FACULDADE REBOUÇAS
BACHARELADO EM FARMÁCIA

IDENTIFICAÇÃO DE ADULTERAÇÃO EM ÓLEOS DE COPAÍBA *(Copaifera sp.)* USANDO IMAGENS DIGITAIS E QUIMIOMETRIA

LUAN COSTA DO NASCIMENTO

Campina Grande

2022

LUAN COSTA DO NASCIMENTO

IDENTIFICAÇÃO DE ADULTERAÇÃO EM ÓLEOS DE COPAÍBA *(Copaifera sp.)* USANDO IMAGENS DIGITAIS E QUIMIOMETRIA

Trabalho de conclusão de curso na modalidade *artigo científico*, apresentado como requisito para obtenção do título de bacharel em Farmácia Generalista pela Faculdade Rebouças.

1º Orientador: Prof. Dr. Gessenildo Pereira Rodrigues

2ª Orientadora: Profª. Drª. Welma Thaíse Silva Villar

Campina Grande

2022

LUAN COSTA DO NASCIMENTO

IDENTIFICAÇÃO DE ADULTERAÇÃO EM ÓLEOS DE COPAÍBA (*Copaifera* sp.) USANDO IMAGENS DIGITAIS E QUIMIOMETRIA

Trabalho de Conclusão de Curso na modalidade *Artigo Cientifico*, apresentado como requisito para obtenção do título de Bacharel em Farmácia pela Faculdade Rebouças.

DATA DA AVALIAÇÃO: 09 de dezembro de 2022.

BANCA EXAMINADORA:

Gessenildo Pereira Rodrigues

Prof. Dr. Gessenildo Pereira Rodrigues

(1º Orientador - Faculdade Rebouças)

Welma Thaíse Silva Vilar

Profª. Drª. Welma Thaise Silva Vilar

(2º Orientadora - Faculdade Rebouças)

Helimarcos Nunes Pereira

Prof. Me. Helimarcos Nunes Pereira

(Examinador Interno - Faculdade Rebouças)

Jéssica Cabral de Andrade

Profª. Drª. Jessica Cabral de Andrade

(Examinadora Interna - Faculdade Rebouças)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pela dádiva da vida e a permissão de chegar até aqui;

Aos meus orientadores professores Dr. Gessenildo Rodrigues e Drª. Welma Vilar, por aceitarem está comigo, passando todo conhecimento e acreditarem em mim;

A pessoa da Professora Drª. Narlize Silva, que me fez entender que estrelas são entidades não palpáveis e que após a tempestade vem sempre um lindo arco íris cheio de esperanças, a qual estendo meu agradecimento a todo corpo docente que construiu meu conhecimento ao longo deste período acadêmico;

Aos meus pais, em especial minha mãe por toda educação dada e que construiu o meu caráter;

As companheiras de batalha Angélica Santana e Vaneska Sabino que foram por vários momentos o suporte para que eu chegasse até aqui;

A todos os colegas e familiares que contribuíram direta ou indiretamente nesse processo de aprendizagem;

A minha esposa Eslânia Fernandes por ser a primeira e maior incentivadora durante todo esse processo, que não foi fácil para nós;

Por último, ao meu filho Nícolas Gael, que me fez acreditar que tudo valeria a pena e é a minha razão diária para seguir em frente.

RESUMO

Os óleos essenciais possuem várias ações terapêuticas, dentre elas efeitos anti-inflamatórios, antifúngicos, antibacterianos. Pelo seu amplo espectro de aplicação e facilidade de acesso, existe a necessidade de um maior controle da qualidade das matérias primas desses produtos para que estejam adequados ao consumo humano e assim apresentem a eficácia terapêutica esperada. Dentre os óleos essenciais destaca-se o óleo de copaíba (*Copaifera* sp.), extraído do caule da Copaifera e composto principalmente por hidrocarbonetos sesquiterpênicos e ácidos diterpênóicos, tendo grande aplicação na Aromaterapia e na medicina popular. Devido seu alto custo, esses óleos essenciais sofrem frequentemente falsificações e adulterações, fazendo necessário um controle na qualidade desses produtos. Diante disso, este trabalho apresenta uma metodologia rápida, não destrutiva, não invasiva e que não requer tratamento da amostra baseadas em imagens digitais e técnicas de reconhecimento de padrões para classificação de óleo de copaíba industrializados autênticos e adulterados comercializados em drogarias no estado da Paraíba. Para isto, foram analisadas 60 amostras de óleo sendo dividida em autênticas e adulteradas com óleo de soja nas concentrações de 30 e 40%. A análise de classificação modelos baseados em Análise Discriminante Linear (LDA) e seleções de variáveis pelo algoritmo das projeções sucessivas (SPA) e stepwise (SW) aplicados as imagens alcançaram uma taxa de classificação correta (TCC) 100% para LDA/SW, assim como modelos baseados em análise discriminante pelos mínimos quadrados parciais (PLS/DA), classificando todas as amostras corretamente em suas classes. Em termos gerais, pode-se afirmar que a metodologia empregada é satisfatória na classificação de óleos vegetais utilizados para fins farmacêuticos que são adulterados com óleo de soja para fins de alimentação auxiliando assim uma inspeção mais rápida, confiável e de baixo custo.

Palavras-chave: Óleo de copaíba; *Copaifera* sp.; Imagens digitais; Quimiometria, Modelos LDA e PLS.

ABSTRACT

Essential oils have several therapeutic actions, including anti-inflammatory, antifungal, and antibacterial effects. Due to its wide application spectrum and ease of access, there is a need for greater quality control of the raw materials of these products so that they are suitable for human consumption and thus present the expected therapeutic efficacy. Among essential oils, copaiba oil (Copaifera sp.) stands out, extracted from the stem of Copaifera and composed mainly of sesquiterpene hydrocarbons and diterpenic acids, having great application in Aromatherapy and folk medicine. Due to their high cost, these essential oil are frequently falsified and adulterated, making it necessary to control the quality of these products. Therefore, this work presents a fast, non-destructive, non-invasive methodology that does not require sample treatment based on digital images and pattern recognition techniques for classifying authentic and adulterated industrialized copaiba oil sold in drugstores in the state of Paraiba. For this, 60 oil samples were analyzed, divided into authentic, and adulterated with soybean oil at concentrations of 30 and 40%. The classification analysis models based on Linear Discriminant Analysis (LDA) and variable selections by the algorithm of successive projections (SPA) and stepwise (SW) applied to the images reached a correct classification rate (TCC) of 100% for LDA/SW, thus as models based on discriminant analysis by partial least squares (PLS/DA), classifying all samples correctly in their classes. In general terms, it can be stated that the methodology used is satisfactory in the classification of vegetable oils used for pharmaceutical purposes that are adulterated with soybean oil for food purposes, thus helping a faster, more reliable, and low-cost inspection.

Keywords: Copaiba oil; *Copaifera* sp.; Digital Images; Chemometrics; LDA and PLS Models.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....7

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....9

2.1 Óleos Essenciais e sua importância para a saúde.....9

2.2 Óleo de Copaíba.....10

2.3 Análise e Controle de Qualidade de Óleos Essenciais.....12

2.4 Imagens Digitais.....13

2.5 Quimiometria.....13

3. METODOLOGIA.....16

3.1 Amostras.....16

3.2 Sistema para aquisição das imagens.....17

3.3 Análise Quimiométrica.....18

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....20

4.1 Histogramas.....20

4.2 Análise de Componentes Principais (PCA).....22

4.3 Modelos de Classificação.....23

4.4 Modelos LDA e PLS/DA.....24

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....27

REFERÊNCIAS.....28

1. INTRODUÇÃO

A ascensão da indústria farmacêutica e o uso desenfreado de medicamentos sem orientação profissional fez surgir uma preocupação inerente ao processo produtivo e ao mercado de produtos farmacêuticos sem procedência comprovada. A compra de medicamentos sem controle ou sem conhecimento de sua procedência, seja de forma lícita ou ilícitas, com o intuito de atingir os resultados necessários na terapia para uma condição de saúde é rotineiramente utilizada pela população e potencializa este fenômeno (ROCHA, 2014)

Em geral todos os medicamentos ou produtos farmacêuticos com fins terapêuticos necessitam de matérias primas apropriadas e de qualidade, de modo que um controle produtivo rigoroso é de extrema importância para que estejam hábeis ao consumo humano e apresentem a eficácia terapêutica esperada (ALMEIDA, 2021).

A falsificação de medicamentos não se resume a uma classe terapêutica específica. Existem relatos, por exemplo, de falsificações de antimaláricos, antibióticos, antineoplásicos, medicamentos para disfunção erétil (HURTADO; LASMAR, 2014) e trata-se de uma preocupação que deve ser levada para outros produtos com fins terapêuticos como os óleos essenciais, uma vez que Brasil se posiciona como o terceiro maior exportador de óleos essenciais, atrás apenas dos Estados Unidos e da França (MOURA et al. 2019).

Como reflexo das comprovações das suas eficácias e segurança por órgãos regulatórios, como a Organização Mundial de Saúde (OMS), o interesse por produtos naturais de diversas áreas tem sido crescente nas últimas décadas. Outra característica que chama a atenção é o aumento nos casos de adulterações e falsificações envolvendo diversas formas farmacêuticas de produtos naturais, principalmente óleos essenciais (SOARES, 2021).

Os Óleos essenciais tratam de moléculas lipofílicas, pequenas, onde sua principal característica é a volatilidade. E apresentam características olfativas das plantas de que é extraído, o que o difere dos óleos vegetais fixos que são produzidos como fontes de energia, em geral nas sementes e frutos, sendo sua

maior concentração de triglicerídeos e não possui aroma forte e caracteristico como nos óleos essenciais. (SARKAR, et al. 2017 e BARROS, 2022))

Segundo Pibiri 2006, os óleos essenciais possuem várias ações de caráter medicinal dependendo de sua composição, como efeitos antifúngicos, antivirais, antibacterianos, antiespasmódicos e anti-inflamatórios, principalmente. Dentre eles se destaca o óleo de copaíba, que apresenta como principais atividades medicinais identificadas na literatura ações anti-inflamatória, antisséptica, antitumoral, antibacteriano, germicida, expectorante, diurético e analgésico (PIERI, 2009).

Para Pala et al. (2010), os métodos mais comumente empregados na falsificação e adulteração de óleos essenciais são: adição de compostos sintéticos que tenham um menor custo, mistura do óleo essencial com outros óleos de qualidade inferior e da mesma espécie, ou diluição em um veículo como um óleo carreador. Assim como na adulteração de medicamentos alopáticos, o interesse é diminuir o custo de produção a fim de aumentar a margem de lucro.

Todos esses fatores apontam para uma necessidade de um maior controle na qualidade destes produtos. Nesse cunho, temos as análises baseadas em imagens digitais, uma promissora técnica analítica de baixo custo, não destrutiva, não laboriosa, não invasiva e de fácil conversão de dados para análise de componentes principais para separação e classificação das amostras (VILAR, 2014).

Alguns trabalhos são encontrados na literatura empregando medidas de imagens digitais associados à análise multivariada com diferentes propósitos e matrizes, como sementes de mamona (VILAR, 2014), classificação de óleos vegetais comestíveis (MILANEZ, 2013), análises de plantas (BARBOSA, 2015), além de aplicações ambientais e tecnológicas (FILHO, 2015).

Deste modo, o presente trabalho teve como principal proposta a aplicação da análise por imagens digitais e da quimiometria para identificação, classificação, e separação de amostra adulteradas e não adulteradas de óleos de copaíba industrializados comumente comercializados em drogarias no estado da Paraíba.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Óleos Essenciais e sua importância para a saúde

Os óleos essenciais são objetos de vários estudos pelas suas atividades antioxidantes e antimicrobianas despertando interesses econômicos (RIBEIRO, 2017). Desta forma atualmente estes óleos essenciais têm sido utilizados no processo de cuidado, tratamentos e bem estar, tendo um considerável crescimento, tornando uma realidade as variações de tratamento além da medicina tradicional alopática e sintética (ALVES et al, 2021).

Os óleos essenciais são caracterizados como fluidos oleosos voláteis de aroma marcante extraídos de algumas plantas, comumente sendo utilizado o processo de arraste por vapor d'água. No entanto, por causa da volatilidade, os óleos essenciais distinguem-se dos óleos estáveis, caracterizados como misturas lipídicas adquiridas na maioria das vezes de sementes (MOURA et al, 2019)

Os gêneros de plantas que possuem a capacidade de elaborar os compostos que compõem os óleos essenciais estão espalhados em um número restrito de famílias, como Myrtaceae, Lauraceae, Rutaceae, Lamiaceae, Asteraceae, Apiaceae, Cupressaceae, Poaceae, Zingiberaceae e Piperaceae (MOURA et al, 2019).

Devido suas características fitoquímicas, os óleos essenciais possuem uma enorme abrangência terapêutica, já que chegam a apresentar até 300 componentes, atuando em diversos sistemas no corpo, bem como na psique, podendo ter ação no sistema respiratório ao auxiliar no fortalecimento e trocas gasosas, proporcionando alívio das tosses e expectoração, além de proporcionar aumento das células imunológicas (NASCIMENTO et al, 2020).

Na saúde mental os óleos essenciais através da aromaterapia, proporciona o equilíbrio das emoções, tranquilidade, clareza mental, reduz o estresse, a ansiedade e eleva o padrão vibracional do ambiente, beneficiando todos que por ele circulam, já que por meio da via dermatológica a absorção sanguínea ocorre mais rapidamente em comparação com a via oral e atravessa a barreira hematoencefálica (NASCIMENTO et al, 2020).

Conforme afirma Nascimento et al. (2020), um ponto de suma relevância em relação aos óleos essenciais deve-se às mudanças que ocorrem na mesma espécie de planta, acarretando variações nos percentuais dos compostos produzidos. Alguns fatores como o solo, horário de colheita, região de origem e os métodos de extração, são interferentes.

2.2 Óleo de Copaíba

A copaíba (*Copaifera* sp.), é uma árvore de grande porte que pertence à família Fabaceae, predominante na América Latina e na África Ocidental, e no Brasil encontra-se em maior predominância na Região Amazônica. A copaibeira produz no interior de seu caule um óleo que é utilizado há mais de 500 anos na medicina popular (PIERI, 2009).

O primeiro registro que o óleo de copaíba foi citado, acredita-se que tenha ocorrido em 1534, em uma carta enviada por Pethus Martins ao Papa Leão X, posteriormente publicada em Estrasburgo, onde cita que a droga usada pelos índios nativos era chamada copei . Em fins de 1560, o padre jesuíta José de Anchieta, em carta ao padre geral, comenta o poder cicatrizante potente do óleo de copaíba (JUNIOR e PINTO, 2002; PIERI et al, 2009).

O óleo consiste em um produto da desintoxicação do organismo vegetal, e que funciona como defesa da planta contra animais, fungos e bactérias (PIERI et al, 2009). O que proporciona ações além do efeito anti-inflamatório. Estudos recentes demonstraram que a oleorresina de copaíba, além de seu uso típico na medicina popular anti-inflamatória, possui ação antioxidante, cicatrizante, estimulante da formação óssea, citotóxica, gastroprotetora, nociceptiva, antimicrobiana, antileishmania, antiedema, antifúngica, antiblenorrágica (MENEZES et al., 2022).

Segundo a literatura, existem equívocos na identificação botânica e composição químicas dos óleos de copaíba, que com frequência são adulterados e misturados a outros óleos (JUNIOR e PINTO, 2002). Estudo de Ferreira et al. (2007), os óleos de Copaifera são compostos de hidrocarbonetos sesquiterpênicos e ácidos diterpênóicos (AD), existindo enorme semelhança entre os sesquiterpenos, com as maiores diferenças estando na composição dos ácidos diterpênóicos. Os principais constituintes em termos dos sesquiterpênicos são: beta e delta elemeno,

alfa-copaeno, trans-cariofileno, zingibereno, beta-bisaboleno, delta-cadineno e 11 (onze) AD.

Galúcio et al. (2016) também apresenta um estudo onde foram identificadas as características físico-químicas do óleo de copaíba e sua composição de seus sesquiterpenos, as quantidades são apresentadas na Tabela 1. Vale ressaltar que as características físico-químicas do óleo de copaíba podem variar de acordo com a origem e processamento da amostra no processo de industrialização do óleo.

Tabela 1. Características físico-químicas do óleo de copaíba e sua composição de seus sesquiterpenos.

Características Físico-Químicas e Principais componentes em termos de Sesquiterpenos (%) do óleo essencial de Copaíba.	
Aparência	Líquido à 25 ºC
Cor	Incolor
Odor	Característico aromático
Densidade	0,880-0,915
Índice de Refração	1,496-1,5060
Rotação Optica	-40
Solubilidade em água	Insolúvel
β-cariofileno	41,38
β-bisaboleno	14,52
bergamoteno	8,25
β-selineno	8,03
α-humuleno	6,14

Fonte: Adaptado de Galúcio, 2016

Segundo Lourenço (2007) o método mais econômico e recorrente para separação de óleos essenciais de sua matriz é através de ação por vapor de água, além do processo por uso de solventes orgânicos. Lourenço (2007) ainda coloca como método alternativo a extração com fluidos supercríticos, porém o método apresenta como desvantagem o alto custo de equipamentos.

Por outro lado, Galúcio et al (2016), relata que o método mais utilizado para obtenção do óleo de Copaíba se dá através de hidro destilação, uma vez que o procedimento é simples e de baixo custo, tendo como desvantagem a exposição do óleo essencial a um longo período em alta temperatura, o que pode interferir na qualidade do produto final. O autor aborda que uma alternativa seria a destilação molecular, método que permite a separação de compostos termossensíveis por evaporação e condensação sob alto vácuo, submetendo a matéria a temperaturas menores e em um menor tempo.

2.3 Análise e Controle de Qualidade de Óleos Essenciais

Com a grande demanda desses produtos, principalmente por meio da aromaterapia, as falsificações acabam sendo a cada dia uma realidade mais frequente. É necessária uma atenção à qualidade dos óleos essenciais, uma vez que adulterações pode acarretar mudanças não perceptíveis visualmente, mas modificar significativamente a matriz fitoquímica dos componentes ativos, acarretando ineficiência ou consequências negativas à saúde do indivíduo, como reações adversas e intoxicações. (PALA,et al, 2010)

As adulterações influenciam no efeito farmacológico oferecendo perigo ao usuário que se utiliza destes óleos essenciais. Essas falsificações ocorrem de modo a diminuir o custo de produção dos produtos farmacêuticos baseados nos óleos essenciais a fim de aumentar a margem de lucro. Estes são frequentemente alterados pela adição de compostos sintéticos de menor custo em comparação com os óleos autênticos, mistura com outros óleos de qualidade inferior da mesma espécie, ou diluição em um veículo como um óleo carreador. (PALA et. al. 2010).

De acordo com a literatura, algumas técnicas podem ser empregadas no controle de qualidade dos óleos essenciais para que se consiga detectar adulterações e falsificações, a exemplo da espectrometria no Infravermelho (SANTANA, 2015 e SOUZA, 2018) e testes cromatográficos (CAJADO, 2019). Esses testes possuem elevado custo de execução, além de serem invasivas e/ou destrutivas, desse modo, a classificação por imagens digitais é uma alternativa muito promissora, tendo em vista a não degradação do material analisado e o seu baixo custo.

2.4 Imagens Digitais

Uma imagem é uma representação da interação e reflexão entre luz e matéria e pode ser reproduzida levando como parâmetro principal a simulação da visão humana (FILHO, 2015). Imagens adquiridas no espectro visível são amplamente utilizadas para diferentes aplicações, como o desenvolvimento de robôs autônomos, aplicações na indústria (certificação de qualidade) e a percepção e acompanhamento de eventos de natureza física. Cada pixel é capaz de indicar variações na intensidade de iluminação na forma de uma imagem digital obtida através da luz refletida pelo objeto real com proporções espaciais semelhantes à imagem original. Por ser composta por inúmeros pontos, a imagem pode ser tratada estatisticamente, já que pode ser representada por histogramas de frequência, o que torna possível o uso de técnicas de separação e classificação dos dados via parâmetros da imagem com o uso de softwares. (FILHO, 2015)

Nas imagens digitais uma cena analógica é convertida por meio da cena real, seja de forma monocromática ou colorida, pelo processo de transdução optoeletrônica, onde se converte energia luminosa incidida no objeto em sinal elétrico, de modo a fornecer a imagem analógica. Como estas imagens não podem ser processadas em computadores, conforme aborda Milanez (2013) e Vilar (2014), é necessário passar pelo processo de digitalização, que consiste na criação de uma matriz M x N pontos (VILAR, 2014)

Nas imagens coloridas digitais no sistema RGB, cada pixel representa um vetor correspondente às intensidades das cores primárias (vermelho, azul e verde). Para imagens em escala de cinza o histograma apresentará o número de vezes que o valor de cinza aparece dentro da imagem, sendo de 0 a 255 (MILANEZ, 2013 e VILAR, 2014)

2.5 Quimiometria

Em conjunto com a técnica de imagens digitais, novas metodologias visando a identificação, quantificação e controle de qualidade de produtos farmacêuticos têm sido empregados, dentre eles há um foco crescente no uso da quimiometria (RUFINO, 2004). A utilização de computadores a fim de analisar dados químicos

cresceu de uma forma acentuada nos últimos vinte anos em virtude aos recentes avanços em "hardware" e "software" e vem auxiliando na aquisição de dados e construção de pesquisas. A aquisição de dados principalmente na área de química analítica, atingiu um ponto bastante sofisticado com o interfaceamento de instrumentos aos computadores auxiliando na produção de informações, muitas vezes complexa e variada (FERREIRA, 1998; MILANEZ, 2013)

Conforme aborda Milanez (2013) se entende a quimiometria como um conjunto de procedimentos matemáticos e estatísticos no qual se destina o planejamento de experimentos, com intuito de obter o máximo de informações de dados de análises químicas, que associado a programas computacionais corroboram para aquisição e manipulação de dados. Vilar (2014) traz que as principais áreas abordadas pela quimiometria são as que envolvem técnicas de reconhecimento de padrões, otimização de experimentos, calibração multivariada e planejamento.

Para que uma análise dessa natureza seja aplicada de forma confiável e eficiente, torna-se necessário o emprego de métodos estatísticos de tratamento de dados. Neste contexto, as técnicas de reconhecimento de padrões (RP) se destacam quanto à grande aplicabilidade em Química, identificando similaridades e diferenças entre grupos de amostras que foram submetidas a algum tipo de análise (BEEBE; PELL; SEASHOLTZ, 1998).

Os métodos de RP são classificados em não supervisionados e supervisionados. Os primeiros são empregados para avaliar a existência de agrupamentos sem utilizar o conhecimento prévio dos membros das classes, ou seja, as amostras são examinadas utilizando apenas medidas de algumas propriedades com intuito de se observar agrupamentos naturais (WOLD, 1976). As principais técnicas são: análise de agrupamentos hierárquicos (Hierarchical Cluster Analysis – HCA) e análise de componentes principais (PCA) (MASSART et al, 1997).

As técnicas de RP supervisionadas utilizam uma informação adicional sobre os membros das classes em estudo, ou seja, é necessário um conjunto de treinamento com objetos de categorias conhecidas para a elaboração de modelos que sejam capazes de classificar amostras desconhecidas (FISHER, 1936; WOLD, 1976). Entre essas técnicas, a modelagem independente e flexível por analogia de classes (SIMCA: Soft Independent Modeling of Class Analogy) (WOLD, 1976), a análise

discriminante linear (LDA: Linear Discriminant Analysis), e análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA) (BARKER; RAYENS, 2003; YI et al, 2016) vêm se destacando quanto à grande aplicabilidade em Química Analítica.

A LDA, em especial, é apropriada para conjuntos de dados de pequenas dimensões e a capacidade de generalização de seus modelos pode ser comprometida pela presença de colinearidade entre as variáveis (FISHER, 1936). Dessa forma, o uso da LDA para classificação, sobretudo com dados espectrométricos, necessita de procedimentos de seleção de variáveis.

No âmbito de seleções de variáveis em modelos LDA, destacam-se alguns métodos que vêm sendo bastante utilizados na literatura, como o Algoritmo das Projeções Sucessivas (SPA) (RIBANI et al, 2004; PONTES, et al, 2005; GONÇALVES et al, 2015), Stepwise (SW) (SILVA et al, 2013) e Algoritmo Genético (GA) (CANECA et al, 2006).

3. METODOLOGIA

3.1 Amostras

Inicialmente, seis amostras de óleo de copaíba de diferentes fabricantes e lotes foram adquiridas em Farmácias Comerciais do estado da Paraíba e analisadas. A Figura 1 mostra os detalhes de cada óleo adquirido para composição do corpo amostral com as informações lote, fabricante, data de fabricação e data de validade dos produtos.

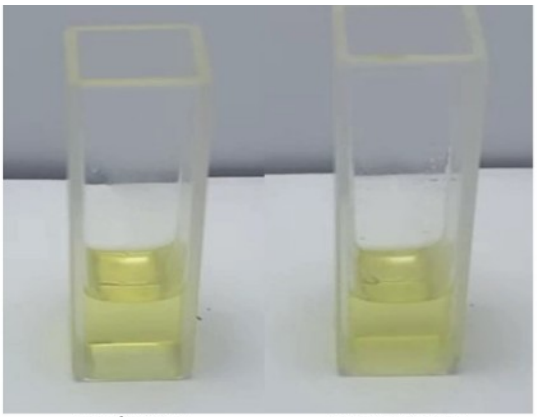
Tabela 2. Óleos de Copaíba adquiridos em drogarias no estado da Paraíba.

item	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4	Amiostra 5	Amostra 6
Lote	170	44721	544	---	2021	3518c
Fabricante	Uniphar	Produto Natural Oficinal Alpha Life.	Nectar Plus .	Produto Natural Oficinal Alpha Life.	União ervas e produtos naturais	Pharmakos D'amazonia.
Data de Fabricação	---	09/2021	02/2021	03/2022	---	02/2021
Data de Validade	03/2023	09/2023	02/2024	03/2024	06/2024	02/2024

Fonte: Autoria Própria, 2022.

Misturas entre as amostras foram realizadas a fim de aumentar o banco de dados, resultando em 30 amostras em sua totalidade, como mostrado na Figura 1**.** As amostras foram adulteradas nos níveis de 0,3/2mL e 0,4/2mL com óleo de soja comercial adquirido em supermercado, com duas diferentes marcas, ou seja, proporcionando amostras com 30% e 40% do adulterante.

ra 1. Misturas e adulterações de amostras de óleos de Copaíba

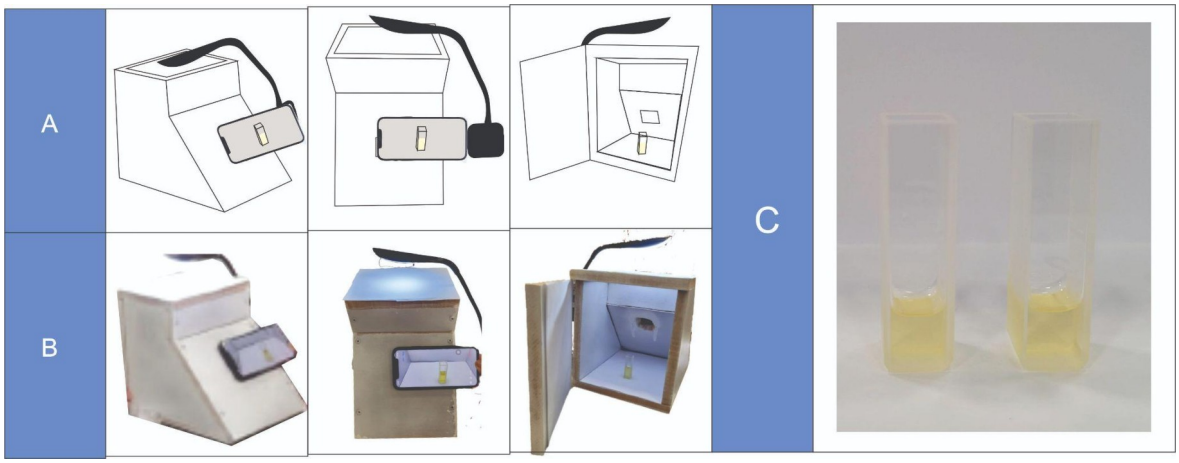


Fonte: Autoria Própria, 2022.

3.2 Sistema para aquisição das imagens

Para o processo de análise e obtenção das imagens oriundas do conjunto de amostras resultante das misturas foi construído um sistema, como mostrado na Figura 2. Poucos componentes foram utilizados, tais como: compartimento de madeira, lâmpada de led, cubeta para as amostras, notebook e um smartphone da marca Apple, modelo iPhone 11, com especificações de câmera padrão

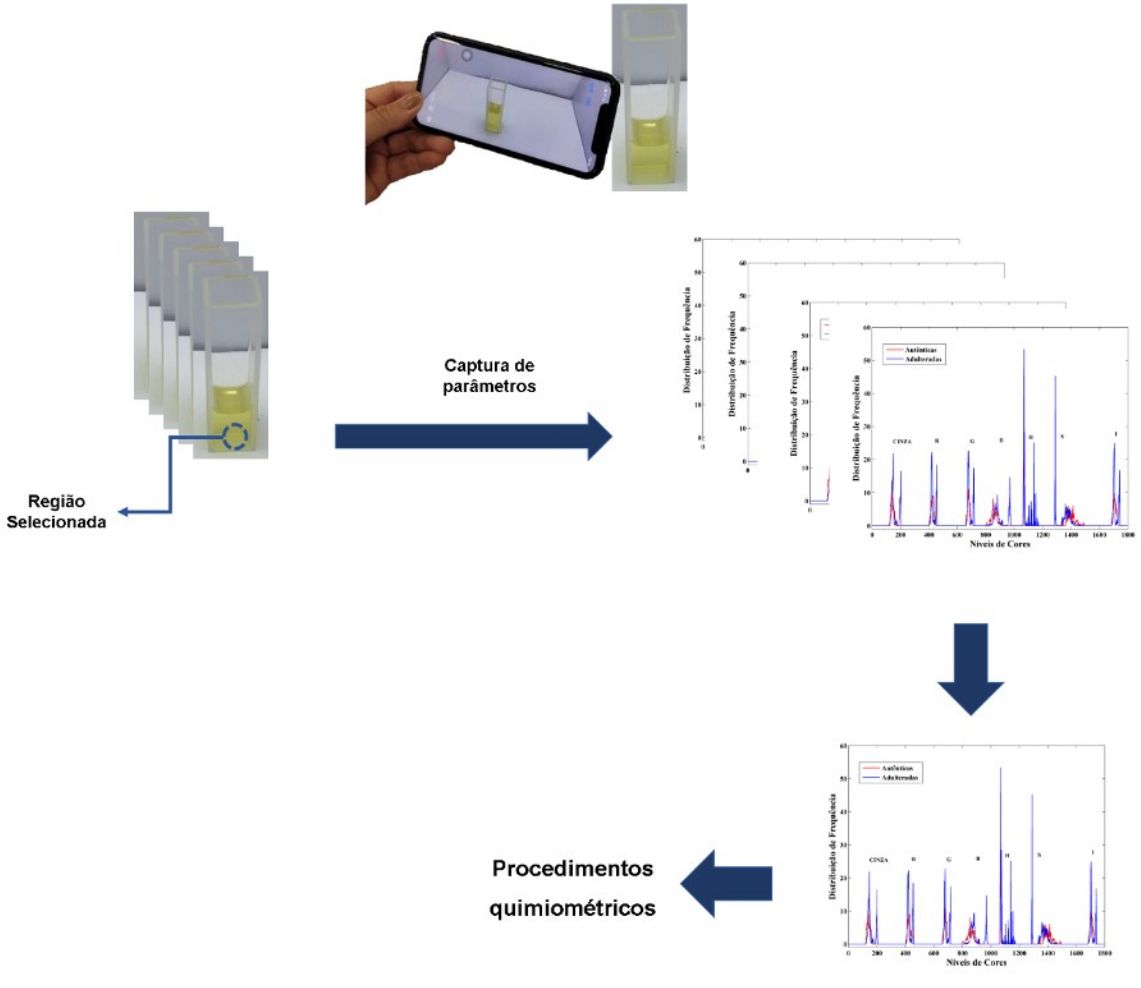
Figura 2. Projeto do equipamento para aquisição das imagens (A) e caixa utilizada na aquisição de imagens (B). Cubetas de vidro utilizadas para aquisição das imagens digitais (C).



Fonte: Autoria Própria, 2022.

Foram capturadas cinco imagens por amostra, cada imagem foi decomposta em histogramas correspondentes a uma região especifica da imagem, utilizada como resposta instrumental referente à aquela amostra, como mostrado na Figura 3.

Figura 3. Procedimento para obtenção dos dados analíticos



Fonte: Autoria Própria, 2022.

3.3 Análise Quimiométrica

Para garantir uma melhor representatividade, as amostras foram divididas em dois subconjuntos: treinamento (50%) e teste (50%) utilizando o algoritmo KENNARD-STONES (KS), este algoritmo foi aplicado em cada classe conforme descrito por Pontes et al (2005).

As amostras de treinamento foram usadas para treinar e validar o modelo (validação interna), incluindo a escolha de fatores no modelo PLS-DA e seleção de

variáveis LDA/SPA e LDA/SW. O conjunto de teste não participou da etapa de construção do modelo e foi utilizado com a finalidade de comparar o desempenho de classificação dos diferentes modelos desenvolvidos em função da taxa de classificação correta (TCC), como demonstrado pela Equação 1. Os dados foram processados utilizando Algoritmo.

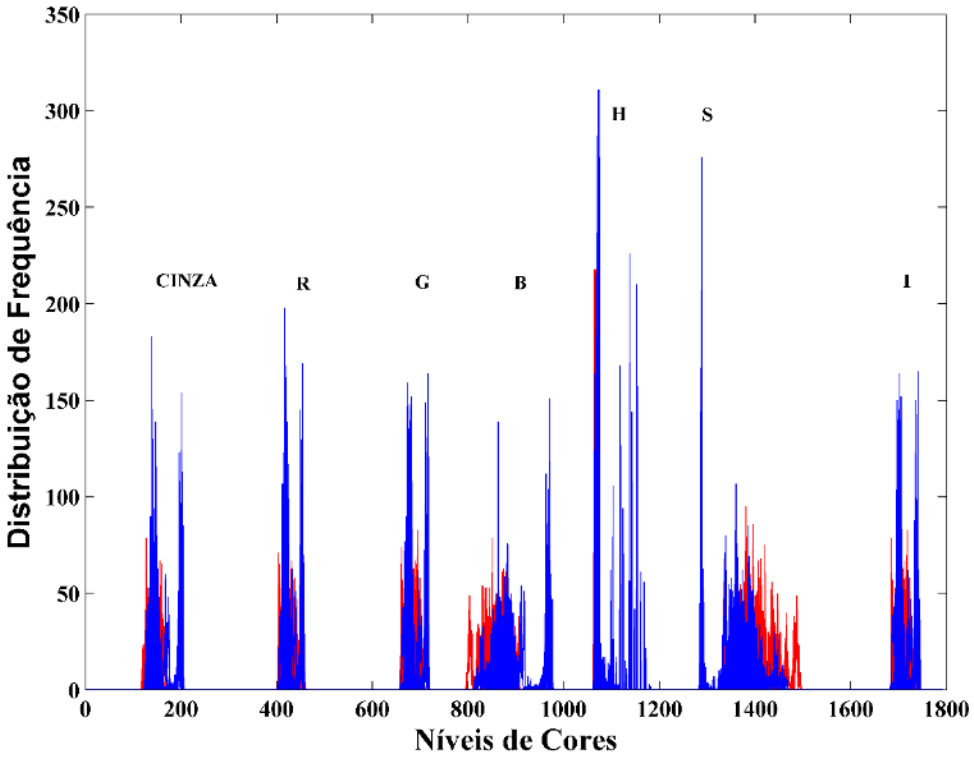
$$TCC\,\% = \frac{(número de acertos de classificação)}{(número total de amostras)}\, x\, 100\% \qquad (1)$$

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Histogramas

A Figura 5 apresenta os histogramas para as 60 amostras de óleo de copaíba (30 autenticas e 30 adulteradas). Os histogramas foram obtidos para os níveis de cores: cinza, R, G, B, H, S e I, estes são representações das cores que compõe a imagem e a quantidade de pixels apropriado para cada nível de cor. Em cada componente de cor existem 256 níveis que variam no intervalo de 0 a 255. Neste trabalho um total de 1792 níveis de cores foram empregados para o cálculo quimiométrico.

Figura 4. Histogramas das 60 amostras de óleos vegetais de copaíba para os componentes de cores Tons de cinza, R:red; G:Green; B: Blue; H: Hue; S: saturation e I: Intensity. Vermelho: autênticas; Azul: adulteradas.

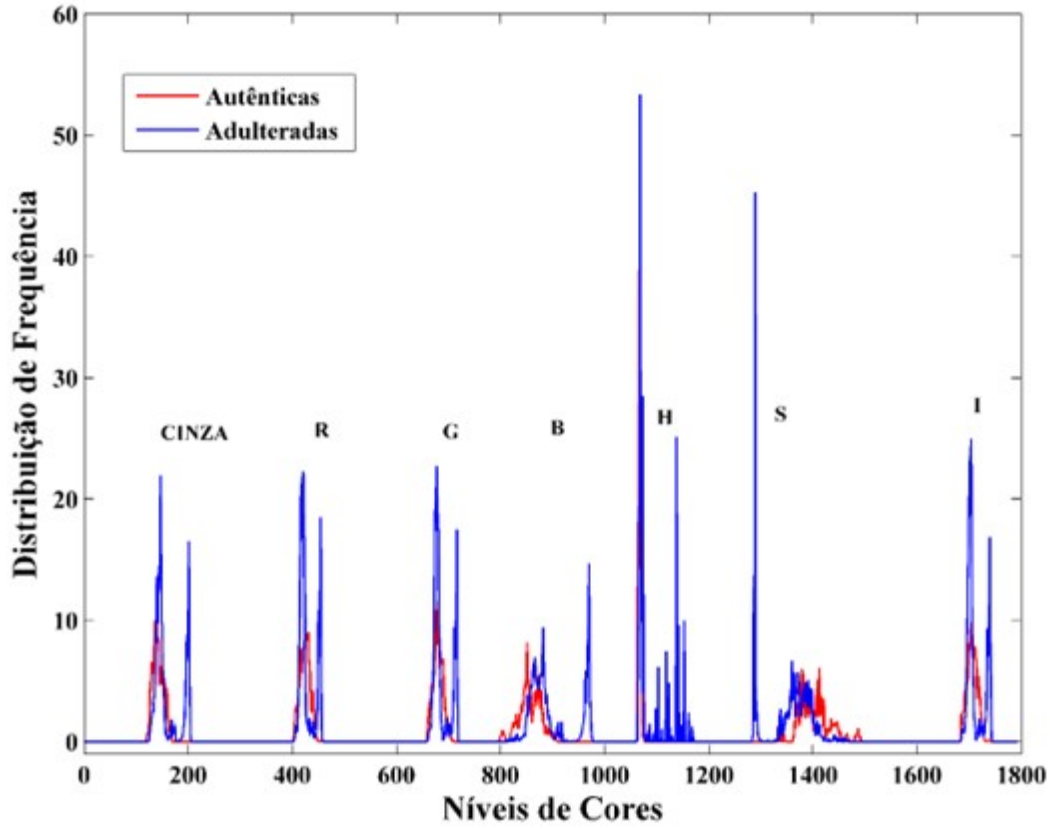


Fonte: Autoria Própria, 2022.

Quando são comparadas as amostras de óleos autênticas com as adulteradas é bastante difícil diferenciá-las através de uma inspeção visual, como observado pela distribuição de cores na Figura 4 e modelo das amostras na Figura 3c. Ainda, como observado existe uma sobreposição das classes em todos os canais. Para melhor discussão, os histogramas médios das classes são apresentados na Figura 6.

Como pode-se observar na Figura 5, dentro de todos os níveis de cores, B e S se destacam pela pequena variabilidade apesar desses níveis apresentarem uma menor frequência.

Figura 5. Histogramas médios para as amostras de óleo de copaíba adulteradas (azul) e autênticas (vermelho).



Fonte: Autoria Própria, 2022.

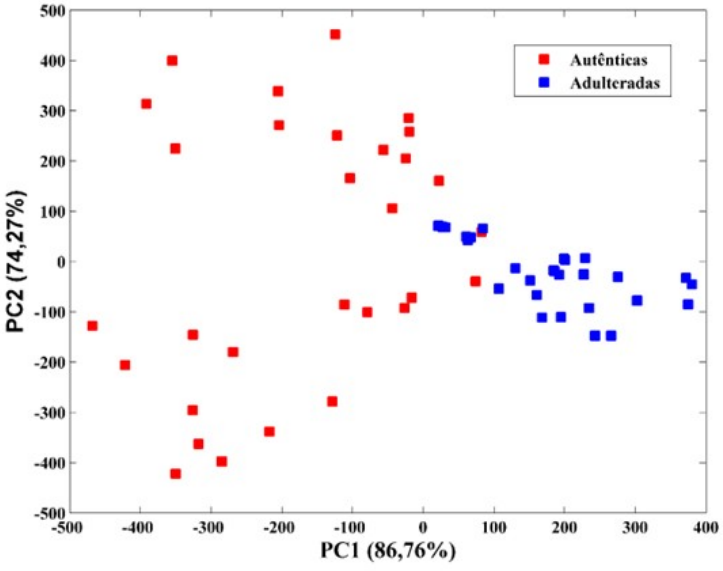
A cor amarela atribuída aos óleos vegetais empregados neste estudo pode ser atribuída aos carotenoides, estes pigmentos são capazes de absorver a luz na região ultravioleta e visível do espectro (MORETTO; FETT, 1998). Para que os

humanos percebam a cor amarela, é necessário que dentre todos os comprimentos de onda que incidem na amostra de óleo, apenas os comprimentos correspondentes a cor azul seja absorvida. Tais reflexões e absorções são provocadas devido a incidência da luz, levando em consideração principalmente a sua composição química (Milanez, 2013). Portanto, explica essa variabilidade um pouco maior quando comparados com os outros níveis de cores. Do ponto de vista da diferenciação entre as amostras adulteradas e autênticas, é observado na Figura 5 que mesmo com os histogramas médios faz-se necessário a utilização de ferramentas quimiométricas para diferenciar de forma segura as classes estudadas de óleo de copaíba.

4.2 Análise de Componentes Principais (PCA)

Com o propósito de realizar uma avaliação exploratória dos histogramas obtidos para os óleos vegetais foram obtidos o gráfico dos escores, mostrado na Figura 6, através de uma PCA realizada para verificar a contribuição de cada variável presente no estudo.

Figura 6. Gráfico dos escores PC1 x PC2 para amostras de óleo de copaíba autêntica (vermelha) e adulteradas (azul).



Fonte: Autoria Própria, 2022.

Como pode ser observado na Figura 7, existe uma tendência para formação de agrupamentos entre as amostras estudadas, no entanto ao longo de PC2 pode-se observar uma sobreposição entre as amostras. Então, estudos baseados em seleções de variáveis concatenados com os métodos de reconhecimento de padrões supervisionado podem ser relevantes para auxiliar na classificação de óleo de copaíba adulterados e não adulterados.

4.3 Modelos de Classificação

Com o intuito de tornar os estudos apresentados nas seções anteriores mais robustos foram desenvolvidos modelos LDA/SPA, LDA/SW e PLS/DA para o conjunto de teste. Os resultados são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Taxa de classificação correta obtida com os modelos de classificação LDA/SPA, LDA/SW e PLS/DA utilizando imagens digitais para o conjunto de teste. Os números entre parêntesis indicam o número de variáveis ou fatores selecionados.

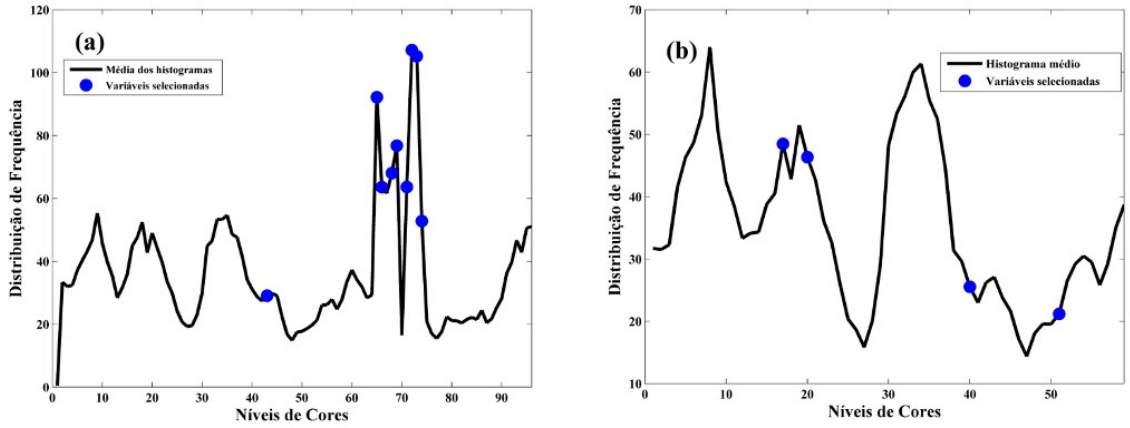
	Taxa de Classificação Correta (%)		
Canais	**LDA/SPA**	**LDA/SW**	**PLS/DA**
Cinza-RGB-HSI	**96,6 (9)**	**100 (5)**	**93,33 (3)**
Cinza	**90 (10)**	**90 (5)**	**93,33 (5)**
RGB	**90 (10)**	**90 (4)**	**93,33 (6)**
HSI	**90 (6)**	**86,66 (5)**	**93,33 (2)**
CINZA-RGB	**70 (4)**	**100 (4)**	**86,66 (3)**
RGB-HSI	**93,33 (9)**	**90 (6)**	**100 (3)**

Conforme resultados apresentados na Tabela 2, os modelos LDA/SPA, LDA/SW e PLS/DA apresentaram os melhores desempenho utilizando todos os canais, as combinações cinza-RGB e RGB-HSI, valores destacados em cinza, respectivamente.

4.4 Modelos LDA e PLS/DA

As Figuras 7(a) e (b) apresentam as variáveis selecionadas pelos modelos SPA e SW, respectivamente. Como pode ser visto, as variáveis selecionadas pelo SW foram também em regiões que o SPA selecionou, diferenciando apenas para o canal de cinza. Observa-se que os dois modelos selecionaram em regiões parecidas para o canal B onde ocorre maior presença de carotenoides de óleos vegetais.

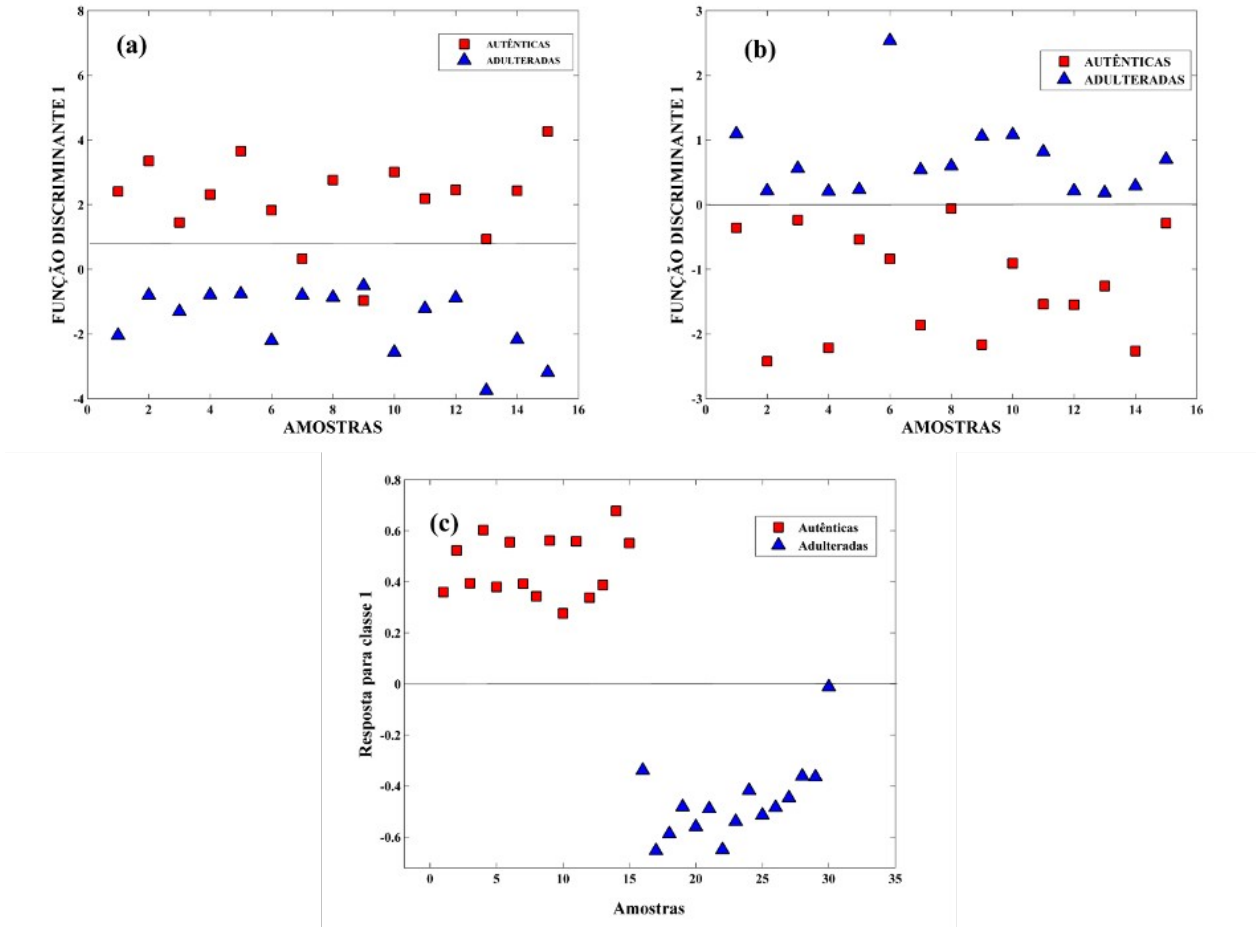
Figura 7. Variáveis selecionadas pelos modelos SPA (a) e SW (b).



Fonte: Autoria Própria, 2022.

A Figura 8 mostra o gráfico dos escores obtidos por LDA com as seleções de variáveis SPA (a) e SW (b) e PLS-DA (c). No gráfico de PCA, observa-se que o gráfico da função discriminante apresenta separação mais efetiva entre as classes de óleos vegetais, utilizando variáveis selecionadas pelo SPA e o SW. A Tabela 3 apresenta resultados obtidos pelos modelos LDA/SPA, LDA/SW e PLS/DA para o conjunto de teste para as classes das amostras de óleo de copaíba autênticas e adulteradas.

Figura 8. Gráfico dos escores da função discriminante 1 para as 30 amostras de testes (amostras autênticas) e amostras adulteradas pelos modelos LDA/SPA (a); LDA/SW (b); e PLS/DA (c).



Fonte: Autoria Própria, 2022.

Conforme a Tabela 4, o LDA/SW e PLS/DA foram os que atingiram os melhores resultados com uma TCC de 100%, ou seja, foram classificadas todas as amostras em sua classe corretamente. No entanto, o LDA/SPA apresenta uma TCC relativamente alta, uma vez que só apresentou um erro, uma amostra autêntica foi classificada como adulterada.

Tabela 4. Taxa de classificação correta obtida com os modelos de classificação LDA/SPA, LDA/SW e PLS/DA utilizando imagens digitais para o conjunto de teste. Os números entre parêntesis indicam a taxa de classificação correta (TCC). N indica o número de amostras utilizadas.

		LDA/SPA (96.6%)		**LDA/SW (100%)**		**PLS/DA (100%)**	
Amostras		Classe Predita		Classe Predita		Classe Predita	
Classe verdadeira	N	Autênticas	Adulterada	Autênticas	Adulterada	Autênticas	Adulterada
Autênticas	15	14	1	15	-	15	-
Adulteradas	15	-	15	-	15	-	15

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi apresentado neste trabalho uma metodologia rápida, não destrutiva, não invasiva e que não requer tratamento da amostra baseadas em imagens digitais e técnicas de reconhecimento de padrões para classificação de óleo de copaíba autentico e adulterados.

Para este fim, um sistema portátil foi projetado para aquisição das imagens considerando todos os elementos necessários para garantir o padrão de qualidade das imagens registradas, que de maneira satisfatória de acordo com os resultados possibilitaram extrair as informações pertinentes a respeito das cores das amostras. Para análise de classificação modelos baseados em LDA e seleções de variáveis SPA e SW aplicados as imagens alcançaram uma TCC 100% para LDA/SW assim como modelos baseados em PLS/DA, classificando todas as amostras corretamente em suas classes.

Em termos gerais, pode-se afirmar que a metodologia empregada é satisfatória na classificação de óleos vegetais utilizados para fins farmacêuticos que são adulterados com óleo de soja, auxiliando assim uma inspeção mais rápida, confiável e de baixo custo. Além disso, não foi utilizado procedimentos laboriosos para a análise química e física do óleo de copaíba.

Atingindo assim os abjetivos desejados, em empregar uma metodologia de fácil execução, não destrutiva para controle de qualidade de óleos essenciais e com baixo custo para execução

5. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, L. **Indústria farmacêutica: a importância do controle de qualidade**. Disponível em: <https://nexxto.com/industria-farmaceutica-a-importancia-do-controle-de-qualidade/>. Acesso em: 15 dez. 2022.

ALVES, C. N. S; LAVÔR, D. T; RAMOS, A. B. B **Uso e propriedades dos óles essenciais: uma revisão de literatura**. Transformação social e soberania alimentar em tempos de pandemias. **Anais**.Instituto internacional Despertando Vocações, 2021.

BARKER, M.; RAYENS, W. Partial least squares for discrimination. **Journal of Chemometrics**, v. 17, p. 166-173, 2003. Doi: https://doi.org/10.1002/cem.785.

BARROS, C. **Óleo essencial e óleo vegetal: principais diferenças e aplicações no P&D de cosméticos**. Disponível em: <https://www.cleberbarros.com.br/oleo-essencial-e-oleo-vegetal/>. Acesso em: 18 dez. 2022.

BEEBE, K. R., PELL, R. J., SEASHOLTZ, M. B. **Chemometrics a practical guide.** New York: John Wiley Y Sons, 1998.

BLACKSTONE, E. A.; JOSEPH, P. F. Jr.; POCIASK, S. Health and Economic Effects of Counterfeit Drugs; **American Health & Drug Benefits**., United States, v.7, n.4, p. 216-224, 2014.

CAJADO, M.L.; **Qualificação de amostras comerciais de óleo essencial de lavandin abriallis: identificação de adulteração.** 2019. Trabalho de Conclusão de curso (graduação). Universidade Federal do Ceará.; Fortaleza, 2019.

CANECA, A. R.; PIMENTEL, M. F.; GALVÃO, R. K. H.; MATTA, C. E.; CARVALHO, F. R.; RAIMUNDO JR., I. M.; PASQUINI, C.; ROHWEDDER, J. J. R. Assessment of infrared spectroscopy and multivariate techniques for monitoring the service condition of diesel-engine lubricating oils, **Talanta**, v. 70, p. 344 – 352, 2006. Doi: doi:10.1016/j.talanta.2006.02.054.

CONGRESSO INTERNACIONAL DAS CIÊNCIAS AGRÁRIAS **,** 4**.,** 2021**,** Brasil**. Anais Eletrônicos 37. Brasil: 2021.** Disponível em: https://cointer.institutoidv.org/pdvagro/2021/anais2021.php. Acesso em: 12 Out. 2022. Doi: https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e08993

FERREIRA, C. P.; CARVALHO, L. C. B ; BATISTA, N. C.; DE LIMA, S. G.; CAVALCANTE, A.A. M. C.; FEITOSA, C. M.; CITÓ, A. M. G. L.; BARATA, L. E. S.; NETO, J.M.M.; LOPES, J. A. D.; **Estudos fitoquímico e avaliação preliminar de danos citogenéticos e atividade anticolinesterásica de óleos de copaífera**.; Associação Brasileira de Química - Seção Regional do Rio Grande do Norte (ABQ-RN). Natal – RN, 2007

FILHO, J. P.; **Análise de imagens para fins analíticos: aplicações ambientais e tecnológicas**. 2015. 161 p. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Quimica., 2015.

FISHER, R. A. The use of multiple measurments in taxinomic problems. **Annales Eugenics**, v. 7, p.179-188, 1936. Doi: https://doi.org/10.1111/j.1469-1809.1936.tb02137.x.

GALUCIO, C. S.; BENITES, C.I.; RODRIGUES, R.A.F.; MACIEL, M.R.W: Recuperação de sesquiterpenos do óleo-resina de Copaíba a partir da destilação molecular. **Química Nova**, Campinas, v. 39, n. 7, p. 795-800, 1 dez. 2022..Doi: https://doi.org/10.5935/0100-4042.20160096

GONÇALVES, M. I. S. VILAR, W. T. S. MEDEIROS, E. P. PONTES, M. J. C. A novel strategy for the classification of naturally colored cotton fibers based on digital imaging and pattern recognition techniques. **Analytical Methods**, v. 7, n. 14, p. 5869 – 5875, 2015. Doi: http://dx.doi.org/10.1039/C5AY01116G.

HANEEF, J., SHAHARYAR, M.; HUSAIN, A.; RASHID, M.; MISHRA, R.; SIDDIQUE, N. A.; PAL, M. Analytical methods for the detection of undeclared synthetic drugs in traditional herbal medicines as adulterants. **Drug Test Anal**, v.5. n.8, p.607-613, 2013. Doi: https://doi.org/10.1002/dta.1482

HURTADO, R. L.; LASMAR, M. C. Medicamentos falsificados e contrabandeados no Brasil: panorama geral e perspectivas de combate ao seu consumo. **Cadernos de saúde publica**, v. 30, n. 4, p. 891–895, 2014.

IVAMA, A. M., HOFMEISTER, M. G.S., JARAMILO, N. M., MELCHIOR, S. C., GOMES, S. M. T., REUBER, T . L Fórum Nacional “Prevenção e Combate à falsificação e fraude de medicamentos: uma responsabilidade compartilhada”.; **Organização Pan-Americana da Saúde/Organização Mundial da Saúde (OPAS/OMS)**. Brasília, 2004.

KENNARD, R. W.; STONE, L. **A. Computer Aided Design of Experiments. Technometrics,** v. 11, n. 1, p. 137-148, 1969. Doi: https://doi.org/10.2307/1266770

Laboratory Systems, v. 78 n. 1-2, p. 11–18, 2005. Doi: https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2004.12.001.

LOURENÇO, J. A. A.;**Destilação Industrial de Óleos Essenciais.; Institutoi Nacional de Engenharia,** Tecnologia e Inovação. Departamento de tecnologia de industrias quimicas, Lisboa, Portugal

MASSART, D. L. VANDEGINSTE, B. G. M.; BUYDENS, S. J.; Lewi, P. J.; Smeyers-Verbeke. **Journal Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Parte B**, Amsterdam: Elsevier, 1997.

MCMURRY, J. **Química Orgânica**, combo; Tradução All Tasks; revisão técnica Robson Mendes Matos. São Paulo: Cengage Learning, 2011

Menezes, A., Alves, L., Goldemberg, D. C., de Melo, A. C., & Antunes, H. S. (2022). **Anti-inflammatory and wound healing effect of Copaiba oleoresin on the oral cavity**: A systematic review. Heliyon, 8(2), 089-93.

MILANEZ, K.D.T.M.; **Óleos essenciais: da extração a utilização.; VI Encontro Internacional de Jovens investigadores**. Dissertação (Mestrado em química) - Centro de ciências exatas e da natureza, Universidade Federal da Paraiba, João Pessoa, Paraíba, p.87, 2013.

MORETTO, E.; FETT, R.; **Tecnologia de Óleos e Gorduras Vegetais na Indústria de Alimentos.** São Paulo: Varela Editora e Livraria, 1998

MOURA, R.M.R.; SILVA, F.H.M.; COSTA, M.C.S.; VIEIRA, M. D.; CASTRO, D.C. Óleos essenciais: da extração a utilização.; **VI Encontro Internacional de Jovens investigadores**.; Salvador, Bahia, 2019.

NASCIMENTO, A.; PRADE, A.C.K.; **Aromaterapia: O poder das plantas e dos óleos essenciais**., Recife, ObservaPics Fiocruz., n.2 2020.

Natural essential oils in skin care & formula preservation. Disponível em: <https://www.happi.com/issues/2017-09-10/view_features/natural-essential-oils-in-skin-care-formula-preservation/>. Acesso em: 12 dez. 2022.
PALA, A. C. T.;SALIN, C. T.; ; CORTEZ, L. E. R.; CONTROLE DE QUALIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE ALECRIM (Rosmarinum officinalis) E LAVANDA (Lavandula augustifolia) COMERCIALIZADOS EM FARMÁCIAS DE DISPENSAÇÃO. Anais Eletrônico.; **V Mostra Interna de Trabalhos de Iniciação Científica** CESUMAR – Centro Universitário de Maringá, Maringá - Paraná , 2010.

PIBIRI, M.; GOEL, A.; VAHEKENI, N.; ROULET, C. Indoor air purification and ventilation systems sanitation with essential oils. **International** J**ournal of Aromatherapy,** v.16 n. 3-4, p.149–153, 2006. Doi: https://doi.org/10.1016/j.ijat.2006.10.002
PIERI, F.A.; MUSSI, M.C.; MOREIRA, M.A.S.; Óleo de copaíba (Copaifera sp.): histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais.; **Revista Brasileira Plantas Medicinais**., Botucatu, v.11, n.4, p.465-472, 2009. Doi: https://doi.org/10.1590/S1516-05722009000400016

PONTES, M. J. C.; GALVÃO; R. K. H. ARAÚJO, M. C. U.; MOREIRA, P. N. T.; NETO, O. D. P.; JOSÉ, G. E.; SALDANHA, T. C. B. The successive projections algorithm for spectral variable selection in classification problems. **Chemometrics and Intelligent**

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. MELO, L.F.C. Validação em Métodos Cromatográficos e Eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, p. 771-780, 2004. Doi: https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000500017.

RIBEIRO, V.P., **Desenvolvimento de método analítico por cromatografia gasosa para identificação e análise sazonal de compostos voláteis de copaifera sp. e avaliação da atividade antimicrobiana.**2017. Dissertação (Mestrado em produtos naturais e sintéticos) - Faculdade de ciências farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo., Ribeirão Pret. São Paulo, p.102, 2017.

ROCHA, A. L. R.; **USO RACIONAL DE MEDICAMENTOS**, 2014. Monografia de conclusão de curso de especialista em tecnologias industriais farmacêuticas.; Fundação Oswald Cruz. ; Rio de Janeiro, 2014

RUFINO, J. L., **Desenvolvimento de metodologias analíticas para controle de qualidade de fármacos, utilizando-se técnicas espectroscópicas (nir e mid) e processos de calibração multivariada (PLS)**.2004. Dissertação (mestrado).; Universidade Federal do Paraná (UFPR).; Curitiba, 2004.

SANTANA, F. **Uso de espectroscopia no infravermelho médio e análise discriminante por quadrados mínimos parciais na determinação de**

adulterações em óleos de andiroba, prímula e rosa mosqueta. [s.l.] EDUFU - Editora da Universidade Federal de Uberlandia, 2021.

Sarkar, R., Podder, I., Gokhale, N., Jagadeesan, S., & Garg, V. K. (2017). *Use of vegetable oils in dermatology: an overview.* ***International Journal of Dermatology, 56(11), 1080–1086.*** doi:10.1111/ijd.13623

SILVA, A. C.; PAZ, J. E. M.; PONTES, L. F. B. L.; LEMOS, S. G.; PONTES, M. J. C. An electroanalytical method to detect adulteration of ethanol fuel by using multivariate analysis. **Eletrochimica Acta**, v. 11, p. 160-164, 2013. Doi: https://doi.org/10.1016/j.electacta.2013.07.208.

SOARES, P. S. **Mercado de óleos essenciais cresce com isolamento social**. Disponível em: <https://agemt.pucsp.br/noticias/mercado-de-oleos-essenciais-cresce-com-isolamento-social>. Acesso em: 01 dez. 2022.

SPARES, S**.** Mercado de óleos essenciais cresce com isolamento social. **Jornal Age**, 2021. Disponível em Mercado de óleos essenciais cresce com isolamento social | Agemt | Jornalismo PUC-SP (pucsp.br). Acesso em: 12 de Outubro de 2022.

VEIGA JUNIOR, V.F.; PINTO, A.C. O Gênero Copaifera L. **Química nova**, v.25, n.2, p.273-86, 2002.

VILAR, W.T.S.; **Classificação individual de sementes de mamona usando espectroscopia de reflectância no visível, imagens digitais e análises multivariadas**. 2014. Dissertação (mestrado). Universidade Federal da Paraiba (UFPB).; João Pessoa, 2014.

WOLD, S. Pattern recognition by means of disjoint principal component models. **Pattern Recognition**, v. 8, n. 3, p.127-139, 1976. Doi: https://doi.org/10.1016/0031-3203(76)90014-5.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Counterfeit drugs.** ***Bulletin of the World Health Organization***, WHO, 1993.

WORLD HEALTH ORGANIZATION.. **Counterfeit drugs: guidelines for the development of measures to combat counterfeit drugs**. Geneva: WHO, 1999.

YI, L.; DONG, N.; YUN, Y.; DENG, B.; REN, D.; LIU, S.; LIANG, Y. Chemometric methods in data processing of mass spectrometry-based metabolomics: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 914, p. 17-34, 2016. doi: 10.1016/j.aca.2016.02.001.