UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
GOVERNO DO ESTADO DA PARAÍBA
SECRETARIA DE ESTADO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA, INOVAÇÃO E ENSINO SUPERIOR - SECTIES
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

LUANA LEAL DE SOUZA

DISCRIMINAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ADULTERAÇÃO DE MEL COM XAROPES À BASE DE AÇÚCAR UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA UV-VIS E QUIMIOMETRIA

CAMPINA GRANDE

2025

LUANA LEAL DE SOUZA

DISCRIMINAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ADULTERAÇÃO DE MEL COM XAROPES À BASE DE AÇÚCAR UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA UV-VIS E QUIMIOMETRIA

Dissertação apresentada à Coordenação do Curso de Programa de Pós-Graduação em Química - Mestrado da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Mestra em Química.

Linha de Pesquisa: Metodologias Analíticas Avançadas - Campina Grande.

Orientador: Prof. Dr. David Douglas de Sousa Fernandes.

Coorientadora : Profª Dr.ª Valéria Haydeé Springer

CAMPINA GRANDE

2025

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto em versão impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que, na reprodução, figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

S729d Souza, Luana Leal de.

Discriminação e quantificação de adulteração de mel com xaropes à base de açúcar utilizando espectroscopia UV-VIS e quimiometria [manuscrito] / Luana Leal de Souza. - 2025.

78 f. : il. color.

Digitado.

Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Química - Mestrado) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências e Tecnologia, 2025.

"Orientação : Prof. Dr. David Douglas de Sousa Fernandes, UEPB/FAPESQ-PB".

"Coorientação: Prof. Dra. Valeria Haydee Springer, Química analítica".

1. Apis mellifera. 2. Fraude alimentar. 3. Autenticidade alimentar. 4. Análise multivariada. I. Título

21. ed. CDD 543

Elaborada por Bruno Rafael Freitas de Lima - CRB - 15/1021 BC

LUANA LEAL DE SOUZA

DISCRIMINAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ADULTERAÇÃO DE MEL COM XAROPES À BASE DE AÇÚCAR UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA UV-VIS E QUIMIOMETRIA

Dissertação apresentada à Coordenação do Curso de Programa de Pós-Graduação em Química - Mestrado da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Mestra em Química

Linha de Pesquisa: Metodologias Analíticas Avançadas - Campina Grande.

Aprovada em: 18/07/2025.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado eletronicamente por:

- **Mayara Ferreira Barbosa** (***.377.234-**), em **15/08/2025 13:45:54** com chave **4f79d86e79f711f0ac4506adb0a3afce**.
- **David Douglas de Sousa Fernandes** (***.940.204-**), em **15/08/2025 11:55:16** com chave **dad7e75879e711f0ad362618257239a1**.
- **Emanuella Santos Sousa** (***.723.763-**), em **18/08/2025 11:22:34** com chave **c8b9d2da7c3e11f0aa461a7cc27eb1f9**.

Documento emitido pelo SUAP. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QrCode ao lado ou acesse https://suap.uepb.edu.br/comum/autenticar_documento/ e informe os dados a seguir.
Tipo de Documento: Folha de Aprovação do Projeto Final
Data da Emissão: 18/08/2025
Código de Autenticação: b2e626

A Deus, fonte de toda sabedoria e força, que me guiou em cada passo desta jornada. Pela inspiração e paz que sempre esteve presente, me capacitando a seguir em frente mesmo nos momentos mais desafiadores.

AGRADECIMENTOS

Deus primeiramente, agradeço por me guiar e conceder força e sabedoria ao longo desta jornada acadêmica.

Ao meu orientador, Professor Dr. David, pela paciência, orientação e dedicação que foram essenciais para a concretização deste trabalho. Sua confiança e apoio foram inestimáveis para o meu desenvolvimento e para o sucesso deste projeto.

Aos professores doutores e doutoras do programa: David, Germano, Deoclécio, Simone, Mary, Paulo, Vandeci, Francisco e Anabel, meu sincero agradecimento pela valiosa contribuição ao meu aprendizado.

Aos funcionários da UEPB, em especial ao David, pela presteza e atendimento sempre que necessitamos.

Aos meus colegas da pós-graduação, pela troca de conhecimentos, experiências e desafios que enriqueceram tanto minha trajetória acadêmica quanto pessoal. Em especial, Hellen e Aline, pelo companheirismo constante, fundamentais em cada etapa deste percurso.

Agradeço também à minha mãe, Luzimar, pelo amor, apoio incondicional e incentivo em todos os momentos, e ao meu esposo, Weslley, pelo amor, paciência e suporte constantes, que foram fundamentais para minha motivação e equilíbrio durante toda esta caminhada.

Ao Governo do Estado da Paraíba, por meio da Secretaria de Educação, pelo financiamento dos meus estudos e pela concessão da licença que viabilizou minha dedicação à formação.

“As respostas estão nos dados – desde que saibamos onde e como procurar.”

—*Svante Wold*

RESUMO

A adulteração do mel é uma preocupação crescente na indústria alimentícia, pois afeta a autenticidade do produto, a confiança do consumidor e a conformidade regulatória. Métodos convencionais de detecção, como cromatografia e espectrometria de massas, embora eficazes, são frequentemente caros e exigem equipamentos especializados, tornando-se impraticáveis para análises de rotina. Para obter os dados espectrais, a preparação das amostras envolveu apenas a diluição em água, eliminando a necessidade de extração complexa ou modificações químicas. Nesse contexto, a espectroscopia UV-Vis combinada com técnicas quimiométricas oferece uma alternativa rápida, acessível e ecologicamente sustentável para a autenticação do mel. Com a aplicação da suavização de primeira derivada de Savitzky-Golay aos espectros e a seleção de intervalos pelo SPA, o algoritmo iSPA-PLS-DA (Partial Least Squares - Discriminant Analysis) classificou corretamente todas as amostras de teste (ou seja, 100% de sensibilidade, especificidade e acurácia), selecionando 5 de 15 intervalos espectrais. Além disso, a quantificação da adulteração no mel usando o algoritmo iSPA-PLS obteve os menores valores de erro relativo de predição (REP) e limite de detecção (LOD), correspondendo a apenas 5,89% e 7,02 mg g^{-1}, respectivamente, selecionando 10 de 20 intervalos. A seleção de intervalos espectrais específicos pelo SPA reduziu a redundância de dados e aprimorou a robustez dos modelos, melhorando o desempenho da classificação e quantificação. Pesquisas futuras devem explorar a expansão desse método para incluir outros adulterantes, diferentes variedades de mel e sistemas analíticos portáteis para aumentar sua aplicabilidade. Em conclusão, a integração da espectroscopia UV-Vis com modelagem quimiométrica baseada em SPA apresenta uma ferramenta poderosa para a autenticação do mel. Este estudo demonstra a eficácia da abordagem proposta na identificação e quantificação precisa da adulteração, oferecendo uma solução prática para o controle da qualidade e a conformidade regulatória. Ao combinar eficiência analítica, sustentabilidade ambiental e viabilidade econômica, esse método representa um avanço significativo no combate à fraude alimentar, reforçando a importância da inovação científica na garantia da autenticidade do mel.

Palavras-Chave: *Apis mellifera*; fraude alimentar; autenticidade alimentar; análise multivariada.

ABSTRACT

Honey adulteration is a growing concern in the food industry as it affects product authenticity, consumer trust, and regulatory compliance. Conventional detection methods, such as chromatography and mass spectrometry, while effective, are often expensive and require specialized equipment, making them impractical for routine analysis. To obtain the spectral data, sample preparation involved only dilution in water, eliminating the need for complex extraction or chemical modifications. In this context, UV-Vis spectroscopy combined with chemometric techniques offers a rapid, accessible, and environmentally sustainable alternative for honey authentication. With the application of Savitzky-Golay first-derivative smoothing to the spectra and interval selection by SPA (Successive Projections Algorithm), the iSPA-PLS-DA (Partial Least Squares - Discriminant Analysis) algorithm correctly classified all test samples (i.e., 100% sensitivity, specificity, and accuracy), selecting 5 out of 15 spectral intervals. Furthermore, the quantification of honey adulteration using the iSPA-PLS algorithm yielded the lowest values for relative prediction error (REP) and limit of detection (LOD), corresponding to just 5.89% and 7.02 mg g^{-1}, respectively, by selecting 10 out of 20 intervals. The selection of specific spectral intervals by SPA reduced data redundancy and enhanced model robustness, improving classification and quantification performance. Future research should explore expanding this method to include other adulterants, different honey varieties, and portable analytical systems to increase its applicability. In conclusion, the integration of UV-Vis spectroscopy with SPA-based chemometric modeling presents a powerful tool for honey authentication. This study demonstrates the effectiveness of the proposed approach in accurately identifying and quantifying adulteration, offering a practical solution for quality control and regulatory compliance. By combining analytical efficiency, environmental sustainability, and economic viability, this method represents a significant advancement in combating food fraud, reinforcing the importance of scientific innovation in ensuring honey authenticity.

Keywords: *Apis mellifera*; food fraud; food authenticity; multivariate analysis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Espectro eletromagnético UV-Vis…….. 28

Figura 2 - Representação das transições eletrônicas $n \rightarrow \pi^*$ e $\pi \rightarrow \pi^*$ no grupo carbonílico…… 29

Figura 3 - Absorbância e cores complementares …….... 30

Figura 4 – Representação gráfica de dois grupos de amostras no espaço bidimensional definido por var1 e var2 e as respectivas componentes principais…... 35

Figura 5 – Espectros médios de UV-Vis do mel puro (▬), xarope de milho (▬), xarope de agave (▬) e mel adulterado (▬) pré-processados com (a) correção de deslocamento (OFF), (b) correção linear da linha de base (LBC), (c) OFF + LBC e (d) suavização da primeira derivada de Savitzky-Golay com um polinômio de segunda ordem e janela de 7 pontos (SGD)..... 51

Figura 6 – Gráficos de escores da PCA das amostras de mel puro (■), xarope de milho (■), xarope de agave (■) e mel adulterado (■) utilizando espectros de UV-Vis pré-processados com (a) correção de deslocamento (OFF), (b) correção linear da linha de base (LBC), (c) OFF + LBC e (d) suavização da primeira derivada de Savitzky-Golay com um polinômio de segunda ordem e janela de 7 pontos (SGD)..... 53

Figura 7 - Número de variáveis latentes selecionadas no modelo PLS-DA/OFF + LBC……. 56

Figura 8 - Gráfico de resposta dos melhores resultados da classificação entre mel puro (■), xarope de milho (■), xarope de agave (■) e mel adulterado (■) usando os espectros UV-Vis do modelo PLS-DA/OFF + LBC…… 56

Figura 9 - Número de variáveis individuais selecionadas no modelo SPA-LDA/OFF + LBC……. 57

Figura 10 - Gráfico de resposta dos melhores resultados da classificação entre mel puro (■), xarope de milho (■), xarope de agave (■) e mel adulterado (■) usando os espectros UV-Vis do modelo SPA-LDA/OFF + LBC…….. 57

Figura 11 - Número de intervalos selecionados no modelo iSPA-PLS-DA/SGD….. 58

Figura 12 - Gráfico de resposta dos melhores resultados da classificação entre mel puro (■), xarope de milho (■), xarope de agave (■) e mel adulterado (■) usando os espectros UV-Vis do modelo iSPA-PLS-DA/SGD…….. 59

Figura 13 - Número ótimo de variáveis latentes selecionadas no modelo PLS com espectros UV-Vis pré-processados por Savitzky-Golay……... 62

Figura 14 - Variáveis individuais selecionadas no modelo SPA-MLR com espectros UV-Vis pré-processados por Savitzky-Golay……... 62

Figura 15 - O número selecionado de intervalos no iSPA-PLS é mostrado em (g).... 63

Figura 16 (b, c, e, f, h, i) - Os respectivos gráficos de valores preditos versus referência são apresentados em (b, e, h), exibindo tanto as amostras de calibração (●) quanto as de previsão (■), juntamente com as respectivas elipses de confiança, incluindo os pontos ideais teóricos em (c, f, i)..... 64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Melhores resultados de classificação obtidos para discriminar amostras de mel puro, xarope de milho, xarope de agave e mel adulterado usando espectroscopia UV-Vis e métodos discriminantes…….54

Tabela 2 - Comparação dos trabalhos mais recentes que empregam técnicas de reconhecimento de padrões para identificar adulteração à base de açúcar no mel…….. 60

Tabela 3 - Melhores resultados obtidos pelos diferentes modelos de calibração multivariada para a determinação do teor de adulteração no mel utilizando os espectros UV-Vis pré-processados com a suavização de primeira derivada de Savitzky-Golay, com polinômio de segunda ordem e janela de 7 pontos…….61

Tabela 4 - Comparação dos trabalhos mais recentes que empregam técnicas de calibração multivariada para quantificar a adulteração de mel com base em açúcar…….65

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AOAC: Associação de Colaboração Analítica Oficial (do inglês: *Association of Official Analytical Collaboration*)

*a**: Indica a posição no eixo vermelho-verde, com valores positivos para o vermelho e negativos para o verde.

*b**: Indica a posição no eixo azul-amarelo, com valores positivos para o amarelo e negativos para o azul.

CCR: Taxa de Classificação Correta (do inglês: *Correct Classification Rate*)

CIE: Comissão Internacional de Iluminação (do francês: *Commission Internationale de l'Éclairage*)

DSC: Calorimetria Diferencial de Varredura (do inglês: *Differential Scanning Calorimetry*)

EJCR: Região de Confiança Conjunta Elíptica (do inglês: *Elliptical Joint Confidence Region*)

EMBRAPA: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

GAC: Química Analítica Verde (do inglês: *Green Analytical Chemistry*)

HCA: Análise de Agrupamento Hierárquico (do inglês: *Hierarchical Cluster Analysis*)

HFCS: Xarope de milho com alto teor de frutose (do inglês: *High-Fructose Corn Syrup*)

HPLC-UV: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detecção Ultravioleta (do inglês: *High Performance Liquid Chromatography with Ultraviolet Detection*)

INMETRO: Instituto Nacional de Metrologia

iSPA-PLS-DA: Algoritmo de Projeções Sucessivas em Intervalos com Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais (do inglês: *interval Successive Projections Algorithm - Partial Least Squares Discriminant Analysis*)

iSPA-PLS: Algoritmo de Projeções Sucessivas em Intervalos com Mínimos Quadrados Parciais (do inglês: *interval Successive Projections Algorithm - Partial Least Squares*)

KS: Algoritmo Kennard-Stone

L*: Luminosidade, variando de 0 (preto) a 100 (branco)

LBC: Correção Linear de Linha de Base (do inglês: *Linear Baseline Correction*)

LC-HRMS: Cromatografia Líquida de Alta Resolução com Espectrometria de Massa (do inglês: *Liquid Chromatography - High Resolution Mass Spectrometry*)

LC-IRMS: Cromatografia Líquida - Espectrometria de Massa com Razão Isotópica (do inglês: *Liquid Chromatography - Isotope Ratio Mass Spectrometry*)

LOD: Limite de Detecção (do inglês: *Limit of Detection*)

LOQ: Limite de Quantificação (do inglês: *Limit of Quantification*)

LVs: Variáveis Latentes (do inglês: *Latent Variables*)

MAPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MIR: Infravermelho Médio (do inglês: *Mid Infrared*)

MSC: Correção de Espalhamento Multiplicativo (do inglês: *Multiplicative Scatter Correction*)

NN: Rede Neural (do inglês: *Neural Network*)

OFF: Correção de Offset (do inglês: *Offset Correction*)

OLS: Mínimos Quadrados Ordinários (do inglês: *Ordinary Least Squares*)

PCA: Análise de Componentes Principais (do inglês: *Principal Component Analysis*)

PLS-DA: Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais (do inglês: *Partial Least Squares Discriminant Analysis*)

PLS: Mínimos Quadrados Parciais (do inglês: *Partial Least Squares*)

REP: Erro Relativo de Previsão (do inglês: *Relative Error of Prediction*)

RF: Floresta Aleatória (do inglês: *Random Forest*)

RMN: Ressonância Magnética Nuclear (do inglês: *Nuclear Magnetic Resonance*)

RMSECV: Erro Quadrático Médio de Validação Cruzada (do inglês: *Root Mean Square Error of Cross-Validation*)

RMSEP: Erro Quadrático Médio de Previsão (do inglês: *Root Mean Square Error of Prediction*)

ROC: Curva Característica de Operação do Receptor (do inglês: *Receiver Operating Characteristic*)

RPD: Relação Desempenho-Desvio (do inglês: *Residual Prediction Deviation*)

R^2cv / Rc: Coeficiente de Determinação na Validação Cruzada

SCIRA: Caracterização Espectral da Absorbância no Infravermelho

SGD: Suavização de Primeira Derivada de Savitzky-Golay (do inglês: *Savitzky-Golay Derivative*)

SNV: Variância Normal Padrão (do inglês: *Standard Normal Variate*)

SPA-LDA: Algoritmo de Projeções Sucessivas com Análise Discriminante Linear (do inglês: *Successive Projections Algorithm - Linear Discriminant Analysis*)

SPA-MLR: Algoritmo de Projeções Sucessivas com Regressão Linear Múltipla (do inglês: *Successive Projections Algorithm - Multiple Linear Regression*)

SPA: Algoritmo de Projeções Sucessivas (do inglês: *Successive Projections Algorithm*)

SPXY: Partição de Amostras com Base na Distância X-Y (do inglês: *Sample Partitioning based on the X–Y distance*)

UV-Vis: Ultravioleta-Visível

UV: Ultravioleta

Vis-NIR: Visível-Infravermelho Próximo (do inglês: *Visible - Near Infrared*)

WAC: Química Analítica Branca (do inglês: *White Analytical Chemistry*)

S: Enxofre (do inglês: *Sulfur*)

C: Carbono

Fe: Ferro

Al: Alumínio

Mg: Magnésio

LISTA DE SÍMBOLOS

® Marca Registrada

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....17
1.1 Caracterização da problemática.....17
2 OBJETIVOS.....22
2.1 Objetivo geral.....22
3 REFERENCIAL TEÓRICO.....23
3.1 O mel e sua definição.....23
3.2 Composição química do mel.....23
3.3 Colheita, processamento e armazenamento.....24
3.4 Legislação.....25
3.5 Métodos de análise em adulteração em mel.....26
3.5.1 Adulteração com xaropes de milho.....26
3.5.2 Adulteração com xaropes de agave.....27
3.6 Fundamentos da absorção molecular no ultravioleta–visível (UV-Vis).....27
3.6.1 Cores em compostos e espectros visíveis.....30
3.6.2 Aplicações da espectroscopia UV-VIS na análise e autenticação de mel.....31
3.7 Quimiometria: ferramentas e modelos para análise de produtos apícolas.....31
3.7.1 Quimiometria na detecção de adulterações e avaliação da qualidade do mel.....32
3.8 Análise exploratória dos dados.....33
3.8.1 Reconhecimento de padrões não supervisionado.....33
3.8.2 Análise de componentes principais (PCA).....34
3.9 Pré-processamento de dados espectrais.....36
3.9.1 Correções de ruído, linha de base e espalhamentos.....36
3.9.1.1 Correção de offset.....36
3.9.1.2 Correção de linha de base.....36
3.9.1.3 Derivada de Savitzky-Golay.....37
3.9.1.4 Multiplicative scatter correction (MSC).....37
3.9.1.5 Standard normal variate (SNV).....37
3.10 Seleção e divisão de conjuntos de dados.....37
3.10.1 Algoritmo de Kennard-Stone (KS).....38
3.11 Reconhecimento de padrões supervisionado em dados multiclasses.....38
3.11.1 Análise discriminante por regressão por mínimos quadrados parciais (PLS-DA)..39
3.11.2 Análise discriminante linear (LDA).....40
3.11.3 Algoritmo das projeções sucessivas combinado a análise discriminante linear por regressão por mínimos quadrados parciais (iSPA-PLS-DA).....41
3.12 Calibração multivariada.....42
3.12.1 Regressão por mínimos quadrados parciais (PLS).....42
3.12.2 Regressão linear múltipla (MLR).....43
3.12.3 Algoritmo das projeções sucessivas combinado com regressão por mínimos quadrados parciais (iSPA-PLS).....44

3.13 Avaliação da performance de modelos..... 45
3.13.1 Métricas de regressão..... 45
3.13.2 Métricas de classificação..... 46
3.13.2.1 Acurácia, sensibilidade e especificidade..... 46
3.13.2.2 Receiver operating characteristics (Curva - ROC)..... 47
4 METODOLOGIA..... 48
4.1 Materiais e métodos..... 48
4.1.1 Amostras e preparo das amostras..... 48
4.1.2 Instrumentação..... 49
4.1.3 Procedimentos quimiométricos..... 49
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 51
5.1 Análise exploratória..... 51
5.2 Análise discriminante..... 53
5.3 Análise quantitativa..... 61
6 CONCLUSÃO..... 67
REFERÊNCIAS..... 69
APÊNDICE A - DESEMPENHO DOS MODELOS DISCRIMINANTES COM ESPECTROS UV-VIS..... 76
APÊNDICE B - RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE ADULTERAÇÃO NO MEL..... 77
APÊNDICE C - PRIMEIRA PÁGINA DO ARTIGO PUBLICADO NA REVISTA CHEMOMETRICS AND INTELLIGENT LABORATORY SYSTEMS..... 78

1 INTRODUÇÃO

1.1 Caracterização da problemática

A produção de mel enfrenta diversos desafios ao longo da cadeia produtiva, sendo a garantia da autenticidade um dos principais entraves. A adulteração do mel, prática recorrente e amplamente disseminada em escala global, representa uma séria ameaça à qualidade do produto, à segurança alimentar e à competitividade no mercado (Codex Alimentarius, 2022). Esse problema afeta não apenas os consumidores, mas também compromete a credibilidade dos produtores legítimos e limita o crescimento sustentável da indústria apícola.

As abordagens analíticas convencionais, predominantemente baseadas em métodos físico-químicos clássicos, vêm se mostrando insuficientes para acompanhar a sofisticação crescente dos processos de adulteração do mel. Adulterantes, como xaropes (de milho com alto teor de frutose, de milho, de maltose, de sacarose e de arroz), melaço de cana-de-açúcar e outros, imitam a composição do mel, tornando sua identificação mais complexa. Portanto, os avanços contínuos nas metodologias analíticas são essenciais para a verificação da autenticidade do mel (Zhang et al., 2023).

O uso de padrões técnicos específicos para o mel como referência na identificação de práticas de adulteração é uma abordagem comum. Para avaliar a autenticidade do mel a fim de garantir sua autenticidade, o Codex Alimentarius recomenda a determinação do perfil de açúcares por meio de um método de separação por cromatografia líquida (método AOAC 977.20) e a detecção de açúcares de plantas C_4 utilizando um padrão interno para análise da razão isotópica de carbono estável (SCIRA) (método AOAC 991.41) (Codex Alimentarius, 2022).

Além disso, a Comissão Europeia estabelece o uso das técnicas de Espectrometria de Massa de Razão Isotópica por Analisador Elementar/Cromatografia Líquida (EA/LC-IRMS), Cromatografia de Troca Aniônica de Alto Desempenho com Detector Amperométrico Pulsado (HPAEC-PAD), Cromatografia Líquida com Espectrometria de Massas de Alta Resolução (LC-HRMS) e Espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear de Próton (^{1}H-NMR) para a detecção de méis suspeitos de conter xarope de açúcar adicionado (Zdiniaková et al., 2023). Entretanto, tais métodos, embora altamente sensíveis, são considerados impraticáveis para aplicação como rotina laboratorial em controle analítico, devido à sua complexidade, custo elevado e demanda por infraestrutura especializada.

No Brasil, a legislação estabelece apenas limites para diversos parâmetros físico-químicos, como açúcares redutores, umidade, sacarose aparente, sólidos insolúveis em água, cinzas, acidez, atividade diastásica e hidroximetilfurfural, como critérios de qualidade para consumo humano e comercialização (Brasil, 2000). No entanto, não há legislação específica nem bases de dados disponíveis para avaliar a qualidade do mel em relação a fraudes e/ou adulterações, mesmo que tais práticas possam modificar os parâmetros físico-químicos estabelecidos.

Diversas técnicas analíticas têm sido desenvolvidas recentemente com o objetivo de detectar a adulteração do mel com açúcares adicionados, prática que compromete sua autenticidade e valor comercial. Entre os métodos mais empregados destacam-se a cromatografia líquida de alta eficiência com detecção no ultravioleta (HPLC-UV, do inglês *High Performance Liquid Chromatography with Ultraviolet Detection*) (Egido et al., 2024), a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas de alta resolução (LC-HRMS, do inglês *Liquid Chromatography - High Resolution Mass Spectrometry*) (Martinello et al., 2022) e a espectroscopia por ressonância magnética nuclear (RMN, do inglês *Nuclear Magnetic Resonance*) (Cagliani, Maestri e Consonni, 2022). Além dessas, outras abordagens têm sido aplicadas com êxito, como a calorimetria exploratória diferencial (DSC, do inglês *Differential Scanning Calorimetry*) (Dranca et al., 2022), a espectroscopia Raman (Robert et al., 2023), a espectroscopia no infravermelho médio (MIR, do inglês *Mid Infrared*) (Ciurša et al., 2021), a espectroscopia no visível e infravermelho próximo (Vis-NIR, do inglês *Visible - Near Infrared*) (Aliano-González et al., 2019), a espectroscopia de fluorescência (Yan et al., 2022) e a espectroscopia no ultravioleta-visível (UV-Vis, do inglês *Ultraviolet–Visible*) (Razavi e Kenari, 2023; Dimakopoulou-Papazoglou et al., 2023; Mitra et al., 2023; Nunes et al., 2024; Souza et al., 2021). Essas técnicas têm demonstrado grande potencial na identificação de adulterantes, mesmo em concentrações reduzidas, sendo que os métodos cromatográficos de alta resolução, a espectroscopia RMN, a DSC e a espectroscopia Raman se destacam por sua robustez analítica e elevada confiabilidade.

No entanto, essas metodologias apresentam desvantagens significativas, como altos custos operacionais devido à instrumentação cara, exigências rigorosas de manutenção e procedimentos complexos de preparação de amostras, que frequentemente envolvem o uso de solventes e reagentes.

Para superar esses desafios, técnicas alternativas, como as espectroscopias no infravermelho médio (MIR), visível-infravermelho próximo (Vis-NIR), fluorescência e ultravioleta-visível (UV-Vis), têm ganhado destaque por sua acessibilidade relativa,

confiabilidade e, em alguns casos, por serem métodos não destrutivos. Essas abordagens são, em geral, mais econômicas e acessíveis. No entanto, os instrumentos convencionais de bancada utilizados para MIR, NIR e fluorescência tendem a ser mais onerosos do que os espectrofotômetros UV-Vis. Além disso, as técnicas de MIR e NIR frequentemente exigem rigoroso controle das condições ambientais, como umidade e temperatura. Especificamente na espectroscopia MIR, pode ser necessário realizar etapas adicionais de preparo das amostras, como a confecção de pastilhas com brometo de potássio (KBr) utilizando reagentes de grau espectroscópico, exceto quando se emprega a técnica de Reflexão Total Atenuada (ATR, do inglês, *Attenuated Total Reflectanc*e), a qual, embora simplifique o preparo, pode elevar os custos e restringir o acesso em laboratórios com recursos limitados.

Por outro lado, a espectroscopia UV-Vis é a mais econômica entre essas técnicas, exigindo infraestrutura mínima e preparação simplificada das amostras. Sua relação custo-benefício a torna particularmente adequada para análises rotineiras em ambientes com recursos limitados (Razavi; Kenari, 2023; Dimakopoulou-Papazoglou *et al*., 2023; Mitra *et al*., 2023; Nunes *et al*., 2024; Souza *et al.*, 2021).

Essa técnica fornece informações químicas valiosas ao detectar propriedades estruturais específicas ou grupos funcionais, com base em variações nas posições, intensidades e formatos das bandas espectrais. Duas abordagens principais têm ampliado a aplicabilidade da espectroscopia UV-Vis:

(1) métodos colorimétricos para quantificação de analitos, que exigem alta seletividade devido à natureza ampla e desafiadora dos espectros UV-Vis, e

(2) abordagens não direcionadas de impressão digital (*fingerprinting*) combinadas com análises quimiométricas. Esta última tem se mostrado particularmente eficaz para a avaliação da autenticidade, pois captura respostas instrumentais abrangentes sem a necessidade de conhecimento prévio sobre os componentes da amostra. A metodologia envolve protocolos simples de preparação de amostras, preservando a integridade química do analito durante o pré-tratamento (Egido *et al*., 2024; Ríos-Reina; Azcarate, 2023).

Em um estudo anterior, dados espectrais UV-Vis foram empregados para autenticar o mel e detectar adulteração com xaropes de açúcar utilizando classificadores de uma classe (OCC, do inglês *One Class Classification*), especificamente Modelagem Independente e Flexível por Analogia de Classe Direcionada aos Dados (DD-SIMCA, do inglês *Data-Driven Soft Independent Modeling of Class Analogy*) e Mínimos Quadrados Parciais de Uma Classe (OC-PLS, do inglês *One-Class Partial Least Squares*). Esses classificadores são particularmente adequados para autenticar amostras de alimentos "puros/não adulterados"

(classe-alvo), sem necessidade de dados quantitativos ou qualitativos sobre outras classes para a construção do modelo. Nessa abordagem, apenas a classe-alvo é modelada, e o desempenho preditivo do modelo é avaliado contra todas as outras amostras disponíveis, independentemente do tipo ou concentração do adulterante. No entanto, essa metodologia não permite a identificação do adulterante específico ou de sua concentração na amostra (Souza; Fernandes; Diniz, 2021).

A identificação da natureza do adulterante é particularmente importante quando, além da perda econômica, pode haver riscos à saúde. No caso do mel e de seus adulterantes mais comuns, o índice glicêmico (IG) varia significativamente, influenciando os níveis de glicose no sangue e os riscos associados à saúde. O mel apresenta um IG moderado, variando entre 50 e 70, dependendo de sua origem floral. Apesar de suas propriedades antioxidantes, pode induzir picos glicêmicos, especialmente quando consumido em grandes quantidades, exigindo cautela para indivíduos diabéticos. O xarope de agave, com IG baixo (15–30), deve essa característica ao seu alto teor de frutose, que, embora metabolizado lentamente, pode sobrecarregar o fígado e aumentar o risco de doenças metabólicas e cardiovasculares quando consumido em excesso. O xarope de milho com alto teor de frutose (HFCS, do inglês *High-Fructose Corn Syrup*), com IG entre 55 e 75, é amplamente utilizado em alimentos processados e está associado a um maior risco de obesidade, diabete tipo 2 e doenças cardiovasculares devido ao seu alto teor de frutose. O melaço de cana-de-açúcar, com um IG moderado de aproximadamente 55, contém nutrientes como ferro, cálcio e magnésio, mas pode ainda causar picos glicêmicos, contribuindo para o ganho de peso, cáries dentárias e um risco elevado de diabete se consumido em excesso. Portanto, a moderação no consumo desses adoçantes é essencial (Fakhlaei *et al.*, 2020; Clemens *et al.*, 2016; Edwards *et al.*, 2016; Castro-Munoz *et al.*, 2022; Livesey *et al.*, 2008).

Este estudo tem como objetivo desenvolver um método analítico sustentável, com base nos princípios da química verde, utilizando espectroscopia UV-Vis e ferramentas quimiométricas para a discriminação e quantificação da adulteração do mel com xaropes de milho e agave. Para isso, os métodos de Mínimos Quadrados Parciais para análise quantitativa (PLS, do inglês *Partial Least Squares)* e para análise discriminante (PLS-DA, do inglês *Partial Least Squares Discriminant Analysis*) serão comparados com modelos baseados em seleção de variáveis utilizando o Algoritmo de Projeções Sucessivas (SPA, do inglês *Successive Projections Algorithm*). A seleção de variáveis individuais será realizada por SPA em Regressão Linear Múltipla (SPA-MLR, do inglês *Successive Projections Algorithm with Multiple Linear Regression*) e Análise Discriminante Linear (SPA-LDA, do inglês *Successive*

Projections Algorithm with Linear Discriminant Analysis), enquanto a seleção de intervalos de comprimento de onda será feita pelos algoritmos das Projeções Sucessivas por Intervalo combinado com Mínimos Quadrados Parciais (iSPA-PLS, do inglês *Interval Successive Projections Algorithm combined with Partial Least Squares*) e Projeções Sucessivas por Intervalo combinado com Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais (iSPA-PLS-DA, do inglês *Interval Successive Projections Algorithm combined with Partial Least Squares Discriminant Analysis*), respectivamente (Vallese *et al.*, 2024).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Desenvolver um método analítico utilizando espectroscopia UV-Vis aliada às ferramentas quimiométricas para discriminação e quantificação da adulteração de mel brasileiro com xaropes de milho e agave.

2.2 Objetivos específicos

- Aplicar e comparar os modelos de PLS e PLS-DA para a análise quantitativa e qualitativa do mel.
- Empregar algoritmos de seleção de variáveis individuais SPA-MLR e SPA-LDA.
- Utilizar iSPA-PLS e iSPA-PLS-DA para realizar análises quantitativas e discriminantes com foco na seleção de intervalos de comprimento de onda.
- Avaliar a eficiência do método proposto na identificação de adulterantes, como xarope de milho e agave, no mel.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 O mel e sua definição

O mel é um produto natural originado do néctar floral, composto principalmente por açúcares, predominantemente frutose e glicose, além de ácidos, vitaminas e compostos fenólicos. A composição específica do mel é influenciada pela origem botânica e geográfica, variando conforme a flora local, o que serve como uma assinatura natural que pode ser usada para detectar adulterações que alteram essa composição característica (Codex Alimentarius, 2022).

3.2 Composição química do mel

O mel é um produto natural complexo, produzido pelas abelhas a partir do néctar das flores, amplamente utilizado tanto como alimento quanto para fins medicinais, devido à sua composição rica e variada. Os principais componentes são os açúcares, principalmente glicose e frutose, sendo a glicose predominante, o que influencia sua tendência à cristalização (Da Silva *et al.*, 2016; Sohaimy; Masry; Shehata, 2015). Além disso, ácidos orgânicos, como o ácido glucônico, contribuem para a acidez, o sabor e a estabilidade do mel (Da Silva *et al.*, 2016).

Além disso, este alimento apícola é uma fonte de proteínas e aminoácidos, incluindo enzimas como invertase, diastase e glucose oxidase, que são indispensáveis para suas propriedades biológicas e na preservação do produto. Vitaminas, como a vitamina C e as do complexo B, juntamente com minerais essenciais como potássio, cálcio, magnésio e fósforo, mesmo em pequenas quantidades, desempenham um papel fundamental na manutenção da saúde humana. Compostos fenólicos e voláteis também estão presentes e são responsáveis pelas propriedades antioxidantes, aroma e sabor únicos do mel (Da Silva *et al.*, 2016; De-Mello *et al.*, 2018).

Quanto às propriedades físico-químicas, de acordo com a Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o teor de umidade do mel deve ser de, no máximo, 20% (Brasil, 2000). No entanto, padrões internacionais, como o Codex Alimentarius (2022), recomendam um teor inferior a 18% para garantir a qualidade e prevenir a fermentação. Além disso, pesquisas indicam que a umidade

do mel geralmente varia entre 14% e 18%, sendo um fator determinante para sua conservação e menor tendência à fermentação (Sohaimy; Masry; Shehata, 2015; De-Melo *et al.*, 2018).

Para sua conservação e estabilidade, a acidez e o pH do mel são primordiais na inibição do crescimento de microrganismos (Sohaimy, Masry & Shehata, 2015). A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA, 2011) indica que o pH desse produto geralmente varia entre 3,2 e 4,5, o que cria um ambiente desfavorável à proliferação de bactérias e fungos.

Enquanto isso, a condutividade elétrica é um indicador útil para determinar a origem floral e mineral do mel, auxiliando na sua caracterização (Sohaimy; Masry; Shehata, 2015; De-Melo *et al.*, 2018). Já o teor de cinzas reflete a presença de minerais e pode variar conforme a origem geográfica e botânica do produto (Sohaimy; Masry; Shehata, 2015).

3.3 Colheita, processamento e armazenamento

A produção de mel envolve várias etapas críticas, desde a colheita até o armazenamento, que podem influenciar significativamente a qualidade final do produto. Esse processo é impactado diretamente pelas práticas adotadas, que variam entre métodos tradicionais e modernos, influenciando características como cor, sabor e estabilidade microbiológica. Os métodos de colheita do mel ilustram bem essa diferença. Tradicionalmente, utiliza-se fogo e fumaça para afastar as abelhas, o que, embora eficaz, pode introduzir contaminantes como cinzas e reduzir a qualidade do mel. Além disso, tais práticas podem comprometer atributos sensoriais e microbiológicos do produto. Em contrapartida, os métodos modernos empregam fumaça de forma controlada, utilizando aparelhos especializados, como fumos ou defumadores, que liberam a fumaça de maneira mais precisa e em concentrações baixas. Isso reduz significativamente a exposição das abelhas ao estresse e evita a introdução de contaminantes, como cinzas, no mel, preservando as características desejáveis do produto, como a pureza e o sabor (Abdimahad *et al*., 2023).

Após a colheita, o mel passa por processos naturais e técnicos essenciais para sua estabilização e qualidade final. Durante a maturação, as abelhas reduzem o teor de água do néctar e adicionam enzimas, como a invertase, que transformam o néctar em um produto estável e com propriedades únicas (Eyer; Neumann; Dietemann, 2016). Em relação à qualidade, segundo o Codex Alimentarius (2022), o teor de hidroximetilfurfural (HMF) no mel não deve ultrapassar 40 mg/kg para preservar sua autenticidade. O processamento técnico, entretanto, exige atenção. Embora o aquecimento adequado evite a cristalização

durante o armazenamento, temperaturas elevadas podem degradar enzimas e aumentar os níveis de HMF, prejudicando a qualidade. Já a filtragem, apesar de eliminar partículas, pode reduzir a capacidade antioxidante do mel, dependendo de sua origem (Wang; Gheldof; Engesath, 2006).

O armazenamento é outra etapa crucial para preservar as propriedades do mel. Condições controladas, como temperaturas frias e constantes, são fundamentais para manter sua qualidade, assim como o uso de recipientes adequados. Recipientes de vidro são preferíveis a plásticos e metais, que podem alterar parâmetros como umidade e acidez (Radtke & Lichtenberg-Kraag, 2018).

Nesse sentido, o Codex Alimentarius (2022) recomenda que o mel seja armazenado em recipientes herméticos e em locais frescos para evitar fermentação e degradação da qualidade. Apesar dessas diretrizes, em algumas partes do mundo, como certas regiões da Etiópia, ainda são comuns práticas tradicionais de armazenamento, como o uso de sacos plásticos e potes de barro. Essas práticas, embora culturais, são inadequadas e podem comprometer a qualidade do produto. Programas de treinamento e conscientização nessas áreas são essenciais para melhorar as práticas de armazenamento e garantir resultados satisfatórios (Abdimahad *et al*., 2023).

3.4 Legislação

A legislação e os padrões de qualidade do mel são essenciais para garantir a autenticidade e segurança do produto, além de facilitar o comércio nacional e internacional. O Codex Alimentarius e as regulamentações da União Europeia estabelecem critérios específicos – como teor de umidade, índice de diástase, condutividade elétrica, conteúdo de açúcares e hidroximetilfurfural – que são decisivos para determinar a qualidade do mel. Contudo, existem diferenças significativas entre as normas da União Europeia e os padrões revisados do Codex, especialmente em relação à definição do mel e à declaração do país de origem. A harmonização desses critérios é necessária para melhorar o comércio internacional e garantir a uniformidade desses padrões (Adamchuk et al., 2020). Inclusive, a rotulagem do mel desempenha um papel vital para informar os consumidores sobre sua origem e qualidade. As regulamentações de rotulagem exigem a inclusão de informações sobre a origem geográfica e botânica do mel, além de assegurar a conformidade com os padrões de qualidade estabelecidos. Isso é primordial para evitar fraudes e garantir que os consumidores recebam um produto autêntico e de qualidade, cumprindo as exigências dos mercados nacionais e

internacionais (Mădaş et al., 2020). Além das diretrizes internacionais, a Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000, do MAPA, também possui importância capital na regulamentação da qualidade do mel no Brasil. Essa normativa define os padrões de identidade e qualidade para o mel produzido e comercializado no país, especificando características como o teor de acidez, a presença de açúcares e a ausência de aditivos, garantindo a pureza do produto (Brasil, 2000). A conformidade com essas regulamentações nacionais e internacionais facilita o comércio, minimiza as adulterações e contribui para o desenvolvimento do setor apícola.

3.5 Métodos de análise em adulteração em mel

3.5.1 Adulteração com xaropes de milho

A adulteração do mel com xaropes de milho pode ser detectada por diversos métodos analíticos. Abordagens mais antigas, como a análise de matéria seca e viscosidade, já foram empregadas para detectar a adulteração com xarope de milho, identificando adulterações com níveis significativos (Abdel-Aal *et al*., 1993). Mais tarde, a cromatografia de troca aniônica de alta eficiência (HPAEC-PAD, do inglês *High-Performance Anion-Exchange Chromatography with Pulsed Amperometric Detection*) mostrou-se eficaz na quantificação da adulteração com xaropes de açúcar e na detecção de fraudes no mel (Cordella *et al*., 2003).

A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) também avançou, revelando a presença de anidridos de difrutose (DFAs, do inglês Difructose Anhydrides) em xaropes de açúcar, como o HFCS, funcionando como marcadores confiáveis para adulteração (Ruiz-Matute *et al*., 2007).

Métodos avançados como a ressonância magnética nuclear (RMN), tanto unidimensional quanto bidimensional, têm sido utilizados para detectar adulteração de mel com xarope de milho, oferecendo resultados com alta capacidade preditiva (Bertelli *et al*., 2010).

Mais recentemente, a análise isotópica de carbono ($^{13}C/^{12}C$) tem se mostrado altamente eficaz na detecção de adulterações. Ela é particularmente útil com xaropes de plantas C_4, como o xarope de milho rico em frutose (HFCS), que apresenta variações isotópicas distintas que permitem sua identificação. Já a adulteração com xaropes provenientes de plantas C_3, como o açúcar de beterraba, não altera de forma detectável a razão isotópica de carbono (Tosun, 2013). A espectroscopia UV-Vis também tem sido aplicada com sucesso, utilizando

classificadores de uma classe para identificar a presença de xaropes de milho e outros açúcares adulterantes (Souza; Fernandes; Diniz, 2021).

3.5.2 Adulteração com xaropes de agave

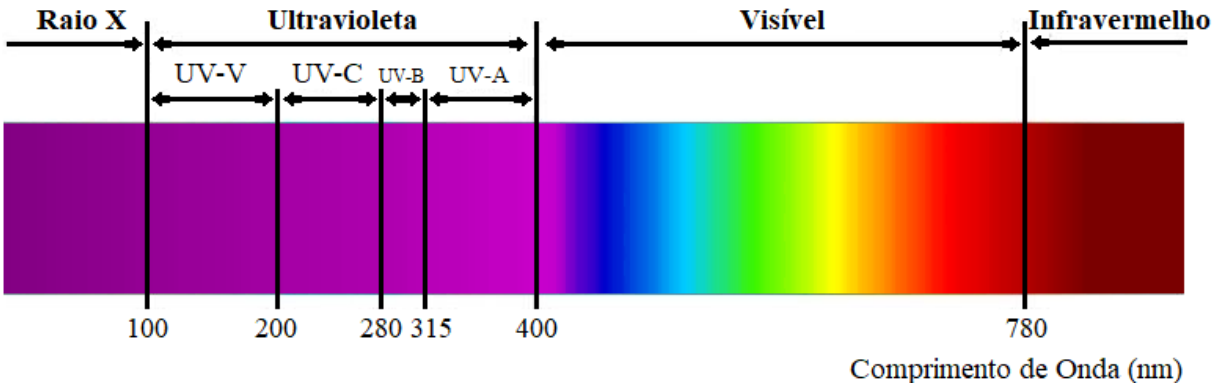
O xarope de agave é outro agente utilizado na adulteração de mel, e sua detecção tem sido alvo de estudos recentes. A espectroscopia UV-Vis, juntamente com classificadores de uma classe, tem se mostrado eficaz na autenticação do mel, identificando a presença de xarope de agave (Souza; Fernandes; Diniz, 2021). Além disso, a espectroscopia de fluorescência tem sido apontada como uma técnica de triagem rápida e econômica para detectar adulteração do mel com xaropes de agave, utilizando os espectros de emissão para identificar essa fraude (Yan *et al*., 2022).

A adulteração do mel com xarope de agave pode ser acompanhada por métodos como a cromatografia e outras técnicas espectroscópicas, que permitem não só a detecção, mas também a quantificação precisa da quantidade de xarope de agave presente nas amostras adulteradas. Esses métodos avançados de análise garantem a acurácia e confiabilidade no processo de detecção de adulterações (Yan *et al*., 2022).

3.6 Fundamentos da absorção molecular no ultravioleta–visível (UV-Vis)

A espectrofotometria na região do ultravioleta-visível (UV-Vis) é uma técnica analítica fundamental, amplamente empregada na identificação e quantificação de compostos químicos em diversas áreas, como química, biologia e ciência dos materiais. Essa técnica baseia-se na interação da luz com a matéria, sendo que a absorção de radiação nas regiões do espectro eletromagnético compreendidas entre 190 e 800 nm, correspondentes às faixas ultravioleta e visível, fornece informações sobre a estrutura molecular e a concentração dos analitos presentes na amostra. A absorção de radiação UV-Vis é um processo quantizado, no qual as moléculas são excitadas de um estado de baixa energia (estado fundamental) para um estado de maior energia (estado excitado) (Pavia, 2015; Owen, 2000). A **Figura 1** ilustra o espectro eletromagnético UV-Vis.

Figura 1 - Espectro eletromagnético UV-Vis.



Fonte: Owen (2000, com adaptações).

O princípio matemático que fundamenta essa técnica é a Lei de Lambert-Beer, expressa pela **equação 1**:

$$A = \varepsilon.c.l \qquad (1)$$

Onde:

- A é a absorbância (adimensional),
- ε é o coeficiente de absorção molar ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$),
- l é o comprimento do caminho óptico da célula (cm),
- c é a concentração do soluto ($mol \cdot L^{-1}$).

Essa relação linear permite a quantificação precisa de substâncias, sendo especialmente útil em estudos de autenticação de mel. É importante notar que a Lei de Beer-Lambert é rigorosamente obedecida quando uma única espécie dá origem à absorção observada. No entanto, podem ocorrer desvios quando há diferentes formas da molécula absorvente em equilíbrio, formação de complexos soluto-solvente, equilíbrio térmico entre o estado eletrônico fundamental e um estado excitado de baixa energia, ou presença de compostos fluorescentes, ou alterados por irradiação (Pavia, 2015; Owen, 2000).

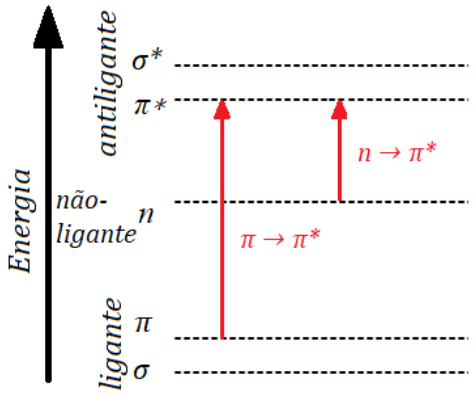
O Capítulo 10 de Pavia et al. (5ª ed., 2015) descreve os princípios da espectroscopia UV-Vis, que se baseia na absorção de luz por transições eletrônicas de elétrons de valência em sistemas com ligações pi (π) ou elétrons não ligantes (n) para estados de maior energia. As transições mais prováveis ocorrem do orbital molecular mais alto ocupado (HOMO) para o orbital molecular mais baixo desocupado (LUMO) (Pavia *et al.*, 2015).

Cromóforos são grupos atômicos responsáveis pela absorção. Os auxocromos, por sua vez, são substituintes que modificam a absorção do cromóforo, podendo alterar a intensidade ou o comprimento de onda. A absortividade molar (ϵ) varia de 0 a 10^6. Valores acima de 10^4

são de alta intensidade (efeito hipercrômico), e abaixo de 10^3 são de baixa intensidade (efeito hipocrômico) (Pavia *et al.*, 2015).

Entre os compostos com transições eletrônicas características, destacam-se os grupos carbonílicos, presentes em adulterantes como xaropes (por exemplo, xaropes de milho e de agave) ou em componentes naturais do mel, como alguns ácidos e aldeídos. Para esses grupos, a transição $n \rightarrow \pi^*$ ocorre tipicamente entre 280–290 nm (baixa intensidade, $\epsilon \approx 15$ $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$), enquanto a transição $\pi \rightarrow \pi^*$ é mais intensa ($\epsilon \approx 900$ $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$), aparecendo por volta de 188 nm. Tais transições podem ser modificadas pela presença de grupos auxocromos como metila ($-CH_3$), hidroxila (-OH), alcoxi (-OR), halogênios (F, Cl, Br, I) e aminas ($-NH_2$ e $-NR_2$), que alteram a intensidade e o deslocamento do comprimento de onda (Pavia, 2015; Owen, 2000). Essas transições são representadas na **Figura 2**.

Figura 2 - Representação das transições eletrônicas $n \rightarrow \pi^*$ e $\pi \rightarrow \pi^*$ no grupo carbonílico.



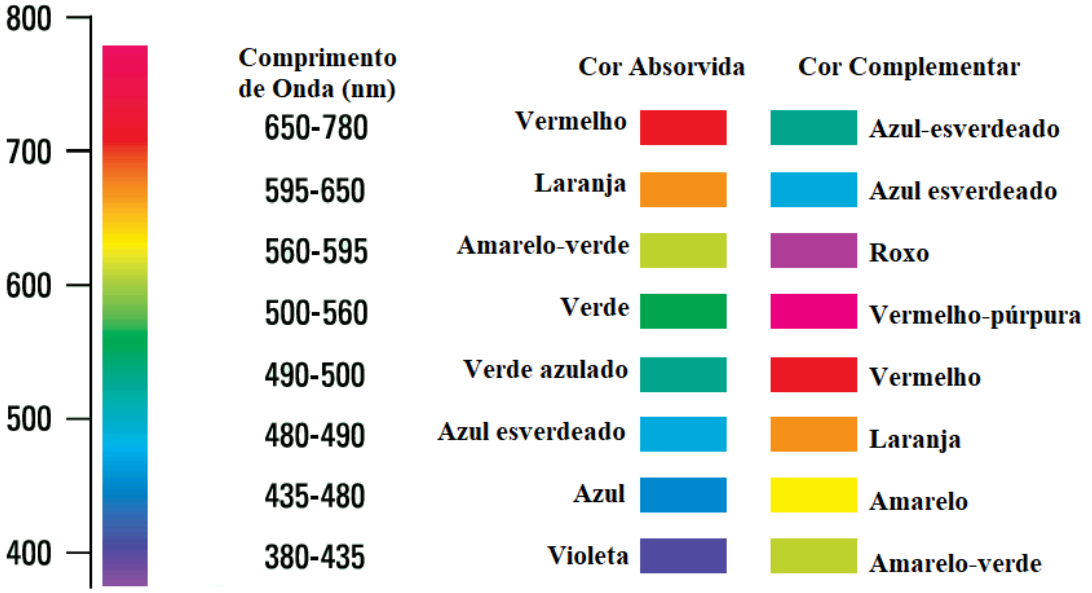
Fonte: Pavia *et al.* (2015, com adaptações)

Além disso, a conjugação de ligações duplas (presentes em alguns compostos fenólicos do mel, por exemplo, ou em adulterantes com estruturas insaturadas) é um fator crucial, pois causa um deslocamento batocrômico (para maior comprimento de onda) e aumenta a intensidade da absorção. Para dienos conjugados, as Regras de Woodward-Fieser podem ser aplicadas para prever o comprimento de onda de absorção (Pavia, 2015; Owen, 2000).

3.6.1 Cores em compostos e espectros visíveis

A cor observada em compostos está relacionada à absorção de luz na região visível do espectro eletromagnético, que se estende de aproximadamente 400 a 750 nm (Pavia, 2015). Quando um composto absorve radiação nessa faixa, ele não apresenta a cor correspondente ao comprimento de onda absorvido, mas sim a cor complementar. Isso ocorre porque, ao incidir luz branca sobre uma substância, parte dessa luz é absorvida e o restante é refletido ou transmitido ao olho humano, resultando na percepção da cor complementar àquela absorvida (Pavia, 2015; Owen, 2000). A **Figura 3** ilustra esse fenômeno de forma clara, evidenciando a relação entre a luz absorvida e a cor percebida.

Figura 3 - Absorbância e cores complementares.



Fonte: Owen (2000, com adaptações).

A coloração em compostos orgânicos está geralmente associada à presença de sistemas conjugados extensos de ligações π, que deslocam os espectros eletrônicos para a região visível, tornando o composto colorido (Pavia, 2015).

A percepção da cor também depende de fatores como o espectro da fonte de luz, a estrutura da superfície do material (no caso de sólidos) e o ambiente de observação. Para análise quantitativa da sua cor, pode-se empregar espectrofotometria UV-Vis com *softwares* e padrões de cor, como o sistema *CIE Lab (da sigla em francês Commission Internationale de l'Éclairage para os componentes Lightness, green-red axis e blue-yellow axis)**, os quais permitem medições precisas e padronizadas (Owen, 2000).

3.6.2 Aplicações da espectroscopia UV-VIS na análise e autenticação de mel

O uso combinado de espectroscopia UV-VIS com voltametria cíclica e Análise de Componentes Principais (PCA) tem se mostrado eficaz na detecção de adulteração com xaropes de milho, agregando valor ao controle de qualidade do mel (Guellis *et al*., 2020).

Estudos recentes indicam que determinados intervalos espectrais, como 280–300 nm e 260–500 nm, são relevantes para distinguir méis puros de amostras adulteradas, possibilitando uma análise mais direcionada (Mitra *et al*., 2023).

A integração de métodos em análises multivariadas, combinando UV-VIS com PCA, Floresta Randômica (RF) e DD-SIMCA, proporciona elevada acurácia na detecção de fraudes, mesmo em diferentes contextos geográficos e botânicos (Dimakopoulou-Papazoglou *et al*., 2023).

Além disso, a espectroscopia UV-VIS demonstrou eficácia na autenticação de méis monoflorais de Sumbawa (*Mitra et al.*, 2023) e marcas da Malásia (Nunes *et al*., 2024), evidenciando seu valor como ferramenta acessível e confiável. A junção com algoritmos de aprendizado de máquina, como redes neurais e RF, tem ampliado ainda mais a eficácia do método, tornando-o altamente atraente para aplicações industriais e controle de qualidade em larga escala (Nunes *et al.*, 2024).

3.7 Quimiometria: ferramentas e modelos para análise de produtos apícolas

Diversas definições foram propostas para descrever a quimiometria. Massart et al. (1997) a consideram uma disciplina que utiliza ferramentas matemáticas e estatísticas para otimizar experimentos, extrair informações químicas relevantes e compreender sistemas químicos. A União Internacional de Química Pura e Aplicada (do inglês, International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC) (2014) a define como a aplicação de métodos estatísticos na análise de dados químicos e no planejamento experimental. Chrétien acrescenta que a quimiometria está associada à gestão e ao processamento de dados químicos, enquanto Kowalski a define como a aplicação de estatística e matemática à química. Beebe, Pell e Seasholtz enfatizam seu papel na conversão de dados em informações úteis para a tomada de decisões (Ferreira, 2015).

A quimiometria é, portanto, uma disciplina interdisciplinar que integra conceitos de química, matemática e estatística para otimizar a extração de informações de dados químicos, planejar experimentos e interpretar resultados de maneira eficiente. O termo "quimiometria"

foi introduzido pelo químico orgânico Svante Wold em 1971 e consolidado com a fundação da International Chemometric Society, em parceria com Bruce R. Kowalski, visando fortalecer a conexão entre estatística aplicada e aplicações químicas (Ferreira, 2015).

A aplicação de técnicas quimiométricas, como Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise de Agrupamento Hierárquico (HCA), permite a diferenciação de amostras e a detecção de padrões, viabilizando a caracterização e autenticação de produtos apícolas (Santos et al., 2016).

No contexto da química analítica, a quimiometria é amplamente empregada na interpretação de dados obtidos por técnicas instrumentais, como as espectroscopias no infravermelho próximo (NIR), espectroscopia UV-Vis e métodos cromatográficos (Massart et al., 1997; Chrétien, 2003). Essas abordagens são especialmente relevantes na análise de produtos apícolas, como o mel, cuja composição química complexa exige ferramentas robustas para a identificação e quantificação de componentes (Pataca, 2006).

3.7.1 Quimiometria na detecção de adulterações e avaliação da qualidade do mel

A aplicação de técnicas quimiométricas tem se mostrado eficaz na diferenciação de amostras e na detecção de padrões, viabilizando a caracterização e autenticação de produtos apícolas. Santos et al. (2016) utilizaram PCA e Análise de Agrupamento Hierárquico (HCA) para a diferenciação de amostras. Anteriormente, Zuluaga et al. (2010) já haviam empregado PCA e Análise Discriminante Linear (LDA) para distinguir méis com base no perfil aromático e na origem geográfica. Mais recentemente, Tarapoulouzi et al. (2023) aplicaram essas técnicas para monitorar mudanças na composição do mel durante o armazenamento e o processamento.

A quimiometria também desempenha um papel essencial na detecção de adulterações e na avaliação da qualidade do mel. Cordella et al. (2003) utilizaram Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detecção por Pulso Amperométrico (HPAEC-PAD) associada a PCA para avaliar o impacto da alimentação artificial das abelhas na composição açucarada do mel. Se et al. (2018) combinaram espectroscopia FTIR-ATR com PCA e PLS para detectar e quantificar adulterantes em méis de abelhas-sem-ferrão. No mesmo ano, Ferreiro-González et al. (2018) demonstraram que a espectroscopia Vis-NIR, associada a PCA e PLS, pode ser utilizada para análises não destrutivas de adulteração em laboratórios de rotina. Em seguida, Anguebes-Franseschi et al. (2019) aplicaram espectroscopia Raman associada a PLS e Máquinas de Vetores de Suporte (SVM) para prever propriedades físico-químicas do mel,

contribuindo para a valorização de produtos regionais. No mesmo ano, Aliaño-González et al. (2019) utilizaram espectroscopia Vis-NIR com PLS-R e HCA para identificar e quantificar adulterantes em méis de alta qualidade.

3.8 Análise exploratória dos dados

O reconhecimento de padrões contribui significativamente para a extração de informações estruturadas a partir de dados experimentais complexos, sendo amplamente utilizado na química analítica para a autenticação de produtos e a identificação de adulterações (Oliveri *et al*., 2021). De acordo com Ferreira (2015), os métodos quimiométricos aplicados ao reconhecimento de padrões são classificados em duas abordagens principais.

- Métodos não supervisionados, que exploram a estrutura dos dados sem informações prévias sobre as classes das amostras.
- Métodos supervisionados, que utilizam informações prévias sobre a classificação das amostras para construir modelos preditivos.

3.8.1 Reconhecimento de padrões não supervisionado

O reconhecimento de padrões não supervisionados é uma abordagem exploratória utilizada para identificar estruturas e agrupamentos em conjuntos de dados sem a necessidade de informações prévias sobre a identidade das amostras. Dentre os principais métodos empregados, destacam-se a Análise por Agrupamento Hierárquico (HCA) e a Análise por Componentes Principais (PCA) (Neto; Scarminio; Bruns, 1998; Ferreira, 2015).

A quantidade de variáveis analisadas em estudos de reconhecimento de padrões é elevada, tornando a representação gráfica uma ferramenta essencial para a interpretação dos resultados. Algoritmos como HCA e PCA foram desenvolvidos para elaborar gráficos que capturam a maior quantidade possível de informações contidas em conjuntos de dados analíticos. Esses métodos permitem a visualização global do conjunto de dados, mesmo em casos onde há um grande número de amostras e variáveis (Ferreira, 2015).

A HCA busca agrupar as amostras em classes com base na similaridade entre os participantes de uma mesma classe e nas diferenças entre os membros de classes distintas. A

representação gráfica resultante é chamada de dendrograma, um gráfico bidimensional que independe do número de variáveis do conjunto de dados (Ferreira, 2015).

A PCA, por sua vez, tem como objetivo reduzir a dimensionalidade do conjunto de dados original, preservando a maior quantidade possível de informação (variância). Essa redução ocorre por meio da criação de novas variáveis ortogonais, denominadas Componentes Principais (PCs, do inglês *Principal Components*), que são combinações lineares das variáveis originais, organizadas em ordem decrescente de importância. Os gráficos gerados a partir da PCA representam as amostras em um sistema cartesiano onde os eixos correspondem às PCs (Ferreira, 2015).

Tanto HCA quanto PCA facilitam a interpretação de conjuntos de dados complexos por meio de gráficos bi- ou tridimensionais. Esses gráficos apresentam informações sobre as inter-relações entre as variáveis, auxiliando na análise multivariada do comportamento das amostras. Além disso, a visualização gráfica permite a identificação rápida de agrupamentos naturais e a determinação dos principais parâmetros responsáveis pela formação dos grupos. A análise das PC's pode auxiliar no estabelecimento de uma assinatura química particular para cada grupo de amostras segregado após a PCA, contribuindo para a caracterização e autenticação de diferentes matrizes analíticas (Ferreira, 2015).

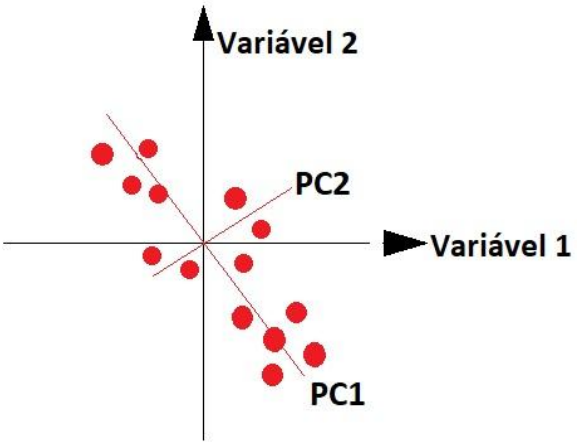
3.8.2 Análise de componentes principais (PCA)

A Análise de Componentes Principais (PCA) é um método estatístico multivariado amplamente utilizado na ciência de dados, incluindo aplicações na espectroscopia. Esse método foi introduzido por Karl Pearson em 1901, sendo posteriormente formalizado por Harold Hotelling na década de 1930, o que permitiu sua aplicação em diversas áreas, como psicologia e química (Ferreira, 2015).

A PCA é utilizada para projetar dados multivariados em um espaço de menor dimensão, reduzindo a quantidade de variáveis originais sem comprometer as relações entre as amostras. Dessa forma, as informações mais relevantes são destacadas e ampliadas, facilitando a interpretação dos resultados. Além disso, essa técnica permite visualizar diferenças entre variáveis, analisar relações entre as amostras e detectar padrões atípicos. Na química, é amplamente empregada para análise de dados espectroscópicos, onde um grande número de variáveis correlacionadas pode ser reduzido sem perda significativa de informação (Ferreira, 2015).

Matematicamente, a PCA transforma as variáveis originais em um novo conjunto de variáveis ortogonais denominadas Componentes Principais (PCs). A primeira componente principal (PC1) é responsável por capturar a maior variância dos dados, enquanto a segunda componente (PC2) explica a maior variabilidade restante em um espaço ortogonal à PC1. As demais componentes seguem esse princípio, assegurando que cada uma capture a maior variância possível sem redundância. Essa transformação permite reduzir a dimensionalidade do problema sem comprometer a estrutura da informação (Ferreira, 2015).

Figura 4 – Representação gráfica de dois grupos de amostras no espaço bidimensional definido por var1 e var2 e as respectivas componentes principais.



Fonte: Ferreira (2015, com adaptações).

A Análise de Componentes Principais (PCA) possui diversas aplicações práticas, como no processamento de imagens de satélite na meteorologia e na análise de dados espectroscópicos e cromatográficos na química. A redução da dimensionalidade facilita a interpretação dos dados, permitindo distinguir diferentes grupos de amostras e evidenciar variações significativas (Ferreira, 2015). Estudos indicam que, quando aplicada à autenticação do mel, a PCA é capaz de identificar padrões espectrais característicos e diferenciar amostras com base em suas propriedades químicas e físicas.

Cagliani *et al*. (2022), por exemplo, utilizaram a PCA na análise por RMN para detectar adulterações em mel italiano com sacarídeos, destacando a eficácia da técnica na distinção entre amostras adulteradas e não adulteradas. De forma semelhante, Hao *et al*. (2022) demonstraram que a combinação entre PCA, espectroscopia de impedância alternada e perfis de ^{1}H NMR permite a detecção rápida e precisa de adulterações em mel de acácia. Já Robert *et al*. (2023) aplicaram a PCA em dados de espectroscopia Raman para identificar

adulterações por melaço, evidenciando seu potencial como ferramenta eficaz no controle de qualidade do mel.

3.9 Pré-processamento de dados espectrais

O pré-processamento de dados espectrais é uma etapa essencial na análise quimiométrica, especialmente em matrizes complexas como o mel. Esse processo visa corrigir variações indesejadas associadas à instrumentação, às condições de medição e às características físico-químicas da amostra, que podem comprometer a eficácia dos modelos estatísticos multivariados (Ferreira, 2015).

A matriz mel, composta por açúcares, pigmentos, minerais e compostos orgânicos, apresenta espectros UV-Vis sensíveis a flutuações na linha de base, dispersão de luz e efeitos de turbidez (Razavi Kenari, 2023). Além disso, a viscosidade e a coloração variáveis entre amostras podem gerar deslocamentos espectrais e intensidades não representativas da concentração real de analitos, o que justifica a adoção de correções e transformações específicas.

3.9.1 Correções de ruído, linha de base e espalhamentos

3.9.1.1 Correção de offset

Consiste na subtração de um valor constante de todo o espectro, corrigindo desvios verticais globais. É uma das técnicas mais simples para alinhar os dados espectrais com base em um ponto de referência ou valor médio (Rinnan *et al*., 2009).

3.9.1.2 Correção de linha de base

Tem por finalidade eliminar variações não informativas na linha de base, que podem ser causadas por mudanças instrumentais ou propriedades físicas das amostras. Essa correção pode ser feita ajustando-se uma função de linha de base que é então subtraída do espectro original (Ferreira, 2015).

3.9.1.3 Derivada de Savitzky-Golay

O método Savitzky-Golay é bastante utilizado no pré-processamento de dados espectroscópicos, servindo para suavizar sinais e calcular derivadas, mantendo as características estruturais do espectro, como a largura e a altura dos picos (Savitzky; Golay, 1964). Ele funciona como um filtro polinomial que ajusta um polinômio de grau definido via mínimos quadrados em uma janela móvel, aplicada a um conjunto de pontos ao redor de cada ponto do espectro (Rinnan *et al*., 2009).

A derivada de Savitzky-Golay é particularmente útil na correção de desníveis de linha de base, na remoção de ruído de alta frequência e na evidência de bandas sobrepostas, sendo frequentemente empregada na obtenção da primeira ou segunda derivada dos dados espectrais (Rinnan *et al*., 2009).

3.9.1.4 Multiplicative scatter correction (MSC)

A correção por espalhamento multiplicativo ajusta os espectros em relação a um espectro de referência, reduzindo variações provocadas por diferentes tamanhos de partículas ou caminhos ópticos (Ferreira, 2015).

3.9.1.5 Standard normal variate (SNV)

Corrige o espalhamento multiplicativo e a variância entre os espectros ao centralizar e escalar cada espectro individualmente, removendo o efeito da espessura ou densidade da amostra (Ferreira, 2015).

3.10 Seleção e divisão de conjuntos de dados

A adequada divisão dos dados em conjuntos de calibração e validação é essencial para a construção de modelos preditivos robustos. A representatividade do conjunto de calibração assegura que o modelo cubra toda a variabilidade do sistema (Esbensen & Swarbrick, 2018).

3.10.1 Algoritmo de Kennard-Stone (KS)

O algoritmo de Kennard-Stone (KS) é um método determinístico utilizado para a seleção amostral representativa em estudos multivariados. É frequentemente empregado na divisão de dados em conjuntos de calibração e validação, visando assegurar uma cobertura uniforme do espaço espectral (Ferreira, 2015).

A seleção é iniciada com os dois pontos mais distantes entre si, considerando a distância euclidiana multivariada, e prossegue de forma iterativa, sempre escolhendo a próxima amostra mais distante do subconjunto já selecionado. Esse critério busca maximizar a diversidade espectral no conjunto de calibração, minimizando o viés na modelagem (Ferreira, 2015).

3.11 Reconhecimento de padrões supervisionado em dados multiclasses

A análise supervisionada é amplamente utilizada para a classificação de dados, permitindo a construção de modelos empíricos a partir de um conjunto de amostras previamente classificadas. Esse conjunto, denominado conjunto de treinamento, possibilita o desenvolvimento de regras de classificação baseadas nos padrões dessas amostras, permitindo a identificação de novas amostras de maneira precisa e automatizada (Ferreira, 2015).

Estudos recentes que utilizam técnicas de reconhecimento de padrões para a identificação de adulteração do mel com açúcares têm demonstrado a eficácia de modelos supervisionados, como PLS-DA (Dranca *et al*., 2022; Egido *et al*., 2024), SVM (Ciursã *et al*., 2021), LDA (Aliaño-González *et al*., 2019) e DD-SIMCA (Souza, Fernandes & Diniz, 2021; Dimakopoulou-Papazoglou *et al*., 2023), que frequentemente apresentam altas taxas de acurácia, sensibilidade e especificidade. Essas abordagens superam, em muitos casos, técnicas não supervisionadas como a Análise de Componentes Principais (PCA) (Robert *et al*., 2023; Nunes *et al*., 2023), cuja eficácia nem sempre é reportada de forma quantitativa.

Nesse contexto, observa-se um crescimento no uso da espectroscopia UV-Vis combinada a métodos supervisionados, destacando-se como uma alternativa promissora para a triagem rápida, precisa e de baixo custo da adulteração do mel. O presente trabalho se insere nessa linha de pesquisa ao empregar o algoritmo iSPA-PLS-DA associado à espectroscopia UV-Vis, obtendo métricas preditivas ideais e alinhando-se às tendências atuais, oferecendo um método eficaz, simples e ambientalmente sustentável.

3.11.1 Análise discriminante por regressão por mínimos quadrados parciais (PLS-DA)

A análise discriminante por regressão por mínimos quadrados parciais (PLS-DA) é uma técnica quimiométrica utilizada para a classificação de amostras com base em variáveis preditoras multivariadas, como dados espectroscópicos. Trata-se de uma adaptação do método PLS (*Partial Least Squares*), originalmente desenvolvido para regressão, a problemas de classificação (Ruiz-Perez *et al*., 2020).

Segundo (Ruiz-Perez *et al*., (2020) no PLS-DA, a variável-resposta categórica *Y* é codificada de forma binária ou dummy (por exemplo, 0 e 1), representando as diferentes classes. O modelo busca encontrar componentes latentes que maximizem a covariância entre a matriz de preditores X e a matriz de respostas Y:

$$\text{Maximize } \text{Cov}(t,u) = \text{Cov}(Xw,Yc) \tag{2}$$

em que:

- t= Xw são os scores de X,
- u= Yc são os scores de Y,
- w e c são os vetores de pesos.

O modelo resultante permite projetar os dados em um espaço de menor dimensionalidade, o que favorece a separação entre as classes, possibilitando tanto a visualização da estrutura dos dados quanto a predição de novas amostras (Ruiz-Perez *et al*., 2020).

Entre suas principais vantagens estão a robustez frente à colinearidade entre variáveis, a capacidade de lidar com conjuntos de dados de alta dimensionalidade e a facilidade de interpretação por meio de gráficos de scores e loadings (Ruiz-Perez *et al*., 2020).

A eficácia do PLS-DA na detecção de fraudes em mel tem sido evidenciada por diferentes abordagens analíticas aplicadas a dados multivariados. Egido *et al*. (2024) utilizaram dados de *fingerprinting por HPLC-UV* para distinguir amostras de mel puro daquelas adulteradas com diversos tipos de xaropes, como glicose, frutose e xarope de arroz. O modelo PLS-DA apresentou alto desempenho classificatório, permitindo a separação clara entre amostras autênticas e adulteradas. De forma semelhante, Ciurşa *et al*. (2021) aplicaram espectroscopia FTIR combinada ao PLS-DA para identificar adulterações com xaropes de agave, milho, açúcar invertido, bordo e arroz. Mesmo em níveis reduzidos de adulteração, o

modelo foi capaz de discriminar com precisão as classes de amostras, reforçando o potencial do PLS-DA como ferramenta robusta na autenticação de alimentos complexos, como o mel.

3.11.2 Análise discriminante linear (LDA)

A Análise Discriminante Linear (LDA) é um método estatístico clássico utilizado para classificar amostras em diferentes classes com base em variáveis preditoras. Seu objetivo é construir uma função discriminante capaz de separar essas classes por meio de uma superfície de decisão, de modo que as amostras de cada grupo fiquem de lados opostos dessa fronteira (Ferreira, 2015).

Essa função discriminante é uma combinação linear das variáveis originais, resultando em um hiperplano que separa as classes no espaço de características. Os coeficientes dessa combinação podem ser estimados por regressão linear múltipla (MLR), atribuindo valores +1 e –1 às amostras de cada classe durante o treinamento (Ferreira, 2015).

Segundo Ferreira (2015), o LDA apresenta limitações importantes, especialmente em conjuntos de dados instrumentais com alta dimensionalidade. As principais desvantagens incluem:

- Aplicabilidade restrita a casos em que o número de variáveis *J* é menor que o número de amostras *I*, além de ser sensível à colinearidade entre variáveis;
- Suposição de separabilidade linear entre as classes, o que nem sempre se verifica na prática;
- Dificuldade em lidar com amostras atípicas (*outliers*);
- Baixo desempenho quando o número de classes é elevado (mais de cinco).

Por essas razões, o LDA tem sido substituído por métodos mais robustos e apropriados para conjuntos de dados complexos e multivariados (Ferreira, 2015).

Um caso da aplicação do método LDA pode ser encontrado no estudo de Aliano-Gonzalez *et al*. (2019), que desenvolveu um método de triagem baseado em espectroscopia Vis-NIR para identificar e quantificar adulterantes em mel de alta qualidade. Nesse trabalho, o LDA foi utilizado para classificar amostras de mel conforme a presença de diferentes adulterantes, mostrando-se eficaz na discriminação entre as classes, o que ressalta a utilidade do método em análise química e controle de qualidade.

3.11.3 Algoritmo das projeções sucessivas combinado a análise discriminante linear por regressão por mínimos quadrados parciais (iSPA-PLS-DA)

O iSPA-PLS-DA é um método quimiométrico baseado na extensão do Algoritmo de Projeção Sucessiva (SPA) para a seleção de variáveis em Regressão Linear Múltipla (MLR) (Araújo *et al*., 2001). Posteriormente, essa abordagem foi estendida para a seleção de intervalos de variáveis em Mínimos Quadrados Parciais (PLS), originando o iSPA-PLS (Gomes *et al*., 2013).

O algoritmo iSPA-PLS-DA, proposto por Fernandes *et al*. (2016), visa aprimorar a discriminação de classes por meio da seleção otimizada de intervalos espectrais, garantindo que apenas as variáveis mais relevantes e ortogonais sejam utilizadas na construção do modelo.

Segundo Fernandes *et al*. (2016), o iSPA-PLS-DA opera em duas fases principais:

1. Fase 1 – As variáveis espectrais são divididas em *w* intervalos não sobrepostos. A seguir, cada intervalo é representado pelo vetor com maior norma dentro do conjunto de treinamento (X_{train}). Esses vetores são reunidos em uma matriz W_{train}, que passa por operações de projeção sucessiva para gerar combinações candidatas de intervalos.
2. Fase 2 – As combinações de intervalos selecionadas são utilizadas para construir diferentes modelos PLS-DA. A melhor combinação é aquela que resulta na menor taxa de erro (ER), determinada por validação cruzada.

Matematicamente, o erro de classificação pode ser expresso como:

$$ER = \frac{FP + FN}{TP + TN + FP + FN} \quad (3)$$

onde:

- FP e FN são os falsos positivos e falsos negativos, respectivamente.
- TP e TN são os verdadeiros positivos e verdadeiros negativos.

Aplicações recentes demonstram que o iSPA-PLS-DA é uma ferramenta eficaz para autenticação e discriminação de produtos, como na identificação de adulteração de leite de cabra com leite de vaca (Pereira *et al*., 2021) e na diferenciação de rotas etílicas e matérias-primas de biodiesel (Costa *et al*., 2023).

3.12 Calibração multivariada

A calibração multivariada é uma ferramenta essencial na modelagem de dados espectroscópicos, pois permite a extração de informações químicas a partir de sinais complexos. Segundo Ferreira (2015), essa abordagem utiliza métodos estatísticos para estabelecer correlações entre as respostas espectroscópicas e as concentrações dos analitos de interesse. Nesse contexto, técnicas como a Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS) e a Regressão Linear Múltipla (MLR) são amplamente empregadas para a construção de modelos preditivos robustos, capazes de reduzir a redundância dos dados e melhorar a acurácia analítica. Além disso, a calibração multivariada se mostra particularmente eficaz em sistemas com alta colinearidade entre variáveis, ao permitir a extração de fatores latentes que representam as variações mais relevantes nos dados originais (Ferreira, 2015).

3.12.1 Regressão por mínimos quadrados parciais (PLS)

A regressão PLS é uma técnica amplamente utilizada na modelagem quimiométrica, especialmente para calibração multivariada, devido à sua capacidade de lidar com variáveis preditoras altamente correlacionadas e dados ruidosos. Diferentemente da regressão por componentes principais (Principal Component Regression - PCR), o PLS utiliza informações da matriz de respostas Y para determinar os fatores latentes que melhor explicam a variabilidade conjunta dos dados (Ferreira, 2015).

O primeiro fator latente encontrado pelo PLS maximiza a covariância entre as variáveis independentes X e as variáveis dependentes Y, permitindo assim um ajuste mais eficiente dos modelos. Entre os principais algoritmos empregados para a decomposição da matriz X no PLS, destacam-se o *Nonlinear Iterative Partial Least Squares* (NIPALS) e a Decomposição de Valores Singulares (SVD) (Ferreira, 2015).

A abordagem PLS foi desenvolvida entre 1975 e 1982 por Herman Wold e colaboradores, fundamentando-se na modelagem de variáveis latentes para explicar os processos estudados. Em comparação com os modelos de regressão tradicionais, que assumem variáveis independentes não correlacionadas, o PLS permite a análise e interpretação de um grande número de variáveis correlacionadas de forma eficiente, sendo extensivamente aplicado na análise de dados químicos (Ferreira, 2015).

No contexto da autenticação e análise da qualidade do mel, o PLS tem sido amplamente utilizado em combinação com técnicas espectroscópicas, como a espectroscopia

no infravermelho próximo (NIR) e a espectroscopia no ultravioleta-visível (UV-VIS). Estudos demonstram que o PLS pode prever com alta acurácia os níveis de adulteração do mel, especialmente quando combinado com ferramentas quimiométricas, como análise de componentes principais (PCA) e análise discriminante linear (LDA) (Ferreiro-González *et al*., 2018).

3.12.2 Regressão linear múltipla (MLR)

A regressão múltipla é um método estatístico amplamente utilizado para modelar a relação entre uma variável dependente contínua e múltiplas variáveis independentes. Trata-se de uma extensão da regressão linear simples, que permite a análise simultânea de diversos preditores para prever um resultado específico (Eberly, 2007).

Embora o método clássico de calibração possa oferecer os melhores resultados em condições ideais, onde todas as substâncias apresentam espectros ativos, essa situação é pouco comum, na prática. Nesse caso, a regressão múltipla (MLR) é uma opção mais adequada, especialmente quando o número de variáveis é pequeno e a correlação entre elas não é alta (Ferreira, 2015).

A regressão múltipla assume algumas condições importantes: a relação entre as variáveis preditoras e a variável resposta deve ser linear, os erros devem ser normalmente distribuídos e deve haver homoscedasticidade, ou seja, variância constante dos erros (Nimon; Oswald, 2013). É fundamental, também, estar atento à multicolinearidade, que ocorre quando há uma forte correlação entre as variáveis preditoras. Esse fenômeno pode comprometer a interpretação dos coeficientes do modelo, e técnicas como a análise do fator de inflação da variância (VIF) podem ser utilizadas para sua detecção (Liu; Jamshidian; Zhang, 2004).

O processo de análise de regressão linear múltipla inclui etapas como a verificação da relação linear entre as variáveis, a seleção dos preditores mais relevantes, a avaliação da qualidade do ajuste do modelo e a validação dos resultados por meio de testes estatísticos (Eberly, 2007). A realização dessas etapas garante que o modelo construído seja robusto e capaz de gerar previsões confiáveis.

3.12.3 Algoritmo das projeções sucessivas combinado com regressão por mínimos quadrados parciais (iSPA-PLS)

O iSPA-PLS (*Successive Projections Algorithm for interval selection in Partial Least Squares*) é uma extensão do método de projeções sucessivas (SPA) aplicada à seleção de variáveis, associando-o à regressão por mínimos quadrados parciais (PLS). Seu principal objetivo é selecionar intervalos de variáveis de um espectro para utilização em modelos PLS, com o intuito de melhorar a capacidade preditiva ao eliminar variáveis não informativas (Gomes *et al*., 2013).

Conforme proposto por Gomes *et al*. (2013), o iSPA-PLS combina a habilidade do PLS em reduzir o ruído com a capacidade do SPA de descartar variáveis irrelevantes, as quais tendem a ser menos sensíveis ao ruído instrumental. A junção dessas características visa à construção de modelos mais robustos e com melhor desempenho preditivo.

A metodologia do iSPA-PLS é composta por duas fases principais, derivadas do algoritmo SPA-MLR (Gomes *et al*., 2013):

Fase 1 – Seleção de intervalos: o espectro é dividido em segmentos, e a variável com a maior norma dentro de cada intervalo é selecionada como representante. As operações de projeção são realizadas com essas variáveis representativas, e os índices obtidos referem-se aos intervalos, e não às variáveis individuais.

Fase 2 – Construção dos modelos PLS: modelos PLS são construídos para cada combinação de intervalos selecionados na fase anterior. A validação cruzada é utilizada para determinar o número ideal de variáveis latentes (componentes) em cada modelo. A combinação ótima de intervalos é escolhida com base no menor valor de erro quadrático médio da validação cruzada (RMSECV). Ressalta-se que a utilização de todos os intervalos corresponde a um modelo PLS tradicional, sendo o diferencial do iSPA-PLS a seleção de um subconjunto mais informativo.

Nesse contexto, a aplicação do iSPA-PLS à análise de mel por espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) mostra-se metodologicamente adequada, considerando a necessidade de aprimoramento da capacidade preditiva de modelos de calibração, por meio de uma abordagem já consolidada em cenários analíticos semelhantes.

3.13 Avaliação da performance de modelos

A validação de modelos quimiométricos depende de métricas que avaliem sua capacidade preditiva e discriminativa. Essas métricas são divididas em medidas de regressão e de classificação (Brereton, 2003).

3.13.1 Métricas de regressão

Durante o desenvolvimento e a validação de modelos analíticos, especialmente em espectroscopia, é fundamental avaliar sua performance preditiva por meio de métricas estatísticas que reflitam a qualidade dos resultados. Uma dessas métricas é o erro quadrático médio da validação cruzada (RMSECV), que fornece uma estimativa da acurácia do modelo ao longo do processo de calibração. Quando esse valor é baixo, indica que o modelo apresenta maior consistência e menor variação entre os ciclos de validação (Ferreira, 2015).

Outra métrica amplamente utilizada é o erro quadrático médio de predição (RMSEP), calculado a partir do conjunto de validação, ou seja, de dados que não foram utilizados na construção inicial do modelo. Esse valor mostra o quanto o modelo é capaz de generalizar e manter seu desempenho ao ser aplicado a novas amostras (Ferreira, 2015). Associado a essas duas métricas, temos o coeficiente de determinação na validação cruzada (R^2cv ou Rc), que indica a proporção da variância dos dados explicada pelo modelo. Quanto mais próximo de 1 for esse valor, melhor é o ajuste obtido, o que sugere que as previsões estão fortemente relacionadas aos valores reais (Brereton, 2003).

Além disso, o RPD (*Ratio of Performance to Deviation*) é uma razão entre o desvio padrão das amostras no conjunto de validação e o RMSEP. Trata-se de uma métrica prática para avaliar o desempenho de modelos quantitativos: valores de RPD acima de 2 já indicam um bom poder preditivo, e acima de 3 são considerados excelentes (Williams & Norris, 2001). Outra medida complementar é o erro relativo de predição (REP), que representa o RMSEP dividido pela média dos valores reais, expressando o erro como uma porcentagem. Essa métrica permite avaliar a acurácia em termos relativos, o que é útil quando se comparam modelos aplicados a diferentes escalas ou unidades (Burns & Ciurczak, 2007).

Por fim, os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) também são parâmetros indispensáveis em métodos espectroscópicos. O LOD representa a menor concentração de analito que pode ser detectada com confiança, embora não necessariamente quantificada. Pode ser estimado com base na razão sinal/ruído ou a partir dos resíduos da

curva de calibração (Shrivastava & Gupta, 2011). A transição entre a não detecção e a detecção ocorre de forma gradual, e o LOD pode variar conforme o tipo de amostra e as condições do método. Por isso, é importante considerar todas as etapas envolvidas na análise. O LOD também é relevante para métodos qualitativos, pois fornece uma noção clara da sensibilidade do ensaio (INMETRO, 2020).

Já o LOQ corresponde à menor quantidade de analito que pode ser determinada com acurácia e exatidão aceitáveis. Normalmente, esse valor se refere à menor concentração incluída na curva de calibração, desconsiderando o branco (ICH, 2005). Para assegurar a confiabilidade do LOQ, é recomendada a validação com amostras independentes no mesmo nível de concentração, analisadas em replicatas, geralmente seis, a fim de verificar critérios como recuperação, tendência e acurácia (INMETRO, 2020). A definição adequada do LOQ é essencial para garantir que os resultados obtidos em concentrações próximas ao limite inferior de quantificação sejam confiáveis e reproduzíveis, especialmente em análises quantitativas sensíveis.

3.13.2 Métricas de classificação

3.13.2.1 Acurácia, sensibilidade e especificidade

A avaliação do desempenho dos modelos de classificação utilizados baseou-se nas métricas derivadas da matriz de confusão, especialmente a acurácia, a sensibilidade e a especificidade. Essas métricas, também conhecidas como figuras de mérito, são fundamentais na validação de modelos supervisionados em quimiometria (Ferreira, 2015; Brereton, 2003;). A partir desses dados, foram calculadas as figuras de mérito listadas abaixo:

A acurácia (ou exatidão) expressa a proporção de classificações corretas realizadas pelo modelo, considerando tanto as amostras corretamente identificadas como pertencentes à classe modelada (verdadeiros positivos - VP), quanto aquelas corretamente excluídas (verdadeiros negativos - VN). É definida pela equação:

$$\text{Acurácia} = \frac{VP+VN}{VP+VN+FP+FN} \quad (4)$$

A sensibilidade, também chamada de taxa de verdadeiros positivos, corresponde à capacidade do modelo de identificar corretamente as amostras que pertencem à classe modelada. Sua expressão é dada por:

$$\text{Sensibilidade} = \frac{VP}{VP+FN} \quad (5)$$

Por sua vez, a especificidade (ou seletividade) mede a habilidade do modelo de identificar corretamente as amostras que não pertencem à classe modelada, sendo calculada como:

$$\text{Especificidade} = \frac{VN}{VN+FP} \quad (6)$$

Essas métricas são amplamente utilizadas na literatura para avaliar o desempenho de classificadores aplicados a dados espectroscópicos e quimiométricos (Ferreira, 2015).

3.13.2.2 Receiver operating characteristics (Curva - ROC)

A análise das características operacionais do receptor (ROC) é amplamente utilizada para avaliar classificadores binários, relacionando sensibilidade (taxa de verdadeiros positivos) e especificidade (taxa de verdadeiros negativos) a partir da variação do limiar de decisão (Flach, 2017). No presente estudo, a curva ROC foi empregada para definir o número ótimo de variáveis latentes (LVs) do modelo PLS-DA por validação cruzada *leave-one-out* na matriz X_{train}, buscando o equilíbrio entre sensibilidade e especificidade.

As variáveis de Xtrain foram agrupadas em intervalos não sobrepostos, cada qual contendo mais variáveis do que o número ótimo de LVs; em cada intervalo, selecionou-se aquela com maior norma, formando a matriz reduzida Wtrain. Na etapa seguinte, identificaram-se as combinações de intervalos que maximizaram a taxa de classificação correta (CCR), resultando no modelo final.

Os intervalos selecionados não apenas otimizaram o desempenho estatístico, mas também corresponderam a bandas de absorção associadas a transições eletrônicas $n \rightarrow \pi^*$, típicas de açúcares como glicose e frutose. Essa correspondência confirma sua relevância química para distinguir mel puro de adulterado, conforme relatado por estudos anteriores (Aliano-González et al., 2019; Razavi & Kenari, 2023).

4 METODOLOGIA

4.1 Materiais e métodos

4.1.1 Amostras e preparo das amostras

Um total de 58 amostras de mel puro (ou seja, não adulterado) foi coletado nas mesorregiões do Agreste e da Mata, no estado da Paraíba, Brasil. Essas amostras incluem méis de flores silvestres provenientes de apiários localizados próximos a florestas ombrófilas, bem como méis oriundos de flores de jaca, caju, laranja, abacaxi, manga, coco e cana-de-açúcar, obtidos de apiários situados em áreas agrícolas dedicadas ao cultivo dessas culturas. A colheita foi realizada diretamente nos apiários sob supervisão, de modo a garantir a prevenção de adulterações ou contaminações. Posteriormente, as amostras foram armazenadas em frascos âmbar previamente higienizados e mantidas sob refrigeração até a análise.

Além disso, para a preparação das amostras adulteradas e dos padrões de xarope, três marcas distintas de xaropes de milho e agave foram adquiridas em supermercados e lojas de produtos naturais nas cidades de João Pessoa (Paraíba) e Barreiras (Bahia).

A partir dessas aquisições, foram preparadas 30 amostras de xarope de milho e 30 de xarope de agave. Para as adulterações, 104 amostras de mel adulterado foram produzidas, totalizando 222 amostras, incluindo as 58 de mel puro.

As soluções estoque aquosas (0,06 g mL^{-1}) de mel e de seus adulterantes foram preparadas inicialmente em balões volumétricos de 100 mL. Em seguida, as soluções das misturas binárias, ternárias e quaternárias (isto é, uma amostra de mel adicionada com um, dois e três adulterantes simultaneamente) foram preparadas por diluição em balões volumétricos de 2 mL. As adulterações foram produzidas em sete níveis diferentes, variando de 25 mg g^{-1} a 90 mg g^{-1}, com concentrações dos adulterantes no mel variando de 0 a 100% (v/v), utilizando a diluição apropriada das soluções estoque para evitar a saturação dos espectros UV-Vis registrados. Somente água recém-destilada e deionizada, com condutividade de 18 MΩ cm^{-1} a 25 °C, foi utilizada ao longo do experimento.

4.1.2 Instrumentação

Um espectrofotômetro Cary 50 UV-Vis, equipado com uma cubeta de quartzo com um caminho óptico de 1 cm e um arranjo de fotodiodos cobrindo a faixa de 190–1100 nm, com resolução de 1 nm, foi utilizado para registrar os espectros. Todas as medições foram realizadas em triplicata à temperatura ambiente (23 ± 1 °C). Somente o espectro médio de cada triplicata foi utilizado para a construção dos modelos quimiométricos.

4.1.3 Procedimentos quimiométricos

Para a construção dos modelos quimiométricos, a faixa espectral entre 325 e 800 nm foi selecionada para remover saturações e sinais não informativos. Em seguida, quatro diferentes métodos de pré-processamento foram aplicados para corrigir variações sistemáticas da linha de base, incluindo:

(a) correção de deslocamento (OFF),

(b) correção linear da linha de base (LBC),

(c) OFF + LBC, e

(d) suavização da primeira derivada de Savitzky-Golay, utilizando um polinômio de segunda ordem e uma janela de 7 pontos (SGD).

Inicialmente, a Análise de Componentes Principais (PCA) foi empregada para realizar uma análise exploratória dos dados pré-processados. Em seguida, uma análise discriminante considerando quatro classes (mel puro, xarope de milho, xarope de agave e mel adulterado) foi realizada utilizando PLS-DA, SPA-LDA e iSPA-PLS-DA.

Antes disso, o conjunto de dados foi dividido em 152 amostras de treinamento (38 de mel puro, 20 de xarope de milho, 20 de xarope de agave e 74 de mel adulterado) e 70 amostras de teste (20 de mel puro, 10 de xarope de milho, 10 de xarope de agave e 30 de mel adulterado), utilizando o algoritmo de amostragem uniforme de Kennard-Stone (KS). As amostras de treinamento foram usadas para construir os modelos discriminantes, enquanto as amostras de teste foram utilizadas exclusivamente para a avaliação final dos dados e comparação dos modelos.

A sensibilidade e a especificidade foram determinadas considerando as amostras de mel puro como a classe-alvo. A sensibilidade foi calculada como o número de decisões positivas corretas dividido pelo total de casos positivos, enquanto a especificidade corresponde ao número de decisões negativas corretas dividido pelo total de casos negativos.

A acurácia é determinada pelo número total de classificações corretas dividido pelo número total de amostras nos conjuntos de treinamento ou teste (Gomes *et al*., 2022).

Para quantificar o teor de adulteração do mel com açúcares, o conjunto de dados de mel adulterado foi dividido em 74 amostras de calibração e 30 amostras de predição. As 58 amostras de mel puro foram utilizadas exclusivamente para o cálculo do limite de detecção (LOD), que foi determinado pela equação:

$$LOD = 3,3\,x\left(\frac{\sigma y}{S}\right) \quad (7)$$

onde σ_y sigma representa o desvio padrão da resposta e *S* corresponde ao coeficiente angular da curva de calibração. Modelos PLS, SPA-MLR e iSPA-PLS (divididos em 5, 10, 15 e 20 intervalos) foram construídos e validados via validação cruzada *leave-one-out*. Os procedimentos para determinar o número ideal de variáveis latentes e selecionar variáveis individuais são descritos detalhadamente por Vallese *et al*. (2024).

O desempenho dos modelos validados foi avaliado por meio do erro quadrático médio da validação cruzada (RMSECV) e do coeficiente de correlação (rcv). A capacidade preditiva dos modelos foi analisada com base no erro quadrático médio da predição (RMSEP), no coeficiente de correlação da predição (rpred), no erro relativo de predição (REP) e na razão de desempenho para desvio (RPD).

Por fim, o teste da região elíptica de confiança conjunta (EJCR) foi aplicado para avaliar e comparar a acurácia dos modelos. Esse teste baseia-se no ajuste por mínimos quadrados ordinários (OLS), comparando o intercepto estimado (*a*) e o coeficiente angular (*b*) com os valores ideais de 0 e 1 (Gomes *et al*., 2022).

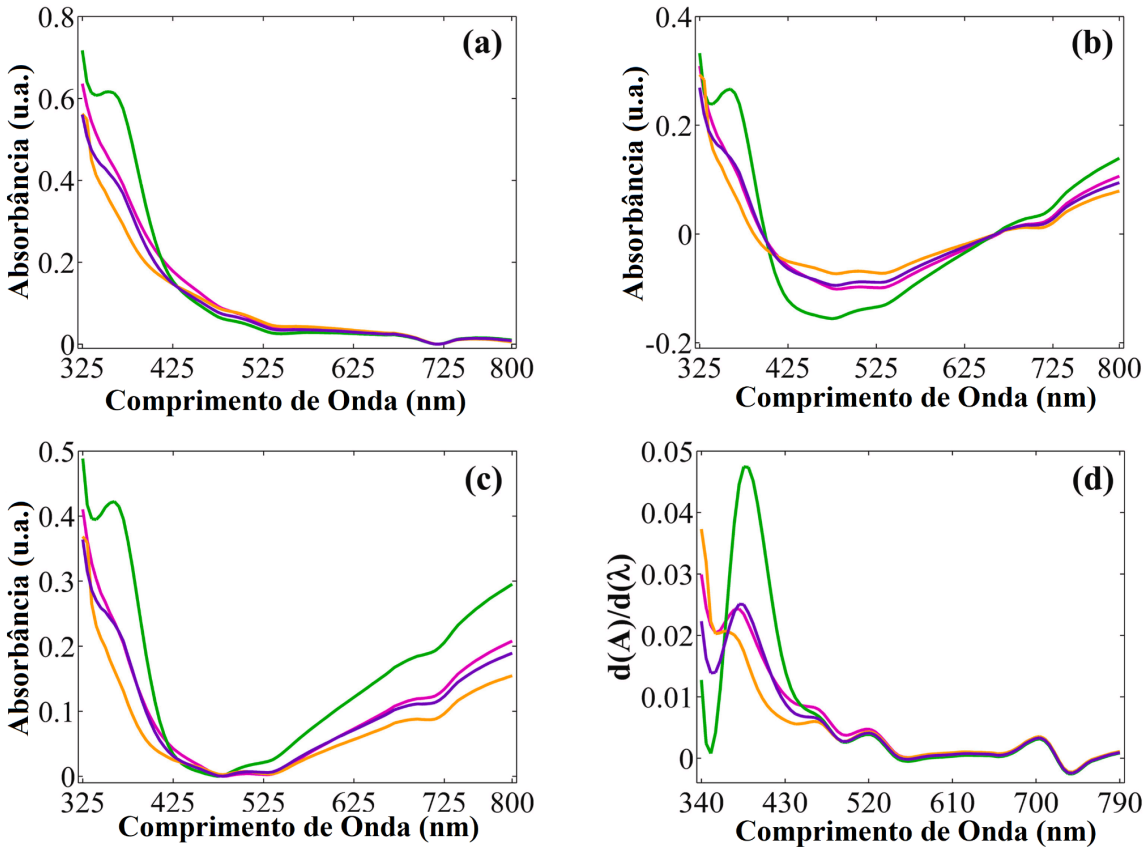
Os métodos PCA e KS foram implementados utilizando rotinas desenvolvidas no Matlab. Todos os procedimentos quimiométricos foram realizados no software Matlab® 2019a (Mathworks Inc.).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análise exploratória

A **Figura 5** ilustra os espectros médios de UV–Vis do mel puro (linha laranja), xarope de milho (linha verde), xarope de agave (linha magenta) e mel adulterado (linha roxa) após pré-processamento com OFF (**Figura 5a**), LBC (**Figura 5b**), OFF + LBC (**Figura 5c**) e SGD (**Figura 5d**). Como observado, os perfis espectrais médios do mel puro, dos adulterantes e do mel adulterado são bastante semelhantes quanto ao formato das bandas.

Figura 5 - Espectros médios de UV-Vis do mel puro (▬), xarope de milho (▬), xarope de agave (▬) e mel adulterado (▬) pré-processados com (a) correção de deslocamento (OFF), (b) correção linear da linha de base (LBC), (c) OFF + LBC e (d) suavização da primeira derivada de Savitzky-Golay com um polinômio de segunda ordem e janela de 7 pontos (SGD).



Fonte: Elaborada pelo autor, 2025.

No entanto, os espectros dos adulterantes apresentam intensidades mais elevadas na região do ultravioleta, especialmente para o xarope de milho. As fortes absorções nessa região

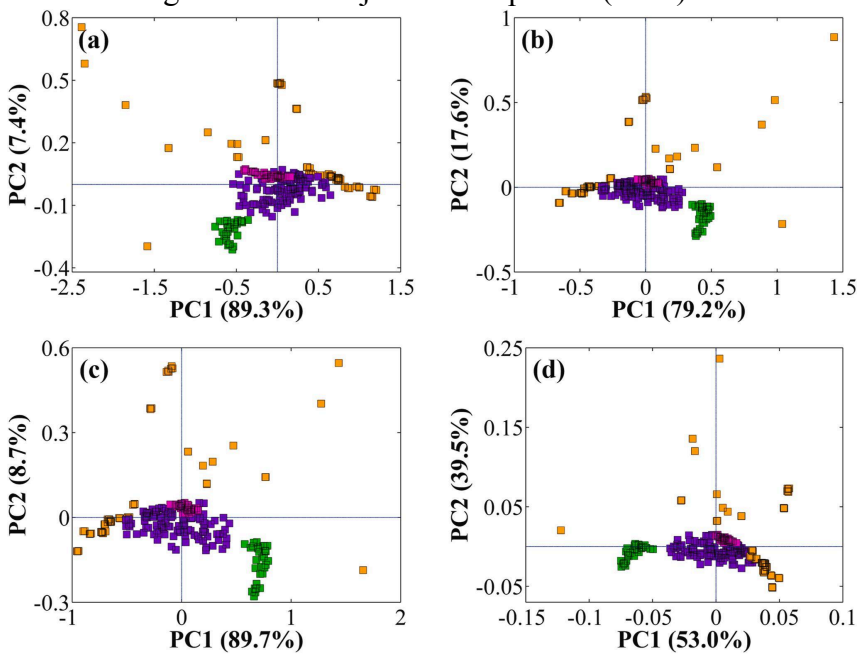
ocorrem principalmente devido à presença de açúcares, principalmente glicose e frutose, cujas estruturas químicas possuem pares de elétrons não compartilhados dos átomos de oxigênio, responsáveis pelas transições $n \rightarrow \pi^*$ (Dimakopoulou-Papazoglou *et al*., 2023; Souza; Fernandes; Diniz, 2021).

Para destacar as informações contidas nos espectros, a **Figura 5d** apresenta os espectros UV–Vis pré-processados com suavização pela primeira derivada de Savitzky-Golay. Nota-se que, na região do ultravioleta, a banda de absorção máxima do mel puro (linha laranja) é muito menos intensa do que as bandas do xarope de agave (linha magenta) e do xarope de milho (linha verde), respectivamente, enquanto o mel adulterado (linha roxa) inclui características espectrais de todos os demais.

Além disso, as posições das bandas de absorção máxima do xarope de agave (linha magenta) e do xarope de milho (linha verde) estão ligeiramente deslocadas para comprimentos de onda maiores em comparação com o mel puro (linha laranja).

Apesar dessas inspeções visuais favoráveis dos espectros médios, devido à presença de múltiplas espécies absorventes nos espectros das 222 amostras, especialmente nas 104 amostras adulteradas com diferentes tipos e lotes de xaropes, observa-se uma sobreposição relativa entre as classes estudadas. Isso pode ser claramente visualizado nos gráficos de escores da PCA obtidos para OFF (**Figura 6a**), LBC (**Figura 6b**), OFF + LBC (**Figura 6c**) e SGD (**Figura 6d**). Como esperado, as amostras de xarope de milho (quadrado verde) e de xarope de agave (quadrado magenta) apresentam baixa dispersão intraclasse, provavelmente devido ao seu processo de padronização industrial.

Figura 6 - Gráficos de escores da PCA das amostras de mel puro (■), xarope de milho (■), xarope de agave (■) e mel adulterado (■) utilizando espectros de UV-Vis pré-processados com (a) correção de deslocamento (OFF), (b) correção linear da linha de base (LBC), (c) OFF + LBC e (d) suavização da primeira derivada de Savitzky-Golay com um polinômio de segunda ordem e janela de 7 pontos (SGD).



Fonte: Elaborada pelo autor, 2025.

Por outro lado, as 58 amostras de mel (quadrado laranja) são amplamente dispersas devido às suas diferentes origens botânicas e geográficas. No entanto, quando adulteradas com xarope de milho e xarope de agave (quadrado roxo), formam uma classe mais coesa, embora com alguma sobreposição com as amostras de mel puro e de xarope de agave. Somente a classe do xarope de milho (quadrado verde) é distintamente separada das demais, o que já havia sido observado na inspeção visual dos espectros na **Figura 5**. Como a PCA não apresentou boas tendências para o agrupamento das amostras de mel puro, foram empregados métodos discriminantes supervisionados para identificar tanto os adulterantes quanto as amostras de mel adulterado, conforme discutido na próxima seção.

5.2 Análise discriminante

A **Tabela 1** apresenta os melhores resultados de classificação obtidos para a discriminação de amostras de mel puro, xarope de milho, xarope de agave e mel adulterado, utilizando espectroscopia UV–Vis associada aos métodos PLS-DA, SPA-LDA e iSPA-LDA.

Os resultados completos para esses três métodos discriminantes, utilizando todas as técnicas de pré-processamento, podem ser encontrados na **Tabela S1**, no apêndice A.

Tabela 1 - Melhores resultados de classificação obtidos para discriminar amostras de mel puro, xarope de milho, xarope de agave e mel adulterado usando espectroscopia UV-Vis e métodos discriminantes.

	Conjunto de Treinamento				Conjunto de Teste			
	MP	**XM**	**XA**	**MA**	**MP**	**XM**	**XA**	**MA**
PLS-DA/OFF+LBC								
Mel Puro (MP)	38	-	-	-	20	-	-	-
Xarope de Milho (XM)	-	20	-	-	-	10	-	-
Xarope de Agave (XA)	-	-	20	-	-	-	10	-
Mel Adulterado(MA)	2	-	-	72	1	-	-	29
Variáveis Latentes	7							
Sensibilidade (%)	100				100			
Especificidade (%)	98,2				98,0			
Acurácia (%)	98,7				98,6			
SPA-LDA/OFF								
Mel Puro (MP)	34	1	1	2	19	-	-	1
Xarope de Milho (XM)	-	20	-	-	-	10	-	-
Xarope de Agave (XA)	-	-	20	-	-	-	10	-
Mel Adulterado(MA)	4	1	6	63	-	-	3	27
Variáveis Latentes[a]	7							
Sensibilidade (%)	89,5				95,0			
Especificidade (%)	96,5				94,0			
Acurácia (%)	90,1				94,3			
iSPA-PLS-DA/SGD								
Mel Puro (MP)	37	-	1	-	20	-	-	-
Xarope de Milho (XM)	-	20	-	-	-	10	-	-
Xarope de Agave (XA)	-	-	20	-	-	-	10	-
Mel Adulterado(MA)	1	-	-	73	-	-	-	30
Variáveis Latentes[a]	6 (15/5)[b]							
Sensibilidade (%)	97,4				100			
Especificidade (%)	99,1				100			
Acurácia (%)	98,7				100			

[a]O número de variáveis latentes em modelos baseados em PLS-DA ou variáveis selecionadas em modelos SPA-LDA; [b] O número de intervalos selecionados usados para a construção do modelo iSPA-PLS-DA é indicado entre parênteses (iSPA-PLS-DA (15/5) significa que 5 dos 15 intervalos foram selecionados pelo algoritmo).

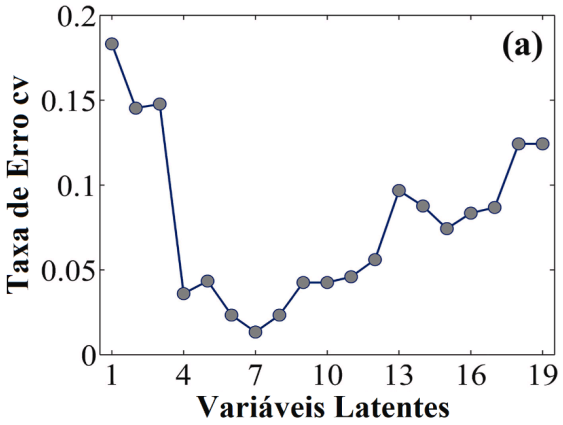
Fonte: Elaborada pelo autor, 2025.

Vale ressaltar que todas as amostras de xarope de milho e xarope de agave foram classificadas corretamente nos conjuntos de treinamento e teste, independentemente da técnica de pré-processamento utilizada. De fato, enquanto o mel natural puro passa por um processamento mínimo realizado pelas abelhas, incluindo atividade enzimática e desidratação, os xaropes de milho e agave são obtidos por rigorosos processos industriais. O xarope de milho é produzido a partir do amido de milho por meio de hidrólise enzimática e purificação, enquanto o xarope de agave é obtido pela extração e processamento da seiva da planta de agave.

Em termos de composição química, o xarope de milho é constituído principalmente por glicose e frutose em estado livre ou não ligado, enquanto o xarope de agave é composto principalmente por frutose, mas também contém glicose. Por outro lado, apesar de possuir cerca de 75% de monossacarídeos (principalmente glicose e frutose), 10%–15% de dissacarídeos e outros açúcares em pequenas quantidades, o mel natural puro contém menos frutose em comparação com os xaropes de milho e agave. Além disso, a composição de açúcares no mel varia dependendo das fontes florais, da origem geográfica, do clima e das condições de armazenamento (González-Montemayor *et al*., 2019).

O modelo PLS-DA, utilizando OFF + LBC como pré-processamento, classificou corretamente todas as amostras de mel puro (ou seja, 100% de sensibilidade) nos conjuntos de treinamento e teste, empregando 7 variáveis latentes (**Figura 7a**). Por outro lado, 2 e 1 amostra de mel adulterado foram classificadas erroneamente como mel puro nos conjuntos de treinamento e teste, respectivamente. Isso representa especificidades de 98,2% e 98,0%, e precisões de 98,7% e 98,6% nos conjuntos de treinamento e teste, respectivamente.

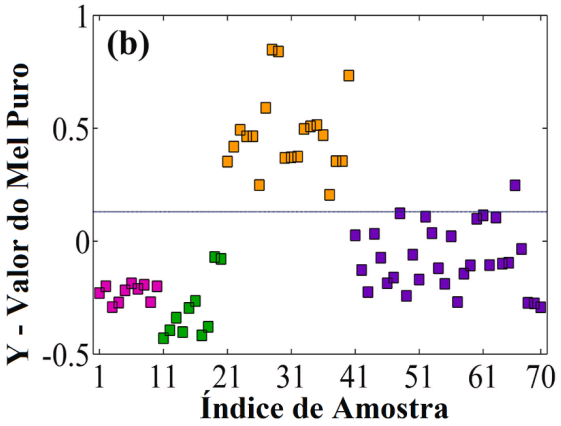
Figura 7 - Número de variáveis latentes selecionadas no modelo PLS-DA/OFF + LBC.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2025.

Para ilustrar a capacidade preditiva deste modelo, a **Figura 8** apresenta o gráfico de resposta obtido por PLS-DA/OFF + LBC para a classe de mel puro, exibindo a amostra de mel adulterado classificada erroneamente como mel puro no conjunto de teste.

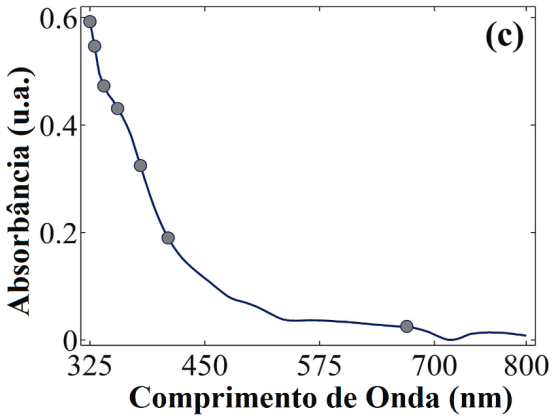
Figura 8 - Gráfico de resposta dos melhores resultados da classificação entre mel puro (■), xarope de milho (■), xarope de agave (■) e mel adulterado (■) usando os espectros UV-Vis do modelo PLS-DA/OFF + LBC.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2025.

No caso do SPA-LDA, todos os modelos forneceram resultados de classificação inferiores aos demais modelos discriminantes, independentemente do pré-processamento utilizado. Apesar disso, o melhor resultado foi obtido ao selecionar apenas 7 variáveis individuais no espectro UV-Vis pré-processado com OFF (**Figura 9**).

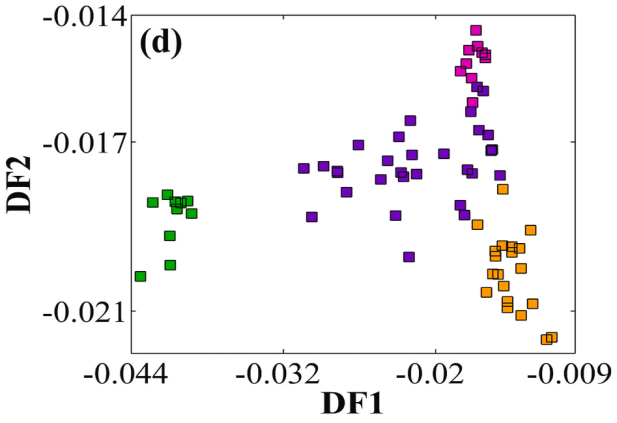
Figura 9 - Número de variáveis individuais selecionadas no modelo SPA-LDA/OFF + LBC.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2025.

Esse modelo apresentou 4 e 11 classificações incorretas para as classes de mel puro e mel adulterado no conjunto de treinamento, respectivamente, resultando em uma sensibilidade de 89,5% e uma especificidade de 96,5%, com uma acurácia de 90,1%. Por outro lado, sua capacidade preditiva atingiu uma sensibilidade de 95,0%, especificidade de 94,0% e acurácia de 94,3%, com apenas 1 amostra de mel puro classificada erroneamente como adulterada e 3 amostras adulteradas classificadas como xarope de agave, conforme visualizado na **Figura 10**.

Figura 10 - Gráfico de resposta dos melhores resultados da classificação entre mel puro (■), xarope de milho (■), xarope de agave (■) e mel adulterado (■) usando os espectros UV-Vis do modelo SPA-LDA/OFF + LBC.



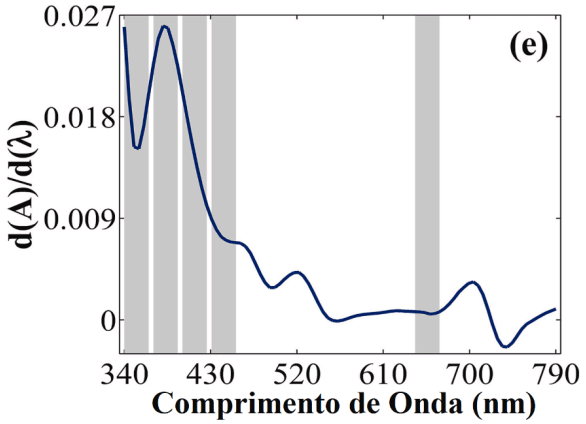
Fonte: Elaborada pelo autor, 2025.

A abordagem SPA-LDA apresentou um desempenho inferior ao PLS-DA, principalmente devido à proximidade entre os limiares das classes. Nesses cenários, o

PLS-DA oferece uma vantagem distinta, pois utiliza uma função multiobjetivo que otimiza simultaneamente a especificidade e a sensibilidade durante a seleção das variáveis latentes, em contraste com o SPA-LDA, que se baseia exclusivamente na acurácia. Essa otimização permite uma delimitação mais precisa das fronteiras entre as classes, contribuindo para o desempenho superior do modelo PLS-DA neste estudo.

Por fim, o modelo iSPA-PLS-DA alcançou o melhor desempenho entre todos os modelos discriminantes ao utilizar os espectros derivados (SGD). Nesse caso, a seleção de intervalos pelo SPA aprimorou os resultados do PLS-DA, reduzindo o número ótimo de variáveis latentes para 6 e selecionando 5 dos 15 intervalos disponíveis (**Figura 11**).

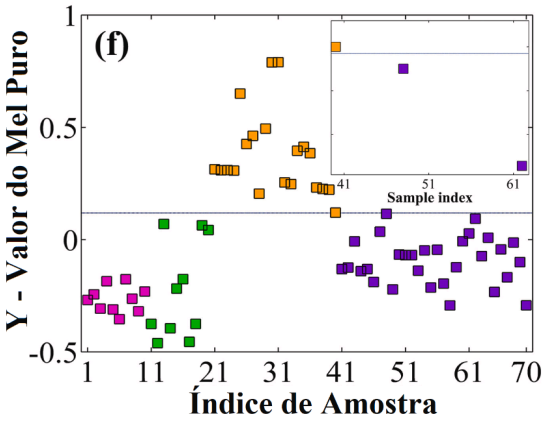
Figura 11 - Número de intervalos selecionados no modelo iSPA-PLS-DA/SGD.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2025.

No conjunto de treinamento, apenas 1 amostra de mel puro foi erroneamente classificada como xarope de agave, e 1 amostra adulterada foi classificada como mel puro, resultando em uma sensibilidade de 97,4%, especificidade de 99,1% e acurácia de 98,7%. Além disso, todas as amostras do conjunto de teste foram corretamente classificadas em suas respectivas classes, atingindo 100% de sensibilidade, especificidade e acurácia, conforme ilustrado na **Figura 12**.

Figura 12 - Gráfico de resposta dos melhores resultados da classificação entre mel puro (■), xarope de milho (■), xarope de agave (■) e mel adulterado (■) usando os espectros UV-Vis do modelo iSPA-PLS-DA/SGD.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2025.

Embora o iSPA-PLS-DA tenha selecionado intervalos provenientes das mesmas regiões das variáveis individuais escolhidas pelo SPA-LDA, o que evidencia a robustez do SPA como método determinístico, o iSPA-PLS-DA se diferencia por aprimorar a robustez e a interpretabilidade do modelo por meio de uma abordagem de otimização.

Entretanto, como os espectros típicos de UV-Vis apresentam bandas amplas e pouco definidas, a correlação entre variáveis vizinhas é elevada. Isso justifica a obtenção de melhores resultados por meio da seleção de intervalos mais informativos e com mínima multicolinearidade, eliminando, simultaneamente, variáveis redundantes (Gomes et al., 2022).

Com relação à literatura, a **Tabela 2** resume os estudos mais recentes que empregam técnicas de reconhecimento de padrões para identificação de adulteração no mel. É importante destacar que quase metade desses estudos utiliza apenas Análise de Componentes Principais (PCA) (Martinello et al., 2022; Cagliani; Maestri; Consonni, 2022; Hao et al., 2022; Robert; Birech; Kaniu, 2023; Nunes et al., 2024). Essa é uma técnica não supervisionada, adequada para análise exploratória, mas não para confirmação de adulteração.

Tabela 2 - Comparação dos trabalhos mais recentes que empregam técnicas de reconhecimento de padrões para identificar adulteração à base de açúcar no mel.

Técnica Analítica	Solvente	Técnica de reconhecimento de padrões	Análise qualitativa (conjunto de teste)			Referência
			Sensibilidade	Especificidade	Acurácia	
HPLC-UV	Metanol	PLS-DA	100%	100%	100%	Egido, Saurina, Sentellas, & Núñez, 2024
LC-HRMS	Acetonitrile / Água	PCA	NF	NF	NF	Martinello, Stella, Baggio, Biancotto, & Mutinelli, 2022
Espectroscopia Raman	Sem solvente	PCA	NF	NF	NF	Robert, Birech, & Kaniu, 2023
Espectroscopia NMR	Água deuterada	PCA	NF	NF	NF	Cagliani, Maestri, & Consonni, 2022
Espectroscopia de impedância combinada com NMR	Tampão de fosfato deuterado	PCA	NF	NF	NF	Hao, Yuan, Cui, Yuan, Zhang, & Xuan, 2022
DSC	Sem solvente	PLS-DA	NF	NF	27,5%	Dranca, Ropciuc, Pauliuc, Oroian, 2022
Espectroscopia MIR	Sem solvente	SVM	81,3%	94,2%	90,1%	Ciursă, Pauliuc, Dranca, Ropciuc, & Oroian, 2021
Espectroscopia Vis-NIR	Sem solvente	LDA	100%	100%	100%	Aliaño-González, Ferreiro-González, Espada-Bellido, Palma, & Barbero, 2019
Espectroscopia UV-Vis	Água	PCA	NF	NF	NF	Nunes, Azevedo, Santos, Lima, Moura, & Maraschin, 2023
Espectroscopia UV-Vis	Metanol/ clorofórmio	NN and RF	NF	NF	NF	Mitra, Karmakar, Nandi, & Gupta, 2023
Espectroscopia UV-Vis	Água	DD-SIMCA	97,4%	93,8%	93,3%	Dimakopoulou-Papazoglou et al., 2023
Espectroscopia UV-Vis	Água	DD-SIMCA	100%	100%	100%	Souza, Fernandes, & Diniz, 2021
Espectroscopia UV-Vis	Água	iSPA-PLS-DA	100%	100%	100%	Este trabalho

NF: não fornecido; HPLC-UV: cromatografia líquida de alta eficiência com detecção UV; LC-HRMS: cromatografia líquida de alta resolução acoplada à espectrometria de massa de alta resolução; RMN: ressonância magnética nuclear; DSC: calorimetria diferencial de varredura; Vis-NIR: espectroscopia visível-infravermelho próximo; UV-Vis: ultravioleta-visível; PCA: análise de componentes principais; PLS-DA: análise discriminante de mínimos quadrados parciais; iSPA-PLS-DA: Algoritmo de Projeções Sucessivas para seleção de intervalos em PLS-DA; SVM: máquina de vetor de suporte; LDA: análise discriminante linear; NN: rede neural; RF: floresta aleatória; DD-SIMCA: modelagem independente de classe baseada em dados.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2025.

Dois outros estudos, apesar de empregarem técnicas supervisionadas, como Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA) (Dranca *et al*., 2022) e Redes Neurais (NN) e Florestas Aleatórias (RF) (Mitra *et al*., 2023), não apresentaram as principais métricas de desempenho comumente avaliadas para essa finalidade.

Por outro lado, o presente estudo obteve uma taxa de classificação correta de 100% para a identificação de adulterações no mel, alinhando-se a outros trabalhos que envolvem Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detecção UV (HPLC-UV) (Egido *et al*., 2024), espectroscopia Vis-NIR (Aliano-González *et al*., 2019) e espectroscopia UV-Vis (Souza; Fernandes; Diniz, 2021).

5.3 Análise quantitativa

A **Tabela 3** apresenta os melhores resultados obtidos pelos modelos PLS, SPA-MLR e iSPA-PLS para a determinação do teor de adulteração no mel, utilizando espectros UV-Vis e diferentes técnicas de pré-processamento. Os resultados completos para todas as técnicas de pré-processamento podem ser encontrados na **Tabela S2** no apêndice B.

Tabela 3 - Melhores resultados obtidos pelos diferentes modelos de calibração multivariada para a determinação do teor de adulteração no mel utilizando os espectros UV-Vis pré-processados com a suavização de primeira derivada de Savitzky-Golay, com polinômio de segunda ordem e janela de 7 pontos.

Algoritmo de regressão	Variáveis Latentes	Variáveis selecionadas[a]	RMSECV (mg g^{-1})	r_{cv}	RMSEP (mg g^{-1})	r_{pred}	RPD	REP (%)	LOD
PLS	6	-	3,75	0,99	4,63	0,95	3,23	7,15	10,72
SPA-MLR	-	13	3,49	0,99	5,14	0,94	2,91	7,95	7,93
*i*SPA-PLS	6	20/10	3,45	0,99	3,81	0,97	3,93	5,89	7,02

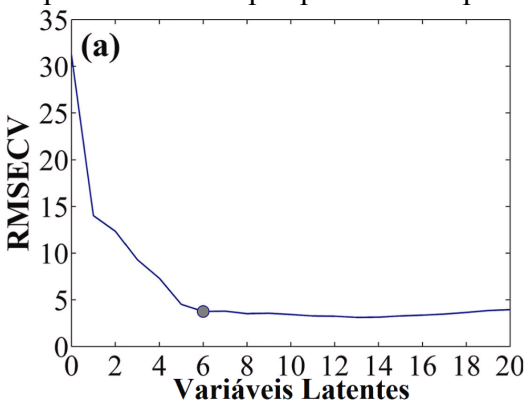
[a] Número de variáveis individuais selecionadas pelo SPA-MLR e número de intervalos selecionados pelo iSPA-PLS (por exemplo, 20/10 significa que 10 dos 20 intervalos foram selecionados pelo algoritmo SPA).

Fonte: Elaborada pelo autor, 2025.

Independentemente do modelo de calibração multivariada, a primeira derivada com suavização de Savitzky-Golay, utilizando um polinômio de segunda ordem e uma janela de 7 pontos (SGD), sempre forneceu os melhores resultados. Em todos os casos, os valores de RMSECV e RMSEP foram consistentemente muito baixos (>6 mg g^{-1}), enquanto os coeficientes de correlação para a validação cruzada e predição foram superiores a 0,94.

Para o modelo PLS/SGD, obteve-se uma boa capacidade preditiva, atingindo um RPD de 3,23, REP de 7,15% e LOD de 10,72%, utilizando 6 variáveis latentes (**Figura 13**).

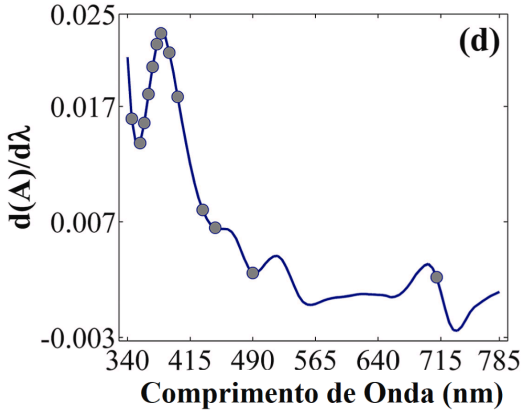
Figura 13 - Número ótimo de variáveis latentes selecionadas no modelo PLS com espectros UV-Vis pré-processados por Savitzky-Golay.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2025.

Por outro lado, embora tenha apresentado um leve decréscimo no desempenho em comparação com o modelo PLS/SGD, o modelo SPA-MLR/SGD obteve um melhor LOD de 7,93%, selecionando apenas 13 variáveis individuais (**Figura 14**).

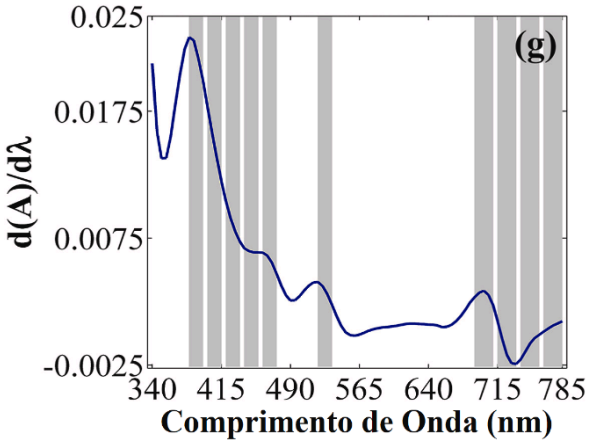
Figura 14 - Variáveis individuais selecionadas no modelo SPA-MLR com espectros UV-Vis pré-processados por Savitzky-Golay.



Fonte: Elaborada pelo autor, 2025.

Sem dúvida, o modelo iSPA-PLS/SGD demonstrou a melhor capacidade preditiva entre todos os modelos gerados, selecionando 10 de 20 intervalos (**Figura 15**). Nesse caso, os valores mais altos de rpred e RPD (0,97 e 3,93, respectivamente), juntamente com os menores valores de RMSEP, REP e LOD (3,81 mg g^{-1}, 5,89% e 7,02%, respectivamente), foram obtidos. Novamente, o iSPA-PLS selecionou intervalos nas mesmas regiões onde o SPA-LDA selecionou a maioria das variáveis individuais, demonstrando sua robustez.

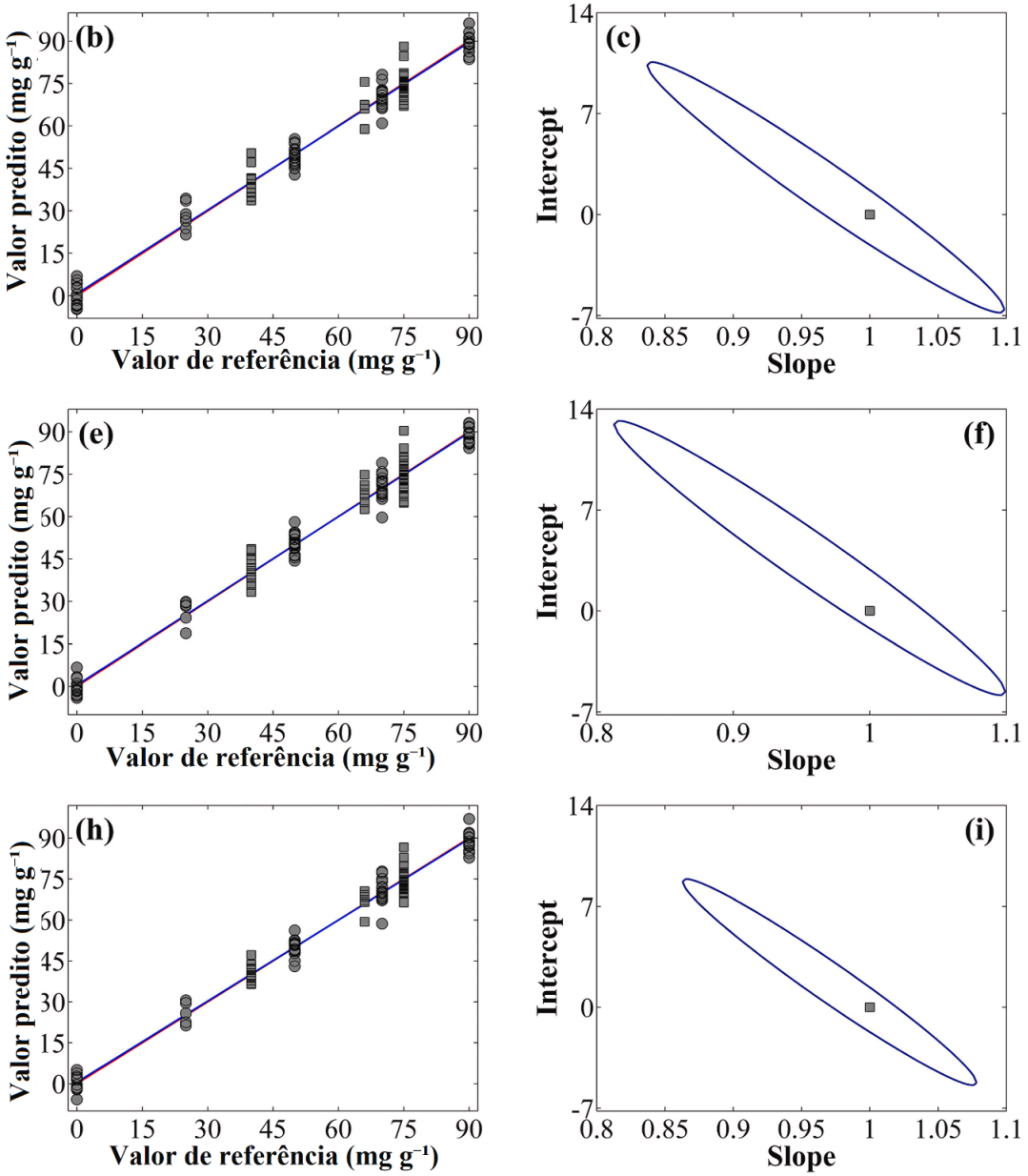
Figura 15 - O número selecionado de intervalos no iSPA-PLS é mostrado em (g).



Fonte: Elaborada pelo autor, 2025.

Para comparação, as **Figuras 16b, 16e** e **16h** mostram tanto as amostras de calibração (círculos cinza) quanto as de predição (quadrados cinza) projetadas pelos modelos PLS/SGD, SPA-MLR/SGD e iSPA-PLS/SGD, distribuídas aleatoriamente em ambos os lados da linha bissetriz. Além disso, sua boa capacidade preditiva é corroborada pelo teste EJCR, onde suas respectivas elipses contêm o ponto teórico ideal (**Figuras 16c, 16f** e **16i**), indicando a ausência de erro sistemático. No entanto, vale destacar que o modelo iSPA-PLS/SGD apresentou a menor elipse de confiança, representando a melhor acurácia.

Figura 16(b, c, e, f, h, i) - Os respectivos gráficos de valores preditos versus referência são apresentados em (**b, e, h**), exibindo tanto as amostras de calibração (●) quanto as de previsão (■), juntamente com as respectivas elipses de confiança, incluindo os pontos ideais teóricos em (**c, f, i**).



Fonte: Elaborada pelo autor, 2025.

Portanto, o modelo iSPA-PLS/SGD pode ser definido como a melhor abordagem para quantificar o teor de adulteração em amostras de mel.

Com base na literatura (ver **Tabela 4**), poucos estudos foram relatados empregando técnicas de calibração multivariada para a quantificação da adulteração do mel pela adição de xaropes de açúcar (Egido *et al*., 2024; Cagliani; Maestri; Consonni, 2022; Dranca *et al*., 2022; Aliano-González *et al*., 2019).

Tabela 4 - Comparação dos trabalhos mais recentes que empregam técnicas de calibração multivariada para quantificar a adulteração de mel com base em açúcar.

Técnica analítica	Solvente	Técnica de regressão	Análise quantitativa (conjunto de teste)					Referência
			RMSEP	r or R^2	REP	RPD	LOD	
HPLC-UV	Metanol	PLS	NP	NP	9,5-19,7%	NP	NP	Egido, Saurina, Sentellas, & Núñez, 2024
Espectroscopia de RMN	Água deuterada	OPLS	NP	NP	NP	NP	NP	Cagliani, Maestri, & Consonni, 2022
DSC	Sem solvente	PLS	6,51	0.19	NP	NP	NP	Dranca, Ropciuc, Pauliuc, & Oroian, 2022
Espectroscopia Vis-NIR	Sem solvente	PLS	3,89	NP	4,58%	NP	NP	Aliaño-González, Ferreiro-González, Espada-Bellido, Palma, & Barbero, 2019
Espectroscopia UV-Vis	Água	iSPA-PLS	3,81 mg g^{-1}	0.97	5,89%	3,93	7,02 mg g^{-1}	Este trabalho

NP: não fornecido; HPLC-UV: cromatografia líquida de alta performance com detecção UV; NMR: ressonância magnética nuclear; DSC: calorimetria diferencial de varredura; Vis-NIR: visível-infravermelho próximo; UV-Vis: ultravioleta-visível; PLS: mínimos quadrados parciais; OPLS: projeção ortogonal em estruturas latentes; iSPA-PLS-DA: Algoritmo de Projeções Sucessivas para seleção de intervalo em PLS; RMSEP: erro quadrático médio da previsão; r: coeficiente de correlação; R^2: coeficiente de determinação; REP: erro relativo da previsão; RPD: razão desempenho para desvio; LOD: limite de detecção.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2025.

É extremamente importante mencionar a ausência de apresentação de métricas fundamentais para a avaliação do desempenho dos modelos de regressão multivariada em todos esses estudos. Neste trabalho, destaca-se o limite de detecção (LOD) de apenas 7,02 mg g^{-1}. Esse valor é comparável a outros estudos relevantes que utilizam técnicas cromatográficas e combinadas, os quais quantificaram diferentes moléculas marcadoras para adulteração do mel por adição de açúcar, empregando procedimentos de calibração univariada, com LOD ou limite de quantificação (LOQ) entre 5% e 10% (Martinello et al., 2022; Du *et al*., 2015; Morales, Corzo, Sanz, 2008; Ruiz-Matute *et al*., 2007).

Nesse contexto, o estudo de Martinello et al. (2022) merece destaque, pois identificou um metabólito da molécula $C_{25}H_{28}O_{11}$ com um valor de m/z de 515,1444, apontado como um marcador promissor para a detecção da adulteração do mel utilizando LC-HRMS, com um LOQ em torno de 5%. Assim, o presente estudo apresenta alto potencial para ser empregado como uma estratégia simples, rápida, econômica e ecologicamente correta na determinação da adulteração do mel por adição de xaropes de açúcar. Além disso, está alinhado aos princípios da Química Analítica Branca (WAC, do inglês *White Analytical Chemistry*), uma extensão e

complemento da Química Analítica Verde (GAC, do inglês *Green Analytical Chemistry*), que integra as perspectivas de eficiência analítica (vermelho), respeito ambiental e segurança (verde) e viabilidade prática e econômica (azul) (Nowak; Wietecha-Posłuszny; Pawliszyn, 2021).

6 CONCLUSÃO

Embora diversos estudos na literatura utilizem uma variedade de métodos analíticos, incluindo técnicas espectroscópicas, térmicas, cromatográficas e hifenadas para detectar adulteração emergente de mel com açúcares, ainda há uma lacuna significativa na padronização da apresentação dos resultados, especialmente quando técnicas quimiométricas estão envolvidas. A ausência de métricas fundamentais de desempenho para classificação e calibração multivariada dificulta a comparação de métodos, o desenvolvimento de protocolos e o estabelecimento de legislação específica para rastreabilidade e monitoramento da adulteração do mel.

Este estudo aborda essas questões ao demonstrar, pela primeira vez, a viabilidade da espectroscopia UV-Vis acoplada à quimiometria para detectar e quantificar a adulteração do mel com xaropes de milho e de agave. O método envolve uma preparação simples das amostras, exigindo apenas a diluição do mel puro, dos xaropes e das amostras adulteradas em água. Foram otimizados pré-processamentos, incluindo a suavização pela primeira derivada de Savitzky-Golay, e a seleção de intervalos por meio do algoritmo SPA nos modelos PLS-DA e PLS. O modelo iSPA-PLS-DA classificou corretamente todas as amostras de teste (ou seja, 100% de sensibilidade, especificidade e acurácia), selecionando 5 de 15 intervalos, enquanto o modelo iSPA-PLS obteve os menores valores de REP e LOD, apenas 5,89% e 7,02 mg g^{-1}, respectivamente, selecionando 10 de 20 intervalos. Esses resultados confirmam que a metodologia proposta é simples, rápida, econômica e ecologicamente correta, sendo adequada para implementação em laboratórios de análise de rotina. O método está alinhado com os princípios da Química Analítica Branca e Verde, fornecendo métricas rastreáveis e confiáveis para análises qualitativas e quantitativas.

No entanto, algumas limitações devem ser abordadas para possibilitar a escalabilidade em ambientes industriais. Embora o método seja direto e rápido, adaptações são necessárias para processar volumes maiores de amostras e integrar tecnologias avançadas de automação para ambientes de alta produtividade. Além disso, é essencial realizar uma validação rigorosa da transferência de calibração entre diferentes instrumentos e condições ambientais, garantindo robustez, reprodutibilidade e aplicabilidade ampliada. Também é importante destacar que o modelo atual de classificação binária não foi projetado para detectar adulterantes completamente desconhecidos. No entanto, ele representa um passo fundamental para o desenvolvimento de modelos mais abrangentes. A incorporação de adulterantes adicionais e o uso de estratégias multivariadas avançadas, como classificação de uma única

classe ou modelagem quimiométrica de ordem superior, podem aprimorar significativamente a robustez, versatilidade e generalização do método.

Apesar desses desafios, a metodologia proposta representa uma alternativa promissora para o desenvolvimento de protocolos padronizados na análise da adulteração do mel. Ao abordar lacunas existentes e demonstrar uma abordagem sustentável, confiável e eficiente, este estudo contribui para o avanço do controle de qualidade do mel e está alinhado com os esforços globais para garantir a autenticidade e segurança dos alimentos.

REFERÊNCIAS

ABDEL-AAL, E.; ZIENA, H.; YOUSSEF, M. Adulteration of honey with high-fructose corn syrup: Detection by different methods. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 48, n. 2, p. 209-212, 1993.

ABDIMAHAD, K. et al. Assessment of Post-Harvest Handling Practices of Honey in Erer Zone, Somali Regional State, Ethiopia. **American Journal of Aquaculture and Animal Science**, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.54536/ajaas.v2i2.1827. Acesso em: 12 ago. 2025.

ADAMCHUK, L.; SILONOVA, N.; SUKHENKO, V.; PYLYPKO, K. Regulatory standards of honey safety and quality. **Animal Science Journal**, [s. l.], v. 11, p. 5-18, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.31548/ANIMAL2020.04.005. Acesso em: 7 jul. 2025.

ALIANO-GONZALEZ, M. J. et al. A screening method based on Visible-NIR spectroscopy for the identification and quantification of different adulterants in high-quality honey. **Talanta**, v. 203, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.05.067. Acesso em: 12 ago. 2025.

ANGUEBES-FRANSESCHI, F.; et al. Detection of honey adulteration using Raman spectroscopy and chemometrics. **Food Control**, [s. l.], v. 98, p. 370-376, 2019.

BERTELLI, D.; LOLLI, M.; PAPOTTI, G.; BORTOLOTTI, L.; SERRA, G.; PLESSI, M. Detection of honey adulteration by sugar syrups using one-dimensional and two-dimensional high-resolution nuclear magnetic resonance. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 58, n. 15, p. 8495-8501, 2010. Disponível em: https://doi.org/10.1021/jf101460t. Acesso em: 7 jul. 2025.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 11, de 20 de outubro de 2000**. Regulamento Técnico de identidade e qualidade do mel. 2000. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/defesa-agropecuaria/copy_of_suasa/regulamentos-tecnicos-de-identidade-e-qualidade-de-produtos-de-origem-animal-1/IN11de2000.pdf. Acesso em: 24 ago. 2024.

BRERETON, R. G. **Chemometrics**: data analysis for the laboratory and chemical plant. Chichester: Wiley, 2003.

BURNS, D. A.; CIURCZAK, E. W. **Handbook of near-infrared analysis**. 3. ed. Boca Raton: CRC Press, 2007.

CAGLIANI, L. R.; MAESTRI, G.; CONSONNI, R. Detection and evaluation of saccharide adulteration in Italian honey by NMR spectroscopy. **Food Control**, v. 133, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108574. Acesso em: 12 ago. 2025.

CASTRO-MUNOZ, R. et al. Natural sweeteners: sources, extraction and current uses in foods and food industries. **Food Chemistry**, v. 370, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130991. Acesso em: 12 ago. 2025.

CIURŠA, P. et al. Detection of honey adulterated with agave, corn, inverted sugar, maple and rice syrups using FTIR analysis. **Food Control**, v. 130, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108266. Acesso em: 12 ago. 2025.

CLEMENS, R. A. et al. Functionality of sugars in foods and health. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, p. 433-470, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1111/1541-4337.12194. Acesso em: 12 ago. 2025.

CODEX ALIMENTARIUS. **Standard for Honey CXS 12-1981**. Adopted in 1981. Revisado em 1987, 2001. Emendado em 2019, 2022. Roma: FAO, 2022.

CORDELLA, C. B. Y. et al. Honey Characterization and Adulteration Detection by Pattern Recognition Applied on HPAEC-PAD Profiles. 1. Honey Floral Species Characterization. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, n. 11, p. 3234-3242, 2003.

DA SILVA, P.; et al. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 196, p. 309-323, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.051. Acesso em: 7 jul. 2025.

DE-MELO, A. A. M. et al. Composition and properties of Apis mellifera honey: A review. **Journal of Apicultural Research**, v. 57, n. 1, p. 5-37, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1338444. Acesso em: 12 ago. 2025.

DIMAKOPOULOU-PAPAZOGLOU, D. et al. Application of UV–Vis spectroscopy for the detection of adulteration in Mediterranean honeys. **European Food Research and Technology**, v. 249, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s00217-023-04347-1. Acesso em: 12 ago. 2025.

DRANCA, F. et al. Honey adulteration detection based on composition and differential scanning calorimetry (DSC) parameters. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, v. 168, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113910. Acesso em: 12 ago. 2025.

DU, B. et al. Rapid screening of multiclass syrup adulterants in honey by ultrahigh-performance liquid chromatography/quadrupole time of flight mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, p. 6614-6623, 2015. Disponível em: https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b01410. Acesso em: 12 ago. 2025.

EBERLY, L. Regressão linear múltipla. In: **Métodos em Biologia Molecular**. v. 404, p. 165-187, 2007. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-1-59745-530-5_9. Acesso em: 12 ago. 2025.

EDWARDS, C. H. et al. The role of sugars and sweeteners in food, diet and health: alternatives for the future. **Trends in Food Science & Technology**, v. 56, p. 158-166, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.07.008. Acesso em: 12 ago. 2025.

EGIDO, C. et al. Honey fraud detection based on sugar syrup adulterations by HPLC-UV fingerprinting and chemometrics. **Food Chemistry**, v. 436, 2024. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137758. Acesso em: 12 ago. 2025.

ESBENSEN, K. H.; SWARBRICK, B. **Multivariate data analysis**: an introduction to multivariate analysis, process analytical technology and quality by design. 6. ed. Oslo: CAMO Software, 2018.

EYER, M.; NEUMANN, P.; DIETEMANN, V. A Look into the Cell: Honey Storage in Honey Bees, Apis mellifera. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 11, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161059. Acesso em: 7 jul. 2025.

FAKHLAEI, R. et al. The toxic impact of honey adulteration: a review. **Foods**, v. 9, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.3390/foods9111538. Acesso em: 12 ago. 2025.

FERREIRA, M. M. C. **Quimiometria: conceitos, métodos e aplicações.** Campinas, SP: Editora da Unicamp, 2015. Disponível em: https://doi.org/10.7476/9788526814714. Acesso em: 1 fev. 2025.

FERREIRO-GONZÁLEZ, M. et al. Quantificação rápida da adulteração do mel por espectroscopia no visível e no infravermelho próximo combinada com quimiometria. **Talanta**, v. 188, p. 288-292, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.05.095. Acesso em: 14 fev. 2025.

FLACH, P. Análise ROC. In: SAMMUT, C.; WEBB, G. I. (Ed.). **Encyclopedia of Machine Learning and Data Mining**. New York: Springer, 2017. p. 1109-1116. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7687-1_739. Acesso em: 12 ago. 2025.

GOMES, A. A. et al. Variable selection in the chemometric treatment of food data: a tutorial review. **Food Chemistry**, v. 370, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131072. Acesso em: 12 ago. 2025.

GOMES, Adriano de Araújo et al. The successive projections algorithm for interval selection in PLS. ***Microchemical Journal***, [S.l.], v. 110, p. 202–208, 2013. DOI: 10.1016/j.microc.2013.03.015.

GONZALEZ-MONTEMAYOR, A. M. et al. Honey and syrups: healthy and natural sweeteners with functional properties. In: GRUMEZESCU, A. M.; HOLBAN, A. M. (Ed.). **Natural Beverages**. Academic Press, 2019, p. 143-177. Disponível em: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816689-5.00006-7. Acesso em: 12 ago. 2025.

GUELLIS, C.; et al. Método não direcionado para detectar adulteração de mel: Combinação de respostas eletroquímicas e espectrofotométricas com análise de componentes principais. **Journal of Food Composition and Analysis**, [s. l.], v. 91, p. 103543, 2020. DOI: 10.1016/j.jfca.2020.103543.

HAOA, S. et al. The rapid detection of acacia honey adulteration by alternating current impedance spectroscopy combined with 1 H NMR profile. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, v. 161, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113377. Acesso em: 12 ago. 2025.

INMETRO. Coordenação Geral de Acreditação. **Orientação sobre validação de métodos analíticos**: documento de caráter orientativo. Rio de Janeiro: INMETRO, jun. 2020. DOQ-CGCRE-008, Revisão 09.

IUPAC. **Compendium of Chemical Terminology – The Gold Book**. [s. l.]: IUPAC, [s.d.]. Disponível em: http://goldbook.iupac.org/CT06948.html. Acesso em: 7 jul. 2025.

LIU, W.; JAMSHIDIAN, M.; ZHANG, Y. Comparação múltipla de vários modelos de regressão linear. **Jornal da Associação Americana de Estatística**, v. 99, p. 395-403, 2004. Disponível em: https://doi.org/10.1198/016214504000000395. Acesso em: 12 ago. 2025.

LIVESEY, G. et al. Glycemic response and health – a systematic review and meta-analysis: relations between dietary glycemic properties and health outcomes. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 87, p. 258S-268S, 2008. Disponível em: https://doi.org/10.1093/ajcn/87.1.258S. Acesso em: 12 ago. 2025.

MARTINELLO, M. et al. LC-HRMS-based non-targeted metabolomics for the assessment of honey adulteration with sugar syrups: a preliminary study. **Metabolites**, v. 12, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.3390/metabo12100985. Acesso em: 12 ago. 2025.

MASSART, D. L.; VANDEGINSTE, B. G. M.; BUYDENS, L. M. C.; DE JONG, S.; LEWI, P. J.; SMEYERS-VERBEKE, J. **Handbook of Chemometrics and Qualimetrics**: Part A. Amsterdam: Elsevier, 1997.

MITRA, P. K. et al. Low-cost rapid workflow for honey adulteration detection by UV–Vis spectroscopy in combination with factorial design, response surface methodology and supervised machine learning classifiers. **Bioresource Technology Reports**, v. 21, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.101327. Acesso em: 12 ago. 2025.

MĂDĂȘ, M.; et al. Labeling regulations and quality control of honey origin: A review. **Food Reviews International**, [s. l.], v. 36, p. 215-240, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1080/87559129.2019.1636063. Acesso em: 7 jul. 2025.

NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Campinas: Editora da Unicamp, 1998.

NIMON, K.; OSWALD, F. Entendendo os resultados da regressão linear múltipla. **Organizational Research Methods**, v. 16, p. 650-674, 2013. Disponível em: https://doi.org/10.1177/1094428113493929. Acesso em: 12 ago. 2025.

NUNES, A. et al. Application of UV–vis spectrophotometry and chemometrics to investigate adulteration by glucose syrup in Brazilian polyfloral honey. **Food and Humanity**, v. 2, 2024. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.foohum.2023.12.002. Acesso em: 12 ago. 2025.

OLIVERI, P.; DUPUY, N.; DEVILLERS, J. **Analytical data treatment and pattern recognition in food authentication and traceability.** Trends in Analytical Chemistry, vferre. 143, p. 116349, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.trac.2021.116349. Acesso em: 4 fev. 2025.

OWEN, T. **Fundamentals of modern UV-visible spectroscopy**: Primer. Waldbronn: Agilent Technologies, 2000. (Publication Number 5980-1397E).

PATACA, L. C. M. **Análises de mel e própolis utilizando métodos quimiométricos de classificação e calibração**. 2006. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2006. Disponível em:

https://repositorio.unicamp.br/Busca/Download?codigoArquivo=505260&tipoMidia=0. Acesso em: 1 fev. 2025.

PAVIA, Donald L. et al. **Introduction to Spectroscopy**. 5. ed. Boston, MA: Cengage Learning, 2015.

RADTKE, J.; LICHTENBERG-KRAAG, B. Long-term changes in naturally produced honey depending on processing and temperature. **Journal of Apicultural Research**, [s. l.], v. 57, p. 615-626, 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1080/00218839.2018.1494893. Acesso em: 7 jul. 2025.

RAZAVI, R.; KENARI, R. E. Ultraviolet–visible spectroscopy combined with machine learning as a rapid detection meth od to the predict adulteration of honey. **Heliyon**, v. 9, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e20973. Acesso em: 12 ago. 2025.

RINNAN, Å.; VAN DEN BERG, F. W. J.; ENGELSEN, S. B. Review of the most common pre-processing techniques for near-infrared spectra. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 28, n. 10, p. 1201–1222, 2009. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.trac.2009.07.007. Acesso em: 12 ago. 2025.

RÍOS-REINA, R.; AZCARATE, S. M. How chemometrics revives the UV-Vis spectroscopy applications as an analytical sensor for spectralprint (nontargeted) analysis. **Chemosensors**, v. 11, n. 8, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.3390/chemosensors11010008. Acesso em: 12 ago. 2025.

ROBERT, I. I. O. et al. Rapid assessment of molasses adulterated honey using laser Raman spectroscopy and Principal Component Analysis. **Food Analytical Methods**, v. 16, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s12161-023-02538-w. Acesso em: 12 ago. 2025.

RUIZ-MATUTE, A.; et al. Uma nova metodologia baseada em GC-MS para detectar adulteração de mel com xaropes comerciais. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 55, n. 18, p. 7264-7269, 2007. Disponível em: https://doi.org/10.1021/JF070559J. Acesso em: 7 jul. 2025.

RUIZ-PEREZ, D.; GUAN, H.; MADHIVANAN, P.; et al. **Então você acha que consegue usar o PLS-DA?** *BMC Bioinformatics*, Londres, v. 21, supl. 1, p. 2, 2020. DOI: https://doi.org/10.1186/s12859-019-3310-7.

SANTOS, F. P.; et al. Application of principal component analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA) in the characterization of honey samples. **Food Analytical Methods**, [s. l.], v. 9, p. 2032-2040, 2016.

SAVITZKY, A.; GOLAY, M. J. E. Smoothing and differentiation of data by simplified least squares procedures. **Analytical Chemistry**, v. 36, n. 8, p. 1627–1639, 1964. Disponível em: https://doi.org/10.1021/ac60214a047. Acesso em: 12 ago. 2025.

SE, R.; et al. Detection and quantification of adulterants in stingless bee honey using FTIR-ATR spectroscopy and chemometrics. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 240, p. 32-39, 2018.

SHRIVASTAVA, A.; GUPTA, V. B. Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. **Chronicles of Young Scientists**, v. 2, n. 1, p.

21–25, 2011. Disponível em: https://doi.org/10.4103/2229-5186.79345. Acesso em: 12 ago. 2025.

SOHAIMY, S.; MASRY, S.; SHEHATA, M. Physicochemical characteristics of honey from different origins. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 60, p. 279-287, 2015. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.aoas.2015.10.015. Acesso em: 7 jul. 2025.

SOUZA, R. R. et al. Honey authentication in terms of its adulteration with sugar syrups using UV–Vis spectroscopy and one-class classifiers. **Food Chemistry**, v. 365, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130467. Acesso em: 12 ago. 2025.

TARAPOULOUZI, M. et al. Monitoring honey composition changes during storage and processing using PCA and LDA. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 71, p. 4532-4541, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c00494. Acesso em: 12 ago. 2025.

TOSUN, M. Detecção de adulteração em amostras de mel adicionadas de vários xaropes de açúcar com o método de análise da razão isotópica 13C/12C. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 138, n. 2-3, p. 1629-1632, 2013. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.068. Acesso em: 7 jul. 2025.

VALLESE, F. D. et al. Exploiting the successive projections algorithm to improve the quantification of chemical constituents and discrimination of botanical origin of Argentinean bee-pollen. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 126, 2024. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105925. Acesso em: 12 ago. 2025.

VAN ESPEN, M. et al. Beekeeping in Europe facing climate change: a mixed methods study on perceived impacts and the need to adapt according to stakeholders and beekeepers. **Science of the Total Environment**, v. 888, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.164255. Acesso em: 12 ago. 2025.

WANG, X.; GHELDOF, N.; ENGESATH, N. Effect of Processing and Storage on Antioxidant Capacity of Honey. **Journal of Food Science**, [s. l.], v. 69, p. 29, 2006. Disponível em: https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb15509.x. Acesso em: 7 jul. 2025.

WILLIAMS, Paul C.; NORRIS, Karl H. **Near-infrared technology in the agricultural and food industries**. 2. ed. St. Paul: American Association of Cereal Chemists, 2001.

YAN, S. et al. A novel, rapid screening technique for sugar syrup adulteration in honey using fluorescence spectroscopy. **Foods**, v. 11, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.3390/foods11152316. Acesso em: 12 ago. 2025.

YAN, S.; SUN, M.; WANG, X.; SHAN, J.; XUE, X. A novel, rapid screening technique for sugar syrup adulteration in honey using fluorescence spectroscopy. **Foods**, [s. l.], v. 11, p. 2316, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.3390/foods11152316. Acesso em: 7 jul. 2025.

ZDINIAKOVA, T. et al. **EU coordinated action to deter certain fraudulent practices in the honey sector**. Luxemburgo: Publications Office of the European Union, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.2760/184511. Acesso em: 12 ago. 2025.

ZHANG, X.-H. et al. A comprehensive review of the current trends and recent advancements on the authenticity of honey. **Food Chemistry: X**, v. 19, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100850. Acesso em: 12 ago. 2025.

ZULUAGA, C. D.; DÍAZ, C.; QUICAZÁN, M. C. Quimiometría aplicada a la diferenciación por origen floral y geográfico de mieles colombianas. **Alimentos Hoy**, [s. l.], v. 19, n. 27, p. 7-12, 2010. Disponível em: https://alimentoshoy.acta.org.co/index.php/hoy/article/view/15. Acesso em: 3 fev. 2025.

APÊNDICE A - DESEMPENHO DOS MODELOS DISCRIMINANTES COM ESPECTROS UV-VIS

Tabela S1 - Resultados de classificação obtidos por PLS-DA, SPA-LDA e iSPA-PLS-DA para discriminar amostras de mel puro, xarope de milho, xarope de agave e mel adulterado utilizando diferentes espectros UV-Vis pré-processados.

Pré-processamento de dados		PLS-DA								SPA-LDA								*i*SPA-PLS-DA							
		Treinamento				Teste				Treinamento				Teste				Treinamento				Teste			
		MP	XM	XA	MA	MP	XM	XA	MA	MP	XM	XA	MA	MP	XM	XA	MA	MP	XM	XA	MA	MP	XM	XA	MA
Linha de Base Offset (OFF) (15/10)[b]	**MP**	20	-	-	-	10	-	-	-	20	-	-	-	10	-	-	-	20	-	-	-	10	-	-	-
	XM	-	20	-	-	-	10	-	-	-	20	-	-	-	10	-	-	-	20	-	-	-	10	-	-
	XA	1	-	37	-	-	-	19	1	1	1	34	2	-	-	19	1	-	-	38	-	-	-	20	-
	MA	-	-	6	68	-	-	1	29	6	1	4	63	3	-	-	27	-	-	4	70	-	-	1	29
Acurácia (%)		(5)[a] 95,4				97,1				(7)[a] 90,1				94,3				(4)[a] 97,4				98,6			
Sensibilidade (%)		97,4				95,0				89,5				95,0				100				100			
Especificidade (%)		94,8				98,0				96,5				100				96,5				98,0			
Correção da linha de Base (LBC) (20/11)[b]	**MP**	20	-	-	-	10	-	-	-	20	-	-	-	10	-	-	-	20	-	-	-	10	-	-	-
	XM	-	20	-	-	-	10	-	-	-	20	-	-	-	10	-	-	-	20	-	-	-	10	-	-
	XA	-	1	36	1	-	-	19	1	2	1	33	2	-	-	19	1	-	-	38	-	-	-	20	-
	MA	1	-	3	70	2	-	-	28	8	1	-	65	5	-	-	25	-	-	3	71	-	-	1	29
Acurácia (%)		(7)[a] 96,0				95,7				(6)[a] 90,8				91,4				(4)[a] 98,0				98,6			
Sensibilidade (%)		94,7				95,0				86,8				95,0				100				100			
Especificidade (%)		97,4				100				100				100				97,4				98,0			
Linha de Base Offset e Correção da Linha de Base (OFF + LBC) (15/4)[b]	**MP**	20	-	-	-	10	-	-	-	20	-	-	-	10	-	-	-	20	-	-	-	10	-	-	-
	XM	-	20	-	-	-	10	-	-	-	20	-	-	-	10	-	-	-	20	-	-	-	10	-	-
	XA	-	-	38	-	-	-	20	-	-	1	36	1	-	-	20	-	1	-	37	-	-	-	20	-
	MA	-	-	2	72	-	-	1	29	7	1	1	65	5	-	1	24	-	-	1	73	-	-	1	29
Acurácia (%)		(7)[a] 98,7				98,6				(9)[a] 92,8				91,4				(4)[a] 98,7				98,6			
Sensibilidade (%)		100				100				94,8				100				97,4				100			
Especificidade (%)		98,2				98,0				99,1				98,0				99,1				98,0			
Derivada de 7 pontos (SGD_7) (15/5)[b]	**MP**	20	-	-	-	10	-	-	-	20	-	-	-	10	-	-	-	20	-	-	-	10	-	-	-
	XM	-	20	-	-	-	10	-	-	-	20	-	-	-	10	-	-	-	20	-	-	-	10	-	-
	XA	-	1	36	1	-	-	19	1	3	1	33	1	-	-	17	3	1	-	37	-	-	-	20	-
	MA	-	-	2	72	-	-	-	30	7	1	1	65	5	-	-	25	-	-	1	73	-	-	-	30
Acurácia (%)		(8)[a] 97,4				98,6				(7)[a] 90,8				88,6				(6)[a] 98,7				100			
Sensibilidade (%)		94,7				95,0				86,8				85,0				97,4				100			
Especificidade (%)		98,3				100				99,1				100				99,1				100			

[a]O número de variáveis latentes ou variáveis selecionadas e [b]o número de intervalos selecionados usados para a construção do modelo são indicados entre parênteses.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2025.

APÊNDICE B - RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE ADULTERAÇÃO NO MEL

Tabela S2 - Resultados obtidos por PLS, SPA-MLR e iSPA-PLS para a determinação do teor de adulteração no mel utilizando diferentes espectros UV-Vis pré-processados.

Algoritmo de regressão	Variáveis latentes	Variáveis selecionadas[a]	RMSECV (mg g^{-1})	r_{cv}	RMSEP (mg g^{-1})	r_{pred}	RPD	REP (%)	LOD
Linha de base Offset (OFF)									
PLS	5	-	4,07	0,99	4,80	0,95	3,11	7,42	10,49
SPA-MLR	-	4	3,91	0,99	4,57	0,95	3,27	7,06	9,55
*i*SPA-PLS	5	10/9	4,07	0,99	4,79	0,95	3,12	7,41	10,55
Correção da linha de Base (LBC)									
PLS	7	-	4,84	0,99	5,50	0,93	2,72	8,51	10,62
SPA-MLR	-	9	5,41	0,98	5,91	0,92	2,53	9,13	17,54
*i*SPA-PLS	7	5/3	4,75	0,99	5,54	0,93	2,70	8,56	10,60
OFF+LBC									
PLS	8	-	4,69	0,99	5,77	0,92	2,59	8,92	9,75
SPA-MLR	-	10	6,27	0,98	6,10	0,91	2,45	9,43	21,05
*i*SPA-PLS	8	5/3	4,44	0,99	5,55	0,93	2,69	8,58	8,27
Suavização Savitzky-Golay de primeira derivada com um polinômio de segunda ordem e tamanho de janela de 7 pontos (SGD)									
PLS	6	-	3,75	0,99	4,63	0,95	3,23	7,15	10,72
SPA-MLR	-	13	3,49	0,99	5,14	0,94	2,91	7,95	7,93
*i*SPA-PLS	6	20/10	3,45	0,99	3,81	0,97	3,93	5,89	7,02

[a]Número de variáveis individuais selecionadas por SPA-MLR e número de intervalos selecionados por iSPA-PLS (por exemplo, 20/10 significa 10 de 20 intervalos selecionados pelo algoritmo SPA).

Fonte: Elaborada pelo autor, 2025.

APÊNDICE C - PRIMEIRA PÁGINA DO ARTIGO PUBLICADO NA REVISTA CHEMOMETRICS AND INTELLIGENT LABORATORY SYSTEMS

Contents lists available at ScienceDirect

Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems

journal homepage: www.elsevier.com/locate/chemometrics

UV–Vis spectralprint-based discrimination and quantification of sugar syrup adulteration in honey using the Successive Projections Algorithm (SPA) for variable selection

Luana Leal de Souza [a], Dâmaris Naara Chaves Candeias [b], Edilene Dantas Telles Moreira [c], Paulo Henrique Gonçalves Dias Diniz [a,b,**], Valeria Haydée Springer [d,***], David Douglas de Sousa Fernandes [a,*]

[a] Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências e Tecnologia, CEP 58429-500, Campina Grande, PB, Brazil
[b] Universidade Federal do Oeste da Bahia, Campus Reitor Edgard Santos, Rua Bertioga, 892, Bairro Morada Nobre I, CEP 47.810-059, Barreiras, BA, Brazil
[c] Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Química e Física, CEP 58397-000, Areia, PB, Brazil
[d] Universidad Nacional del Sur (UNS)-CONICET, Departamento de Química-INQUISUR, Av. Alem 1253, B8000CPB, Bahia Blanca, Buenos Aires, Argentina

ARTICLE INFO

Keywords:
Apis mellifera
Agave tequilana
High fructose sugar syrup
Food fraud
Food authenticity
Multivariate analysis

ABSTRACT

This work developed, for the first time, an improved analytical strategy for discriminating and quantifying honey adulteration by adding corn and agave syrups using the Successive Projections Algorithm (SPA) for variable selection in UV–Vis spectral analysis. Sample preparation involved dilution in water alone for obtaining the spectralprint data. By applying the first derivative Savitzky-Golay smoothing to spectra and interval selection by SPA, the iSPA-PLS-DA algorithm (Partial Least Squares - Discriminant Analysis) correctly classified all test samples (i.e., 100 % sensitivity, specificity, and accuracy) selecting 4 out of 15 intervals. Additionally, the quantification of adulteration honey using the iSPA-PLS algorithm achieved the lowest relative error of prediction (REP) and limit of detection (LOD) values of only 5.89 % and 7.02 mg g^{-1}, respectively, selecting 10 out of 20 intervals. The proposed method aligns with White and Green Analytical Chemistry principles, being simple, quick, affordable, and eco-friendly. It also aids in developing future protocols and legislation for honey quality.

1. Introduction

The production and authenticity of honey face significant challenges due to the persistent global issue of adulteration authenticity [1]. This fact gains prominence due to lower average honey yields and elevated colony winter loss rates experienced as adverse effects from climate change authenticity [2]. According to the *Codex Alimentarius*, honey is a natural sweet substance produced by honeybees, originated from plant nectar or secretions of living plant parts, including excretions from plant-sucking insects. The bees collect, transform, and deposit this mixture in honeycombs to ripen. Primarily consisting of sugars like fructose and glucose, honey also includes organic acids, enzymes, and solid particles from the collection process. The color varies from almost colorless to dark brown, with fluid, viscous, or fully crystallized consistency, while the diverse flavor and aroma of honey reflect its plant origins. As a result, the introduction of both known and unknown additives to honey is strictly prohibited [3]. Despite this, the pervasive issue of honey adulteration persists worldwide, significantly impacting the growth of the honey industry.

Traditional approaches struggle to keep pace with evolving adulteration techniques, emphasizing the need for robust verification methods. Adulterants, including syrups like high-fructose corn syrup, corn syrup, maltose syrup, sucrose syrup, rice syrup, sugarcane molasse, and others, mimic honey composition, complicating their identification. Therefore, ongoing advancements in analytical methodologies are crucial for verifying honey authenticity [1].

The use of pertinent honey standards as a technical benchmark for adulteration practices is commonplace. To assess the honey

* Corresponding author.
** Corresponding author. Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências e Tecnologia, CEP 58429-500, Campina Grande, PB, Brazil.
*** Corresponding author.
E-mail addresses: paulodiniz.quimica@gmail.com, paulo.diniz@ufob.edu.br (P.H.G.D. Diniz), valeria.springer@uns.edu.ar (V.H. Springer), daviddsf013@gmail.com (D.D.S. Fernandes).

https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2024.105314
Received 30 September 2024; Received in revised form 22 December 2024; Accepted 24 December 2024
Available online 26 December 2024
0169-7439/© 2024 Published by Elsevier B.V.