

Aplicação da quimiometria aliada ao uso de um smartphone em aulas práticas de química visando determinar adulteração em azeite de oliva extra virgem

Application of chemometrics combined with the use of a smartphone in practical chemistry classes to determine adulteration in extra virgin olive oil

DOI:10.34117/bjdv7n9-250

Recebimento dos originais: 16/08/2021

Aceitação para publicação: 16/09/2021

Jéssica da Silva Alves de Pinho

Doutorado em Engenharia Química pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Instituição de atuação atual: CEFET – RJ (campus Valença)

Endereço: Rua Voluntários da Pátria 30 – Belo Horizonte – Valença, RJ

CEP: 27600-000

E-mail: jessica.pinho@cefet-rj.br

Jean de Aguiar Seabra

Doutorando em Engenharia de Produção pela Universidade Federal do Rio de Janeiro

Instituição de atuação atual: COPPE/UFRJ

Endereço: Av. Horácio Macedo 2030 – Cidade Universitária da Universidade Federal do

Rio de Janeiro – Rio de Janeiro, RJ – CEP: 21941-598

E-mail: bio_jean@hotmail.com

Rodrigo Ventura da Silva

Doutorando em Engenharia de Produção pela Universidade Federal do Rio de Janeiro

Instituição de atuação atual: COPPE/UFRJ

Endereço: Av. Horácio Macedo 2030 – Cidade Universitária da Universidade Federal do

Rio de Janeiro – Rio de Janeiro, RJ – CEP: 21941-598

E-mail: ventrod@yahoo.com.br

Carlos Alberto Nunes Cosenza

Pós Doutorado em Engenharia de Produção pela Universidade de Cambridge

Instituição de atuação atual: COPPE/UFRJ

Endereço: Av. Horácio Macedo 2030 – Cidade Universitária da Universidade Federal do

Rio de Janeiro – Rio de Janeiro, RJ – CEP: 21941-598

E-mail: cosenzacoppe@gmail.com

RESUMO

A proposta deste trabalho foi demonstrar como uma técnica alternativa que é rápida e barata pode ser usada para fins de ensino de química como uma alternativa a espectrofotometria no UV-Vis. Tal proposta se baseou no uso da análise de imagem digital, usando o pacote EImage disponível no software R. Tal pacote permite a decomposição de uma imagem no sistema de cores RGB (vermelho, verde e azul) para fins de quantificação. Para aplicação da metodologia, se trabalhou com a quantificação do teor de adulteração do azeite extra virgem com óleo de soja. A curva analítica teve a concentração de óleo sendo usado para adulteração variando de 0 – 25% v/v. Dessa forma,

após a mistura do azeite e óleos nas proporções estipuladas foi possível se adquirir as imagens por meio de um smartphone e tratá-las posteriormente no software R. As mesmas misturas foram analisadas em um espectrofotômetro no UV-Vis para comparação entre os resultados obtidos. A comparação demonstrou que a análise de imagem digital tem forte potencial para ser utilizada, considerando-se não apenas a otimização da metodologia alternativa proposta assim como sua validação. Por meio do proposto foi possível se trabalhar com diferentes conceitos de quimiometria, tais como calibração de ordem zero, método da distância ortogonal, que foi usado para fins de comparação entre as técnicas utilizadas.

Palavras-chave: smartphone, pacote eimage, software r, azeite de oliva, óleo de soja.

ABSTRACT

The purpose of this work was to demonstrate how an alternative technique that is fast and inexpensive can be used for chemistry teaching purposes as an alternative to UV-Vis spectrophotometry. Such proposal was based on the use of digital image analysis, using the EImage package available in the R software. This package allows the decomposition of an image into the RGB color system (red, green and blue) for quantification purposes. To apply the methodology, we worked with the quantification of the adulteration content of extra virgin olive oil with soybean oil. The analytical curve had the concentration of oil being used for adulteration ranging from 0 - 25% v/v. Thus, after mixing the olive oil and oils in the stipulated proportions it was possible to acquire the images by means of a smartphone and treat them later in the R software. The same mixtures were analyzed in a UV-Vis spectrophotometer for comparison of the results obtained. The comparison showed that the digital image analysis has a strong potential to be used, considering not only the optimization of the proposed alternative methodology but also its validation. Through the proposed method it was possible to work with different chemometrics concepts, such as zero order calibration, orthogonal distance method, which was used for comparison purposes between the techniques used.

Keywords: smartphone, eimage package, r software, olive oil, soybean oil.

1 INTRODUÇÃO

Um produto que é largamente consumido não apenas no Brasil, mas no mundo é o azeite de oliva em função de vários benefícios à saúde humana (Baccouri et al., 2008; Fasciotti et al., 2010; Kachouri et al., 2004). No Brasil, o azeite pode ser classificado como virgem, extra virgem ou tipo único. Em virtude disso é comum se ter problemas quanto a falsificação do mesmo, sendo comum a falsificação com óleo de soja (Peixoto; Santana; Abrantes, 1998).

Diferentes técnicas analíticas podem ser empregadas para avaliar tal adulteração, tais como cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), espectroscopia de infravermelho médio (MIR) ou próximo (NIR) ou espectrofotometria no UV-Vis. Considerando que há instituições que não tem acesso a todos os equipamentos e também

que são equipamentos caros, não apenas para aquisição, mas também manutenção, além de algumas terem também o tempo de análise e/ou condicionamento do equipamento, pode se pensar em meios alternativos, que seja confiáveis e baratos (Christopoulos et al., 2004) para tal finalidade visando a implementação no ensino de química seja em um curso de nível técnico ou nível superior.

Tal alternativa poderia ser a análise de imagem digital, que pode ser considerada uma técnica barata, mas eficaz, que depende de um smartphone para aquisição de imagens e algum aplicativo ou software (para computador) que possa ser utilizado para o tratamento das imagens para fins de quantificação. Dessa forma, a proposta desse trabalho é mostrar o desenvolvimento de uma metodologia para determinar teor de adulteração de azeite de oliva extra virgem com óleo de soja usando como técnica a análise de imagem digital para fins de ensino.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 QUIMIOMETRIA

A quimiometria se baseia na matemática visando diferentes aplicações para extração de informação. Algumas vantagens de seu uso são: redução da razão sinal – ruído, presença de interferentes, análise exploratória e controle de outliers (Bortoleto, 2007).

2.1.1 Calibração Univariada

Um meio de se quantificar um determinado analito é por meio da calibração univariada (ou de ordem zero) na qual se tem um escalar para cada padrão, o que gera uma função de primeiro grau que pode ter seus coeficientes encontrados por meio do método dos mínimos quadrados para fins de minimização do erro (Booksh; Kowalsky, 1994). No caso, se relaciona um variável tal como absorvância, pH, etc a outra variável (normalmente concentração do analito).

A calibração de ordem zero pode ser usada para tratar dados univariados, que são gerados, por exemplo, de medidas de absorvância em um determinado comprimento de onda. Esse tipo de calibração não é recomendado quando interferentes estão presentes (Booksh; Kowalsky, 1994). Nesse tipo de calibração, existe uma relação entre duas variáveis, por exemplo: concentração e absorvância (variável dependente e independente respectivamente) (Girón, 2007). A equação modelo é obtida pelo método de regressão dos mínimos quadrados, visando minimizar o erro (Leitão, 2005). Baseado nisso, pode

ser selecionado o comprimento de onda máximo, sendo que para todas as amostras, será considerado somente a absorvância nesse comprimento de onda. Para a metodologia proposta, a validação será feita usando medidas espectrofotométricas e os dados obtidos serão tratados usando a calibração de ordem zero.

2.1.2 Comparação Entre Metodologias

Existem alguns testes que podem ser aplicados quando é desejado avaliar se existe uma diferença estatística entre duas metodologias. Um desses testes é o método da distância ortogonal. Normalmente, a regressão linear do tipo I é a mais usada na calibração de ordem zero, porém nem sempre essa pode ser aplicada, considerando que nesse tipo de regressão, o erro no eixo y é mais alto que no eixo x.

Em certas situações deve ser considerado que existe um erro nos dois eixos e nesse caso, a regressão linear do tipo I não pode ser usada. Quando um novo método analítico é desenvolvido, este é comparado a um método de referência, sendo a regressão linear do tipo II (método distância ortogonal). Nesse método, os coeficientes linear (b_0) e angular (b_1), assim como outros valores relacionados podem ser calculados usando as eq. 2 – 6 (Oliveira; Aguiar, 2013).

$$b_1 = [s_y^2 - s_x^2 + \sqrt{(s_y^2 - s_x^2)^2 + 4(cov(y, x))^2}] / [2cov(y, x)] \quad (2)$$

$$b_0 = \bar{y} - b_1 \bar{x} \quad (3)$$

$$s_x^2 = \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \quad (4)$$

$$s_y^2 = \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2 \quad (5)$$

$$cov(y, x) = \sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y}) \quad (6)$$

s_y^2 e s_x^2 são as variâncias de y e x respectivamente (métodos diferentes) enquanto $cov(y, x)$ é a covariância.

A precisão indica a proximidade dos valores de medição de réplicas de uma amostra, sendo avaliado pelo desvio padrão, enquanto a exatidão é calculada a partir do quanto um valor estimado é próximo do valor considerado verdadeiro ou de referência. A eq. 8 represente o erro absoluto, enquanto eq. 9 representa o erro relativo: (Valderrama; Braga; Poppi, 2009).

$$E_a = x_i - x_v \quad (7)$$

$$E_r = \frac{|E_a|}{x_v} \times 100\% \quad (8)$$

Onde E é erro absoluto; xi é o valor medido e xv é o valor referencial; Er é o erro relativo.

2.2 ANÁLISE DE IMAGEM DIGITAL

Celulares podem ser usados como uma ferramenta na análise de imagem digital, tendo potencial para ser usado para propósitos educacionais químicos, por exemplo. As imagens capturadas pelos celulares podem ser interpretadas como coordenadas do sistema RGB (red, green, blue) (Koesdjojo et al., 2015; Moraes; Confessor; Gasparotto, 2015; Kehoe; Penn, 2013; Moraes et al., 2014).

O software R (versão 3.5.1.) é gratuito e tem um pacote (EBImage) que executa a decomposição da imagem digital no sistema RGB. Esse pacote permite a criação de um vetor de pixel, cujo intensidade varia de acordo com a eq. 1: (Pau et al., 2010). O pacote EBImage é gratuito e fácil de controlar, também tem baixo custo, portanto foi escolhida para tratar todos os dados obtidos.

$$\sqrt{RGB^2} = \sqrt{R^2 + G^2 + B^2} \quad (9)$$

Nessa equação R, G e B são os canais individuais (vermelho, verde e azul respectivamente), enquanto o RGB seriam os três canais juntos.

2.3 ENSINO DE QUÍMICA CONTEXTUALIZADO

O ensino de química precisa ser capaz de demonstrar aos alunos a relação que existe entre conhecimento teórico e experimental (Pinto, 2012), visto que o conhecimento aplicado na parte experimental advém de uma base sólida de conhecimento teórico. Pensando-se em aulas práticas de química, independentemente, da instituição ter ou não acesso a equipamentos sofisticados, há de se apresentar também outros meios que podem ser baratos e rápidos, podendo ser aplicados ao longo de uma aula ou conjunto de aulas práticas.

Por meio de diferentes experimentos pode se fazer com que o aluno compreenda melhor a aplicação de conteúdos em aulas experimentais, tais como a coleta e tratamento

de dados, entendendo melhor como se interpreta um gráfico e/ou tabela (Barbosa, 2011; Salesse, 2012)

2.4 ANÁLISE DO AZEITE DE OLIVA

Métodos cromatográficos (Fasciotti et al., 2010; Mata – Espinosa et al., 2011; Monfreda et al., 2012; Monfreda et al., 2014; Ruiz – Samblás et al., 2012) são uma forma de avaliar a qualidade do azeite de oliva, mas são técnicas caras e demoradas, tendo a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) um alto gasto de solvente orgânico. Métodos espectroscópicos, tais como infravermelho (Mata – Espinoza et al., 2012; Sinelli et al., 2010; Rohman et al., 2010; Gurdeniz et al., 2009; Ozturk et al., 2010) ou espectrofotométricos (Barker; Rayens, 2003; Valderrama et al., 2014; Gomes, 2013) podem ser usados acoplados com quimiometria também podem ser empregados

3 PROCEDIMENTO METODOLÓGICO

3.1 PREPARO DAS SOLUÇÕES PARA ANÁLISE DA ADULTERAÇÃO DO AZEITE DE OLIVA

As amostras de óleo de soja e azeite extra virgem foram adquiridas em comércio local na cidade de Valença (Rio de Janeiro). Foram preparados soluções contendo diferentes teores de óleo de soja e azeite de oliva conforme Tabela 01. As misturas tinham um volume total de 10 mL.

Tabela 1: Concentrações das misturas de azeite com óleo de soja.

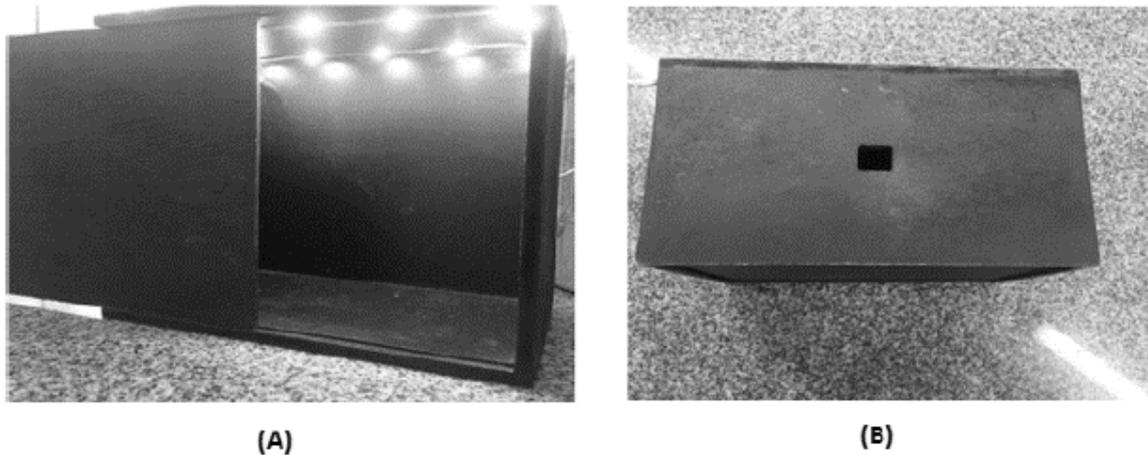
Padrão	Volume de azeite (mL)	Volume de óleo de soja (mL)	% de óleo na mistura (% v/v)	% de azeite na mistura (%v/v)
1 (branco)	10	0	0	100
2	9,5	0,5	5	95
3	9	1	10	90
4	8,5	1,5	15	85
5	8	2	20	80
6	7,5	2,5	25	75

Fonte: Os autores (2021)

3.2 AQUISIÇÃO DAS IMAGENS

Para aquisição das imagens foi necessário o uso de uma caixa de madeira (20 x 12 x 18 cm) pintada de tinta preta fosca, com fitas de led no interior na parte superior da caixa. A caixa utilizada pode ser observada na Figura 1.

Figura 1: Caixa de madeira usada para aquisição das imagens: (a) vista da parte interna da caixa iluminada com fitas de led branco; (b) topo da caixa com o orifício para colocar a câmera do smartphone.



As amostras (800 μ L) foram colocadas em uma placa de toque branca (Figura 2) após a reação para aquisição das fotos.

Figura 2: Amostras de misturas sintéticas de óleo de soja e azeite de oliva na placa de toque antes da aquisição da imagem



3.3 TRATAMENTO DAS IMAGENS

Após a aquisição das imagens, as mesmas foram passadas para um computador e cortadas (30 x 30 pixels) para serem tratadas no software R usando o pacote EBImage.

O teor de adulteração foi calculado usando-se quatro modelos diferentes: apenas o canal vermelho, apenas o canal azul, apenas o canal verde e os três canais juntos visando checar qual modelo oferecia o melhor resultado de predição.

O software, que é totalmente gratuito, pode ser baixado diretamente da internet e instalado conforme instruções do site (www.r-project.org). Por meio de comandos específicos pode-se trabalhar em diferentes tópicos, tais como estatística básica, calibração univariada, testes estatísticos para comparação de metodologias, análise de imagem digital, que é o interesse desse trabalho dentre outros. Após instalação do

software e abrir o mesmo, deve-se proceder a instalação e habilitação do pacote EImage (Figura 3).

Figura 3: Instalação e habilitação do pacote EImage

```
source("http://bioconductor.org/biocLite.R")#instalação do pacote
biocLite("EImage")

library("EImage")#habilitação do pacote
```

Os comandos utilizados para determinar o teor de adulteração do azeite com óleo foram adaptados do material suplementar disponível no artigo de Moraes et al. (2014). Na Figura 4, pode se observar parte dos comandos adaptados, replicados para cada padrão.

Figura 4: Trecho de comandos adaptados para tratamento das imagens no software R usando o pacote EImage (a) comandos para importação das imagens e criação dos vetores do sistema RGB; (b) criação dos modelos de regressão linear (intensidade do canal vs concentração predita da solução padrão).

```
blank1 = readImage('Blank1.jpg') #importação da imagem
blank2 = readImage('Blank1.jpg') #importação da imagem
blank = (blank1 + blank2)/2 # cálculo da média das réplicas
pad21 = readImage('padrao 2_1.jpg') #importação da imagem
pad22 = readImage('padrao 2_2.jpg') #importação da imagem
pad2 = (pad21 + pad22)/2 # cálculo da média das réplicas
pad2m = pad2 - blank #normalização dos dados
pad2red = channel(pad2m, 'red') #criação do padrão canal vermelho
pad2redm = mean (pad2red)*255 #criação do padrão canal vermelho
pad2blue = channel(pad2m, 'blue') #criação do padrão canal azul
pad2bluem = mean (pad2blue)*255 #criação do padrão canal azul
pad2green = channel(pad2m, 'green') #criação do padrão canal verde
pad2greenm = mean (pad2green)*255 #criação do padrão canal verde
pad2f = sqrt(pad2redm^2+pad2bluem^2+pad2greenm^2) #criação do padrão para o vetor RGB

X=c(pad2f,pad3f,pad4f,pad5f,pad6f) #criação do vetor das imagens
conc=c(1,2,3,4,5) #criação do vetor concentração
modelo<-lm(X~conc) #construção do modelo linear
plot(conc,X,xlab="concentration (mg/mL)", ylab = "vector RGB", main = "RGB model", pch = 1)#construção do gráfico
abline(modelo, col="red") #inserção da reta de ajuste
summary(modelo) #dados do modelo
coefficients=coefficients(modelo) #coeficientes do modelo para calcular valores medidos
```

Determinação da adulteração por meio da espectrofotometria no UV-Vis.

As análises foram feitas usando um espectrofotômetro modelo Cary 60 UV-Vis (Agilent Technologies) na faixa de 200 – 700 nm. As amostras foram colocadas em uma cubeta de quartzo de caminho óptico de 1 cm e as análises realizadas em duplicata. Após a realização das análises, os dados obtidos foram convertidos pro formato CSV sem

vírgulas para serem tratados no software R. Com base no espectro, foi selecionado o ponto de absorvância máxima.

Comparação entre técnicas

Para comparação das metodologias (análise de imagem digital e espectrofotometria no UV-Vis) foi usado o método da distância ortogonal.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Determinação da adulteração do azeite de oliva com óleo de soja por análise de imagem digital.

Depois da aquisição e tratamento das imagens, foi possível construir os quatro modelos representados na Tabela 2, aonde pode se observar além da equação do modelo, os valores dos coeficientes de correlação e determinação. Para a construção dos modelos foi necessário retirar o padrão de concentração de 5% v/v de óleo de soja e 95% v/v de azeite de oliva, pois estava muito discrepante dos demais dados, causando desvios significativos nos modelos. Vale também ressaltar que para os modelos dos canais vermelho e verde, o padrão de concentração 25% v/v de óleo de soja e 75% v/v de azeite de oliva também estava destoando dos demais, entretanto, para manter os dados para fins de comparação esse padrão foi mantido. Com base nos valores da Tabela 2, o modelo RGB foi escolhido, dentre os quatro modelos existentes, como o melhor para fins de predição.

Tabela 2: Modelos obtidos usando o pacote EImage no R para determinação da adulteração de azeite extra virgem com óleo de soja.

Modelo	Equação do modelo	Coefficiente de determinação (R ²)	Coefficiente de correlação (R)
RGB (juntos)	$Y = 84,475 - 2,715C$	0,9045	0,9510
Canal vermelho	$Y = 7,4466 - 0,6495C$	0,2645	0,5143
Canal azul	$Y = 83,6451 - 2,7830C$	0,8168	0,9038
Canal verde	$Y = 11,2268 - 0,56C$	0,2717	0,5212

Fonte: Os autores (2021)

A partir dessa escolha (do melhor modelo), mediu-se os valores de concentração de óleo usado na adulteração (Tabela 3)

Tabela 3: Valores medidos de concentração de óleo usado na adulteração do azeite para o modelo escolhido

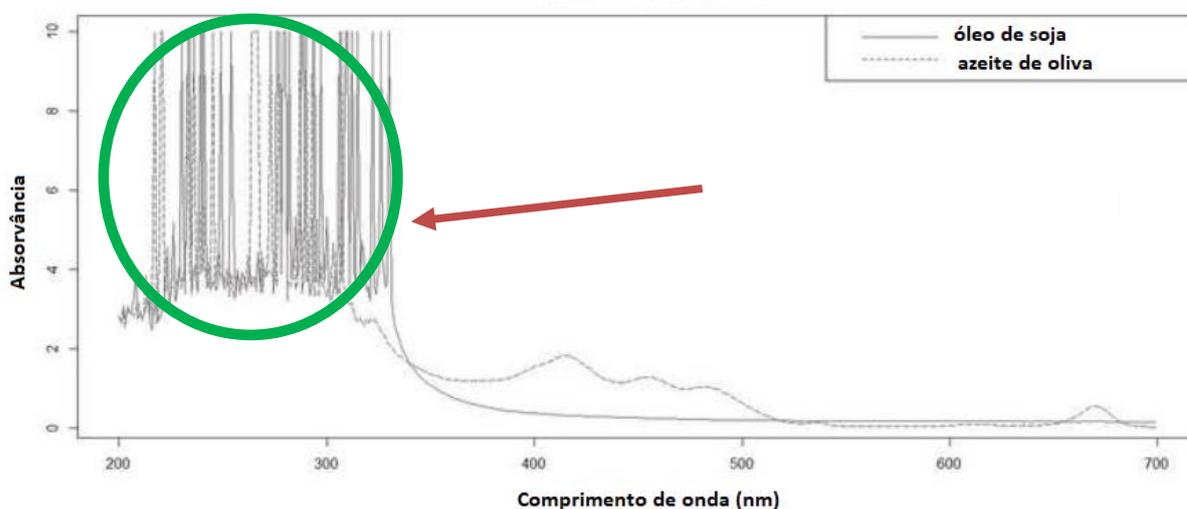
Concentração predita (%v/v)	Concentração estimada (%v/v)	Erro relativo (%)
90	90	0,4
85	86	1,2
80	77	3,8
75	76	1,3

Fonte: Os autores (2021)

Determinação da adulteração do azeite de oliva por espectrofotometria no UV-Vis

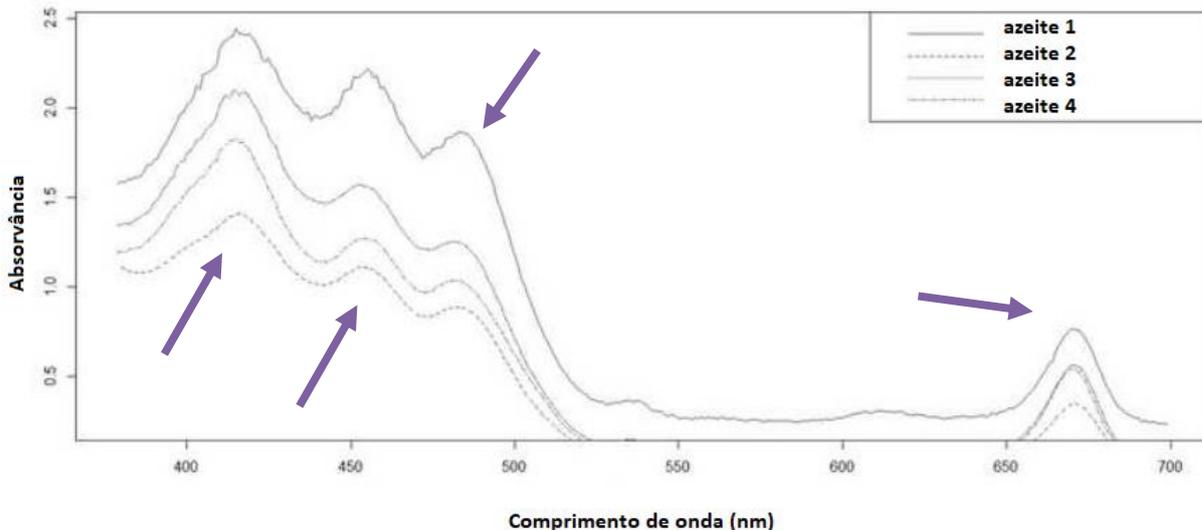
Na Figura 05 se tem o espectro sobreposto do óleo de soja e azeite de oliva extra virgem.

Figura 5: Espectro UV-Vis de óleo de soja e azeite de oliva.



É possível observar na região de 200 – 378 nm (região circunscrita em verde) que havia um ruído e por isso essa região do espectro foi desconsiderada, trabalhando-se apenas com a região de 379 – 700 nm. Nessa região foi possível observar pontos diferentes (demarcados em roxo na Figura 6) onde se tinha picos de absorvância, o que é esperado em virtude da presença de clorofila no azeite.

Figura 6: Espectro recortado no UV-Vis de óleo de soja e azeite de oliva.



Para fins de quantificação, se escolheu 3 pontos: 415, 454 e 670 nm, tendo sido gerado um modelo linear para cada absorvância escolhida, conforme pode ser observado na Tabela 4.

Tabela 4: Modelos de calibração univariada para espectrofotometria no UV-Vis.

Comprimento de onda (nm)	Equação do modelo	R ²	R
415	$Y = 0,014714x + 0,401755$	0,91	0,9539
454	$Y = 0,009909x + 0,323701$	0,87	0,9327
670	$Y = 0,004031x + 0,161116$	0,63	0,7937

Fonte: Os autores (2021)

Com base na análise dos modelos, o que ofereceu melhor resultado de predição foi o referente a 415 nm, sendo ele o escolhido para fins de comparação com o melhor modelo obtido na análise de imagem digital. Na Tabela 5 se tem os valores medidos e o erro relativo associado a cada medida. Pode se observar que os valores medidos foram próximos aos esperados, o que é corroborado pelo erro relativo.

Tabela 5 – Erro relativo e valores medidos por espectrofotometria.

Valor esperado (%v/v)	Valor medido (% v/v)	Erro relativo (%)
95	98	3
90	91	1
85	87	2
80	81	1
75	72	4

Fonte: Os autores (2021)

Comparação entre as técnicas

Ao se recorrer ao método da distância ortogonal se obteve a equação do modelo exibida na Tabela 6. Pode se observar que os resultados obtidos no processo de comparação pode ser considerado satisfatório. Vale ressaltar que a metodologia alternativa proposta ainda seria otimizada, o que acarretaria em uma relação mais forte entre a análise de imagem digital e a espectrofotometria no UV-Vis. Também vale ressaltar que tal comparação foi desconsiderando o padrão de 5% de óleo de soja e 95% de azeite de oliva cujo resultado não foi descartado na espectrofotometria no UV-Vis, visto que na análise de imagem digital tal padrão foi retirado na construção do modelo.

Tabela 6 – Equação do modelo de comparação das técnicas.

Equação do modelo	R2	R
$Y = 0,7631C + 19,101$	0,8472	0,9204

Fonte: Os autores (2021)

5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nos dois estudos de caso apresentados mostram o potencial da análise de imagem digital para ser empregada para fins de ensino, usando um smartphone como aliado no processo de ensino-aprendizagem. Valer ressaltar que as duas metodologias, que se basearam na aquisição de imagens, tiveram os dados tratados fazendo uso de um software gratuito. Tal processo pode ser aplicado em aulas práticas de química analítica tanto no nível técnico quanto em nível superior (em cursos de química ou áreas afins) quando não se tem um espectrofotômetro disponível ou mesmo que se tenha como a inserção de uma nova técnica a ser aprendida pelos alunos.

Os resultados, ainda que haja necessidade de se otimizar os modelos obtidos, já mostram a viabilidade da aplicação da análise de imagem digital como ferramenta de ensino. Visto que, não apenas uma nova técnica seria apresentada, mas também a introdução ou revisão de conceitos importantes vistos na teoria poderiam ser colocados em prática diferentes conceitos de química analítica e também de quimiometria tais como: calibração univariada, visto que os modelos construídos foram a partir de dados escalares, avaliação de valores discrepantes, avaliação da adequação do modelo, além do conceito de análise de imagem digital.

REFERÊNCIAS

- Baccouri, O.; Bendini, A.; Cerretani, L.; Guerfel, M.; Baccouri, B.; Lercker, G.; Zarrrouk, M.; Miled, D.D.B. Comparative study on volatile compounds from Tunisian and Sicilian monovarietal virgin olive oils. *Food Chemistry*, 111, 322- 328, 2008.
- Barbosa, E.F.; Aulas práticas de química na formação profissional: uma abordagem da importância e alguns aspectos relevantes. *Enciclopédia Brasileira: Centro Científico Conhecer*, 7, 1, 2011.
- Barker, M.; Rayens, W. Partial least squares for discrimination. *Journal of Chemometrics*, 2003, 17 (3),166-173.
- Booksh, K.S.; Kowalsky, B.R. Theory of analytical Chemistry, *Analytical Chemistry*, 1994, 66, 782A – 791 A.
- Bortoleto, G.G. Desenvolvimento de métodos analíticos usando espectrometria de raios X e quimiometria. 2007. 96 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), maio/2007.
- Christopoulou, E.; Lazaraki, M.; Komaitis, M.; Kaselimis, K. Effectiveness of determinations of fatty acids and triglycerides for the detection of adulteration of olive oils with vegetable oils. *Food Chemistry*, 2004, 84, 463 – 474.
- Fasciotti, M.; Pereira Netto, A.D. Optimization and application of methods of triacylglycerol evaluation for characterization of olive oil adulteration by soybean oil with HPLC–APCI–MS–MS. *Talanta*, 2010, 81, 1116-1125.
- Girón, A. M. J. Aplicaciones analíticas de métodos basados em luminescencia molecular en combinación com metodologias dinamicas. 2007. 556 f. Tese (Doutorado em química) – Universidad de Extremadura, Badajoz, 2007.
- Gomes, J.S. Estudo da mistura azeite de oliva – óleo de soja via espectroscopia de absorção óptica. 2003. 48 f. Monografia (Bacharel em Engenharia de Alimentos). Universidade Federal do Maranhão. Imperatriz – MA, 2003.
- Gurdeniz, G.; Ozen, B. Detection of adulteration of extra-virgin olive oil by chemometric analysis of mid-infrared spectral data. *Food Chemistry*, 2009, 116, 519 - 525.
- Kachouri, F.; Hamdi, M. Enhancement of polyphenols in olive oil by contact with fermented olive mill wastewater by *Lactobacillus plantarum*. *Process Biochemistry*, 2004, 39, 841–845.
- Kehoe, E.; Penn, R. L. Introducing Colorimetric Analysis with Camera Phones and Digital Cameras: An Activity for High School or General Chemistry. *Journal of Chemical Education*, 2013, 90, 1191–1195.
- Koesdjojo, M. T.; Pengpumkiat, S.; Wu, Y.; Boonloed, A.; Huynh, D.; Remcho, T. P.; Remcho, V. T. Cost Effective Paper-Based Colorimetric Microfluidic Devices and

Mobile Phone Camera Readers for the Classroom. *Journal of Chemical Education*, 2015, 92, 737–741.

Leitão, J.M.M. Técnicas quimiométricas de calibração acopladas a metodologias de análise espectrofotométrica de formulações farmacêuticas. 2005. 500 f. Tese (Doutorado em Farmácia) – Universidade de Coimbra, 2005.

Levine, D.M.; Stephan, D.F.; Krehbiel, T.C.; Berenson, M.L. *Estatística: Teoria e Aplicações usando Microsoft Excel em Português*. 6ª ed. LTC, 2012.

Mata – Espinosa, P.; Bosque – Sendra, J.M.; Bro, R.; Cuadros – Rodriguez, L. Olive oil quantification of edible vegetable oil blends using triacylglycerols chromatographic fingerprints and chemometric tools. *Talanta*, 2011, 85, 177-182.

Mata – Espinosa, P.; Dominguez – Vidal, A.; Bosque – Sendra, J.M.; Ruiz – Medina, A.; Cuadros – Rodriguez, L.; Ayora – Cañada, M.J. Olive oil assessment in edible oil blends by means of ATR-FTIR and chemometrics. *Food Control*, 2012, 23, 449-455.

Monfreda, M.; Gobbi, L.; Grippa, A. Blends of olive oil and sunflower oil: Characterisation and olive oil quantification using fatty acid composition and chemometric tools. *Food Chemistry*, 2012, 134, 2283-2290.

Monfreda, M.; Gobbi, L.; Grippa, A. Blends of olive oil and seeds oils: characterisation and olive oil quantification using fatty acids composition and chemometric tools. Part II. *Food Chemistry*, 2014, 145, 584-592.

Moraes, E. P.; Confessor, M. R.; Gasparotto, L. H. S. Integrating Mobile Phones into Science Teaching to Help Students Develop a Procedure to Evaluate the Corrosion Rate of Iron in Simulated Seawater. *Journal of Chemical Education*, 2015, 92, 1696–1699.

Moraes, E. P.; da Silva, N. S. A.; de Moraes, C. d. L. M.; Neves, L. S. D.; Lima, K. M. G. Low-Cost Method for Quantifying Sodium in Coconut Water and Seawater for the Undergraduate Analytical Chemistry Laboratory: Flame Test, a Mobile Phone Camera, and Image Processing. *Journal of Chemical Education*, 2014, 91, 1958–1960.

Oliveira, E.C.; Aguiar, P.F. Least Squares Regression with errors in both variables: cases studies. *Química Nova*, 2013, 36 (6), 885 – 889.

Öztürk, B.; Yalçın, A.; Özdemir, D. Determination of Olive Oil Adulteration with Vegetable Oils by near Infrared Spectroscopy Coupled with Multivariate Calibration. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 2010, 18, 191-201.

Pau, G.; Fuchs, F.; Skylar, O.; Boutros, M.; Huber, W. EBImage—an R package for image processing with applications to cellular phenotypes. *Bioinformatics*, 2010, 26 (7), 979-981.

Peixoto, E.R.M.; Santana, D.M.N.; Abrantes, S. 369 Avaliação dos índices de identidade e qualidade do azeite de oliva – proposta para atualização da legislação brasileira. *Ciências e Tecnologia de Alimentos* [online]. 1998, 18 (4), 444-452.

Pinto, A.C.; O ensino médio de química: o que fazer para melhorá-lo? Journal of the Brazilian Chemical Society, 2012, 23 (6), 985.

Rohman, A. Che Man, Y.B. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for analysis of extra virgin olive oil adulterated with palm oil. Food Research International, 2010, 43, 886-892.

Ruiz – Samblás, C.; Marini, F.; Cuadros – Rodríguez, L.; González – Casado, A. Quantification of blending of olive oils and edible vegetable oils by triacylglycerol fingerprint gas chromatography and chemometric tools. Journal of Chromatography B, 2012, 910, 71-77.

SALESSE, A.M.T.; Monografia de especialização. Universidade Federal Tecnológica do Paraná, Brasil, 2012.

Sinelli, N.; Cerretani, L.; Di Egidio, V.; Bendini, A.; Casiraghi, E. Application of near (NIR) infrared and mid (MIR) infrared spectroscopy as a rapid tool to classify extra virgin olive oil on the basis of fruity attribute intensity. Food Research International, 2010, 43, 369 - 375.

Valderrama, P., Braga, J.W., Poppi, R.J. Estudo da Arte de Figuras de Mérito em Calibração Multivariada. Química Nova, 2009, 32, 1278 – 1287.

Valderrama, L.; Gonçalves, R.P.; Março, P.H.; Valderrama, L. Espectroscopia UV – Vis e método quimiométrico na avaliação de adulterações e fraudes em azeite de oliva extra virgem. Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos, 2014, 5 (2), p. 32 – 40.