

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

LUCAS HENRICO PEREIRA

**CARACTERIZAÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS E ANÁLISE DE FRAUDE POR
TÉCNICAS DE SEPARAÇÃO, ESPECTROSCÓPICAS, TERMOANALÍTICAS E
MÉTODOS QUIMIOMÉTRICOS**

ALFENAS/MG

2024

LUCAS HENRICO PEREIRA

**CARACTERIZAÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS E ANÁLISE DE FRAUDE POR
TÉCNICAS DE SEPARAÇÃO, ESPECTROSCÓPICAS, TERMOANALÍTICAS E
MÉTODOS QUIMIOMÉTRICOS**

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de
Doutor em Química pela Universidade Federal de Alfenas.

Área de concentração: Química Analítica

Orientador: Prof. Dr. Marcello Garcia Trevisan

Co-Orientadora: Profa. Dra. Jerusa Simone Garcia Trevisan

ALFENAS/MG

2024

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas Biblioteca Central

Pereira, Lucas Henrico.

Caracterização de Óleos Vegetais e Análise de Fraude por Técnicas de Separação, Espectroscópicas, Termoanalíticas e Métodos Quimiométricos / Lucas Henrico Pereira. - Alfenas, MG, 2024.

130 f. : il. -

Orientador(a): Marcello Garcia Trevisan.

Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2024.

Bibliografia.

1. Óleo Extra Virgem de Oliva. 2. Óleo de Prímula. 3. Óleo Extra Virgem de Abacate. 4. DSC. 5. Quimiometria . I. Trevisan, Marcello Garcia, orient.
II. Título.

Ficha gerada automaticamente com dados fornecidos pelo autor.

LUCAS HENRICO PEREIRA

**CARACTERIZAÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS E ANÁLISE DE FRAUDE POR
TÉCNICAS DE SEPARAÇÃO, ESPECTROSCÓPICAS, TERMOANALÍTICAS E
MÉTODOS QUIMIOMÉTRICOS**

O Presidente da banca examinadora abaixo assina a aprovação da Tese apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Química pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Química Analítica

Aprovado em: 22 de fevereiro de 2024.

Prof. Dr. Marcello Garcia Trevisan
Presidente da Banca Examinadora
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Profa. Dra. Jaine Honorata Hortolan Luiz
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Prof. Dr. Éder Tadeu Gomes Cavalheiro
Instituição: Universidade de São Paulo

Prof. Dr. Fábio Luiz Pissetti
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Prof. Dr. Cicero Flávio Soares Aragão
Instituição: Universidade Federal do Rio Grande do Norte



Documento assinado eletronicamente por **Marcello Garcia Trevisan, Professor do Magistério Superior**, em 23/02/2024, às 13:43, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1192413** e o código CRC **A113431D**.

Dedico essa Tese aos meus pais Rosana e Aloísio,
à minha irmã Hellen e a minha sobrinha Helena,
por estarem sempre ao meu lado.
E a todos meus familiares e amigos,
que estiveram juntos comigo nessa etapa.

AGRADECIMENTOS

Durante os caminhos percorridos para essa conquista tive muitas experiências, aprimorei meus conhecimentos e visões. Aprendi a não desistir de lutar pelos meus sonhos, a tentar novamente, a superar e a surpreender, assim agradeço:

A Deus, primeiramente, pelo dom da vida, pela sabedoria adquirida e pela forma de persistência renovada a cada dia.

Aos meus pais, Rosana e Aloísio, os quais me inspiraram a sempre prosseguir buscando meus ideais e a não desistir diante dos obstáculos enfrentados pelo caminho. À minha irmã Hellen, pelo apoio durante esta conquista, principalmente nos momentos difíceis e pelo melhor presente durante essa caminhada, minha sobrinha Helena. Aos meus avós, tios e primos, que sempre me apoiaram e acreditaram em meus sonhos e também os que já não estão entre nós, mas que fizeram parte desta conquista.

Descobri que não só, envolvi, mas fui absorvido por tamanho entusiasmo, empenho e crescimento, e tendo a sensação hoje de que tudo que foi escolhido teve um propósito para essa conquista.

Aos meus amigos, que fizeram parte diretamente ou indiretamente ao meu lado, torcendo e sonhando juntos por esta realização e chegando este dia tão esperado.

Aos meus orientadores, Marcello Trevisan e Jerusa Trevisan, pelo apoio e orientação ao longo da execução desta tese.

Ao grupo LacFar, pelo convívio diário e apoio para esta realização.

Aos professores do PPGQ por todo aprendizado transmitidos durante a realização desse doutorado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 01.

Os autores gostariam de agradecer à Central de Análises e Prospecção Química da Universidade Federal de Lavras, e a Finep, Fapemig, CNPq e Capes pelo fornecimento dos equipamentos e suporte técnico para experimentos envolvendo análises cromatográficas.

Os caminhos são como as rosas, que são bonitas, mas possuem espinhos;
São como os botões que nascem pequenos, mas desabrocham.

(Do Autor)

RESUMO

A adulteração ocorre em diversas áreas, e pode ser dividida em dois tipos a adulteração de alteração e a intencional, na qual a primeira ocorre pelo ambiente e a segunda é geralmente realizada com adição de produtos de qualidade inferior ao produto autêntico, assim gerando um produto de baixa qualidade. Os óleos obtidos por prensagem à frio são suscetíveis a adulteração intencional devido ao baixo volume de produção e seu alto valor agregado, isso ocorre utilizando óleos vegetais provenientes de extrações com solvente. Por esta razão, o objetivo deste trabalho foi desenvolver e aplicar um método analítico para detectar adulterantes em Óleo Extra Virgem de Oliva (EVOO), Óleo de Prímula (EPO) e Óleo Extra Virgem de Abacate (EVAO), utilizando a DSC como técnicas juntamente com métodos quimiométricos e univariados. As técnicas de separação, espectroscópicas e termoanalíticas foram empregadas para caracterização dos óleos. As misturas binárias foram preparadas EVOO com os óleos de girassol, milho e soja, EPO com óleo de soja e EVAO com os óleos de algodão, milho e soja simulando como adulterantes. Para tanto os materiais foram pesados e preparados em proporções que variaram de 5 a 95% (m/m). As amostras foram submetidas à análise de DSC. Os modelos quimiométricos foram construídos com base nos dados do DSC, as curvas foram normalizadas pelas respectivas massas iniciais das amostras, de forma a eliminar a influência na variação da massa. Os dados das amostras foram pré-processados, normalizados pelos seus respectivos desvios-padrão e centrados na média. Os resultados da análise multivariada também foram comparados com a calibração univariada usando dados de T_{onset} . Os modelos PLS foram construídos propício para quantificar o nível de adulteração para cada material. Os modelos univariados demonstraram linearidade sendo também uma estratégia capaz de análise rápida e fácil para detectar adulterantes nos materiais. Além disso, uma estratégia baseada em DSC foi pertinente para detecção de óleos de sementes como adulterantes em EVOO, EPO e EVAO.

Palavras-chave: Óleo Extra Virgem de Oliva, Óleo de Prímula, Óleo Extra Virgem de Abacate, DSC, Quimiometria.

ABSTRACT

Adulteration occurs in several areas, and can be divided into two types, alteration and intentional, in which the first occurs through the environment and the second is generally carried out with the addition of products of inferior quality to the authentic product, thus generating a product low quality. Oils obtained by cold pressing are susceptible to intentional adulteration due to the low production volume and their high added value, this occurs using vegetable oils from solvent extractions. For this reason, the objective of this work was to develop and apply an analytical method to detect adulterants in Extra Virgin Olive Oil (EVOO), Evening Primrose Oil (EPO) and Extra Virgin Avocado Oil (EVAO), using DSC as techniques together with chemometric and univariate methods. Separation, spectroscopic and thermoanalytical techniques were used to characterize the oils. Binary mixtures were prepared EVOO with sunflower, corn and soybean oils, EPO with soybean oil and EVAO with cottonseed, corn and soybean oils simulating as adulterants. For this purpose, the materials were weighed and prepared in proportions that varied from 5 to 95% (m/m). The samples were subjected to DSC analysis. The chemometric models were built based on DSC data, the curves were normalized by the respective initial masses of the samples, in order to eliminate the influence on the mass variation. Sample data were pre-processed, normalized by their respective standard deviations and centered on the mean. The results of the multivariate analysis were also compared with the univariate calibration using Tonset data. PLS models were constructed conducive to quantifying the level of adulteration for each material. The univariate models demonstrated linearity and are also a strategy capable of quick and easy analysis to detect adulterants in materials. Furthermore, a DSC-based strategy was pertinent for detection of seed oils as adulterants in EVOO, EPO and EVAO.

Keywords: Extra Virgin Olive Oil, Evening Primrose Oil, Extra Virgin Avocado Oil, DSC, Chemometrics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma da Produção de Óleo de Oliva	24
Figura 2 - Fluxograma da Produção de Óleo de Prímula	27
Figura 3 - Fluxograma da Produção de Óleo Extra Virgem de Abacate	29
Figura 4 - Esquema da Extração do Azeite de Abacate Extra Virgem.....	51
Figura 5 - Preparo dos Ésteres Metílicos de Ácido Graxos.....	51
Figura 6 - Reação de Transesterificação.....	52
Figura 7 – Cromatograma Gasoso das amostras	58
Figura 8 - Espectro na região do infravermelho das amostras	64
Figura 9 - Espectro de RMN de próton das amostras.....	67
Figura 10 - Espectro de RMN ¹³ C das amostras.....	70
Figura 11 - Espectro de RMN de ¹³ C DEPT 135 das amostras.....	72
Figura 12 – Curva TG e DTG em N ₂	76
Figura 13 – Curva TG e DSC em ar sintético	78
Figura 14 - Curva de DSC cíclica das amostras	82
Figura 15 - Curva de DSC cíclica das misturas binárias	85
Figura 16 – Curva de DSC cíclica as amostras	87
Figura 17 – Curva de DSC cíclica das misturas binárias	88
Figura 18 - Curva de DSC cíclica das amostras	89
Figura 19 - Curva cíclica DSC das misturas binárias.....	91
Figura 20 - Ajuste do modelo de regressão iPLS das misturas	93
Figura 21 - Ajuste do modelo de regressão iPLS das misturas	95
Figura 22 - Ajuste do modelo de regressão iPLS das misturas	96
Figura 23 - Ajuste do modelo de regressão PLS e Resíduos das misturas.....	99
Figura 24 - Ajuste do modelo de regressão PLS e Resíduo das misturas	101
Figura 25 - Ajuste dos modelos de regressão PLS e Resíduos das misturas.....	103
Figura 26 - Regressão univariada e gráfico dos resíduos dos valores de T _{onset} das misturas .	106
Figura 27 - Curva de Calibração por Adição de padrão	109
Figura 28 - Curva de Adição padrão da mistura óleo soja/EVOO	110
Figura 29 - Regressão univariada e gráfico dos resíduos dos valores de T _{onset} das misturas .	111
Figura 30 - Regressão univariada e gráfico dos resíduos dos valores de T _{onset} das misturas .	113

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição de ácido graxos presente no EVOO	25
Tabela 2 - Composição de ácidos graxos em EPO.....	28
Tabela 3 - Composição de ácidos graxos presente no EVAO.....	30
Tabela 4 - Composição de ácidos graxos em óleo de girassol, milho, soja e algodão	34
Tabela 5- Concentração dos Ésteres Metílicos de Ácido Graxos dos óleos.....	59
Tabela 6 - Número de onda, grupo funcional e modo vibracional no espectro FT-IR dos óleos	65
Tabela 7 - Deslocamentos Químicos e Atribuições dos Sinais no espectro RMN de próton dos óleos.....	68
Tabela 8 - Relações para determinação de composição de ácidos graxos	73
Tabela 9 - Integrais dos principais grupos de ressonância de RMN ¹ H para todos os tipos de óleo (% da área total dos sinais).....	74
Tabela 10 - Composição das amostras de óleo (%).....	74
Tabela 11 - Temperatura inicial e final de decomposição dos óleos em atmosfera de nitrogênio.....	77
Tabela 12 - Temperatura inicial e final de decomposição dos óleos em atmosfera de ar sintético.....	79
Tabela 13 - Parâmetros da curva de DSC cíclica para EVOO, óleo de girassol, óleo de milho, óleo de soja.....	83
Tabela 14 - Parâmetros da curva de DSC cíclica para EPO, óleo de soja.....	87
Tabela 15 - Parâmetros da curva de DSC cíclica para EVAO, óleo de algodão, óleo de milho e óleo de soja.....	90
Tabela 16 - Parâmetros do modelo de regressão PLS e iPLS e curva de calibração univariada para o EVOO/óleo de girassol, milho e soja a partir dos dados de DSC.....	108
Tabela 17 - Parâmetros do modelo de regressão PLS e iPLS e curva de calibração univariada para o EPO/óleo de soja a partir dos dados de DSC.....	112
Tabela 18 - Parâmetros do modelo de regressão PLS e iPLS e curva de calibração univariada para o EVAO/óleo de algodão, milho e soja a partir dos dados de DSC.....	114

LISTA DE ABREVIATURAS

ANN	Redes Neurais Artificiais
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CAPQ	Central de Análise e Prospecção Química
CG	Cromatografia Gasosa
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
DTA	Análise Térmica Diferencial
DTG	Termogravimetria Derivada
EC	Eletroforese Capilar
EPO	Óleo de Prímula
EVAO	Óleo Extra Virgem de Abacate
EVOO	Óleo Extra Virgem de Oliva
FAME	Ésteres Metílicos de Ácidos Graxos
FT-IR	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier
iPLS	Intervalo de Mínimos Quadrados Parciais
LabIQ	Laboratório Interdisciplinar de Química
LACFar	Laboratório de Análise e Caracterização de Fármacos
Lv	Variável Latente
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MHz	Mega Hertz
MIR	Espectroscopia no Infravermelho Médio
MUFA	Ácidos Graxos Monoinsaturados
MSC	Correção Multiplicativa de Sinal
NIR	Espectroscopia no Infravermelho Próximo
OPO	Óleo de Bagaço de Azeitona
PCA	Análise de Componentes Principais
PCR	Regressão de Componentes Principais
PLS	Mínimos Quadrados Parciais
PLS-DA	Análise Discriminantes de Mínimos Quadrados Parciais
PUFA	Ácidos Graxos Poliinsaturados
R ²	Coefficiente de Determinação
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RMSE	Erro Quadrático Médio
RMSEC	Erro Quadrático Médio de Calibração
RMSECV	Erro Quadrático Médio de Validação Cruzada
RMSEP	Erro Quadrático Médio de Predição
ROO	Óleo Refinado de Oliva
SFA	Ácidos graxos saturados
SIMCA	Modelagem Suave Independente por Analogia de Classe
TAG	Triacilglicerol
TG	Termogravimetria
T _{onset}	Temperatura _{onset}
UFLA	Universidade Federal de Lavras
UNIFAL-MG	Universidade Federal de Alfenas
VOO	Óleo Virgem de Oliva

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
1.1	OBJETIVOS	18
1.1.1	Objetivo Geral	18
1.1.2	Objetivos Específicos.....	18
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1	ADULTERAÇÃO	19
2.1.1	Óleo de Oliva.....	23
2.1.2	Óleo de Prímula	26
2.1.3	Óleo de Abacate	28
2.1.4	Principais Adulterantes.....	31
2.2	CROMATOGRAFIA GASOSA	35
2.3	ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO ...	36
2.4	ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR.....	38
2.5	TÉCNICAS TERMOANALÍTICAS.....	40
2.5.1	Termogravimetria	41
2.5.2	Análise Térmica Diferencial	42
2.5.3	Calorimetria Exploratória Diferencial	43
2.6	MÉTODO QUIMIOMÉTRICO	46
2.6.1	Regressão por Mínimos Quadrados Parciais.....	47
3	MATERIAIS E MÉTODOS	50
3.1	ÓLEOS E PREPARO DAS MISTURAS.....	50
3.2	EXTRAÇÃO DO ÓLEO EXTRA VIRGEM DE ABACATE.....	50
3.3	PREPARAÇÃO DOS ÉSTERES METÍLICOS DE ÁCIDOS GRAXOS.....	51
3.2	MÉTODOS.....	52
3.2.1	Análise por Cromatografia Gasosa	52
3.2.2	Análise por Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho	52

3.2.3	Análise por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear	53
3.2.4	Termogravimetria	53
3.2.5	Calorimetria Exploratória Diferencial	53
3.2.6	Construção dos Modelos Multivariados	54
3.2.6.1	Construção dos Modelos iPLS	54
3.2.6.2	Construção dos Modelos PLS	55
3.2.7	Construção da Curva de Calibração Univariada	56
3.2.7.1	Método <i>Spiking</i>	56
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
4.1	CROMATOGRAFIA GASOSA	57
4.2	TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS	63
4.2.1	Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho	63
4.2.2	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear	66
4.3	TÉCNICAS TERMOANALÍTICAS.....	75
4.3.1	Termogravimetria	75
4.3.2	Calorimetria Exploratória Diferencial	81
4.3.2.1	Calorimetria Exploratória Diferencial do EVOO.....	81
4.3.2.2	Calorimetria Exploratória Diferencial do EPO	86
4.3.2.3	Calorimetria Exploratória Diferencial do EVAO.....	88
4.4	MODELOS MULTIVARIADOS E UNIVARIADOS	92
4.4.1	Modelo iPLS.....	92
4.4.1.1	Modelo iPLS do EVOO.....	93
4.4.1.2	Modelo iPLS do EPO	95
4.4.1.3	Modelo iPLS do EVAO.....	95
4.4.2	Modelo PLS.....	97
4.4.2.1	Modelo PLS do EVOO.....	98
4.4.2.2	Modelo PLS do EPO	101
4.4.2.3	Modelo PLS do EVAO.....	103

4.4.3	Curva de Calibração univariada.....	105
4.4.3.1	Calibração Externa do EVOO	105
4.4.3.1.1	Curva de Calibração método <i>Spiking</i>	109
4.4.3.2	Calibração Externa EPO.....	111
4.4.3.3	Calibração Externa EVAO	112
5	CONCLUSÃO.....	116
	REFERÊNCIAS	117

1 INTRODUÇÃO

A adulteração ocorre em diversos produtos, principalmente nos quais apresentam valores econômicos elevados, exercida em sua maioria, por meio da utilização de materiais com valores inferiores aos que estão sendo adulterados. Existem dois tipos de adulteração. A primeira, denominado de alteração, é ocasionado pelo ambiente, em que fatores como luz, umidade e temperaturas extremas geram modificações nas características físicas (tamanho, cor e textura) e no estado sanitário do produto, podendo ocasionar o surgimento destes problemas diretamente relacionados à matéria-prima, ou durante o processamento e/ou armazenamento. A segunda, classificada como intencional, ocorre quando se introduz produtos distintos aos da matéria-prima, objetivando o aumento da quantidade do produto. Desta forma conduz o consumidor diretamente ao erro durante a comercialização do mesmo (Reis; Franca; Oliveira, 2013). Comumente, ao realizar-se uma adulteração intencional, a quantidade de adulterante presente no produto adulterado encontra-se em um intervalo mínimo, contribuindo para que a fraude venha ser comercialmente vantajosa até um limite que se torne evidente pelo consumidor (Oliveira *et al.*, 2009).

Mediante a esse problema a química analítica tem desempenhado papel fundamental no desenvolvimento de metodologias para a identificação e quantificação de adulterantes e, aliada com às ferramentas quimiométricas, fornece informações que contribuem no controle de qualidade dos alimentos (Daniel *et al.*, 2017).

Existem vários procedimentos analíticos propostos na literatura para a determinação de adulteração em alimentos, tais como: Microscopia Eletrônica de Varredura, Espectrometria de Massas, Espectroscopia Vibracional (Infravermelho, Raman), Ressonância Magnética Nuclear, Espectroscopia de Absorção Molecular (Visível, Ultravioleta e Fluorescência), Voltametria de Pulso Diferencial, Eletroforese, Cromatografia Líquida e Gasosa e Técnicas Termoanalíticas (Termogravimetria, Análise Térmica Diferencial, Calorimetria Exploratória Diferencial). Associada a algumas dessas técnicas, a quimiometria vem sendo utilizada na química de alimentos não apenas na forma de calibração, mas também para construir modelos de análises exploratórias e de classificação. No entanto, os procedimentos mais utilizados para a determinação de adulteração no EVOO são: Espectroscópicos (Infravermelho e Raman), Cromatográficos (Líquido e Gasoso) e Termoanalíticos (Termogravimetria e Calorimetria Exploratória Diferencial) (Meenu; Cai; Xu, 2019).

Os óleos comestíveis são regulamentados por normas e/ou por um conjunto de parâmetros químicos aos quais cada óleo deve se enquadrar para ser considerado puro ou de

qualidade adequada. Essas normas e parâmetros são desenvolvidos pelo CODEX Alimentarius que é uma agência internacional formada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e pela Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) (Green; Wang, 2023). Também a *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC), estabelece vários métodos oficiais, geralmente, esses métodos são adotados pelas indústrias alimentícias e agências de inspeção, tais como MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento), ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) no Brasil, EMA (European Medicines Agency) na União Europeia, FDA (Food and Drug Administration) nos Estados Unidos, dentre outras. Os métodos cromatográficos são os principais, no qual esses métodos são desenvolvidos para avaliação da quantidade de óleos e gorduras em alimentos; a maioria desses métodos são demorados, demandam alto custo, usam reagentes nocivos, geram resíduos e dependem fortemente de seguir com rigor o procedimento padronizado para obter precisão nos resultados (Nunes, 2014).

Atualmente, os métodos oficiais utilizados para analisar a pureza de óleos, são aqueles realizados para medir os perfis de ácidos graxos e esterol. No entanto, esses métodos envolvem extrações, uso excessivo de solventes e com análise de dados demorada. Além disso, a medição de ácidos graxos e esteróis pode nem sempre refletir a categorização correta do azeite para determinar adequadamente se um adulterante está presente (Conte *et al.*, 2020). Com o aumento das importações globais de azeites, especialmente em países onde o azeite é um produto relativamente novo para consumidores com menos experiência e conhecimento, há uma demanda urgente por um método eficiente em termos de tempo, custo-benefício e baixo limite de detecção de adulteração para facilitar ou substituir as análises tradicionais de pureza do azeite.

Por essas razões, este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de metodologia a partir da DSC para a detecção e quantificação de adulterantes em óleos obtidos por prensagem a frio, por serem propensos a sofrer adulteração mediante a adição de outros tipos de óleos vegetais obtidos por diferentes processos de extração, para obtenção de um produto de qualidade inferior e maior quantidade de produto. Esses foram Óleo Extra Virgem de Oliva (EVOO), Óleo de Prímula (EPO) e Óleo Extra Virgem de abacate (EVAO), utilizando como simuladores de adulterantes óleos vegetais como óleo de girassol, milho, soja e algodão. Esta metodologia apresenta baixo tempo de análise, sem o uso de reagentes nocivos e assim, não gerando resíduos.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Elaborar uma metodologia empregando a Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), associadas aos métodos quimiométricos para a determinação de adulterantes em azeite de oliva extra virgem (EVOO), óleo de prímula (EPO) e azeite de abacate extra virgem (EVAO), como técnica alternativa, desta forma, complementando as existentes na literatura.

1.1.2 Objetivos Específicos

Considerando tal propósito, os objetivos específicos são descritos abaixo:

- a) caracterização da composição dos ácidos graxos do EVOO, EPO, EVAO e dos óleos vegetais (girassol, milho, soja e algodão), por meio da CG;
- b) caracterização do EVOO, EPO, EVAO e dos óleos vegetais (girassol, milho, soja e algodão), por meio da espectroscopia IV e de RMN de ^1H ; ^{13}C e DEPT 135;
- c) caracterização dos comportamentos térmicos do EVOO, EPO, EVAO e dos óleos vegetais (girassol, milho, soja e algodão), por meio da TG e DSC;
- d) utilização dos dados obtidos pela DSC para construção dos métodos quimiométricos (iPLS e PLS) e univariado (calibração externa) para a detecção dos adulterantes.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ADULTERAÇÃO

A adulteração é um problema conhecido em diversas áreas, tais como: alimentícias, medicamentos, cosméticos, bebidas, combustíveis, entre outros. Esses produtos detêm altos valores econômicos, desta maneira possuem características físicas que favorecem tais práticas, essas adulterações são geralmente realizadas, com adição de adulterantes ao produto autêntico, gerando dessa forma, uma mistura de qualidade inferior (Santana; Neto; Poppi, 2019). As adulterações são feitas com produtos mais baratos e que são difíceis de serem detectados pelo consumidor, sendo então, necessária a utilização de técnicas analíticas adequadas. Obviamente, a quantidade de adulterante está em um intervalo de um mínimo que torna a fraude comercialmente vantajosa até um limite depois que se torna evidente (Daniel *et al.*, 2017). Dessa forma, a detecção da adulteração fraudulenta é de grande interesse para a indústria e as autoridades reguladoras, que exigem métodos laboratoriais adequados para o monitoramento da qualidade e da segurança dos produtos (Ellis *et al.*, 2015). Nesse sentido, a Química Analítica tem desenvolvido um papel de enorme importância no desenvolvimento de metodologia para a identificação de adulterantes, e aliada às ferramentas quimiométricas, fornecendo informações para um controle de qualidade eficiente (Oliveira *et al.*, 2009).

A determinação da legitimidade alimentar é um quesito muito importante na segurança e no controle de qualidade alimentício. Os testes de autenticidade são um critério de qualidade para os ingredientes alimentícios e os alimentos, isso resulta na proteção legislativa dos alimentos. Assim, há uma grande necessidade de técnicas padronizadas para autenticação de alimentos. Os testes de autenticidade, não servem apenas para consumidores; as partes interessadas incluem indústrias de alimentos que estão buscando a oportunidade de garantir a conformidade de seus produtos alimentares e a marca. (Danezis *et al.*, 2016).

Existem diversos procedimentos analíticos propostos na literatura para a determinação de adulteração em alimentos, essas técnicas são: Microscopia Eletrônica de Varredura, Espectrometria de Massas, Espectroscopia Vibracional (Infravermelho, Raman), Ressonância Magnética Nuclear, Espectroscopia de Absorção Molecular (Ultravioleta, Visível e Fluorescência), Voltametria de Pulso Diferencial, Eletroforese Capilar, Técnicas Termoanalíticas e Cromatografia Líquida e Gasosa (Danezis *et al.*, 2016).

A seguir são apresentadas algumas dessas técnicas para análise de adulteração em alimentos.

Uysal e colaboradores (2013), determinaram a adulteração de manteiga com margarina analisada por Espectroscopia Raman combinada com métodos quimiométricos: análise de componentes principais (PCA), regressão de componentes principais (PCR), mínimos quadrados parciais (PLS) e redes neurais artificiais (ANN). Diferentes amostras de manteiga e margarina foram misturadas em concentrações variando de 0 - 100% (*m/m*). A análise de PCA foi aplicada para a classificação de manteigas, margarinas e misturas. Os métodos PCR, PLS e ANN foram utilizados para a detecção das taxas de adulteração da manteiga. Os modelos foram criados usando um conjunto de dados de calibração e os modelos desenvolvidos foram avaliados usando um conjunto de dados de validação. Os valores do coeficiente de determinação (R^2) entre os valores reais e previstos obtidos para PCR, PLS e ANN para o conjunto de dados de validação foram 0,968, 0,987 e 0,978, respectivamente. Em conclusão, a combinação de espectroscopia Raman com métodos quimiométricos e ANN pode ser aplicada na análise de adulteração de manteiga, uma vez que apresentou rápido tempo de análise cerca 10 segundos, sem a necessidade de uso de preparo nocivos.

Du e coautores (2018), utilizaram a Espectrometria de Massas por Injeção de fluxo (FIMS) combinada com quimiometria para detectar rapidamente a adulteração economicamente motivada (EMA) do leite. Vinte e dois leites puros e trinta e cinco contrapartes adulterados com soja, ervilha e isolados de proteína de soro de leite em níveis de 0,5, 1, 3, 5 e 10% (*m/m*) foram analisados. Os modelos de classificação PCA, análise discriminantes de mínimos quadrados parcial (PLS-DA) e máquina de vetor de suporte (SVM) indicaram que os leites adulterados foram classificados com sucesso a partir dos leites puros.

Segundo Núñez e colaboradores (2020), em seu artigo de revisão relataram que a Cromatografia Líquida com detecção ultravioleta ou acoplada à Espectrometria de Massa estão entre as técnicas mais poderosas para abordar questões de segurança alimentar e garantir autenticidade para evitar fraudes. Dentre os empregos mais comuns a Cromatografia Líquida, são atribuídas as caracterizações e análise de alimentos, incluindo frutas, óleos extra virgem, óleos de confeitaria, espumantes e soja.

Fasciotti e colaboradores (2010), utilizaram a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas, juntamente com PCA para quantificar a adulteração de azeite extra virgem com óleo de soja. Foi usado o perfil de triacilglicerol (TAG) como marcador, para óleo de soja, azeite extra virgem e da mistura de ambos. O resultado obtido pelo PCA dos dados, discriminou claramente entre as amostras de azeite extra virgem argentinos e europeus e suas adulterações com óleo de soja.

Outro estudo explorou os compostos polares como marcadores para detecção de óleo de avelã em azeite extra virgem. O enriquecimento e a caracterização da fração polar dos óleos foram realizados utilizando micro colunas de Cromatografia Líquida hidrofílica acopladas à Espectrometria de Massas por Tempo de Voo com Ionização por Dessorção Assistida por Matriz (MALDI-ToF-MS). Lisofosfatidilcolina (LPC) (16:0), LPC (18:1) e LPC (18:2) foram reconhecidos em óleo de avelã usando Cromatografia Líquida Capilar-Ionização por Eletropulverização-quadrupolo-ToF-MS (CapLC-ESI-Q-ToF-MS) e empregado como marcador para detecção de adulteração de azeite extra virgem com óleo de avelã a nível de 5% (Calvano *et al.*, 2010).

No trabalho de Jiménez-Carvelo e colaboradores (2017), foi desenvolvido um novo método analítico para a quantificação de óleo de oliva e de palma em misturas com outros óleos vegetais comestíveis (canola, cártamo, milho, amendoim, uva, linhaça, gergelim e soja) usando Cromatografia Líquida de fase normal e aplicando ferramentas quimiométricas. Foi utilizado para obtenção do perfil cromatográfico, a fração metil-transesterificada de cada blend. Os métodos de quantificação multivariada utilizados foram Regressão de Mínimos Quadrados Parciais (PLS_R) e Regressão de vetores de Suporte (SVR). Os resultados da quantificação pelos métodos de regressão foram avaliados pelos diversos parâmetros como a raiz do erro quadrático médio de validação (RMSEV), erro absoluto médio de validação (MAEV) e erro absoluto mediano de validação (MdAEV). A conclusão obtida pelos autores foram que os resultados obtidos mostraram o potencial deste método e permitiram a quantificação de misturas de óleo de oliva e de palma com outros óleos vegetais.

Presti *et al.* (2021), elaboraram um método a partir da análise de ácidos graxos que combinasse a quantificação do EVOO e a avaliação do tipo de processo a partir do qual o azeite foi obtido. Foi seguida uma abordagem em duas etapas: a quantificação do azeite foi realizada pelo método de calibração multivariada (PLS). A identificação do tipo de óleos nos blends foram realizadas por meio de uma ferramenta de Modelagem Suave Independente por Analogia de Classe (SIMCA). Foram analisadas 114 amostras para o presente trabalho, sendo 58 delas óleos vegetais puros: 8 de girassol, 6 de soja, 4 de palma, 7 de semente de uva, 9 de milho, 4 de amendoim, 11 EVOO, 4 óleos refinados de oliva e 5 óleos de bagaço de azeitona. Os autores concluíram que o modelo SIMCA aplicado a óleos vegetais puros, proporcionou uma separação bem definida das amostras de acordo com o tipo de óleo. Quanto aos blends, a PCA definiu uma tendência na separação das amostras de acordo com a sua percentagem de azeite. A quantificação do azeite em blends, feita por PLS, proporcionou um erro de previsão (no conjunto de avaliação externa, RMSEP) inferior a 5% - através do processamento de um

conjunto de dados de ácidos graxos e esqualeno - e um erro de previsão inferior a 6% - processando um conjunto de dados de ácidos graxos, esqualeno, ceras, triacilgliceróis e esteróis totais esterificados.

Yang e Irudayaraj (2001), compararam três técnicas espectroscópicas NIR, MIR e Raman juntamente com o método de PLS para determinação de adulteração em EVOO com óleo de bagaço de azeitona. Para isso foram adicionados ao EVOO uma faixa de concentração de 0 – 100% de óleo de bagaço sendo incrementado de 5%. Foi considerada um total de 21 concentrações diferentes, e cada leitura foi realizada quatro vezes.

Guimet, Ferré e Boqué (2005), desenvolveram um método de triagem rápida baseado em espectroscopia de fluorescência de excitação-emissão (EEFS) e métodos de análise de três vias para detectar adulterações de OPO no nível de 5% em EVOO a partir da denominação de origem protegida (DOP) "Siurana". Esta é uma distinção de prestígio dada ao EVOO produzido em uma área específica do sul da Catalunha, Espanha. Primeiramente aplicaram a análise de componentes principais de desdobramento (PCA-desdobramento) e a análise fatorial paralela (PARAFAC) para análise exploratória. Em seguida, comparam a capacidade de Hotelling T^2 e estatística Q , análise discriminante linear de Fisher (LDA) e regressão discriminante de mínimos quadrados parciais multiway (N-PLS) para discriminar amostras EVOO e adulteradas. E a quantificação do nível de adulteração usando o método de regressão N-PLS.

Outro estudo desenvolveu um método para detecção de EVOO adulterado com óleo de bagaço de azeitona refinado (ROPO) baseado no método de inversão de polaridade (PRM). Esse dispositivo é projetado baseando no PRM para determinar a corrente das amostras de óleo. A adulteração é detectada de acordo com essa diferença entre EVOOs e ROPOs causada pela discrepância do conteúdo de compostos polares. Os componentes fenólicos polares são caracterizados por LC-MS e pelo ensaio de Folin-Ciocalteu para confirmar o princípio do método proposto. Calibração, validação e validação cega da amostra foram realizadas. Os resultados mostraram que a corrente dos EVOOs é maior que a dos ROPOs devido ao conteúdo mais rico e elevado de compostos fenólicos polares. A calibração de 5 – 90% de adulteração apresentou $R^2 = 0,997$. O R^2 de validação e validação cega de amostra esteve próximo de 1. O desvio padrão relativo de 5–90% de amostras adulteradas e ROPO é de 4,76%, indicando boa exatidão e precisão (Li *et al.*, 2022).

Torrecilla *et al.* (2010), desenvolveram um método para quantificar adulterações de EVOO com óleo refinado e óleo de bagaço de azeitona refinado, baseado na varreduras UV-vis de amostras EVOO adulteradas, formam feitos cálculo de parâmetros caóticos (expoente de

Lyapunov, coeficientes de autocorrelação e duas dimensões fractais, CPs). Os resultados coeficiente de correlação superior a 0,97 e um erro quadrático médio inferior a 1%. Como conclusão os autores afirmam que o detector é adequado não só para detectar adulterações, mas também para medir impurezas quando um óleo de qualidade superior é armazenado em outro tanque usado para óleos qualidade inferior que não foi limpo de forma eficiente.

2.1.1 Óleo de Oliva

O óleo de oliva (OO) é extraído de oliveiras (*Olea europaea L.*). O óleo extra virgem (EVOO) e o óleo virgem (VOO) são definidos como óleos obtidos a partir do fruto da oliveira, sem a presença solventes ou mesmo processos de esterificação e qualquer mistura com outros óleos. O processo de produção de EVOO é baseado na extração a frio (15 - 18 °C) que ocorre em uma única prensagem, enquanto o VOO ocorre em duas ou três prensagem após a extração do EVOO. Para isso, as azeitonas são colhidas e os frutos são esmagados para reduzi-los a uma pasta, processo utilizado para favorecer a extração de gotículas de óleo. A fase oleosa obtida é separada da fase sólida exclusivamente por métodos físicos (centrifugação ou prensagem), para evitar alterações na composição do óleo. É importante ressaltar que estes produtos não podem ser submetidos a outros tratamentos além de lavagem, centrifugação, decantação e filtragem (Meenu; Cai; Xu, 2019; Torrecilla *et al.*, 2013). O EVOO e o VOO são considerados um alimento muito saudável, devido às suas características organolépticas e nutricionais, bem como à sua composição química (antioxidantes, gorduras insaturadas, etc.) (Vanstone, 2018).

Os óleos que não exercem os requisitos das categorias “extra virgem” e “virgem” são classificados como “lampante” e não podem ser destinados ao consumo direto, tendo que serem refinamentos e misturados com óleos virgens (Meenu; Cai; Xu, 2019). O refinamento do óleo é realizado através do uso de solventes e calor para extrair o máximo de óleo possível da polpa da azeitona que permanece após o final da primeira prensagem ou centrifugação. O óleo de bagaço de azeitona (OPO) e o óleo refinado de oliva (ROO) são exemplos destes óleos obtidos na prensagem com temperatura e uso de solvente (Foscolou; Critselis; Panogiotakos, 2018). A mistura desses óleos lampante com EVOO ou VOO ocorre com uma quantidade de cerca de 10% (Çelekli; Gun; Bozkurt, 2021). O OPO é submetido à solventes ou métodos físicos, exceto a aplicação de processo de reesterificação (Merás *et al.*, 2018). Evidentemente, o óleo mais desejado comercialmente é o EVOO, pois os óleos de qualidade inferior, como ROO e OPO, possuem propriedades nutricionais e características organolépticas significativamente menores (Torrecilla *et al.*, 2013).

A Figura 1 representa o fluxograma da produção do óleo extra virgem de oliva, óleo virgem de oliva e dos óleos lampante.

Figura 1 - Fluxograma da Produção de Óleo de Oliva



Fonte: Autor.

De acordo com as agências regulamentadoras USDA (*U.S Department of Agriculture*), IOC (*International Olive Council*) e Anvisa pela RDC n° 270/05, o OO é classificado em quatro categorias, de acordo com a acidez expressa em termos de concentração de ácido oleico: a) EVOO: máximo 0,8% (*m/m*); b) VOO: máximo 2.0% (*m/m*); c) OPO: máximo 1.0% (*m/m*) e d) ROO: máxima 0,3% (*m/m*). Os óleos que não se enquadram nestas classificações não são adequados para consumo humano sem processamento posterior (esta é uma regra limitante), sendo destinado à refinação ou a outros fins que não o uso alimentar. As categorias podem ser estabelecidas sendo elas:

- óleo extra virgem de oliva:** esse tipo é considerado de altíssima qualidade e pode ser vendido direto ao consumidor. Não sofre nenhum refino químico. É o mais saudável e completo entre todos e o responsável pelos efeitos benéficos à saúde humana;
- óleo virgem de oliva:** apesar de ter uma qualidade inferior ao do extra virgem, esse tipo de óleo também pode ser vendido diretamente ao consumidor. Seu uso é principalmente culinário, sendo comercializado ainda misturado a outros tipos de óleos;
- óleo lampante de oliva:** esse tipo de azeite é impróprio para o consumo, pois seu odor e paladar são inadequados, sendo comercializado apenas quando misturado com outros azeites ou óleos de sementes;

- d. **óleo refinado**: quando o azeite de oliva lampante é refinado quimicamente, resultando em perda do gosto, da cor, do aroma e de grande parte das vitaminas (20 - 40%) e apresentado acidez próxima a 0,5%. Esse tipo não faz mal à saúde, apenas perde em sabor e tem menos nutriente. Em geral, o azeite refinado é misturado com outros azeites de oliva (virgem ou extra virgem) para ser comercializado e ser destinado ao consumo humano;
- e. **óleo composto**: produto de uso popular e com grande venda no mercado, mas com baixa qualidade. É resultado da mistura do óleo refinado e óleo de soja.

A instrução normativa nº 24, publicada no Diário Oficial da União em 18/06/2018, pelo MAPA, estabelece a composição de ácidos graxos presente no EVOO (TABELA 1), (MAPA, 2020).

Tabela 1 - Composição de ácido graxos presente no EVOO

<i>Ácido Graxo</i>	<i>Nomenclatura</i>	<i>% (g/100g)</i>
14:0	Mirístico	≤ 0,05
16:0	Palmítico	7,5 – 20,0
16:1	Palmitoléico	0,3 – 3,5
17:0	Heptadecanóico	≤ 0,3
17:1	Heptadecenóico	≤ 0,3
18:0	Esteárico	0,5 – 5,0
18:1	Oleico	55,0 – 83,0
18:2	Linoleico	3,5 – 21,0
18:3	Linolênico	≤ 1,0
20:0	Araquídico	≤ 0,6
20:1	Eicosenóico	≤ 0,4
22:0	Behênico	≤ 0,2
24:0	Lignocérico	≤ 0,2

Fonte: MAPA, 2018.

Segundo Foscolou e colaboradores (2018), a composição química do óleo de oliva varia com o tipo de azeitona e a região em que é cultivado. O óleo é composto principalmente de triacilgliceróis e contém pequenas quantidades de ácidos graxos livres, glicerol, fosfatídeos, pigmentos, compostos aromáticos e esteróis. É caracterizado por uma alta proporção de ácidos graxos insaturados e uma baixa proporção de ácidos graxos saturados. Assim, o óleo de oliva

contém mais ácidos graxos monoinsaturados do que poliinsaturados (mais ácido oleico e menos ácido linolênico) do que outros óleos vegetais, além de ser livre de ácidos graxos trans.

Devido a fatores como aroma, sabor, benefícios à saúde e seu alto valor econômico, o EVOO sofre adulteração com a adição de óleos vegetais comestíveis de baixa qualidade e custo. Frequentemente, os adulterantes são: óleo de milho, soja, girassol, noz, canola e avelã, dentre outros (Meenu; Cai; Xu, 2019).

A adulteração em óleos extra virgens ocorrem em níveis superiores a 10%, mas níveis abaixo não são incomuns, pois não é lucrativo para empresas que buscam vantagens econômicas (Green *et al.*, 2020). Quando a adulteração ocorre com adição de OPO no EVOO é geralmente inferior a 15% (Yang e Irudayaraj, 2001).

2.1.2 Óleo de Prímula

As plantas herbáceas têm sido muito utilizadas para o tratamento de várias doenças e como fonte de medicamentos naturais em diferentes partes do mundo. Muitas dessas plantas tem sido estudada devido ao alto teor de ácido γ -linolênico presentes em óleos de suas sementes. Dentre esses óleos pode ser citado o óleo de prímula (EPO) produzido a partir das espécies (*Oenothera biennis L.* e *Oenothera paradoxa* Hudziok) está amplamente difundido por todo o mundo. igualmente conhecido como prímula da noite, em razão de suas flores abrirem ao entardecer (Hadidi; Ibarz; Pouramin, 2021, Santana *et al.*, 2019; Granica *et al.*, 2013; Masullo *et al.*, 2015).

O óleo extraído dessas sementes é obtido por prensagem a frio sem a presença de solvente ou mesmo processo de esterificação. Este óleo é caracterizado por possuir alto teor de ácidos graxos poliinsaturados, cerca de 25% de ácidos graxos sendo que 7 - 14% são exclusivamente de ácido γ -linolênico (Masullo *et al.*, 2015; Paciorek-Sadowska *et al.*, 2018; Rodrigues *et al.*, 2015). É reconhecida como uma fonte potencial de ácidos graxos (Yunusova *et al.*, 2010; Granica *et al.*, 2013).

Suas sementes são amplamente utilizadas na indústria farmacêutica principalmente devido às suas propriedades medicinais e nutricionais. pode ser considerado como um alimento funcional (Deng *et al.*, 2013). Seu uso tem aumentado consideravelmente como suplemento dietético, incluindo tratamento de síndrome pré-menstrual, menopausa, de eczema, asma, artrite reumatoide, diminuir a intensidade das ondas de calor na menopausa, dentre outros (Montserrat-de la Paz *et al.*, 2014; Rodrigues *et al.*, 2015; Farzaneh *et al.*, 2013).

O EPO deve ser submetido às análises rigorosas como parte de qualquer programa de controle de qualidade. A cromatografia gasosa é geralmente aplicada à determinação da análise do conteúdo de ácidos graxos (principalmente a teoria do ácido linolênico), mas é mais provável que seja estruturalmente comprovado como triacilgliceróis. A análise de triacilglicerol é comumente usada para óleo vegetal (Masullo *et al.*, 2015).

A Figura 2 representa o fluxograma da produção do óleo de prímula.

Figura 2 - Fluxograma da Produção de Óleo de Prímula



Fonte: Autor.

A adulteração do EPO, assim como a adulteração de outros óleos de alto valor econômico ocorre mediante a utilização de outros óleos de semente de baixo valor. Santana e colaboradores (2019), utilizaram a espectroscopia IV para determinação de adulteração em EPO utilizando óleos de sementes tais como: óleo de girassol, soja e milho. A determinação dos adulterantes foi através das técnicas quimiométricas de (PLS-DA) e a (SIMCA), onde a técnica de PLS-DA apresentou melhor desempenho.

Pan *et al.* (2022), utilizaram a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-MS) e infravermelho médio por transformação de Fourier (FT-IR) juntamente com a quimiometria para determinação de adulteração em EPO empregando óleo de amendoim e girassol. A análise quimiométrica foi feita a partir da correlação de Pearson dos índices físico-químicos e ácidos graxos. Também realizou a análise de agrupamento hierárquico (HCA) de ácidos graxos e análise de componentes principais (PCA) de espectros FT-IR de amostras de óleo. Os autores concluíram que através da CG foi possível determinar os principais ácidos

graxos do EPO, usando os perfis de ácidos graxos como indicadores, foi possível identificar adulteração no EPO com taxas > 5% de óleo de amendoim e 10% de óleo de girassol por HCA. Além disso, o PCA foi usado para distinguir os espectros FT-IR dos óleos adulterados e foi melhor na identificação de óleo de girassol do que óleo de amendoim incorporado em EPO.

Silva *et al.* (2018), avaliaram por meio da CG adulteração de diversos óleos tais como: de coco, de cártamo, EPO e linhaça pelos perfis de ácidos graxos. Eles descobriram que a taxa de adulteração de EPO era a mais alta.

A composição química em termos de ácidos graxos no EPO é regulamentada pela instrução normativa nº 87, de 15 de março de 2021 estabelecida pela ANVISA, os parâmetros estabelecidos, seguem como referência o Codex Alimentarius, entretanto não apresentam parâmetros para o EPO, são apresentados na Tabela 2 (ANVISA, 2021).

Tabela 2 - Composição de ácidos graxos em EPO

Ácido Graxo	Nomenclatura	% (m/m)
16:0	Palmítico	4,0 – 10,0
18:0	Esteárico	1,0 – 4,0
18:1	Oleico	5,0 – 14,0
18:2	Linoleico	65,0 – 85,0
18:3	Linolênico	7,0 – 14,0

Fonte: ANVISA, 2021.

2.1.3 Óleo de Abacate

O óleo extra virgem de abacate (EVAO) é extraído do abacateiro (*Persea americana Mill.*). O abacateiro é uma planta dicotiledônea perene cultivada em climas tropicais ou subtropicais. O abacate fresco contribui para um grande mercado em todo o mundo, juntamente com seu uso nas indústrias de cosméticos, óleo comestível e processamento de alimentos (Green; Wang, 2022; Tan, 2019).

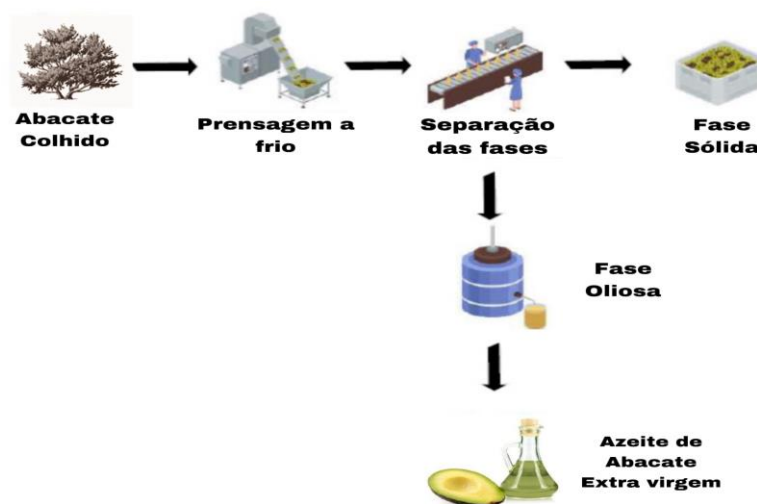
Segundo Green, Wang (2022), o EVAO está se tornando um produto cada vez mais popular, é importante estabelecer junto aos órgãos regulamentadores padrões para o produto. No entanto para desenvolver padrões adequados, é necessário analisar a composição química do óleo de abacate de acordo com variáveis como região de cultivo, época de colheita,

maturidade, amadurecimento e processamento. Dependendo da variedade e das condições de crescimento, o mesocarpo do abacate possui 8 – 30% de óleo.

Existem diversos benefícios adicionais para a saúde especificamente associados aos óleos virgens/extra virgens, produzidos exclusivamente por meios mecânicos a partir de frutas saudáveis, sem calor ou solventes. O óleo não refinado mais comum é o óleo de oliva virgem/extra virgem, que contém concentrações mais altas de antioxidantes como compostos fenólicos do que suas contrapartes refinadas. O interesse pelo óleo de abacate não refinado está aumentando. Como os óleos virgens/extra virgens não são processados com solvente nem passam por nenhum dos processos de refino (branqueamento, desodorização, hibernação) que removem compostos como ácidos graxos livres, os óleos virgens/extra virgens exigem um conjunto independente de padrões de qualidade de refinados ou óleos brutos (Green; Wang, 2022).

O óleo de abacate tem a vantagem, assim como o óleo de oliva, que pode ser obtido da fruta por meio de um método de extração a frio, que é uma tecnologia fácil e de baixo custo que permite manter no óleo quantidades significativas dos fitoquímicos bioativos presentes na fruta. Deve-se mencionar que, quando obtidos por procedimentos de extração não prensados a frio, os métodos de extração aplicados para a obtenção do óleo de abacate podem modificar as características físicas e químicas do produto final (Berasategi *et al.*, 2012). A Figura 3 representa o fluxograma da produção do óleo extra virgem de abacate.

Figura 3 - Fluxograma da Produção de Óleo Extra Virgem de Abacate



Fonte: Autor.

A polpa do abacate contém teor de óleo variável, a qual é uma parte fundamental da qualidade sensorial do fruto e é amplamente utilizado na indústria de alimentos (na produção

de óleos comerciais semelhantes ao azeite), farmacêutica e de cosmético (Duarte *et al.*, 2017; Tango; Carvalho; Soares, 2004; Yahia *et al.*, 2017). A qualidade do óleo extraído da polpa do abacate é muito semelhante à do óleo de oliva com uma alta proporção do óleo sendo aproximadamente 75% monoinsaturados, 15% saturados, e 10% ácidos graxos poliinsaturados (Tango; Carvalho; Soares, 2004; Yahia *et al.*, 2017).

Portanto, esses óleos virgens/extra virgens apresentam baixo rendimento de produção, assim tornam-se alvo de adição de óleos de baixa qualidade ou misturados com óleo comestível mais barato, podendo ser comercializados e vendidos a preços mais baixos do que produtos autênticos ou de alta qualidade (Woolf *et al.*, 2009).

Sem padrões disponíveis, não há como garantir que o óleo de abacate seja seguro. Os padrões desenvolvidos para óleos comestíveis geralmente se enquadram em duas categorias, qualidade e pureza. A qualidade pode ser controlada pela fruta utilizada para fazer o óleo, processo de extração, armazenamento; está principalmente relacionada ao nível de hidrólise da fruta e oxidação do óleo (Woolf *et al.*, 2009). Um óleo é considerado puro ou autêntico se não houver outros aditivos ou óleos presentes além dos listados no rótulo.

A Tabela 3 apresenta a composição de ácidos graxos de EVAO, com base nos padrões estabelecidos pelo Codex Alimentarius (Green; Wang, 2023).

Tabela 3 - Composição de ácidos graxos presente no EVAO

Ácido Graxo	Nomenclatura	% (m/m)
14:0	Mirístico	≤ 0,3
16:0	Palmítico	11,0 – 26,0
16:1	Palmitoleico	4,0 – 17,1
17:0	Heptadecanóico	≤ 0,3
17:1	Heptadecenóico	≤ 0,1
18:0	Estearico	0,1 – 1,3
18:1	Oleico	42,0 – 75,0
18:2	Linoleico	7,8 – 19,0
18:3	Linolênico	0,5 – 2,1
20:0	Araquídico	≤ 0,7
20:1	Eicosenóico	≤ 0,3
22:0	Behênico	≤ 0,5
24:0	Lignocérico	≤ 0,2

Fonte: Green; Wang, 2023.

O EVAO é extraído principalmente através do mesocarpo, a liberação do óleo da polpa não é tão fácil quanto observada em outros tecidos frutíferos, como exemplo as azeitonas, para isso a polpa é mantida sob temperatura de 40 – 75 °C. O mesocarpo é então moído em uma polpa usando moinho de martelo ou moedor. Em seguida, adiciona-se água a essa polpa para obter uma pasta de menor viscosidade que é então misturada em um tanque horizontal com temperatura controlada com um misturador de fita. Durante o processo de homogeneização o óleo é liberado das células. A temperatura durante a homogeneização é mantida entre 40 – 50°C. Após a homogeneização, a pasta é bombeada para o decantador horizontal operando a 3.000–4.000 rpm. Muitas vezes, a água é adicionada durante o bombeamento, pois a pasta pode ser muito viscosa. No decantador, a fase líquida (água e óleo) é separada da fase sólida (bagaço). A água e o óleo são então passados por centrífugas de disco de polimento para separar a água do óleo (Woolf *et al.*, 2009; Flores *et al.*, 2019).

O EVAO por apresentar um preço relativamente alto, então sempre existe a possibilidade de ocorrência de práticas ilegais, como diluição com óleos mais baratos, como óleo de palma, canola, girassol, milho, algodão, etc. é importante controlar a qualidade do EVAO para evitar fraudes e garantir sua originalidade e qualidade contra adulterações (Rohman *et al.*, 2016).

2.1.4 Principais Adulterantes

A definição proposta para óleos vegetais pela RDC n° 270/05, define óleo como produto constituído principalmente de glicosídeos de ácidos graxos de espécies vegetais, onde podem conter pequenas quantidades de outros lipídeos como fosfolipídios, constituintes insaponificáveis e ácidos graxos livres.

Óleos e gorduras naturais são compostos principalmente por triacilgliceróis, e a composição e a estrutura molecular desses triacilgliceróis determinam as propriedades físico-químicas, funcionais e quantidade nutricional de lipídeos. Ácidos graxos saturados (SFAs), ácidos graxos monoinsaturados (MUFA_s) e os ácidos graxos poliinsaturados (PUFA_s) são ligados à três posições (sn-1, sn-2 e sn-3), da molécula de glicerol, e a proporção de cada um desses grupos de ácidos graxos variam com a fonte dos lipídeos (Sivakanthan; Madhujith, 2020).

Os óleos de origem vegetais apresentam diferentes padrões de substituição no decorrer de suas cadeias de ácidos graxos, diferindo também no comprimento de suas porções acila, bem como, no grau e posição de insaturação (Maggio *et al.*, 2010).

Os óleos vegetais representam um dos principais produtos extraídos de plantas da atualidade e cerca de dois terços são usados em produtos alimentícios. Os óleos comestíveis são misturas complexas contendo uma ampla gama de compostos, constituídos principalmente por triacilgliceróis ou triglicerídeos e em menor quantidade de diacilgliceróis, ácidos graxos livres, fosfolipídios e dentre outros. O grupo de compostos nutritivos mais importante é representado pelos triacilgliceróis (Indelicato *et al.*, 2017).

Devem servir como fonte de energia armazenada nos tecidos adiposos de ácidos graxos essenciais (por exemplo, ácidos oleico, linoleico e linolênico), vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) e outros compostos não polares. Os lipídeos, juntamente com as proteínas e os carboidratos, são fontes de energia. Eles constituem uma parte importante da dieta humana (Torrecilla *et al.*, 2013).

Os triacilgliceróis são os principais componentes dos óleos vegetais comestíveis e representam 95 – 98% de toda a composição do óleo. Do ponto de vista químico, os triacilgliceróis são misturas extremamente complexas constituídas por uma molécula de glicerol ligada a três resíduos de ácidos graxos de cadeia média ou longa. A grande variabilidade de triacilgliceróis se deve ao número de combinações possíveis de ácidos graxos no esqueleto de glicerol e um fator complicador adicional é a ocorrência de isômeros posicionais de triacilgliceróis. Estes consistem em triacilgliceróis com pelo menos dois ácidos graxos diferentes que estão ligados em duas posições diferentes do glicerol, dando origem a compostos com a mesma fórmula química, a mesma massa molecular, mas estruturas diferentes (Lerma-García *et al.*, 2011).

O girassol (*Helianthus annuus L.*) é uma planta pertencente à família das Compositae (*Asteraceae*). Esta planta apresenta colheita anual, com uma grande inflorescência amarela contendo pequenas flores que dão origem a aquênios contendo um caroço rico em óleo (Salas *et al.*, 2014). O óleo de girassol é o quarto mais produzido entre os óleos vegetais.

O óleo de girassol é produzido industrialmente a partir das sementes de girassol, sendo limpas, secas, descascadas, trituradas e extraídas com solvente. Como todos os óleos vegetais, o óleo de girassol é essencialmente constituído por triacilgliceróis. O girassol é cultivado em climas temperados. As sementes de girassol são produzidas dentro de um aquênio e consistem de uma concha composta principalmente de lignina e material de celulose e o caroço,

responsável por 80% do peso total das sementes é rico em óleo (até 55% em peso seco). O teor final de óleo das sementes de girassol é geralmente em torno de 50% m/m.

Este óleo é rico em ácido linoleico, que representa de 48 – 74% do total de ácidos graxos, conforme disponível na Tabela 4. Ele contém baixos níveis de ácidos graxos saturados (principalmente ácidos palmítico e esteárico). A quantidade relativa de ácido linoleico comparado ao ácido oleico é muito variável e está relacionada à regulação da temperatura das desnaturações endógenas (Salas *et al.*, 2014).

O milho (*Zea mays L.*) é uma planta pertencente à família das gramíneas, sendo um dos principais cereais cultivados no mundo. O milho é especialmente rico em carboidratos (açúcares), essencialmente o amido, o que o caracteriza como um alimento energético. Essa fração corresponde, em média, a 72% dos grãos, porém outros importantes nutrientes estão presentes, como os lipídios e as fibras dietéticas, que constituem 4,5 e 2,0% dos grãos, respectivamente (EMBRAPA, 2022).

O gérmen de milho por ser rico em óleo (> 30%) é a fonte de todo o óleo de milho comercial. Por este motivo, óleo de milho poderia ser chamado mais precisamente de "óleo de gérmen de milho, que é obtido da semente (EMBRAPA, 2022). A composição de ácidos graxos deste óleo, é apresentada na Tabela 4.

A soja (*Glycine max L.*) é uma leguminosa pertencente à família Fabaceae, é umas das principais fontes mundial de óleo vegetal. A composição de ácidos graxos deste óleo é um determinante essencial do valor do óleo e do uso final (TABELA 4). O óleo de soja apresenta coloração levemente amarelada, límpida, com odor e sabor suave característico. Diferentes ácidos graxos oferecem diversas funcionalidades ao uso de óleo de soja (Tamagno *et al.*, 2020).

Outras composições químicas da soja são proteínas (35,8 – 46%), carboidratos (22,8 – 27,9%) e lipídios (18 – 23%). Além disso, os compostos polifenólicos (0,29 – 0,51%), como isoflavonas e tocoferol, presentes na soja, são considerados responsáveis por seus benefícios para a saúde (Aurelie; Njintang; Mbofung, 2017).

O óleo composto é uma mistura entre o óleo de soja com azeite de oliva, sendo comercializada por razões econômicas e nutricionais, e regulamentada por órgãos fiscalizadores, considerada como uma “mistura legal”, sua composição real devidamente rotulada que é comercializada afim de representar um caso diferente de fraude comercial (Presti *et al.*, 2021). Esse produto deve especificar claramente a composição real da mistura, que, em geral, podem conter 5, 10 ou 15% (v/v) de azeite de oliva.

O óleo de semente de algodão é extraído das sementes de plantas de algodão de várias espécies, principalmente (*Gossypium hirsutum e Gossypium herbaceum*), que é colhido três

meses ao ano. O óleo encontra-se dentro de um grão, onde é cercado por um caroço externo duro; durante o processamento, o óleo é extraído do núcleo. A amêndoa liberada com a quebra das cascas, possui de 30 – 40% de proteína e de 35 – 45% de lipídeo. O óleo de semente de algodão é um subproduto da árvore de algodão (Martin *et al.*, 2012).

O óleo de algodão contém uma mistura de ácidos graxos saturados e insaturados, majoritariamente os ácidos palmítico, oleico e linoleico. Em geral, suas propriedades físico-químicas são análogas às dos principais óleos vegetais que contém triglicerídeos heterogêneos (Rashid; Anwar; Knothe, 2009). Os óleos vegetais são processados com solvente e passam por processos de refino (branqueamento, desodorização, hibernação) que removem compostos como ácidos graxos livres. A composição de ácidos graxos deste óleo, é apresentada na Tabela 4.

Tabela 4 - Composição de ácidos graxos em óleo de girassol, milho, soja e algodão

Ácido Graxo	Nomenclatura	% (g/100g)			
		Girassol	Milho	Soja	Algodão
12:0	Láurico	≤ 0,1	≤ 0,3	≤ 0,1	≤ 0,2
14:0	Mirístico	≤ 0,2	≤ 0,3	≤ 0,2	0,6 - 1,0
16:0	Palmítico	5,0 – 7,6	8,6 – 16,5	8,0 – 13,5	21,4 – 26,4
16:1	Palmitoleico	≤ 0,3	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 1,2
17:0	Heptadecanóico	≤ 0,2	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1
17:1	Heptadecenóico	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1	≤ 0,1
18:0	Esteárico	2,7 – 6,5	≤ 3,3	2,0 -5,4	2,1 – 3,3
18:1	Oleico	14,0 – 39,4	20,0 – 42,2	17,0 – 30,0	14,7 – 21,7
18:2	Linoleico	48,3 – 74,0	34,0 – 65,6	48,0 – 59,0	46,7 – 58,2
18:3	Linolênico	≤ 0,3	≤ 2,0	4,5 – 11,0	≤ 0,4
20:0	Araquídico	0,1 – 0,5	0,3 – 1,0	0,1 – 0,6	0,2 – 0,5
20:1	Eicosenóico	≤ 0,3	0,2 – 0,6	≤ 0,5	≤ 0,1
20:2	Eicosadienoico	-	≤ 0,1	≤ 0,1	-
22:0	Behênico	0,3 – 1,5	≤ 0,5	≤ 0,7	≤ 0,6
22:1	Erúico	≤ 0,3	≤ 0,3	≤ 0,3	≤ 0,3
22:2	Docosadienóico	≤ 0,3	-	-	≤ 0,1
24:0	Lignocérico	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 0,5	≤ 0,1

Fonte: CODEX ALIMENTARIUS, 2001.

A composição química em termos de ácidos graxos dos óleos vegetais é regulamentada pelo Codex Alimentarius e seguida por agências de inspeção, tais como MAPA, EMA, FDA, dentre outras.

O EVOO, EPO e EVAO por serem extraídos por meio da prensagem a frio apresentam baixo rendimento e alto valor econômico, tornam-se muitas vezes alvo de atividades fraudulentas. Isso representa um risco para o consumidor não apenas financeiramente, mas também porque essas atividades podem ter consequências relacionadas à saúde. Em geral, o EVOO, EPO e EVAO são submetidos ao processo de adulteração com óleos vegetais comestíveis para obter, principalmente, um maior volume de produto. Os principais adulterantes são óleos de soja, milho, girassol, algodão, canola dentre outros. No caso do EVOO, subprodutos do óleo de qualidade inferior, incluindo ROO ou OPO, também são utilizados. Estes últimos são, geralmente, mais difíceis de detectar, pois são provenientes da mesma fruta, ao contrário dos óleos de diferentes origens botânicas (Downey; McIntyre; Davies, 2002; Torrecilla *et al.*, 2013; Green *et al.*, 2020).

2.2 CROMATOGRAFIA GASOSA

A cromatografia gasosa (CG) é uma técnica utilizada para separação de compostos voláteis, semivoláteis e termicamente estáveis e suas quantificações (Aslani; Armstrong, 2022). A CG tem sido frequentemente utilizada para análise de compostos em óleos vegetais principalmente seus perfis de ácidos graxos. Em termos de tipo de composto a serem analisados, o GC é mais adequado para a análise de compostos menores e voláteis. Compostos que apresentam maiores volatilidade às vezes pode ser analisados por GC, geralmente exigindo derivatização antes da análise, resultando em produtos mais voláteis e estáveis, embora aumente a complexidade do método e prolongue a preparação da amostra. A disponibilidade de grupos derivatizáveis e seu impedimento estereo no analito, e a estabilidade dos compostos derivatizados também devem ser considerados (Mota *et al.*, 2021).

Embora a composição de ácido graxos livre estão em baixa concentração, para análise em CG, eles geralmente são derivados dos triacilgliceróis. Geralmente os ácidos graxos nos óleos vegetais contêm um número par de carbono com uma cadeia de hidrocarbonetos que pode variar de 8 a 24 carbonos; sendo que de 14 a 24 são os mais prevalentes, e variam em seu grau de saturação como a modificação mais comum. A composição de ácido graxo é normalmente determinada após derivatização para seus ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME), transformando-os em uma forma volátil adequada para análise CG. A esterificação e

transesterificação catalisada por ácido e a transesterificação catalisada por base são métodos amplamente aplicáveis para a derivatização (Mota *et al.*, 2021).

A seguir, alguns trabalhos que abordam a técnica CG na determinação de ácidos graxos. Li e colaboradores (2016), utilizaram a CG para monitoramento de adulteração em óleo de camélia com óleos vegetais. Para isso eles derivatizaram os óleos transformando-os em ésteres metílicos antes das injeções no cromatógrafo.

Jafari, Kadivar e Keramat (2009), utilizaram a CG para determinação da composição de ácidos graxos em azeite de oliva iraniano, eles derivatizaram os azeites transformando-os em ésteres metílicos. Segundo os autores a caracterização de ácidos graxos é a primeira a ser feita para determinação da pureza de azeites virgens, em conformidade os óleos ou gorduras apresentam similaridade nos perfis de ácido graxos e triacilgliceróis, sendo a principal variação é o comprimento da cadeia e o grau de insaturação do componente. De fato, o azeite virgem contém uma quantidade elevada de ácido oleico, baixo nível de ácido linoleico e nível muito baixo de ácido linolênico.

Yang *et al.* (2013), utilizaram o CG-MS para detecção e identificação de adulteração de EVOO combinado com quimiometria. Os ácidos graxos foram derivatizados através da transesterificação alcalina em ésteres metílicos. Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram identificados a partir do tempo de retenção e comparação dos espectros de massa com os dos padrões correspondentes. Finalmente, 22 ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) foram identificados. As razões das áreas dos FAMEs para o padrão interno foram calculadas para a análise quantitativa. Além do componente único, ácidos graxos saturados totais (SFAs), ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs), ácidos graxos monoinsaturados (MUFAs) e as proporções de ácido oleico/linoleico, ácido linoleico/linolênico e MUFAs/PUFAs também foram avaliados.

2.3 ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO

A espectroscopia vibracional é baseada na interação da radiação eletromagnética e estados vibracionais das ligações químicas. É um termo coletivo usado para descrever duas técnicas analíticas: a espectroscopia infravermelha (IV) e a espectroscopia Raman. O IV e Raman são ferramentas não destrutivas e não invasivas que fornecem informações sobre a composição molecular, estrutura e interações dentro de uma amostra. Essas técnicas medem os níveis de energia vibracional, que estão associados às ligações químicas da amostra. O espectro de uma amostra é característico, como uma impressão digital, sendo usado para identificação, caracterização, elucidação da estrutura, monitoramento de reação, controle de qualidade e

garantia de qualidade. A espectroscopia IV e Raman fornecem informações complementares sobre a estrutura molecular. É importante enfatizar, que a espectroscopia IV e Raman são amplamente usadas na análise da qualidade de alimentos (Ropodi; Panagou; Nychas, 2016; Meenu; Cai; Xu, 2019).

A espectroscopia IV é dividida em três regiões de acordo com o número de onda que compreende a radiação eletromagnética entre 12.800 a 10 cm^{-1} : infravermelho próximo (NIR do inglês, *Near Infrared*) (12.800 – 4.000 cm^{-1}), médio (MID do inglês, *Middle Infrared*) (4.000 – 200 cm^{-1}) e distante (FAR do inglês, *Far Infrared*) (200 – 10 cm^{-1}). Tanto a região do infravermelho próximo e médio tem sido amplamente utilizadas no desenvolvimento de procedimentos analíticos, alternativos aos tradicionais, para o controle de qualidade de alimentos. Em particular, a região do MID fornece uma análise mais completa em aplicações envolvendo identificação de compostos orgânicos, pois nessa região ocorrem essencialmente transições permitidas e existe uma faixa espectral conhecida como região de impressão digital (1650 - 500 cm^{-1}). Como cada composto orgânico tem seu espectro de absorção IV específico, a espectroscopia IV é uma ferramenta poderosa para análise qualitativa (Zhang *et al.*, 2011; Squeo *et al.*, 2019).

Uma vez que cada frequência vibracional está relacionada a um grupo funcional específico, os espectros no IV oferecem informações sobre a estrutura de um determinado composto. Modificações no perfil do espectro podem significar transição polimórfica ou uma degradação química, causando modificações das bandas referentes às interações intermoleculares (Ayala *et al.*, 2006).

Koca e coautores (2010), avaliaram adulteração de manteiga como um sistema alimentar lácteo, para isso foi usado a espectroscopia de refletância total atenuada no infravermelho médio (ATR-MIR) controlada por temperatura combinada com análise multivariada. Amostras comerciais de gordura de manteiga foram adulteradas com gordura de margarina em níveis variando de 0 a 100% (v/v). Os modelos de regressão dos mínimos quadrados parciais (PLS_R) forneceram erro de validação cruzada (SECV) <1,2% (v/v) e coeficientes de correlação (r) > 0,99. Excelentes capacidades de previsão foram obtidas usando um conjunto de validação externa que consiste em manteiga adulterada com margarinas nas proporções de 2,5%, 13% e 45%. Os autores demonstraram a viabilidade desta técnica na análise rápida de produtos lácteos.

Maggio e colaboradores (2010), desenvolveram um procedimento útil para a determinação qualitativa e quantitativa de óleos vegetais (canola, avelã, bagaço de azeitona e girassol) como adulterantes em amostras comerciais de azeite extra virgem. O PLS foi empregado para a análise dos dados de espectroscopia no infravermelho por transformada de

Fourier (FT-IR) das amostras de óleo da mistura. O método desenvolvido mostrou-se muito adequado para a determinação de adulterantes modelados, mas também pode revelar uma adulteração mesmo que não seja derivada dos adulterantes empregados neste estudo.

2.4 ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN), é uma ferramenta poderosa que permite a investigação de estruturas químicas complexas e suas interações (Siudem; Zienlinska; Paradowska, 2022).

A utilização da RMN, era limitada apenas a estudos de estrutura de compostos orgânicos separados. O fato de ter sensibilidade relativamente baixa, e ainda aliada ao alto custo do equipamento, tornava limitante a aplicação da mesma em modelos mais complexos como amostras de alimentos. No entanto, houve melhorias na sensibilidade fazendo-a predisposta a ser utilizada em análises ambientais e de alimentos. No caso de óleos, a principal vantagem da RMN é a possibilidade de testar toda a amostra sem a necessidade de separação, derivatização, purificação ou uso de padrões específicos (Siudem; Zienlinska; Paradowska, 2022).

Segundo Garcia *et al.* (2019), o RMN de próton é a primeira ferramenta a ser utilizada, devido a maior sensibilidade e o menor tempo de relaxamento dos núcleos de prótons quando comparado ao RMN de carbono ^{13}C que são núcleos menos sensíveis. Para aumentar a compreensão foi desenvolvido um método mais moderno chamado distortionless enhancement by polarization transfer (DEPT), sendo dividido em três ângulos RMN ^{13}C DEPT 45, DEPT 90 e DEPT 135, trata-se do uso de uma sequência de pulsos que transfere a polarização dos núcleos de carbono-13 para a população de núcleos de prótons aos quais estão acoplados, tornando a taxa de repetição mais rápida, pois depende dos tempos de relaxação mais curtos dos núcleos de prótons em relação aos núcleos de carbono-13. Esta técnica mostra-se muito promissora devido a um aumento da sensibilidade dos núcleos de carbono-13 que é promovido pela aplicação de um experimento de sequência de pulso RMN DEPT. Concretamente, o RMN ^{13}C DEPT desempenha um papel crucial na atribuição de átomos de carbono primários, secundários e terciários, diferenciando entre os grupos $-\text{CH}$, $-\text{CH}_2$ e $-\text{CH}_3$ pela variação do parâmetro do ângulo de seleção: o ângulo de 135° fornece todos os $-\text{CH}$ e $-\text{CH}_3$ em fase oposta ao CH_2 ; o ângulo de 90° fornece apenas grupos $-\text{CH}$, sendo os outros suprimidos; O ângulo de 45° fornece todos os carbonos com prótons ligados (independentemente do número) em fase. De fato, a transferência de polarização de ^1H para ^{13}C tem a vantagem secundária de aumentar a sensibilidade sobre o espectro normal de ^{13}C .

Os espectros de RMN de ^{13}C de alta resolução fornecem informações estruturais de natureza química. Os espectros, que aparecem como uma série de linhas, são acompanhados por dois números para cada sinal: seu deslocamento químico (em ppm, medido a partir de um padrão comumente utilizado geralmente o tetrametilsilano (TMS) = 0) e sua intensidade ou altura do pico. O primeiro deles fornece informações qualitativas sobre a estrutura química e o segundo, quando obtido a partir de um espectro coletado fornece informações quantitativas (Gunstone, 1994).

As técnicas de RMN de próton e ^{13}C tem sido aplicada para análise de óleos vegetais (CAI, 2019). Fornecem informações diretas sobre a composição molecular de ácidos graxos em matrizes de triacilglicerol sem nenhuma preparação química prévia (Merchak *et al.*, 2018). Por exemplo, o método RMN de próton fornece porcentagens de ácidos graxos saturados (SFA), ácidos graxos monoinsaturados (MUFA), ácidos graxos poliinsaturados (PUFA), ácidos linoleico e linolênico (únicos ácidos graxos que podem ser quantificados individualmente por este método) e permite identificar componentes menores em óleos. A RMN de ^{13}C pode fornecer informações adicionais sobre as quantidades individuais de ácidos graxos, com base em sua ampla faixa de frequências de ressonância (Merchak *et al.*, 2015; Merchak *et al.*, 2017).

A utilidade da RMN é reforçada pelas vantagens que esta técnica oferece no que diz respeito à simplicidade de preparação da amostra, à rapidez da análise e à grande quantidade de informação que se obtém em pouquíssimos minutos (Ibargoitia; Sopelana; Guillén, 2014).

Alonso-Salces e colaboradores (2010), por meio da RMN de próton acoplada a Espectrometria de Massas de razão isotópica (IRMS), autenticou azeite de oliva virgem de sete países do mediterrâneo em três períodos de colheita (2004/2005, 2005/2006 e 2006/2007), totalizando 963 azeites de oliva virgem autênticos da Itália, Espanha, Grécia, França, Turquia, Chipre e Síria. Foram analisados por PCA, LDA e PLS-DA, para avaliar a melhor abordagem para identificar a origem geográfica em nível nacional e regional. Outras análises IRMS de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^1\text{H}$ foram realizadas em amostras para alcançar a discriminação geográfica de azeites de oliva virgem. Os resultados foram classificação adequada através das ferramentas multivariadas utilizadas.

Lopes *et al.* (2016), descreveram que uma das principais desvantagens do RMN de ^{13}C é que não distingue entre ácidos graxos saturados como exemplo palmítico ou esteárico, ou ácidos graxos insaturados como oleico e palmitoléico, mas apesar disso a técnica tem sido aplicada com sucesso para análise de ácidos graxos.

Popescu e colaboradores (2015), utilizaram o RMN de próton e de ^{13}C juntamente com o método quimiométrico PCA, para analisar 44 amostras puras ou combinadas em misturas

binárias de óleos vegetais com diferentes origens botânicas e geográficas. A análise de ^1H e ^{13}C foi usada para determinar os ácidos graxos saturados, ácido oleico, ácido linoleico e ácido linolênico. As amostras de óleo foram separadas de acordo com a origem botânica por meio de PCA. Os resultados apresentam a capacidade das técnicas de RMN e da quimiometria para serem usadas na avaliação da qualidade de óleos vegetais em termos de sua origem botânica.

Nascimento *et al.* (2021), utilizaram as técnicas espectroscópicas (FT-IR, RMN de próton e ^{13}C) para análise de fraudes de óleos vegetais. As técnicas foram aplicadas para determinar os perfis químicos de 23 óleos vegetais comerciais brasileiros obtidos de cinco diferentes matrizes de alto valor (andiroba, babaçu, baru, mamona e óleos de amêndoas doces), e investigado a sua adulteração, por comparação com as amostras de referência correspondentes. A partir dessas técnicas os autores concluíram a vantagem no uso das técnicas no fornecimento de informações precisas para uso na autenticação da qualidade dos óleos.

A espectroscopia de RMN de ^{13}C foi usada em uma primeira tentativa de diferenciar amostras de azeite pelas categorias de comercialização. Foram obtidos espectros de RMN de ^{13}C de alta resolução, 137 amostras de azeite das quatro categorias de comercialização. Os dados relativos às intensidades de ressonância (variáveis) dos carbonos das cadeias insaturadas, foram analisados por análise discriminante linear. Os autores concluíram que o RMN juntamente com análise discriminante linear é uma estratégia possível para classificar os quatro grupos de azeite, que foram utilizadas para realizar a pesquisa (Vkahov, 2006).

Lopes *et al.* (2016), utilizaram a RMN de ^{13}C para diferenciar triacilgliceróis e diacilgliceróis saturados e insaturados e as posições das insaturações sn-1,3 e sn-2. Ambos os deslocamentos químicos ocorrem em ~ 170 ppm. As diferenças nos deslocamentos químicos dos grupos acila dos ácidos graxos saturados e insaturados, conseqüentemente os sinais são deslocados em 0,410 ppm. Os sinais obtidos pelos autores de acila foram claramente discriminados em ácido graxo insaturado (170,88 ppm) e ácido graxo saturado (170,91 ppm) esterificado na posição sn-2 e ácido graxo insaturado (171,29 ppm) e ácido graxo saturado (171,32 ppm) esterificado nas posições sn-1,3 glicerol. Essas diferenças são causadas pelos efeitos indutivos de dupla ligação no grupo carbonila da cadeia do glicerol.

2.5 TÉCNICAS TERMOANALÍTICAS

De acordo com Confederação Internacional de Análise Térmica e Calorimetria (*International Confederation of Thermal Analysis and Calorimetry*, ICTAC) e reconhecida em 2014, pela União Internacional de Química Pura e Aplicada (*International Union of Pure and*

Applied Chemistry, IUPAC) a análise térmica é o estudo da relação entre uma propriedade da amostra e sua temperatura, enquanto a amostra é aquecida ou resfriada de maneira controlada (Ionashiro; Caires; Gomes, 2014). Definição esta que é adotada pela Associação Brasileira de Análise Térmica e Calorimetria (ABRATEC). Dentre as técnicas de análise térmica as mais difundidas e utilizadas são: Termogravimetria (TG), Termogravimetria Derivada (DTG), Análise Térmica Diferencial (DTA) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) (Ionashiro; Caires; Gomes, 2014).

2.5.1 Termogravimetria

A termogravimétrica (TG) é uma técnica na qual se determina a perda ou ganho de massa e/ou percentual de massa em função da temperatura de maneira controlada. Na TG existem três modos de programa de temperatura que são normalmente utilizados: a) isotérmica, em que a massa da amostra é registrada como uma função do tempo mantendo a temperatura constante; b) *quasi*-isotérmica, em que a amostra é aquecida enquanto a massa da amostra permanece constante ou a variação da massa não alcança um valor máximo preestabelecido; atingindo esse valor a temperatura permanecerá constante até não haver mais variação de massa ou até que um valor de variação de massa mínimo preestabelecido seja atingido; e c) dinâmica, em que a amostra é aquecida em um ambiente no qual a mudança de temperatura ocorre de maneira pré-determinada, numa razão de aquecimento linear (Ionashiro; Caires; Gomes, 2014).

Os instrumentos comerciais modernos empregados nesta técnica consistem de uma microbalança analítica sensível, também chamado termobalança; um forno; um sistema de gás de purga para proporcionar uma atmosfera inerte ou, por vezes, reativa, e um sistema computadorizado para o controle do equipamento e aquisição e processamento de dados.

Na TG, a massa da amostra é continuamente registrada como função da temperatura ou do tempo. Portanto, nas curvas TG, os desníveis em relação ao eixo das ordenadas correspondem as variações de massa sofridas pela amostra e permitem obter dados que podem ser utilizados com finalidade quantitativas (Ionashiro; Caires; Gomes, 2014).

Na termogravimetria derivada (DTG), a derivada primeira da variação de massa em relação ao tempo é registrada em função da temperatura ou do tempo. Desta forma, nestes métodos são obtidas curvas que correspondem à derivada primeira da curva TG e nas quais os degraus são substituídos por picos que delimitam áreas proporcionais às alterações de massa sofridas pela amostra (Ionashiro; Caires; Gomes, 2014).

As vantagens da DTG são: a) as curvas indicam com precisão as temperaturas correspondentes ao início e ao instante em que a velocidade de reação é máxima; b) os picos agudos permitem distinguir exatamente uma sucessão de reações que muitas vezes não podem ser claramente distinguidas nas curvas TG; e c) as áreas dos picos correspondem à perda ou ganho de massa podem ser utilizadas em determinações quantitativas (Ionashiro; Caires; Gomes, 2014).

Através dessas vantagens, Pereira *et al.* (2022), quantificaram a adulteração do café pela termogravimetria derivada e análise quimiométrica. Foram utilizadas duas atmosferas (inerte e oxidante) para realizar a quantificação. Os dados foram analisados por mínimos quadrados parciais (PLS), obtendo resultados para ambas as atmosferas. Entretanto, a análise com atmosfera de nitrogênio apresentou menores erros quadráticos médios (RMSE) em comparação ao gás de ar sintético limite de detecção inferior a 0,36% e coeficiente de determinação (R^2) superior em 0,9274; 0,9786 e 0,9925 para palha de café, milho e casca de café, respectivamente.

2.5.2 Análise Térmica Diferencial

A análise térmica diferencial (DTA) é uma técnica na qual a diferença de temperatura entre a amostra e o material de referência é medida. Essas medições de temperatura são diferenciais, pois se registra a diferença entre a temperatura da referência, T_r , e a da amostra, T_a , ou seja, ($\Delta T = T_r - T_a$), em função da temperatura ou do tempo, dado que o aquecimento ou resfriamento é sempre feito em razão linear ($dT/dt = Cte$) (Ionashiro; Caires; Gomes, 2014).

A DTA permite detectar reações endotérmicas (a temperatura da amostra diminui em relação à referência) e exotérmicas (a temperatura da amostra aumenta em relação à referência) em função da temperatura sendo frequentemente aplicada para a determinação de diagramas de fase e estudo de decomposição. A porção da curva na qual ΔT é aproximadamente zero é considerada a linha base. Pontos na curva com ΔT máximo são chamadas de temperaturas de pico, mas se as reações endotérmicas e exotérmicas ocorrem simultaneamente e têm magnitude semelhante, elas não poderão ser distinguidas pela DTA e a curva aparece como uma linha base (Plante; Fernández; Leifeld, 2009).

Por meio dessa técnica, podem-se acompanhar os efeitos de calor associados à alterações físicas ou químicas da amostra, tais como transições de fase (fusão, ebulição, sublimação, condensação e inversões de estruturas cristalinas) ou reações de desidratação, dissociação, decomposição, oxidação-redução, entre outras, capazes de causar variações de calor. Em geral, transições de fase, desidratações e reduções produzem efeitos endotérmicos,

enquanto cristalizações e oxidações produzem efeitos exotérmicos. Essa técnica permite também estudar transições que envolvem variações na entalpia (transições de segunda ordem), das quais a mais comum é a transição vítrea (Ionashiro; Caires; Gomes, 2014).

A análise simultânea TG/DTA permite registrar a perda de massa e a resposta térmica de qualquer material submetido a uma rampa de aquecimento sob condições controladas de um fluxo de gás (Vuataz; Meunier; Aandrieux, 2010). Entretanto, há ausência de trabalhos na literatura envolvendo alimentos objetivando determinação e quantificação de adulterantes através das técnicas TG/DTA.

2.5.3 Calorimetria Exploratória Diferencial

Em relação ao equipamento de DSC existem dois tipos: DSC por compensação de potência e DSC por fluxo de calor (Craig; Reading, 2007). O DSC por compensação de potência possui sensores de temperatura e aquecedores separados para a amostra e a referência. Ao ocorrer uma diferença de temperatura entre a amostra e a referência, ocorre o fornecimento de energia térmica aos aquecedores para assim mantê-los na mesma temperatura. A potência térmica é a fonte do sinal do instrumento, estando assim, relacionado com a energia dos processos endotérmicos ou exotérmicos (Haines, 2002).

As aplicações da DSC são diversas, como na caracterização de materiais orgânicos, inorgânicos, biológicos, poliméricos, fármacos, adulteração de alimentos, entre outros (Yu *et al.*, 2017; Herman-Lara *et al.*, 2017; Raimo, 2015; Haines, 2002). Podem ser obtidas também, medidas quantitativas como capacidade calorífica, entalpia de transições, pureza, cinética química, pressão de vapor e condutividade térmica (Haines, 2002).

A calorimetria exploratória diferencial por fluxo de calor (*hf*-DSC), por definição é a medição da diferença de calor fornecida à substância e ao material de referência, em função da temperatura e/ou tempo de resfriamento/aquecimento enquanto elas são submetidas a um programa controlado de temperatura (Gallagher, 1998; Ionashiro; Caires; Gomes, 2014). Existem inúmeros benefícios associados à técnica, como a necessidade de uma baixa quantidade de amostra, ampla faixa de temperatura geralmente de (-150 a 600 °C), simplicidade e rapidez de medição (Craig; Reading, 2007).

O DSC *hf*-DSC recebe o sinal advindo da diferença de temperatura entre a amostra e a referência que são aquecidas no mesmo forno. Essa diferença de temperatura é então obtida a partir de sensores, os termopares contidos em um único forno (Haines, 2002).

Os resultados obtidos em uma análise por DSC são exibidos na forma de curvas, na qual a diferença de temperatura entre a amostra e a referência serve de base para o cálculo do calor absorvido ou liberado pela amostra. O resultado, para transições de primeira ordem (exemplo, fusão de substâncias) é registrado na forma de picos, sendo negativo ($\Delta T < 0$) para os eventos endotérmicos, e positivo ($\Delta T > 0$) para os exotérmicos (Canevarolo Jr, 2003; Craig; Reading, 2007). A área do pico é diretamente proporcional a entalpia ($J\ g^{-1}$) envolvida no processo. Transições vítreas, que são classificadas como transições de segunda ordem, geram degraus na linha de base, pois não há variação de entalpia, e sim, uma mudança na capacidade calorífica da amostra (Craig; Reading, 2007).

As aplicações utilizando as técnicas termoanalíticas para a determinação de adulterantes têm crescido nos últimos anos, pois são técnicas rápidas. Na literatura encontram-se muitos trabalhos utilizando a técnica de DSC na determinação de adulterantes em alimentos. Alguns exemplos desses trabalhos envolvendo determinação de adulteração em alimentos, são descritos a seguir.

No trabalho de Escriche e colaboradores (2017), foi determinada a adulteração de mel (seis tipos) com xarope de açúcar (10 tipos) empregando três proporções (mel/xarope: 80/20; 90/10 e 95/05 m/m). Neste trabalho, cerca de 10 mg de amostras desidratadas foram avaliadas por DSC utilizando o seguinte ciclo de temperatura: 25 a $-40\ ^\circ C$ e de -40 a $110\ ^\circ C$ (ambos a razão de $10\ ^\circ C\ min^{-1}$). Depois disso, uma varredura de resfriamento foi aplicada de 110 a $-40\ ^\circ C$ e, finalmente, as amostras foram aquecidas até $120\ ^\circ C$. Os resultados obtidos tanto dos diferentes tipos de mel e xaropes puros quanto das misturas foram avaliados por análise de componentes principais (PCA). Foi possível observar que a presença dos xaropes de açúcar afetou as propriedades térmicas do mel. Nas amostras adulteradas, a temperatura de transição vítrea do mel foi modificada de acordo com o tipo e a quantidade do xarope de açúcar empregado na adulteração.

No trabalho de Gras (2016), utilizou-o DSC para determinar adulteração de manteiga com óleo de palma, empregando diferentes concentrações de óleo: para a calibração 0 - 35% (m/m), e para previsão 5 - 38% (m/m), As análises, utilizando cerca de 10 mg e atmosfera de gás N_2 , foram submetidas ao seguinte programa: (1) aquecimento isoterma por 5 min a $60\ ^\circ C$; (2) resfriado a $5\ ^\circ C\ min^{-1}$ para $-40\ ^\circ C$; (3) isoterma de 3 min a $-40\ ^\circ C$; e (4) aquecido a $5\ ^\circ C\ min^{-1}$ para $60\ ^\circ C$. Os resultados obtidos foram avaliados por análise de variância unidirecional (ANOVA) e teste de diferença significativa de Tukey a nível de confiança de 95%. Para analisar a relação entre os parâmetros termodinâmicos foram realizadas análises de regressão linear simples e múltipla, sendo calculados os coeficientes de correlação de Pearson (r) e coeficiente

de correlação (R^2). O autor concluiu que a presença do óleo houve alteração no formato pico de fusão, resultando em alterações nos parâmetros termodinâmicos de fusão (temperatura, área e altura dos picos). Desta forma, considerando a metodologia foi adequada para avaliação quantitativa de adulteração de manteiga com óleo de palma.

No trabalho de Brondi e coautores (2017), foi utilizado a DSC e IV com análise quimiométrica para a determinação de adulteração de café com milho. Foram realizados três níveis de torra para o café, a torra clara, média e escura. Já o milho, utilizado para a adulteração do café também foi torrado. Após a torra e a moagem foi feita a mistura dos grãos de café com os de milho, 10 amostras para cada nível de torragem; em seguida foi analisada em DSC com a seguinte metodologia: as massas de amostras (aproximadamente 3,0 mg) foram colocadas em cadinho de alumínio hermeticamente fechados e aquecidas com temperatura inicial de 50 - 600 °C (razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹) sob atmosfera dinâmica de nitrogênio (100 mL min⁻¹). O DSC em conjunto com a análise quimiométrica (PCA e PLS) foi capaz de detectar a adulteração com o milho, mesmo em concentrações menores que 1%. Já os modelos PLS mostraram boa concordância entre os valores das concentrações estimadas e referência, com erro quadrático médio de 3,4%. Assim, concluíram que técnica de DSC acoplados as análises quimiométricas são boas alternativas para serem utilizadas na detecção de fraude e no controle de qualidade do café.

Aktas e colaboradores (2001), utilizaram a curva de cristalização do DSC para detecção de adulterantes em manteiga, como adulterantes gorduras animais: gordura de frango, sebo e banha bovina e gordura vegetal: margarina. Os resultados encontrados mostraram que a gordura animal apresentou curvas de fusão no DSC em um pico endotérmico na faixa de 10 – 50 °C; já a margarina e a manteiga apresentaram fusão completa em 40 °C. As curvas de fusão da manteiga e da margarina apresentaram algumas diferenças que podem ser atribuídas a composição distinta de triglicérides. Nas curvas de cristalização, as gorduras animais começaram a cristalizar em 27 °C, enquanto a manteiga e a margarina em 15 °C. Os autores concluíram que essas diferenças nas propriedades térmicas forneceram base para determinação de adulteração de manteiga.

Dahimi e colaboradores (2014), avaliaram a contaminação cruzada causada pela concentração de banha (LD) de 0,5 - 5% nos sistemas de mistura contendo sebo bovino (BT) e gordura de frango (CF) separadamente. Espécies de TAGs de lipídios puros e adulterados em relação a seus parâmetros de cristalização e fusão foram estudadas usando PCA. Os resultados mostraram que, usando os perfis de aquecimento, a discriminação de LD de BT e CF foi muito clara, mesmo em concentrações inferiores a 1%. A mesma observação foi descrita a partir dos

perfis de cristalização de BT adulterados por doses de LD variando de 0,1 a 5%. Além disso, CF adulterado com LD não apresentou mudanças claras em seus perfis de cristalização. Conseqüentemente, o DSC acoplado ao PCA pôde utilizada para monitorar e diferenciar os níveis mínimos de adulteração causados por LD em diferentes gorduras animais.

2.6 MÉTODO QUIMIOMÉTRICO

O termo quimiometria foi proposto no final da década 1970 para descrever as técnicas e operações associadas ao tratamento matemático e à interpretação de dados químicos. Foi dentro da área de Química Analítica que a Quimiometria, provavelmente, causou mais impacto. Com o avanço da instrumentação e automação nas análises laboratoriais, uma enorme quantidade de dados começou a ser gerada muito rapidamente. A área para qual a quimiometria mais contribuiu foi a espectroscopia: como (UV/visível), no IV médio ou próximo, Raman e fluorescência molecular (Sena; Trevisan; Poppi, 2005).

A Quimiometria tem sido empregada na Química de alimentos não apenas para calibração, mas também para a realização de análise exploratória e construção de modelo de classificação (Marquetti *et al.*, 2016).

Entre os métodos de calibração existentes, os mais conhecidos são os métodos univariados, também chamados de calibração de ordem zero. Neste caso, tem-se apenas uma medida instrumental por amostra, ou seja, apenas um escalar para cada amostra. Nos métodos de calibração multivariada, duas ou mais medidas instrumentais são relacionadas com a propriedade de interesse. Métodos de calibração de primeira ordem fornecem um vetor de dados para cada amostra, enquanto os de segunda ordem fornecem uma matriz de dados por amostra. Em situações onde a determinação de um analito é dificultada ou impedida devido à presença de interferentes, o uso de calibração multivariada permite a modelagem desses interferentes junto com o analito de interesse. As vantagens potenciais da determinação direta são rapidez, redução de uso de reagentes, baixo custo e simplificação no preparo da amostra, diminuindo as possibilidades de erro causada pela manipulação (Callao; Ruisánchez, 2018).

Os métodos qualitativos multivariados são uma estratégia analítica para abordar problemas relacionados à fraude alimentar que não podem ser resolvidos com apenas uma variável. Alguns exemplos são de autenticação quando a concentração de adulterante não é procurada. O estabelecimento de um método qualitativo multivariado envolve várias etapas: coleta de dados, pré-tratamento, técnicas de exploração, técnicas de classificação e validação de métodos. Quando mais de uma fonte de dados estiver disponível, a fusão de dados pode ser aplicada para melhorar os resultados de uma única técnica (Callao; Ruisánchez, 2018).

A abordagem da quimiometria baseia-se na aplicação de métodos matemáticos, estatísticos e outros, a fim de obter uma avaliação objetiva dos resultados, alcançando informações essenciais, ou seja, significativas, dos resultados de conjuntos de dados químicos, estando relacionados e não relacionados. Com base na análise multivariada, vários métodos quimiométricos são aplicados em medidas quantitativas ou qualitativas. A quimiometria mostra benefícios inestimáveis na análise de calibração de dados espectrométricos/espectroscópicos, aplicados em técnicas direcionadas e não direcionadas para identificar a contaminação/fraude ou a autenticação de sua origem geográfica e biológica (Reinhols *et al.*, 2015).

2.6.1 Regressão por Mínimos Quadrados Parciais

O método de regressão mínimos quadrados parciais (*Partial Least Squares*, PLS) é o método quimiométrico mais robusto e utilizado em regressões de dados multivariados. Os modelos PLS não requerem o conhecimento exato de todos os componentes presentes nas amostras, porém estas informações podem ajudar na construção e interpretação do modelo. PLS é um método usado para relacionar uma matriz descritiva \mathbf{X} a um vetor/matriz de previsão \mathbf{Y} com o objetivo de identificar um modelo de regressão linear projetando as variáveis previstas e as variáveis observáveis para um novo espaço. O PLS é um poderoso método de regressão linear, capaz de lidar com variáveis colineares e aceitar um grande número de variáveis. Os dados para a construção do modelo PLS são organizados em dois blocos: a matriz \mathbf{X} , com os vetores de resposta instrumentais, e a matriz \mathbf{Y} , com os vetores referentes as propriedades de interesse. As matrizes \mathbf{X} e \mathbf{Y} são decompostas simultaneamente em uma soma de h variáveis latentes, como nas Equações de 1 a 4 (Braga; Poppi, 2004; Sena; Trevisan; Poppi, 2005):

$$\mathbf{X} = \mathbf{TP}' + \mathbf{E} \quad (1)$$

$$\mathbf{X} = \sum t_{hp}'h + \mathbf{E} \quad (2)$$

$$\mathbf{Y} = \mathbf{UQ}' + \mathbf{F} \quad (3)$$

$$\mathbf{Y} = \sum u_{hq}'h + \mathbf{E} \quad (4)$$

\mathbf{T} e \mathbf{U} são as matrizes de escores das matrizes \mathbf{X} e \mathbf{Y} , respectivamente; \mathbf{P} e \mathbf{Q} são as matrizes dos pesos das matrizes \mathbf{X} e \mathbf{Y} , respectivamente; e \mathbf{E} e \mathbf{F} são os resíduos dos conjuntos \mathbf{X} e \mathbf{Y} , respectivamente, que correspondem aos dados que não puderam ser modelados.

As correlação entre os dois blocos \mathbf{X} e \mathbf{Y} é simplesmente uma relação linear obtida pelo coeficiente de regressão linear, tal como descrito na Equação 5:

$$\mathbf{U}_h = \mathbf{b}_h t_h \quad (5)$$

para h variáveis latentes, sendo que os valores de b_h são agrupados na matriz diagonal \mathbf{B} , que contém os coeficientes de regressão entre a matriz de escores \mathbf{U} de \mathbf{Y} e a matriz de escores \mathbf{T} de \mathbf{X} .

A melhor relação linear possível entre os escores desses dois blocos é obtida através de pequenas rotações das variáveis latentes dos blocos de \mathbf{X} e \mathbf{Y} .

A matriz \mathbf{Y} pode ser calculada de U_h , na Equação 6:

$$\mathbf{Y} = \mathbf{TBQ}' + \mathbf{F} \quad (6)$$

e a concentração de novas amostras previstas a partir dos novos escores \mathbf{T}^* , substituídos na Equação 7:

$$\mathbf{Y} = \mathbf{T}^*\mathbf{BQ}' \quad (7)$$

Nesse processo, é necessário achar o melhor número de variáveis latentes. A precisão dos modelos é avaliada em termos dos erros quadráticos médios (RMSE) para calibração (RMSEC), validação cruzada (RMSECV) e predição (RMSEP) (Catelani *et al.*, 2017). As variáveis latentes (LVs) são direções ortogonais no espaço dos preditores caracterizados pela covariância máxima com a variável de resposta selecionada. A complexidade ideal, ou seja, o número de LVs a serem usados para construir os modelos é estimado por um procedimento de validação cruzada (Ebrahimi-Najafabadi *et al.*, 2012). Deve ser mencionada ainda, a diferenciação entre PLS1, em que a regressão é feita para uma variável dependente de cada vez (a matriz \mathbf{Y} é um vetor coluna), e PLS2, onde todas as variáveis dependentes são calculadas simultaneamente (Rocha, 2011).

O modelo resultante permite prever uma propriedade da amostra a partir das variáveis independentes originais, sua impressão digital. Deve ser mencionado que o PLS também pode ser usado para discriminação atribuindo resultados qualitativos a y , por exemplo. Esta abordagem é chamada de análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA) (Reinhols *et al.*, 2015).

Os dados mais comumente analisados por esse método são obtidos instrumentalmente. O PLS é muito empregado em dados químicos por ser um método de respostas rápidas e pela facilidade de inserção dos dados e processamento. Também foi estabelecido que o uso de ferramentas quimiométricas, como a análise estatística multivariada, é eficiente para a classificação e discriminação de amostras com características semelhantes (Herman-Lara *et al.*, 2017).

A análise multivariada de dados das curvas termogravimétricas pode ser um método útil para interpretações e previsões aprimoradas. A abordagem multivariada neste estudo inclui a projeção de PLS para criar modelos preditivos. Este método estatístico tem sido frequentemente

utilizado em combinação com outras técnicas analíticas, tipicamente para o tratamento de dados espectroscópicos complexos. No entanto, existem apenas algumas publicações relatando análises multivariadas combinando dados envolvendo análise termogravimétrica (TG) (Strandberg; Holmgren; Brostom, 2017).

Segundo relato de Cerretani *et al.* (2011), é amplamente relatado na literatura o acoplamento de estratégias quimiométricas quantitativas, o PLS em particular, para avaliar a qualidade dos óleos comestíveis por métodos físicos, como os espectrométricos. Essa combinação permitiu mesclar informações espectrais e analíticas, levando à construção de modelos preditivos muito úteis para propriedades de interesse, geralmente baseadas em valores de concentração.

No trabalho de Cerretani *et al.* (2011), foi proposto um método DSC/PLS para quantificação e validação de ácidos graxos presentes em óleos, uma matriz composta de 63 amostras em triplicata totalizando 189 de óleos vegetais, onde 58 deles eram EVOO, 1 óleo de oliva, 1 OPO e 3 óleos vegetais (avelã, girassol e canola). As amostras de óleos (8 - 10 mg) foram submetidas à análises por DSC usando cadinho de alumínio hermeticamente selados e nitrogênio como gás de arraste e isoterma a 30 °C a 3 min e então resfriada até -80 °C numa razão de 2°C min⁻¹ (mantida nessa temperatura por 3 min) e depois aquecida de -80 a 30 °C. Após a realização das análises o processamento dos dados foram realizados utilizando rotina de calibração multivariada escrita para Matlab e os modelos PLS foram calculados sobre um conjunto geral de calibração para todos os parâmetros das amostras. Os dados foram centrados (MC) antes da realização dos cálculos. Cerca de 30% das amostras foram selecionadas aleatoriamente sendo utilizada como conjunto de validação externa para a determinação de parâmetros, enquanto o restante foi utilizado para construção do modelo de calibração. As réplicas foram usadas individualmente para levar em consideração a variação da amostra no modelo de calibração. Pode-se concluir que o modelo foi satisfatório para a quantificação dos ácidos graxos presentes nos óleos, já que os resultados obtidos para o ácido palmítico e os ácidos saturados mostraram coeficientes de correção muitos bons e baixos valores de RMSE para calibração e validação, e resultados satisfatórios para os ácidos mono e poliinsaturados, ácidos esteáricos e linoleicos. Portanto, os autores classificam como uma nova abordagem semelhante aos processos oficiais tradicionais.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ÓLEOS E PREPARO DAS MISTURAS

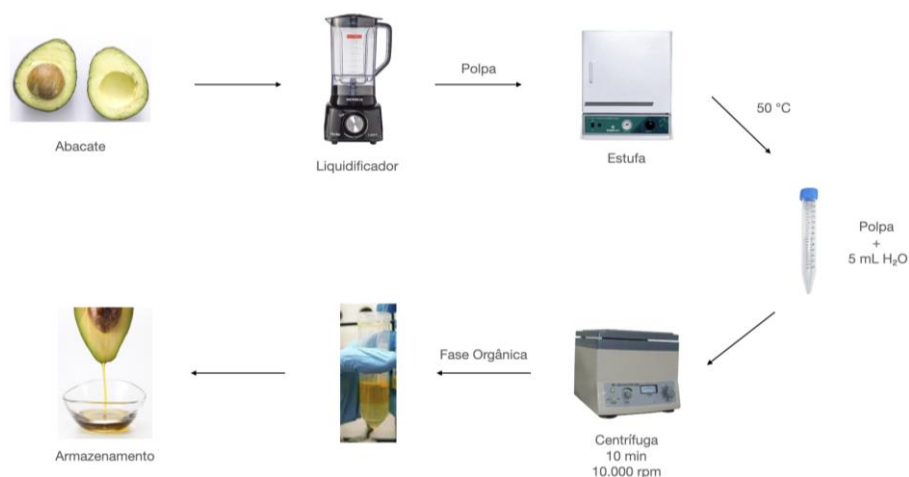
Neste trabalho, os óleos foram adquiridos em supermercado e farmácia local. Esses óleos foram EVOO, EPO, EVAO e óleos vegetais de girassol, milho, soja e algodão empregados como simuladores de adulterantes. Também foi adquirido óleo composto, de óleo de soja e azeite de oliva na proporção de 90/10%, que foi empregado no método *Spiking*. Todas as amostras e materiais usados nas análises estavam dentro do prazo de validade.

As misturas binárias foram preparadas na faixa de concentração de 5 a 95% (*m/m*). Para isso, os componentes das misturas foram pesados usando balança analítica (Shimadzu, AUW220D), em frasco plástico de 1,5 mL. Amostras com 0% de adulterante e 100% de adulterante foram usadas como controle negativo e positivo, respectivamente. As misturas binárias foram agitadas em vórtex por 90s para homogeneização.

3.2 EXTRAÇÃO DO ÓLEO EXTRA VIRGEM DE ABACATE

Os abacates foram cortados e seus caroços foram retirados, a polpa foi colocada em um liquidificador e batida até a total homogeneização, em seguida foi levada para a estufa com temperatura de aproximadamente 50 °C por cerca de 90 minutos para que a polpa liberasse seu óleo, posteriormente colocada em tubo de centrifuga de 20 mL com tampa, adicionado 5 mL de água e centrifugado por 10 min a 10.000 rpm. Após a observação do surgimento de três fases onde existia a polpa, a água e o óleo. A porção da polpa foi centrifugada na presença de água até a extração total do óleo. Na fração oleosa foi centrifugada até a completa remoção da água. O EVAO foi rotulado e armazenado em geladeira após a extração. Adaptado de Tan, (2019), conforme a Figura 4.

Figura 4 - Esquema da Extração do Azeite de Abacate Extra Virgem

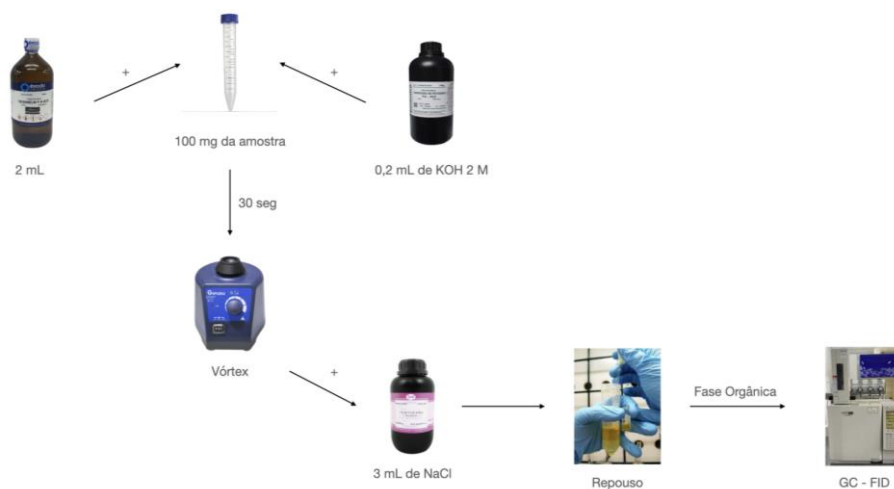


Fonte: Autor.

3.3 PREPARAÇÃO DOS ÉSTERES METÍLICOS DE ÁCIDOS GRAXOS

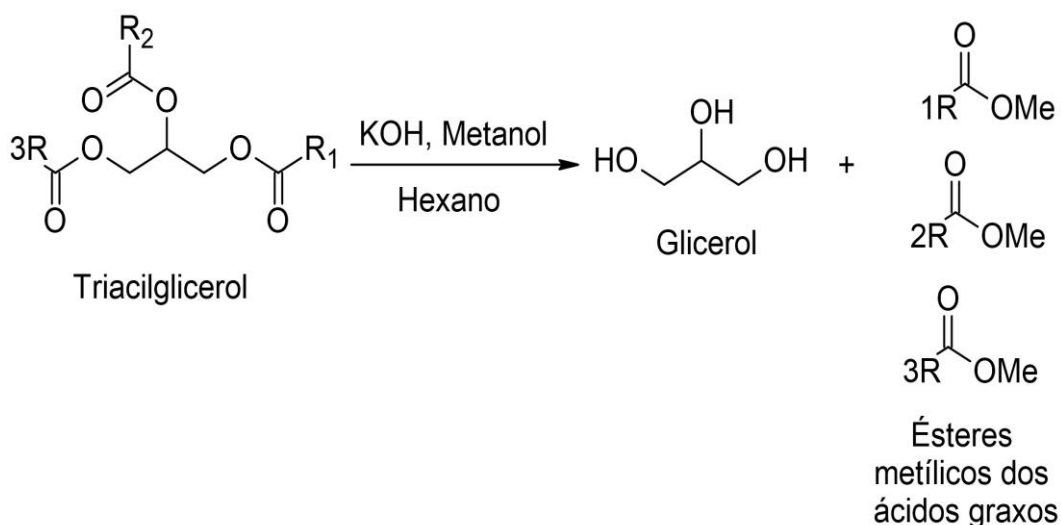
Os óleos foram derivatizados em ésteres metílicos de ácido graxos (FAME), a partir da metodologia da apostila do Instituto Adolf Lutz, 2008. Foram pesados cerca de 100 mg de cada amostra em tubo de centrifuga de 20 mL com tampa. Adicionou-se 2,0 mL de n-hexano e em seguida 0,2 mL de solução metanólica de hidróxido de potássio 2 M. A solução sofreu agitação em vórtex por 30 segundos. Adicionou-se 3,0 mL de solução saturada de cloreto de sódio. Após a separação das fases, a fase superior (orgânica) foi analisada por cromatografia gasosa, conforme a Figura 5.

Figura 5 - Preparo dos Ésteres Metílicos de Ácido Graxos



Fonte: Autor.

Figura 6 - Reação de Transesterificação



Fonte: Autor.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Análise por Cromatografia Gasosa

Os cromatogramas foram adquiridos em um cromatógrafo gasoso Shimadzu CG-2010 (Shimadzu Scientific Instruments) detector de FID (*Flame Ionization Detector*), pertencente à Central de Análise e Prospecção Química – (CAPQ), UFLA-MG.

As amostras de EVOO, EPO, EVAO, EVAO ex. e os óleos vegetais (girassol, milho, soja, algodão), nas seguintes condições de acordo com Sâmia *et al.* (2022): temperatura inicial 140 °C por 5 min, rampa de aquecimento de 4 °C min⁻¹ até 240 °C por 30 min, temperatura do injetor e detector à 260 °C, modo de injeção split 1:50, coluna SP 2560 (polybiscyanopropylsiloxane) de 100 m, diâmetro interno 0,25 mm, espessura do filme 0,20 µm, fase móvel de hélio, fluxo 20 cm s⁻¹, volume de injeção de 1 µL. O padrão utilizado foi uma mistura de 37 ésteres metílicos (Supelco 37 Component FAME Mix).

3.2.2 Análise por Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

Os espectros de IV foram adquiridos usando equipamento Nicolet iS50 FT-IR (Thermo Scientific) equipado com módulo de Refletância Total Atenuada (ATR) de diamante monolítico de reflexão única e dispositivo de alta pressão. As medidas foram realizadas no Laboratório de Análise e Caracterização de Fármacos – (LACFar), localizado na Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL-MG.

As amostras de EVOO, EPO, EVAO e os óleos vegetais (girassol, milho, soja, algodão), cada espectro gerado foi resultante da média de 64 varreduras no intervalo de 4000 a 400 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} , e submetido a subtração de fundo. As medições foram normalizadas e registradas em transmitância.

3.2.3 Análise por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT 135° foram adquiridos em espectrômetro BRUKER modelo AC-300 operando para ^1H a 300 MHz. As medidas foram realizadas no Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear, localizado na Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL-MG.

As medidas das amostras de EVOO, EPO, EVAO e os óleos vegetais (girassol, milho, soja, algodão), foram realizadas utilizando-se capilar de D_2O .

3.2.4 Termogravimetria

As curvas TG foram obtidas em um analisador termogravimétrico modelo TG/DTA Q600 (*TA instrument*). As medidas foram realizadas no Laboratório Interdisciplinar de Química – LabiQ, localizado na Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL-MG.

As amostras de EVOO, EPO, EVAO e óleo vegetais (girassol, milho, soja e algodão), foram analisadas por TG/DTA usando parâmetros de acordo com Wetten *et al.* (2015): para a atmosfera dinâmica de N_2 (vazão de 50 mL min^{-1}); razão de aquecimento de 10 $^\circ\text{C min}^{-1}$; faixa de temperatura de 40 – 600 $^\circ\text{C}$; cadinho de α -Alumina; massa aproximadamente de 15,000 mg de amostra. Para a atmosfera ar sintético (vazão de 100 mL min^{-1}); razão de aquecimento de 20 $^\circ\text{C min}^{-1}$; faixa de temperatura de 50 – 700 $^\circ\text{C}$; cadinho de α -Alumina; massa aproximadamente de 15,000 mg de amostra.

3.2.5 Calorimetria Exploratória Diferencial

As curvas DSC foram obtidas em um calorímetro modelo DSC Q20 (*TA instrument*), acoplado um sistema de resfriamento LNCS (*Liquid Nitrogen Cooling System*) com nitrogênio líquido. As medidas foram realizadas no Laboratório Interdisciplinar de Química – LabiQ, localizado na Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL-MG.

As misturas binárias de EVOO com óleo de girassol, milho e soja foram preparadas, para a realização das análises de DSC usando parâmetros de acordo com Cerretani *et al.* (2011): atmosfera dinâmica de N₂ (vazão 50 mL min⁻¹); ciclo de 30 a -80 °C e de -80 a 30 °C com razão de resfriamento e aquecimento de 5 °C min⁻¹; cadinho de alumínio e massa aproximadamente 8,0000 mg de amostra.

As misturas binárias de EPO com óleo de soja foram preparadas, e analisadas usando parâmetros: atmosfera dinâmica de N₂ (vazão 50 mL min⁻¹); ciclo de 10 a -75 °C e de -75 a 10 °C com razão de resfriamento e aquecimento de 2 °C min⁻¹; cadinho de alumínio e massa aproximadamente 25,0000 mg de amostra.

As misturas binárias de EVAO com óleo de algodão, milho e soja foram preparadas, e analisadas usando parâmetros de acordo com Yanty, Marikkar e Long (2011): atmosfera dinâmica de N₂ (vazão 50 mL min⁻¹); ciclo de 20 a -80 °C e de -80 a 20 °C com razão de resfriamento e aquecimento de 5 °C min⁻¹; cadinho de alumínio e massa aproximadamente 15,0000 mg de amostra.

3.2.6 Construção dos Modelos Multivariados

Após o processamento de normalização pelas respectivas massas iniciais, as curvas DSC das amostras de EVOO/óleos vegetais, EPO/óleo de soja e EVAO/óleos vegetais, foram exportadas no formato ASCII e os dados foram utilizados para construir os modelos multivariados. A análise dos dados de calorimetria exploratória diferencial e a construção dos modelos de calibração multivariada (iPLS e PLS) foram realizados no software Matlab R2015a (Mathworks, Natick, EUA).

3.2.6.1 Construção dos Modelos iPLS

A construção dos iPLS foi realizada, utilizando toda a curva DSC. A curva foi dividida em 20 intervalos equidistantes. Em cada curva foi realizada um pré-tratamento.

A cada intervalo foi construído um modelo PLS, que por validação cruzada identifica o intervalo de menor erro médio. Após a seleção desse intervalo, um novo modelo PLS foi calibrado e validado contendo essa faixa de variáveis selecionadas. O intervalo utilizado foi selecionado após os dados serem dispostos no software Matlab R2015a e construído os modelos. O número de variáveis latentes (Lv) foi determinado a partir do número de indicadores para o intervalo selecionado. Os métodos de pré-processamento que são possíveis na construção

dos modelos iPLS são nenhum ('none'); centralização média ('mean'); escalonamento automático ('auto'); correção de sinal multiplicativo (MSC) + centralização média ('mscmean') e MSC + escalonamento automático ('mscauto').

Todos os pré-processamento mencionados foram testados para cada modelo construído, os modelos que apresentam melhores RMSECV foram utilizados, desta maneira para a curva de EVOO/óleo de girassol foi centrado na média; para a curva de EVOO/óleo de milho não houve pré-processamento e para a curva de EVOO/óleo de soja, foi centrado na média e também feita a correção de sinais multiplicativo. Para a curva de EPO/óleo de soja foi escalonamento automático. Para a curva de EVAO/óleo de algodão foi escalonamento automático; já as curvas de EVAO/óleo de milho e EVAO/óleo de soja, foi centrado na média.

3.2.6.2 Construção dos Modelos PLS

A construção do modelo PLS do EVOO/ óleos vegetais foram realizados com a construção de dois blocos \mathbf{X} e \mathbf{y} utilizando toda a curva obtida pelo DSC, compreendendo um conjunto de \mathbf{X}_{cal} . (17 x 13152) e \mathbf{y}_{cal} . (17 x 1) e \mathbf{X}_{pred} . (4 x 13152) e \mathbf{y}_{pred} . (4 x 1) para cada adulterante. As amostras continham 21 concentrações (5 a 95%) para cada adulterante, de 30 a -80 °C e de -80 a 30 °C.

A construção do modelo PLS do EPO/ óleo de soja foi realizado a partir da construção de dois blocos \mathbf{X} e \mathbf{y} utilizando a curva de aquecimento obtida pelo DSC, compreendendo um conjunto de \mathbf{X}_{cal} . (17 x 6998) e \mathbf{y}_{cal} . (17 x 1) e \mathbf{X}_{pred} . (4 x 6998) e \mathbf{y}_{pred} . (4 x 1). As amostras continham 21 concentrações (5 a 95%) para cada adulterante, de 10 a -75 °C e de -75 a 10 °C.

A construção do modelo PLS do EVAO/ óleos vegetais foram realizados com a construção de dois blocos \mathbf{X} e \mathbf{y} utilizando toda a curva obtida pelo DSC, compreendendo um conjunto de \mathbf{X}_{cal} . (17 x 11952) e \mathbf{y}_{cal} . (17 x 1) e \mathbf{X}_{pred} . (4 x 11952) e \mathbf{y}_{pred} . (4 x 1) para cada adulterante. As amostras continham 21 concentrações (5 a 95%) para cada adulterante, de 20 a -80 °C e de -80 a 20 °C.

Para eliminar a influência na variação de massa das amostras, as curvas foram normalizadas pelas respectivas massas iniciais. Os dados foram pré-processados, normalizados pelos respectivos desvios padrão e média centralizada. As concentrações de calibração e predição foram selecionadas aleatoriamente através do próprio programa.

As quantidades de adulterante para cada vetor de resposta foram centradas na média e também feita a correção de sinal multiplicativo. O número de variáveis latentes foi determinado por validação cruzada usando o método de exclusão.

3.2.7 Construção da Curva de Calibração Univariada

Para a construção da curva de calibração univariada foram utilizados os dados obtidos através das curvas de DSC. Após a normalização das massas, as curvas foram construídas utilizando os dados de T_{onset} . Foi utilizada faixa de concentração que obteve a melhor linearidade.

Para as misturas EVOO/óleos vegetais foram usados os eventos de cristalização do EVOO. Assim a mistura EVOO/óleo de girassol utilizou de 30 a 80%, a mistura com milho e com soja, de 10 a 65%.

Para as misturas EPO/óleo de soja, a curva foi construída utilizando o evento de fusão do EPO. Assim a mistura EPO/óleo de soja, de 15 a 80%.

Para as misturas EVAO/óleos vegetais foram usados os eventos de fusão para EVAO/óleo de algodão e os eventos de cristalização para EVAO/óleo de milho e EVAO/óleo de soja. Assim a mistura EVAO/óleo de algodão utilizou de 15 a 95%, a mistura com milho de 5 a 95% e com soja, de 5 a 90%.

3.2.7.1 Método *Spiking*

Para a curva de calibração a partir do método de *Spiking* foram feitas seis concentrações de óleo composto/ EVOO e seis de óleo de soja/EVOO de 0 – 50% (m/m). As análises foram realizadas em DSC nas mesmas condições descritas para EVOO. Através dos dados de T_{onset} do evento de cristalização do EVOO, das curvas de DSC do óleo composto/EVOO e óleo soja/EVOO, a curva foi construída.

Este procedimento foi proposto com o intuito de analisar se o valor de T_{onset} do evento de cristalização do EVOO, era capaz de dosar amostras reais.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nessa seção serão apresentados os resultados para cada óleos empregados nesse estudo, EVOO, EPO, EVAO e óleo vegetais (girassol, milho, soja e algodão). Foram utilizadas as técnicas de cromatografia gasosa (CG), espectroscópicas na região do infravermelho (IV) e de ressonância magnética nuclear (RMN) e termogravimetria (TG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC), em particular a DSC juntamente com os modelos quimiométricos (iPLS e PLS) e modelos univariados (Calibração Externa e Método *Spiking*) foram utilizados para quantificação dos adulterantes.

4.1 CROMATOGRAFIA GASOSA

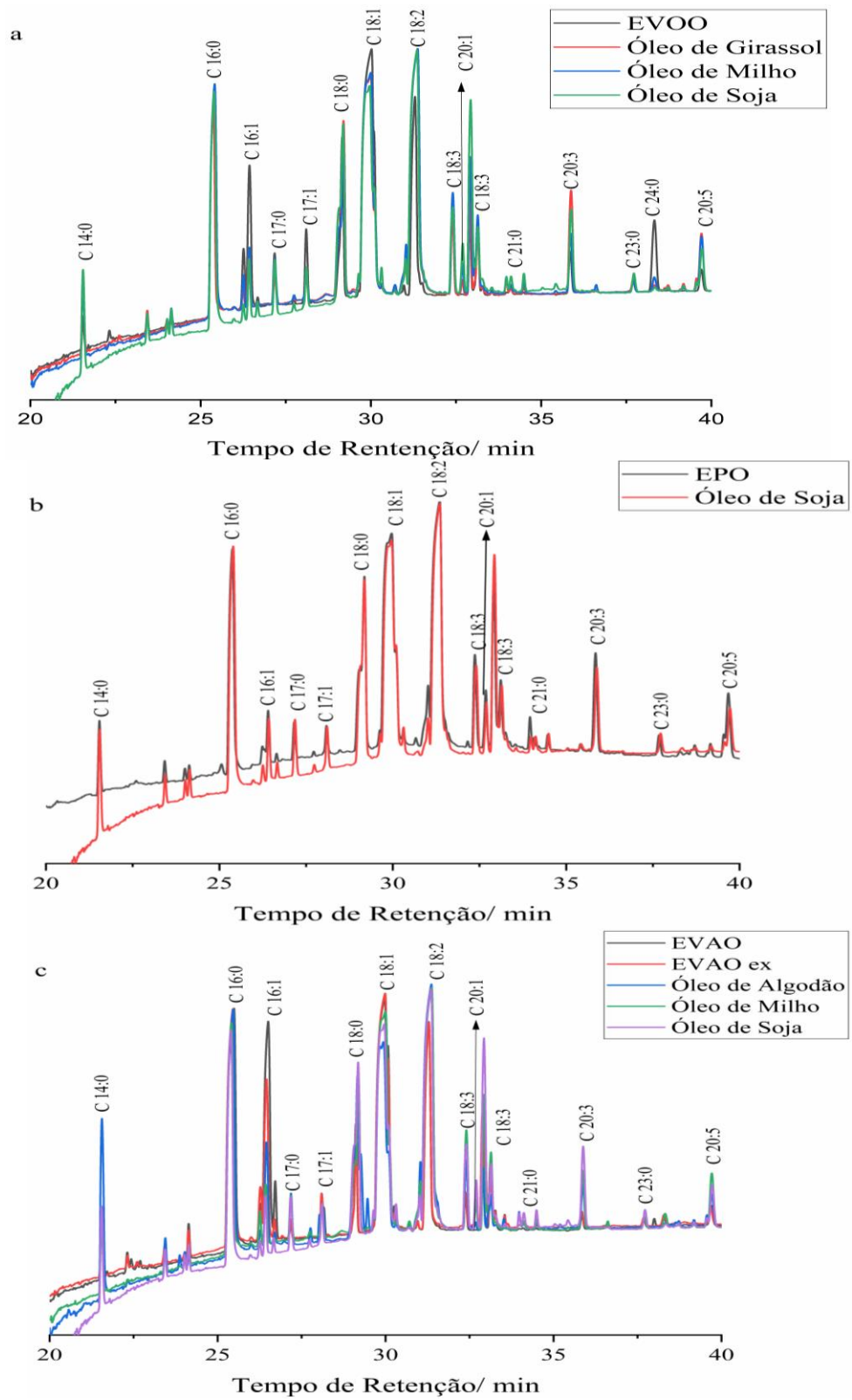
De acordo com Xue *et al.* (2023), os óleos são constituídos principalmente triglicerídeos de ácidos graxos. A composição de ácidos graxos desses óleos influencia nos valores nutricionais para a saúde humana. Esses ácidos podem ser classificados pelas saturações, assim podem ser divididos em ácidos graxos saturados (SFA), ácidos graxos monoinsaturados (MUFA) e ácidos graxos poliinsaturados (PUFA). Esta é a razão pela qual os ácidos graxos são selecionados como índices de qualidade dos óleos comestíveis. Os ácidos graxos palmítico, esteárico, oleico, linoleico e linolênico são os importantes ácidos dos óleos vegetais, no quais são benefícios para a saúde.

A Figura 7, mostram os cromatogramas gasoso das amostras de EVOO, EPO, EVAO, EVAO ex. e os óleos vegetais (girassol, milho, soja e algodão).

Os teores dos ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) presentes nas amostras estão dispostos na Tabela 5. As concentrações dos FAMEs foram obtidas a partir da comparação dos tempos de retenção com os padrões previamente analisados. Foi calculada a porcentagem de área de cada pico dos ácidos graxos em relação a área total sob os picos, de modo que, os óleos foram caracterizados com base em sua composição de ácidos graxos.

É conhecido que há uma diferença na composição no teor de ácidos graxos entre os óleos investigados, devido ao cultivo, maturação, altitude, clima e vários outros fatores (INMETRO, 2015).

Figura 7 – Cromatograma Gasoso das amostras



Fonte: Autor.

Legenda: a) EVOO;

b) EPO;

c) EVAO.

Tabela 5- Concentração dos Ésteres Metílicos de Ácido Graxos dos óleos

Ácido Graxo	Nomenclatura	% (g/100g)							
		<i>EVOO</i>	<i>EPO</i>	<i>EVAO</i>	<i>EVAO ex.</i>	<i>Girassol</i>	<i>Milho</i>	<i>Soja</i>	<i>Algodão</i>
14:0	Mirístico	ND	0,08	0,04	0,04	0,05	ND	0,06	0,63
16:0	Palmítico	14,14	10,28	24,31	24,02	5,86	11,69	10,26	21,94
16:1	Palmitoleico	1,30	0,13	13,69	2,59	0,09	0,13	0,10	0,41
17:0	Heptadecanóico	0,09	0,07	ND	ND	0,04	0,07	0,08	0,07
17:1	Heptadecenóico	0,19	0,06	0,09	0,07	ND	0,04	0,06	0,09
18:0	Estearíco	2,23	4,40	0,51	0,55	3,62	2,11	3,69	2,49
18:1	Oleico	70,70	12,95	47,72	57,92	36,72	35,95	28,15	16,39
18:2	Linoleico	9,52	65,50	12,59	13,52	51,77	47,84	50,21	56,66
18:3	Linolênico	0,61	5,16	0,06	0,07	0,79	1,87	6,75	0,25
20:1	Eicosenóico	0,58	0,18	0,81	1,02	ND	ND	0,09	ND
20:3	Eicosatrienóico	0,11	0,68	ND	ND	0,66	0,17	0,41	0,11
20:5	Eicosapentaenóico	0,05	0,30	0,05	0,04	0,24	0,19	ND	0,11
21:0	Heneicosanóico	ND	0,08	ND	ND	ND	ND	ND	ND
23:0	Tricosanóico	ND	0,05	ND	ND	ND	ND	0,04	ND
24:0	Lignocérico	0,40	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Fonte: Autor.

Nota: ND – Não detectado, definido como 0,04%.

Alguns ácidos estão presentes em maiores concentrações, tais como: ácido palmítico, oleico e linoleico, que são os que integra a maior porção dos ácidos presente. Outros ácidos em menor proporção foram identificados em alguns óleos, são estes: mirístico, heptadecanóico, linolênico e eicosapentaenóico.

Rodríguez-Carpena, Mourcuende e Estévez (2012), determinaram a composição de ácido graxo de óleo de oliva, óleo de abacate e óleo de girassol detectando 18 ácidos graxos, sendo que os ácidos: mirístico (0,06, 0,00 e 0,06%), palmítico (9,62, 12,87 e 6,48%), palmitoléico (0,66, 3,86 e 0,11%), heptadecanóico (0,06, 0,03 e 0,04%), heptadecenóico (0,10, 0,07 e 0,03%), esteárico (2,95, 1,45 e 3,62%), oleico (76,83, 57,44 e 24,70%), linoleico (5,39, 18,70 e 61,99%), linolênico (0,60, 0,92 e 0,28%), araquídico (0,56, 0,31 e 0,42%), eicosenóico (0,38, 0,31 e 0,24%), eicosadienóico (0,03, 0,10 e 0,14%), heneicosanóico (0,00, 0,04 e 0,00%), araquidônico (0,00, 0,09 e 0,00%), behênico (0,15, 0,16 e 0,67%), erúcido (0,00, 0,04 e 0,08%) e lignocérico (0,04, 0,11 e 0,14%), respectivamente.

Cicero *et al.* (2018), caracterizaram por meio da CG diversos óleos obtidos por prensagem a frio disponíveis no mercado brasileiro. Sendo esses óleos de oliva, pequi, palma, abacate, castanha do Pará, uva e canola. Os resultados obtidos para os óleos de oliva e abacate mostram que os ácidos detectados foram: ácido palmítico (13,45 e 14,21%), palmitoléico (2,04 e 7,06%), heptadecanóico (0,14 e 0,01%), heptadecenóico (0,32 e 0,08%), esteárico (2,13 e 2,15%), oleico (67,91 e 59,46%), linoleico (11,72 e 14,66%), linolênico (1,01 e 1,30%), araquídico (0,91 e 0,41%), eicosenóico (0,27 e 0,51%), behênico (0,09 e 0,08%) e lignocérico (0,01 e 0,06%), respectivamente.

Yang *et al.* (2013), determinaram através da CG, a composição de ácidos graxos de EVOO e de óleos vegetais, como: óleo de milho e girassol. Os autores detectaram os principais ácidos: palmítico (1,2046, 1,5218 e 0,6897), esteárico (0,3239, 0,205 e 0,5253), oleico (4,0339, 1,6202 e 1,2163), linoleico (0,2909, 2,7993 e 3,3801), linolênico (0,0364, 0,0394 e 0,0085), respectivamente.

Silveira *et al.* (2017), determinaram através da CG, a composição de ácido graxo de EVOO e do óleo de soja. Os autores detectaram os seguintes ácidos: palmítico (7,89 e 11,23%), palmitoléico (0,32 e 0,01%), heptadecanóico (0,05 e 0,09%), heptadecenóico (0,05 e 0,05%), esteárico (0,05 e 4,86%), oleico (82,54 e 26,25%), linoleico (5,08 e 48,57%), linolênico (0,54 e 3,80%), araquídico (0,28 e 0,36%) e lignocérico (0,22 e 0,01%), respectivamente.

Jafari, Kadivar e Keramat (2009), determinaram através da CG, a composição de ácidos graxos de EVOO e de óleos vegetais, como: óleo de soja, girassol e canola. Os autores detectaram os seguintes ácidos: palmítico (8,79, 10,89, 5,02 e 5,88%), esteárico (2,08, 4,29,

1,87, 2,77%), oleico (69,44, 28,63, 50,87, 26,11%), linoleico (7,21, 44,72, 23,19, 60,12%), linolênico (1,35, 7,4, 7,0, 0,68%), respectivamente. Os autores relatam que uma forma de identificar adulteração em óleo extra virgem através da técnica é a identificação do nível de ácido linolênico, quando se tem um alto nível desse ácido graxo na composição dos azeites é um indicativo da adição de óleos de sementes.

Vergara-Barberán *et al.* (2011), determinaram a composição de ácidos graxos de óleos vegetais a partir da técnica de eletroforese capilar com detector de ultravioleta (EC-UV), onde os óleos analisados foram: EVOO, abacate, milho e soja. Os autores detectaram os seguintes ácidos: palmítico (11,90, 19,80, 10,80 e 6,80%), esteárico (2,20, 1,20, 2,30 e 4,80%), oleico (71,70, 55,70, 25,10 e 19,20%), linoleico (14,30, 16,30, 61,00 e 68,10%), linolênico (0,80, 0,90, 0,80 e 1,10%), respectivamente.

Eskin (2008), determinou a composição de ácido graxo do EPO, os resultados obtidos mostram que a composição são: palmítico 5,8%; esteárico 2,8%; oleico 6,6%; linoleico 71,6%, γ -linolênico 12,6%, α -linolênico 0,2% e araquídico 0,3%, esses ácidos linoleicos e γ -linolênico são importantes para a saúde humana como citados anteriormente.

Pan *et al.* (2022), determinaram a composição de ácido graxo do EPO através da CG, detectando 19 ácidos graxos, sendo que os ácidos palmíticos (8,25%), esteárico (2,39%), oleico (5,20%), linoleico (66,95%) e γ -linolênico (12,31%) foram os que apresentaram maior proporção, mas também foram detectados ácidos em menor proporção tais como: ácidos palmitoléico, eicosatrienóico, erúico, tricosanóico, lignocérico.

Zhao *et al.* (2019), determinaram a composição de ácido graxo do EPO através da CG, detectando 6 ácidos graxos, sendo que os ácidos palmíticos (6,75%), esteárico (1,90%), oleico (7,19%), linoleico (73,06%), γ -linolênico (10,01%) e eicosenóico (1,09%).

Paciorek-Sadowska *et al.* (2018), determinaram a composição de ácido graxo do EPO por meio da CG, detectando 12 ácidos graxos, sendo que os ácidos: palmítico (5,32%), palmitoléico (0,08%), esteárico (1,55%), oleico (14,19%), vacênico (1,50%), linoleico (67,15%), araquídico (0,30%), octadecátrico (7,32%), eicosenóico (1,56%), α -linolênico (0,73%), behênico (0,13%) e erúico (0,16%).

Amorim *et al.* (2019), determinaram e comparou a composição dos principais ácidos graxos do EPO e abacate por CE e CG. Os autores encontraram para o EPO o palmítico (12,23 e 10,50%), esteárico (5,40 e 3,70%), oleico (29,02 e 26,38%), linoleico (64,98 e 50,50%) e linolênico (9,73 e 8,92%) para o abacate o palmítico (7,81 e 7,54%), esteárico (3,95 e 2,82%), oleico (47,26 e 49,42%), linoleico (38,54 e 36,66%) e linolênico (4,56 e 3,56%),

respectivamente. Segundos os autores o método de EC apresentou tempo de análise inferior a 9 min, sendo considerado um método exato, preciso e mais simples que o método clássico CG.

Prescha *et al.* (2014), determinaram por meio de CG a composição de EVAO, sendo detectados os seguintes ácidos: mirístico (0,10%), palmítico (17,50%), palmitoléico (8,10%), heptadecanóico (0,60%), esteárico (0,70%), oleico (61,00%), linoleico (10,50%), linolênico (0,80%), araquídico (0,10%) e eicosenóico (0,30%).

Flores *et al.* (2014), determinaram por meio de CG a composição de EVAO, sendo detectados os seguintes ácidos: palmítico (12,79%), palmitoléico (3,34%), esteárico (0,98%), oleico (67,69%), linoleico (13,54%), linolênico (1,21%), araquídico (0,18%) e eicosenóico (0,28%).

Green e Wang (2023), determinaram por meio de CG a composição de EVAO, sendo detectados os seguintes ácidos: mirístico (0,03 – 0,11%), palmítico (9,90 – 23,19%), palmitoléico (3,32 – 10,03%), heptadecanóico (\leq 0,09%), heptadecenóico (0,08 – 0,11%), esteárico (0,29 – 0,68%), oleico (49,74 – 71,41%), linoleico (9,25 – 22,46%), linolênico (0,94 – 1,53%), araquídico (0,08 – 0,17%), eicosenóico (0,17 – 0,23%) e behênico (\leq 0,08%).

Rueda *et al.* (2014), determinaram através da CG a composição de óleo de oliva e abacate e alguns óleos vegetais (girassol e soja), sendo detectados os seguintes ácidos: mirístico (ND, 0,14, 0,05 e 0,06%), palmítico (13,60, 16,30, 4,98 e 9,17%), palmitoléico (0,50, 4,59, 0,10 e 0,08%), heptadecanóico (ND, 0,34, 0,04 e 0,08%), esteárico (3,28, 1,50, 3,24 e 3,81%), oleico (75,40, 60,61, 53,11 e 24,44%), linoleico (5,50, 14,70, 37,80 e 54,00%), linolênico (0,78, 0,73, 0,28 e 8,03%), eicosenóico (0,42, 0,09, 0,04 e ND%), behênico (ND, 0,11, 0,03 e 0,05%) e lignocérico (0,03, 0,50, 0,22 e 0,24%), respectivamente.

Manaf *et al.* (2019), determinaram os ácidos graxos do óleo de abacate da Indonésia, observando variações de 21,69 a 55,64% para o ácido graxo oleico, um forte contraste com as amostras neste estudo e com os padrões propostos pelo Codex Alimentarius. Isso destaca por que é necessário avaliar a importância de algumas dessas variáveis naturais e analisar óleos de novas regiões, cultivares etc.

Xing *et al.* (2019), determinaram a composição de alguns óleos através da CG, esses óleos foram de gergelim, canola, soja, girassol e milho. Os resultados obtidos para os óleos de soja, girassol e milho foram que ambos apresentam maior proporção de ácido graxos referente ao linoleico na faixa de (49,94 – 56,44%, 52,28 – 62,30% e 51,31 – 56,02%), a segunda maior porção é de ácido oleico (17,70 – 25,64%, 24,61 – 35,87% e 28,39 – 31,68%) respectivamente. Os óleos de soja e milho apresentam concentrações elevadas de ácido palmítico. O óleo de soja também apresentou concentração de ácido linolênico na faixa de (5,81 – 10,55%).

Salas *et al.* (2014), determinaram a composição de ácido graxo do óleo de girassol. Os autores detectaram os seguintes ácidos: palmítico (3 - 5%), esteárico (2 - 3%), oleico (30 - 50%), linoleico (40 - 60%), araquídico (0,5 - 1%) e behênico (0,5 - 1,5%).

Rezanka e Rezankova (1999), determinação a composição de vários óleos através da CG, sendo esses óleos de oliva, girassol, milho, soja e algodão. Os resultados obtidos para esses óleos foram: mirístico (0,0, 0,1, 0,2, 0,0 e 0,8%), palmítico (10,2, 5,5, 13,0, 11,6 e 27,3%), palmitoléico (0,7, 0,1, 0,0, 0,3 e 0,8%), esteárico (2,5, 4,7, 2,5, 4,2 e 2,0%), oleico (78,1, 19,5, 30,5, 21,6 e 18,3%), linoleico (7,1, 68,5, 52,1, 53,7 e 50,5%), linolênico (0,6, 0,1, 1,0, 7,5 e 0,0%), araquídico (0,5, 0,3, 0,5, 0,8 e 0,3%), eicosenóico (0,3, 0,1, 0,2, 0,3 e 0,0%), behênico (0,0, 0,9, 0,0, 0,0 e 0,0%) e lignocérico (0,0, 0,2, 0,0, 0,0 e 0,0%), respectivamente.

Os resultados obtidos neste trabalho estão dentro dos padrões estabelecidos pelos órgãos de fiscalização tais como MAPA, ANVISA e Codex Alimentarius, que estão citados nas tabelas de 1 a 4. Os autores supracitados corroboram com estes resultados determinados, entretanto podem apresentar variações na faixa de concentração dos teores de ácidos graxos, devido a fatores que já foram citados anteriormente.

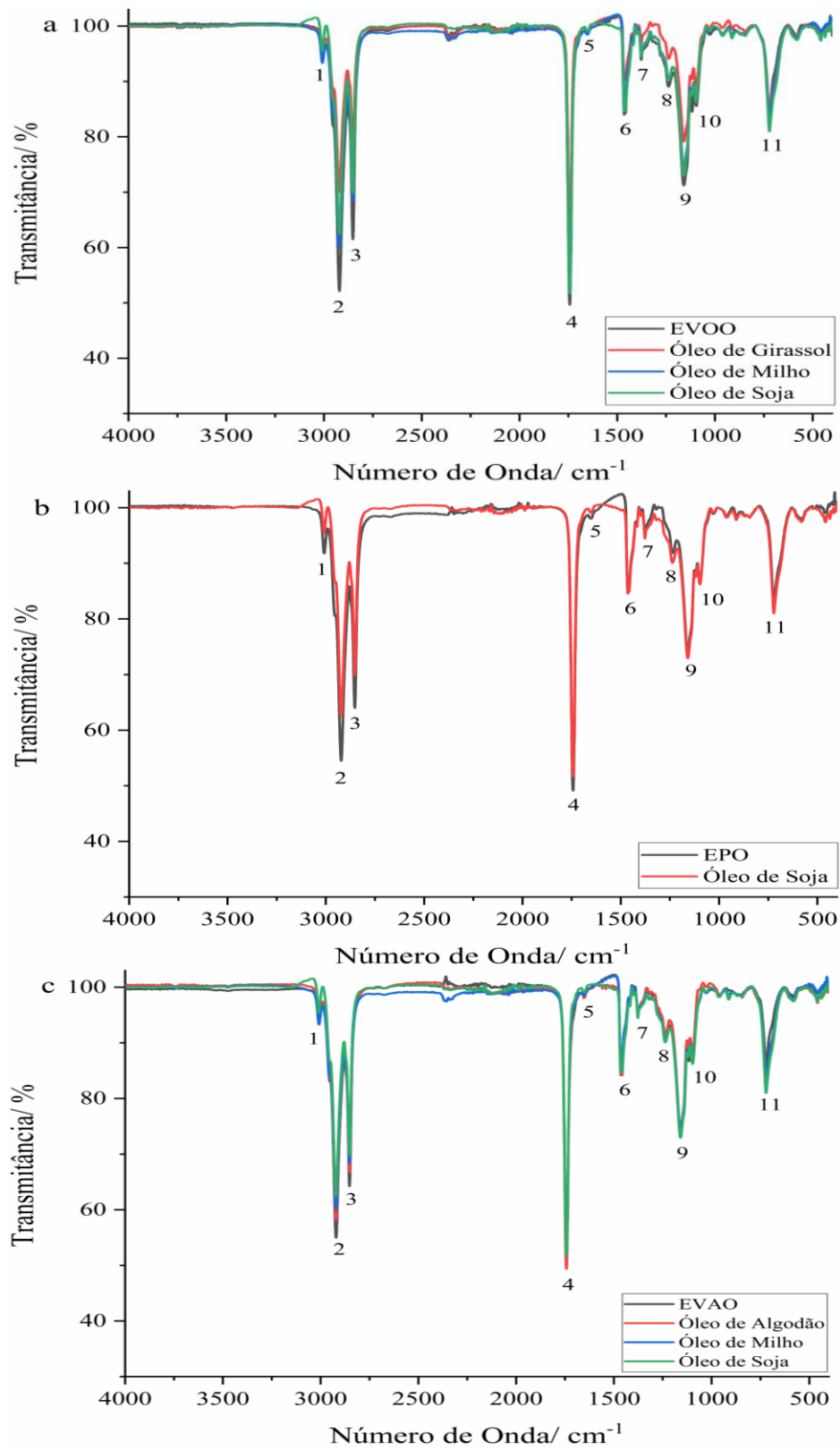
4.2 TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS

4.2.1 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

De acordo com Rohman e Che Man (2010), a espectroscopia IV é importante na identificação de estruturas moleculares, devido ao grande número de informações que são obtidas e da possibilidade de atribuição de certas bandas de transmitância relacionadas aos grupos funcionais.

A Figura 8, mostra os espectros de IV das amostras de EVOO, EPO, EVAO e os óleos vegetais (girassol, milho, soja e algodão). Ambos os espectros apresentam semelhanças nas bandas características, na posição e na forma, isso ocorre devido à composição química semelhante referente aos ácidos graxos e dos triglicerídeos. Os grupos funcionais e seus respectivos números de onda estão detalhados na Tabela 6.

Figura 8 - Espectro na região do infravermelho das amostras



Fonte: Autor.

Legenda: a) EVOO;

b) EPO;

c) EVAO.

Tabela 6 - Número de onda, grupo funcional e modo vibracional no espectro FT-IR dos óleos

<i>Número de identificação</i>	<i>Número de onda cm⁻¹</i>	<i>Grupo funcional</i>	<i>Modo vibracional</i>
1	3006	=C-H (cis)	Estiramento
2	2921	—CH-(CH ₃)	Estiramento axial assimétrico
3	2851	—CH-(CH ₂)	Estiramento axial simétrico
4	1743	—C=O	Estiramento axial assimétrico
5	1653	—C=C—	Deformação axial
6	1464	—CH-(CH ₃)	Deformação angular
7	1376	—CH-(CH ₂)	Deformação angular
8	1238	—CH ₂ —	Estiramento axial assimétrico
9	1161	—C—O (éster)	Estiramento axial assimétrico
10	1097	—C—O	Estiramento axial simétrico
11	723	—(CH ₂) _n —, —HC=CH—	Deformação angular assimétrica no plano

Fonte: Autor.

Diversos trabalhos utilizando a IV para identificação das bandas dos óleos estão disponíveis na literatura. Rohman e Che Man (2012), discorrem que esses espectros são semelhantes e mostraram uma característica típica nas bandas de transmitância para os ácidos graxos e triglicerídeo que são os componentes principais das gorduras e óleos comestíveis.

As Bandas atribuída a vibração estiramento axial de grupo C-H. As vibrações de ligações dos grupos metileno (—CH₂—) e metil (—CH₃) podem ser observadas em números de onda de 3030 - 2853 cm⁻¹ que são atribuídas a vibração de estiramento axial assimétrico e simétrico, respectivamente. Na região em torno de 1740 cm⁻¹ é devido à vibração de estiramento da ligação dupla (C=O). Bandas fraca em 1654 cm⁻¹ atribuída a vibração de estiramento de grupo C-O. Na região da impressão digital em 1465 – 1379 cm⁻¹ surgem da vibração estiramento em tesoura CH₂ e CH₃ dos grupos éteres, enquanto aquelas em torno 1163 – 1034 cm⁻¹ estão associadas à vibração de estiramento C-O. Um pequeno pico em 723 cm⁻¹ corresponde a deformação angular assimétrica no plano de grupamento CH₂. Grupos de metileno e metil também são observados em 1465 cm⁻¹ e 1377 cm⁻¹ devido às suas vibrações de deformação angular. Deformação axial e estiramento de grupo C-H e vibração de estiramento de grupo C-O resultam em picos na região de 1500 cm⁻¹ e por último em 723 cm⁻¹ deformação angular assimétrica no plano de CH₂ (Rohman e Che Man, 2012; Islas *et al.*, 2013;

Lumakso *et al.*, 2015; Sun *et al.*, 2015; Squeo *et al.*, 2019; Uncu, Ozen e Tokatli 2019; Santana *et al.*, 2019; Pan *et al.* 2022).

Lumakso *et al.* (2015), relatam a observação de banda relacionada a estiramento vibracional de grupo -OH em 3468 cm^{-1} característico do β -sitosterol para o óleo de abacate, enquanto os óleos de milho e soja não apresentaram vibrações nesse número de onda.

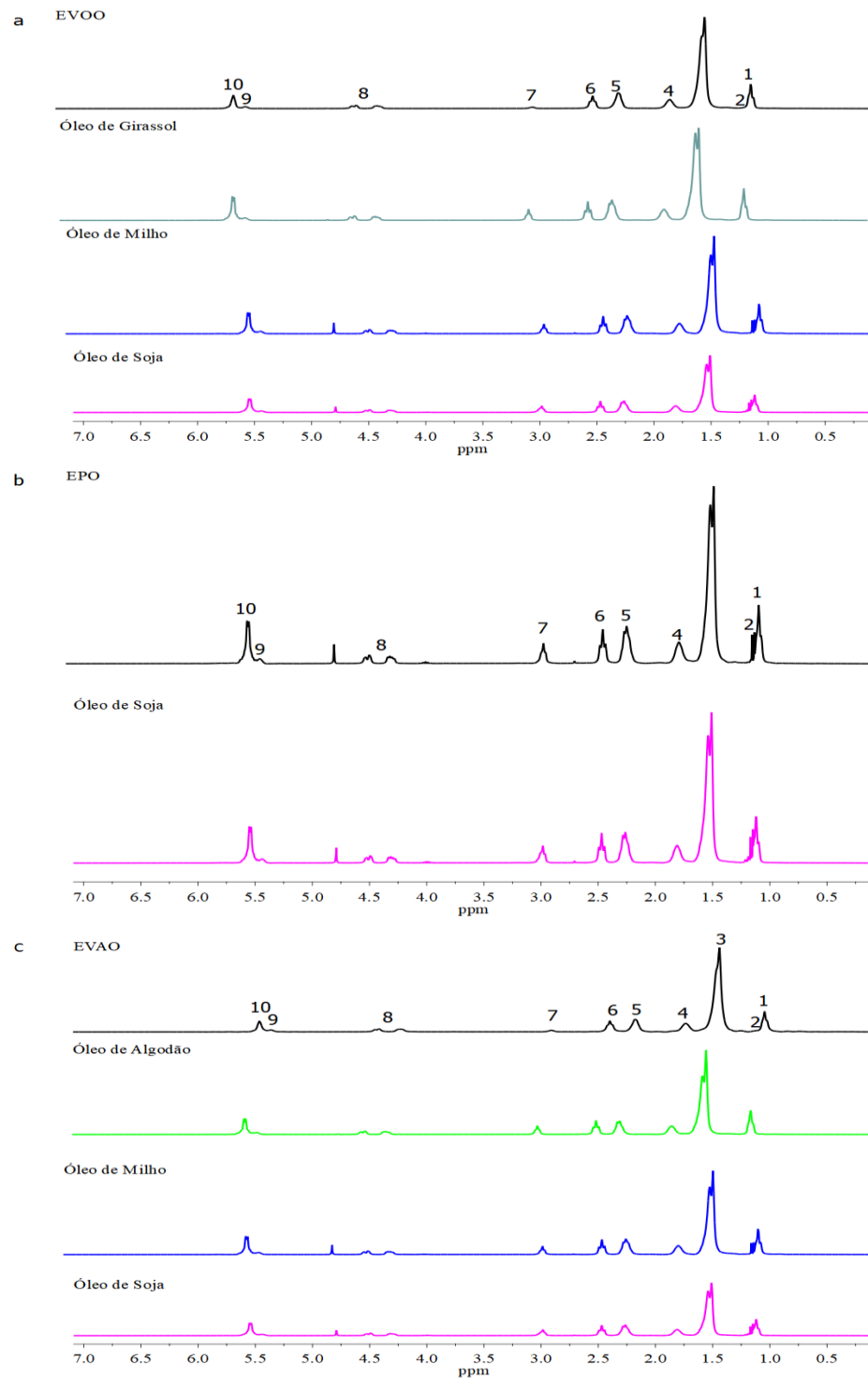
Os resultados obtidos pela espectroscopia na região do infravermelho, mostrou-se que pelos óleos apresentarem semelhanças na posição das bandas e na intensidade detectada devido a composição de ácido graxos presente na amostra, assim dificultando a diferenciação dos mesmos. Segundo Sun e coautores (2015), esta semelhança está relacionada com a presença dos principais ácidos graxos insaturados, tais como: ácido oleico e linoleico que são comuns aos óleos vegetais.

4.2.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Conforme demonstrado, tanto os espectros RMN de próton (FIGURA 9), os espectros RMN de ^{13}C (FIGURA 10) e RMN de ^{13}C DEPT 135 (FIGURA 11) para o EVOO, EPO, EVAO e os óleos vegetais (girassol, milho, soja e algodão), os óleos apresentam semelhanças entre si relacionado aos seus deslocamentos químicos, para ^1H (região de 0 – 7,0 ppm), e ^{13}C (região de 0 – 200 ppm). Esta sobreposição dos sinais ocorre devidos às semelhanças na composição química em termos de composição de ácidos graxos livres ou como ésteres de glicerídeos. Devido a isso não é possível discriminar por completo a composição unitária do ácido graxo presente.

Nos espectros de RMN de próton (FIGURA 9), foi possível observar sinais nos deslocamentos químicos entre o 0,90 – 2,25 ppm que são atribuídos aos átomos de hidrogênio que estão ligados a carbono sp^3 de grupos metil e de metilenos. Na região entre 2,25 – 4,40 ppm, são observados sinais característicos de átomos de hidrogênios ligados a carbono sp^3 que estão funcionalizados próximos de duplas ligações e/ou heteroátomos. Em 4,70 ppm é atribuído ao sinal do solvente HDO. Na região próximo ao 5,25 ppm estão presentes os sinais de átomos de hidrogênios ligados a carbono do tipo sp^2 . Os prótons com seus grupos atribuídos e seus respectivos deslocamentos químico estão detalhados na Tabela 7.

Figura 9 - Espectro de RMN de próton das amostras



Fonte: Autor.

Legenda: a) EVOO;

b) EPO;

c) EVAO.

Tabela 7 - Deslocamentos Químicos e Atribuições dos Sinais no espectro RMN de próton dos óleos

Número de identificação	δ	Próton	Grupo atribuído
1	1,12	$\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$	Todos os ácidos graxos exceto linolênico
2	1,18	$\text{CH=CH-CH}_2\text{-CH}_3$	ácidos graxos linolênico
3	1,52	$\text{CH}_2\text{-CH(OH)}$	Todos da cadeia acila
4	1,81	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-COOH}$	Todos da cadeia acila
5	2,27	$\text{CH}_2\text{-CH=CH}$	Todos os ácidos graxos insaturados
6	2,47	$\text{CH}_2\text{-COOH}$	Todos da cadeia acila
7	2,98	$\text{CH=CH-CH}_2\text{-CH=CH}_2$	Ácido linolênico e linoleico
8	4,40	$\text{CH}_2\text{-OCOR}$	Glicerol
9	5,43	CH-OCOR	Glicerol
10	5,54	CH=CH	Todos os ácidos graxos insaturado

Fonte: Autor.

De acordo com Popescu *et al.* (2015), em seu trabalho os deslocamentos químicos de próton observados para o EVOO ocorrem em: $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$ ($\delta = 0,88$ ppm); $(\text{CH}_2)_n$ ($\delta = 1,26 - 1,30$ ppm); $\text{CH}_2\text{-CH(OH)}$ ($\delta = 1,46$ ppm); $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-COOH}$ ($\delta = 1,60$ ppm); $\text{CH}_2\text{-CH=CH}$ ($\delta = 2,02$ ppm); $\text{CH(OH)-CH}_2\text{-CH=CH}_2$ ($\delta = 2,20$ ppm); $\text{CH}_2\text{-COOH}$ ($\delta = 2,31$ ppm); $\text{CH=CH-CH}_2\text{-CH=CH}_2$ ($\delta = 2,76$ ppm); CH-OH ($\delta = 3,60$ ppm); $\text{CH}_2\text{-OCOR}$ (CHa: $\delta = 4,14$ ppm; CHa': $\delta = 4,30$ ppm); CH-OCOR ($\delta = 5,26$ ppm); $(\text{OH})\text{CH-CH}_2\text{-CH=CH}$ ($\delta = 5,38$ ppm); $(\text{OH})\text{CH-CH}_2\text{-CH=CH}$ ($\delta = 5,54$ ppm); CH=CH ($\delta = 5,34$ ppm).

De acordo com Jafari, Kadivar e Keramat (2009), os sinais dos deslocamentos das amostras de óleos são similares, na região próximo ao 5,25 ppm onde são característicos de átomos de hidrogênio ligados a carbono tipo sp^2 pode se evidenciar que os óleos vegetais apresentam maior intensidade quando comparado ao azeite, uma vez que é sabido da presença de duas insaturações no esqueleto do triacilglicerol dos óleos vegetais. Na região entre 2,75 ppm, são observados sinais característicos de átomos de hidrogênios ligados a carbono sp^3 que estão funcionalizados próximos de duplas ligações, sendo que os óleos vegetais por apresentarem maior quantidade de ácido linoleico (prótons metilênicos na posição a em relação às duas ligações duplas) apresentam maior intensidade nessa região, os únicos ácidos graxos presentes nesses óleos que possuem esse grupo de prótons são os ácidos linolênico e linoleico. Os deslocamentos químicos observados nos sinais neste estudo foram ligeiramente diferentes

daqueles observado pelos autores, essa diferença pode estar relacionada ao tipo de solvente utilizado e outras condições instrumentais.

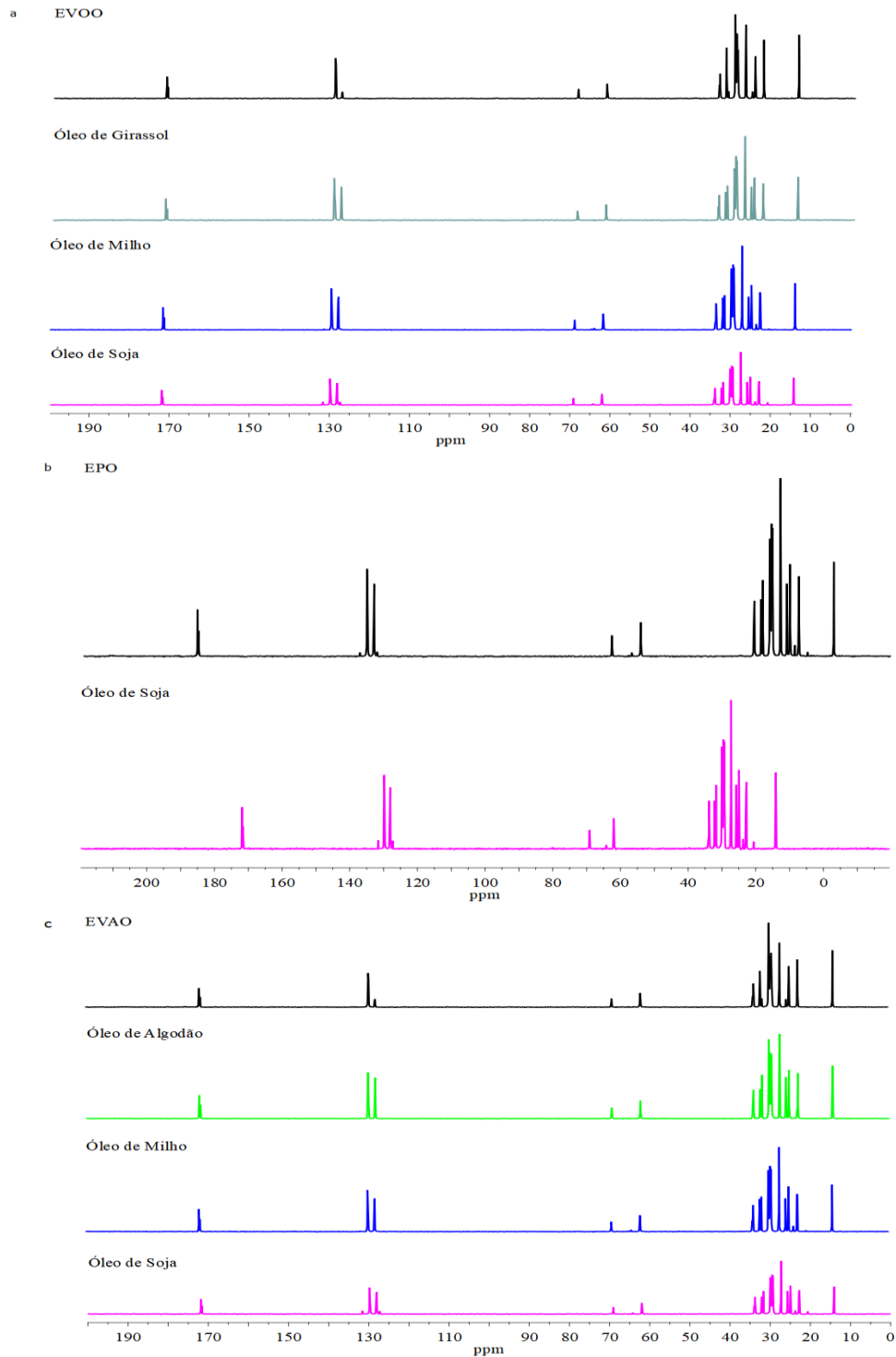
Os sinais do espectro de RMN de próton dos triacilglicerídeos dos principais componentes do azeite de oliva, são bem conhecidos. Os triacilglicerídeos apresentam diferentes padrões de substituição dependendo do comprimento, grau e tipo de insaturação dos grupos acila. Componentes em menores quantidades são observados apenas por RMN de próton quando seus sinais não estão sobrepostos aos dos componentes principais e suas concentrações são altas o suficiente para serem detectadas (Alonso-Salces *et al.*, 2021). Para esses constituintes minoritários espera-se que produzam sinais de RMN tais como: mono e diglicerídeos, esteróis, tocoferóis, álcoois alifáticos, hidrocarbonetos, ácidos graxos, pigmentos e compostos fenólicos (Lia *et al.*, 2020). As ressonâncias de prótons são explicadas em termos dos efeitos de desblindagem de longo alcance que são produzidos pelos grupos funcionais de ácidos graxos *cis* insaturados e/ou ésteres, ou seja, ligações duplas e grupos carboxílicos, sobre metilenos até cinco ou seis carbonos distantes dos grupos funcionais (Alonso-Salces *et al.*, 2021).

De acordo com Özdemir *et al.* (2018), os compostos fenólicos e suas formas aldeídicas são de difícil detecção em experimentos padrão de RMN de próton, seus deslocamentos químicos estão em uma região espectral de 5,60 – 10,00 ppm. Esses compostos são importantes, pois são conhecidos por estarem intimamente relacionados com a qualidade organoléptica.

Segundo Dais e Hatzakis (2013), os espectros de ^{13}C podem parecer mais complicados, mas apresentam maiores informações estruturais quando comparado aos espectros de RMN de próton, que se estende a uma região mais estreita de alguns ppm.

As principais atribuições nos espectros de RMN de ^{13}C , disposto na Figura 10, são pertencentes as moléculas dos triacilgliceróis, onde são agrupadas em quatro conjuntos de sinais. A região entre 10,00 – 35,00 ppm apresentam deslocamentos dos átomos de carbonos que estão mais blindados, característicos de grupos alifáticos sp^3 de grupos metil e metileno. Na região entre 60,00 – 72,00 ppm são atribuídos os átomos de carbonos carbinólicos referentes ao glicerol de monocilgliceróis, diacilgliceróis e triacilgliceróis. Na região entre 124,00 – 134,00 ppm são observados os átomos de carbonos insaturados sp^2 devido a presença de ligações duplas. Os átomos de carbonos do grupo carboxílicos referentes a cadeia dos ácidos graxos são mais desblindados e são observados na região de 172,00 – 174,00 ppm.

Figura 10 - Espectro de RMN ^{13}C das amostras



Fonte: Autor.

Legenda: a) EVOO;

b) EPO;

c) EVAO.

É possível observar na região entre 124,00 – 134,00 ppm a diferenciação entre os óleos extra virgens e o óleos vegetais, para o extra virgens é conhecido que sua maior porção de ácido

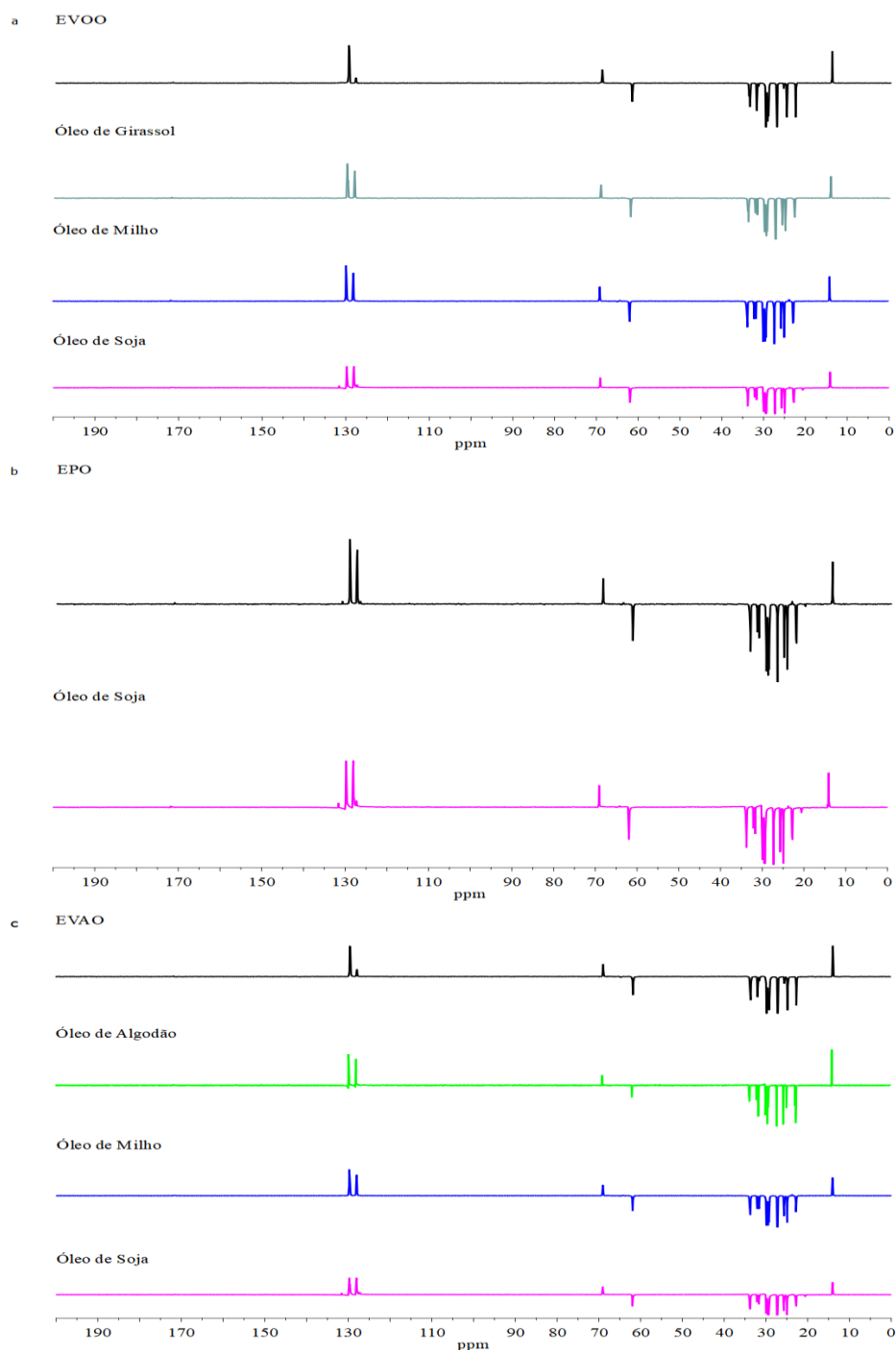
graxo oleio no qual apresenta uma insaturação, já os vegetais sua maior porção de linoleico que apresentam duas duplas ligações.

De acordo com Popescu *et al.* (2015), em seu trabalho os deslocamentos químicos para o RMN de ^{13}C para EVOO se sobrepõe, assim é difícil a discriminação completa de componentes de ácido graxo, como é o caso dos grupos metil, metileno e etileno (na faixa de 14, 20, 25, 29 e 34 ppm). Se o núcleo é vizinho ou faz parte de um grupo químico insaturado (etileno) ou de um grupo químico contendo oxigênio (por exemplo, carboxila ou éster), esse núcleo pode ser atribuído a um determinado ácido graxo ou a uma posição na molécula, como os sinais de 31, 62, 68, 127 e 173 ppm.

Segundo Vlahov (2006) e Garcia *et al.* (2019), os deslocamentos químicos no RMN de ^{13}C para EVOO, observaram na região de 172,00 – 174,00 ppm pertencente aos carbonos da carbonílicos dos ácidos graxos, na região de 124,00 – 134,00 ppm carbonos olefínicos dos ácidos graxos insaturados, na região de 60,00 – 72,00 ppm carbonos pertencentes a estrutura do glicerol e por último na região de 10,00 – 35,00 ppm carbonos alifáticos.

Como continuidade à caracterização por RMN, realizou-se experimentos DEPT 135 (FIGURA 11). Nos espectros de DEPT 135 é possível distinguir os átomos de carbono constituinte, uma vez que são observados sinais em fase positiva para os átomos de carbono do tipo CH e CH_3 e em fase negativa para os átomos de carbono do tipo CH_2 . Isso pode ser muito útil para discriminar os diferentes tipos de carbonos. A partir da composição química dos ácidos graxos livre ou na forma de ésteres de glicerídeos, observou-se que na região de 15,00 ppm são atribuídos ao átomo de carbono característicos de grupos metil (CH_3 alifático sp^3), bem como na região entre 20,00 – 35,00 ppm estão relacionadas à presença de CH_2 . Na região de 60,00 – 70,00 ppm pode-se observar a presença de átomos de carbonos CH com sinal de fase positivo que pode ser atribuído a posição sn-2 do esqueleto do glicerol, e CH_2 como sinal negativo atribuídos a posições sn-1,3 do esqueleto do glicerol. Já na faixa entre 125,00 – 135,00 ppm atribuiu-se a CH de carbonos sp^2 insaturados devido a presença de ligações duplas.

Figura 11 - Espectro de RMN de ^{13}C DEPT 135 das amostras



Fonte: Autor.

Legenda: a) EVOO;

b) EPO;

c) EVAO.

Quando comparado os espectros de ^1H com os de ^{13}C , observa-se que os espectros de carbono são mais complexos, em contra partida fornecem informações mais completa da composição química dos óleos. Vale ressaltar que os dados de ressonâncias apresentadas neste trabalho estão bem difundidos na literatura conforme comentado anteriormente.

O uso da integração nos sinais dos espectros de ^1H são comumente realizados pois os números de hidrogênios são estritamente proporcionais aos hidrogênios presentes em cada grupo funcional correspondente aos ácidos graxos de cada amostra. De acordo com Bao *et al.* (2023), discorrem sobre a dificuldade em notar certos sinais nos espectros de ^1H , uma vez que está dificuldade, está relacionada com a sobreposição de alguns sinais de ácidos graxos insaturados e também pode ser devida à sensibilidade limitada obtida pelo número selecionado de varreduras e pelo campo magnético do instrumento utilizado, pois apresenta uma menor resolução espectral.

Alguns autores relatam o uso da integral para relacionar com a concentração de alguns ácidos graxos, nos estudos de Popescu *et al.* (2015) e Vigli *et al.* (2003), utilizaram a integrações dos sinais dos espectros de ^1H para determinar as concentrações dos principais ácidos graxos presentes em amostras de óleos (ácido oleico, linoleico e linolênico), ácido graxo saturado (SFA) e o valor de iodo (IV). O nível de insaturação do óleo é indicado pelo IV e é consequência da composição dos ácidos graxos. Alto teor de ácido linolênico (com 3 ligações duplas) aumentará o IV, enquanto alto teor de SFA ou ácido oleico (contendo apenas uma ligação insaturada) será refletido em baixos IV, essa determinação é através da combinação dos valores das integrais e das fórmulas apresentadas na Tabela 8.

Tabela 8 - Relações para determinação de composição de ácidos graxos

<i>Parâmetro</i>	<i>Relação</i>
<i>Ácido Linolênico</i>	$\frac{2}{(2 + 1)}$
<i>Ácido Linoleico</i>	$\frac{3 * (7) - 4 * (2)}{2 * (2 + 1)}$
<i>Ácido Oleico</i>	$\frac{3 * (5)}{4 * (2 + 1)} - \text{Linolênico} - \text{Linoleico}$
<i>Ácidos Graxos Saturado (SFA)</i>	$\frac{1}{(2 + 1)} - \text{Linolênico} - \text{Linoleico} - \text{Oleico}$
<i>Valor de Iodo (IV)</i>	$\frac{(10)/2}{(2 + 1)/3} * 86$

Fonte: Popescu *et al.*, 2015; Vigli *et al.*, 2003.

Como o sinal (2) é característico apenas para o ácido linolênico (os prótons metil) sua concentração pode ser calculada reportando o sinal (2) aos sinais totais dos grupos metil [(2) +

(3)]. As demais concentrações de ácidos graxos (ácidos graxos linoleico, oleico e SFA) são calculadas utilizando-se adicionalmente os sinais (7) e (5). Todas as relações levam em consideração o número de núcleos equivalentes no grupo funcional que dá o sinal de ressonância de RMN e calculam os ácidos graxos como concentrações molares. O índice de iodo dos óleos não é uma medida quantitativa; é um número empírico útil para definir a quantidade total de insaturação, onde 86 representa o IV do ácido oleico.

Os resultados das integrações de cada sinal e das concentrações dos ácidos graxos (oleico, linoleico e linolênico), SFA e do valor de iodo, para cada material utilizado estão nas Tabelas 9 e 10.

Tabela 9 - Integrais dos principais grupos de ressonância de RMN ^1H para todos os tipos de óleo (% da área total dos sinais)

<i>ppm</i>	<i>1,12</i>	<i>1,18</i>	<i>1,52</i>	<i>1,81</i>	<i>2,27</i>	<i>2,47</i>	<i>2,98</i>	<i>4,40</i>	<i>5,43</i>	<i>5,54</i>
<i>EVOO</i>	9,00	0,92	57,68	6,43	9,66	5,95	0,74	3,67	0,81	5,14
<i>EPO</i>	10,26	0,55	50,50	6,69	10,00	5,99	3,41	3,77	1,00	7,84
<i>EVAO</i>	9,20	0,50	57,16	9,31	8,30	5,92	0,58	3,51	0,88	4,64
<i>Óleo de Girassol</i>	8,87	0,54	51,78	6,53	10,52	6,08	3,09	3,72	1,09	7,78
<i>Óleo de Milho</i>	10,30	0,20	51,82	6,33	10,25	5,96	2,94	3,74	1,08	7,37
<i>Óleo de Soja</i>	9,04	0,40	50,91	6,54	10,11	6,15	3,75	3,77	0,89	8,43
<i>Óleo de Algodão</i>	9,12	0,76	53,65	6,20	8,81	6,11	3,30	3,84	1,13	7,08

Fonte: Autor.

Tabela 10 - Composição das amostras de óleo (%)

<i>Óleos</i>	<i>Ácido Oleico (%)</i>	<i>Ácido Linoleico (%)</i>	<i>Ácido Linolênico (%)</i>	<i>Ácidos Graxos Saturados (%)</i>	<i>Valor de Iodo</i>
<i>EVOO</i>	56,5	7,3	9,3	17,7	66,8
<i>EPO</i>	27,1	37,2	5,1	25,5	93,5
<i>EVAO</i>	57,6	1,4	5,2	30,6	61,7
<i>Girassol</i>	40,4	37,8	5,7	10,4	106,8
<i>Milho</i>	33,1	38,2	1,9	24,9	90,4
<i>Soja</i>	24,8	51,2	4,2	15,5	115,3
<i>Algodão</i>	24,5	34,7	7,7	25,4	92,5

Fonte: Autor.

Com a avaliação dos valores obtidos, pode-se observar que os azeites extra virgem apresentam como já é sabido uma maior composição é o ácido oleico com 56,5 e 57,6 para o EVOO e EVAO, respectivamente. Já os óleos vegetais (girassol, milho, soja e algodão) apresentaram valores entre 24,5 – 40,4% para o ácido oleico e entre 34,7 – 51,2% para o ácido linoleico. Em relação ao SFA o EVAO foi o que apresentou maior teor de 30%, enquanto o óleo de soja apresentou maior teor de IV 115%.

Popescu *et al.* (2015), encontraram valores de $80,27 \pm 2,07\%$ para ácido oleico e $2,42 \pm 1,27\%$ para ácido linoleico para amostra de óleo virgem de oliva. Para óleo de girassol os valores foram de $33,91 \pm 2,14$ e $50,91 \pm 2,06\%$ para os ácidos oleico e linoleico, respectivamente.

Vigli *et al.* (2003), encontraram valores de $77,13 \pm 2,48$ e $7,89 \pm 1,36\%$ para os ácidos oleico e linoleico, respectivamente, para amostra de óleo de oliva, outros óleos estudados como óleo de girassol de $26,06 \pm 1,79$ e $60,78 \pm 2,65\%$, óleo milho $31,14 \pm 1,18$ e $52,51 \pm 1,91\%$ e óleo de soja apresentou valores de $24,63 \pm 1,68$ e $50,11 \pm 0,94\%$.

Santos *et al.* (2018), encontraram valores de $51,84 \pm 0,04\%$ para ácido oleico e $24,77 \pm 0,04\%$ para ácido linoleico para amostra de óleo de abacate. Para óleo de girassol os valores foram de $27,54 \pm 0,02$ e $49,38 \pm 0,13\%$ para os ácidos oleico e linoleico, respectivamente.

Os resultados obtidos neste trabalho estão de acordo com os autores supracitados. Em comparação os resultados obtidos por meio da CG mostraram-se como melhor técnica para determinação da composição de ácidos graxos de óleos vegetais. Entretanto o uso do RMN para este fim como já foi citado anteriormente a técnica apresenta dificuldade em obter certos sinais devido a sensibilidade limitada do instrumento utilizado.

4.3 TÉCNICAS TERMOANALÍTICAS

4.3.1 Termogravimetria

A Figura 12, mostra as curvas da termogravimetria (TG) e termogravimetria derivada (DTG) das amostras de EVOO, EPO, EVAO e óleo vegetais (girassol, milho, soja e algodão) realizadas em atmosfera de gás nitrogênio. As curvas TG indicam que a decomposição térmica das amostras, mas foi difícil detectar onde a velocidade de decomposição é máxima (ponto de inflexão da curva). Deste modo, utilizou-se a DTG para observar onde ocorre essa decomposição.

A perda de massa nas curvas TG das amostras ocorreu em única etapa, correspondendo a aproximadamente 99% de perda de massa. Todas as curvas termogravimétricas obtidas

indicam a ausência de metais (sem resíduos a 600 °C), água e de outros compostos líquidos nas amostras, além de possuírem estabilidade térmica. As temperaturas de decomposição inicial e final estão dispostas na tabela 11.

Por meio da curva derivada primeira (DTG), é possível observar a etapa de decomposição. Nota-se que em todas as amostras, o evento é representado por um pico de perda consecutiva de massa. Foi possível verificar a faixa inicial e final da temperatura, assim como as respectivas temperaturas de pico.

Figura 12 – Curva TG e DTG em N₂

(continua)

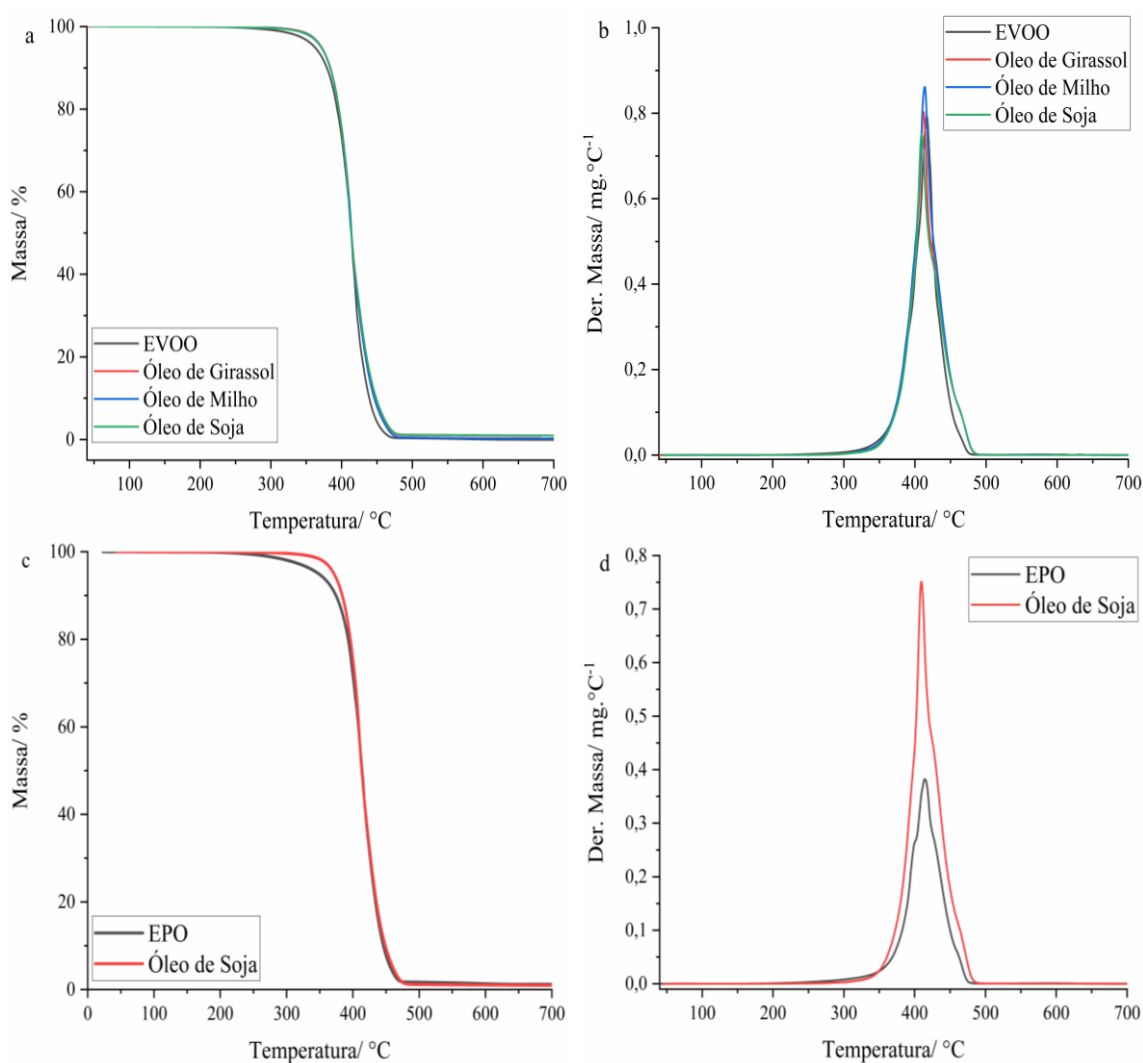
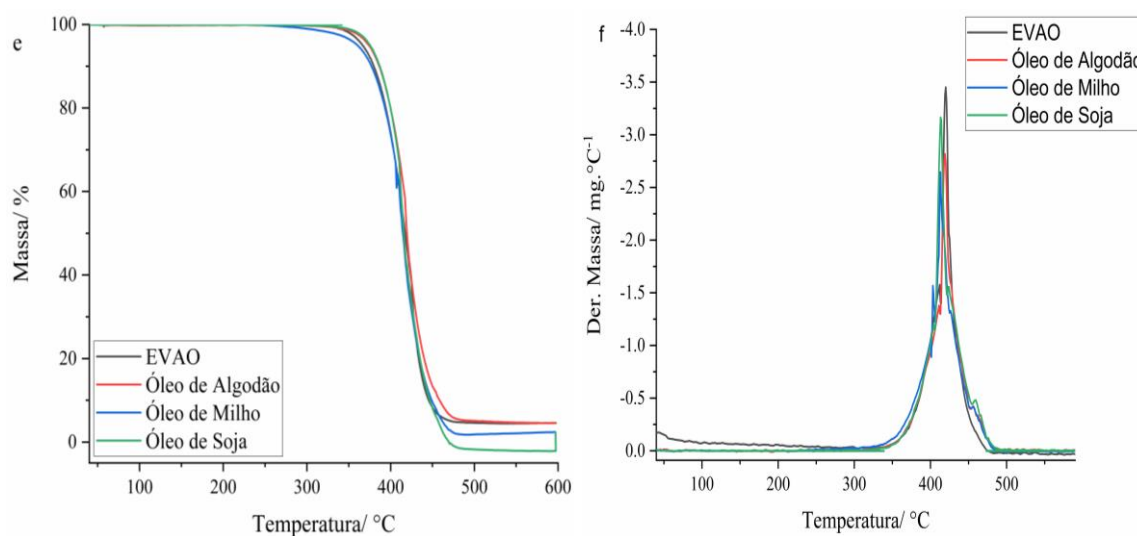


Figura 12 – Curva TG e DTG em N₂

(conclusão)



Fonte: Autor.

Legenda: a) Curva de TG de EVOO;
 b) Curva de DTG de EVOO;
 c) Curva de TG de EPO;
 d) Curva de DTG de EPO;
 e) Curva de TG de EVAO;
 f) Curva de DTG de EVAO.

Tabela 11 - Temperatura inicial e final de decomposição dos óleos em atmosfera de nitrogênio

Óleos	Temperatura inicial (°C)	Temperatura final (°C)
EVOO	246,92	502,73
EPO	210,03	495,75
EVAO	323,62	486,25
Girassol	296,19	497,56
Milho	268,53	503,83
Soja	275,37	515,32
Algodão	305,82	490,32

Fonte: Autor.

A Figura 13, mostra os resultados de TG e DTG das amostras de EVOO, EPO, EVAO e óleo vegetais (girassol, milho, soja e algodão) realizadas em atmosfera de ar sintético.

Verifica-se que as perdas de massa nas curvas TG ocorreram em três etapas, em todas as amostras, todas as curvas obtidas nesta atmosfera também indicam ausência de metais, água

e outros compostos líquidos e estabilidade térmica. As temperaturas de decomposição inicial e final para cada etapa estão dispostas na tabela 12.

Por meio da curva da derivada primeira (DTG), é possível observar as etapas de decomposição, comprovando assim a inferência da ocorrência de três etapas na curva TG. Nota-se que em todas as etapas de decomposição das amostras ocorrem de forma sobrepostas.

As perdas de massa de cada amostra estão relacionadas à composição química dos ácidos graxos.

Figura 13 – Curva TG e DSC em ar sintético

(continua)

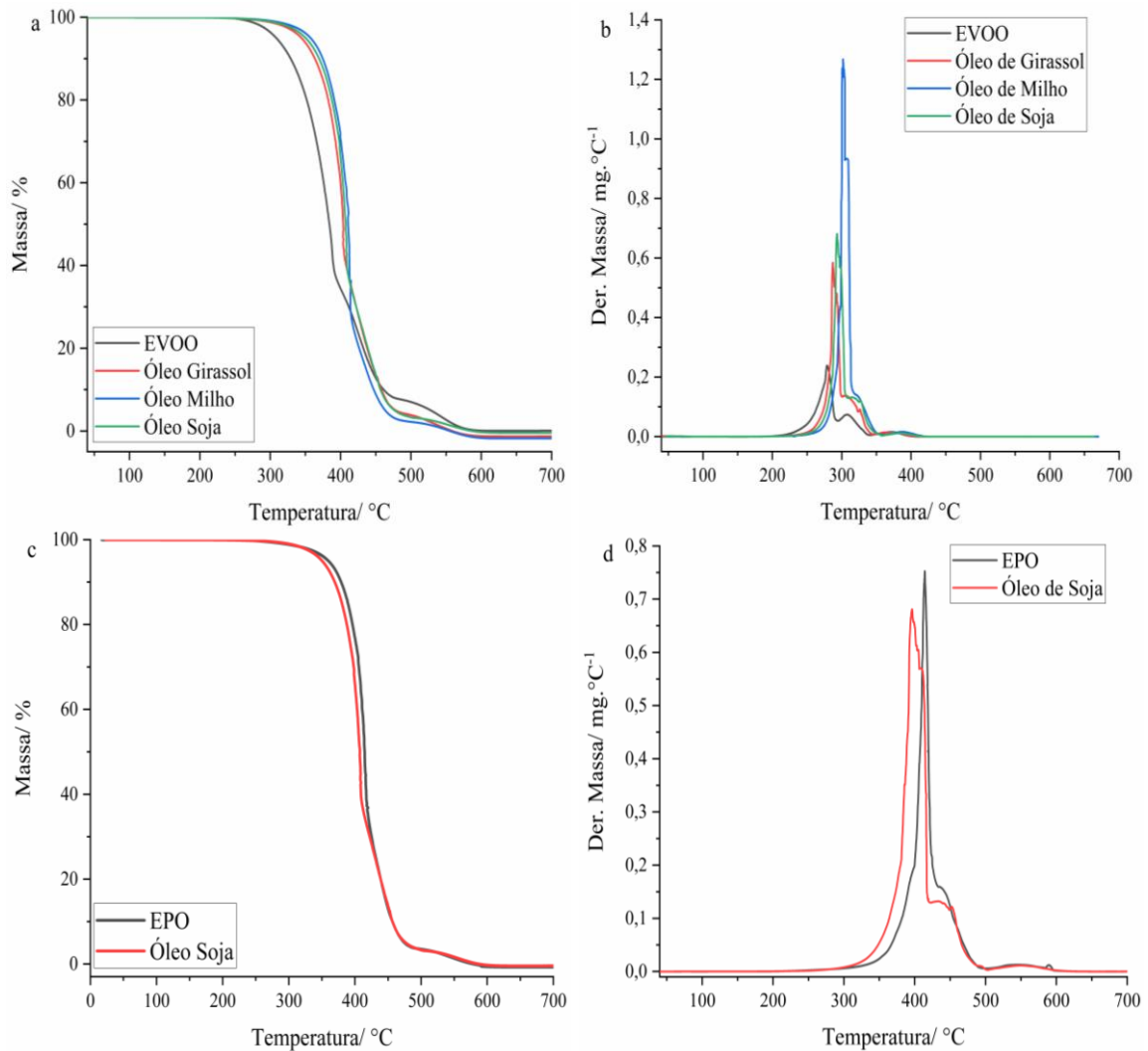
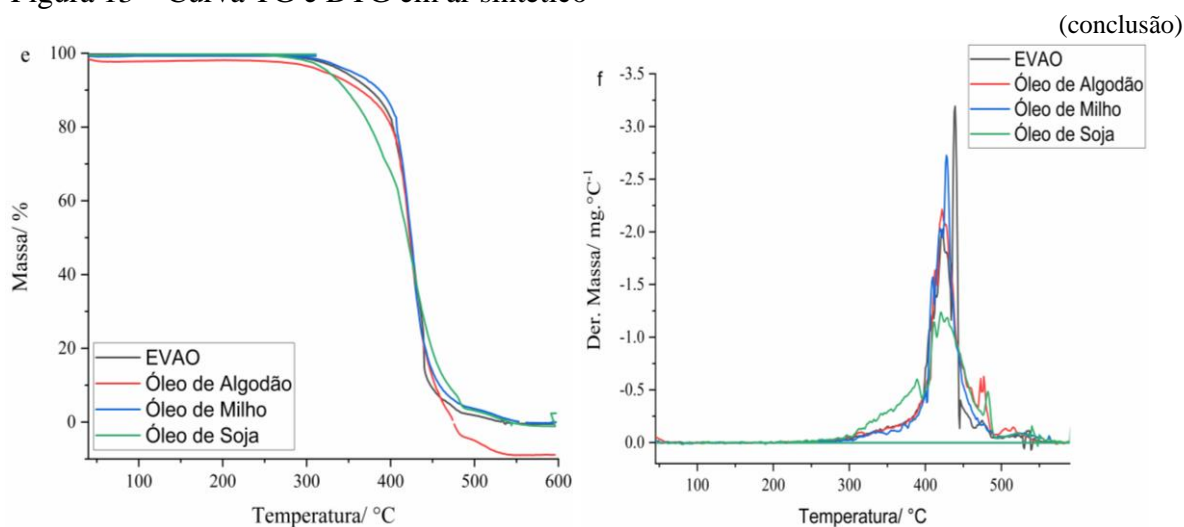


Figura 13 – Curva TG e DTG em ar sintético



Fonte: Autor.

Legenda: a) Curva de TG de EVOO;
 b) Curva de DTG de EVOO;
 c) Curva de TG de EPO;
 d) Curva de DTG de EPO;
 e) Curva de TG de EVAO;
 f) Curva de DTG de EVAO.

Tabela 12 - Temperatura inicial e final de decomposição dos óleos em atmosfera de ar sintético

Óleos	Primeira perda		Segunda perda		Terceira perda	
	T inicial (°C)	T final (°C)	T inicial (°C)	T final (°C)	T inicial (°C)	T final (°C)
EVOO	203,80	378,38	385,79	452,78	472,34	618,46
EPO	242,04	410,69	415,43	469,97	484,79	625,87
EVAO	250,20	419,53	427,51	439,48	459,59	591,58
Girassol	242,04	405,65	402,98	464,93	477,38	608,68
Milho	234,63	410,69	413,06	472,32	475,01	621,13
Soja	232,26	405,65	419,28	469,97	494,87	616,09
Algodão	243,50	419,53	426,24	454,17	464,86	548,81

Fonte: Autor.

Alguns estudos sobre análise termogravimétrica em atmosfera de ar sintéticos de óleos disponíveis na literatura.

Santos *et al.* (2002), analisaram o comportamento de alguns óleos vegetais através do TG-DTG com atmosfera de ar sintético a 20 mL min^{-1} e verificaram a ocorrência de três eventos térmicos, que correspondem à perda de massa da fração de ácidos graxos poliinsaturados na faixa de $200 - 380 \text{ }^\circ\text{C}$, monoinsaturados na faixa de $380 - 480 \text{ }^\circ\text{C}$ e saturados na faixa de 480

– 600 °C, devido às respectivas estruturas serem mais ou menos resistentes a altas temperaturas. A estabilidade térmica dos óleos vegetais comerciais mostrou dependência da composição de ácidos graxos, sendo influenciada também pela presença de antioxidantes naturais e artificiais. Em geral, quanto maior o grau de insaturação dos ácidos graxos dos óleos vegetais, mais esses óleos serão suscetíveis à deterioração térmica. Apesar disso, observou-se que vários óleos vegetais comerciais, com menor grau de insaturação, apresentaram estabilidade térmica equivalente ou menor do que outros com maior grau de insaturação, indicando que outros fatores estão envolvidos na estabilidade térmica do óleo vegetal, principalmente quando expostos a condições inadequadas de armazenamento.

De acordo com Santos *et al.* (2009), em seu trabalho no qual foi estudado a pirólise do óleo de soja, a TG e DTG demonstraram uma etapa de decomposição na faixa de 300 – 500 °C, independente das variações nas razões de aquecimento empregadas, chegaram à conclusão que esse parâmetro não influencia no perfil de decomposição, mas afeta as temperaturas de início e final do evento. Um aumento na razão de aquecimento provocou um deslocamento do evento de decomposição para maiores temperaturas, como já era esperado. Assim como está bem difundido na literatura, a diminuição nesta razão prova uma diminuição nas temperaturas aparentes das reações de decomposição, bem como na temperatura na qual a reação se completa. As reações rápidas e irreversíveis são bem menos afetadas que as reações lentas e irreversíveis.

Segundo Santos e Ferreira (1998), o processo de pirólise de óleos vegetais inicia-se a 350 °C. Nessas condições o triglicerídeo é decomposto, levando a formação de ácidos carboxílicos, acroleína e cetenos. Os cetenos e a acroleína, por serem menos estáveis que o ácido carboxílico, são facilmente decompostos levando a formação de ésteres, ácidos carboxílicos e hidrocarbonetos. Na sequência, a decomposição térmica dos ácidos pode acontecer descarboxilação ou descarboxilação. Na descarboxilação tem-se a formação de água e CO e um hidrocarboneto com uma nova insaturação terminal. Na descarboxilação são gerados CO₂ e um hidrocarboneto, sem a formação de novas insaturações.

Qiao *et al.* (2019), analisaram a pirólise do óleo de palma através da TG/DTG utilizando atmosfera de N₂, os autores observaram que o material é estável até atingir a temperatura de 385 °C, um evento de perda de massa com início em 385 – 488 °C, sendo que a temperatura máxima do pico de DTG foi em 440 °C. Desta maneira os autores concluíram que o óleo de palma apresenta decomposição em única etapa com perda de massa de aproximadamente de 98,35%.

Segundo Garcia *et al.* (2004), é possível correlacionar as temperaturas inicial e final de decomposição e/ou volatilização obtidos por TG com o tamanho e o grau de insaturação dos

triacilglicerídeos presentes nessas amostras. Podendo, assim, sugerir de maneira relativa, o comprimento da cadeia do triacilglicerídeo presente num determinado óleo em comparação a outro. Nesse sentido, estima-se que o óleo de milho, por apresentar maior temperatura de estabilidade térmica, deve apresentar menor teor de triacilglicerídeos de cadeia curta e maior teor de triacilglicerídeos de cadeia longa.

Forero-Doria *et al.* (2017), relataram em seu trabalho que as amostras de azeite de oliva e de abacate sofrem processo de decomposição oxidativa na faixa entre 200 – 600 °C ocorrendo em várias etapas consecutivas e simultâneas, apresentando perda de massa de 99,7 e 99,6% respectivamente. Outra observação feita pelos autores foi que o azeite de abacate apresenta estabilidade térmica até 176 °C, enquanto o azeite de oliva apresenta estabilidade até 222 °C.

4.3.2 Calorimetria Exploratória Diferencial

A DSC é uma técnica adequada para caracterização de mudanças físicas ou químicas de transição de fase, como cristalização e fusão de óleos vegetais, que requerem o consumo ou liberação de calor, principalmente quando se consideram curvas de resfriamento. Essas curvas são facilmente interpretáveis do que aquelas obtidas apenas por aquecimento, pois o conhecido fenômeno de recristalização por fusão pode ocorrer facilmente para amostras de óleos. No entanto, a cristalização de óleos pode ser influenciada por sua composição química e por condições instrumentais, como a razão de resfriamento, de modo que o estado cristalino inicial não desempenha um papel no desenvolvimento da transição (Cerretani *et al.*, 2011).

Os óleos vegetais quando submetidos ao ambiente de baixa temperatura, sofrem solidificação através da cristalização, que surge do aparecimento de cristais cerosos que rapidamente se aglomeram resultando na solidificação do óleo. O óleo vegetal é um sistema molecular complexo e, portanto, a transição do estado líquido para o sólido não ocorre em uma determinada temperatura, mas em uma ampla faixa de temperatura envolvendo várias formas polimórficas (α , β , β^1) contribuindo para a aparência da cera e o processo de cristalização (Adhvaryu; Erhan; Perez, 2003).

4.3.2.1 Calorimetria Exploratória Diferencial do EVOO

A Figura 14, mostra as curvas de resfriamento e aquecimento cíclico de DSC para EVOO e óleos vegetais (girassol, milho e soja), realizada em atmosfera de nitrogênio. Nesta

figura pode-se observar que a amostra de EVOO possui três eventos térmicos principais e os demais óleos vegetais estudados apresentam apenas dois eventos principais.

Na faixa de temperatura de aproximadamente (-10,0 °C) existe uma mudança na linha base que pode ser evidenciado em todos os óleos testados que é característico de transição vítrea (T_g). Para a amostra EVOO, foram observados três eventos característicos, sendo o primeiro evento exotérmico de cristalização na faixa (-38,9 a -65,2 °C) e dois eventos endotérmicos consecutivos característicos de fusão (-25,3 a 0,4 °C e 0,4 a 14,5 °C). Para as demais amostras de óleos vegetais (girassol, milho e soja), os eventos característicos de cristalização mostraram mudanças de temperatura. Nestes óleos, os eventos de cristalização apresentaram menor intensidade em relação ao EVOO, sendo observados na faixa de (-59,7 a -78,0 °C) para óleo de girassol, (-58,2 a -78,8 °C) para óleo de milho e (-60,2 a -78,5 °C) para óleo de soja. Foram observados eventos de fusão: (-43,6 a -29,3 °C e -29,3 a 0,2 °C) para óleo de girassol, (-43,6 a -28,8 °C e -28,8 a 8,6 °C) para óleo de milho e (-45,6 a -30,5 °C e -30,5 a 0,7 °C) para óleo de soja. A cristalização é comumente usada para caracterizar o comportamento térmico de amostras de óleo como um evento físico que requer a liberação de calor na forma de entalpia térmica.

Figura 14 - Curva de DSC cíclica das amostras

(continua)

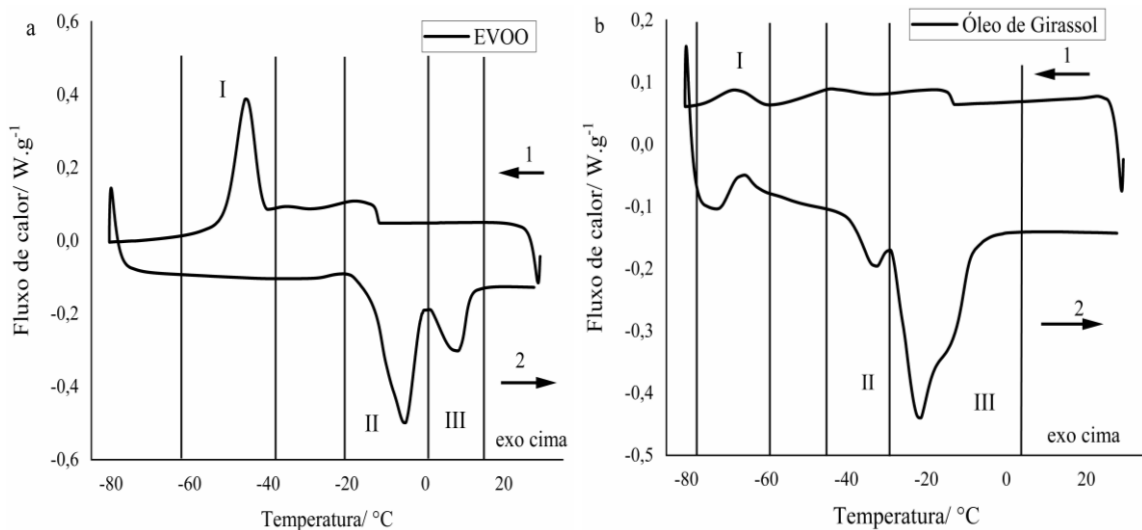
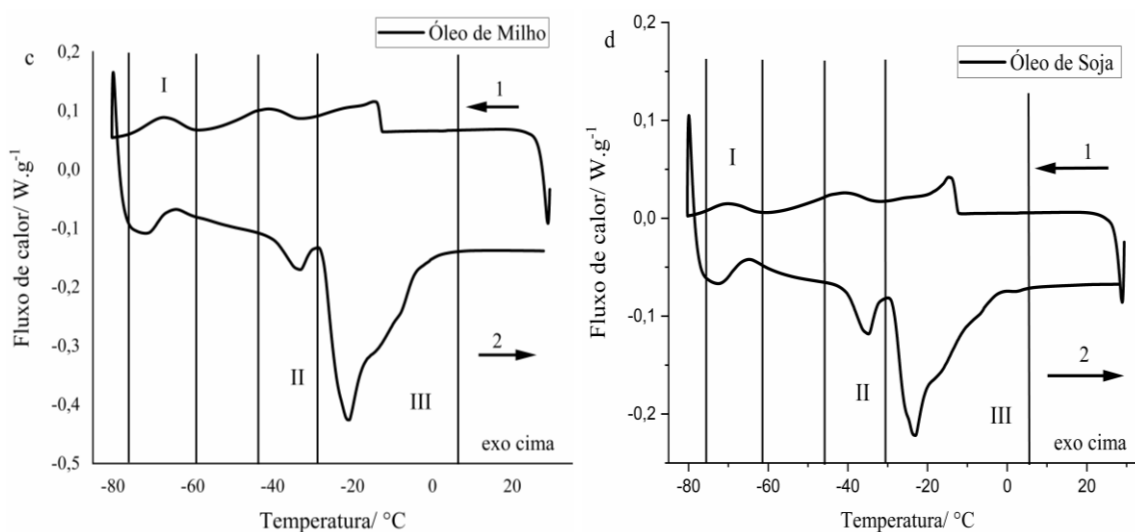


Figura 14 – Curva de DSC cíclica das amostras

(conclusão)



Fonte: Autor.

Legenda: a) EVOO;
 b) Óleo de Girassol;
 c) Óleo de Milho;
 d) Óleo de Soja.

A Tabela 13 mostra os valores de entalpia e T_{onset} para cada evento das amostras isoladamente.

Tabela 13 - Parâmetros da curva de DSC cíclica para EVOO, óleo de girassol, óleo de milho, óleo de soja

Óleo	T_g	Evento I		Evento II		Evento III	
	°C	ΔH (J.g ⁻¹)	T_{onset} (°C)	ΔH (J.g ⁻¹)	T_{onset} (°C)	ΔH (J.g ⁻¹)	T_{onset} (°C)
EVOO	-10,66	23,46	-41,59	34,35	-13,92	10,75	1,70
Girassol	-11,81	2,62	-60,84	3,21	-38,92	40,05	-27,93
Milho	-11,12	2,94	-60,11	3,19	-39,76	46,65	-27,36
Soja	-10,90	0,61	-64,55	2,64	-40,59	20,32	-28,54

Fonte: Autor.

Cerretani *et al.* (2011), relataram que o EVOO apresentou evento exotérmico em T_{onset} a aproximadamente -40 °C. A uma pequena diferença de T_{onset} encontrada neste trabalho (-41,59 °C), essa diferença pode ser atribuída a alterações na composição química dos ácidos graxos nas amostras de EVOO utilizados em ambos os trabalhos e também à variação das condições

experimentais utilizadas. Por exemplo, neste trabalho a relação resfriamento e aquecimento utilizados foi de $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ enquanto em Cerretani *et al.* (2011), empregou-se $2\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$.

Laddomada *et al.* (2013), observaram na curva de aquecimento, apresentou dois eventos endotérmicos na faixa de -30 a $15\text{ }^{\circ}\text{C}$. O primeiro pico na faixa de -10 a $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$ está relacionado à transição de formas cristalinas polimórficas instáveis para formas mais estáveis de numerosos triacilgliceróis (TAGs) (Ferrari *et al.*, 2007).

Jafari, Kadivar e Keramat (2009), observaram três eventos exotérmicos na curva de resfriamento, sendo dois de menor intensidade e um de maior intensidade estando na faixa de temperatura de $(-45,5, -75,5, -73,5$ e $-55,2\text{ }^{\circ}\text{C})$ para amostras de óleo de oliva, soja, girassol e canola respectivamente. Os autores atribuem esses eventos como cocristalização de triacilgliceróis altamente insaturados.

Chiavano *et al.* (2009), apontam a presença de dois eventos exotérmicos, um característico da transição vítrea (T_g) que ocorre em torno de $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$, o outro com maior intensidade referente ao evento de cristalização ocorrido a $-38,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ para EVOO. Na curva de aquecimento, dois eventos característicos de fusão ocorrendo na faixa de $-3,5$ a $8,3\text{ }^{\circ}\text{C}$. Todas as interpretações desses eventos já foram citadas acima. Outros trabalhos também fornecem caracterizações por DSC quanto aos eventos exotérmicos e endotérmicos de amostras de EVOO e resultados semelhantes foram obtidos (Chiavano *et al.*, 2008a; Angiuli *et al.*, 2007; Angiuli *et al.*, 2009; Angiuli *et al.*, 2006; Chiavano *et al.*, 2008b; Che Man; Tan, 2002; Chiavano *et al.*, 2010; Maggio *et al.*, 2014).

A mudança na linha base que ocorre na amostra de EVOO, pode ser atribuído à transição de fase da fração de ácidos graxos saturados do óleo contendo principalmente ácido palmítico e ácido esteárico. O evento exotérmico de maior intensidade observado pode estar relacionado à transição de fase da fração altamente insaturada do óleo de baixo ponto de fusão. Considerando a distribuição típica de triacilglicerol no EVOO, este evento térmico envolveu os triacilgliceróis mais abundantes que são trioleína, dioleoil-linoleoilglicerol e dioleoil-palmitoilglicerol. Conforme amplamente divulgado na literatura, esses triacilgliceróis representam cerca de 60% do total de triacilgliceróis no EVOO (Barba; Arrighetti; Calligaris, 2013).

Outras atribuições encontradas estão relacionadas aos eventos endotérmicos das amostras de EVOO, que apresentam dois eventos simultâneos que podem ser atribuídos ao rearranjo molecular dos cristais em formas polimórficas mais estáveis que sofrem cristalização. Esses eventos estão relacionados à fusão de lipídios cristalizados (Cerretani *et al.*, 2011). De acordo com Barba e colaboradores (2013), os eventos endotérmicos podem estar atribuídos com

a fusão de triacilglicerol altamente insaturados e triacilglicerol mais saturados para o evento de maior e menor intensidade detectados, respectivamente.

Conforme mostrado na Figura 15, as curvas cíclicas DSC para misturas de EVOO com óleos vegetais mostram um evento de cristalização característico para EVOO, já tendo sido relatado anteriormente. Ambas as curvas foram realizadas correção de linha de base na faixa de temperatura de 20 a -15 °C e de -0,5 a 30 °C. Também é possível observar que com o aumento da concentração do adulterante, há um deslocamento do evento de cristalização do EVOO para temperaturas mais baixas, independente do adulterante utilizado. Essa alteração pode estar relacionada à composição de ácidos graxos da amostra.

Os óleos vegetais possuem alta concentração de ácido linoleico, enquanto no EVOO o ácido oleico é predominante. A diferença entre os dois tipos de ácidos é o número de insaturação. Enquanto o ácido oleico tem apenas uma insaturação na cadeia carbônica, o ácido linoleico é caracterizado por duas insaturações na cadeia carbônica (Barros *et al.*, 2021a).

Em relação aos eventos endotérmicos, foi possível verificar a modificação em T_{onset} (menor temperatura) do primeiro evento de fusão e também o desaparecimento do segundo evento de fusão para EVOO. Esse comportamento ficou mais evidente quando a concentração de adulterante aumentou em ambas as misturas. O início desse deslocamento ocorre a partir da concentração de 40% de óleo de girassol (FIGURA 15a), 50% de óleo de milho (FIGURA 15b) e 25% de óleo de soja (FIGURA 15c). Os eventos de fusão do EVOO permaneceram sobrepostos aos dos óleos vegetais.

Figura 15 - Curva de DSC cíclica das misturas binárias

(continua)

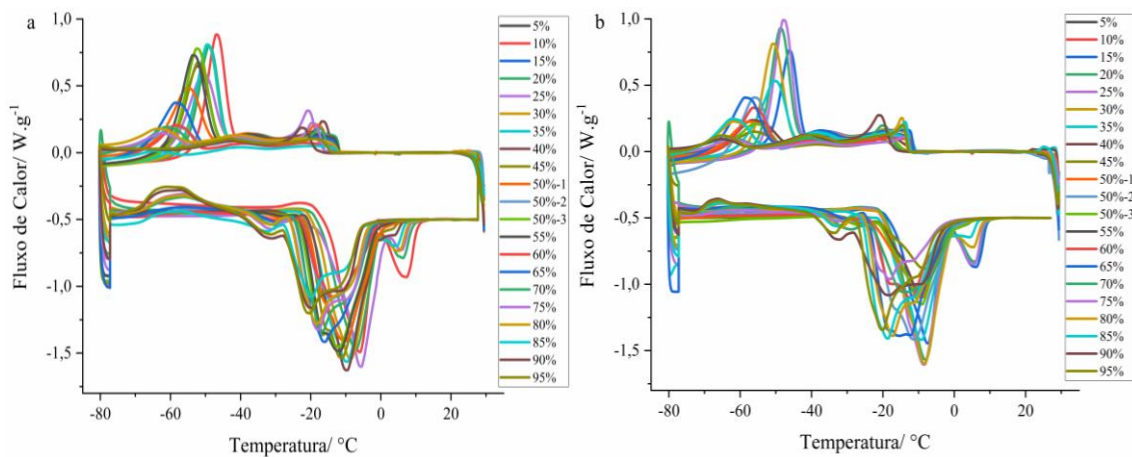
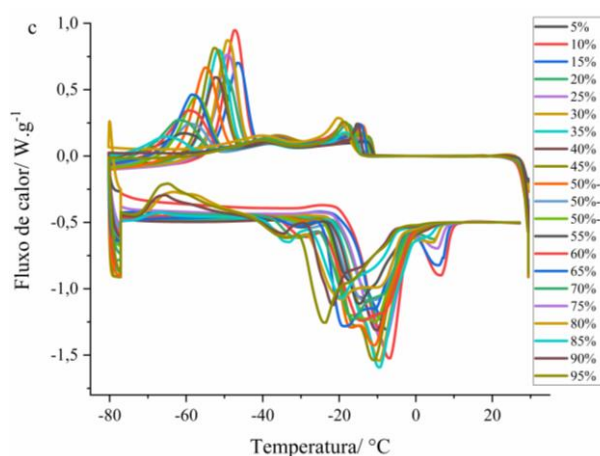


Figura 15 – Curva de DSC cíclica das misturas binárias

(conclusão)



Fonte: Autor.

Legenda: a) EVOO com Óleo de Girassol;

b) EVOO com Óleo de Milho;

c) EVOO com Óleo de Soja.

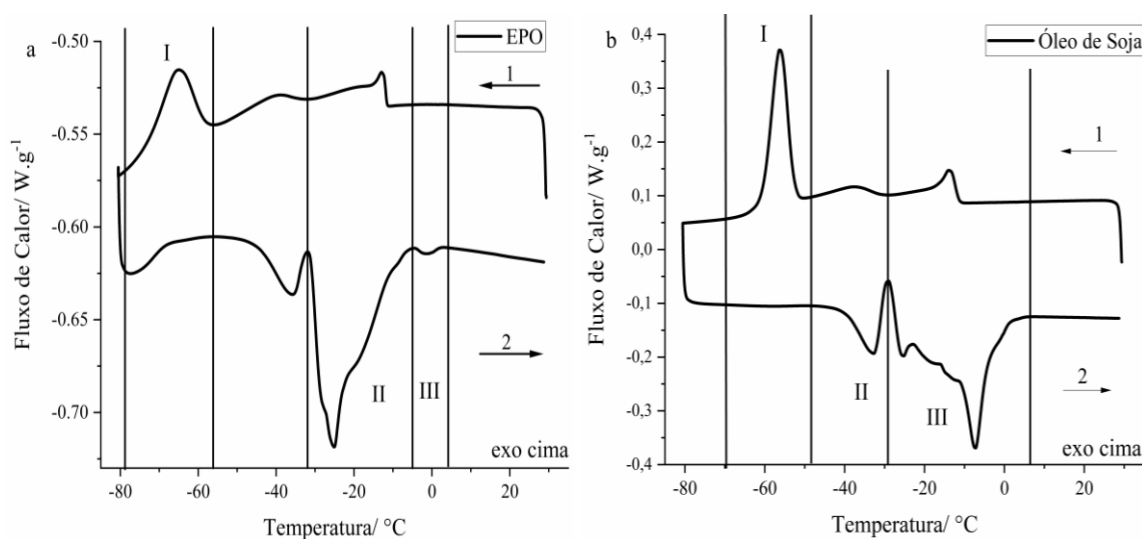
4.3.2.2 Calorimetria Exploratória Diferencial do EPO

A Figura 16 mostra as curvas de resfriamento e aquecimento cíclico de DSC para EPO e óleo de soja, realizadas em atmosfera de nitrogênio. Nesta figura pode-se observar que ambas as amostras possuem três eventos térmicos principais, sendo eles um evento característico de cristalização e dois eventos simultâneos característico de fusão.

Na faixa de temperatura de aproximadamente (-9,8 °C) existe uma mudança na linha base que pode ser evidenciado em todos os óleos testados que é característico de transição vítrea (T_g). Para a amostra de EPO, apresentou evento exotérmico característico de cristalização, sendo observado na faixa de (-58,2 a -79,1 °C) e dois eventos endotérmicos característicos de fusão na faixa de (-52,0 a -32,2 °C e -32,2 a 4,2 °C). Para a amostra de óleo de soja, o evento exotérmico de cristalização foi observado na faixa de (-48,6 a -69,9 °C) e dois eventos endotérmicos na faixa de (-46,3 a -29,2 °C e -29,2 a 6,2 °C).

As atribuições sobre os eventos exotérmicos e endotérmicos que ocorrem nas amostras de EPO e óleo de soja, são similares as já discutidas na seção anterior. Podendo ser atribuído à transição de fase da fração de ácidos graxos saturados. O evento exotérmico pode estar relacionado à transição de fase da fração altamente insaturada de baixo ponto de fusão. Aos eventos endotérmicos, que apresentam dois eventos simultâneos que podem ser atribuídos ao rearranjo molecular dos cristais em formas polimórficas mais estáveis que sofrem cristalização.

Figura 16 – Curva de DSC cíclica as amostras



Fonte: Autor.

Legenda: a) EPO;

b) Óleo de Soja.

A Tabela 14 mostra os valores de entalpia e T_{onset} para cada evento das amostras isoladamente.

Tabela 14 - Parâmetros da curva de DSC cíclica para EPO, óleo de soja

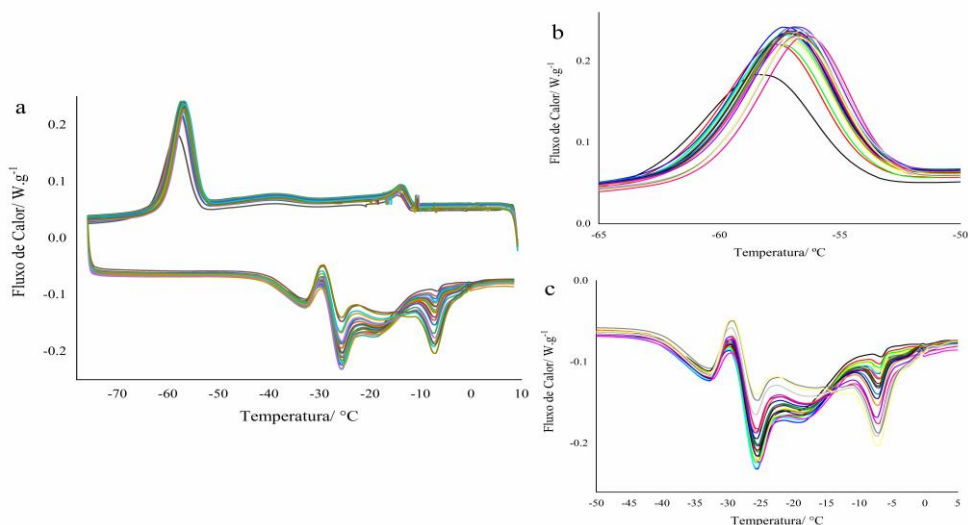
Óleos	T_g	Evento I		Evento II		Evento III	
	$^{\circ}C$	ΔH ($J.g^{-1}$)	T_{onset} ($^{\circ}C$)	ΔH ($J.g^{-1}$)	T_{onset} ($^{\circ}C$)	ΔH ($J.g^{-1}$)	T_{onset} ($^{\circ}C$)
EPO	-9,97	12,00	-58,16	36,56	-31,02	0,3522	-4,00
Soja	-9,07	41,65	-52,62	5,906	-28,14	13,69	-10,49

Fonte: Autor.

Conforme é observado na curva cíclica da mistura (FIGURA 17), apresenta deslocamento no evento de fusão, esse deslocamento é correspondente ao segundo evento de fusão. Esse comportamento ficou mais evidente quando a concentração de adulterante aumentou na mistura, o início desse deslocamento ocorre a partir da concentração de 25%.

Segundo Barros *et al.* (2021a), já é conhecido que alguns óleos possuem alta concentração de ácido linoleico, ambos EPO e óleo de soja apresentam este tipo de ácido graxo majoritário.

Figura 17 – Curva de DSC cíclica das misturas binárias



Fonte: Autor.

Legenda: a) Curva de DSC cíclica das misturas binárias;

b) Ampliação do evento de cristalização das misturas binárias;

c) Ampliação do evento de fusão das misturas binárias.

4.3.2.3 Calorimetria Exploratória Diferencial do EVAO

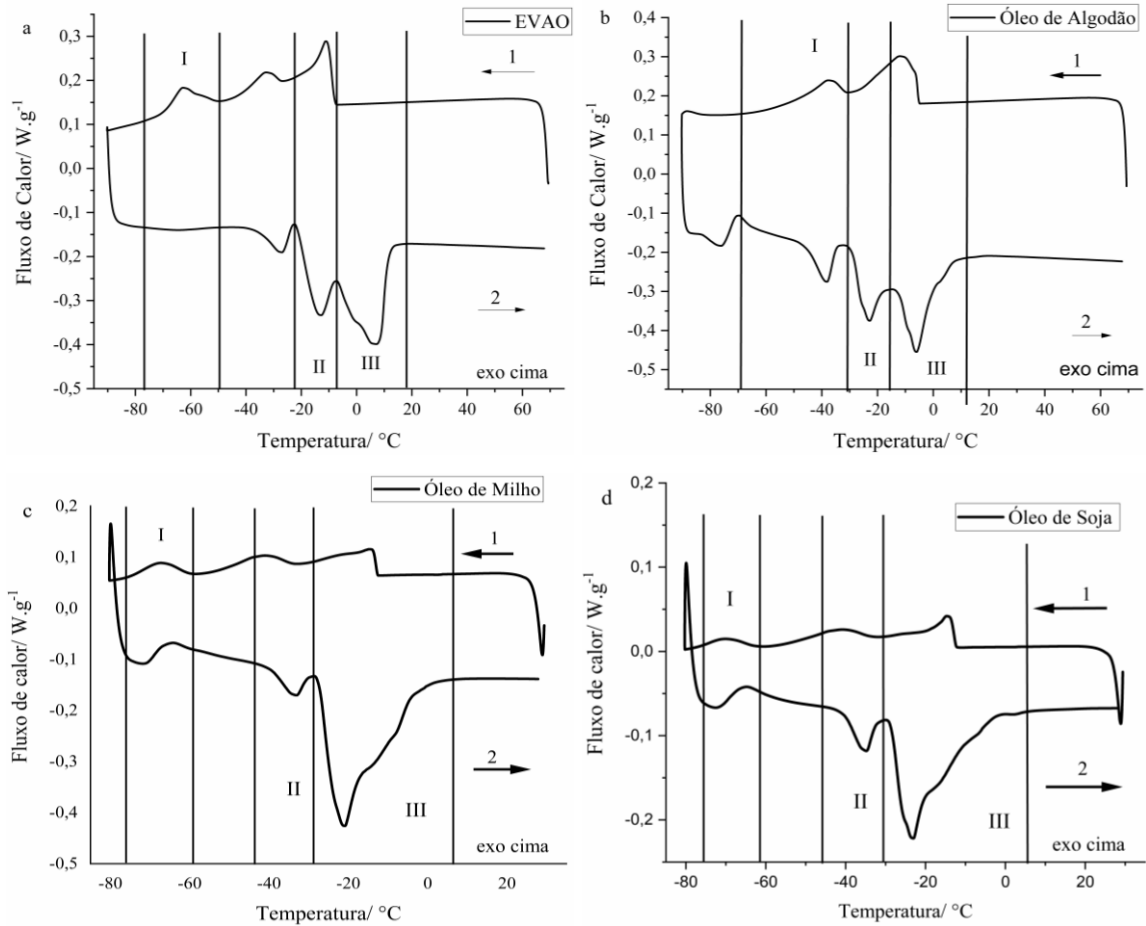
A Figura 18, mostra as curvas de resfriamento e aquecimento cíclico de DSC para EVAO, óleo de algodão, milho e soja, realizadas em atmosfera de nitrogênio.

Na faixa de temperatura de aproximadamente (-6,1 °C) existe uma mudança na linha base que pode ser evidenciado em todos os óleos testados que é característico de transição vítrea (Tg). Para a amostra EVAO, foram observados três eventos característicos, sendo um evento exotérmico característico de cristalização na faixa (-50,1 a -78,4 °C) e dois eventos endotérmicos consecutivos característicos de fusão (-22,6 a -7,2 °C e -7,2 a 17,6 °C). Para as demais amostras de óleos vegetais (algodão, milho e soja), os eventos característicos de cristalização foram observados na faixa de (-30,6 a -71,8 °C) para óleo de algodão, (-56,3 a -79,5 °C) para óleo de milho e (-59,1 a -80,2 °C) para óleo de soja. Foram observados eventos característicos de fusão: (-38,2 a -15,0 °C e -15,0 a 14,5 °C) para óleo de algodão, (-55,3 a -29,3 °C e -29,3 a 4,5 °C) para óleo de milho e (-51,6 a -29,9 °C e -29,9 a 7,4 °C) para óleo de soja. A cristalização é comumente usada para caracterizar o comportamento térmico de amostras de óleo como um evento físico que requer a liberação de entalpia térmica.

As atribuições sobre os eventos exotérmicos e endotérmicos que ocorrem nas amostras de EVAO, óleo de algodão, milho e soja, são similares as já discutidas nas seções anteriores. Podendo ser atribuído à transição de fase da fração de ácidos graxos saturados. O evento exotérmico pode estar relacionado à transição de fase da fração altamente insaturada do óleo de

baixo ponto de fusão. Aos eventos endotérmicos, que apresentam dois eventos simultâneos que podem ser atribuídos ao rearranjo molecular dos cristais em formas polimórficas mais estáveis que sofrem cristalização.

Figura 18 - Curva de DSC cíclica das amostras



Fonte: Autor.

Legenda: a) EVAO
b) Óleo de Algodão;
c) Óleo de Milho;
d) Óleo de Soja.

A Tabela 15 mostra os valores de entalpia e T_{onset} para cada evento das amostras isoladamente.

Tabela 15 - Parâmetros da curva de DSC cíclica para EVAO, óleo de algodão, óleo de milho e óleo de soja

Óleos	T_g	<i>Evento I</i>		<i>Evento II</i>		<i>Evento III</i>	
	(°C)	ΔH (J.g ⁻¹)	T_{onset} (°C)	ΔH (J.g ⁻¹)	T_{onset} (°C)	ΔH (J.g ⁻¹)	T_{onset} (°C)
<i>EVAO</i>	-6,39	6,936	-53,60	12,53	-21,24	25,44	-6,72
<i>Algodão</i>	-2,55	4,660	-31,74	10,19	-28,40	16,92	-12,35
<i>Milho</i>	-9,30	3,554	-58,02	4,726	-39,21	43,53	-27,31
<i>Soja</i>	-6,93	3,442	-60,86	7,077	-40,54	48,18	-28,28

Fonte: Autor.

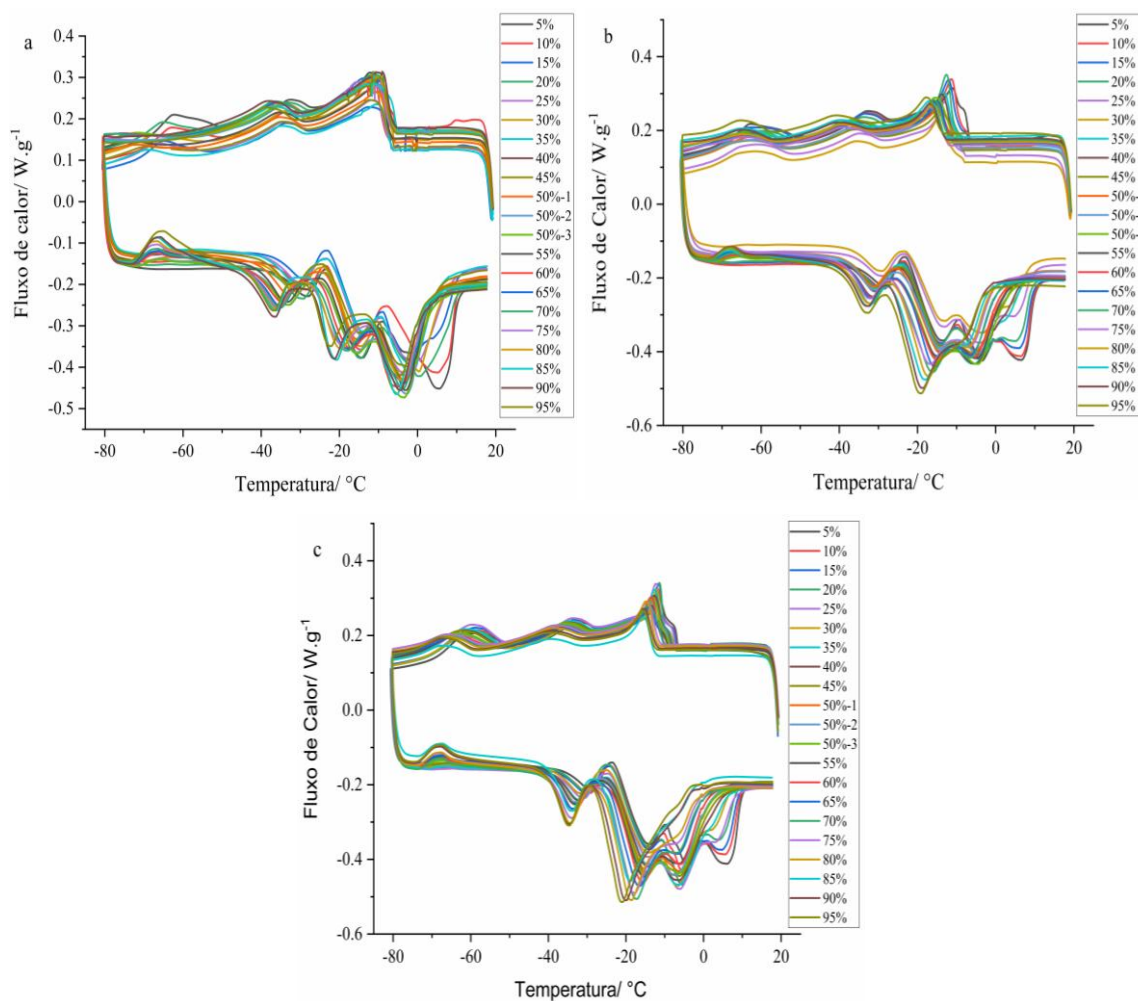
Yanty, Marikkar e Long (2011), utilizaram a DSC para caracterizar os eventos térmicos de quatro amostras EVAO, sendo elas três amostras locais e uma importada, e todas obtidas a partir da espécie Hass, ambas as amostras locais apresentaram eventos exotérmicos característico de transição vítrea (T_g) na faixa de (22,6 a 29,3 °C) e a amostra importada em (-13,7 °C). Sobre o evento exotérmico característico de cristalização as amostras locais iniciaram em 0,0 °C, enquanto a amostra importada ocorreu a partir de (-40,0 a -65,0 °C). Para o evento endotérmico característico de fusão as amostras locais ocorreram até (45,7 °C), enquanto a amostra importada sua temperatura final dos eventos de fusão foi até (2,3 °C). Segundo os autores, as diferenças de comportamento térmico entre as cultivares locais e a importada, podem ser devido às diferenças em suas composições de ácidos graxos e triacilgliceróis.

Manaf *et al.* (2019), determinaram o comportamento térmico de cinco amostras de azeite de abacate cultivados na Indonésia, os autores observaram diferentes temperaturas iniciais para o evento exotérmico de cristalização variando da faixa de 14,77 à -5,78 °C. Outras amostras apresentam o mesmo evento de cristalização a cima de -50 °C. Os perfis de fusão também apresentaram variação na temperatura na faixa de -4,64 a 36,68 °C. Esse comportamento foi justificado devido a composição de ácido graxo e triacilglicerol das amostras.

No trabalho de Indrayani, Rohman e Riyanto (2016), os pontos iniciais do evento de cristalização dos óleos de abacate de diferentes variedades estudos foram 7,82, 12,21 e 23,40°C, respectivamente.

Conforme são observados nas curvas cíclicas das misturas (FIGURA 19), apresentam deslocamentos nos eventos de cristalização e no de fusão. Esse comportamento ficou mais evidente quando a concentração de adulerante aumentou nas misturas, o início desse deslocamento ocorre a partir da concentração de 60% de óleo de algodão (FIGURA 19a), 40% de óleo de milho (FIGURA 19b) e 40% de óleo de soja (FIGURA 19c).

Figura 19 - Curva cíclica DSC das misturas binárias



Fonte: Autor.

Legenda: a) EVAO com Óleo de Algodão;
 b) EVAO com Óleo de Milho;
 c) EVAO com Óleo de Soja.

As atribuições de ácidos graxos a partir das curvas cíclicas de DSC são sempre difíceis de detectar por análise univariada, portanto, o uso de uma abordagem múltipla para obter esses dados é mais viável. Em particular, o PLS é um método mais completo para este tipo de abordagem. Cerretani *et al.* (2011), propuseram uma aplicação da curva cíclica de DSC com

PLS para atribuir os principais ácidos graxos e suas somas percentuais, bem como, índices de qualidade. Para isso, vários modelos de calibração multivariada foram construídos pelo algoritmo PLS, usando dados DSC pré-processados.

A partir desta abordagem, foram propostos modelos multivariados (iPLS e PLS) e univariados (calibração externa) utilizando dados DSC para determinar a adulteração em EVOO com óleos vegetais (girassol, milho e soja), EPO com óleo de soja e para EVAO com óleos vegetais (algodão, milho e soja), são apresentados a seguir.

Em particular para o EVOO foi proposto a calibração univariada pelo método *Spiking*, para validação do modelo.

4.4 MODELOS MULTIVARIADOS E UNIVARIADOS

4.4.1 Modelo iPLS

Nessa seção, serão apresentados os modelos iPLS construídos a partir dos dados binários das misturas obtidos a partir dos resultados das análises DSC, de EVOO com óleos vegetais (girassol, milho e soja), EPO com óleo de soja e de EVAO com óleos vegetais (algodão, milho e soja).

Os modelos foram divididos em 20 intervalos equidistantes, outros intervalos menores também foram testados, mas sem apresentar êxito uma vez que apresentam elevados RMSECV. A linha pontilhada vermelha representa o RMSECV para o modelo global, as barras indicam o valor de RMSECV para cada intervalo, dentro das mesmas os números em itálico indicam o número de LV otimizado. Os intervalos foram selecionados por meio da avaliação do RMSECV do algoritmo iPLS para cada intervalo. Os intervalos selecionados para cada modelo foram aqueles em que apresentaram menores valores de RMSECV.

As melhores capacidades de previsão dos modelos foram alcançadas quando foram realizados os seguintes pré-processamento, para a curva de EVOO/óleo de girassol foi centrado na média; EVOO/óleo de milho não houve pré-tratamento; EVOO/óleo de soja, foi centrado na média e também feita a correção de sinal multiplicativo (*MSC*); a curva de EPO/óleo de soja foi escalonamento automático; a curva de EVAO/óleo de algodão foi escalonamento automático; de EVAO/óleo de milho e EVAO/óleo de soja, foi centrado na média.

4.4.1.1 Modelo iPLS do EVOO

Na Figura 20, os modelos iPLS foram construídos usando dados das misturas binárias de EVOO com adulterantes óleos vegetais (girassol, milho e soja). Para os modelos os intervalos selecionados foram: 12° com LV = 3 que corresponde a faixa de temperatura de (-71,92 a -61,95 °C) para o óleo de girassol; 17° com LV = 3 na faixa de temperatura de (-13,20 a -4,28 °C) para o óleo de milho e 18° com LV = 2 na faixa de (-3,77 a 9,28 °C) para o óleo de soja, as correções R^2 obtiveram valores a partir de 0,689. Os valores de RMSECV foram maiores do que aqueles obtidos pelos modelos PLS desenvolvidos que estão apresentados na próxima seção.

Figura 20 - Ajuste do modelo de regressão iPLS das misturas

(continua)

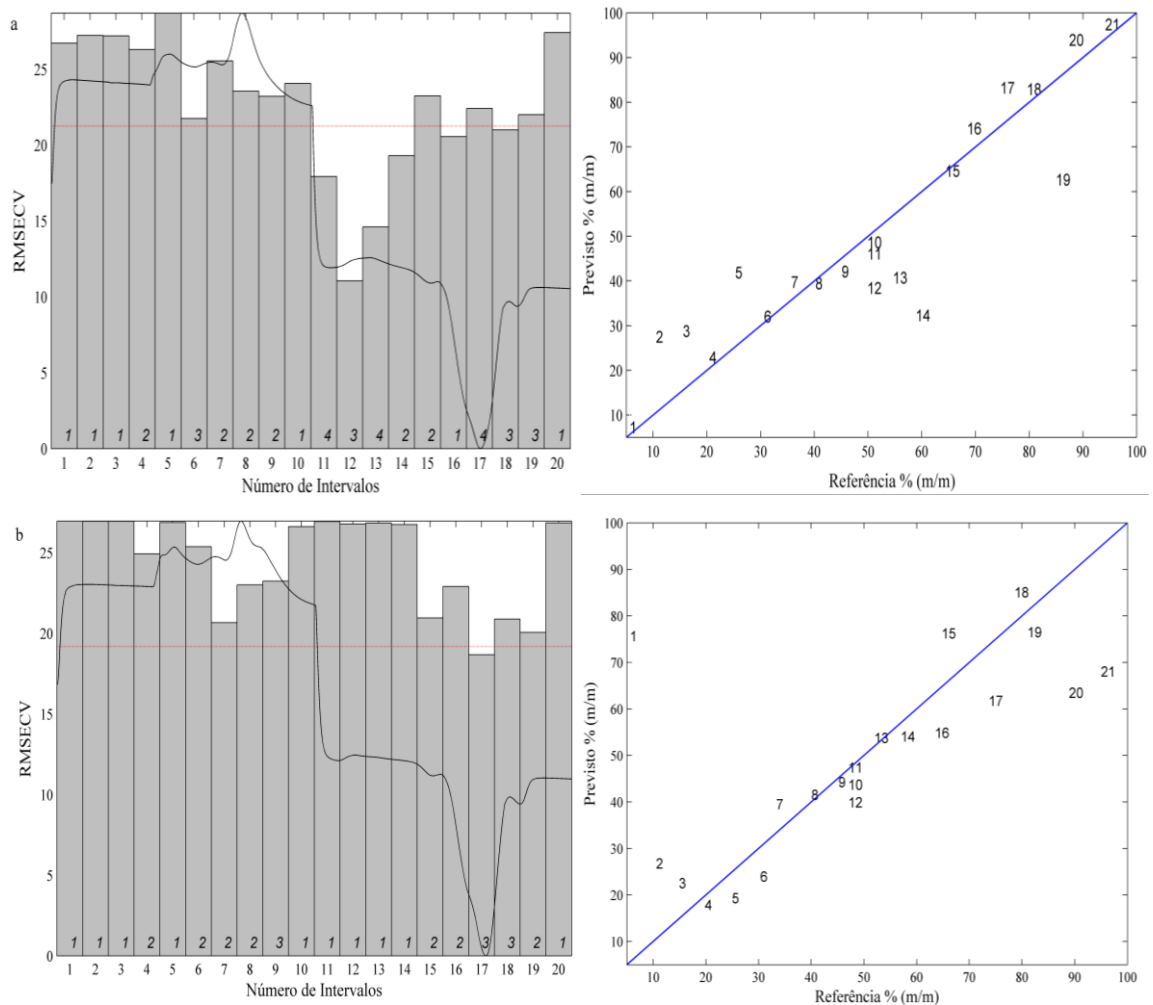
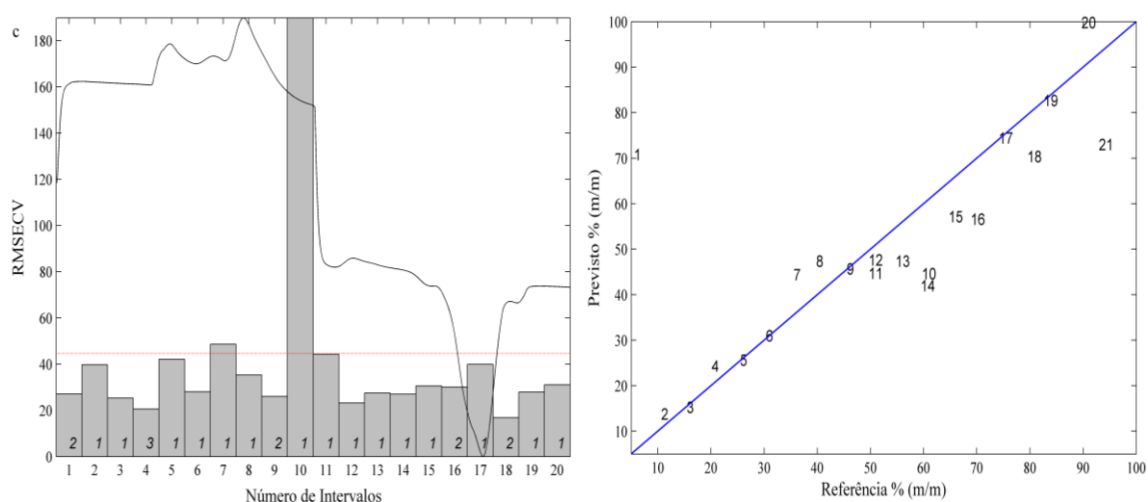


Figura 20 – Ajuste do modelo de regressão iPLS das misturas

(conclusão)



Fonte: Autor.

Legenda: a) EVOO com Óleo de Girassol;
 b) EVOO com Óleo de Milho;
 c) EVOO com Óleo de Soja.

Barros e coautores (2021a), construíram o modelo iPLS com dados obtidos por Raman de misturas binárias de EVOO com óleo de soja (% m/m). Para o modelo iPLS, os intervalos foram selecionados por meio da avaliação do RMSECV apresentado pelo cálculo de validação cruzada do algoritmo iPLS para cada intervalo. Neste caso, obteve-se RMSECV de 2,17% e R^2 0,9967 com LV de 4.

Li *et al.* (2018), utilizaram a espectroscopia Raman em conjunto com a quimiometria para determinar adulteração de azeite de oliva com óleo de cozinha residual, nesse estudo foram obtidos 96 espectros das amostras em níveis de adulteração de (2,5%, 5%, 10%, 20%, 30% e 50%), para a quantificação foi utilizado o iPLS, foram escolhidos 25 subintervalos onde apresentou a melhor modelagem com RMSECV 0,117 na região de 1218 – 1262 cm^{-1} com correlação R^2 de 0,9613. A conclusão dos autores foram que o modelo estabelecido pode fazer uma análise quantitativa eficaz no conteúdo de óleo de cozinha residual. O modelo proposto fornece um método rápido e preciso para detectar a adulteração do óleo de cozinha residual no azeite.

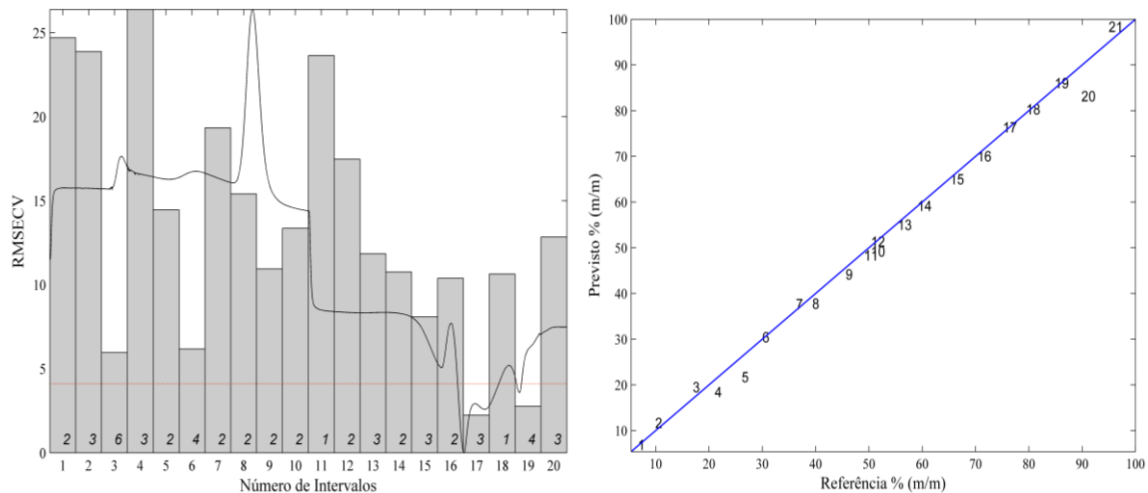
Mata-Espinosa, Bosque-Sandra e Cuadros-Rodríguez (2011), utilizaram a CL-CAD juntamente com a quimiometria para estudo da eficácia do uso dos triacilgliceróis para quantificação de azeites em misturas com óleos vegetais. Para o modelo foi utilizado 4 LV onde o modelo apresentou RMSECV de 7,79 com correlação R^2 de 0,92. Os resultados revelaram que os modelos iPLS podem prever as concentrações de azeite com erros razoáveis.

Revelando informações químicas importantes no cromatograma para quantificar o azeite em misturas de óleos vegetais.

4.4.1.2 Modelo iPLS do EPO

Na Figura 21, o modelo iPLS foi construído usando dados das misturas binárias de EPO com óleo de soja. O intervalo selecionado foi o 17º com $LV = 3$ que corresponde a faixa de temperatura de (-24,02 a -19,67 °C) com correlação R^2 de 0,996. O valor de RMSECV ainda foi menor do que aquele obtido pelo modelo PLS desenvolvido que está apresentado na próxima seção.

Figura 21 - Ajuste do modelo de regressão iPLS das misturas



Fonte: Autor.

Legenda: EPO com Óleo de Soja

Kaufmann *et al.* (2022), utilizaram a espectroscopia NIR juntamente com a quimiometria para identificar adulteração em óleo de coentro utilizando óleos vegetais de palma, canola e soja. Os resultados obtidos através do iPLS apresentaram coeficiente de determinação (R^2) de 0,95, 0,88 e 0,86 e RMSECV de 15,42, 18,32 e 24,82%, para o óleo de coentro adulterado com óleo de palma, soja e canola, respectivamente.

4.4.1.3 Modelo iPLS do EVAO

Na Figura 22, os modelos iPLS que foram construídos usando dados das misturas binárias de EVAO com adulterantes óleos vegetais (algodão, milho e soja). Os intervalos selecionados foram: 18º com $LV = 6$ que corresponde a faixa de temperatura de (-8,08 a 5,76 °C) para o óleo

de algodão; 15° com LV = 3 na faixa de (-40,75 a -32,58 °C) para o óleo de milho; 12° com LV = 7 na faixa de (-74,89 a -59,61 °C) para o óleo de soja, as correções R^2 obtiveram valores a partir de 0,995. Os valores de RMSECV ainda foram maiores do que aqueles obtidos pelos modelos PLS desenvolvidos que estão apresentados na próxima seção.

Figura 22 - Ajuste do modelo de regressão iPLS das misturas

(continua)

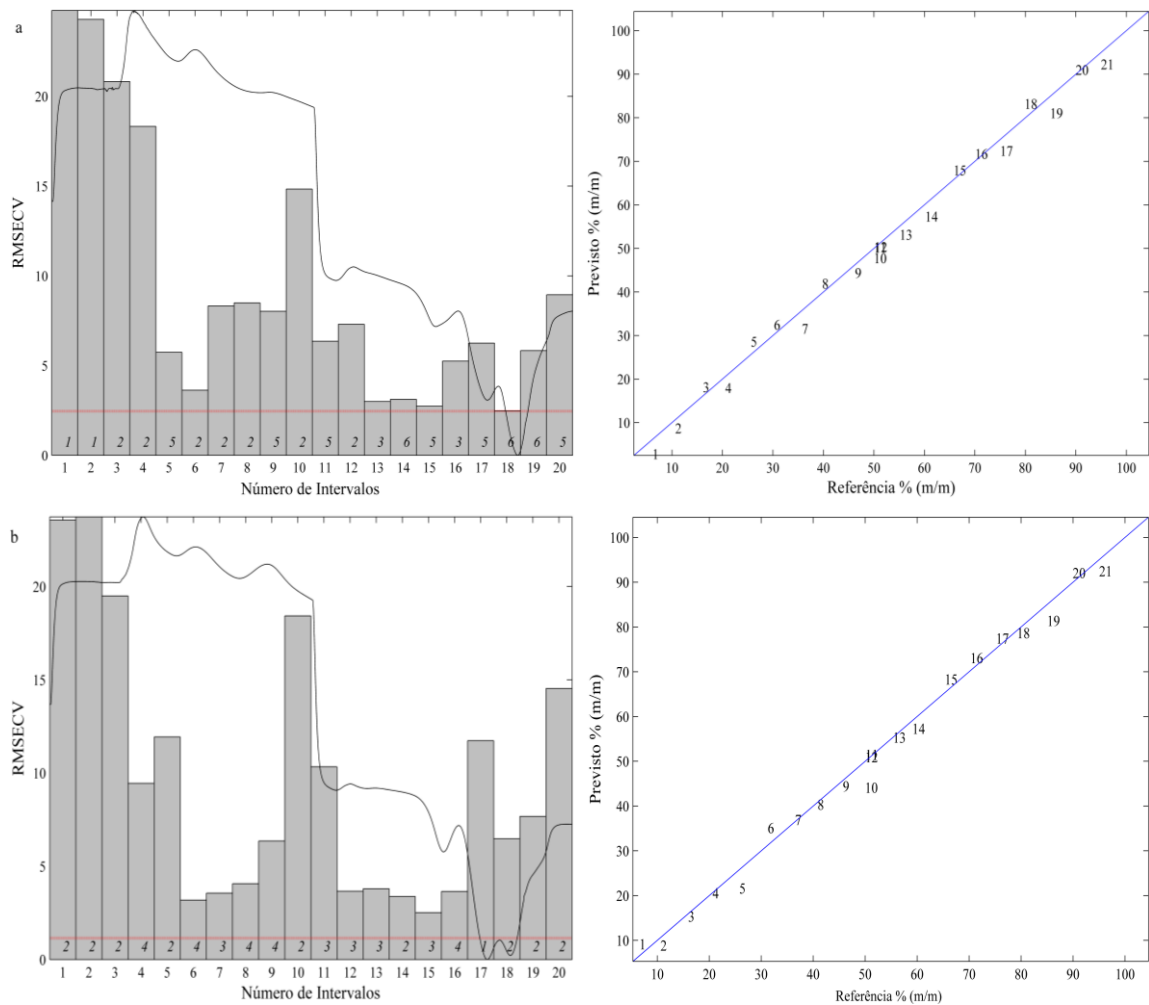
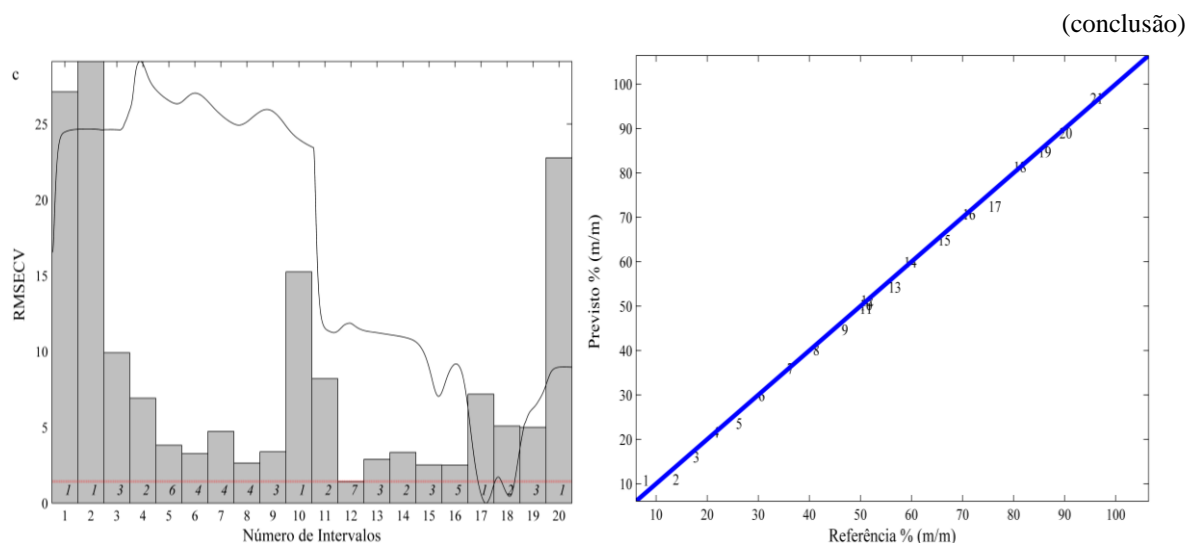


Figura 22 – Ajuste do modelo de regressão iPLS das misturas



Fonte: Autor.

Legenda: a) EVAO com Óleo de Algodão;
 b) EVAO com Óleo de Milho;
 c) EVAO com Óleo de Soja.

4.4.2 Modelo PLS

Nessa seção serão apresentados os modelos PLS construídos a partir dos dados binários das misturas de EVOO com óleos vegetais (girassol, milho e soja), EPO com óleo de soja e de EVAO com óleos (algodão, milho e soja), obtidos a partir das análises realizadas por DSC.

Os modelos foram construídos usando (19 níveis para cada mistura), aos modelos foram incluindo uma mistura em triplicada (a 50% m/m) de forma que foram usados 21 níveis, com LV= 2, 3 e 4 sendo observados valores adequados para RMSE tanto para calibração, validação e predição esses parâmetros de erro avaliam a qualidade dos ajustes de dados. O número de LV foi determinado após analisar graficamente o número de LVs versus os valores de RMSEC e RMSECV, foi possível observa-se uma diminuição inicial acentuada, seguida de um decréscimo menos evidente, seguido de uma continuação ou até mesmo um crescimento. Assim o número de LV escolhido foi onde os valores dos erros deixam de cair de forma brusca e começam a apresentar valores mais estáveis, assim diminuísse os riscos de escolher-se um número excessivo de fatores conduzindo a um modelo superajustado ou um número de fatores insuficiente levando a um modelo subajustado.

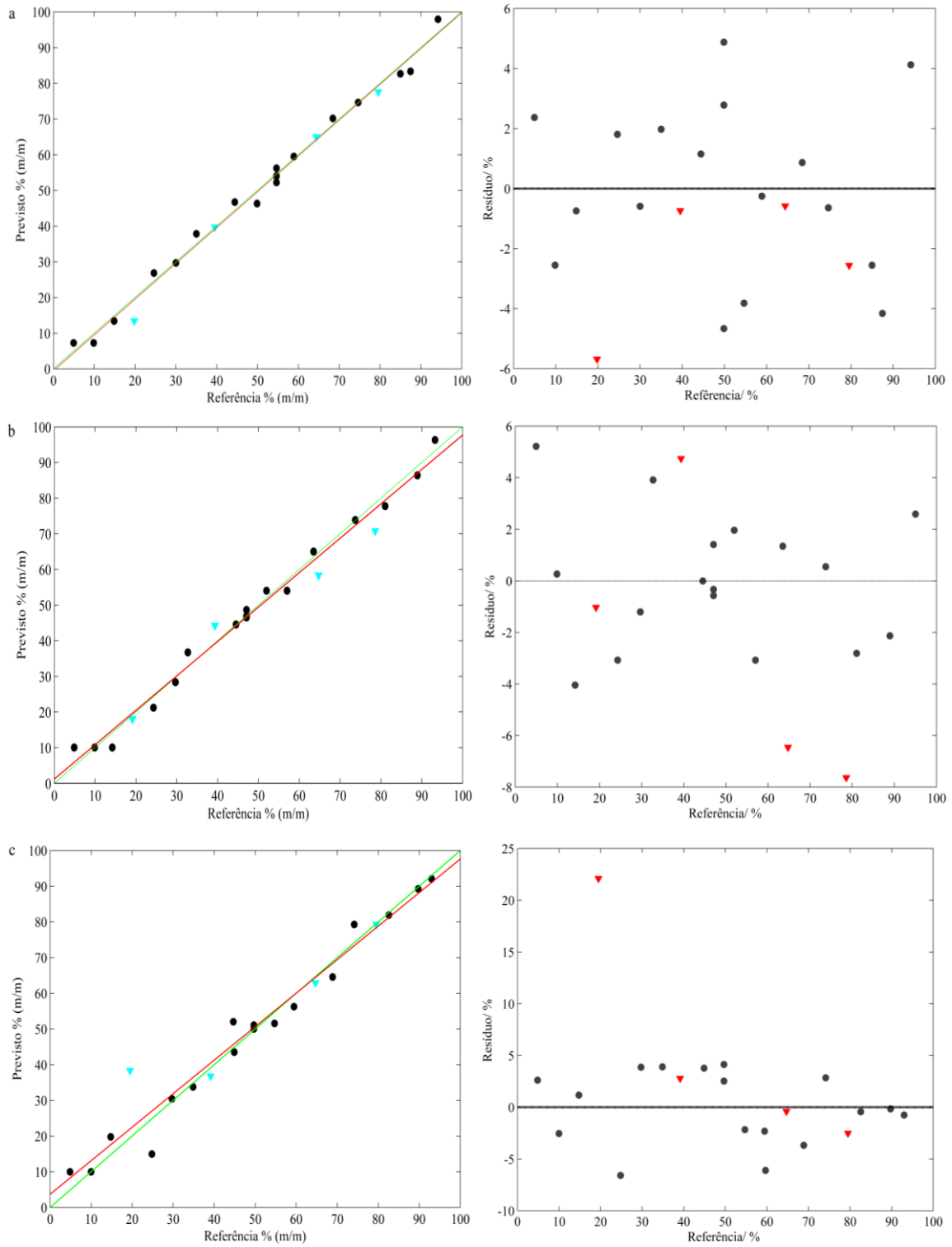
As melhores capacidades de previsão de ambos os modelos foram alcançadas quando os pré-tratamentos realizados nos dados, foram a correção multiplicativa de sinal (*MSC*) e centrados na média (*mean center*) nas amostras.

Segundo Islas *et al.* (2013), os modelos são satisfatórios quando os RMSE estão em torno da faixa de $\pm 5\%$, entretanto, idealmente esses erros serem reduzidos para a faixa de ± 1 ou $\pm 2\%$, se esses erros foram maiores que 10% , as chances de obtenção de um modelo confiável são reduzidas. Todavia, essa não é uma regra absoluta. Os erros de predição são indicativos da capacidade do modelo de prever com precisão amostras desconhecidas. Quando o modelo apresenta um alto RMSEP indica que o modelo não é adequado ou eficaz na previsão. Deste modo, alto valores de R^2 e baixo valores de RMSEP indicam o sucesso do modelo PLS. Modelos aceitáveis devem possuir erros baixos, R^2 alto e pequenas diferenças entre os valores de RMSEC e RMSEP, grandes diferenças entre os valores de RMSEC e RMSEP indicam a introdução de muitos fatores (variáveis latentes) nos modelos, incluindo ruído. O R^2 , que descreve a qualidade do ajuste das concentrações preditas, quanto mais próximo estiver da unidade, melhor o modelo linear explica as variações de y . Portanto a regra geral é: se os erros nas determinações da propriedade de interesse são aproximadamente os mesmos para todas as amostras do conjunto de calibração, o modelo deve prever essa propriedade com aproximadamente a mesma precisão.

4.4.2.1 Modelo PLS do EVOO

Na Figura 23, os modelos PLS foram construídos usando dados binários EVOO com adulterantes óleos vegetais (girassol, milho e soja). Os modelos usaram $LV = 3$ e 4 sendo observado valores adequados para RMSE tanto para calibração, validação e predição. Para estes modelos o R^2 foi maior para todos os parâmetros sendo acima $0,954$. Pode-se observar que os modelos apresentam uma tendência linear. O RMSE também apresentou valores abaixo de 5% . Todos os resíduos apresentaram comportamento homocedástico.

Figura 23 - Ajuste do modelo de regressão PLS e Resíduos das misturas.



Fonte: Autor.

Legenda: a) EVOO com Óleo de Girassol;

b) EVOO com Óleo de Milho;

c) EVOO com Óleo de Soja.

Nota: No modelo de regressão PLS, os conjuntos de calibração e validação são indicados por círculos e triângulos, respectivamente

Para comparar o modelo proposto, alguns estudos sobre a determinação de adulteração em EVOO que abordam o uso de quimiometria estão disponíveis na literatura. Jiang, Zheng e Lu (2015), realizaram uma modelagem quimiométrica (regressão PLS) usando dados espectrofotométricos de UV para a determinação de adulteração de azeite com óleo vegetal. A partir dessas análises foi possível obter menor RMSE (0,001 - 0,710%) e maior R^2 (0,853 - 1,0).

Li *et al.* (2016), monitoraram a adulteração de óleo de camélia com óleo vegetal usando DSC combinado com o método de regressão linear múltipla *stepwise* (SMLR) para avaliar a detecção de adulteração. As curvas de resfriamento e aquecimento DSC combinando o SMLR foi um método eficaz para detectar óleo de camélia adulterado com o limite inferior de detecção de 5% e R^2 superior em 0,999. Enquanto isso, o SMLR médio atingiu apenas 1,26%.

Jiménez-Carvelo e colaboradores (2017), usaram dados de cromatografia líquida para quantificar azeite e óleo de palma em misturas com outros óleos vegetais comestíveis empregando PLS e Suporte Vector Regressão (SVR). Os modelos de quantificação propostos mostraram melhores resultados para o azeite de oliva, do que para o azeite de dendê. A partir dessas análises foi possível obter RMSEV (5,7 e 8,4%) e R^2 (0,99) para o azeite e RMSEV (9,0 e 9,2%) e R^2 (0,99), para o óleo de palma.

Yang e Irudayaraj (2001), comparam técnicas espectroscópicas NIR, MIR e Raman para quantificar a adulteração do óleo de bagaço de azeitona (0 - 100%, em incrementos de 5%). Entre as técnicas avaliadas, a espectroscopia Raman apresentou o melhor R^2 de 0,997 para erro padrão de predição de 1,72%. No entanto, os modelos NIR e MIR apresentaram R^2 de 0,990 e erro padrão de predição de 3,27% e R^2 de 0,991 e erro padrão de predição de 3,28%, respectivamente.

Oussama *et al.* (2012), detectaram e quantificaram adulterações de óleo de soja e girassol em EVOO por MIR e PLS. Um modelo de regressão PLS foi capaz de prever a concentração de adulterantes no EVOO na faixa de 1 - 24% com R^2 de 0,996 e erros de calibração de 0,57%.

Rohman e Che Man (2010), usaram FT-IR para analisar óleo de palma extra virgem com R^2 de 0,998 e erro de validação de 0,453%.

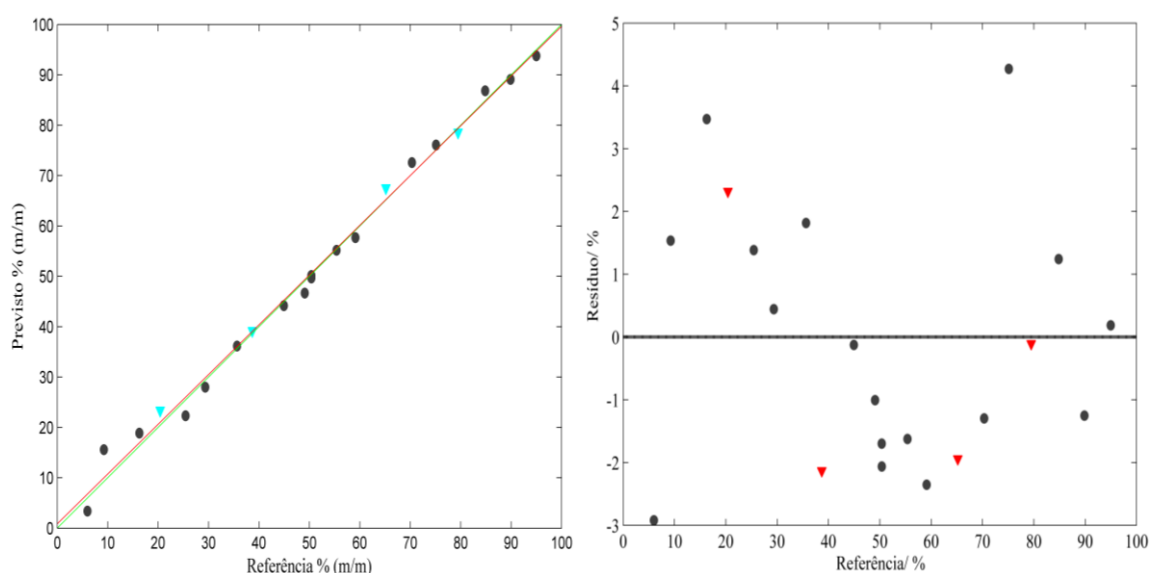
Mata-Espinosa, Bosque-Sandra e Cuadros-Rodríguez (2011), utilizaram a CL-CAD juntamente com a quimiometria para quantificar a presença de óleos vegetais em amostras de EVOO, os autores propuseram um modelo para determinar um único óleo vegetal e um único EVOO, assim apresentando R^2 de 0,99 e RMSECV de 1,76, esse modelo foi classificado como simples no sentido de que apenas modela a variabilidade de uma mistura de dois óleos. Portanto, um modelo mais completo é obtido quando se utiliza uma batelada de diferentes óleos vegetais e um azeite, o modelo mostra um R^2 de 0,96 e um RMSECV de 6,79, o modelo prevê

concentrações de EVOO em diferentes amostras de mistura de diferentes óleos vegetais (soja, canola, sementes, girassol, milho, colza, uva), portanto, esse modelo inclui mais variabilidade. Um modelo foi também proposto usando 10 amostras diferente de EVOO e 10 amostras diferente de óleos vegetais, usando quatro variáveis latentes, embora o modelo apresente um R^2 de 0,91 e um RMSECV 8,64. Assim os autores concluíram que é possível quantificar misturas de óleos comestíveis em EVOO usando CL-CAD, aplicando ferramenta quimiométrica, usando toda a variabilidade e em diferentes concentrações, o modelo mostrou RMSECV menor que 8,6%.

4.4.2.2 Modelo PLS do EPO

Na Figura 24, o modelo PLS foi construído usando dados binários EPO com óleo de soja. O modelo usou $LV = 4$ sendo observado valores adequados para RMSE tanto para calibração, validação e predição. Para este modelo o R^2 foi maior para todos os parâmetros sendo aproximadamente 0,985. Pode-se observar que o modelo apresenta uma tendência linear. O RMSE também apresentou valores abaixo de 5%. O resíduo apresentou comportamento homocedástico.

Figura 24 - Ajuste do modelo de regressão PLS e Resíduo das misturas



Fonte: Autor.

Legenda: EPO com Óleo de Soja.

Nota: No modelo de regressão PLS, os conjuntos de calibração e validação são indicados por círculos e triângulos, respectivamente

Para comparar o modelo proposto, estudos sobre a determinação de adulteração em óleos de prensagem a frio, que abordam o uso de quimiometria estão disponíveis na literatura. Santana *et al.* (2019), utilizaram o modelo de classificação PLS-DA para discriminação o óleo de prímula adulterado com óleo de girassol, milho e soja, durante a construção do modelo foram utilizados LV de 4 uma vez que apresentou o menor valor de RMSE de 0,1121; 0,1143 e 0,1138% para calibração, previsão e validação cruzada, respectivamente.

Kaufmann *et al.* (2022), utilizaram a espectroscopia NIR juntamente com a quimiometria para identificar adulteração em óleo de coentro utilizando óleo vegetais de oleína de palma, canola e soja como adulterantes. Os resultados obtidos através do PLS apresentaram coeficiente de determinação (R^2) de 0,98, 0,99 e 0,99 e RMSEP de 4,12, 4,26 e 5,40%, para o óleo de coentro adulterado com óleo de palma, soja e canola, respectivamente.

Santana *et al.* (2016), utilizaram o modelo de classificação PLS-DA para discriminação o óleo de rosa mosqueta adulterado com óleo de girassol, milho e soja, durante a construção do modelo foram utilizados LV de 4 uma vez que apresentou o menor valor de RMSE (0,2051 e 0,1649%) para previsão e validação cruzada, respectivamente.

Moreira *et al.* (2018), utilizaram espectrômetro NIR portátil e PLS, no desenvolvimento e validação do método, foram utilizadas 53 amostras de óleo de copaíba, a adulteração foi com óleo de soja. Dentre as amostras, 15 eram de óleo de copaíba pura e 31 adulteradas com óleo de soja não usadas, 6 adulteradas com óleo de soja usados para fritura e 1 adulterada com óleo vegetal desconhecido. Quatro modelos foram desenvolvidos e o melhor deles apresentou RMSEP 1,5%, R^2 0,991 e REP menor que 2,0% e expressou precisão com desvios abaixo de 0,7%. Estes resultados indicaram que o método foi adequado para análise de controle de qualidade. Além disso, foi preciso na identificação de amostras com que não estavam presentes no modelo desenvolvido.

Zhu, Zou e Tan (2022), utilizaram a espectroscopia FT-IR juntamente com a quimiometria para analisar adulteração de óleo de semente de cominho com óleo de semente de uva. Para isso o modelo foi construído com base na região completa do espectro ($4000 - 500 \text{ cm}^{-1}$), obtendo LV = 5, RMSECV de 0,0206% e RMSEP de 0,0175%. Segundo os autores o modelo pode quantificar adulteração de óleo de semente de cominho preto na presença de óleo de semente de uva com alta precisão em níveis menores que 5%.

Temiz *et al.* (2021), utilizaram a espectroscopia Raman com PLS-DA para determinação de adulteração em óleos de cominho, amêndoas e noz com óleos de milho e girassol. Os valores encontrados de RMSE para calibração (0,05 – 0,24%), validação cruzada (0,03 – 0,15%) e previsão (0,05 – 0,25%). Os autores indicaram que a espectroscopia Raman aliada à

quimiometria pode ser potencialmente útil tanto para a discriminação de óleos prensados a frio quanto para a rápida determinação de adulteração com óleos mais baratos.

Pan *et al.* (2022), utilizaram a espectroscopia FT-IR e a cromatografia CG-MS juntamente com a quimiometria para determinar adulteração de EPO com óleos de amendoim e girassol, as misturas binárias foram preparadas na faixa de 5 – 40%. A partir dos resultados os autores observaram que o modelo teve capacidade para distinguir EPO, óleo de amendoim, óleo de girassol e óleo adulterado.

4.4.2.3 Modelo PLS do EVAO

Na Figura 25, os modelos PLS foram construídos usando dados binários EVAO com óleo vegetais (algodão, milho e soja). Os modelos usaram LV = 2 e 3 sendo observado valores adequados para RMSE tanto para calibração, validação e predição. Para este modelo o R^2 foi maior para todos os parâmetros sendo aproximadamente 0,986. Pode-se observar que o modelo apresenta uma tendência linear. O RMSE também apresentou valores abaixo de 5%. Todos os resíduos apresentaram comportamento homocedástico.

Figura 25 - Ajuste dos modelos de regressão PLS e Resíduos das misturas

(continua)

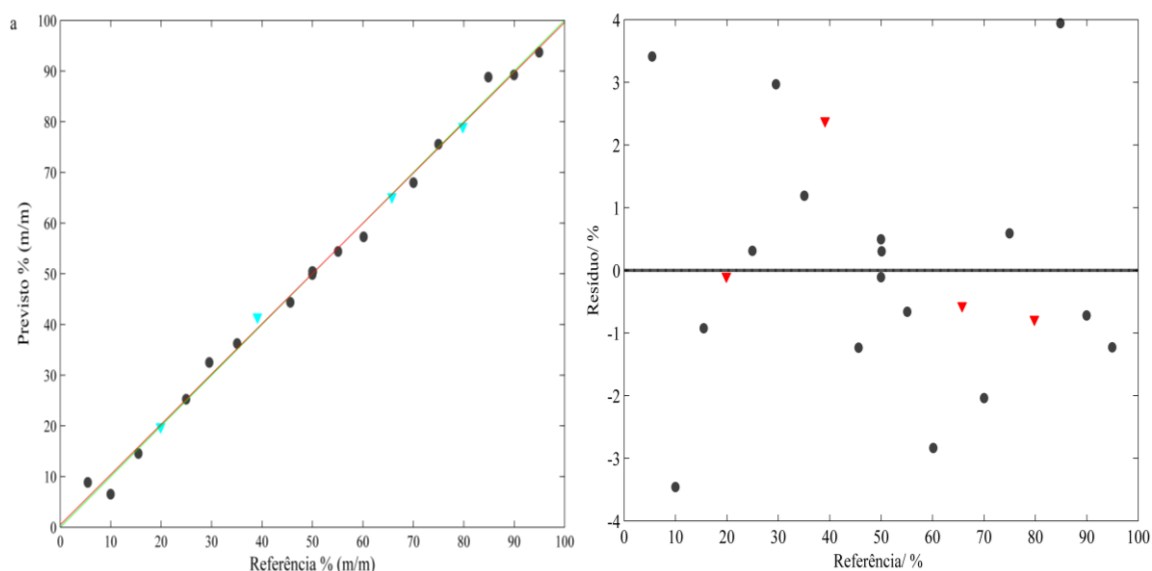
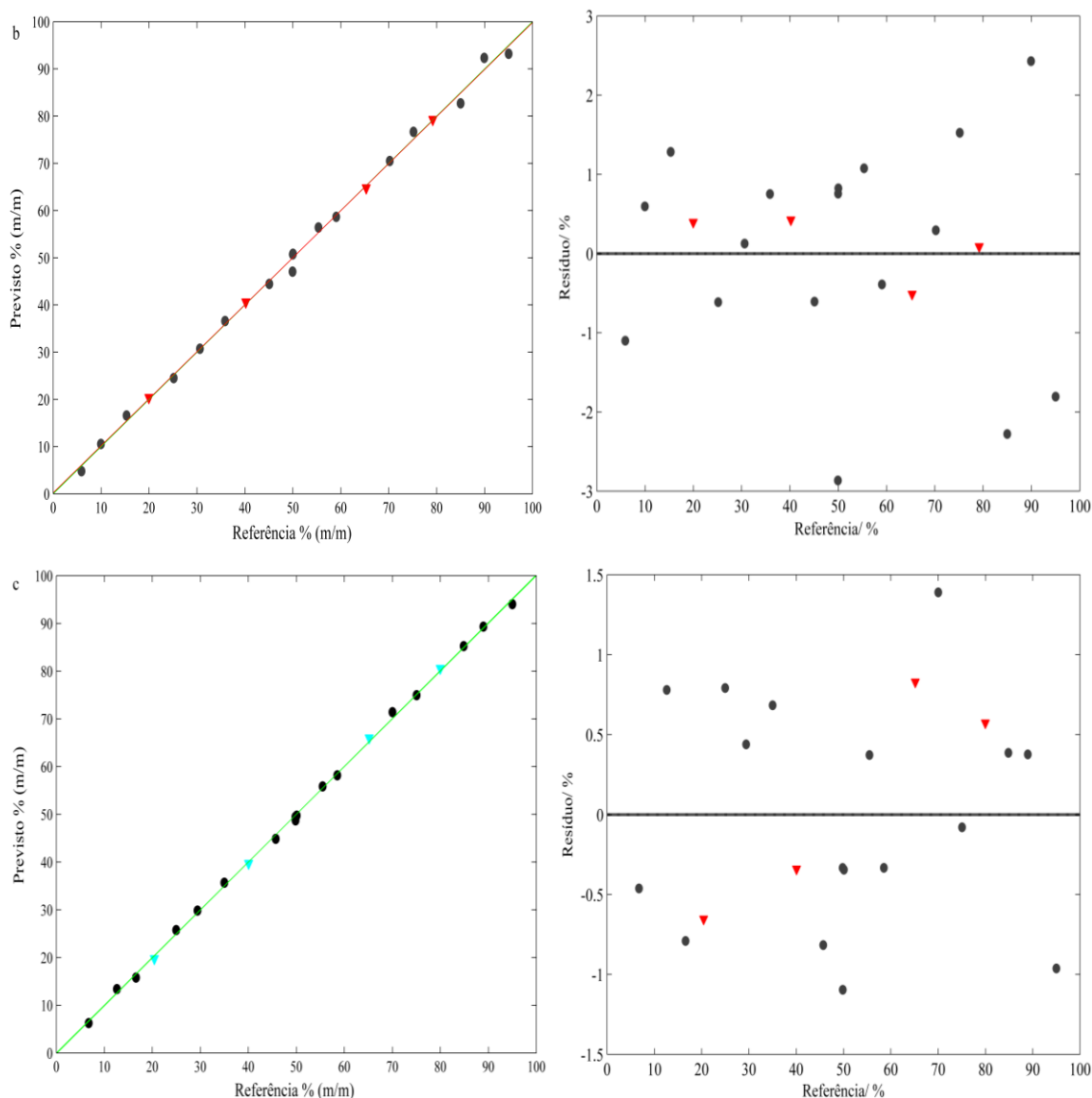


Figura 25 – Ajuste do modelo de regressão PLS e Resíduo das misturas

(conclusão)



Fonte: Autor.

Legenda: a) EVAO com Óleo de Algodão;

b) EVAO com Óleo de Milho;

c) EVAO com Óleo de Soja.

Nota: No modelo de regressão PLS, os conjuntos de calibração e validação são indicados por círculos e triângulos, respectivamente

Para comparar o modelo proposto, estudos sobre a determinação de adulteração em EVAO que abordam o uso de quimiometria estão disponíveis na literatura.

Rohman *et al.* (2016), utilizou a FT-IR juntamente com a quimiometria para determinação de adulteração em azeite de abacate com outros óleos de preço mais baixo, como óleo de palma e canola. Os PLS na região de $1260 - 900 \text{ cm}^{-1}$ revelaram os melhores modelos de calibração, tendo o maior coeficiente de determinação R^2 0,999 e o RMSEC 0,80%, RMESP

0,79%, para análise de óleo de abacate na mistura com óleo de palma. Enquanto isso, o maior R^2 0,9995, RMSEC 0,83% e RMSEP 0,64%, obtidos para óleo de abacate na mistura com óleo de canola na região de 3025 – 2850 e 1260 – 900 cm^{-1} .

Islas *et al.* (2013), utilizaram a FT-IR juntamente com a quimiometria para determinação de adulteração em azeite de abacate com outros óleos de preço mais baixo, como óleo de girassol, canola e soja. Foram construídos modelo de calibração PLS para cada mistura na faixa de 2 - 50% (v/v), a partir dos dados espectrais e suas respectivas análises químicas (peróxido e valor de iodo). Os resultados alcançados pelos autores foram valores de R^2 superiores a 0,98 para os conjuntos de dados de calibração em todos os parâmetros estudados e os valores de SEC ficaram na faixa de 0,04–1,47, dependendo do adulterante ou parâmetro químico. Para os valores de predição o R^2 foi superior a 0,97 e os valores de SEP ficaram na faixa de 0,09–2,81, com LV de 7 – 9 para as misturas de óleo de soja, girassol e canola, respectivamente.

Lumakso *et al.* (2015), quantificaram óleos de soja e milho em óleo de abacate usando a combinação da FT-IR com a quimiometria. Para quantificação foi realizada usando a calibração PLS sendo feitos algum processamento espectral, tais como: espectros sem tratamento, suavização e tratamento de derivação. Os números de onda de 1427-779 cm^{-1} com espectros sem tratamento foram adequados para a quantificação de óleo de soja em óleo de abacate, que revelou alto coeficiente de determinação de 0,9994 e baixo RMSEC 0,86%. Enquanto isso, R^2 de 0,9994 e RMSEC de 0,87%, foram obtidos por PLS nos espectros combinados nas regiões de frequência de 1477-721, 1728-1685 e 3035-2881 cm^{-1} para quantificação de óleo de milho em óleo de abacate. O modelo foi posteriormente validado usando amostras independentes e ofereceu altos valores de R^2 de 0,9994 para óleo de milho e 0,9998 para óleo de soja com RMSEP de 0,88% óleo de milho e 0,52% óleo de soja, respectivamente.

4.4.3 Curva de Calibração univariada

4.4.3.1 Calibração Externa do EVOO

Como foi observado um deslocamento térmico do evento de cristalização do EVOO (-42,91 a -57,51 °C) para cada adulterante, decidiu-se testar uma possível correlação entre a variação de T_{onset} e a proporção de adulterantes nas amostras do estudo. Foram avaliados também possíveis correlações com os valores de entalpia e os valores de entalpia e T_{onset} dos

eventos de fusão, mas sem êxito. Os eventos de fusão não apresentaram correlação devido à sobreposição.

A Figura 26, mostra as regressões univariada e seus gráficos de resíduos dos valores de T_{onset} das misturas. Para a mistura com óleo de girassol, a determinação da curva foi construída na faixa de 30 a 80%, (FIGURA 26a). Valores abaixo de 30% não apresentaram linearidade, portanto, foram retirados da regressão. Para a mistura com milho (FIGURA 26b) e soja (FIGURA 26c) a faixa construída foi de 10 a 65% pois essa faixa apresentou linearidade, a partir dessas faixas utilizadas, os resíduos demonstraram distribuição homocedástico.

Os resultados mostram uma resposta linear nos valores de T_{onset} dos eventos de cristalização à porcentagem dos óleos de girassol, milho e soja adicionados ao EVOO. Os gráficos de resíduos, que apresentaram comportamento homocedástico e resíduos menores que 5%, permitindo concluir que o modelo obteve um bom ajuste.

Figura 26 - Regressão univariada e gráfico dos resíduos dos valores de T_{onset} das misturas
(continua)

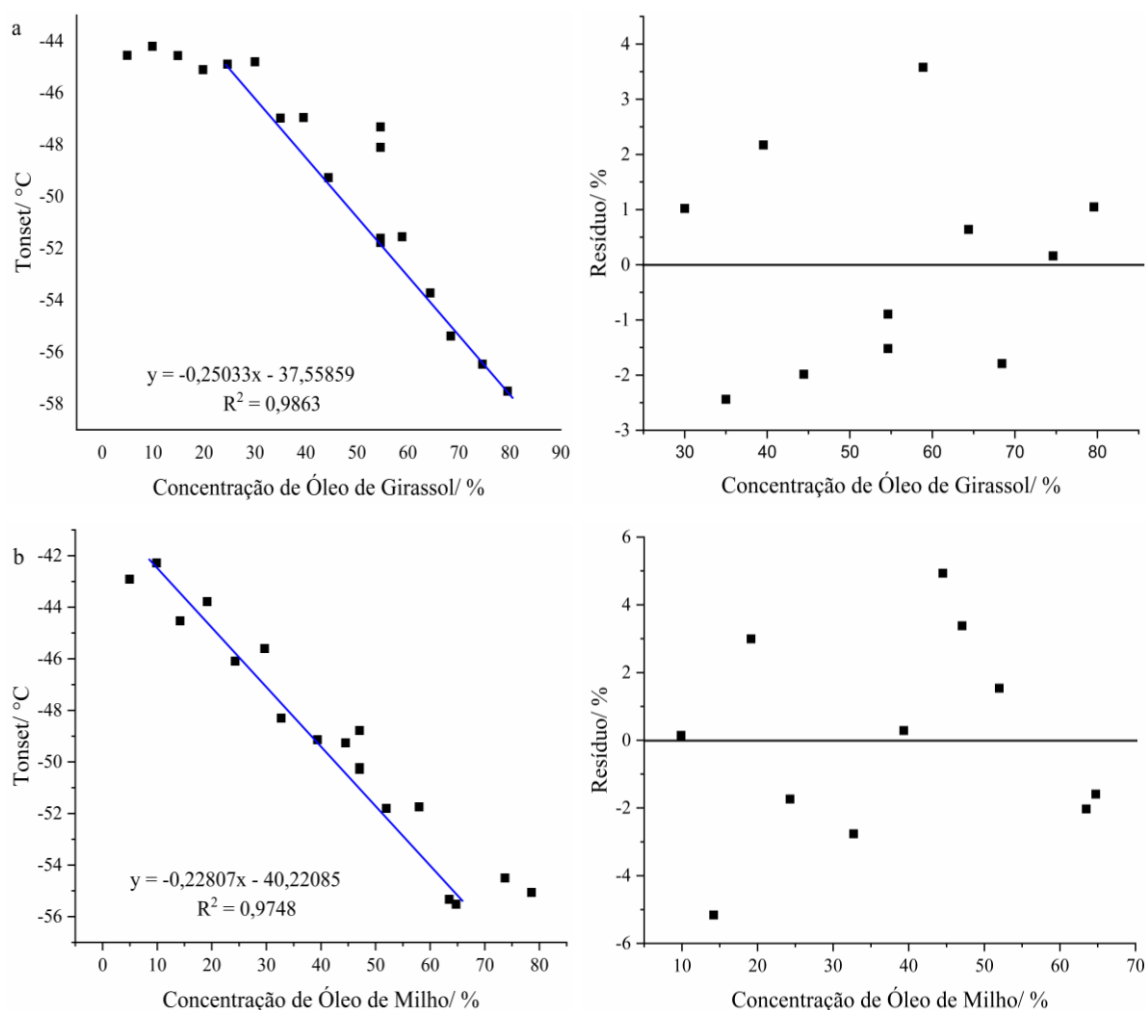
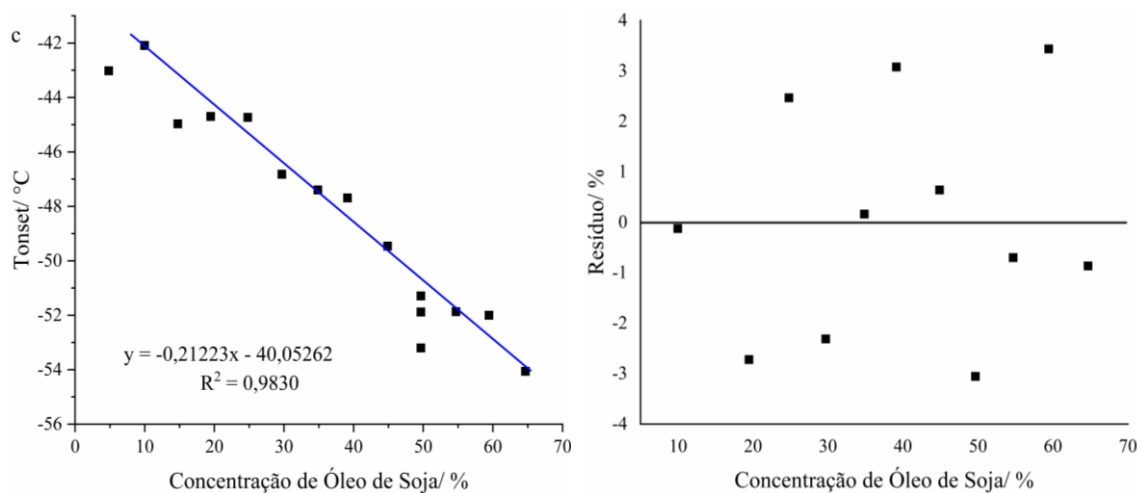


Figura 26 - Regressão univariada e gráfico dos resíduos dos valores T_{onset} das misturas

(conclusão)



Fonte: Autor.

Legenda: a) EVOO com Óleo de Girassol;
 b) EVOO com Óleo de Milho;
 c) EVOO com Óleo de Soja.

Barros e coautores (2011b), utilizaram duas regiões no espectro de Raman, para fazer a calibração univariada como forma de determinação de adulteração de EVOO com óleo de soja. Os RMSE encontrado por eles foram maiores (RMSEC 1,44% e RMSEP 1,98%) dos que encontrado nessa pesquisa que foram de 0,66% e 0,98%, respectivamente. Os autores avaliaram o modelo através da organização dos erros, assim a disposição aleatória dos erros caracteriza a adequação do modelo para o conjunto de dados utilizado. Ao avaliar os erros dos diferentes pontos, os erros não descrevem um comportamento tendencioso, configurando assim um arranjo aleatório (homocedástico).

Zhang *et al.* (2011), empregaram métodos padrão externos (ESM) e máquina vetorial de suporte (SVM) para quantificar o azeite de oliva adulterado com óleo de soja, milho e girassol, relataram erros relativos absolutos de 7,41, 7,78 e 9,45%, respectivamente, para ESM, e 5,10, 6,96 e 4,55%, para SVM, respectivamente.

Shi *et al.* (2019), utilizaram a espectroscopia de absorção visível para analisar adulteração de EVOO com óleos de sementes. Os autores propuseram uma dispersão de Brillouin estimulada (SBS) combinada com o método de espectroscopia de absorção visível para autenticação de óleos vegetais e detecção de adulteração de azeite. Foram apresentados dois comprimentos de onda no qual os autores perceberam as mudanças do SBS em (455 e 670 nm). Os modelos univariado e PLS demonstraram uma correlação adequada, sendo assim

possível a utilização de ambos para determinação de adulterantes em EVOO com os óleos testados. A partir dos comprimentos de onda usados pelos autores, concluíram que os valores de absorção normalizados de todos os espectros nos dois comprimentos de onda diminuem linearmente com o aumento da concentração de adulteração. As mudanças de SBS aumentam exponencialmente com o aumento da concentração de adulteração. Devido ao fato de o método não ser destrutivo e não ser necessário procedimento de pré-tratamento amostral, ele pode ser efetivamente empregado para autenticação e detecção de adulteração de óleos.

A Tabela 16 mostra os resultados dos modelos de regressão DSC-PLS, DSC-iPLS e curva de calibração univariada para os parâmetros de erros quadrados médios de calibração, validação e previsão.

Tabela 16 - Parâmetros do modelo de regressão PLS e iPLS e curva de calibração univariada para o EVOO/óleo de girassol, milho e soja a partir dos dados de DSC

<i>RMSE</i>	<i>EVOO - Girassol</i>			<i>EVOO - Milho</i>			<i>EVOO - Soja</i>		
	<i>PLS</i>	<i>iPLS</i>	<i>Univariado</i>	<i>PLS</i>	<i>iPLS</i>	<i>Univariado</i>	<i>PLS</i>	<i>iPLS</i>	<i>Univariado</i>
<i>RMSEC</i>	2,34	-	0,59	2,61	-	0,88	4,02	-	0,66
<i>RMSECV</i>	4,19	11,05	-	5,63	18,67	-	5,29	16,84	-
<i>RMSEP</i>	3,36	-	1,34	5,62	-	1,54	9,55	-	0,98
<i>R²C</i>	0,992	-	0,986	0,990	-	0,975	0,977	-	0,983
<i>R²CV</i>	0,975	0,904	-	0,954	0,689	-	0,960	0,762	-
<i>R²P</i>	0,992	-	0,986	0,969	-	0,975	0,988	-	0,983
<i>Intervalo</i>	-	12	-	-	17	-	-	18	-
<i>LV</i>	3	-	-	4	3	-	4	2	-
<i>Faixa</i>	5 – 95%		30 – 80%	5 – 95%		10 – 65%	5 – 95%		10 – 65%

Fonte: Autor.

Como observado na Tabela 16, através dos valores de RMSE e seus respectivos R^2 os modelos PLS se mostraram satisfatórios para determinação de adulteração em EVOO, mediante os RMSE apresentarem em torno de $\pm 5\%$ como citado anteriormente.

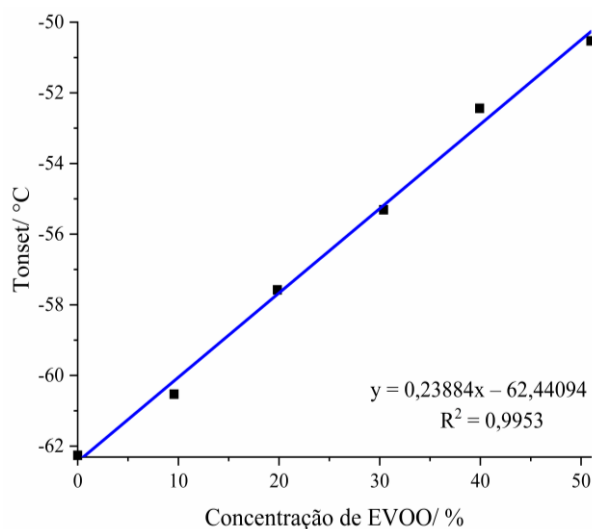
O modelo univariado também mostrou baixos RMSE para determinação de adulteração em EVOO, porém a faixa de construção do modelo é menor em relação ao modelo multivariado, assim os modelos univariados é satisfatório como análises preliminares para detecção de adulterantes.

4.4.3.1.1 Curva de Calibração método *Spiking*

Após a observação de que a curva de calibração univariada apresentou correlação adequada quando se utiliza os dados de T_{onset} do evento de cristalização das misturas EVOO/óleos, foi proposto a construção de outro modelo de calibração univariado, sendo este o método de adição de padrão. Para o desenvolvimento deste método, foi adquirido uma amostra comercial de óleo composto, no qual em seu rótulo descrevia que a composição da mistura era de óleo de soja com a presença de 10% de óleo de oliva. Esta amostra foi adicionada concentrações crescentes de EVOO de 10 – 50%. A partir dos dados de T_{onset} do evento de cristalização, foi construída a curva de adição de padrão.

Para a determinação da concentração de EVOO na amostra do óleo composto, foi utilizada a regressão obtida. A partir da equação da reta e da extrapolação foi possível encontrar a concentração de EVOO na amostra comercial. A curva da adição de padrão pode ser observada na Figura 27.

Figura 27 - Curva de Calibração por Adição de padrão

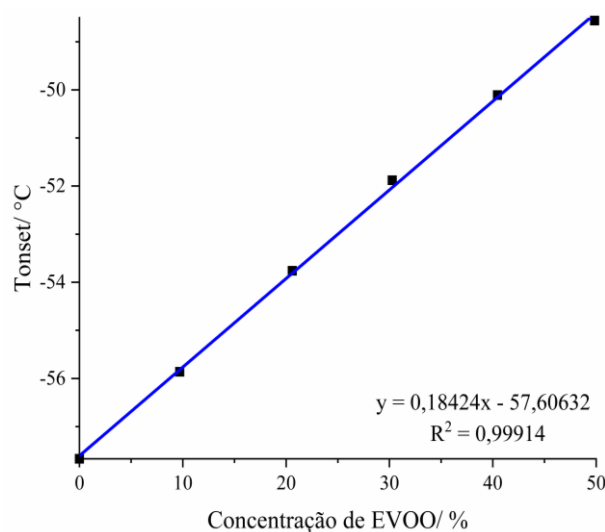


Fonte: Autor.

Para que fosse possível a determinação da concentração foi preciso a subtração do valor de T_{onset} do óleo de soja puro, com isso foi adquirido uma nova amostra comercial de óleo de soja de lote diferente, apresentando um valor de T_{onset} de $-59,66$ °C, assim a concentração de EVOO encontrado foi 11,65%, apresentando concentração maior que a indicada no rótulo.

Posterior a construção do modelo da curva de calibração de adição de padrão, foi proposto a construção de uma nova curva de adição padrão, no qual foi realizada uma simulação de uma mistura de óleo de soja/EVOO na concentração 90/10%, para obtenção de uma amostra com concentração similar à do comercial, e em seguida a mesma foi adicionada concentrações crescentes de EVOO 10 – 50%, como é apresentada na Figura 28.

Figura 28 - Curva de Adição padrão da mistura óleo soja/EVOO



Fonte: Autor.

A partir dessa nova curva de adição de padrão, foi possível avaliar o desenvolvimento desse novo método de adição de padrão para análise de adulteração em EVOO com óleo de soja. A partir da equação da reta e da extrapolação foi possível encontrar a concentração de EVOO na mistura, apresentando concentração de 11,15%.

Devido à ausência de artigos na literatura voltados para a análise de adulteração a partir do método de adição de padrão com a técnica de DSC foi utilizado como exemplo o artigo a seguir.

Leyk e coautores (2019), desenvolveram uma metodologia para determinação de paracetamol em amostras comerciais de supositórios, a partir do DSC utilizando o pico de fusão. O método de adição padrão múltiplo foi escolhido como forma de calibração. Com exceção da formulação contendo 50 mg de paracetamol, o desvio padrão relativo de todas as determinações de DSC variou na faixa de 0,27 a 2,64%, enquanto o erro relativo variou entre 0,24 e 12,50%. Assim o estudo demonstrou que o uso do DSC pode ser empregado com sucesso como método simples, específico e confiável para a determinação de paracetamol em supositórios com base

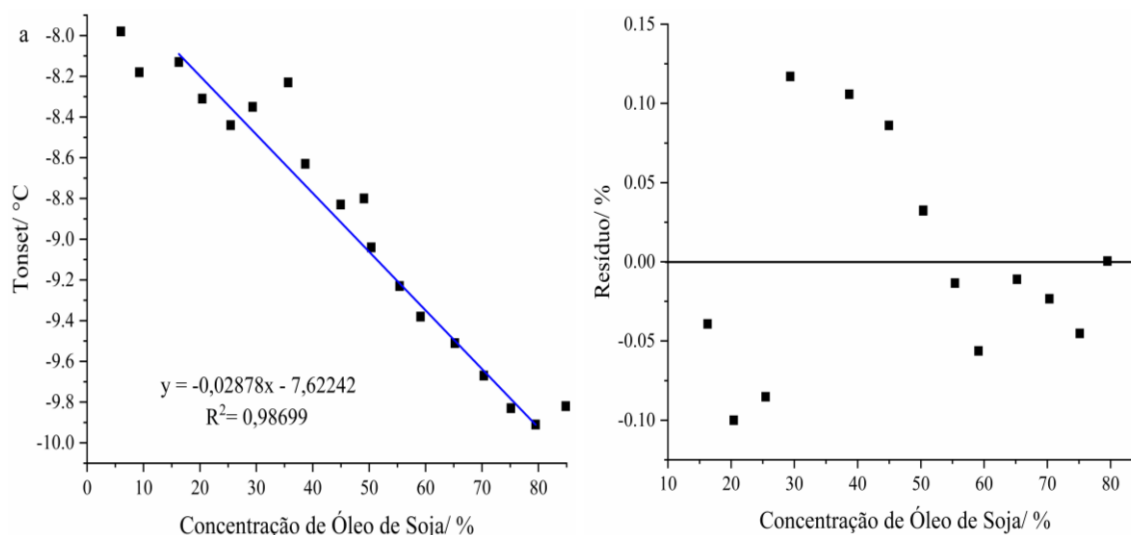
na medição do seu pico de fusão. Os resultados são consistentes, comparando com os dados obtidos por espectrofotometria UV sendo este último um método farmacopeico de referência.

4.4.3.2 Calibração Externa EPO

Foi construído o modelo de calibração externa para as misturas os EPO/óleo de soja, utilizando o segundo evento de fusão (-13,5 – 1,5 °C). Para isso, testou-se uma possível correlação entre a variação de T_{onset} e a proporção de adulterante na amostra do EPO. Foram avaliados também possíveis correlações com valores de entalpia e valores de entalpia e T_{onset} do evento de cristalização e o primeiro evento fusão, mas sem êxito.

A faixa de construção foi de 15 – 80% valores fora desse intervalo não apresentação linearidade. O gráfico de resíduo, apresentou comportamento homocedástico e resíduo menor que 0,15%, permitindo inferir que o modelo obteve ajuste adequado. A Figura 29 mostra a regressão univariada e o gráfico de resíduos dos valores de T_{onset} das misturas. Para a mistura com óleo de soja.

Figura 29 - Regressão univariada e gráfico dos resíduos dos valores de T_{onset} das misturas



Fonte: Autor.

A Tabela 17 mostra os resultados dos modelos de regressão DSC-PLS, DSC-iPLS e curva de calibração univariada para os parâmetros de erros quadrados médios de calibração, validação e previsão.

Tabela 17 - Parâmetros do modelo de regressão PLS e iPLS e curva de calibração univariada para o EPO/óleo de soja a partir dos dados de DSC

<i>RMSE</i>	<i>EPO - Soja</i>		
	<i>PLS</i>	<i>iPLS</i>	<i>Univariado</i>
<i>RMSEC</i>	2,26	-	0,60
<i>RMSECV</i>	3,27	2,23	-
<i>RMSEP</i>	1,94	-	1,06
<i>R²C</i>	0,997	-	0,987
<i>R²CV</i>	0,985	0,996	-
<i>R²P</i>	0,997	-	0,987
<i>Intervalo</i>	-	17	-
<i>LV</i>	4	3	-
<i>Faixa</i>	5 – 95%		15 - 80%

Fonte: Autor.

Como observado na Tabela 17, através dos valores de RMSE e seus respectivos R^2 os modelos PLS se mostraram satisfatórios para determinação de adulteração em EPO, mediante os RMSE apresentarem em torno de $\pm 2\%$ como citado anteriormente.

O modelo univariado também mostrou baixos RMSE para determinação de adulteração em EPO, porém a faixa de construção do modelo é menor em relação ao modelo multivariado, assim o modelo univariado é satisfatório como análise preliminar para detecção de adulterante.

4.4.3.3 Calibração Externa EVAO

Foram construídos os modelos de calibração externa para as misturas os EVAO/óleos vegetais, utilizando o evento de fusão para o óleo de algodão (-14,7 – 13,7°C); e o evento de cristalização para o óleo de milho (-51,6 à -75,5 °C) e soja (-50,8 à -77,4 °C), decidiu-se testar uma possível correlação entre a variação de T_{onset} e a proporção de adulterante na amostra do EVAO. Foram avaliados também possíveis correlações com valores de entalpia e T_{onset} dos eventos de cristalização para o óleo de algodão e dos eventos de fusão para o óleo de milho e soja, mas sem êxito.

A Figura 30, mostra as regressões univariada e seus gráficos de resíduos dos valores de T_{onset} das misturas. Para a mistura com óleo de algodão, a determinação da curva foi construída

na faixa de 15 a 95%, (FIGURA 30a). Para a mistura com milho de 5 a 95% (FIGURA 30b) e soja de 5 a 90% (FIGURA 30c) pois essa faixa apresentou linearidade, a partir dessas faixas utilizadas, os resíduos demonstraram distribuição homocedástico. O gráfico de resíduo, apresentou comportamento homocedástico e resíduo menor que 1%, permitindo concluir que o modelo obteve um bom ajuste.

Figura 30 - Regressão univariada e gráfico dos resíduos dos valores de T_{onset} das misturas

(continua)

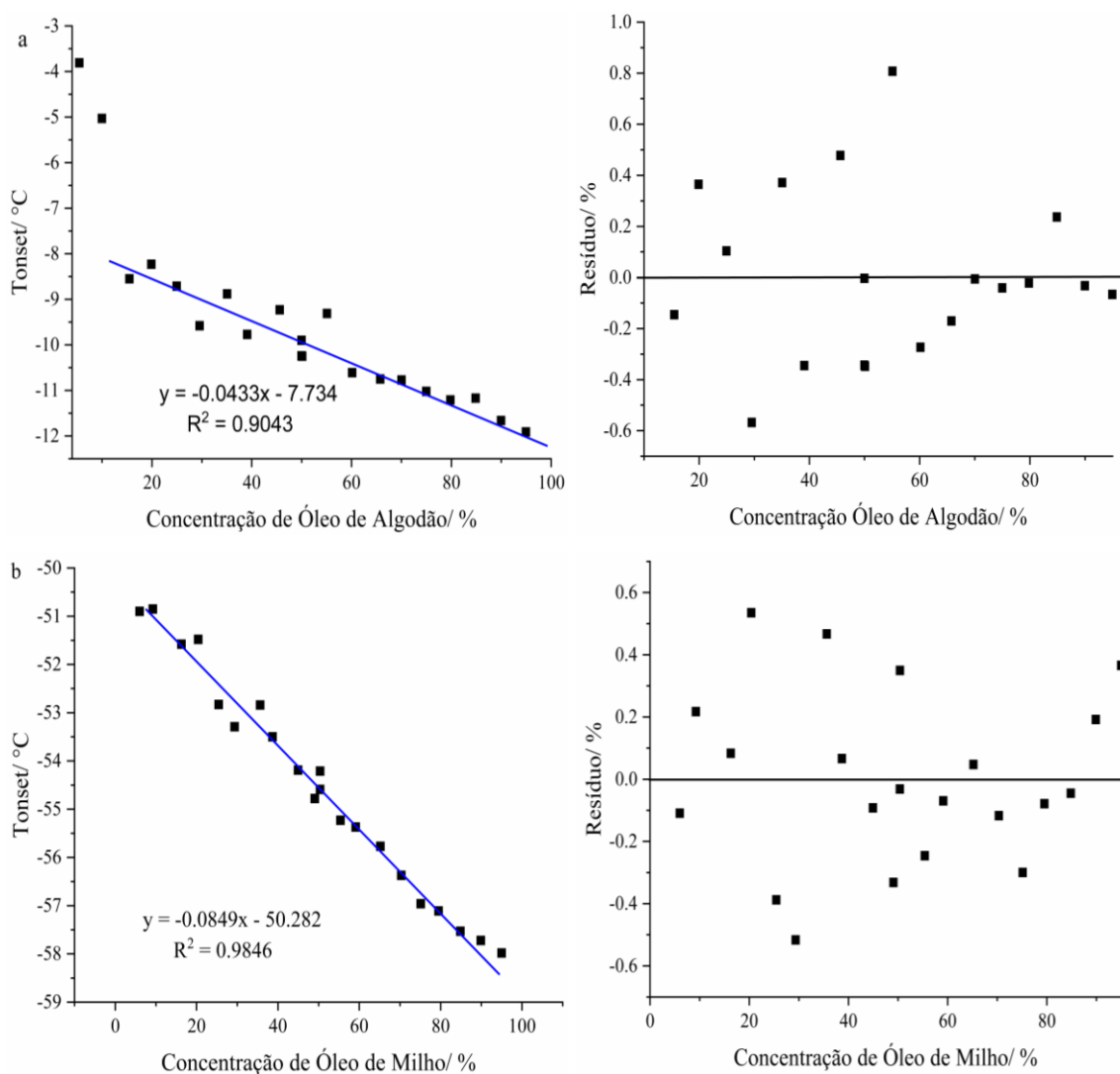
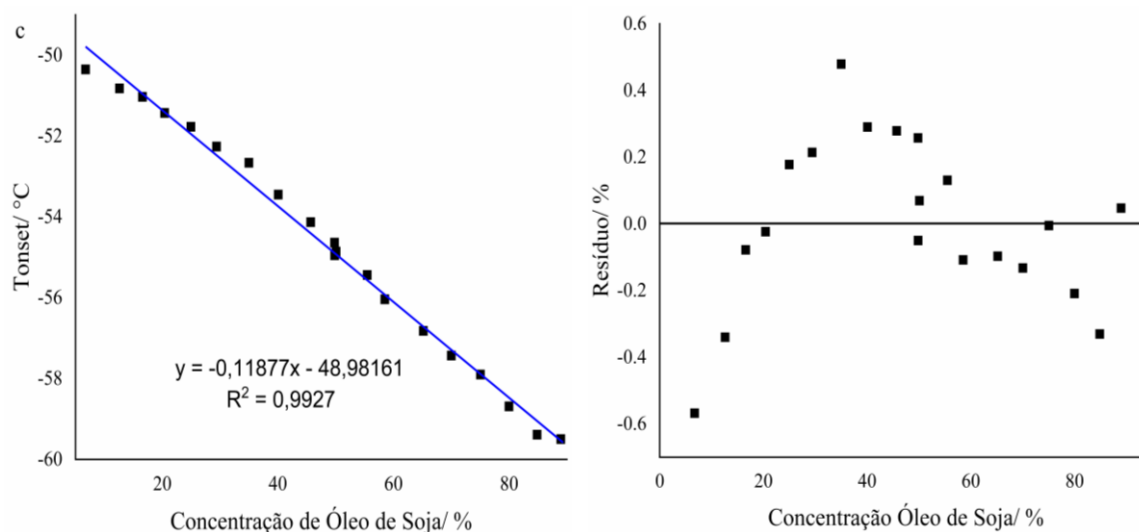


Figura 30 - Regressão univariada e gráfico dos resíduos dos valores T_{onset} das misturas

(conclusão)



Fonte: Autor.

Legenda: a) EVAO com Óleo de Algodão;

b) EVAO com Óleo de Milho;

c) EVAO com Óleo de Soja.

A Tabela 18 mostra os resultados dos modelos de regressão DSC-PLS, DSC-iPLS e curva de calibração univariada para os parâmetros de erros quadrados médios de calibração, validação e previsão.

Tabela 18 - Parâmetros do modelo de regressão PLS e iPLS e curva de calibração univariada para o EVAO/óleo de algodão, milho e soja a partir dos dados de DSC

<i>RMSE</i>	<i>EVOO - Algodão</i>			<i>EVOO - Milho</i>			<i>EVOO - Soja</i>		
	<i>PLS</i>	<i>iPLS</i>	<i>Univariado</i>	<i>PLS</i>	<i>iPLS</i>	<i>Univariado</i>	<i>PLS</i>	<i>iPLS</i>	<i>Univariado</i>
<i>RMSEC</i>	1,99	-	1,97	1,37	-	0,82	0,70	-	0,59
<i>RMSECV</i>	3,18	2,48	-	2,06	2,52	-	0,95	1,41	-
<i>RMSEP</i>	1,29	-	3,63	0,39	-	1,38	0,62	-	0,56
<i>R²C</i>	0,994	-	0,904	0,997	-	0,985	0,999	-	0,993
<i>R²CV</i>	0,986	0,996	-	0,994	0,995	-	0,999	0,999	-
<i>R²P</i>	0,998	-	0,904	1,000	-	0,985	1,000	-	0,993
<i>Intervalo</i>	-	18	-	-	15	-	-	12	-
<i>LV</i>	3	6	-	3	-	-	2	7	-
<i>Faixa</i>	5 – 95%		15 – 95%	5 – 95%			5 – 95%		5 - 90%

Fonte: Autor.

Como observado na Tabela 18, através dos valores de RMSE e seus respectivos R^2 os modelos PLS se mostraram satisfatórios para determinação de adulteração em EVAO, mediante os RMSE apresentarem em torno de $\pm 1\%$ como citado anteriormente.

O modelo univariado também mostrou baixos RMSE para determinação de adulteração em EVAO, porém a faixa de construção do modelo é menor em relação ao modelo multivariado, assim os modelos univariados é satisfatório como análises preliminares para detecção de adulterantes.

Segundo Barros e coautores (2021a), o modelo univariado com a utilização de eventos específicos pode indicar mais rapidamente a presença do adulterante. No entanto, este modelo só é capaz de uma análise preliminar, onde a previsão da concentração de adulterantes

5 CONCLUSÃO

Neste trabalho foram utilizadas técnicas de caracterização tais como: cromatografia gasosa, espectroscopia vibracional na região do infravermelho, espectroscopia de ressonância magnética nuclear, termogravimetria e calorimetria exploratória diferencial.

Os resultados obtidos por meio da cromatografia gasosa mostraram as diferentes concentrações dos ácidos graxos presentes nos óleos analisados. Com essas diferenças foram possíveis compreender que os óleos extraídos por prensagem à frio apresentam maiores proporções de ácido oleico enquanto os óleos extraídos por solvente apresentam proporções de ácido linoleico.

Por meio da espectroscopia vibracional na região do infravermelho e da espectroscopia de ressonância magnética nuclear, os espectros mostraram similaridade nas posições e formas sendo difícil a diferenciação dos óleos testados.

A termogravimetria também se mostrou pouco eficiente na caracterização dos óleos uma vez que os eventos de decomposição foram sobrepostos.

Já a calorimetria exploratória diferencial associada aos modelos multivariados e univariados mostraram ser convenientes para avaliação da qualidade de óleos vegetais extraídos por prensagem à frio que são muitos suscetíveis à adulteração para fins comerciais.

Dentre os modelos quimiométricos propostos para o EVOO, EPO e EVAO o modelo PLS apresentou melhores resultados em relação ao iPLS. Entretanto os modelos univariados utilizando T_{onset} , apresentou resultados no qual podem ser utilizados como análise preliminar para detecção de adulterantes em EVOO, EPO e EVAO com os óleos testados nesta pesquisa.

Outro modelo univariado como o de adição de padrão também apresentou resultado aptos para a determinação da concentração de EVOO em amostra comercial.

REFERÊNCIAS

- ADHVARYU, A.; ERHAN, S. Z.; PEREZ, J. M. Wax appearance temperatures of vegetable oils determined by differential scanning calorimetry: effect of triacylglycerol structure and its modification. **Thermochimica Acta**, v. 395, p. 191-200, 2003.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução nº 270, 2005. **Regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal**. Brasília, DF, 22 set. 2005. Disponível em: <http://www.azeiteonline.com.br/wp-content/uploads/2011/04/anvisa-resolucao-rdc270-de-22-09-2005.pdf>. Acesso em: 13 mar. 2020.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução nº 87, 2021. **lista de designações e composição de ácidos graxos dos óleos e gorduras vegetais, incluindo os óleos e gorduras fracionados**. Brasília, DF, 15 mar. 2021. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/5887540/IN_87_2021_.pdf/10472f9f-5e55-4da1-84a7-04f24d26c858#:~:text=Estabelece%20a%20lista%20de%20esp%C3%A9cies,que%20lhe%20confere%20o%20art. Acesso em: 13 abr. 2021.
- AKTAS, N.; KAYA, M. Detection of beef body fat and margarine in butterfat by differential scanning calorimetry. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 66, p. 795-801, 2001.
- ALONSO-SALCES, R. M. *et al.* ¹H-NMR fingerprinting and supervised pattern recognition to evaluate the stability of virgin olive oil during storage. **Food Control**, v. 123, p. 107831, 2021.
- ALONSO-SALCES, R. M. *et al.* Virgin olive oil authentication by multivariate analyses of ¹H NMR fingerprints and $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^2\text{H}$ data. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 5586–5596, 2010.
- AMORIM, T. L. *et al.* A validated capillary electrophoresis method for fatty acid determination in encapsulated vegetable oils supplements. **LWT – Food Science and Technology**, v. 114, p. 108380, 2019.
- ANGIULI, M. *et al.* Calorimetry for fast authentication of edible oils. **International Journal of Thermophysics**, v. 30, p. 1014-1024, 2009.
- ANGIULI, M. *et al.* Calorimetry of edible oils: Isothermal freezing curve for assessing extra-virgin olive oil storage history. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 109, p. 1010-1014, 2007.
- ANGIULI, M. *et al.* On testing quality and traceability of virgin olive oil by calorimetry. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 84, p. 105-112, 2006.
- ASLANI S.; ARMSTRONG D. W. High information spectroscopic detection techniques for gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1676, p. 463255, 2022.

- AURELIE, S. N. A.; NJINTANG, N. Y.; MBOFUNG, C. M. F. Effect of soaking and roasting on the physicochemical and pasting properties of soybean flour. **Foods**, v.6, p. 1-10, 2017.
- AYALA, A. P. *et al.* Solid-state characterization of olanzapine polymorphs using vibrational spectroscopy. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 326, p. 69–79, 2006.
- BAO, R.; TANG, F.; RICH, C.; HATZAKIS, E. A comparative evaluation of low-field and high-field NMR untargeted analysis: Authentication of virgin coconut oil adulterated with refined coconut oil as a case study. **Analytica Chimica Acta**, v. 1276, p. 341537, 2023.
- BARBA, L.; ARRIGHETTI, G.; CALLIGARIS, S. Crystallization and melting properties of extra virgin olive oil studied by synchrotron XRD and DSC. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 115, p. 322-329, 2013.
- BARROS, I. H. A. S. *et al.* Use of portable Raman spectroscopy in the quality control of extra virgin olive oil and adulterated compound oils. **Vibrational Spectroscopy**, v. 116, p. 103299, 2021a.
- BARROS, I. H. A. S. *et al.* Design experiments to detect and quantify soybean oil in extra virgin olive oil using portable Raman spectroscopy. **Vibrational Spectroscopy**, v. 116, p. 103294, 2021b.
- BERASATEGI, I. *et al.* Stability of avocado oil during heating: Comparative study to olive oil. **Food Chemistry**, v. 132, p. 439-446, 2012.
- BRAGA, J. W. B.; POPPI, R. J. Figures of merit for the determination of the polymorphic purity of carbamazepine by infrared spectroscopy and multivariate calibration. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 93, p. 2124-2134, 2004.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária. **Limites de tolerância de parâmetros de análise complementares do azeite de oliva e do óleo de bagaço de oliva**. Brasília, DF: MAPA, 2018. Disponível em: 20105945-instrucao-normativa-n-24-18-6-2018.pdf (agricultura.rs.gov.br). Acesso em: 13 mar. 2020.
- BRONDI, A. M. *et al.* Differential scanning calorimetry and infrared spectroscopy combined with chemometric analysis to the determination of coffee adulteration by corn. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 28, p. 1308-1314, 2017.
- CAI, S. *et al.* An expert system based on ¹H NMR spectroscopy for quality evaluation and adulteration identification of edible oils. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 84, p. 103316, 2019.
- CALLAO, P. M.; RUISÁNCHEZ, I. An overview of multivariate qualitative methods for food fraud detection. **Food Control**, v. 86, p. 283-293, 2018.
- CALVANO, C. D.; AREASTA, A.; ZAMBONIN, C. G. Detection of hazelnut oil in extra virgin olive oil by analysis of polar components by micro-solid phase extraction based on hydrophilic liquid chromatography and MALDI-ToF mass spectrometry. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 45, p. 981–988, 2010.

CANEVAROLO JR., S. V. **Técnicas de caracterização de polímeros**. São Paulo: Artliber Editora, 2003.

CATELANI, T. A. *et al.* A non-invasive real-time methodology for the quantification of antioxidant properties in coffee during the roasting process based on Near-Infrared Spectroscopy. **Food Bioprocess Technology**, v. 10, p. 630-638, 2017.

ÇELEKLI, A., GUN, D., BOZKURT, H. Bleaching of olive pomace oil with *Spirulina platensis* as an eco-friendly process. **Algal Research**, v. 54, p. 102210, 2021.

CERRETANI, L. *et al.* Application of partial least square regression to differential scanning calorimetry data for fatty acid quantitation in olive oil. **Food Chemistry**, v. 127, p. 1899-1904, 2011.

CHE MAN, Y. B.; TAN, C. P. Comparative differential scanning calorimetric analysis of vegetable oils: II. Effect of cooling rate variation. **Phytochemical Analysis**, v. 13, p. 142-151, 2002.

CHIAVANO, E. *et al.* Correlation between thermal properties and chemical composition of Italian virgin olive oils. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 112, p. 580-592, 2010.

CHIAVANO, E. *et al.* Differential scanning calorimetry detection of high oleic sunflower oil as an adulterant in extra-virgin olive oil. **Journal Food Lipids**, v. 16, p. 227-244, 2009.

CHIAVARO, E. *et al.* Differential scanning calorimeter application to the detection of refined hazelnut oil in extra virgin olive oil. **Food Chemistry**, v. 110, p. 248-256, 2008a.

CHIAVARO, E. *et al.* Monovarietal extra virgin olive oils. correlation between thermal properties and chemical composition: heating thermograms. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 496-501, 2008b.

CICERO, N. *et al.* Chemical characterization of a variety of cold-pressed gourmet oils available on the Brazilian market. **Food Research International**, v. 109, p. 517-525, 2018.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Fast, oil and related product**. Rome: Food and Agricultura Organization, 2001. v. 8.

CONTE, L. *et al.* Olive oil quality and authenticity: A review of current EU legislation, standards, relevant methods of analyses, their drawbacks and recommendations for the future. **Trends in Food Science & Technology**, v. 105, p. 483-493, 2020.

CRAIG, D. Q. M.; READING, M. **Thermal analysis of pharmaceuticals**. Boca Raton: CRC Press, 2007.

DAHIMI, O. *et al.* Multivariate statistical analysis treatment of DSC thermal properties for animal fat adulteration. **Food Chemistry**, v. 158, p. 132-138, 2014.

- DAIS, P.; HATZAKIS, E. Quality assessment and authentication of virgin olive oil by NMR spectroscopy: A critical review. **Analytica Chimica Acta**, v. 765, p. 1-27, 2013.
- DANEZIS, G. P. *et al.* Food authentication: techniques, trend & emerging approaches. **Trend in Analytical Chemistry**, v. 85, p. 123-132, 2016.
- DANIEL, D. *et al.* Detection of coffee adulteration with soybean and corn by capillary electrophoresis-tandem mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 243, p. 305-310, 2017.
- DENG, G. F. *et al.* Antioxidant capacities and total phenolic contents of 56 vegetables. **Journal of Functional Foods**, v. 5, p. 260-266, 2013.
- DOWNEY, G.; MCINTYRE, P.; DAVIES, A. N. Detecting and quantifying sunflower oil adulteration in extra virgin olive oils from the eastern Mediterranean by visible and near-infrared spectroscopy. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 5520–5525, 2002.
- DU, L. *et al.* Rapid detection of milk adulteration using intact protein flow injection mass spectrometric fingerprints combined with chemometrics. **Food Chemistry**, v. 240, p. 573-578, 2018.
- DUARTE, P. F. *et al.* Avocado: characteristics, health benefits, and uses. **Ciência Rural**, v. 46, p. 747-754, 2016.
- EBRAHIMI-NAJAFABADI, H. *et al.* Detection of addition of barley to coffee using near infrared spectroscopy and chemometric techniques. **Talanta**, v. 99, p. 175-179, 2012.
- ELLIS, D. I. *et al.* Point-and-shoot: rapid quantitative detection methods for on-site food fraud analysis – moving out of the laboratory and into the food supply chain. **Analytical Methods**, v. 7, p. 9401–9414, 2015.
- EMBRAPA MILHO E SORGO. **Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho**. Sete Lagoas, MG: EMBRAPA, 2006. Disponível em: Circ75.p65 (embrapa.br). Acesso em: 12 fev. 2022.
- ESCRICHE, I. *et al.* Thermal properties of honey as affected by the addition of sugar syrup. **Journal of Food Engineering**, v. 213, p. 69-75, 2017.
- ESKIN, N. A. M. Borage and evening primrose oil. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 110, p. 651-654, 2008.
- FARZANEH, F. *et al.* The effect of oral evening prim-rose oil on menopausal hot flashes: a randomized clinical trial. **Archives of Gynecology and Obstetrics**, v. 288, p. 1075–1079, 2013.
- FASCIOTTI, M.; NETTO, A. D. P. Optimization and application of methods of triacylglycerol evaluation for characterization of olive oil adulteration by soybean oil with HPLC-APCI-MS-MS. **Talanta**, v. 81, p. 1116–1125, 2010.

FERRARI, C. *et al.* Promoting calorimetry for olive oil authentication. **Thermochemica Acta**, v. 459, p. 58-63, 2007.

FLORES, M. A. *et al.* Preliminary studies on composition, quality and oxidative stability of commercial avocado oil produced in Chile. **Journal of Food Science and Engineering**, v. 4, p. 21–26, 2014.

FLORES, M. *et al.* Avocado oil: characteristics, properties and applications. **Molecules**, v. 24, p. 1-21, 2019.

FORERO-DORIA, O. *et al.* Thermal analysis and antioxidant activity of oil extracted from pulp of ripe avocados. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 130, p. 959-966, 2017.

FOSCOLOU, A.; CRITSELIS, E.; PANAGIOTAKOS, D. Olive oil consumption and human health: A narrative review. **Maturitas**, v. 118, p. 60-66, 2018.

GALLAGHER, P. K. **Handbook of thermal analysis and calorimetry**. 1. ed. Ohio: Elsevier, 1998.

GARCIA, J. U. *et al.* Estudo da estabilidade térmica de óleos de peixes em atmosfera de nitrogênio. **Eclética Química**. v. 29, p. 41-46, 2004.

GARCIA, R. *et al.* Assessment of the triacylglycerol fraction of olive oil by 1D-NMR spectroscopy: exploring the usefulness of DEPT tool on the peak assignments of ¹³C NMR spectra. **European Food Research and Technology**, v. 245, p. 2479–2488, 2019.

GRANATO, D. *et al.* Use of principal component analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA) for multivariate association between bioactive compounds and functional properties in foods: A critical perspective. **Trends in Food Science & Technology**, v. 72, p. 83-90, 2018.

GRANICA, S. *et al.* Chemical composition, antioxidative and anti-inflammatory activity of extracts prepared from aerial parts of *Oenothera biennis* L. and *Oenothera paradoxa* Hudziok obtained after seeds cultivation. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 801–810, 2013.

GRAS, J. T. Rapid quantitative determination of butter adulteration with palm oil using the DSC technique. **Food Control**, v. 60, p. 629-635, 2016.

GREEN, H. S. *et al.* A rapid method for the detection of extra virgin olive oil adulteration using UHPLC-CAD profiling of triacylglycerols and PCA. **Food Control**, v.107, p. 106773, 2020.

GREEN, H. S.; WANG, S. C. Evaluation of proposed CODEX purity standards for avocado oil. **Food Control**, v. 143, p. 109277, 2023.

GREEN, H. S.; WANG, S. C. Extra virgin grade avocado oil can be achieved using whole fruits or only mesocarp. **Applied Food Research**, v. 2, p. 100190, 2022.

GUIMET, F.; FERRÉ, J.; BORUÉ, R. Rapid detection of olive–pomace oil adulteration in extra virgin olive oils from the protected denomination of origin “Siurana” using excitation–emission fluorescence spectroscopy and three-way methods of analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 544, p. 143-152, 2005.

GUNSTONE, F. D. High Resolution ^{13}C NMR. A technique for the study of lipid structure and composition. **Progress in Lipid Research**, v. 33, p. 19-28, 1994.

HADIDI, M.; IBARZ, A.; POURAMIN, S. Optimization of extraction and deamidation of edible protein from evening primrose (*Oenothera biennis* L.) oil processing by-products and its effect on structural and techno-functional properties. **Food Chemistry**, v. 334, p. 127613, 2021.

HAINES, P. J. R. S. O. C. **Principles of thermal analysis and calorimetry**. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2002.

HERMAN-LARA, E. *et al.* Differential scanning calorimetry coupled with chemometric tools for determining adulteration with vegetable fat in fresh cheeses, **LWT - Food Science and Technology**, v. 85, p. 269-274, 2017.

IBARGOITIA, M. L.; SOPELANA, P.; GUILLÉN, M. D. ^1H nuclear magnetic resonance monitoring of the degradation of margarine of varied compositions when heated to high temperature. **Food Chemistry**, v. 165, p. 119-128, 2014.

INDELICATO, S. *et al.* Triacylglycerols in edible oils: Determination, characterization, quantitation, chemometric approach and evaluation of adulterations. **Journal of Chromatography**, v. 1515, p. 1-16, 2017.

INDRIYANI, L.; ROHMAN, A.; RIYANTO S. Physico-chemical characterization of avocado (*Persea americana* Mill.) oil from three indonesian avocado cultivars. **Research Journal of Medicinal Plant**, v. 10, p. 67-78, 2016.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análises de alimentos**. 4^a ed. (1. Ed. digital), 2008. p. 1020.

INMETRO. **Programa de análise de produtos - relatório de análise de azeite de oliva extra virgem**. Rio de Janeiro, RJ: INMETRO, 2015. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/azeite-de-oliva-extravirgem.pdf>. Acesso em: 30 abr. 2023.

INTERNATIONAL OLIVE COUNCIL. **Trade standard on olive oils and olive pomace oils**. Madri, ES: IOC, 2018. Disponível em: IOC STANDARDS, METHODS AND GUIDES - International Olive Council (internationaloliveoil.org). Acesso em: 03 maio 2022.

IONASHIRO, M.; CAIRES, F. J.; GOMES, D. J. C. **GIOLITO fundamentos da termogravimetria e análise térmica diferencial/ calorimetria exploratória diferencial**. 2^a ed. São Paulo: Vésper, 2014. p. 192.

ISLAS, M. Q. *et al.* Detection of adulterants in avocado oil by Mid-FTIR spectroscopy and multivariate analysis. **Food Research International**, v. 51, p. 148-154, 2013.

JAFARI, M.; KADIVAR, M.; KERAMAT, J. Detection of adulteration in Iranian olive oils using instrumental (GC, NMR, DSC) methods. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 86, p. 103-110, 2009.

JIANG, L.; ZHENG, H.; LU, H. Application of UV spectrometry and chemometric models for detecting olive oil-vegetable oil blends adulteration. **Journal of Food Science Technology**, v. 52, p. 479-485, 2015.

JIMÉNEZ-CARVELO, A.; GONZÁLEZ-CASADO, A.; CUADROS-RODRÍGUEZ, L. A new analytical method for quantification of olive and palm oil in blends with other vegetable edible oils based on the chromatographic fingerprints from the methyl-transesterified fraction. **Talanta**, v. 164, p. 540-547, 2017.

KAUFMANN, K. C. *et al.* Identification of coriander oil adulteration using a portable NIR spectrometer. **Food Control**, v. 132, p. 108536, 2022.

KOCA, N. *et al.* Application of temperature-controlled attenuated total reflectance-mid-infrared (ATR-MIR) spectroscopy for rapid estimation of butter adulteration. **Food Chemistry**, v. 121, p. 778-782, 2010.

LADDOMADA, B. *et al.* Application of a simplified calorimetric assay for the evaluation of extra virgin olive oil quality. **Food Research International**, v. 54, p. 2062-2068, 2013.

LERMA-GARCÍA, M. J. *et al.* Use of triacylglycerol profiles established by high performance liquid chromatography with ultraviolet–visible detection to predict the botanical origin of vegetable oils. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, p. 7521-7527, 2011.

LEYK, E.; KOMAR, S.; WESOLOWSKI, M. Determination of paracetamol in commercial suppositories using differential scanning calorimetry. **Acta Poloniae Pharmaceutica**, v. 76, p. 241-249, 2019.

LI, R. *et al.* Comparison of CG and DSC monitoring the adulteration of Camellia oil with selected vegetable oils. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 126, p. 1735-1746, 2016.

LI, Y. *et al.* Detection of olive oil adulteration with waste cooking oil via Raman spectroscopy combined with iPLS and SiPLS. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 189, p. 37-43, 2018.

LI, Y. *et al.* New method based on polarity reversal for detecting adulteration of extra virgin olive oil with refined olive pomace oil. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 124, p. 2100193, 2022.

LIA, F. *et al.* Application of ^1H and ^{13}C NMR Fingerprinting as a tool for the authentication of maltese extra virgin olive oil. **Foods**, v. 9, p. 689-703, 2020.

- LOPES, T. I. B. *et al.* Comparison of the regiospecific distribution from triacylglycerols after chemical and enzymatic interesterification of high oleic sunflower oil and fully hydrogenated high oleic sunflower oil blend by carbon-13 nuclear magnetic resonance. **Food Chemistry**, v. 212, p. 641-647, 2016.
- LUAKSO, F. A. *et al.* Detection and quantification of soybean and corn oils as adulterants in avocado oil using Fourier transform MID infrared (FT-IR) spectroscopy aided with multivariate calibration. **Jurnal Teknologi (Sciences & Engineering)**, v. 77, p. 251-255, 2015.
- MAGGIO, R. M. *et al.* A novel chemometric strategy for the estimation of extra virgin olive oil adulteration with edible oils. **Food Chemistry**, v. 21, p. 890-895, 2010.
- MAGGIO, R. M. *et al.* Study of the influence of triacylglycerol composition on DSC cooling curves of extra virgin olive oil by chemometric data processing. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, p. 2037-2044, 2014.
- MANAF, Y. N. *et al.* Lipid characteristics and tocopherol content of the oils of native avocado cultivars grown in Indonesia. **International Journal of Food Properties**, v. 21, p. 2758-2771, 2019.
- MARQUETTI, I. *et al.* Partial least square with discriminant analysis and near infrared spectroscopy for evaluation of geographic and genotypic origin of arabica coffee. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 121, p. 313-319, 2016.
- MARTIN, M. L. J. *et al.* A comparative analysis of different methods to improve the performance of cotton seed oil fuelled diesel engine. **Fuel**, v. 102, p. 372-378, 2012.
- MASULLO, M. *et al.* Medicinal plants in the treatment of women's disorders: Analytical strategies to assure quality, safety and efficacy. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 113, p. 189-211, 2015.
- MATA-ESPINOSA, P.; BOSQUE-SANDRA, J. M.; CUADROS-RODRÍGUEZ, R. B. L. Olive oil quantification of edible vegetable oil blends using triacylglycerols chromatographic fingerprints and chemometric tools. **Talanta**, v. 85, p. 177-182, 2011.
- MEENU, M.; CAI, Q.; XU, B. A critical review on analytical techniques to detect adulteration of extra virgin olive oil. **Trend in Food Science and Technology**, v. 91, p. 391-408, 2019.
- MERÁS, I. D. *et al.* Detection and quantification of extra virgin olive oil adulteration by means of autofluorescence excitation-emission profiles combined with multi-way classification. **Talanta**, v. 178, p. 751-762, 2018.
- MERCHAK, N. *et al.* Olive oil characterization and classification by ^{13}C NMR with a polarization transfer technique: A comparison with gas chromatography and ^1H NMR. **Food Chemistry**, v. 245, p. 717-723, 2018.
- MERCHAK, N. *et al.* ^{13}C isotopomics of triacylglycerols using NMR with polarization transfer techniques. **Analytical Methods**, v. 7, p. 4889-4891, 2015.

MERCHAK, N. *et al.* A strategy for simultaneous determination of fatty acid composition, fatty acid position, and position-specific isotope contents in triacylglycerol matrices by ^{13}C -NMR. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 409, p. 307–315, 2017.

MONTSERRAT-de la PAZ, S. *et al.* Long-chain fatty alcohols from evening primrose oil inhibit the inflammatory response in murine peritoneal macrophages. **Journal Ethnopharmacology**, v. 151, p. 131–136, 2014.

MOREIRA, A. C. O. *et al.* Rapid purity determination of copaiba oils by a portable NIR spectrometer and PLSR. **Food Analytical Methods**, v. 11, p. 1867-1877, 2018.

MOTA, M. F. S. *et al.* Gas chromatography – mass spectrometry for characterization, assessment of quality and authentication of seed and vegetable oils. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 138, p. 116238, 2021.

NASCIMENTO, T. A. *et al.* Vegetable oils: Are they true? A point of view from ATR-FTIR, ^1H NMR, and regiospecific analysis by ^{13}C NMR. **Food Research International**, v. 144, p. 110362, 2021.

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

NÚÑEZ, O.; LUCCI, P. Application of liquid chromatography in food analysis. **Food**, v. 9, p. 1277-1281, 2020.

OLIVEIRA, R. C. S. *et al.* Evaluation of the potential of SPME-CG-MS and chemometrics to detect of ground roasted coffee with roasted barley. **Journal Separation Science**, v. 22, p. 257-261, 2009.

OUSSAMA, A. *et al.* Detection of olive oil adulterations using FT-IR spectroscopy and PLS with variable importance of projection (VIP) scores. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 89, p. 1807-1812, 2012.

ÖZDEMİR, I. S. *et al.* Characterization of the Turkish and Slovenian extra virgin olive oils by chemometric analysis of the presaturation ^1H NMR spectra. **LWT - Food Science and Technology**, v. 92, p. 10-15, 2018.

PACIOREK-SADOWSKA, J. *et al.* Oenothera biennis seed oil as an alternative raw material for production of bio-polyol for rigid polyurethane-polyisocyanurate foams. **Industrial Crops and Products**, v. 126, p. 208-217, 2018.

PAN, F. *et al.* Identification of adulteration evening primrose oil based on CG-MS and FT-IR combined with chemometrics. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 124, p. 2200066, 2022.

- PEREIRA, L. H. *et al.* Coffee adulterant quantification by derivative thermogravimetry and chemometrics analysis. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 147, p. 7353-7362, 2022.
- PLANTE, A. F.; FERNÁNDEZ, J. M.; LEIFELD, J. Application of thermal analysis in soil science. **Geoderma**, v. 153, p. 1-10, 2009.
- POPESCU, R. *et al.* Discrimination of vegetable oils using NMR spectroscopy and chemometrics. **Food Control**, v. 48, p. 84-90, 2015.
- PRESCHA, A. *et al.* The antioxidant activity and oxidative stability of cold-pressed oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 91, p. 1291-1301, 2014.
- PRESTI, G. *et al.* Legal blends between olive oil and other vegetable oils: Quantification of olive oil and identification of “virgin olive oils”, “refined olive oils” and “olive pomace oils”. **Talanta Open**, v. 3, p. 100039, 2021.
- QIAO, Y. *et al.* Thermal behavior, kinetics and fast pyrolysis characteristics of palm oil: Analytical TG-FTIR and Py-GC/MS study. **Energy Conversion and Management**, v. 199, p. 111964, 2019.
- RAIMO, M. Kinetics of phase transformation of Indium in the presence of polytetrafluoroethylene: implications for DSC measurements on polymers and their composites. **International Journal of Polymer Science**, v. 2015, p. 1-10, 2015.
- RASHID, U.; ANWAR, F.; KNOTHE, G. Evaluation of biodiesel from cottonseed oil. **Fuel Processing Technology**, v. 90, p. 1157-1163, 2009.
- REINHOLS, I. *et al.* Analytical techniques combined with chemometrics for authentication and determination of contaminants in condiments: A review. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 44, p. 56-72, 2015.
- REIS, N.; FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S. Performance of diffuse reflectance infrared Fourier transform spectroscopy and chemometrics for detection of multiple adulterants in roasted and ground coffee. **LWT - Food Science and Technology**, v. 53, p. 395-401, 2013.
- REZANKA, T.; REZANKOVA, H. Characterization of fatty acids and triacylglycerols in vegetable oils by gas chromatography and statistical analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 398, p. 253-261, 1999.
- RODRIGUES, R. F. *et al.* Development and characterization of evening primrose (*Oenothera biennis*) oil nanoemulsions. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, p. 422-425, 2015.
- RODRÍGUEZ-CARPENA, J. G.; MOURCUENDE, D.; ESTÉVEZ, M. Avocado, sunflower and olive oils as replacers of pork back-fat in burger patties: Effect on lipid composition, oxidative stability and quality traits. **Meat Science**, v. 90, p. 106-115, 2012.
- ROHMAN, A.; CHE MAN, Y. B. Quantification and classification of corn and sunflower oils as adulterants in olive oil using chemometrics and FTIR spectra. **The Scientific World Journal**, v. 2012, p. 250795, 2012.

ROHMAN, A.; CHE MAN, Y. B. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for analysis of extra virgin olive oil with palm oil. **Food Research International**, v. 43, p. 886-892, 2010.

ROHMAN, A. *et al.* Fourier transform infrared spectroscopy combined with multivariate calibrations for the authentication of avocado oil. **International Journal of Food Properties**, v.19 p. 680–687, 2016.

ROPODI, A. I.; PANAGOUE, E. Z.; NYCHAS, G. J. E. Data mining derived from food analyses using non-invasive/nondestructive analytical techniques; determination of food authenticity, quality & safety in tandem with computer science disciplines. **Trend in Food Science e Technology**, v. 50, p. 11-25, 2016.

RUEDA, A. *et al.* Characterization of fatty acid profile of argan oil and other edible vegetable oils by gas chromatography and discriminant analysis. **Journal of Chemistry**, v. 2014, p. 1–9, 2014.

SALAS, J. J. *et al.* Biochemistry of high stearic sunflower, a new source of saturated fats. **Progress in Lipid Research**, v. 55, p. 30-42, 2014.

SÂMIA, R. R. *et al.* Lipid quality of fried and scrambled eggs prepared in different frying medium. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, v. 29, p. 100552, 2022.

SANTANA, F. B. *et al.* Non-destructive fraud detection in rosehip oil by MIR spectroscopy and chemometrics. **Food Chemistry**, v. 293, p. 323-332, 2016.

SANTANA, F. B.; NETO, W. B.; POPPI, R. J. Random Forest as one-class classifier and infrared spectroscopy for food adulteration detection. **Food Chemistry**, v. 209, p. 228-233, 2019.

SANTOS, C. D. *et al.* Estudo da pirólise de óleo de soja sobre peneiras moleculares micro e mesoporosas. **Scientia Plena**, v. 5, p. 11402-11416, 2009.

SANTOS, F. C.; FERREIRA, J. C. N. Decomposição catalítica de óleo de soja em presença de diferentes zeólitas. **Química Nova**, v. 5, p. 560-563, 1998.

SANTOS, J. C. O. *et al.* Thermal stability and kinetic study on thermal decomposition of commercial edible oils by thermogravimetry. **Journal of Food Science**, v.67, p.1393-1398, 2002.

SANTOS, J. S. *et al.* ¹H NMR combined with chemometrics tools for rapid characterization of edible oils and their biological properties. **Industrial Crops and Products**, v. 116, p. 191-200, 2018.

SENA, M. M.; TREVISAN, M. G.; POPPI, R. J. PARAFAC: Uma ferramenta quimiométrica para tratamento de dados multidimensionais. Aplicações na determinação direta de fármacos em plasma humano por Espectrofluorimetria. **Química Nova**, v. 28, p. 910-920, 2005.

- SHI, J. *et al.* Stimulated Brillouin scattering in combination with visible absorption spectroscopy for authentication of vegetable oils and detection of olive oil adulteration. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 206, p. 320-327, 2019.
- SILVEIRA, R. *et al.* Rapid methodology via mass spectrometry to quantify addition of soybean oil in extra virgin olive oil: A comparison with traditional methods adopted by food industry to identify fraud. **Food Research International**, v. 102, p. 43-50, 2017.
- SIUDEM, P.; ZIENLINSKA, A.; PARADOWSKA, K. Application of ^1H NMR in the study of fatty acids composition of vegetable oils. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 212, p. 1146558, 2022.
- SIVAKANTHAN, S.; MADHUJITH, T. Current trends in applications of enzymatic interesterification of fats and oils: A review. **LWT - Food Science and Technology**, v. 132, p. 109880, 2020.
- SQUEO, G. *et al.* FT-IR extra virgin olive oil classification based on ethyl ester content. **Food Control**, v. 102, p. 149-156, 2019.
- STRANDBERG, A.; HOLMGREN, P.; BROSTOM, M. Predicting fuel properties of biomass using thermogravimetry and multivariate data analysis. **Fuel Processing Technology**, v. 156, p. 107-112, 2017.
- SUN, X. *et al.* Detection and quantification of extra virgin olive oil adulteration with edible oil by FT-IR spectroscopy and chemometrics. **Analytical Methods**, v. 7, p. 3939-3945, 2015.
- TAM, C. X. Virgin avocado oil: An emerging source of functional fruit oil. **Journal of Functional Foods**, v. 54, p. 381-392, 2019.
- TAMAGNO, S. *et al.* Dynamics of oil and fatty acid accumulation during seed development in historical soybean varieties. **Field Crops Research**, v. 248, p. 107719, 2020.
- TAN, C. X. Virgin avocado oil: An emerging source of functional fruit oil. **Journal of Functional Food**, v. 54, p. 381-392, 2019.
- TANGO, J. S.; CARVALHO, C. R. L.; SOARES, N. B. Physical and chemical characterization of avocado fruits aiming its potential for oil extraction. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, p. 17-23, 2004.
- TEMIZ, H. T. *et al.* The use of Raman spectroscopy and chemometrics for the discrimination of lab-produced, commercial, and adulterated cold-pressed oils. **LWT - Food Science and Technology**, v. 146, p. 111479, 2021.
- TORRECILLA, J. S. *et al.* A Novel Method to Quantify the Adulteration of Extra Virgin Olive Oil with Low-Grade Olive Oils by UV-vis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 1679-1684, 2010.

TORRECILLA, J. S. *et al.* Self-organizing maps based on chaotic parameters to detect adulterations of extra virgin olive oil with inferior edible oils. **Journal of Food Engineering**, v. 118, p. 400-405, 2013.

UNCU, O.; OZEN, B.; TOKATLI, F. Use of FTIR and UV–visible spectroscopy in determination of chemical characteristics of olive oils. **Talanta**, v. 201, p. 65-73, 2019.

UNITED STATE DEPARTMENT of AGRICULTURE. **Olive Oil and Olive-Pomace Oil Grades and Standards**. Washington, DC, 25 de oct. 2010. Disponível em: Olive Oil and Olive-Pomace Oil Grades and Standards Agricultural Marketing Service (usda.gov). Acesso em: 03 maio 2022.

UYSAL, R. S. *et al.* Determination of butter adulteration with margarine using Raman spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 141, p. 4397-4403, 2013.

VANSTONE, N. *et al.* Detection of the adulteration of extra virgin olive oil by near-infrared spectroscopy and chemometric techniques. **Food Quality and Safety**, v. 2, p. 189–198, 2018.

VERGARA-BARBERÁN, M. *et al.* Capillary Electrophoresis of free fatty acids by indirect Ultraviolet detection: Application to the classification of vegetable oils according to their botanical origin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 10775-10780, 2011.

VIGLI, G. *et al.* Classification of edible oils by employing ³¹P and ¹H NMR spectroscopy in combination with multivariate statistical analysis. A proposal for the detection of seed oil adulteration in virgin olive oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 5715-5722, 2003.

VLAHOV, G. ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy to determine olive oil grades. **Analytica Chimica Acta**, v. 577, p. 281–287, 2006.

VUATAZ, G.; MEUNIER, V.; ANDRIEUX, J. C. TG-DTA approach for designing reference methods for moisture content determination in food powders. **Food Chemistry**, v. 122, p. 436-445, 2010.

WETTEN, I. A. *et al.* Detection of sunflower oil in extra virgin olive oil by fast differential scanning calorimetry. **Thermochimica Acta**, v. 603, p. 237-243, 2015.

WOOLF, A. *et al.* Avocado oil. **Gourmet and Health-Promoting Specialty Oils**, p. 73-125, 2009.

XING, C. *et al.* Chemometric classification and quantification of sesame oil adulterated with other vegetable oils based on fatty acids composition by gas chromatography. **LWT - Food Science and Technology**, v. 108, p. 437-445, 2019.

XUE, L. *et al.* Comparative advantages of chemical compositions of specific edible vegetable oils. **Oil Crop Science**, v. 8, p. 1-6, 2023.

YAHIA, E. M. *et al.* Chemistry, stability, and biological actions of carotenoids. **In: Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry and Human Health: Second Edition**, v. 1, p. 285–345, 2017.

YANG, H.; IRUDAYARAJ, J. Comparison of near-infrared, Fourier transform infrared, and Fourier transform-Raman methods for determining olive pomace oil adulteration in extra virgin olive oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 78, p. 889–895, 2001.

YANG, Y. *et al.* Detection and identification of extra virgin olive oil adulteration by GC-MS combined with chemometrics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 3693–3702, 2013.

YANTY, N. A. M.; MARIKKAR, J. M. N.; LONG, K. Effect of varietal differences on composition and thermal characteristics of avocado oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 88, p. 1997–2003, 2011.

YU, S. *et al.* Review of MEMS differential scanning calorimetry for biomolecular study. **Frontiers of Mechanical Engineering**, v. 12, p. 526–538, 2017.

YUNUSOVA, S. G. *et al.* Fatty acid composition of *Oenothera biennis* seed oil during storage. Antioxidant activity. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 46, p. 278–282, 2010.

ZHANG, J. *et al.* Review of the current application of fingerprinting allowing detection of food adulteration and fraud in China. **Food Control**, v. 22, p. 1126–1135, 2011.

ZHANG, X. F. *et al.* Quantitative detection of adulterated olive oil by Raman spectroscopy and chemometrics. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 42, p. 1784–1788, 2011.

ZHAO, B. *et al.* Fatty acid, triacylglycerol and unsaponifiable matters profiles and physicochemical properties of chinese evening primrose oil. **Journal Oleo Science**, v. 68, p. 719–728, 2019.

ZHU, Y.; ZOU, L.; TAN, T. L. A clustering group lasso method for quantification of adulteration in black cumin seed oil using Fourier transform infrared spectroscopy. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 220, p. 104471, 2022.