Europeia (UE), através do Regulamento Europeu 2018/848 que estabelece as normativas e regulamentos técnicos para produção e comercialização de produtos orgânicos, sendo obrigatória e uniforme em toda a União Europeia a partir de janeiro de 2022. Na UE, o princípio da agricultura orgânica é definido pela produção sustentável partir de um solo equilibrado e fértil, com a rotação de culturas, elevando a biodiversidade, a preservação de recursos naturais e meio ambiente, incluindo normas para a preparação, armazenamento, transporte e distribuição e aplicação de rígidas normas ao bem-estar-animal. Sendo severamente restrito o uso de antibióticos em animais e não se utilizam organismos geneticamente modificados. Os fertilizantes, corretivos de solo e produtos fitofarmacêuticos só poderão ser

utilizados se compatíveis com os objetivos da produção orgânica (União Europeia, 2018).

Considerando que os alimentos orgânicos se diferenciarem dos convencionais pelo método de produção, o processo de certificação é uma garantia ao consumidor para avaliar se os alimentos são orgânicos ou não. A Federação Internacional dos Movimentos da Agricultura Orgânica (IFOAM - do inglês, *International Federation of Organic Agriculture Movements*) os alimentos orgânicos são definidos como:

A agricultura orgânica é um sistema de produção que sustenta a saúde dos solos, ecossistemas e pessoas. Baseia-se em processos ecológicos, biodiversidade e ciclos adaptados às condições locais, ao invés do uso de insumos com efeitos adversos. A Agricultura Orgânica combina tradição, inovação e ciência para beneficiar o meio ambiente compartilhado e promover relacionamentos justos e boa qualidade de vida para todos os envolvidos (IFOAM, 2008).

A IFOAM busca estabelecer padrões internacionais de referência, buscando a facilitação do comércio. Se o interesse do produtor for na exportação, é necessário obter uma certificação válida para cada país. Desta maneira, a IFOAM desenvolveu uma ferramenta chamada família de padrões IFOAM, que contém todos os regulamentos técnicos aprovados, e traça uma linha entre padrões orgânicos e não orgânicos. Obter uma aprovação na Família de Padrões IFOAM, é um mecanismo que estabelece um reconhecimento internacional de padrões, que demonstram a garantia orgânica dos produtos. No Brasil, a Associação de Certificação Instituto Biodinâmico (IBD) é a única certificadora que faz parte da família de padrões IFOAM, (FiBL e IFOAM, 2020).

### 3.2 Especiarias

A família Lamiaceae é uma das famílias de ervas mais importantes, com cerca de 260 gêneros e 7000 espécies. Dentre os membros desta família os mais conhecidos são as especiarias aromáticas, destacando-se as especiarias utilizadas nesse estudo: hortelã, orégano, alecrim e canela. A obtenção de uma especiaria pode envolver diferentes partes da planta, como sementes, raízes, casca, flores e frutos (Herman, 2015).

As especiarias, além de serem muito utilizadas na culinária, também vêm sendo empregada para fortificar alimentos, como agente conservante e aromatizante (Chan, 2003), e como ingrediente em diferentes produtos associados a beleza e a saúde (Drabova *et al.*, 2019; Park, 2011; Shan *et al.*, 2005).

### 3.3 Canela

A canela é originária das árvores do gênero *Cinnamomum*, pertencente à família dos Loureiros Lauráceae, esta especiaria tem sido extensivamente estudada por suas propriedades antioxidantes (Chen *et al.*, 2014). Sendo, popularmente e amplamente, utilizada na culinária como tempero, principalmente a casca, devido a seu aroma, esta especiaria nativa é originária do Sri Lanka (Liyanage; Ranawake, 2020). A espécie *Cinnamomum verum*, atualmente denominada como canela-verdadeira, é a mais comercializada, seguida pela espécie *Cinnamomum cássia*, de qualidade inferior (Thomas; Kuruvilla, 2012)

A canela é cultivada em ambientes quentes e úmidos, e sofre com os danos causados por bactérias, fungos e pragas. Nesse sentido, é comum o uso de inseticidas sintéticos para o controle de pragas durante o cultivo. Além dos inseticidas também podem ser utilizados fungicidas e herbicidas na prevenção de doenças (Gan; Cohen, 2014; Gonzalez *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2010; Cross, 2008), o que não é permitido no sistema de produção da canela orgânica.

Métodos analíticos para avaliar canela a partir do sistema orgânico ou convencional já foram propostos utilizando a espectroscopia na região do infravermelho médio (MIR) e análise de fatores paralelos (PARAFAC) (Bruni *et al.*, 2021) e a espectrometria de fluorescência de raios X por energia dispersiva (ED-XRF) com as ferramentas quimiométricas de análise de componentes principais (PCA) e mínimos quadrados parciais com análise discriminante (PLS-DA) (Fiamegos *et al.*, 2021). Além disso, determinações baseadas na cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com detecção na região do ultravioleta (UV), fenólicos totais e capacidade antioxidante também já foram reportadas (Lv *et al.*, 2012).

### 3.4 Alecrim

O *Rosmarinus officinalis* L. comumente chamado de alecrim, é uma erva aromática que tem desempenhado um papel significativo na culinária, medicina entre outras áreas, incluindo indústrias de fragrâncias e alimentos. Sendo composto por três espécies: *Rosmarinus eryocalix*, *Rosmarinus tomentosus* e *Rosmarinus officinalis*, o alecrim é um arbusto perene da família Lamiaceae, caracterizado por folhas estreitas, lineares e aromáticas. Originário da região do Mediterrâneo, e cultivado em diferentes áreas do mundo, como Ásia e América Latina o alecrim é conhecido pela resistência às condições climáticas (Hernandez *et al.*, 2016; Millard, 2015).

Diferenças entre alecrim orgânico e convencional foram investigadas através de HPLC acoplado ao espectrômetro de massa triplo quadrupolo (LC-QqQ-MS/MS, do inglês, *liquid chromatography coupled to triple quadrupole tandem mass spectrometry*), cromatografia gasosa (GC) acoplado ao espectrômetro de massa triplo quadrupolo (GC-QqQ-MS/MS: *gas chromatography coupled to triple quadrupole tandem mass spectrometry*), e cromatografia iônica acoplada com espectrometria de massas (IC-Q-Orbitrap-MS/MS: *ion chromatography-mass spectrometry Q exactive hybrid quadrupole orbitrap mass spectrometry in tandem mode*) (Gómez-Ramos., 2020). Com essas técnicas analíticas, as ferramentas quimiométricas não foram incorporadas. Entretanto, o *fingerprint* espectroscópico na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) e a carta de controle baseada na PCA foi empregada na distinção de alecrim oriundo do cultivo orgânico e convencional (Oliveira., 2024).

### 3.5 Orégano

O orégano, conhecido cientificamente como *Origanum vulgare* L., é amplamente utilizado na culinária como tempero. Trata-se de uma planta bastante popular devido ao seu aroma característico derivado do carvacrol (Martins *et al.*, 2000).

O orégano é uma planta perene, caracterizada por ramificações e folhas, que cresce naturalmente no norte da Ásia e na Eurásia. No mercado Europeu, apenas dois gêneros são considerados verdadeiros oréganos: *Origanum vulgares* L. *ssp hirtum* e *Origanum onites* L. (Drabova *et al.*, 2019; Olijhoek *et al.*, 2019).

A espectrometria de massa por injeção em fluxo (FIMS) com ionização por *eletrospray* (ESI) em modo negativo e acoplada à ferramenta quimiométrica PCA, foi empregada na avaliação do orégano orgânico e convencional (Gao., 2014). Por outro lado, sem a utilização de quimiometria, foram empregadas as técnicas cromatográficas LC-QqQ-MS/MS, GC-QqQ-MS/MS e IC-Q-Orbitrap-MS/MS (Gómez-Ramos., 2020), enquanto a cromatografia gasosa com detecção por ionização em chama (GC-FID) foi empregada, juntamente com a PCA e mínimos quadrados parciais ortogonais com análise discriminante (OPLS-DA), na discriminação de orégano orgânico (Gao., 2014). Por fim, a espectroscopia na região do infravermelho próximo (NIR) acoplada com PLS-DA também foi considerada na discriminação de orégano orgânico e convencional (Fernandez., 2020).

### 3.6 Hortelã

A hortelã, pertencente ao gênero *Mentha*, é uma planta herbácea aromática amplamente reconhecida por suas propriedades medicinais e aplicação na culinária. O gênero *Mentha* abrange uma variedade de 61 espécies, com 5 espécies mais conhecidas: *Mentha arvensis*, *Mentha spicata* L., *Mentha aquática* L., *Mentha longifolia* L., *Mentha suaveolens*. A *Mentha piperita* L., uma das mais conhecidas, é um híbrido de *Mentha spicata* e *Mentha aquática*. A liderança mundial na produção, consumo e exportação de óleo de hortelã é ostentada pela Índia, seguida pela China e Brasil (Fatiha *et al.*, 2017).

As folhas de hortelã contêm de 1,2 a 3,9% de óleos essenciais constituídos majoritariamente por mentol, mentona e limoneno, que conferem o aroma à hortelã (Uritu *et al.*, 2018; Desam *et al.*, 2017).

A espectrometria de massas com ionização por *eletrospray*, detecção por íon trap e injeção em fluxo contínuo (FI-ESI-IT-MS, do inglês, *flow injection electrospray ionization with ion trap*) aliada à PCA, HPLC-UV e PCA foram empregadas na avaliação de hortelã orgânica (Gao *et al.*, 2012). Por outro lado, sem emprego da quimiometria, foram utilizadas as técnicas cromatográficas GC-QqQ-MS/MS (Walorczyk *et al.*, 2013) e HPLC-UV (Lv *et al.*, 2012). A espectroscopia UV-Vis, acoplada com a ferramenta quimiométrica DD-SIMCA (*data drive soft independent modeling of class analogy*) (Oliveira., 2021), e, na determinação de fenólicos totais e

capacidade antioxidantes (Lv *et al.*, 2012) também já foram consideradas na investigação de hortelã orgânica e convencional.

### 3.7 A espectrometria de massa

A espectrometria de massas (MS, do inglês, *mass spectrometry*) é uma técnica analítica avançada usada para identificar e caracterizar compostos moleculares pela formação de íons em fase gasosa e pela análise da relação massa/carga ( $m/z$ , do inglês, *mass-to-charge*). Com alta precisão e sensibilidade, a MS permite detectar até pequenas quantidades de compostos, sendo essencial para analisar a composição química. Baseia-se no estudo da matéria através da formação de íons em fase gasosa, e sua caracterização pela massa, carga, estrutura ou propriedade físico-química, empregando espectrômetros de massas. A espectrometria de massas é uma técnica analítica poderosa que desempenha um papel crucial na identificação e caracterização de compostos moleculares ao medir a relação entre massa/carga e a abundância de espécies ionizadas em fase gasosa (Vessechi *et al.*, 2011).

A espectrometria de massas encontra aplicações em diversas áreas. Na área de alimentos emergiu como uma técnica rápida importante na garantia da qualidade de alimentos como mel, cereais, produtos à base de carne, vinho e produtos lácteos (Ahamad *et al.*, 2018; Ahamad *et al.*, 2020; Calo- Mata *et al.*, 2016). Na química ambiental é utilizada para detectar e quantificar poluentes. Em proteômica auxilia a identificação de proteínas e modificações (Cunha *et al.*, 2006; Assis *et al.*, 2011; Barreio, 2010).

Dentre as técnicas analíticas disponíveis, a espectrometria de massas vem sendo empregada para a avaliação de alimentos orgânicos como, salmonídeos, suco de laranja, batata, cenoura, repolho, entre outros (Molkentin *et al.*, 2015; Cuevas *et al.*, 2019; Novak *et al.*, 2019). Cuevas *et al.*, (2019) autenticou amostras de suco de laranja, por meio de técnicas cromatográficas aliadas a espectrometria de massas e quimiometria. No estudo os autores desenvolveram um modelo com sensibilidade de 100% para avaliar as amostras orgânicas. Além disso, foi possível identificar marcadores potenciais como flavonoides e outros. Em outro estudo, Cuevas *et al.*, (2016) utilizando técnicas de cromatografia gasosa e espectrometria de massas e PLS-DA, diferenciaram ameixa orgânica e não orgânicas com 97,9% de precisão na

classificação. Além disso, foi possível quantificar e identificar 25 compostos orgânicos voláteis.

A espectrometria de massas vem sendo amplamente empregada como detector em técnicas cromatográficas. Em cromatografia líquida (LC-MS), combinada com quimiometria, foram empregadas para diferenciar amostras de manjerição orgânico demonstrando que estes apresentaram maior concentração de compostos bioativos (Lu *et al.*, 2014).

Utilizando extração no *headspace* e cromatografia gasosa (CG-MS) combinadas com quimiometria, os resultados foram efetivos na diferenciação e distinção dos componentes voláteis não polares de amostras de orégano orgânico (Gao *et al.*, 2014). Em pesquisa conduzida por Vallverdu- Queralt *et al.*, (2011) na avaliação de ketchup utilizando LC-QTOF-MS, os resultados demonstraram que os tomates orgânicos e seus produtos derivados, apresentaram um nível mais elevado de antioxidantes comparado aos convencionais.

Os instrumentos de espectrometria de massas evoluíram significativamente ao longo dos anos. Espectrômetros de massa por tempo de voo de alta resolução, como o TOF-MS, do inglês, *Time-of-flight mass spectrometer*, oferecem precisão e resolução excepcionais (Cunha *et al.*, 2006), sendo ideal para a análise de pequenas moléculas orgânicas. Os analisadores *TOF-MS*, separam íons por  $m/z$  em uma região livre de campo, após a aceleração por uma voltagem fixa, os íons que contém a mesma energia inicial e diferentes  $m/z$ , levam tempo diferentes para atravessar a região livre do campo. Desta forma, são capazes de distinguir íons em uma ampla faixa de massa, permitindo que íons menores alcancem o detector mais rápido que os íons maiores (Ahamad *et al.*, 2020; Vessecchi *et al.*, 2011).

Os avanços na espectrometria de massas incluem o desenvolvimento de técnicas de ionização/dessorção mais suaves, como a ionização por laser assistida por matriz (MALDI - do inglês, *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization*). O método MALDI, é empregado geralmente na ionização de compostos orgânicos maiores como proteínas, carboidratos, peptídeos e taninos. No método, ocorre primeiramente a co-cristalização do analito com uma matriz, geralmente um ácido orgânico fraco. A seguir a irradiação de um laser na mistura matriz/analito resulta na vaporização da matriz (Ahamed *et al.*, 2020). A formação de íons em fase gasosa ocorre a partir de moléculas presentes na matriz. Esta matriz, na qual o laser é irradiado, é composta por

um material que absorve a energia do laser, auxiliando a ionização (Vessechi *et al.*, 2011).

Os íons moleculares são formados pela remoção ou adição de um ou mais elétrons a uma molécula. Após serem acelerados em um campo elétrico ao passarem por uma grade carregada, os íons são separados em um analisador de massa TOF com base na sua  $m/z$ , os íons de baixa massa chegam ao detector em menos tempo que os íons de alta massa (Vessechi *et al.*, 2011; Zambonin, 2021).

Os espectrômetros de massa MALDI geram espectros rapidamente, a partir de matrizes alimentares, com preparação simples ou em alguns casos sem o preparo de amostra. Portanto, esta técnica é bastante conveniente para o desenvolvimento de métodos analíticos rápidos. Além disso, dentre as inúmeras vantagens, permite múltiplas respostas simultaneamente, alta sensibilidade em uma ampla faixa de massas (Bohme *et al.*, 2012; Kosikowska *et al.*, 2015; Vranakis *et al.*, 2012; Mateos-Martin *et al.*, 2012; Vessechi *et al.*, 2011).

A integração com métodos computacionais tem revolucionado a interpretação de dados complexos. Em conjunto com as ferramentas da quimiometria, melhora a extração de informações relevantes e úteis dos complexos dados espectrais obtidos (Zambonin, 2021; Lay, 2000; Pinto *et al.*, 2010).

A crescente necessidade de métodos analíticos confiáveis e robustos para explorar os alimentos orgânicos e convencionais, se mostram cada vez maior. Em um trabalho recente (Valderrama e Bruni, *in press*) são destacados os alimentos orgânicos já investigados, as técnicas analíticas consideradas em cada caso, bem como o emprego de ferramentas da quimiometria.

Apenas um trabalho foi encontrado com a técnica MALDI-TOF na avaliação de proteínas de grãos de trigo de sistemas de cultivo orgânico e não orgânico (Zörb *et al.*, 2009). Até o momento nenhum dos trabalhos utilizou a espectrometria de massas MALDI-TOF com a ferramenta IC-DA, para avaliar alimentos orgânicos e convencionais. Portanto neste trabalho utilizamos uma técnica analítica e uma ferramenta quimiométrica ainda pouco exploradas.

### 3.8 Quimiometria

A quimiometria é o ramo da química analítica que desempenha papel crucial na interpretação de dados químicos complexos e multidimensionais empregando métodos matemáticos e estatísticos. Suas principais frentes de pesquisa incluem a calibração multivariada, reconhecimento de padrões supervisionados e não supervisionados, planejamento e otimização de experimentos (Otto, 1999).

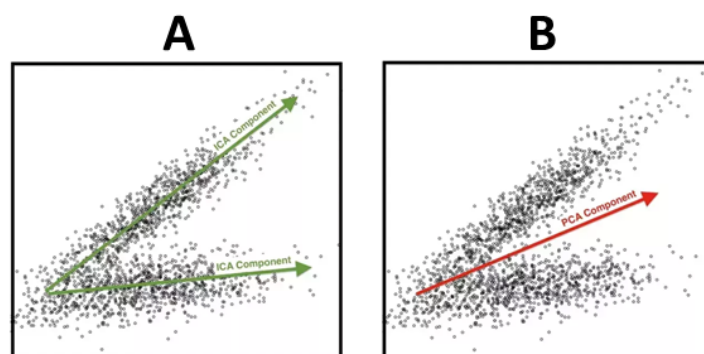
A quimiometria tem demonstrado muitas aplicações na área de alimentos, mostrando-se eficiente para analisar parâmetros químicos e na avaliação qualitativa e quantitativa de diferentes amostras de alimentos (Milani *et al.*, 2020; Oliveira *et al.*, 2020; Bajoub *et al.*, 2018). Quando combinada com a espectrometria de massas, as ferramentas quimiométricas visam aprimorar a extração de informações relevantes e úteis dos dados espectrais medidos, proporcionando uma abordagem mais eficiente e eficaz na análise de alimentos.

### 3.9 Análise de Componentes Independentes (ICA) com análise discriminante (IC-DA)

A análises dos componentes Independentes (ICA) é uma ferramenta quimiométrica que pode ser classificada como uma frente de pesquisa em resolução de sinais analíticos (Bouveresse; Rutledge, 2016), mas também em reconhecimento de padrão não supervisionado.

ICA realiza a decomposição de sinais de uma mistura de forma que os componentes sejam 'o mais' estatisticamente independentes. Como por exemplo, ao estar com dois dados em uma mesma mão e jogá-los simultaneamente: O resultado de um dos dados é o mais independente possível do resultado do outro. Enquanto a Análise de Componentes Principais (PCA), que é uma ferramenta bastante popular de reconhecimento de padrão não supervisionado, considera uma matriz de dados ( $\mathbf{X}$ ) como pontos em um espaço multivariado, a ICA considera a matriz  $\mathbf{X}$  como um conjunto de sinais observados em que cada sinal observado é uma soma de fontes de sinais puros e os coeficientes são proporções das fontes de sinais (Bouveresse; Rutledge, 2012). A Figura 1 mostra uma representação da diferença entre PCA e ICA.

**Figura 1 - Representação esquemática da diferença entre ICA e PCA.**



**Fonte: Bouveresse; Rutledge (2013).**

A partir da Figura 1A observa-se que, enquanto a PCA se baseia no cálculo de vetores ortogonais (Componentes Principais, PCs) que maximizam a variância explicada a partir dos dados, na ICA a hipótese utilizada para a decomposição dos sinais é que estes vetores (Componentes Independentes, ICs) são estatisticamente independentes. Dessa forma, a PCA não recupera o espectro dos constituintes, apenas regiões espectrais. Por outro lado, em ICA os vetores extraídos tem um significado físico-químico que corresponde aos sinais dos constituintes puros presentes na mistura e suas respectivas proporções (Bouveresse; Rutledge, 2013).

ICA foi inicialmente desenvolvido na década de 80 por Herault e Jutten (1986) como uma proposta inovadora para a separação de sinais misturados. Os pesquisadores criaram um modelo e um algoritmo para separar as informações de posição e velocidade angular dos movimentos, a partir de sinais de contração muscular. Como ICA é baseado na independência, o que implica em cálculos de sinais não gaussianos, diferentes algoritmos estão disponíveis para traçar os ICs (Comon, 1994; Jutten; Herault, 1991), dentre eles: MILCA (*Mutual Information based on Least Dependent Component*, Stogbauer et al., 2004), SNICA (*Stochastic Nonnegative ICA*, Astakhov et al., 2006), KICA (*Kernel ICA*, Francis; Bach, 2002), Infomax (*Information maximization ICA*, Bell; Sejnowski, 1995), MFICA (*Mean-Field ICA*, Højen-Sørensen et al., 2002), WICA (*Window ICA*, Liu et al., 2008), FastICA (*Fast Independent Component Analysis*, Hyvärinen et al., 2001), e JADE (*Joint Approximation Diagonalization of Eigenmatrices*, Cardoso; Souloumiac, 1993).

O JADE é um algoritmo bastante utilizado a partir de dados espectroscópicos (RUTLEDGE; JOUAN-RIMBAUD, 2013). Enquanto os outros algoritmos muitas vezes consideram restrições para sua inicialização, diminuindo a independência estatística entre os sinais separados (Miljkovic *et al.*, 2010; Naik, 2011), o JADE não faz uso de restrições e faz com que o sinal separado seja o mais estatisticamente independente possível (Jouan-Rimbaud; Rutledge, 2016).

Várias aplicações do ICA, podem ser encontrados em diferentes áreas do conhecimento na literatura científica, como, por exemplo, biomedicina (James; Gibson, 2002), processamento de áudio e imagem (Vicent *et al.*, 2006), e na agricultura (Zhu *et al.*, 2007). Visando discriminar entre fragmentos de casca e fruto de nozes, Prasad *et al.*, (2004) realizou estudos na avaliação de enfisemas em imagens de tomografia computadorizadas de alta resolução.

Se por um lado o ICA faz um reconhecimento de padrão não supervisionado, o IC-DA (Jouan-Rimbaud; Rutledge, 2016), é na verdade uma versão do ICA que orienta a análise para uma separação das classes predefinidas. Assim como o ICA, o IC-DA extrai sinais analíticos e suas proporções de uma matriz de mistura de sinais, mas o IC-DA usa informações prévias sobre a presença de classes para orientar os cálculos do ICA (Jouan-Rimbaud; Rutledge, 2016; Khodorova, 2021). O IC-DA tem sido aplicado principalmente em abordagens metabolômicas para identificar biomarcadores específicos (Habchi, *et al.*, 2017; Moro *et al.*, 2023). A aplicação do IC-DA no campo da ciência de alimentos é nova e um trabalho explora seu uso para análise de minerais em café (Baqueta *et al.*, 2024).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Matéria prima

Para a realização deste estudo foram utilizadas 87 amostras de especiarias comerciais de orégano, alecrim, hortelã e canela de marcas e lotes diferentes. As amostras foram obtidas em comércios no Canadá, França e Brasil. Como é mostrado no Quadro 1.

**Quadro 1 – Amostras orgânicas e convencionais do estudo.**

(continua)

| <b>Número da Amostra</b> | <b>Espécie</b> | <b>Classe</b> | <b>Marca</b>   | <b>País</b> |
|--------------------------|----------------|---------------|----------------|-------------|
| 01                       | Canela         | Orgânica      | Barbou's       | Canada      |
| 02                       | Canela         | Orgânica      | Farmer John's  | Canada      |
| 03                       | Canela         | Orgânica      | Club House     | Canada      |
| 04                       | Canela         | Orgânica      | Farmer John's  | Canada      |
| 05                       | Canela         | Orgânica      | Simply Organic | Canada      |
| 06                       | Canela Ceylon  | Orgânica      | Simply Organic | Canada      |
| 07                       | Canela         | Convencional  | Compliments    | Canada      |
| 08                       | Canela         | Convencional  | Mc Cornick     | Canada      |
| 09                       | Canela         | Convencional  | Club House     | Canada      |
| 10                       | Canela         | Convencional  | Mc Cornick     | França      |
| 11                       | Canela         | Convencional  | Ducrus         | França      |
| 12                       | Canela         | Convencional  | Saint Lucie    | França      |
| 13                       | Canela         | Convencional  | Albert Menés   | França      |
| 14                       | Canela         | Convencional  | Leader Price   | França      |
| 15                       | Canela         | Convencional  | Bombay         | Brasil      |
| 16                       | Canela         | Convencional  | Boa Esperança  | Brasil      |
| 17                       | Canela         | Convencional  | Sabor a mais   | Brasil      |
| 18                       | Canela         | Convencional  | Kinino         | Brasil      |
| 19                       | Canela         | Convencional  | De la Torre    | Brasil      |
| 20                       | Canela         | Convencional  | Beija Flor     | Brasil      |
| 21                       | Canela         | Convencional  | Kitano         | Brasil      |
| 22                       | Hortelã        | Orgânica      | Medicinals     | Canada      |

**Quadro 1 – Amostras orgânicas e convencionais do estudo.****(continua)**

|    |         |              |                            |        |
|----|---------|--------------|----------------------------|--------|
| 23 | Hortelã | Orgânica     | Farmer John's              | Canadá |
| 24 | Hortelã | Orgânica     | Organic Biologique         | Canadá |
| 25 | Hortelã | Orgânica     | Jardim Bio Mentha Spicata  | França |
| 26 | Hortelã | Orgânica     | Jardim Bio Mentha piperita | França |
| 27 | Hortelã | Orgânica     | Sabor Gaúcho               | Brasil |
| 28 | Hortelã | Orgânica     | Rei do chá                 | Brasil |
| 29 | Hortelã | Orgânica     | Vitória                    | Brasil |
| 30 | Hortelã | Orgânica     | Patricia                   | Brasil |
| 31 | Hortelã | Convencional | President Choice           | Canadá |
| 32 | Hortelã | Convencional | Stash                      | Canadá |
| 33 | Hortelã | Convencional | Twinings                   | Canadá |
| 34 | Hortelã | Convencional | Tetley                     | Canadá |
| 35 | Hortelã | Convencional | Cialho                     | Brasil |
| 36 | Hortelã | Convencional | Bertolin in natura         | Brasil |
| 37 | Hortelã | Convencional | Gauer                      | Brasil |
| 38 | Hortelã | Convencional | Chá Leão                   | Brasil |
| 39 | Alecrim | Orgânica     | Farmer John's              | Canadá |
| 40 | Alecrim | Orgânica     | Club House                 | Canadá |
| 41 | Alecrim | Orgânica     | Jardim Bio                 | França |
| 42 | Alecrim | Orgânica     | Fazenda do Retiro          | Brasil |
| 43 | Alecrim | Orgânica     | Kampo de Ervas             | Brasil |
| 44 | Alecrim | Convencional | Mc Cornick                 | Canadá |
| 45 | Alecrim | Convencional | President Choice           | Canadá |
| 46 | Alecrim | Convencional | No name                    | Canadá |
| 47 | Alecrim | Convencional | Atlantic                   | Canadá |
| 48 | Alecrim | Convencional | Club House                 | Canadá |
| 49 | Alecrim | Convencional | Compliments                | Canadá |
| 50 | Alecrim | Convencional | Albert Menés               | França |
| 51 | Alecrim | Convencional | Reflets                    | França |
| 52 | Alecrim | Convencional | Saint Lucies               | França |
| 53 | Alecrim | Convencional | Kania                      | França |
| 54 | Alecrim | Convencional | Sabor a mais               | Brasil |
| 55 | Alecrim | Convencional | Sabor a mais               | Brasil |
| 56 | Alecrim | Convencional | De la Torre                | Brasil |

**Quadro 1 – Amostras orgânicas e convencionais do estudo.****(conclusão)**

|    |         |              |                    |        |
|----|---------|--------------|--------------------|--------|
| 57 | Alecrim | Convencional | Produtos Esperança | Brasil |
| 58 | Alecrim | Convencional | Kinino             | Brasil |
| 59 | Orégano | Orgânico     | Barbou's           | Canadá |
| 60 | Orégano | Orgânico     | Simply Organic     | Canadá |
| 61 | Orégano | Orgânico     | Simply Organic     | Canadá |
| 62 | Orégano | Orgânico     | Farmer Johns Herbs | Canadá |
| 63 | Orégano | Orgânico     | Pereg              | Canadá |
| 64 | Orégano | Orgânico     | Club House         | Canadá |
| 65 | Orégano | Convencional | Olde Thompson      | Canadá |
| 66 | Orégano | Convencional | Mc Cornick         | Canadá |
| 67 | Orégano | Convencional | Encore Gourmet     | Canadá |
| 68 | Orégano | Convencional | Club House         | Canadá |
| 69 | Orégano | Convencional | Club House         | Canadá |
| 70 | Orégano | Convencional | Compliments        | Canadá |
| 71 | Orégano | Convencional | Atlantic           | Canadá |
| 72 | Orégano | Convencional | Victoria Taylor's  | Canadá |
| 73 | Orégano | Orgânico     | Paysans Díce       | França |
| 74 | Orégano | Orgânico     | Carrefour Bio      | França |
| 75 | Orégano | Convencional | Reflets de France  | França |
| 76 | Orégano | Convencional | Leader Price       | França |
| 77 | Orégano | Convencional | Ducros             | França |
| 78 | Orégano | Convencional | Saint Lucie        | França |
| 79 | Orégano | Convencional | Albert Menés       | França |
| 80 | Orégano | Convencional | De la Torre        | Brasil |
| 81 | Orégano | Convencional | Bombay             | Brasil |
| 82 | Orégano | Convencional | kinino             | Brasil |
| 83 | Orégano | Convencional | Sabor a mais       | Brasil |
| 84 | Orégano | Convencional | Kitano             | Brasil |
| 85 | Orégano | Convencional | Produtos Esperança | Brasil |
| 86 | Orégano | Convencional | Beija Flor         | Brasil |
| 87 | Orégano | Convencional | Br Spice           | Brasil |

**Fonte: autoria própria (2024).**

## 4.2 Granulometria da matéria-prima

As amostras foram trituradas separadamente, utilizando um liquidificador industrial e para realizar a padronização, todas as amostras passaram por peneira de 0,80 mesh, para assegurar a homogeneidade dos espectros. As amostras foram armazenadas em tubos *eppendorf* a temperatura ambiente e protegidas da luz até o momento da análise.

## 4.3 Preparo da amostra para Espectrometria de massas MALDI-TOF

Para realizar a análise de massas utilizando a técnica TOF-MALDI. Inicialmente foi necessário a preparação da matriz solução de HCCA ( $\alpha$ -ciano-4-hydroxicinâmico), em uma mistura de solventes: 47,5% água ultrapura estéril, purificada em equipamento MiliQ (Merck Millipore), 2,5% de ácido trifluoracético (TFA) e 50% acetonitrila (ACN). Após o preparo foram adicionados 10  $\mu$ L da matriz em um micro tubo de 200  $\mu$ L. A amostra foi coletada utilizando um palito de madeira, dissolvida e dispersas na matriz solução, após homogeneizada 16x. Esta matriz é responsável por absorver e passar a energia proveniente do laser, fazendo com que os analitos presentes na amostra ionizem. Após o preparo, 1  $\mu$ L da suspensão foi transferido para os poços de uma placa de MALDI (modelo MSP 96 Bruker Daltonics). Após transferir a amostra aos poços é necessário que a solução de suspensão evapore, deixando-se secar ao ar ambiente. Depois da evaporação do solvente, a placa foi inserida no equipamento. Para a calibração do equipamento, utilizou-se 1  $\mu$ L do calibrante padrão Bacterial Test Standard-BTS (Bruker Daltonics) que é um extrato proteico de *E. coli*, juntamente com 1  $\mu$ L da matriz solução. Também é utilizado um poço somente com a matriz, para a posterior subtração do sinal da matriz.

## 4.4 Aquisição dos espectros de massas.

Todos os espectros foram gerados no mesmo dia no laboratório de pesquisa MS Bioscience, startup incubada na Incubadora Tecnológica de Maringá, com sede no Campus da Universidade Estadual de Maringá (UEM). Este laboratório possui sistema de climatização estabelecido em 18 °C.

Para a obtenção dos espectros de massas, a análise foi realizada no equipamento MALDI-TOF MS Microflex LT (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha) com laser de nitrogênio de 60 Hz em modo linear positivo. Foram utilizadas as seguintes condições; modo aquisição: baixa definição; tipo de analisador: sensibilidade; fonte de íons: Ion positivo. O método consiste em um somatório de 500 disparos, divididos em 10 disparos de 50 tiros por local do poço, os disparos foram realizados de forma aleatória (opção “Random Walk”). Faixa de varredura em  $m/z$  0-2000 Dalton. As amostras foram retiradas dos seus respectivos recipientes e colocadas em placa MSP 96 target polished Bc ID 1001002154. As análises foram realizadas em triplicata para cada uma das amostras. Como resultado foram obtidos 261 espectros.

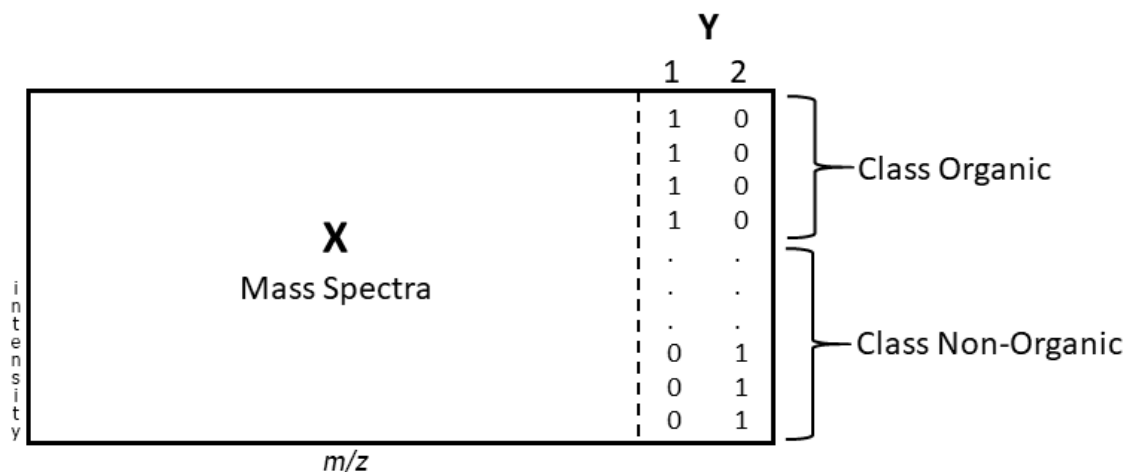
#### **4.5 Processamento dos dados**

Os espectros obtidos foram processados com o auxílio do software MS table para igualar o número de pontos dos espectros. Foram utilizados parâmetros de resolução 1 e limites entre 0 e 2000. Os dados foram organizados em forma de matrizes, onde as intensidades de razões massa/carga para cada amostra correspondem as linhas e as diferentes razões massa/carga correspondem as colunas. Os dados foram centrados na média e a ferramenta quimiométrica IC-DA foi aplicada a partir do software MATLAB R2007B.

## 5 RESULTADO E DISCUSSÃO

A Figura 2 mostra uma representação esquemática da organização dos dados para a aplicação do IC-DA.

Figura 2 - Organização dos espectros de massas para aplicação de IC-DA.



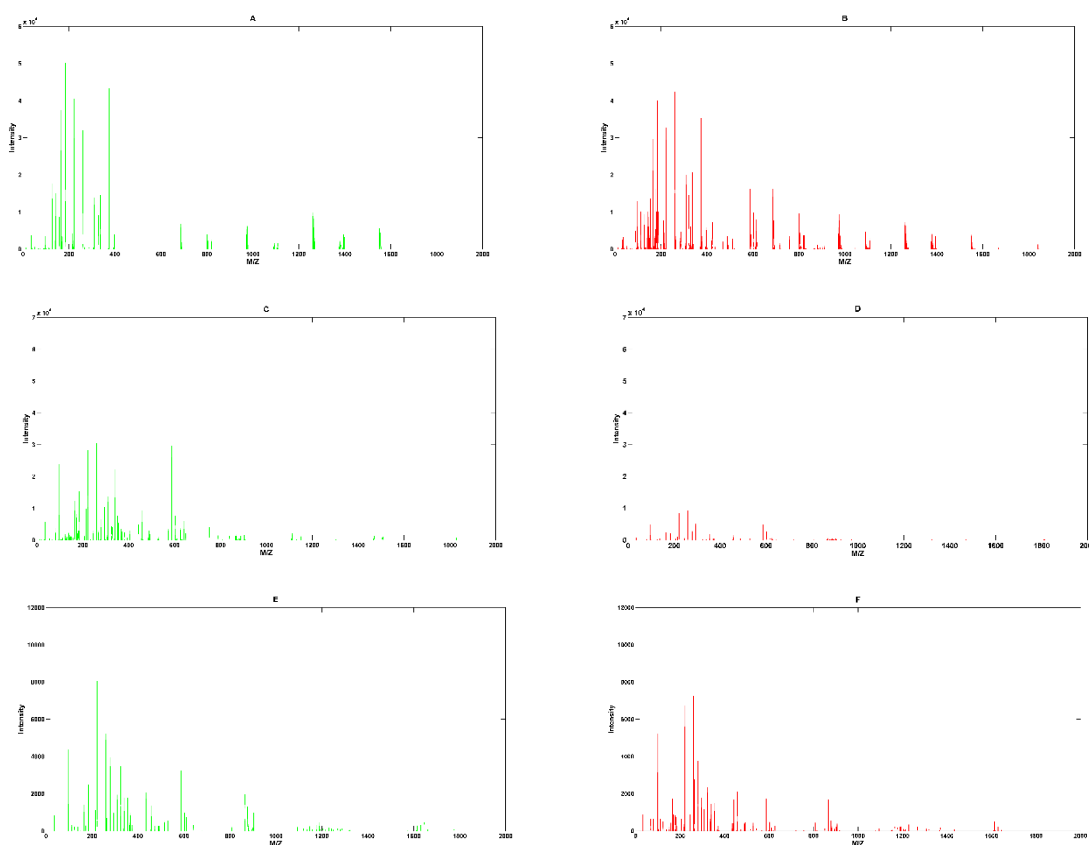
Fonte: Autoria própria (2024).

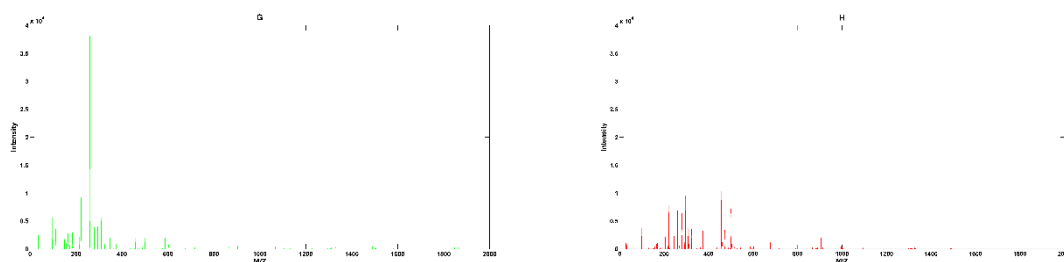
Conforme se pode verificar na Figura 2, IC-DA difere do ICA por considerar tanto a matriz **X** (espectros de massas – Figura 3) quanto uma outra matriz **Y**, contendo indicadores binários codificados de pertencimento ou não à classe de amostras orgânicas e não orgânicas. Neste caso, o número '1' na primeira coluna da matriz **Y** indica que a amostra pertence à classe de amostras orgânicas. Por outro lado, o número '0' na primeira coluna indica que se trata de uma amostra não orgânica. Da mesma forma, na segunda coluna de **Y** o número '0' indica amostra orgânica e o número '1' indica amostras na classe não orgânica.

Na aplicação da IC-DA, as matrizes **X** (espectros de massas) e **Y** (codificadas de acordo com a classe da amostra) são primeiro concatenadas em linhas em uma única tabela de dados **XY**, que é analisada pelo IC-DA. Primeiramente, equilibra-se as ordens de grandeza de **X** e **Y** para serem semelhantes e, em seguida, determina-se o número ideal de componentes independentes (ICs). Os modelos IC-DA são construídos com um número crescente de ICs para determinar o IC que fornece a maior taxa de acerto das amostras em suas classes. Uma vez conhecido o número ideal de ICs, um modelo IC-DA ideal é calculado. Além disso, para testar a separação

obtida pelo IC-DA, o conjunto de dados foi separado em duas partes utilizando o método “*venetian blind*”. Esta técnica é muito utilizada em quimiometria para avaliação da qualidade e robustez do modelo analítico, este método envolve a ocultação sistemática de parte dos dados. Que é feito por uma série de “janelas” ou “faixas” que são removidas dos dados originais, avaliando o comportamento do modelo quando confrontado com dados não vistos. Dessa forma, metade das amostras foram usadas para criar um modelo IC-DA e a parte **X**, dos sinais extraídos, foi usada para calcular as proporções para os conjuntos de calibração e teste. Finalmente, um teste de permutação foi usado para validar o modelo IC-DA, verificando que uma separação comparativamente boa não poderia ser obtida com agrupamentos de amostras aleatórias (Jouan-Rimbaud; Rutledge, 2016; Khodorova *et al.*, 2019).

**Figura 3 - Espectro de massas obtidos por MALDI TOF-MS em modo positivo, para canela orgânica (A), canela não orgânica (B), hortelã orgânico (C), hortelã não orgânico (D), orégano orgânico (E), orégano não orgânico (F), alecrim orgânico (G), alecrim não orgânico (H).**





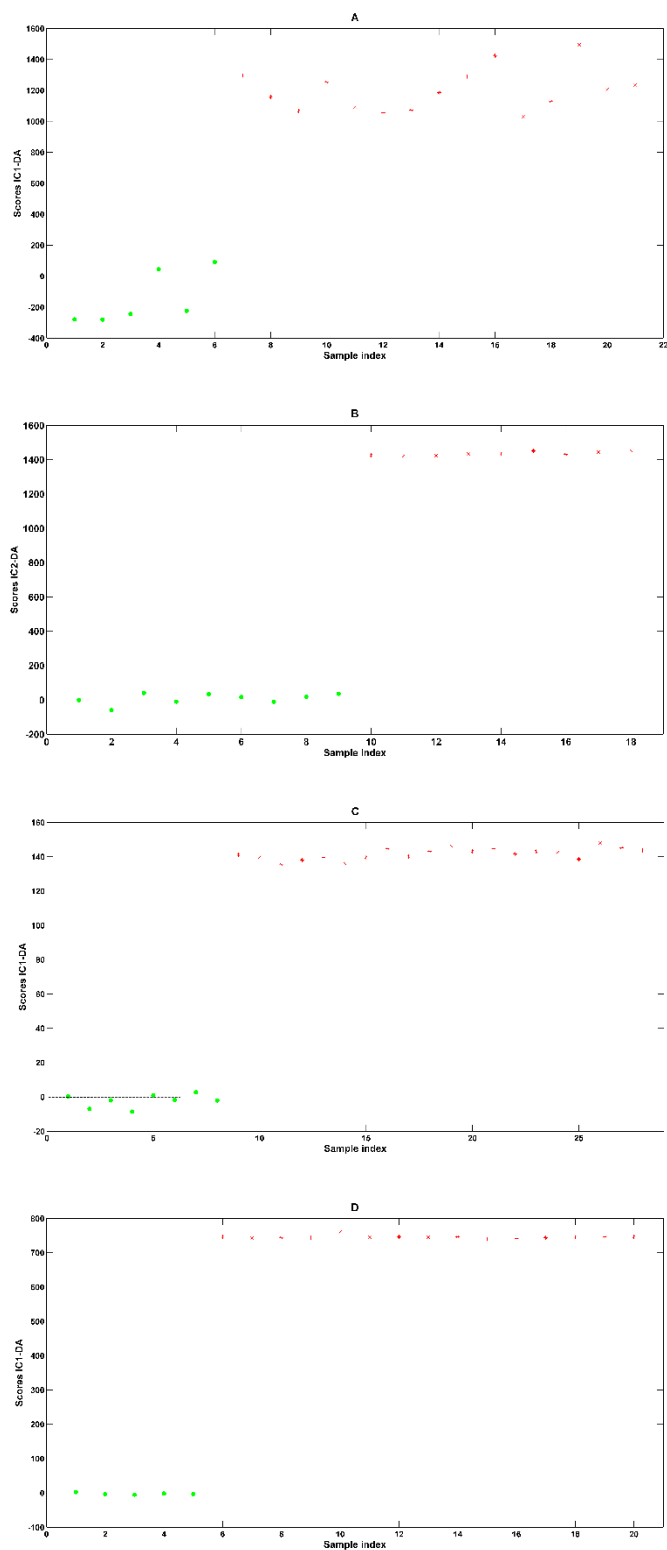
Fonte: Autoria própria (2024).

Os espectros de massas para as especiarias, Figura 3, apresentam distinções e padrões de distribuição com intensidades diferentes para as amostras orgânicas e não orgânicas. Com isso, a aplicação do IC-DA auxilia a busca por informações sobre os íons ao longo das duas classes, e como essa distribuição pode ser atribuída como marcador para cada classe.

A IC-DA aplicada aos espectros de massas mostrou discriminação entre as amostras orgânicas e não-orgânicas, conforme Figura 4. Ao analisar os *scores* de IC-DA observa-se que as amostras orgânicas estão agrupadas nas regiões de scores mais baixos ou negativos, enquanto as amostras não orgânicas encontram-se em região de *scores* mais elevados.

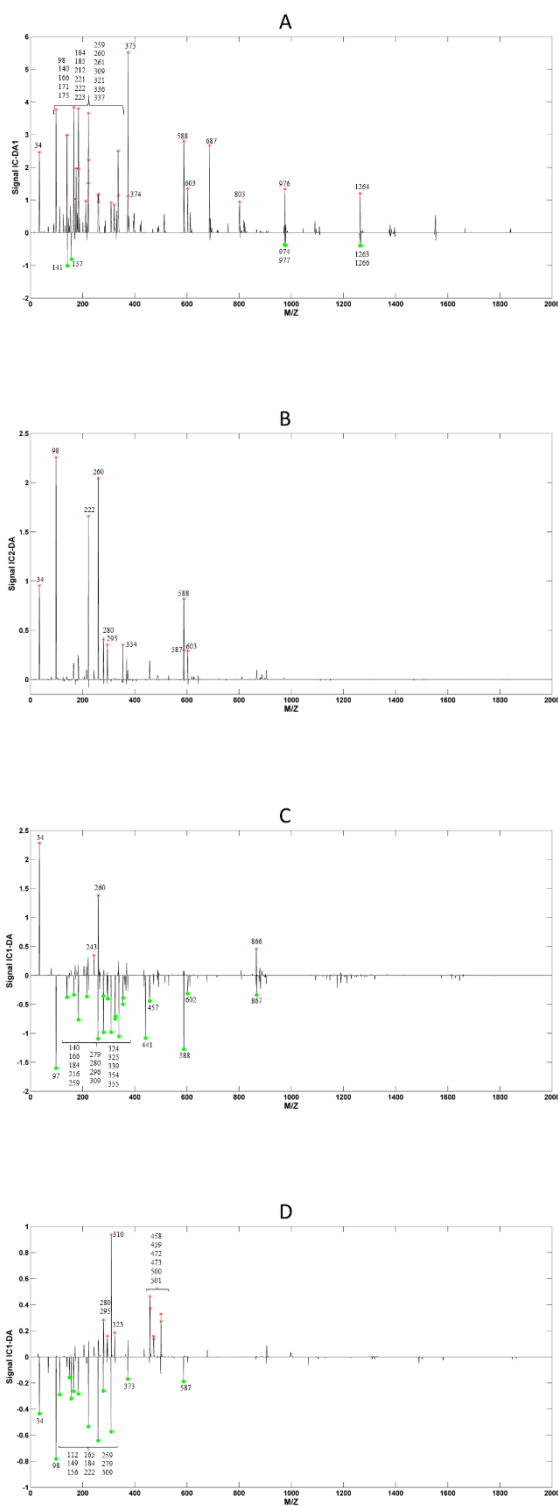
A separação das amostras de especiarias por IC-DA fornece também um perfil de sinal que pode evidenciar possíveis marcadores para diferenciar dentre as classes de amostras orgânicas e não orgânicas de cada especiaria. Esses sinais são apresentados na Figura 4 e, os principais íons são destacados para as amostras orgânicas de canela 141, 157, 974, 977, 1263, 1266 (Figura 5A). Para a hortelã (Figura 5B) o modelo teoricamente não identificou íons de importância para as amostras de hortelã orgânica. Entretanto, os espectros de massas da hortelã orgânica e não orgânica mostra-se bastante semelhante com diferenças significativas nas intensidades. Portanto, os íons diferem em intensidade nas classes de amostras de origem orgânica e não orgânica, essa variação de intensidade não serviu como um critério de identificação. Os principais íons moleculares para o orégano de origem orgânica (Figura 5C) são 97, 140, 166, 184, 216, 259, 279, 280, 296, 309, 324, 325, 339, 354, 355, 441, 457, 588, 602 e 867. O alecrim orgânico (Figura 5D) os íons de maior importância são 34, 98, 112, 149, 156, 165, 184, 222, 259, 279, 309, 373, 587.

**Figura 4 - Scores do IC-DA para canela (A), hortelã (B), orégano (C), alecrim (D).**  
 (●) amostras orgânicas. (✱) amostras não orgânicas.



**Fonte: Autoria Própria (2024).**

**Figura 5 - Sinais do IC-DA para canela (A), hortelã (B), orégano (C), alecrim (D).**  
**(●) íons importantes para amostras orgânicas. (★) íons importantes para amostras não orgânicas.**



Fonte: Autoria Própria (2024).

## 6 CONCLUSÃO

A aplicação de técnicas quimiométricas aos espectros de massa obtidos por MALDITOF permitiu desenvolver um método analítico rápido e preciso para diferenciar especiarias – como canela, hortelã, orégano e alecrim – com base em seus sistemas de cultivo, orgânico e convencional. Este método demonstrou alta eficácia na discriminação das amostras, validando o uso combinado de espectrometria de massas e análise de componentes independentes com análise discriminante (IC-DA) para avaliar alimentos orgânicos. Os resultados obtidos destacam o potencial dessa metodologia para autenticação rápida de especiarias, auxiliando no controle de qualidade e na segurança alimentar. A inovação proposta representa um avanço significativo no desenvolvimento de ferramentas analíticas para o setor alimentício, especialmente no contexto da crescente demanda por produtos orgânicos e a necessidade de métodos confiáveis para sua verificação. Assim, este estudo contribui para fortalecer a confiança do consumidor e apoiar práticas de mercado mais transparentes, com impacto positivo para produtores, reguladores e consumidores.

## REFERÊNCIAS

- AHAMAD, J; AHMAD, J; MUATH, S.H; AMEEN, M; ANWER, E. T; AMEEDUZZAFAR, S. R. Chapter 12: Proteomics in authentication of honey. **Proteomics for Food Authentication**. CRS Press, Taylor & Francis Group: Boca Raton, FL. 2020.
- AHAMAD, J; AHMAD, J; SHAHZAD, N; MOHSIN, N. Authentication and Traceability of Wine. **Fingerprinting Techniques in Food Authentication and Traceability**, vol. 1. CRS Press, Taylor & Francis Group: Boca Raton, FL. 2018.
- ASSIS, D. M; JULIANO, L; JULIANO, M. A. A espectrometria de massas aplicada na classificação e identificação de microrganismos. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, Três Corações, v. 9, n. 2, p. 344-355, ago./dez. 2011.
- ASTAKHOV, S. A; STOGBAUER, H; KRASKOV, A. GRASSBERGER, P. Monte Carlo Algorithm for Least Dependent Non-Negative Mixture Decomposition. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 78, n. 5, p. 1620-1627. 2006.
- BACH, F; JORDAN, M. I; Kernel Independent Component Analysis. **Journal of Machine Learning Research**, v. 3, p. 1-48, 2002.
- BAJOUB, A. *et al*. A metabolic fingerprinting approach based on selected ion flow tube mass spectrometry (SIFT-MS) and chemometrics: A reliable tool for Mediterranean origin-labeled olive oils authentication. **Food Research International**, v. 106, p. 233–242, 2018.
- BAQUETA, M. R; COSTA-SANTOS, A. C; REBELLATO, A. P; LUZ, G. M; PALLONE, J. A. L; MARINI, F; TEIXEIRA, A. L; RUTLEDGE, D. N; VALDERRAMA, P. Independent components–discriminant analysis for discrimination of Brazilian Canephora coffees based on their inorganic fraction: A preliminary chemometric study. **Microchemical Journal**, 2024.
- BARREIRO, J. R. Identificação de patógenos causadores de mastite subclínica por espectrometria de massas. 2009. 75 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Produção Animal) - **Universidade de São Paulo**, Pirassununga, 2010.
- BELL, A; SEJNOWSKI, T. J. An Information-Maximization Approach to Blind Separation and Blind Deconvolution. **Neural Computation**, v. 7, n. 6, p. 1129-1159. 1995.
- BÖHME, K; FERNÁNDEZ-NO, I. C; BARROS-VELÁZQUEZ, J; GALLARDO, J. M; CAÑAS, B; CALO-MATA, P. Species identification of food spoilage and pathogenic bacteria by MALDI-TOF mass fingerprinting. **Food Quality**, Kostas Kapisir, IntechOpen. 2012.
- BORGUINI, R. G; TORRES, E. A. F. da S. Alimentos orgânicos: qualidade nutritiva e segurança do alimento. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 13, n. 2, p. 64–75, 2015.

BORGUINI, R. G; MATTOS F. L. Análise do Consumo de Alimentos Orgânicos no Brasil. *In: Anais do XL Congresso Brasileiro de Economia e Sociologia Rural*, 2002; 28 – 31 julho; Passo Fundo; Brasília: SOBER, 2002. p.38.

BOURN, D; PRESCOTT J. A. Comparison of the nutritional value, sensory qualities and food safety of organically and conventionally produced foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 42, n. 1, p. 1-34, 2002.

BRASIL. **Lei nº 10.831, 23 de dezembro de 2003**. Ministério da Agricultura e Agropecuária. Dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, p. 8, 24 dez. 2003. Seção 1. Disponível em: [https://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/2003/l10.831.htm](https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/2003/l10.831.htm). Acesso em 15 mar. 2024.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 52, de 15 de março de 2021**. Estabelece o Regulamento Técnico para os Sistemas Orgânicos de Produção. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sustentabilidade/organicos/legislacao/portugues/instrucao-normativa-no-19-de-28-de-maio-de-2009-mecanismos-de-controle-e-formas-de-organizacao.pdf/view>. Acesso em: 10. set. 2024.

BRUNI, A. R. S; OLIVEIRA, V. M. A. T; FERNANDEZ, A. S. T; SAKAY, O. A; MARÇO, P. H; VALDERRAMA, P. Attenuated total reflectance Fourier transform (ATR-FTIR) spectroscopy and chemometrics for organic cinnamon evaluation. **Food Chemistry**, v. 365. n.15. 2021.

BOUVERESSE, D. J-R; RUTLEDGE, D. Independent Components Analysis with the JADE algorithm. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 50, p. 22-32, 2013.

BOUVERESSE, D. Jouan-Rimbaud; RUTLEDGE, D. N. Independent Components Analysis: Theory and Applications. **Data Handling in Science and Technology**, Elsevier, 2016.

BUCKA-KOLENDO, J; SOKOŹOWSKA, B.; WINIARCZYK, S. Influence of high hydrostatic pressure on the identification of *Lactobacillus* by MALDI-TOF MS-preliminary study. **Microorganisms**, v. 8. p. 813. 2020.

CALO-MATA, P; BÖHME, K; CARRERA, M; CAAMAÑO-ANTELO, S; GALLARDO, J.M; BARROS-VELÁZQUEZ, J; CAÑAS, B. Bacterial identification by LC ESI-IT-MS/MS. **Microbes in the spotlight: recent progress in the understanding of beneficial and harmful microorganisms**. BrownWalker Press, Universal Publishers Inc., Boca Raton, FL, USA. p.160–164. 2016.

CAM, M; BASYIGITB, B; ALASALVARC, H; YILMAZTEKIND, M; AHHMEDE, A; SAGDICE, O; KONCAF, Y; TELCI, I. Bioactive properties of powdered peppermint and spearmint extracts: Inhibition of key enzymes linked to hypertension and type 2 diabetes. **Food Bioscience**, v. 35, p. 1-8, 2020.

CANADIAN GENERAL STANDARDS BOARD (CGSB). **Organic production systems: General principles and management standards**, 2018. Disponível em:

[https://publications.gc.ca/collections/collection\\_2020/ongc-cgsb/P29-32-310-2020-eng.pdf](https://publications.gc.ca/collections/collection_2020/ongc-cgsb/P29-32-310-2020-eng.pdf). Acesso em: 05 jun. 2024.

CANADIAN GENERAL STANDARDS BOARD. Organic Production Systems: Aquaculture - General principles, management standards, and permitted substances lists. **National Standard of Canada**, v. CAN/CGSB-3, n. 1, p. 48, 2018.

CARDOSO, J. F; SOULOUMIAC, A; Blind Beamforming for non Gaussian Signals. IEE proceedings-F. **Radar and Signal Processing**, v. 140, n. 6, p. 362-370, 1993.

CHAN, K. Some aspects of toxic contaminants in herbal medicines. **Chemosphere**, v. 52, p. 1361-1371, 2003.

CHEKIMA, B. *et al.* Narrowing the gap: Factors driving organic food consumption. **Journal of Cleaner Production**, v. 166, p. 1438–1447, 2017.

CHEN, X; E, MUKWAYA; WONG, M. S; Y. ZHANG. A systematic review on biological activities of prenylated flavonoids, **Pharmaceutical Biology**, v. 52, p. 655–666. 2014.

COMON, P. Independent Component Analysis – a new concept. **Signal Processing**. 1994.

CROSS, J. V. Susceptibility of the summer fruit tortrix moth, *Adoxophyes orana* (Lepidoptera: Tortricidae), to chlorpyrifos and strategies for insecticidal control in orchards. **Annals of Applied Biology**, v. 131, n. 2, p. 197–212, 2008.

CUEVAS, F. J. *et al.* A holistic approach to authenticate organic sweet oranges (*Citrus Sinensis* L. cv Osbeck) using different techniques and data fusion. **Food Control**, v. 104, n. April, p. 63–73, 2019.

CUEVAS, F. J; MORENO-ROJAS, J. M; ARROYO, F; DAZA, A; RUIZ-MORENO, M. J."Effect of Management (organic vs Conventional) on Volatile Profiles of Six Plum Cultivars (*Prunus Salicina* Lindl.). A Chemometric Approach for Varietal Classification and Determination of Potential Markers. **Food Chemistry**, v. 199, p. 479-484. 2016

CUNHA, R. B; CASTRO, M. S; FONTES, W. Espectrometria de massa de proteínas – O papel-chave da espectrometria de massa na era pós-genômica. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, ano IX, n. 36, p. 40-46. 2006

DE-MAGISTRIS, T; GRACIA, A. Consumers' willingness-to-pay for sustainable food products: The case of organically and locally grown almonds in Spain. **Journal of Cleaner Production**, v. 118, p. 97–104, 2016.

DESAM, N. R; AL-RAJAB, A. J; SHARMA, M; MARY MOSES, M; REDDY, G. R; ALBRATTY, M. Chemical constituents, in vitro antibacterial and antifungal activity of *Mentha piperita* L. (Peppermint) essential oils. **Journal of King Saud University – Science**, v. 31, p. 528–533, 2017.

DRABOVA, L. *et al.* Food fraud in oregano: Pesticide residues as adulteration markers. **Food Chemistry**, v. 276, n. September 2018, p. 726–734, 2019.

FATIHA, B; MADANI, K; CHIBANE, M; DUEZ, P. Chemical Composition and Biological Activities of Mentha Species. **Aromatic and Medicinal Plants - Back to Nature**. Rijeka, Croatia: InTech, 2017.

FERNANDEZ, A. S. T; BRUNI, A. R. S; TEODORO, V. M. A; MARÇO, P. H; VALDERRAMA, P. Autenticação de orégano (origanum vulgare L.) orgânico utilizando espectroscopia NIR e quimiometria. **Química Nova**, v. 43, n. 10, 1500-1504, 2020.

FERNANDEZ, A; BRUNI, A; OLIVEIRA DE V; MARÇO, P. H; VALDERRAMA, P. Autenticação de orégano (origanum vulgare L.) orgânico utilizando espectroscopia nir e quimiometria. **Química Nova**, v. 43, p.1500– 1504. 2020

FIAMENGOS, Y; PAPOCI, S; DUMITRASCU, C; GHIDOTTI, M; ZDINIAKOVA, T; ULBERTH, F; GUNTINAS, M. B. C. Are the elemental fingerprints of organic and conventional food different? ED-XRF as screening technique. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 99. 2021.

FiBL; IFOAM. **The World of Organic Agriculture. Statistics and Emerging Trends 2020**. Disponível em: <https://www.fibl.org/en/shop-en/5011-organic-world-2020>; Acesso em: 03 jul. 2024.

GAN, C.; COHEN, D. A. Consumer attitudes towards the purchase of organic products in China. **International Journal of Business and Economics**, v. 15, n. 2, p. 117–144, 2014.

GAO, B; LU, Y; QIN, F; CHEN, P; SHI, H; CHARLES, D; YU, L. **Differentiating Organic from Conventional Peppermints Using Chromatographic and Flow Injection Mass Spectrometric (FIMS) Fingerprints**. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60. n. 48. p. 11987-11984. 2012.

GAO, B; LU, Y; SHENG, Y; CHEN, P; YU, L. "Differentiating Organic and Conventional Sage by Chromatographic and Mass Spectrometry Flow Injection Fingerprints Combined with Principal Component Analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61. n.12. p. 3047-3053. 2013.

GAO, B; QIN, F; DING, T; CHEN, Y; LU, W; YU, L. Differentiating Organically and Conventionally Grown Oregano Using Ultraperformance Liquid Chromatography Mass Spectrometry (UPLC-MS), Headspace Gas Chromatography with Flame Ionization Detection (Headspace-GC-FID), and Flow Injection Mass Spectrum (FIMS) Fingerprints Combined with Multivariate Data Analysis **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 32, p. 8075-8084, 2014.

GOMEZ-RAMOS, M; NONNOU, C; BUENO, M. J. M; GODOY, A; MURCIA-MORALES, M; FERRER, C; FERNANDEZ-ALBA, A.R. Pesticide residues evaluation of organic crops. A critical appraisal. **Food Chemistry: X**, v. 5, 2020.

GONZÁLEZ, N. *et al*. Occurrence of environmental pollutants in foodstuffs: A review of organic vs. conventional food. **Food and Chemical Toxicology**, v. 125, p. 370–375, 2019.

HABCHI, B; ALVES, S; JOUAN-RIMBAUD BOUVERESSE, D. MOSLAH, B. PARIS, A. L'ECLUSE, Y. GAUDUCHON, P. LEBAILLY, P. RUTLEDGE, D.N. RATHAHAO-PARIS. An innovative chemometric method for processing direct introduction high-resolution mass spectrometry metabolomic data: independent component-discriminant analysis (IC-DA), **Metabolomics**, v. 13, p. 1–12, 2017.

HERAULT, J; JUTTEN, C. Space or time adaptive signal processing by neural network models. In Neural Networks for Computing. Proceedings of AIP Conference. **American Institute of Physics**, New York. p. 206-211. 1986.

HERMAN, L. Herb & Spice Companion: **The Complete Guide to over**. Wellfleet Press, 2015.

HØJEN-SØRENSEN, P.A.D.F.R; WINTHER, O. HANSEN, L.K. Approximate inference in probabilistic models. **Neural Computing**, v. 14, p. 889, 2002.

HYVÄRINEN, A; KARHUNEN J; OJA, E. Independent Component Analysis, **John Wiley & Sons Inc.**, New York. 2001.

JAMES, C. J; GIBSON, O. J. Electromagnetic brain signal analysis using constrained ICA, **Proceedings of 2<sup>nd</sup> European Medical and Biological Engineering Conference** (EMBE'02), Vienna, Austria, Part I, p. 426-427, Dec. 2002.

JUTTEN, C; HERAULT, J. Blind Separation of Sources, part I: An adaptative algorithm based on neuromimetic architecture. **Signal Processing**, v. 24, p. 1-10, 1991.

KESSE-GUYOT, E; *et al.* Déterminants et corrélats de la consommation d'aliments issus de l'agriculture biologique. Résultats du projet BioNutriNet. **Cahiers de Nutrition et de Dietétique**, v. 53, n. 1, p. 43–52, 2018.

KHODOROVA, N. V; RIETMAN, A; RUTLEDGE, D. N; SCHWARZ, J; PIEDCOQ, J; PILARD, S; SIEBELINK, E; KOK, F. J; TOM'E, D; MENSINK, M; AZZOUT-MARNICHE, D. Urinary medium chained acyl-carnitines sign high caloric intake whereas short-chained acylcarnitines sign high-protein diet within a high-fat, hypercaloric diet in a randomized crossover design dietary trial. **Nutrients**, v. 13, 2021.

KOSIKOWSKA U; STYPIEY-PYŃIAK D; PIETRAS-OYGA D; ANDRZEJCZUK S; JUDA, M; MALM, A. Application of MALDI-TOF MS for identification of clinical isolates from humans and animals. **Diagnostic Laboratory**, v. 51, p. 23-30, 2015.

LAU, H. *et al.* A game theoretic decision model for organic food supplier evaluation in the global supply chains. **Journal of Cleaner Production**, v. 242, p. 118536, 2020.

LAY JR, J. O. MALDI-TOF mass spectrometry and bacterial taxonomy. **Trends in analytical chemistry**, Jefferson, v. 19, n. 8, p. 507-516, 2000.

LIU, Z; CAI, W; SHAO, J. X. Sequential extraction of mass spectra and chromatographic profiles from overlapping gas chromatography–mass spectroscopy signals. **Journal of chromatography**, v. 1190, n. 1-2, p. 358-364, 2008.

LIYANAGE, N. M. N; RANAWAKE, A.L; BANDARANAYAKE, P. C. G. Cross-pollination effects on morphological, molecular, and biochemical diversity of a selected cinnamom (*Cinnamomum zeylanicum* blume) seeding population. **Journal of Crop Improvement**, v. 00, n. 00, p.1-17,2020.

LIORENT-MARTÍNEZ, E. J; FERNÁNDEZ-DE-CÓRDOVA, M. L; ORTEGA-BARRALES, P; RUIZ-MEDINA, A. Characterization and comparison of the chemical composition of exotic superfoods. **Microchemical Journal**, v. 110, p. 444–451, 2010.

LU, Y. *et al.* Characterisation of organic and conventional sweet basil leaves using chromatographic and flow-injection mass spectrometric (FIMS) fingerprints combined with principal component analysis. **Food Chemistry**, vol. 154, p. 262-268, July 2014.

LV, J; HUANG, H; LU, Y; WHENT, M; NIU, Y; SHI, H; WANG, T; LUTHRIA, D; CHARLES, D; YU, L. Phenolic composition and nutraceutical properties of organic and conventional cinnamon and peppermint. **Food Chemistry**, v. 132, n.3, p. 1442-1450. 2012.

MATEOS-MARTÍN, M. I; FUGUET, E; QUERO, C; PÉREZ-JIMÉNEZ, J; TORRES, J. L. New Identification of Proanthocyanidins in Cinnamon (*Cinnamomum Zeylanicum* L.) Using MALDI-TOF/TOF Mass Spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 402, n. 3, p. 1327-336, 2012.

MILANI, M. I. *et al.* Authentication of roasted and ground coffee samples containing multiple adulterants using NMR and a chemometric approach. **Food Control**, v. 112, p. 107104, 2020.

MILJKOVIC, N; MATIC, V. VAN HUFFEL, S; POPOVIC, M. B. Independent Component Analysis (ICA) methods for neonatal EEG artefact extraction: sensitivity to variation of artifacts properties. **Symposium on Neural Network Applications in Electrical Engineering (NEURAL-2010)**, Belgrade, Serbia, 2010.

MILLARD, E. Backyard Pharmacy: Growing Medicinal Plants in Your Own Yard. **Cool Springs Press**, EUA, pp. 176. 2015.

MOLKENTIN, J. *et al.* Traceability of organic fish - Authenticating the production origin of salmonids by chemical and isotopic analyses. **Food Control**, v. 53, p. 55–66, 2015.

MORO, J; ROISN'E-HAMELIN, G; KHODOROVA, N; RUTLEDGE, D.N; MARTIN, J.C; BARBILLON, P; TOM'E, D; GAUDICHON, C; TARDIVEL, C; BOUVERESSE, D.-J.-R; AZZOUT-MARNICHE, D. Pipecolate and taurine are rat urinary biomarkers for lysine and threonine deficiencies. **Journal of Nutrition**, v. 153, n. 9, p. 2571-2584, 2023.

NAIK, G.R. A comparison of ICA algorithms in surface EMG signal processing, **International Journal of Biomedical Engineering and Technology**, v. 6, n. 4, p. 363-374, 2011.

NOVAK, V. *et al.* Authenticity testing of organically grown vegetables by stable isotope ratio analysis of oxygen in plant-derived sulphate. **Food Chemistry**, v. 291, p. 59–67, 2019.

OLIJHOEK, D. W. et al. Effect of dried oregano (*Origanum vulgare* L.) plant material in feed on methane production, rumen fermentation, nutrient digestibility, and milk fatty acid composition in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 11, p. 9902–9918, 2019.

OLIVEIRA, V. M. A. DE T. et al. Authentication of organic sugars by NIR spectroscopy and partial least squares with discriminant analysis. **Analytical Methods**, v. 12, n. 5, p. 701–705, 2020.

OLIVEIRA, V. M. A. T. Metodologia para autenticação de alecrim e hortelã orgânicos utilizando espectroscopia uv-vis associada a quimiometria. Dissertação de Mestrado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. 2021.

OLIVEIRA, V. M. A. T; BAQUETA, M. R; MARÇO, P. H; VALDERRAMA, P. Authentication of organic sugars by NIR spectroscopy and partial least squares with discriminant analysis. **Analytical Methods**, v. 12, p. 701-705, 2020.

OLIVEIRA, V. M. A. T; BRUNI, A. R. S; VALDERRAMA, P. Handheld UV Spectroscopy and MCC-PCA in the Evaluation of Organic *Rosmarinus officinalis* L. **Food Analytical Methods**, v. 17, p. 7-13, 2024.

ORGANIS. Qual o tamanho do mercado de orgânicos no Brasil? Disponível em: [https://organis.org.br/pensando\\_organico/qual-o-tamanho-do-mercado-de-organicos-no-brasil/](https://organis.org.br/pensando_organico/qual-o-tamanho-do-mercado-de-organicos-no-brasil/). Acesso em: 10 out. 2024.

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

PARK, J. B. Identification and quantification of a major anti-oxidant and anti-inflammatory phenolic compound found in basil, lemon thyme, mint, oregano, rosemary, sage, and thyme. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 62, n. 6, p. 577–584, 2011.

PINTO, T. J. A.; KANEKO, T. M.; PINTO, A. F. Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos. 3 ed. São Paulo: Editora **Atheneu**, 2010. 780 p.

POPA, M. E. et al. Organic foods contribution to nutritional quality and value. **Trends in Food Science and Technology**, v. 84, p. 15–18, 2019.

PRASAD, M. N; SOWMYA, A; KOCH, I. Feature subset selection using ICA 84 for classifying emphysema in HRCT images. *In*: **INTERNATIONAL CONFERENCE ON PATTERN RECOGNITION**, 17., 2004, Cambridge. Proceedings... Cambridge: ICPR, 2004. p. 515-518.

SHAN, B. *et al.* Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 20, p. 7749–7759, 2005.

SOUZA, A. P. O; ALCÂNTARA R. L.C. Alimentos orgânicos: estratégias para o desenvolvimento do mercado. *In*: Neves MF, Castro LT (org) **Marketing e estratégia em agronegócios e alimentos**. São Paulo: Atlas; 2003.

STOÏGBAUER, H; KRASKOV, A; ASTAKHOV, S. A. GRASSBERGER, P. Least-dependent-component analysis based on mutual information. **Physical Review E**. v. 70, p. 66123, 2004.

THOMAS, J; KURUVILLA, K. M. Cinnamon. **Handbook of Herbs and Spices**: Second 56 Edition, v. 1, p. 182–196, 2012.

TORJUSEN H, LIEBLEIN G, WANDEL M, FRANCIS CA. Food system orientation and quality perception among consumers and producers of organic food in Hedmark County, Norway. **Food Quality and Preferences**, v. 12, p. 207-216, 2001.

UNIÃO EUROPEIA. REGULATION (EU) 2018/848 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 30 May 2018 on organic production and labelling of organic products and repealing Council Regulation (EC) No 834/2007. **Official Journal of the European Union**, 2018. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2018/848/oj>. Acesso em: 01/07/2024.

URITU, C. M.; MIHAI, C. T.; STANCIU, G.-D.; DODI, G.; ALEXA-STRATULAT, T.; LUCA, A.; LEON-CONSTANTIN, M.-M.; STEFANESCU, R.; BILD, V.; MELNIC, S.; TAMBA, B. I. Medicinal Plants of the Family Lamiaceae in Pain Therapy: A Review. **Pain Research and Management**, v. 2018, p. 1-44, 2018.

VALLVERDÚ-QUERALT, A; MEDINA-REMÓN, A; CASALS-RIBES, I; AMAT, M; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. A Metabolomic Approach Differentiates between Conventional and Organic Ketchups. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 59, n. 21, p. 1703-1710, 2011.

VEGA-ZAMORA, M; TORRES-RUIZ, F. J; PARRAS-ROSA, M. Towards sustainable consumption: Keys to communication for improving trust in organic foods. **Journal of Cleaner Production**, v. 216, p. 511–519, 2019.

VESSECCHI, R. *et al.* Nomenclatura de espectrometria de massas em língua portuguesa. **Química Nova**, v.34, n. 10, p. 1875-1887, 2011.

VINCENT, E., GRIBONVAL R., AND FÉVOTTE, C., “*Performance Measurement in Blind Audio Source Separation*”, **IEEE Transaction On Audio and Language Processing**, Vol. 14, No. 4, jul. 2006.

VRANAKIS I, CHOCHLAKIS D, SANDALAKIS V, TSELENTIS Y, PSAROULAKI A (2012) Cost- and time-effectiveness of application of MALDI-TOF mass spectrometry methodology in a food and water microbiology laboratory. **Archives Hellenic Medicine**, v. 29, p. 477–479, 2012.

WALORCZYK, S; DROZDZYNSKI, D; KOWAALSKA, J; REMLEIN-STAROSTA, D; ZIOTKOWSKI, A; PRZEWOZNIAK; GNUSOWSKI, B. Pesticide residues determination in Polish organic crops in 2007–2010 applying gas chromatography–tandem quadrupole mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 139, n.1-4, p. 482-487. 2013.

WILLER, H. *et al.* The World of Organic Agriculture: Statistics & Emerging Trends 2020. Frick; Bonn: **FiBL; Ifoam – Organics Internacional**, 2020.

ZAMBONIN, C. MALDI-TOF Mass Spectrometry Applications for food fraud detection. **Journals applied Sciences**, v. 11. n. 8, p. 3374. 2021.

ZHANG, M; WANG, W; DU, Y. ULDA-based heuristic feature selection method for proteomic profile analysis and biomarker discovery. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 102, p. 84–90, 2010.

ZHU, B. *et al.* Walnut shell and meat differentiation using fluorescence hyperspectral imagery with ICA-kNN optimal wavelength selection. **Sensing and Instrumentation for Food Quality and Safety**. New York, v. 1, n. 3, p. 123-131, 2007.

ZORB, C; BETSCHE, T; LANGENKAMPER, G. Search for Diagnostic Proteins To Prove Authenticity of Organic Wheat Grains (*Triticum aestivum* L.). **J. Agric. Food Chem**, v, 57. n. 7, p. 2932-2937. 2009.