



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

VINÍCIUS AVANZI BARBOSA MASCARELI

**TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS ACOPLADAS A
QUIMIOMETRIA PARA CLASSIFICAÇÃO DE VINAGRES**

Londrina
2022

VINÍCIUS AVANZI BARBOSA MASCARELI

**TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS ACOPLADAS A
QUIMIOMETRIA PARA CLASSIFICAÇÃO DE VINAGRES**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

Orientador: Profa. Dra. Wilma Aparecida Spinosa

Coorientador: Prof. Dr. Diego Galvan

Londrina
2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

MASCARELI, Vinícius Avanzi Barbosa .
TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS ACOPLADAS A QUIMIOMETRIA PARA CLASSIFICAÇÃO DE VINAGRES / Vinícius Avanzi Barbosa MASCARELI. - Londrina, 2022.
97 f.

Orientador: Wilma Aparecida SPINOSA.
Coorientador: Diego GALVAN .
Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2022.
Inclui bibliografia.

1. Quimiometria - Tese. 2. Vinagre - Tese. I. SPINOSA, Wilma Aparecida. II. GALVAN , Diego. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. IV. Título.

CDU 641.1

VINÍCIUS AVANZI BARBOSA MASCARELI

TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS ACOPLADAS A QUIMIOMETRIA PARA CLASSIFICAÇÃO DE VINAGRES

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a. Dr.^a. Wilma Aparecida Spinosa
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Evandro Bona
Universidade Tecnológica Federal do Paraná -
UTFPR

Dr. Yhan da Silva Mutz
Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ

Londrina, 26 de setembro de 2022.

Dedico este trabalho a minha mãe, Rosane. Todo
meu amor a você, daqui até a eternidade

AGRADECIMENTOS

À Prof^ª. Dra. Wilma Aparecida Spinosa, minha orientadora e querida amiga de todas as horas, que acompanhou e me apoiou na realização deste trabalho. Obrigado por todos os momentos, por ser uma pessoa maravilhosa, por acreditar em mim e na ciência.

Ao Prof. Dr. Diego Galvan, meu coorientador, pelo entusiasmo e todo o suporte excepcional dado para a realização desta obra.

Aos professores e educadores que contribuíram com todo o conhecimento durante a minha vida. Vocês sempre foram e serão a minha esperança de um mundo melhor. Em especial aos docentes do DCTA-UEL

A todos que contribuíram com o desenvolvimento do trabalho, em especial, Jelmir, Carini, Giancarlo. Vocês foram peças fundamentais para a realização deste sonho.

Ao laboratório de Análise de Alimentos da UEL, minha segunda casa. Ao Lab ESPEC, Dpto. De Engenharia Elétrica e Dpto. De Ciências e Tecnologia de Alimentos da UEL; e ao NAL da UFRJ por fornecerem estrutura para realização dos experimentos.

A minha mãe, Rosane, minha maior inspiração e melhor amiga. Por nunca ter deixado de acreditar em mim e me apoiado nas minhas decisões. Você é eterna, sinto sua falta!

A minha família, em especial minhas irmãs, Giovana, Flávia e Kimberly. Meu pai, Elio e minha avó, Neiva. Minha mãe de Londrina, Patrícia. Por todo o amor e apoio.

A minhas amigas do laboratório, Viviane e Rebeca por todos os momentos compartilhados no dia a dia!

A todos meus amigos por serem uma família para mim.

Ao CNPq, pela bolsa de estudos concedida.

A todos que de certa maneira estiveram presentes e contribuíram com esta etapa da minha vida.

“As I leave this earth and sail into the infinite cosmo of the universe, the wars, the triumphs, the beauty, and the bloodshed, the ocean of human endeavor, it all grows quiet, insignificant. I'm nothing more than recycled stardust and borrowed energy, born from a rock, spinning in the ether. I watch my life backwards and forwards and I feel free. Nothing is real, love is everything, and I know nothing.”

Sebert, K., R.

RESUMO

MASCARELI, Vinícius Avanzi Barbosa. **Técnicas espectroscópicas acopladas a quimiometria para classificação de vinagres**. 2022. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Ciências e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2022.

O vinagre é um produto versátil usado de diversas maneiras, para preservação de alimentos, culinária, saúde e limpeza. Neste estudo, 80 vinagres de diferentes matérias-primas (vinagre de fruta ou de álcool), tempo de envelhecimento (1 a 5 anos de envelhecimento ou 6 a 16 anos), e pela primeira vez, pelo método agrônômico de cultivo da matéria-prima (orgânico ou convencional) foram classificados por quatro técnicas de impressão espectral com quimiometria. Os conjuntos de dados foram obtidos através de ressonância magnética nuclear de prótons (^1H RMN), infravermelho médio por transformada de Fourier (FT-IR), infravermelho próximo (NIR) e espectroscopia de absorção no ultravioleta-visível (UV-VIS); em seguida, pré tratados e por fim avaliados por análise de dimensão comum (ComDim) e análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA). A técnica de RMN acoplada ao PLS-DA teve o melhor desempenho de predição em relação às outras técnicas, com valores de precisão entre 92,3-100%, seguida por FT-IR e UV-VIS de 80,8-96,0% e NIR de 69,2-84,0%. Os resultados indicaram que a classificação do vinagre de acordo com o método agrônômico de cultivo é mais complexa do que as classificações por tempo de envelhecimento ou da matéria-prima. No entanto, qualquer uma dessas técnicas de impressão espectral demonstraram que podem ser utilizadas na classificação do vinagre, contribuindo com material inédito para a literatura e dando indícios da sua futura aplicabilidade para detecção de fraude em vinagres de diferentes tipos.

Palavras-chave: *fingerprint*; técnica espectroscópica; análise multivariada; controle de qualidade; ComDim; produto orgânico; envelhecimento; fermentado de fruta.

ABSTRACT

MASCARELI, Vinícius Avanzi Barbosa. **Spectroscopic techniques coupled with chemometrics tools for vinegar classification**. 2022. Dissertation (Master's in Food Science) – Center for Agricultural Sciences, Department of Food Science and Technology, State University of Londrina, Londrina, 2022.

Vinegar is a versatile product used in many ways for food preservation, cooking, healthcare, and cleaning. In this study, 80 vinegar of different raw materials, aging time, and for the first time by the agronomic method of raw material cultivation were classified by four spectralprint techniques with chemometric. Datasets were obtained by proton nuclear magnetic resonance (^1H NMR), Fourier transforms mid-infrared (FT-IR), near-infrared (NIR), and ultraviolet-visible (UV-VIS); pre-treated and then evaluated by common dimension analysis (ComDim) and partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA). NMR with PLS-DA had the best prediction performance compared to other techniques, with accuracy values between 92.3-100%, followed by FT-IR and UV-VIS of 80.8-96.0% and NIR of 69.2-84.0%. The results indicated that the classification of vinegar according to the agronomic cultivation method is more complex than aging time or raw material classifications. However, any of these spectralprint techniques have demonstrated that they can be used in the classification of vinegar, contributing with unreleased material to the literature and giving indications of future applicability for the detection of fraud in vinegars of different types.

Keywords: fingerprint; spectroscopic technique; multivariate analysis; quality control; ComDim; organic product; aging; fruit fermented.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- Figura 1.** Fluxograma do processo produtivo simplificado do vinagre32
- Figura 2.** Funcionamento esquemático do módulo ATR para o FTIR43
- Figura 3.** Bandas analíticas, Regiões de sobretons e combinações mais aparentes na absorção infravermelha45

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

- Figure 1** - Mean spectra for the different classes of vinegar obtained by **(i)** NMR, **(ii)** FT-IR, **(iii)** NIR, and **(iv)** UV-VIS. Defined as: conventional aged (6-16 years) alcohol vinegar (**C-I-A**), conventional aged (6-16 years) fruit vinegar (**C-I-F**), conventional aged (1-5 years) alcohol vinegar (**C-II-A**), conventional aged (1-5 years) fruit vinegar (**C-II-F**), organic aged (6-16 years) alcohol vinegar (**O-I-A**), organic aged (6-16 years) fruit vinegar (**O-I-F**), organic aged (1-5 years) alcohol vinegar (**O-II-A**), organic aged (1-5 years) fruit vinegar (**O-II-F**). 68
- Figure 2** - Score plot for the first four CDs obtained by ComDim from the NMR, FT-IR, NIR, and UV-VIS spectra for the agronomic method of cultivation (**top**), aging time (**center**), and type of raw material (**bottom**). Where: organic (**O**), conventional (**C**), aged for 6-16 years (**I**), 1-5 years (**II**), fruit (**F**), and alcohol (**A**). 72
- Figure 3** - Matthews correlation coefficient (MCC) values of the test set for PLS-DA models according to the agronomic production method (left), aging time (middle), and the type of raw material (right). 77
- Figure 4** - Variable importance projection (VIP) scores for the classification by agronomic method of raw material cultivation (**left**), by aging time (**middle**), and types of raw material (**right**) for ¹H NMR, FT-IR, NIR, and UV-VIS. 82

LISTA DE QUADROS

CAPÍTULO 1

Quadro 1. Parâmetros dos fermentados acéticos no Brasil	34
--	----

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Table 1 - Saliences of each analytical technique for each common dimension..... 70

Table 2 - Performance of the best PLS-DA classification models for each proposed approach
..... 74

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	22
2. OBJETIVO.....	24
2.1. Objetivo Geral.....	24
2.2. Objetivos Específicos.....	24
3. REFERÊNCIAS.....	26

CAPÍTULO 1:

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	30
1.1 VINAGRE	30
1.1.1 Qualidade e Classificação dos Vinagres no Brasil e sua Composição	33
1.1.2 Legislação.....	34
1.2 VINAGRES ORGÂNICOS	35
1.3 VINAGRES ENVELHECIDOS.....	36
1.4 AUTENTICAÇÃO EM ALIMENTOS	37
1.4.1 Fraude em Vinagres.....	38
1.5 MÉTODOS ANALÍTICOS PARA AUTENTICAÇÃO DE ALIMENTOS	39
1.5.1 Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	40
1.5.2 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)	42
1.5.3 Espectroscopia de Absorção UV-Vis	43
1.5.4 Espectroscopia no Infravermelho Próximo (NIR).....	44
1.6 QUIMIOMETRIA.....	46
1.6.1 Análise por Dimensões Comuns (ComDim).....	47
1.6.2 Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA).....	48

2. REFERÊNCIAS.....	51
CAPÍTULO 2:	
Artigo - Spectralprint techniques coupled with chemometric tools for vinegar classifications.....	58
RESUMO.....	59
1. INTRODUÇÃO.....	60
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	61
2.1. AMOSTRAS DE VINAGRES.....	61
2.2. INSTRUMENTAÇÃO.....	62
2.2.1. ¹ H-RMN.....	62
2.2.2. FTIR-ATR.....	63
2.2.3. UV-Vis.....	63
2.2.4. FT-NIR.....	64
2.3. QUIMIOMETRIA.....	64
2.3.1. Pré-tratamento dos Espectros.....	64
2.3.2. ComDim.....	65
2.3.3. Seleção das Amostras.....	65
2.3.4. PLS-DA.....	66
2.3.5. Performance dos Modelos.....	67
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	67
3.1. ATRIBUIÇÃO VISUAL DOS ESPECTROS.....	67
3.2. ANÁLISES MULTIBLOCOS.....	70
3.3. CLASSIFICAÇÃO SUPERVISIONADA.....	73
4. CONCLUSÃO.....	83
5. AGRADECIMENTOS.....	83

6. REFERÊNCIAS.....	84
MATERIAL SUPLEMENTAR.....	90
CONCLUSÃO GERAL.....	97

1. INTRODUÇÃO GERAL

O vinagre é reconhecido oficialmente por ser um fermentado acético obtido a partir da matéria-prima rica em açúcares fermentescíveis ou amido. Este produto possui em sua formulação química como principais componentes o ácido etanóico, popularmente conhecido como ácido acético e a água, além de outras espécies químicas bioativas dependendo de sua matéria-prima de origem (BEKATOROU, 2019).

Por mais de 3 mil anos o vinagre vem sendo utilizado pela civilização para diversos fins, dentre eles, a conservação de alimentos, culinária em geral, limpeza, cuidados com a saúde, entre outros. A produção do vinagre foi popularizada principalmente através de dois métodos, o método Orleans marcado pela produção lenta, e o método submerso caracterizado por ser um processo rápido com alto rendimento (BEKATOROU, 2019).

A qualidade e o preço do vinagre estão vinculados aos compostos contidos ao final da produção, originados da matéria-prima, de etapas específicas do processo produtivo ou até processo pós-produtivo, como o envelhecimento do produto. Por exemplo, o vinagre de Shanxi conhecido e amplamente utilizado na Ásia, possui alto valor agregado devido ao processo específico de maturação que resulta em características únicas do produto, e ao apelo de indicação geográfica protegida (IGP), que designa produtos fortemente ligados a uma determinada região geográfica, em pelo menos umas das etapas de produção, transformação ou elaboração (NIE et al., 2019)

Ou então vinagres de produção orgânica, feito apenas de matéria-prima de origem orgânica, que de acordo com a legislação brasileira sob supervisão do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, são produtos que in natura ou processados, foram obtidos de um sistema orgânico de produção agropecuária ou provindo de processo extrativista sustentável e não prejudicial ao ecossistema local, demonstrando-se muito atrativos para quem busca seguir uma alimentação com uma dieta mais saudável e sustentável (BRASIL, 2009). Esses fatores, por agregarem valor ao produto, estão ligados diretamente a questões de autenticação dos vinagres e a abertura a prática de fraude (ŠTORNÍK; SKOK; TRČEK, 2016).

Por incentivo econômico, a prática de fraude pode ser aplicada de diversos modos dentro da indústria vinagreira, desde a alteração da composição química original, até a divulgação de informação falsa. Tais práticas tem por consequência a desvalorização comercial, e das características dos produtos autênticos e com alto padrão de qualidade (CAVDAROGLU;

OZEN, 2022; CONSONNI et al., 2008; PAPOTTI et al., 2015; SÁIZ-ABAJO; GONZÁLES-SÁIZ; PIZARRO, 2004).

No Brasil, a alteração da composição química por adição de açúcares ao suco de fruta, para produção de vinagres de fruta com alto rendimento do teor de ácido acético, demonstra-se mais recorrente (BRASIL, 2020). Na tentativa de conter a ocorrência dessa prática, o MAPA realizou alterações as Instruções Normativas (IN) nº 6 de 3 de abril de 2012 e nº 34 de 29 de novembro de 2012 que regem as diretrizes do Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ) de bebidas fermentadas no Brasil (BRASIL, 2012a).

Através da publicação da Instrução Normativa nº 16, de 19 de março de 2020, foi descrita a proibição do uso de açúcar na elaboração do fermentado de fruta utilizado como matéria-prima para a produção de fermentado acético de fruta (BRASIL, 2020). A integridade da autenticação dos vinagres, exige um grande desafio, uma vez que os parâmetros atualmente exigidos pela legislação vigente, estão mais focados em garantir um padrão químico baseado em concentrações de componentes indicadas pelo MAPA, ao invés da preservação da identidade de um produto genuíno e de qualidade.

Abordando este cenário, a autenticidade dos produtos alimentícios, incluindo os vinagres, tem se tornado uma preocupação para os produtores do mercado de alimentos, considerando tanto o viés econômico como também legislativo e de qualidade (CAVDAROGLU; OZEN, 2022).

Assim, surge o interesse na realização de pesquisas com finalidade de desenvolver, promover e fomentar técnicas analíticas rápidas e precisas para pautar e fornecer suporte a autenticação e detecção de fraude em alimentos, possibilitando além da confirmação da fraude, dados históricos e o conhecimento para reduzir a vulnerabilidade à fraude (CAVDAROGLU; OZEN, 2022).

A utilização de adulterantes no geral, e principalmente os não monitorados e pouco usuais, abrem caminho para o desenvolvimento de pesquisas que utilizam de técnicas não direcionadas, para detalhar a matriz alimentar. Esse detalhamento é dado através da construção de uma impressão digital dos alimentos, em inglês, o termo popularizado como *fingerprint* da amostra, ou então *spectralprint*, referente a casos dos quais as técnicas não direcionadas possuem métodos baseados em espectroscopia, como por exemplo o infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), a ressonância magnética nuclear (RMN), entre outros (BOFFO et al., 2009; GALVIN-KING et al., 2019; KAZAZIĆ et al., 2021; RÍOS-REINA et al., 2021)

As técnicas espectroscópicas no geral demonstram rapidez, exatidão e

precisão elevadas, além de requerer um preparo simples da amostra, deixando de lado a utilização de reagentes químicos e evitando a formação de resíduos. Por outro lado, por gerar um grande volume de dados de alta complexidade, as técnicas espectroscópicas muitas vezes deixam escapar informações importantes se analisadas manualmente (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2006; FERREIRA, 2015).

Sabendo da dificuldade da interpretação de dados complexos e volumosos, tem-se a necessidade da utilização de ferramentas computacionais para sua interpretação. Como um exemplo dessas ferramentas, destaca-se a quimiometria (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2006; FERREIRA, 2015).

A quimiometria tem grande relevância dentro da área da química analítica, contribuindo na redução da dimensionalidade de dados, agrupamento das variáveis e no processamento dos resultados obtidos. Além disso, é aplicável ao planejamento estatísticos de experimentos com a finalidade minimizar o número de ensaios e consequentemente o impacto ambiental gerado durante o processo (FERREIRA, 2015; KALINOWSKA; BYSTRZANOWSKA; TOBISZEWSKI, 2021).

Dentre suas utilidades, destaca-se o reconhecimento de padrões, transformando-os em respostas analíticas para a autenticação de amostras e até reconhecimento de origem geográfica ou fraude (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2006; FERREIRA, 2015)

Diante desse contexto de autenticação em vinagres, aliado ao interesse em combater futuramente os problemas relacionados a fraude, além da importância da valorização do vinagre como um produto em potencial no mercado brasileiro, este trabalho propõe-se a estudar a viabilidade de análises espectroscópicas rápidas, não direcionadas, na obtenção do spectralprint para diferenciação de produtos orgânicos e convencionais (não orgânicos) em vinagres de diferentes matérias-primas comercializados no Brasil.

Junto ao objetivo de abrir caminhos para estudos de diferenciação por tipos botânicos, tempo de envelhecimento e modo de produção orgânica e convencional. Além disso, busca-se o enriquecimento da literatura a respeito da obtenção de informações atuais em relação a qualidade e autenticação de vinagres.

2. OBJETIVO

2.1. Objetivo Geral

Explorar a susceptibilidade da classificação entre as amostras de vinagres por diferentes categorias: método agrônômico de produção da matéria-prima (Orgânica ou Convencional), tempo de envelhecimento (Tipo I, de 6 a 16 anos e Tipo II, de 1 a 5 anos de envelhecimento) e por tipo de matéria-prima (Fruta ou Álcool), através da utilização de técnicas instrumentais rápidas de Espectroscopia (Espectroscopia de absorção no UV-Vis, no Infravermelho por Transformada de Fourier, Infravermelho Próximo e Ressonância Magnética Nuclear) em conjunto de ferramentas quimiométricas não supervisionadas e supervisionadas (ComDim e PLS-DA).

2.2. Objetivos Específicos

- Evidenciar qual tipo de pré-processamento é mais adequado a cada técnica instrumental.
- Investigar qual técnica espectroscópica se sobressai em relação a classificação dos vinagres através da análise multiblocos.
- Fornecer material atualizado e inédito em relação a classificação de vinagres, para contribuição futura em estudos de combate a fraude.
- Avaliar a contribuição espectral de cada técnica para a construção dos modelos de PLS-DA.

3. REFERÊNCIAS

BARROS NETO, Benício De; SCARMINIO, Ieda S.; BRUNS, Roy E. 25 anos de quimiometria no Brasil. **Química Nova**, [S. l.], v. 29, n. 6, p. 1401–1406, 2006. DOI: 10.1590/S0100-40422006000600042. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422006000600042&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt.

BEKATOROU, Argyro. **Advances in Vinegar Production**. [s.l.] : CRC Press, 2019. DOI: 10.1201/9781351208475. Disponível em: <https://www.taylorfrancis.com/books/9781351208468>.

BOFFO, Elisangela F.; TAVARES, Leila A.; FERREIRA, Márcia M. C.; FERREIRA, Antonio G. Classification of Brazilian vinegars according to their 1H NMR spectra by pattern recognition analysis. **LWT - Food Science and Technology**, [S. l.], v. 42, n. 9, p. 1455–1460, 2009. DOI: 10.1016/j.lwt.2009.05.008. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643809001315>.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2009. Instrução Normativa Conjunta nº 17 de 28 de maio de 2009. Aprova as normas técnicas para a obtenção de produtos orgânicos oriundos do extrativismo sustentável orgânico. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, seção 1, 29 mai. 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2012a. Instrução Normativa nº 6, de 3 de abril de 2012. Estabelece os padrões de identidade e qualidade e a classificação dos fermentados acéticos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, seção 1, 4 abr. 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2020. Instrução Normativa nº 16, de 19 de março de 2020. Estabelece a proibição de utilização de açúcar na elaboração do fermentado de fruta que sirva de matéria prima para a produção de fermentado acético de fruta. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, seção 1, n.56, 23 mar. 2020.

CAVDAROGLU, Cagri; OZEN, Banu. Detection of vinegar adulteration with spirit vinegar and acetic acid using UV–visible and Fourier transform infrared spectroscopy. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 379, p. 132150, 2022. DOI: 10.1016/j.foodchem.2022.132150. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030881462200111X>.

CONSONNI, Roberto; CAGLIANI, Laura R.; RINALDINI, Silvia; INCERTI, Antonia. Analytical method for authentication of Traditional Balsamic Vinegar of Modena. **Talanta**,

[*S. l.*], v. 75, n. 3, p. 765–769, 2008. DOI: 10.1016/j.talanta.2007.12.005. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039914007008454>.

FERREIRA, Márcia Miguel Castro. **Quimiometria: conceitos, métodos e aplicações**. [s.l.] : Editora da Unicamp, 2015. DOI: 10.7476/9788526814714. Disponível em: <http://books.scielo.org/id/2nc9y>.

GALVIN-KING, Pamela; HAUGHEY, Simon A.; MONTGOMERY, Holly; ELLIOTT, Christopher T. The Rapid Detection of Sage Adulteration Using Fourier Transform Infra-Red (FTIR) Spectroscopy and Chemometrics. **Journal of AOAC INTERNATIONAL**, [*S. l.*], v. 102, n. 2, p. 354–362, 2019. DOI: 10.5740/jaoacint.18-0341. Disponível em: <https://academic.oup.com/jaoac/article/102/2/354/5658141>.

KALINOWSKA, Kaja; BYSTRZANOWSKA, Marta; TOBISZEWSKI, Marek. Chemometrics approaches to green analytical chemistry procedure development. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, [*S. l.*], v. 30, p. 100498, 2021. DOI: 10.1016/j.cogsc.2021.100498. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2452223621000547>.

KAZAZIĆ, Snježana; GAJDOŠ-KLJUSURIĆ, Jasenka; RADELJEVIĆ, Biljana; PLAVLJANIĆ, Dijana; ŠPOLJARIĆ, Jasminka; LJUBIĆ, Tihana; BILIĆ, Branka; MIKULEC, Nataša. Comparison of GC and NIR spectra as a rapid tool for food fraud detection: Case of butter adulteration with different fat types. **Journal of Food Processing and Preservation**, [*S. l.*], v. 45, n. 9, 2021. DOI: 10.1111/jfpp.15732. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jfpp.15732>.

NIE, Jiahui; LI, Yi; XING, Jie; CHAO, Jianbin; QIN, Xuemei; LI, Zhenyu. Comparison of two types of vinegar with different aging times by NMR-based metabolomic approach. **Journal of Food Biochemistry**, [*S. l.*], v. 43, n. 5, p. e12835, 2019. DOI: 10.1111/jfbc.12835. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jfbc.12835>.

PAPOTTI, Giulia; BERTELLI, Davide; GRAZIOSI, Riccardo; MAIETTI, Annalisa; TEDESCHI, Paola; MARCHETTI, Andrea; PLESSI, Maria. Traditional balsamic vinegar and balsamic vinegar of Modena analyzed by nuclear magnetic resonance spectroscopy coupled with multivariate data analysis. **LWT - Food Science and Technology**, [*S. l.*], v. 60, n. 2, p. 1017–1024, 2015. DOI: 10.1016/j.lwt.2014.10.042. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002364381400677X>.

RÍOS-REINA, Rocío; CAMIÑA, José M.; CALLEJÓN, Raquel M.; AZCARATE, Silvana M. Spectralprint techniques for wine and vinegar characterization, authentication and quality control: Advances and projections. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, [*S. l.*], v. 134, 2021. DOI: 10.1016/j.trac.2020.116121.

SÁIZ-ABAJO, María-José; GONZÁLES-SÁIZ, José-María; PIZARRO, Consuelo. Classification of Wine and Alcohol Vinegar Samples Based on Near-Infrared Spectroscopy. Feasibility Study on the Detection of Adulterated Vinegar Samples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [*S. l.*], v. 52, n. 25, p. 7711–7719, 2004. DOI: 10.1021/jf049098h. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf049098h>.

ŠTORNİK, Aleksandra; SKOK, Barbara; TRČEK, Janja. Comparison of Cultivable Acetic

Acid Bacterial Microbiota between Organic and Conventional Apple Cider Vinegar. **Food Technology and Biotechnology**, [S. l.], v. 54, 2016. DOI: 10.17113/ftb.54.01.16.4082. Disponível em: <http://www.ftb.com.hr/images/pdfarticles/2016/January-March/ftb-54-113.pdf>.

A dissertação apresenta-se na forma de 2 capítulos, descritos abaixo, seguidos da conclusão geral. Sendo o segundo capítulo, o artigo, escrito nas normas na revista **Food Chemistry**, na qual foi submetido.

Capítulo 1:

Revisão Bibliográfica – Vinagre;

Capítulo 2:

Artigo – *Spectralprint* techniques coupled with chemometric tools for vinegar classifications.

CAPÍTULO 1:

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 VINAGRE

Por mais de 3000 mil anos o vinagre vem sendo utilizado pela sociedade para diversas finalidades, sendo as principais delas, condimentação e conservação. Além disso, ao passar dos anos seu consumo está cada vez mais ligado a manutenção da saúde (BEKATOROU, 2019; KAHRAMAN et al., 2021; XIA et al., 2020; ZHANG et al., 2020).

Em termos quantitativos globais, o mercado de vinagres deve expandir sua taxa de crescimento anual em 4,7% e deve atingir cerca de 165 milhões de toneladas até o ano de 2024. Em dados divulgados pela Associação Nacional das Indústrias de Vinagre em 2018, cerca de 0,8 litros de vinagre foram consumidos em média pelos brasileiros por ano, por outro lado, na Europa e nos Estados Unidos da América este valor alcançou a média de 1,8 litros por ano (ANAV, 2022).

Denomina-se vinagre o composto aquoso ácido obtido a partir do processo continuado de duas etapas de fermentação, alcóolica e acética de uma determinada matéria prima que contenha carboidratos, como exemplo, frutas e mel, ricos em açúcares redutores, ou cereais e vegetais fontes de amido (BEKATOROU, 2019; BRASIL 2012a; CAVDAROGLU; OZEN, 2022).

O principal dos parâmetros que define a identidade química do vinagre é a acidez volátil mínima, de acordo com a legislação vigente no Brasil, para ser considerado um vinagre é necessário que possua em sua composição 4 g de ácido acético a cada 100 g do composto (BRASIL, 2012a).

Além do ácido acético, o vinagre possui em sua composição a presença de diversas espécies químicas bioativas, entre elas, açúcares, aminoácidos, ácidos orgânicos, melanoidinas, polifenóis e outras. Essa composição varia devido ao tipo de matéria prima utilizada na obtenção do vinagre e as condições de processamento (KAHRAMAN et al., 2021; OUSAAID et al., 2021).

Em geral, vinagres produzidos de frutas, são atraentes entre os consumidores pois possuem características sensoriais destacadas em relação aos vinagres de álcool, como o

aroma e o sabor, além de apresentarem benefícios a saúde. Ricas em nutrientes, as frutas, podem acabar conferindo ao vinagre algumas propriedades funcionais, como a atividade antioxidante devido à presença dos compostos bioativos e atividade antimicrobiana pelo ácido acético. Dentre os tipos mais populares dos vinagres de fruta, destaca-se a produção e o consumo do vinagre de maçã (KAHRAMAN et al., 2021; OUSAAID et al., 2021).

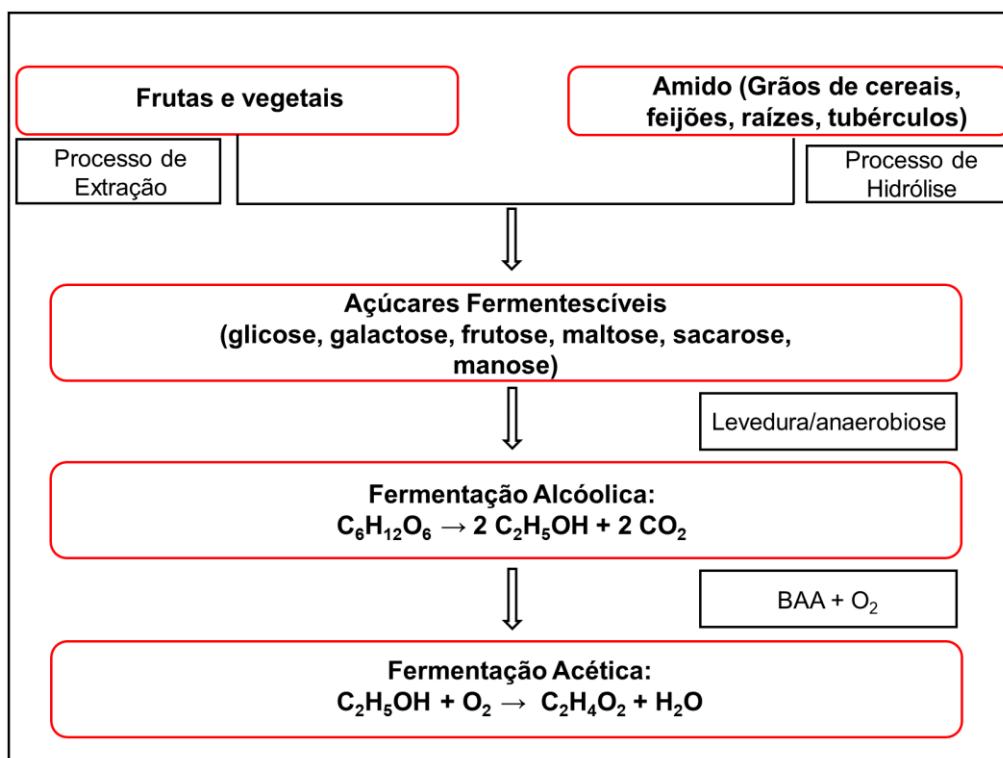
A presença desses compostos bioativos juntamente com o ácido acético, garante que o vinagre mantenha sua qualidade e suas características sensoriais, dentre elas, a mais marcante, a pungência, descrita popularmente como sabor azedo (HUTCHINSON et al., 2019; ROCHA NEVES et al., 2021; XIA et al., 2020).

De maneira simplificada, a produção do vinagre, ocorre em dois processos consecutivos de fermentação, como demonstrado na Figura 1.

O primeiro, deles, a fermentação alcoólica, que conta com a transformação de açúcares em etanol, através da ação de leveduras sob ausência de oxigênio, um exemplo dessas leveduras são as *Saccharomyces cerevisiae* (BEKATOROU, 2019; HESHMATI et al., 2021).

Em seguida, ocorre a fermentação acética, na qual as bactérias do ácido acético (BAA), em presença de oxigênio, convertem o álcool em ácido acético (BEKATOROU, 2019; HESHMATI et al., 2021; HUTCHINSON et al., 2019).

Figura 1. Fluxograma do processo produtivo simplificado do vinagre



Fonte: Adaptado de; (BEKATOROU, 2019)

Atualmente dois métodos de fabricação do vinagre possuem maior popularidade, o método Orleans ou tradicional e o método submerso, sendo que ambos possuem algumas vantagens e desvantagens (BARBOSA et al., 2020a; CHANIVET et al., 2020; LYNCH et al., 2019).

O método Orleans ou tradicional, por exemplo, consiste na produção do vinagre através do crescimento bacteriano na superfície do caldo da matéria-prima. Este tipo de crescimento é favorecido pelo contato direto das bactérias da camada do líquido com o oxigênio presente na atmosfera (BARBOSA et al., 2020a).

Este meio de fabricação fornece aspectos sensoriais muito mais refinados ao produto, por outro lado, exige um tempo de produção maior, podendo levar meses de preparo até alcançar as características desejadas para o produto final (BARBOSA et al., 2020a; CHANIVET et al., 2020).

Por outro lado, o método submerso oferece um processo muito mais rápido e de maior rendimento para a produção do vinagre, entretanto, ocorrem perdas das características aromáticas. Neste método as bactérias encontram-se mergulhadas na solução hidroalcolica e são submetidas a um fornecimento ideal de oxigênio. Por fornecer maior rendimento,

atualmente o método submerso é empregado na produção industrial do produto (LYNCH et al., 2019).

Além disso, para agregar na qualidade sensorial do vinagre, trazendo um aroma e sabor mais acentuado, alguns fabricantes adicionam a etapa de envelhecimento do produto em tonéis de madeira, este processo agrega a formação de ésteres e a concentração de compostos aromáticos que acabam reduzindo a pungência do ácido acético (LI et al., 2021).

1.1.1 Qualidade e Classificação dos Vinagres no Brasil e sua Composição

A qualidade e classificação dos vinagres popularmente está ligada principalmente a parâmetros como aroma e sabor, entretanto existem parâmetros bem específicos que definem um padrão legislativo de qualidade do produto acético. Os vinagres são classificados por tipos, sendo eles, de álcool, fruta, cereal, vegetal, mel, misto (fermentado de mais de uma matéria prima), composto (adicionado de suco de vegetal, fruta ou mel), condimentado, duplo (acidez volátil > 8 g/mL) ou triplo (acidez volátil > 12 g/mL) (BRASIL, 2012a).

A classificação reflete diretamente na composição do produto, com variações de espécies como, ácidos orgânicos voláteis, aldeídos, cetonas, ésteres e outros compostos. Dentre o conteúdo de ácidos orgânicos, destacam-se com maiores concentrações o ácido acético (volátil) e o ácido lático (não volátil). Trabalhos já publicados demonstram que alguns vinagres já apresentaram mais de 200 tipos de espécies químicas (HO et al., 2017; LIU et al., 2019).

Além disso, os vinagres trazem em sua composição alguns compostos bioativos e nutrientes, entre eles; polifenóis, melanoidinas, minerais, vitaminas, aminoácidos e açúcares. Sendo que, a concentração dessas espécies pode variar ao decorrer de transformações bioquímicas e físico-químicas da matéria prima e também do próprio vinagre durante o processo de envelhecimento (XIA et al., 2020; YIKMIŞ et al., 2021).

Em estudo disponível na literatura, no qual, 23 tipos de vinagres foram avaliados, é possível observar que as maiores concentrações de ácidos orgânicos encontravam-se nas amostras de vinagre de vinho branco e vinagre de maçã. Por outro lado, o vinagre Balsâmico de Modena apresentou maior concentração em relação aos compostos fenólicos (LIU et al., 2019).

1.1.2 Legislação

É responsabilidade do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, reger o estabelecimento de padrões de identidade, qualidade e classificação dos fermentados acéticos e do vinagre de vinho. Em território nacional, os parâmetros dos vinagres apresentam variações de acordo com a sua classificação, esses parâmetros estão dispostos no Quadro 1 para fermentados acéticos no geral e na Tabela 2 especificamente para vinagre de vinho (BRASIL, 2012a; BRASIL, 2018).

Quadro 1. Parâmetros dos fermentados acéticos no Brasil

Parâmetros	Álcool		Fruta		Cereal		Vegetal/Mel		Vinho	
	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.
Acidez volátil (g 100mL ⁻¹)	4,00	-	4,00	-	4,00	-	4,00	-	5,00	-
Álcool (%v/v) a 20°C	-	1,00	-	1,00	-	1,00	-	1,00	-	1,00
Cinzas (g L ⁻¹)	-		1,00	5,00	1,00	5,00	1,00	5,00	1,00	-
Extrato seco reduzido (g L ⁻¹)	-		6,00	-	7,00	-	7,00	-	7,00	-
Sulfatos (g L ⁻¹ s. de potássio)	-		-	1,00	-	1,00	-	1,00	-	1,20
Cloretos (g L ⁻¹ c. de sódio)	N.C.		N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	-	1,00
Aspecto	Ausência de elementos estranhos a sua natureza e composição.									
Cheiro	Característico.									
Sabor	Ácido.									
Cor	De acordo com a matéria-prima de origem e composição.									

Fonte: Adaptado de; BRASIL, 2012a; BRASIL, 2018.

Além dos parâmetros físico-químicos existem regulamentações bem claras

como por exemplo sobre a adição de corantes e aromatizantes, tais características passam a ser informadas no rótulo caso haja tal adição, ou então em relação a embalagem do produto, que não deve remeter a embalagens farmacêuticas. Além de outras especificações que delimitam a identidade dos fermentados acéticos (BRASIL, 2018).

1.2 VINAGRES ORGÂNICOS

Atualmente a busca por alimentação e produtos alimentícios mais saudáveis vem sendo cada vez maiores, isto inclui a procura por alimentos orgânicos. Entende-se por alimentos orgânicos aqueles que são produzidos e ou cultivados sem a utilização de defensivos agrícolas sintéticos ou fertilizantes químicos, através de técnicas de produção que respeitam o meio ambiente, a saúde do produtor e do consumidor, visando a manutenção da qualidade do alimento (KUSHWAH et al., 2019).

De acordo com a legislação estabelecida pelo MAPA, produtos orgânicos são aqueles que in natura ou processados, foram obtidos de um sistema orgânico de produção agropecuária ou provindo de processo extrativista sustentável e não prejudicial ao ecossistema local, demonstrando-se muito atrativos para quem busca seguir uma alimentação com uma dieta mais saudável e sustentável (BRASIL, 2009)

A procura e o investimento em fermentados acéticos orgânicos é cada vez maior e isto explica-se devido a características que a matéria prima orgânica podem agregar a produção e ao resultado final do produto (JAIKANG et al., 2019).

Na literatura, foi realizada uma comparação da microbiota bacteriana do fermentado acético de maçã convencional e de origem orgânica, foi possível constatar que a microbiota do vinagre orgânico demonstrou-se mais heterogênea podendo assim influenciar positivamente a composição química e a qualidade sensorial dos vinagres (ŠTORNÍK; SKOK; TRČEK, 2016).

Além disso, há material que indica que o vinagre orgânico de maçã pode beneficiar o controle da Diabetes tipo 2 (MORGAN; MOSAWY, 2016).

Por serem produtos que exigem circunstâncias específicas para produção e cultivo, acabam possuindo um valor de mercado mais alto em comparação com os convencionais, este fator pode abrir caminho para que produtores e fabricantes mal-intencionados não entreguem produtos autênticos, ao vender e anunciar um produto como

orgânico, mesmo não possuindo tal classificação (HONG et al., 2017).

1.3 VINAGRES ENVELHECIDOS

Vinagres envelhecidos são aqueles passaram por um processo de envelhecimento. Este processo de estocagem é caracterizado por estabelecer certas melhorias nas características sensoriais do produto, geralmente equilibrando o sabor pungente com a ascendência de compostos aromáticos (BEKATOROU, 2019; ZHOU et al., 2020).

O processo de envelhecimento pode ocorrer de maneira variada, sua duração vai depender das características desejadas. Geralmente, um maior tempo de envelhecimento está atrelado a melhor qualidade do produto. Como exemplo disso, tem-se o Vinagre Balsâmico Tradicional de Modena, que fica envelhecendo por no mínimo 12 anos (BEKATOROU, 2019).

Durante o envelhecimento os vinagres podem ou não serem estocados em barris de madeira, diversos tipos podem ser empregados para esta etapa, e cada um deles contribuirá de um jeito diferente nas características do vinagre (CHANIVET et al., 2020).

A melhoria nas características sensoriais dos vinagres está ligada a inúmeras transformações físico-químicas e bioquímicas que alteram a composição do produto. Algumas dessas transformações incluem, oxidação, hidrólise, esterificação, caramelização, formação de Produtos de Maillard, entre outras (CEREZO et al., 2010; ZHOU et al., 2020).

Além do refinamento sensorial, podem-se evidenciar outros atributos positivos que são desencadeados pelo aumento da concentração de compostos aromáticos nos vinagres envelhecidos. Trabalhos já publicados indicam que os compostos polifenólicos encontrados no vinagre envelhecido de Shanxi podem contribuir na redução do acúmulo de lipídios a níveis celulares (SONG et al., 2022).

Em relação a quimiometria, estudos indicam que a composição polifenólica desenvolvida durante o envelhecimento dos vinagres pode ser útil na classificação de produtos com Proteção de Origem Geográfica, evitando por exemplo, problemas relacionados a fraude de vinagres tradicionais, como o Vinagre Balsâmico Tradicional de Modena e o Vinagre de Jerez (DURÁN-GUERRERO et al., 2015).

1.4 AUTENTICAÇÃO EM ALIMENTOS

Termos do inglês como *Food Control*, *Food Authentication*, *Food Fraud*, entre outros, vem tomando notoriedade quando o assunto abordado é a qualidade dos alimentos, tanto em relação a identidade do produto, quanto a adulteração. A adulteração intencional de um alimento para fins lucrativos é denominada fraude de alimentos, este tipo de ação está ligado diretamente a substituição de algum ingrediente, adição de ingredientes não permitidos, falsificação, diluição, alterações indevidas em embalagens e até falsas declarações sobre alguma característica do produto (FAO, 2021).

Além de enganar o consumidor e fazê-lo pagar por um produto duvidável, muitos casos de fraudes em alimentos acabam tomando proporções que afetam a saúde de quem está ingerindo estes alimentos (GELPÍ et al., 2002).

Alguns casos famosos já reportados ao redor do mundo demonstram o risco que a adulteração pode causar. Na Espanha o óleo de oliva foi adulterado com óleo de colza, de uso industrial e afetou cerca de 20 mil consumidores, deixando cerca de 300 mortos (GELPÍ et al., 2002). Na China, o leite foi adulterado com melamina, e acabou deixando mais de 300 mil pessoas doentes (GOSSNER et al., 2009).

Casos de fraude em alimentos no Brasil também já foram relatados. Na região Sul do país, a operação “Leite Compensado”, na qual as autoridades apreenderam transportes de carga de leite de vaca nos quais estavam sendo adicionados produtos químicos e água para fins de rendimento (ANDREATTA et al., 2019).

A “Operação Carne Fraca”, da qual a Polícia Federal apontou cerca de 30 empresas acusadas de adulterar a aparência de produtos cárneos com espécies químicas não regulamentadas (QUEVEDO-SILVA; FREIRE; SPANHOL-FINOCCHIO, 2019).

A detecção da fraude em alimentos é geralmente imperceptível aos consumidores, o que acaba gerando certo incentivo a essa prática. A maioria dos casos de fraude só são descobertos através de análises científicas devido a especificidade da adulteração, e muitas vezes essas análises demandam um alto valor de custo. Neste caso, entra a importância do desenvolvimento de técnicas científicas dentro das ciências de alimentos para popularizar a prática de desmascarar produtos fraudulentos (BUTLER et al., 2021; ROBSON et al., 2021).

Ao analisar um produto fraudado, geralmente busca-se atingir os objetivos de: autenticar a origem de um produto, em termos de origem geográfica, botânica/animal ou processo de produção, geralmente utilizando análises qualitativas

multivariadas. E/ou comprovar a ausência ou presença de elementos/substâncias não declarados, que pode exigir análises tanto quantitativas quanto qualitativas (KAZAZIĆ et al., 2021).

1.4.1 Fraude em Vinagres

Devido as características bem específicas dos vinagres de acordo com a sua classificação e variedade de matérias primas, através de análises qualitativas e quantitativas pode-se realizar a validação da autenticidade do produto, evitando que ocorram variações sensoriais, econômicas e nutricionais dos vinagres. Por exemplo, vinagres de frutas são característicos por possuir uma concentração relativamente maior de compostos fenólicos específicos quando comparados a outros tipos de vinagre (BOFFO et al., 2009).

Por tratar-se de um produto de regulamentação ligeiramente simples, caracterizado por exigir uma quantidade mínima de ácido acético de 4% (v/v), muitos produtores acabam adicionando ácido acético sintético (glacial) a vinagres de baixa concentração de ácido acético, ou até mesmo preparando vinagres sintéticos a partir de soluções aquosas de diluição do ácido acético, o que pode ser considerado fraude dependendo da lei regente na região (CAVDAROGLU; OZEN, 2022).

Outro problema recorrente relacionado a fraude e adulteração de vinagres é a adição de vinagre de álcool de cana-de-açúcar, ao vinagre de vinho para fins de aumento de volume. Com isso, o fabricante tem um ganho financeiro maior, uma vez que o vinagre de álcool de cana-de-açúcar possui um preço relativamente menor comparado ao de vinho (CONSONNI et al., 2008a; JAMIN; THOMAS, 2018; RÍOS-REINA et al., 2021).

Outros tipos de fraudes recorrentes, são aquelas relacionadas a demarcação geográfica de origem do produto e também relativas a vinagres que são vendidos com o diferencial de possuírem tempo de maturação elevado, ambos tipos de fraude ligados com a divulgação de informação falsa do produto (CONSONNI et al., 2008a; JAMIN; THOMAS, 2018; RÍOS-REINA et al., 2021).

Destaca-se também dentre os tipos de fraude, aqueles relacionados a adição de açúcares ao caldo da matéria-prima submetido a fermentação para produção de vinagres de fruta, este tipo de adição tem como função enriquecer a quantidade de açúcares fermentescíveis quando o fruto da matéria-prima possui concentrações baixas, tendo assim, um aumento de rendimento no processo de fabricação (BRASIL, 2020).

Apesar da importância em combater a fraude de alimentos, e especificamente a fraude em vinagres, a literatura dispõe poucos trabalhos atuais voltados para esta temática. Além disso, a maioria dos que abordam tal assunto, estão voltados especificamente para a fraude do vinagre de vinho. Sendo assim, pode-se reafirmar a importâncias da discussão e elaboração de trabalhos que abordem o desenvolvimento de métodos que são aptos a realizar a autenticação de vinagres de diferentes classificações.

1.5 MÉTODOS ANALÍTICOS PARA AUTENTICAÇÃO DE ALIMENTOS

Diversos métodos e técnicas analíticas, sendo eles, quantitativos e qualitativos vem sendo aplicados durante anos quando trata-se de fraude de alimentos dos mais diversos tipos. Atualmente, destaca-se entre as mais utilizadas a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), Espectrometria de Massas (EM) e Cromatografia a Gás (CG) (CALLAO; RUISÁNCHEZ, 2018; HONG et al., 2017).

As opções estão cada vez mais diversas com o avanço tecnológico e de acordo com a demanda, como exemplo, pode-se destacar a utilização da ressonância magnética nuclear (RMN) como ferramenta para identificar a autenticidade de produtos de diferentes matrizes alimentícias ou também das técnicas de análise qualitativas multivariadas para designação de produtos de origem entre outras facetas (CALLAO; RUISÁNCHEZ, 2018; HONG et al., 2017).

Em termos atuais, espera-se cada vez mais que os métodos analíticos utilizados para detecção de fraude e diferenciação de alimentos sejam de caráter não destrutivo, rápidos, sensíveis, precisos e de baixo custo relativo, para que assim sejam difundidos e popularizados dentre as práticas e rotinas de percepção de fraudes (GAO et al., 2019).

Em relação ao vinagre, as técnicas mais utilizadas para finalidade de identificar fraude estão relacionadas a métodos de separação com diferentes tipos de detecção, como a cromatografia líquida ou gasosa acopladas a espectrometria de massas, Cromatografia Líquida acoplada a um Arranjo de Diodos, entre outros. Atualmente cresce o interesse em utilizar-se de técnicas rápidas, assim emergindo as técnicas espectrais, das quais busca identificar o *fingerprint* ou *spectralprint* que são literalmente impressões digitais químicas de determinadas espécies químicas passíveis de serem identificadas em informações espectrais através do uso da quimiometria (CAVDAROGLU; OZEN, 2022; CONSONNI et al., 2008b; RÍOS-REINA et al., 2021).

Este tipo de informação, pode ser resgatada desde técnicas mais caras até

outras mais baratas, como exemplo, a identificação de fraude em amostras de produto de origem certificada de vinagre de vinho por RMN ou através da NIR (CAVDAROGLU; OZEN, 2022; CONSONNI et al., 2008b; RÍOS-REINA et al., 2021).

1.5.1 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Inicialmente desenvolvida para determinação estrutural de substâncias simples, a Ressonância Magnética Nuclear (RMN) demonstrou-se ser muito útil para análises complexas de matrizes compostas quando trata-se de fraudes mais sofisticadas, sendo inclusive, muito aplicável a casos de caracterização de produtos de origem geográfica (CALLAO; RUISÁNCHEZ, 2018)

Sucintamente, a técnica atua avaliando a interação dos núcleos atômicos (comumente ^1H e ^{13}C) com um potente campo magnético. Mais especificamente, a espectroscopia de RMN é baseada no estudo da quantização e da interação da radiação na região de radiofrequências (RF) por amostras na presença de um campo magnético induzido, através da excitação dos seus átomos. Quando um núcleo atômico é deslocado, gera um momento magnético nuclear, com um momento angular de spin, que na presença de um campo magnético externo de mesma radiofrequência do núcleo, induz seus prótons a alinharem seus momentos magnéticos nucleares ao campo magnético aplicado, quando o núcleo atinge uma determinada frequência angular (Frequência de Larmor), ocorre a inversão da direção do seu eixo de rotação e a formação de um campo magnético perpendicular, ou seja, atinge um estado de excitação. Ao regressar para um estado de menor energia, são geradas as informações essenciais para a elucidação de estruturas moleculares (GALVAN, 2019; HATZAKIS, 2019; PAVIA, 2014).

A técnica de RMN ^1H detém uma maior usualidade devido a abundância dos núcleos de hidrogênio e por possuir tempo de análise menor em comparação a análise do núcleo de carbono. No geral, a RMN destaca-se por ser rápida, precisa, exata e necessita de pouca quantidade de amostra durante a análise, além disso, na grande maioria das vezes não há a necessidade de um pré-tratamento. Por outro lado, possui equipamentos e manutenção de alto custo relativo e exige certa experiência avançada para realização das análises e também para interpretação dos resultados, principalmente para fins de detecção de fraude, em que há a necessidade de utilizar ferramentas quimiométricas (CALLAO; RUISÁNCHEZ, 2018;

GALVAN, 2019; PAVIA, 2014; SOBOLEV et al., 2019).

O uso da RMN para detecção de fraude em alimentos dá-se por duas abordagens, são elas, análise direcionada ou não direcionada. A análise direcionada atua na identificação de espécies bem definidas, por exemplo marcadores, que são fundamentais na composição da identidade e ou adulteração de uma amostra de alimento. Por outro lado, muitas vezes a detecção da fraude não se limita a identificação de apenas um marcador e sim através de misturas complexas, neste caso, a análise não direcionada é aplicada e atua na identificação de um conjunto de marcadores que definem as características do perfil metabólico da espécie analisada (HANGANU; CHIRA, 2021; KUBALLA et al., 2018; SOBOLEV et al., 2019).

Pode-se destacar aplicações e abordagens diversas para análise de alimentos, por exemplo, origem botânica do mel (CONSONNI et al., 2008a; KUBALLA et al., 2018), origem geográfica de vinagres e vinhos (CONSONNI et al., 2008b), adição de açúcares em bebidas (KUBALLA et al., 2018), quantificação de marcadores (HSIEH et al., 2013), entre outras (GALVAN et al., 2021). No caso dos vinagres, em um dos trabalhos relatados na literatura Consonni e colaboradores em 2008, foi realizada a utilização da técnica para realizar a diferenciação do Vinagre Balsâmico de Modena do Tradicional Vinagre Balsâmico de Modena, através da sua matéria prima e tempo de envelhecimento, ambos critérios atribuem concentrações e composições expressivas de marcadores diferentes que são passíveis de serem identificados pela ^1H RMN junto a quimiometria.

Além disso, a técnica de RMN ^1H já foi utilizada para diferenciar vinagres fraudulentos a partir das proporções de isoformas de açúcares, nos quais demonstraram que a presença da isoforma α -piranosídica da frutose ocorria em uma espécie do vinagre (espécie tradicional de Modena) e era ausente na outra (não tradicional) (CONSONNI et al., 2008b).

Também é de conhecimento dentre os estudos sobre o tema, o trabalho realizado para diferenciar dois tipos de Vinagre de Shanxi, envelhecidos por mais ou menos 1 ano, no qual os autores utilizaram da técnica de ^1H RMN com auxílio de ferramentas de análise multivariadas para avaliar as diferenças de composição. O vinagre de Shanxi com mais de um ano de envelhecimento apresentou concentrações maiores de metabólicos em comparação ao vinagre com menos de um ano de envelhecimento, sendo que entre os compostos avaliados, os aminoácidos apresentaram maior concentração do que os demais compostos (NIE et al., 2019).

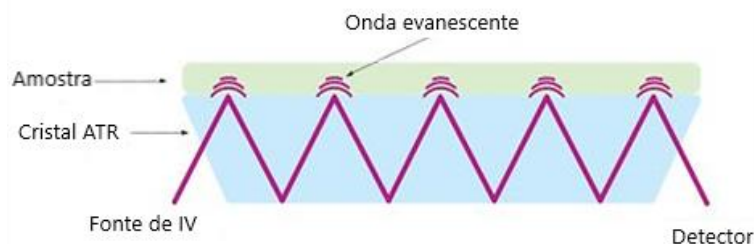
1.5.2 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Assim como a espectroscopia NIR, a Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR, do inglês, *Fourier Transformed Infrared*) é um método que consiste na medida da absorvância da radiação eletromagnética (da região do infravermelho médio) sob ligações químicas. Cada tipo de ligação absorverá em um determinado comprimento de onda, de acordo com a sua natureza química. Neste caso, quando a radiação é absorvida acaba gerando um estado de vibração das moléculas que é convertida em sinal analítico em forma de espectros, este sinal, por sua vez, tem relação proporcional a concentração de uma determinada espécie química ou grupo funcional (VALAND et al., 2020).

A espectroscopia FTIR é na verdade uma variação da espectroscopia no infravermelho, na qual utiliza-se dois feixes de radiação eletromagnética com a finalidade de obter-se um interferograma. Sendo assim, através da mudança do caminho óptico entre os dois feixes, gera-se um sinal. Por meio da ferramenta matemática, da Transformada de Fourier, obtém-se a distância do caminho óptico que em seguida é convertida em frequência de radiação. A técnica de FTIR demonstra-se mais sensível e com menor tempo de análise em comparação a técnicas convencionais de espectroscopia no Infravermelho (PAVIA, 2014).

Além disso, a técnica de FTIR ainda pode ser complementada por diferentes acessórios, como é o caso da FTIR-ATR, o Infravermelho por Transformada de Fourier de Reflectância Total Atenuada, este método baseia-se nas mudanças que ocorrem em um feixe de IR refletido internamente através de um cristal em contato com uma amostra. O feixe é direcionado com um certo ângulo para um cristal opticamente transparente a frequência energética e com um alto índice de refração, maior que a da amostra. A refletância interna desse feixe gera uma onda evanescente que se estende sob a superfície cristalina até a camada da amostra que está sobre o cristal. A amostra absorverá energia e a onda evanescente será atenuada, assim o feixe é refletido no cristal e é recepcionado pelo detector na outra extremidade que é usado para a elucidação de um espectro. Um exemplo didático do funcionamento deste módulo de ATR está disposto na Figura 2 (MUROGA et al., 2021; NASEER; ALI; QAZI, 2021).

Figura 2. Funcionamento esquemático do módulo ATR para o FTIR



Fonte: Adaptado de; (METTLER TOLEDO, 2022).

A técnica de FTIR, independente do acoplamento de acessórios, opera em uma janela espectral média entre 200 a 4000 cm^{-1} , região essa na qual a maioria dos compostos orgânicos absorvem energia, e como já citado anteriormente, assim como NIR, o FTIR também tem a capacidade de identificar o *fingerprint* de um determinado composto, sendo assim uma opção muito interessante para analisar amostras de alimentos, inclusive de matrizes complexas (VALAND et al., 2020).

Tendo isto em vista essa aplicabilidade em alimentos, inclusive para detecção de fraude, autenticação e adulterações, a técnica de FTIR vem sendo bastante utilizada em conjunto com a quimiometria. Alguns trabalhos já publicados já demonstraram resultados positivos e promissores com amostras de mel adulterados (SUBARI et al., 2012), temperos como sálvia adulterada (GALVIN-KING et al., 2019), leite adicionado de melamina (JAWAID et al., 2013), classificação geográfica de café (BONA et al., 2017), entre outras (HONG et al., 2017).

1.5.3 Espectroscopia de Absorção UV-Vis

A técnica de Espectroscopia UV-Vis se baseia na leitura da absorção de radiação eletromagnética nas regiões visível e ultravioleta do espectro, representadas por comprimentos de onda que variam de 800 a 190 nm. De maneira abrangente, é realizada a medida da quantidade de radiação eletromagnética que a amostra pode absorver, proporcionalmente a concentração do analito de interesse (VERMA; MISHRA, 2018).

A espectroscopia UV-Vis é uma técnica de resposta rápida, sem a necessidade de etapas complexas para sua execução, além disso, tem caráter não destrutivo, não direcional e pode exigir preparo da amostra para aquelas de matrizes mais compostas. Tais características

tem atraído o interesse de sua utilização para os mais diversos trabalhos, incluindo aqueles voltados para a adulteração e origem geográfica de produtos alimentícios (LI; HUR, 2017; VERMA; MISHRA, 2018).

Os espectros de absorção de UV-Vis assim como outras técnicas de espectroscopia, são característicos por registrar um *fingerprint* da amostra, para o vinagre não seria diferente, seus compostos são comumente detectados pela técnica, incluindo compostos fenólicos, que por sua vez podem agir como indicadores de origem e de matéria-prima (LI; HUR, 2017).

Sendo assim, como demonstrado no trabalho realizado por Cavdaroglu e colaboradores (2022), no qual realizaram a detecção de adulteração de vinagre de fruta (uva) com vinagre de álcool e ácido acético glacial usando espectroscopia UV-visível e infravermelho em conjunto com métodos quimiométricos.

1.5.4 Espectroscopia no Infravermelho Próximo (NIR)

A Espectroscopia no Infravermelho Próximo (NIR, do termo em inglês “*near infrared*”) é um método físico-químico que utiliza a região de infravermelho próximo, do espectro eletromagnético (região entre 700 à 2500 nanômetros) para monitorar a absorção de radiação eletromagnética de uma amostra através das ocorrências espectrais harmônicas ou combinações de vibrações fundamentais de estiramentos dos átomos nas moléculas, podendo ser aplicada tanto para amostras sólidas ou líquidas, gerando os denominados espectros de refletância NIR (GALVAN, 2019; MÁRQUEZ et al., 2016; NOBARI MOGHADDAM et al., 2022; PASQUINI, 2003).

A técnica é baseada na transferência energética vibracional das ligações dos átomos ou grupos atômicos para uma molécula quando seu estado energético passa do fundamental (menos energético) para um excitado (mais energético) através da incidência de uma fonte de energia eletromagnética em determinada frequência (comprimento de ondas específicos) (PASQUINI, 2003).

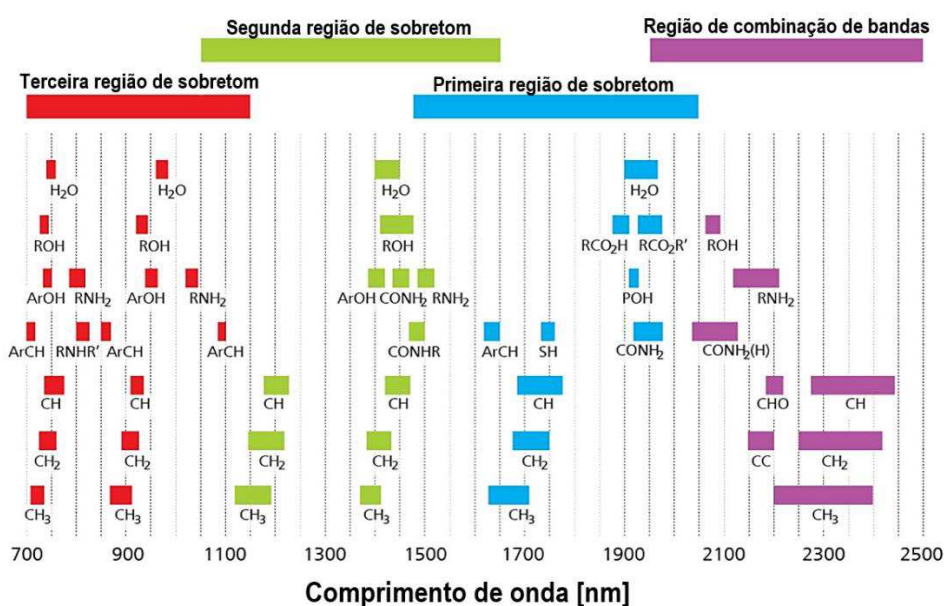
Em um espectro NIR as bandas de absorção mais aparentes, como demonstra a Figura 3, estão relacionadas com as alterações do momento dipolar de uma molécula (bandas de combinação e regiões de sobretons), muito comuns em ligações químicas heteronucleares

(C-H, N-H, O-H e S-H), estas em geral, são facilmente detectados na região espectral NIR (GALVAN, 2019; METROHM; LANCIKI, 2022; PASQUINI, 2003).

Estes tipos de espectros, são corriqueiramente utilizados para determinação rápida e não destrutiva de diferentes tipos de amostra, inclusive de matriz alimentar e apresentam-se cada vez mais promissores, uma vez que possuem baixo custo relativo quando comparados a outras técnicas mais sofisticadas e não necessitam de nenhum tipo de pré-tratamento da amostra (MÁRQUEZ et al., 2016; NOBARI MOGHADDAM et al., 2022).

Cada tipo de alimento possui um espectro característico, o que acaba fornecendo um *fingerprint* (impressão digital), relacionado a composição química da amostra. Esta impressão digital, em conjunto com ferramentas estatísticas adequadas por sua vez auxilia na identificação e diferenciação do produto. Deste modo, fatores como origem geográfica, processo de cultivo, variedade, entre outras classificações que causam mudanças na composição química do alimento podem ser investigadas através da técnica de espectroscopia NIR. Alguns trabalhos já descritos na literatura demonstraram a versatilidade da técnica para análise de diversos tipos de alimento, alguns deles são, mel, leite, azeite de oliva, especiarias entre outros (NOBARI MOGHADDAM et al., 2022).

Figura 3. Bandas analíticas, Regiões de sobretons e combinações mais aparentes na absorção infravermelha



Fonte: Adaptado de; (METROHM; LANCIKI, 2022).

Em relação ao vinagre, é possível encontrar alguns trabalhos já publicados, empregando o NIR. Dentre eles, o uso do NIR próximo para diferenciação de vinagres de álcool e vinagres de vinho para aplicação na detecção de fraude de misturas (SÁIZ-ABAJO; GONZÁLES-SÁIZ; PIZARRO, 2004).

Também foi utilizado para avaliar o envelhecimento e a oxidação do vinagre em amostras de diferentes origens, neste estudo as amostras eram medidas assim que os frascos eram abertos e após certo período (CASALE et al., 2006).

Outra aplicação para o NIR foi para a diferenciação de produto de origem geográfica para vinagres de vinho tradicionais da Espanha (Vinagre de Jerez, Vinagre do Condado de Huelva e Vinagre de Montilla-Moriles), com auxílio de quimiometria (RÍOS-REINA et al., 2021). Entretanto nota-se que o uso da técnica de espectroscopia no infravermelho próximo ainda pode ser bastante explorada para amostras de vinagre.

1.6 QUIMIOMETRIA

A quimiometria deu indícios de seu surgimento por volta da década de 70, em um período no qual o desenvolvimento tecnológico começava a introduzir a evolução de novos computadores, denominados microcomputadores. Essa nova ciência iniciava uma vertente na qual a matemática, estatística e a química trabalhavam em conjunto para fins de extração e projeção de informações químicas a partir da análise de multivariados complexos e numerosos (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2006; FERREIRA, 2015).

A quimiometria portanto entende-se por uma ciência que relaciona os dados obtidos quimicamente, com o estado e as características do objeto estudado. Sendo atualmente muito útil na interpretação da rede de informações fornecidas pelas instrumentações cada vez mais modernas (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2006; FERREIRA, 2015).

A grande maioria dos trabalhos de quimiometria se encaixam em três principais áreas: planejamento experimental, reconhecimento de padrões e calibração multivariada. Cada uma dessas áreas possuem um propósito diferente, sendo que para fins de detecção de adulteração em alimentos, pode-se destacar trabalhos sob a temática de reconhecimento de padrões e calibração multivariada (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2006; FERREIRA, 2015; LAVINE; WORKMAN, 2008).

A respeito do reconhecimento de padrões, pode-se afirmar que este tipo de análise é aplicado

com diferentes finalidades, dentre elas: a análise exploratória, classificação das amostras e resolução das curvas. A análise exploratória apresenta-se muito útil para realização de reconhecimento de padrões dos conjuntos de dados amostrais com as variáveis do sistema, um dos tipos de análise mais comuns dessa categoria é a Análise de Componentes Principais (PCA). Outro método exploratório, que apresenta certa semelhança com PCA, entretanto popular por apresentar uma proposta um pouco diferente, é o ComDim, abreviação para análise por Dimensões Comuns. Esse método é baseado na fusão de dados, no qual realiza análise em multitabelas ou blocos, dos dados adquiridos para o mesmo número de amostras por diferentes técnicas (FERREIRA, 2015; RUTLEDGE, 2021).

Em relação aos métodos de calibração multivariada, destacam-se as ferramentas de regressão em componentes parciais (PCR) e por quadrados mínimos parciais (PLS) (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2006; FERREIRA, 2015).

Essas classificações são denominadas como métodos supervisionados e métodos não supervisionados. Uma analogia a estas classificações seriam métodos de ensino, nos quais, aquele que é supervisionado seria referente a um método no qual há um professor indicando o que deve ser aprendido, onde se encaixa a PLS-DA, na qual é necessário inserir a identidade do objeto estudado. E o outro método seria como um aprendizado autodidata, sem um professor indicando o conhecimento, exemplo, a PCA, no qual não há a necessidade de inserir a identidade do objeto de estudo (FERREIRA, 2015; GALVAN et al., 2021).

1.6.1 Análise por Dimensões Comuns (ComDim)

ComDim é a abreviação popularizada para a Análise por Dimensões Comuns. Seu princípio varia da Análise de Componentes Comuns e Pesos Específicos (CCSWA – do inglês *Common Components and Specific Weights Analysis*), e é baseado na análise de componentes multiblocos ou multitabelas de modo não supervisionado.

Neste método há a necessidade de que o número de amostras sejam iguais, uma vez que estes dados possuem uma contribuição específica, denominada de saliência. Entretanto pode-se variar a quantidade de variáveis. (CARIOU; BOUVERESSE, 2019).

Sendo assim, se faz possível extrair sequencialmente, os componentes globais e em blocos, recuperando a máxima variância do conjunto de dados. Desta forma, os métodos multitabelas tornam-se aptos a realizar uma comparação simultânea das respostas obtidas a partir de diferentes técnicas em relação a caracterização ou estudo de um tipo de amostra

(CARIOU; BOUVERESSE, 2019; DE AGUIAR et al., 2022; RUTLEDGE, 2021).

A Análise por Dimensões Comuns vem sendo amplamente aplicada a diversas matrizes, inclusive em alimentos, por exemplo, ao analisar queijos, vinhos e outros alimentos através do MIR e fluorescência (RUTLEDGE, 2021).

Ao realizar essa comparação simultânea entre técnicas, o método ComDim permite verificar qual das técnicas experimentadas no estudo fornece as informações mais relevantes para a classificação das amostras (CARIOU; BOUVERESSE, 2019; RUTLEDGE, 2021).

O cálculo por trás dessa comparação envolve a soma ponderada da matriz de variância-covariância de cada bloco analisado, seguida da extração da sua primeira dimensão comum, usualmente denominada de DC. Sendo assim, o algoritmo do ComDim determina o peso de cada bloco em relação a DC calculada, para finalmente, obter-se a percentagem de variabilidade extraída pela DC (CARIOU; BOUVERESSE, 2019; RUTLEDGE, 2021). Além da obtenção dos escores “*scores*”, que são projeções das amostras no espaço comum da DC, e as cargas “*loadings*”, que são os pesos das variáveis contidas em cada bloco de dados, análoga à PCA.

Em relação a análise de vinagres, não se encontra na literatura um grande volume de trabalhos utilizando o ComDim. É possível encontrar material relacionando a amostra e o método para fins de classificação por denominação de produto de origem (PDO). Neste trabalho, algumas amostras de vinagres de diferentes regiões da Espanha foram classificadas através de quatro técnicas espectroscópicas diferentes (MIR, NIR, EEM e ¹H RMN) (RÍOS-REINA et al., 2019).

1.6.2 Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA)

A análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA, do termo em inglês “*Partial Least Squares Discriminant Analysis*”) é uma das técnicas de classificação mais populares dentro da quimiometria, é amplamente aplicada em trabalhos nos quais os métodos analíticos atuam gerando grandes quantidades de dados, como por exemplo, métodos espectroscópicos (FERREIRA, 2015).

A PLS-DA se baseia no agrupamento ou classificação supervisionada, dentre os métodos de classificação supervisionada, destacam-se dois principais tipos, a Classificação de Uma Classe (OCC do termo em inglês “*one-class classifiers*”) e a

Classificação Discriminante (DC do termo em inglês “*Discriminant Classifiers*”). A OCC trabalha com a identificação de objetos a partir de uma classe específica e bem definida dentre todo o conjunto dos objetos, tendo como referência um conjunto de treinamento contendo apenas os objetos da classe específica. Sendo assim, essa técnica permite resolver problemas dos quais apenas uma categoria conhecida está envolvida (FERREIRA, 2015; MUTZ; ROSARIO; CONTE-JUNIOR, 2020).

Por outro lado, as técnicas de DC focam nas diferenças de objetos através de um delimitador, que é, uma característica que limita a classe que identifica este objeto. A aplicação da DC está ancorada a certas características como por exemplo, uma amostra sempre é atribuída a um tipo de classe; o número mínimo de classes deve ser no mínimo 2, para vias de discriminação e muito raramente as classes terão interpretação ambígua. Inconvenientemente as técnicas de DC exigem atribuição de classe mesmo se o objeto não pertença a nenhuma classe (FERREIRA, 2015; LELIS et al., 2022).

O método de PLS-DA é uma variação da Análise por mínimos quadrados parciais (PLS), sendo que, sua principal diferença é a capacidade de realizar correlações com mais de uma variável dependente, diferentemente da PLS que trabalha com uma única variável contínua. Desta maneira, a PLS-DA, visa na otimização e na separação de amostras de diferentes grupos/tipos, onde é realizado a análises das duas matrizes de dados, uma que representa os dados brutos (matriz X) e outra com as classes de associação (matriz Y). Onde a matriz Y da propriedade assume valores de classes 0 ou 1 (para 2 classes), assim atribui-se para cada coluna o valor 1 para uma determinada classe e 0 para quando a classe for diferente da primeira. Neste método busca-se obter uma covariância máxima entre as matrizes X e Y, em outras palavras, as variáveis latentes (LVs). O número de LVs geralmente determinado através da validação cruzada das amostras de treinamento (FERREIRA, 2015). Para a classificação das amostras, utiliza-se de um fator limitante que delimita se tal amostra pertence àquele espaço multivariado da classe, geralmente baseado no teorema de Bayes (FERREIRA, 2015).

Assim como outros métodos quimiométricos, a PLS-DA vem se revelando muito útil para trabalhos voltados para análise de amostras de matrizes alimentares, inclusive para a área de detecção de produtos adulterados, como descrito na literatura para o caso de amostras de páprica adulteradas (BARBOSA et al., 2020; LELIS et al., 2022; MUTZ et al., 2022).

Em relação ao vinagre, Consonni e colaboradores (2008) utilizaram da técnica de PLS-DA para realizar a caracterização do Vinagre Balsâmico Tradicional de Modena. Já alguns anos depois, Peng e colaboradores (2019) realizaram a identificação de

adulteração em vinagres envelhecidos de Shanxi através do uso da PLS-DA (CONSONNI et al., 2008b; PENG et al., 2019).

2. REFERÊNCIAS

- ANDREATTA, Tanice; COSTA, Nilson Luiz; SANTOS, Izis Freire Dos; BINELLO, Lidiane. A OPERAÇÃO “LEITE COMPENSADO” E AS PERCEPÇÕES DOS CONSUMIDORES DE LEITE NO MUNICÍPIO DE PANAMBI/RS. **Nucleus**, [S. l.], v. 16, n. 1, p. 45–56, 2019. DOI: 10.3738/1982.2278.2884. Disponível em: <http://nucleus.feituverava.com.br/index.php/nucleus/article/view/2884/3048>.
- BARBOSA, Sergio; SAURINA, Javier; PUIGNOU, Lluís; NÚÑEZ, Oscar. Classification and Authentication of Paprika by UHPLC-HRMS Fingerprinting and Multivariate Calibration Methods (PCA and PLS-DA). **Foods**, [S. l.], v. 9, n. 4, p. 486, 2020. DOI: 10.3390/foods9040486. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/9/4/486>.
- BARROS NETO, Benício De; SCARMINIO, Ieda S.; BRUNS, Roy E. 25 anos de quimiometria no Brasil. **Química Nova**, [S. l.], v. 29, n. 6, p. 1401–1406, 2006. DOI: 10.1590/S0100-40422006000600042. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422006000600042&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt.
- BEKATOROU, Argyro. **Advances in Vinegar Production**. [s.l.] : CRC Press, 2019. DOI: 10.1201/9781351208475. Disponível em: <https://www.taylorfrancis.com/books/9781351208468>.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2020. Instrução Normativa nº 16, de 19 de março de 2020. Estabelece a proibição de utilização de açúcar na elaboração do fermentado de fruta que sirva de matéria prima para a produção de fermentado acético de fruta. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, seção 1, n.56, 23 mar. 2020.
- BOFFO, Elisangela F.; TAVARES, Leila A.; FERREIRA, Márcia M. C.; FERREIRA, Antonio G. Classification of Brazilian vinegars according to their 1H NMR spectra by pattern recognition analysis. **LWT - Food Science and Technology**, [S. l.], v. 42, n. 9, p. 1455–1460, 2009. DOI: 10.1016/j.lwt.2009.05.008. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643809001315>.
- BONA, Evandro et al. Support vector machines in tandem with infrared spectroscopy for geographical classification of green arabica coffee. **LWT - Food Science and Technology**, [S. l.], v. 76, p. 330–336, 2017. DOI: 10.1016/j.lwt.2016.04.048. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643816302328>.
- BUTLER, Francis; LUIJCKX, Niels Lucas; MARVIN, Hans J. P.; BOUZEMBRAK, Yamine; MOJTAHED, Vahid. Role of analytical testing for food fraud risk mitigation – A commentary on implementation of analytical fraud testing. **Current Research in Food Science**, [S. l.], v. 4, p. 301–307, 2021. DOI: 10.1016/j.crfs.2021.03.013. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2665927121000265>.
- CALLAO, M. Pilar; RUISÁNCHEZ, Itziar. An overview of multivariate qualitative methods for food fraud detection. **Food Control**, [S. l.], v. 86, p. 283–293, 2018. DOI: 10.1016/j.foodcont.2017.11.034. Disponível em:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713517305674>.

CARIOU, V.; BOUVERESSE, D. Jouan-rimbaud. **ComDim Methods for the Analysis of Multiblock Data in a Data Fusion Perspective**. [s.l.] : Elsevier, 2019. v. 31 DOI: 10.1016/B978-0-444-63984-4.00007-7. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-444-63984-4.00007-7>.

CASALE, Monica; SÁIZ ABAJO, María-José; GONZÁLEZ SÁIZ, José-María; PIZARRO, Consuelo; FORINA, Michele. Study of the aging and oxidation processes of vinegar samples from different origins during storage by near-infrared spectroscopy. **Analytica Chimica Acta**, [S. l.], v. 557, n. 1–2, p. 360–366, 2006. DOI: 10.1016/j.aca.2005.10.063. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267005017897>.

CAVDAROGLU, Cagri; OZEN, Banu. Detection of vinegar adulteration with spirit vinegar and acetic acid using UV–visible and Fourier transform infrared spectroscopy. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 379, p. 132150, 2022. DOI: 10.1016/j.foodchem.2022.132150. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030881462200111X>.

CEREZO, Ana B.; TESFAYE, Wendu; SORIA-DÍAZ, M. E.; TORIJA, M. Jesús; MATEO, Estíbaliz; GARCIA-PARRILLA, M. Carmen; TRONCOSO, Ana M. Effect of wood on the phenolic profile and sensory properties of wine vinegars during ageing. **Journal of Food Composition and Analysis**, [S. l.], v. 23, n. 2, p. 175–184, 2010. DOI: 10.1016/j.jfca.2009.08.008. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889157509002464>.

CHANIVET, Marina; DURÁN-GUERRERO, Enrique; BARROSO, Carmelo G.; CASTRO, Remedios. Suitability of alternative wood types other than American oak wood for the ageing of Sherry vinegar. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 316, p. 126386, 2020. DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.126386. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814620302454>.

CONSONNI, R.; CAGLIANI, L. R.; BENEVELLI, F.; SPRAUL, M.; HUMPFER, E.; STOCCHERO, M. NMR and Chemometric methods: A powerful combination for characterization of Balsamic and Traditional Balsamic Vinegar of Modena. **Analytica Chimica Acta**, [S. l.], v. 611, n. 1, p. 31–40, 2008. a. DOI: 10.1016/j.aca.2008.01.065. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267008002353>.

CONSONNI, Roberto; CAGLIANI, Laura R.; RINALDINI, Silvia; INCERTI, Antonia. Analytical method for authentication of Traditional Balsamic Vinegar of Modena. **Talanta**, [S. l.], v. 75, n. 3, p. 765–769, 2008. b. DOI: 10.1016/j.talanta.2007.12.005. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039914007008454>.

DE AGUIAR, Leticia Magalhães; GALVAN, Diego; BONA, Evandro; COLNAGO, Luiz Alberto; KILLNER, Mario Henrique M. Data fusion of middle-resolution NMR spectroscopy and low-field relaxometry using the Common Dimensions Analysis (ComDim) to monitor diesel fuel adulteration. **Talanta**, [S. l.], v. 236, p. 122838, 2022. DOI: 10.1016/j.talanta.2021.122838. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039914021007591>.

DURÁN-GUERRERO, Enrique; CHINNICI, Fabio; NATALI, Nadia; RIPONI, Claudio.

Evaluation of volatile aldehydes as discriminating parameters in quality vinegars with protected European geographical indication. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [S. l.], v. 95, n. 12, p. 2395–2403, 2015. DOI: 10.1002/jsfa.6958. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jsfa.6958>.

FAO. **Food fraud: Intention, detection and management**. 2021. Disponível em: <https://www.fao.org/3/cb2863en/cb2863en.pdf>. Acesso em: 28 jan. 2022

FERREIRA, Márcia Miguel Castro. **Quimiometria: conceitos, métodos e aplicações**. [s.l.] : Editora da Unicamp, 2015. DOI: 10.7476/9788526814714. Disponível em: <http://books.scielo.org/id/2nc9y>.

GALVAN, Diego. Modelagem da reação de transesterificação utilizando catalisador inorgânico. 2019. 127 f. Tese (Programa de Pós-Graduação em Química) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

GALVAN, Diego; AQUINO, Adriano; EFFTING, Luciane; MANTOVANI, Ana Carolina Gomes; BONA, Evandro; CONTE-JUNIOR, Carlos Adam. E-sensing and nanoscale-sensing devices associated with data processing algorithms applied to food quality control: a systematic review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [S. l.], p. 1–41, 2021. DOI: 10.1080/10408398.2021.1903384. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10408398.2021.1903384>.

GALVIN-KING, Pamela; HAUGHEY, Simon A.; MONTGOMERY, Holly; ELLIOTT, Christopher T. The Rapid Detection of Sage Adulteration Using Fourier Transform Infra-Red (FTIR) Spectroscopy and Chemometrics. **Journal of AOAC INTERNATIONAL**, [S. l.], v. 102, n. 2, p. 354–362, 2019. DOI: 10.5740/jaoacint.18-0341. Disponível em: <https://academic.oup.com/jaoac/article/102/2/354/5658141>.

GAO, Boyan; HOLROYD, Stephen E.; MOORE, Jeffrey C.; LAURVICK, Kristie; GENDEL, Steven M.; XIE, Zhuohong. Opportunities and Challenges Using Non-targeted Methods for Food Fraud Detection. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 67, n. 31, p. 8425–8430, 2019. DOI: 10.1021/acs.jafc.9b03085. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jafc.9b03085>.

GELPÍ, Emilio et al. The Spanish toxic oil syndrome 20 years after its onset: a multidisciplinary review of scientific knowledge. **Environmental Health Perspectives**, [S. l.], v. 110, n. 5, p. 457–464, 2002. DOI: 10.1289/ehp.110-1240833. Disponível em: <https://ehp.niehs.nih.gov/doi/10.1289/ehp.110-1240833>.

GOSSNER, Céline Marie-Elise; SCHLUNDT, Jørgen; BEN EMBAREK, Peter; HIRD, Susan; LO-FO-WONG, Danilo; BELTRAN, Jose Javier Ocampo; TEOH, Keng Ngee; TRITSCHER, Angelika. The Melamine Incident: Implications for International Food and Feed Safety. **Environmental Health Perspectives**, [S. l.], v. 117, n. 12, p. 1803–1808, 2009. DOI: 10.1289/ehp.0900949. Disponível em: <https://ehp.niehs.nih.gov/doi/10.1289/ehp.0900949>.

HANGANU, Anamaria; CHIRA, Nicoleta-Aurelia. When detection of dairy food fraud fails: An alternative approach through proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Journal of**

Dairy Science, [*S. l.*], v. 104, n. 8, p. 8454–8466, 2021. DOI: 10.3168/jds.2020-19883. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030221005658>.

HATZAKIS, Emmanuel. Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectroscopy in Food Science: A Comprehensive Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, [*S. l.*], v. 18, n. 1, p. 189–220, 2019. DOI: 10.1111/1541-4337.12408. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1541-4337.12408>.

HONG, Eunyong; LEE, Sang Yoo; JEONG, Jae Yun; PARK, Jung Min; KIM, Byung Hee; KWON, Kisung; CHUN, Hyang Sook. Modern analytical methods for the detection of food fraud and adulteration by food category. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [*S. l.*], v. 97, n. 12, p. 3877–3896, 2017. DOI: 10.1002/jsfa.8364. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jsfa.8364>.

HSIEH, Chang-Wei; LI, Po-Hsien; CHENG, Ju-Yun; MA, Jung-Tsun. Using SNIF-NMR method to identify the adulteration of molasses spirit vinegar by synthetic acetic acid in rice vinegar. **Industrial Crops and Products**, [*S. l.*], v. 50, p. 904–908, 2013. DOI: 10.1016/j.indcrop.2013.08.014. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669013004299>.

JAIKANG, J.; RUNGSARDTHONG, V.; THUMTHANARUK, B.; PUTTANLEK, C.; UTTAPAP, D.; PLATHANAPORN, V.; VATANYOOPAISARN, S. Production of vinegar from organic broken rice noodles. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, [*S. l.*], v. 346, n. 1, p. 012045, 2019. DOI: 10.1088/1755-1315/346/1/012045. Disponível em: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/346/1/012045>.

JAMIN, Eric; THOMAS, Freddy. SNIF-NMR Applications in an Economic Context: Fraud Detection in Food Products. *In: Modern Magnetic Resonance*. Cham: Springer International Publishing, 2018. p. 1405–1416. DOI: 10.1007/978-3-319-28388-3_103. Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-28388-3_103.

JAWAID, Sana; TALPUR, Farah N.; SHERAZI, S. T. H.; NIZAMANI, Shafi M.; KHASKHELI, Abid A. Rapid detection of melamine adulteration in dairy milk by SB-ATR–Fourier transform infrared spectroscopy. **Food Chemistry**, [*S. l.*], v. 141, n. 3, p. 3066–3071, 2013. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.05.106. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814613007085>.

KAZAZIĆ, Snježana; GAJDOŠ-KLJUSURIĆ, Jasenka; RADELJEVIĆ, Biljana; PLAVLJANIĆ, Dijana; ŠPOLJARIĆ, Jasminka; LJUBIĆ, Tihana; BILIĆ, Branka; MIKULEC, Nataša. Comparison of GC and NIR spectra as a rapid tool for food fraud detection: Case of butter adulteration with different fat types. **Journal of Food Processing and Preservation**, [*S. l.*], v. 45, n. 9, 2021. DOI: 10.1111/jfpp.15732. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jfpp.15732>.

KUBALLA, Thomas; BRUNNER, Tobias Stephan; THONGPANCHANG, Tienthong; WALCH, Stephan Gerhard; LACHENMEIER, Dirk Walter. Application of NMR for authentication of honey, beer and spices. **Current Opinion in Food Science**, [*S. l.*], v. 19, p. 57–62, 2018. DOI: 10.1016/j.cofs.2018.01.007. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2214799317300929>.

LAVINE, Barry; WORKMAN, Jerome. Chemometrics. **Analytical Chemistry**, [S. l.], v. 80, n. 12, p. 4519–4531, 2008. DOI: 10.1021/ac800728t. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac800728t>.

LELIS, Carini Aparecida; GALVAN, Diego; TESSARO, Leticia; DE ANDRADE, Jelmir Craveiro; MUTZ, Yhan S.; CONTE-JUNIOR, Carlos Adam. Fluorescence spectroscopy in tandem with chemometric tools applied to milk quality control. **Journal of Food Composition and Analysis**, [S. l.], v. 109, p. 104515, 2022. DOI: 10.1016/j.jfca.2022.104515. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889157522001338>.

LI, Penghui; HUR, Jin. Utilization of UV-Vis spectroscopy and related data analyses for dissolved organic matter (DOM) studies: A review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, [S. l.], v. 47, n. 3, p. 131–154, 2017. DOI: 10.1080/10643389.2017.1309186. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10643389.2017.1309186>.

MÁRQUEZ, Cristina; LÓPEZ, M. Isabel; RUISÁNCHEZ, Itziar; CALLAO, M. Pilar. FT-Raman and NIR spectroscopy data fusion strategy for multivariate qualitative analysis of food fraud. **Talanta**, [S. l.], v. 161, p. 80–86, 2016. DOI: 10.1016/j.talanta.2016.08.003. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039914016305732>.

METROHM; LANCIKI, Alyson. **NIRS**. 2022. Disponível em: <https://metrohm.blog/tag/nirs/>. METTLER TOLEDO. **Reflectância Total Atenuada**. 2022. Disponível em: https://www.mt.com/br/pt/home/products/L1_AutochemProducts/ReactIR/attenuated-total-reflectance-atr.html.

MUROGA, Shun; TAKAHASHI, Yu; HIKIMA, Yuta; ATA, Seisuke; KAZARIAN, Sergei G.; OHSHIMA, Masahiro; OKAZAKI, Toshiya; HATA, Kenji. Novel Approaches to In-Situ ATR-FTIR Spectroscopy and Spectroscopic Imaging for Real-Time Simultaneous Monitoring Curing Reaction and Diffusion of the Curing Agent at Rubber Nanocomposite Surface. **Polymers**, [S. l.], v. 13, n. 17, p. 2879, 2021. DOI: 10.3390/polym13172879. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4360/13/17/2879>.

MUTZ, Yhan S.; DO ROSARIO, Denes; SILVA, Luiz R. G.; GALVAN, Diego; JANEGITZ, Bruno C.; DE Q. FERREIRA, Rafael; CONTE-JUNIOR, Carlos A. A single screen-printed electrode in tandem with chemometric tools for the forensic differentiation of Brazilian beers. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 12, n. 1, p. 5630, 2022. DOI: 10.1038/s41598-022-09632-9. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-022-09632-9>.

MUTZ, Yhan S.; ROSARIO, Denes K. A.; CONTE-JUNIOR, Carlos A. Insights into chemical and sensorial aspects to understand and manage beer aging using chemometrics. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, [S. l.], v. 19, n. 6, p. 3774–3801, 2020. DOI: 10.1111/1541-4337.12642. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1541-4337.12642>.

NASEER, Khulla; ALI, Salmann; QAZI, Javaria. ATR-FTIR spectroscopy as the future of diagnostics: a systematic review of the approach using bio-fluids. **Applied Spectroscopy Reviews**, [S. l.], v. 56, n. 2, p. 85–97, 2021. DOI: 10.1080/05704928.2020.1738453. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/05704928.2020.1738453>.

NIE, Jiahui; LI, Yi; XING, Jie; CHAO, Jianbin; QIN, Xuemei; LI, Zhenyu. Comparison of two types of vinegar with different aging times by NMR-based metabolomic approach.

Journal of Food Biochemistry, [S. l.], v. 43, n. 5, p. e12835, 2019. DOI:

10.1111/jfbc.12835. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jfbc.12835>.

NOBARI MOGHADDAM, Hanieh; TAMIJI, Zahra; AKBARI LAKEH, Mahsa; KHOSHAYAND, Mohammad Reza; HAJI MAHMOODI, Mannan. Multivariate analysis of food fraud: A review of NIR based instruments in tandem with chemometrics. **Journal of Food Composition and Analysis**, [S. l.], v. 107, p. 104343, 2022. DOI:

10.1016/j.jfca.2021.104343. Disponível em:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889157521005433>.

PASQUINI, Celio. Near Infrared Spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [S. l.], v. 14, n. 2, p. 198–219, 2003. DOI: 10.1590/S0103-50532003000200006. Disponível em:

[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-50532003000200006&lng=en&nrm=iso&tlng=en)

[50532003000200006&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-50532003000200006&lng=en&nrm=iso&tlng=en).

PAVIA, Donald L. **Introduction to Spectroscopy**. 5. ed. Washington: CENGAGE Learning, 2014.

PENG, Tian-Qin; YIN, Xiao-Li; SUN, Weiqing; DING, Baomiao; MA, Li-An; GU, Hui-Wen. Developing an Excitation-Emission Matrix Fluorescence Spectroscopy Method Coupled with Multi-way Classification Algorithms for the Identification of the Adulteration of Shanxi Aged Vinegars. **Food Analytical Methods**, [S. l.], v. 12, n. 10, p. 2306–2313, 2019. DOI: 10.1007/s12161-019-01586-5. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s12161-019-01586-5>.

QUEVEDO-SILVA, Filipe; FREIRE, Otavio; SPANHOL-FINOCCHIO, Caroline Pauletto. “Carne Fraca”. **British Food Journal**, [S. l.], v. 122, n. 2, p. 722–735, 2019. DOI:

10.1108/BFJ-07-2019-0491. Disponível em:

<https://www.emerald.com/insight/content/doi/10.1108/BFJ-07-2019-0491/full/html>.

RÍOS-REINA, Rocío; CALLEJÓN, Raquel M.; SAVORANI, Francesco; AMIGO, José M.; COCCHI, Marina. Data fusion approaches in spectroscopic characterization and classification of PDO wine vinegars. **Talanta**, [S. l.], v. 198, p. 560–572, 2019. DOI:

10.1016/j.talanta.2019.01.100. Disponível em:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039914019301201>.

RÍOS-REINA, Rocío; CAMIÑA, José M.; CALLEJÓN, Raquel M.; AZCARATE, Silvana M. Spectralprint techniques for wine and vinegar characterization, authentication and quality control: Advances and projections. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, [S. l.], v. 134, 2021. DOI: 10.1016/j.trac.2020.116121.

ROBSON, Kelsey; DEAN, Moira; HAUGHEY, Simon; ELLIOTT, Christopher. A comprehensive review of food fraud terminologies and food fraud mitigation guides. **Food Control**, [S. l.], v. 120, p. 107516, 2021. DOI: 10.1016/j.foodcont.2020.107516. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713520304321>.

RUTLEDGE, Douglas. Multiblock methods in Analytical Chemistry. **Brazilian Journal of**

Analytical Chemistry, [S. l.], v. 8, n. 32, p. 16–21, 2021. DOI: 10.30744/brjac.2179-3425.letter-dnrutledge. Disponível em: <https://brjac.com.br/artigos/2021-V8-32/brjac-letter-dnrutledge.pdf>.

SÁIZ-ABAJO, María-José; GONZÁLES-SÁIZ, José-María; PIZARRO, Consuelo. Classification of Wine and Alcohol Vinegar Samples Based on Near-Infrared Spectroscopy. Feasibility Study on the Detection of Adulterated Vinegar Samples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 52, n. 25, p. 7711–7719, 2004. DOI: 10.1021/jf049098h. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf049098h>.

SOBOLEV, Anatoly P.; THOMAS, Freddy; DONARSKI, James; INGALLINA, Cinzia; CIRCI, Simone; CESARE MARINCOLA, Flaminia; CAPITANI, Donatella; MANNINA, Luisa. Use of NMR applications to tackle future food fraud issues. **Trends in Food Science & Technology**, [S. l.], v. 91, p. 347–353, 2019. DOI: 10.1016/j.tifs.2019.07.035. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S092422441830147X>.

SONG, Jia; QIU, Huirui; DU, Peng; MOU, Fangming; NIE, Zhiqiang; ZHENG, Yu; WANG, Min. Polyphenols extracted from Shanxi-aged vinegar exert hypolipidemic effects on OA-induced HepG2 cells via the PPAR α -LXR α -ABCA1 pathway. **Journal of Food Biochemistry**, [S. l.], v. 46, n. 2, 2022. DOI: 10.1111/jfbc.14029. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jfbc.14029>.

SUBARI, Norazian; MOHAMAD SALEH, Junita; MD SHAKAFF, Ali; ZAKARIA, Ammar. A Hybrid Sensing Approach for Pure and Adulterated Honey Classification. **Sensors**, [S. l.], v. 12, n. 10, p. 14022–14040, 2012. DOI: 10.3390/s121014022. Disponível em: <http://www.mdpi.com/1424-8220/12/10/14022>.

VALAND, Reema; TANNA, Sangeeta; LAWSON, Graham; BENGSTSTRÖM, Linda. A review of Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy used in food adulteration and authenticity investigations. **Food Additives & Contaminants: Part A**, [S. l.], v. 37, n. 1, p. 19–38, 2020. DOI: 10.1080/19440049.2019.1675909. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/19440049.2019.1675909>.

VERMA, Govinda; MISHRA, Manish. Development and Optimization Of UV-Vis Spectroscopy - A Review. **World Journal of Pharmaceutical Research**, [S. l.], v. 7, n. 11, p. 1170–1180, 2018. DOI: 10.20959/wjpr201811-12333.

ZHOU, Zhilei; JIAN, Dongzhen; GONG, Min; ZHU, Shenghu; LI, Guoquan; ZHANG, Si; ZHONG, Fang; MAO, Jian. Characterization of the key aroma compounds in aged Zhenjiang aromatic vinegar by gas chromatography-olfactometry-mass spectrometry, quantitative measurements, aroma recombination and omission experiments. **Food Research International**, [S. l.], v. 136, p. 109434, 2020. DOI: 10.1016/j.foodres.2020.109434. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996920304592>.

CAPÍTULO 2:**Spectralprint techniques coupled with chemometric tools for vinegar classifications**

Vinícius Avanzi Barbosa Mascareli^a, Diego Galvan^{b,1}, Jelmir Craveiro de Andrade^{c,d,e}, Carini Lelis^{c,d,e}, Carlos Adam Conte-Junior^{c,d,e}, Giancarlo Michelino Gaeta Lopes^f, Fernando César de Macedo Júnior^g, Wilma Aparecida Spinosa^a

^a Department of Food Science and Technology, State University of Londrina (UEL), Londrina, PR 86.057-970, Brazil.

^b Institute of Chemistry, Federal University of Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande, MS, 79.070-900, Brazil.

^c Analytical and Molecular Laboratorial Center (CLAn), Institute of Chemistry (IQ), Federal University of Rio de Janeiro (UFRJ), Cidade Universitária, Rio de Janeiro, RJ, 21.941-909, Brazil.

^d Center for Food Analysis (NAL), Technological Development Support Laboratory (LADETEC), Federal University of Rio de Janeiro (UFRJ), Cidade Universitária, Rio de Janeiro, RJ, 21.941-598, Brazil.

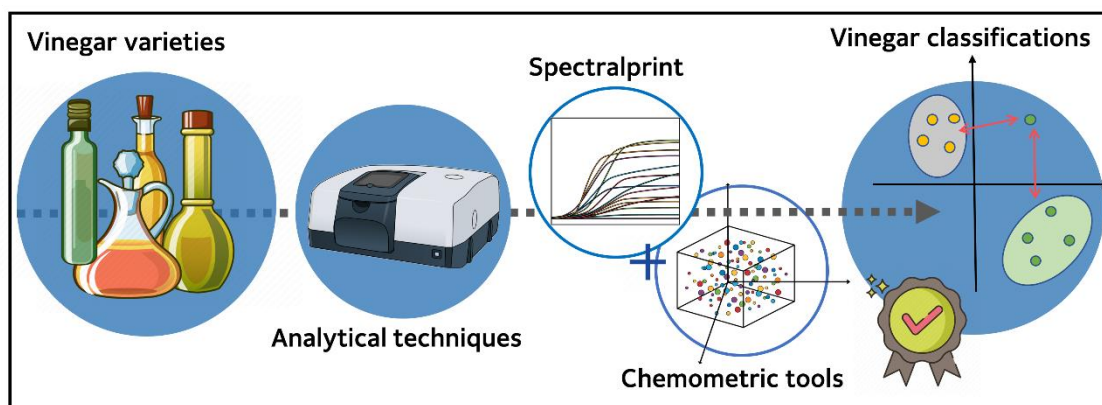
^e Graduate Program in Chemistry (PGQu), Institute of Chemistry (IQ), Federal University of Rio de Janeiro (UFRJ), Cidade Universitária, Rio de Janeiro, RJ, 21.941-909, Brazil.

^f Department of Electrical Engineering, State University of Londrina (UEL), Londrina, PR 86.057-970, Brazil.

^g Department of Chemistry, State University of Londrina (UEL), Londrina, PR 86.057-970, Brazil.

¹ Corresponding author: *D. Galvan. E-mail: diegogalvann@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8394-3431>. Institute of Chemistry, Federal University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Brazil.

Graphical abstract



Abstract

Vinegar is a versatile product used in many ways for food preservation, cooking, healthcare, and cleaning. In this study, 80 vinegar of different raw materials, aging time, and for the first time by the agronomic method of raw material cultivation were classified by four spectralprint techniques with chemometric. Datasets were obtained by proton nuclear magnetic resonance (^1H NMR), Fourier transforms mid-infrared (FT-IR), near-infrared (NIR), and ultraviolet-visible (UV-VIS); then evaluated by common dimension analysis (ComDim) and partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA). NMR with PLS-DA had the best prediction performance compared to other techniques, with accuracy values between 92.3-100%, followed by FT-IR and UV-VIS of 80.8-96.0% and NIR of 69.2-84.0%. The results indicated that the classification of vinegar according to the agronomic cultivation method is more complex than aging time or raw material classifications. However, any of these spectralprint techniques have demonstrated that they can be used in the classification of vinegar.

Keywords: fingerprint; spectroscopic technique; multivariate analysis; quality control; ComDim; organic product; aging; fruit fermented.

1. Introduction

Vinegar is a product of acetic fermentation of raw material rich in fermentable sugars or starch. Depending on the raw material of origin, its chemical formulation changes, but the main components are ethanoic acid, water, and other bioactive chemical species. Vinegar history is ancient and dates for more than 3 thousand years; however, this culture became popular in recent centuries with the production by the Orleans method, characterized by slow production, and the submerged method, a fast process with high yield (Santos Júnior et al., 2022).

The quality and price of vinegar are linked to raw materials, production processes, and product aging (Nie et al., 2019). Some vinegar has greater added value due to specific production processes or the appeal of a protected geographical indication (PGI) or protected designation of origin (PDO), and both situations result in unique characteristics of the product (Nie et al., 2019; Ríos-Reina et al., 2018). In addition, the appeal by consumers for products with potential health and environmental benefits has led to a growth in the production of organic products. Organic products can be “natural” or processed products obtained from a sustainable extractive process that is not harmful to the local ecosystem (Brasil, Ministério da Agricultura, 2020). Therefore, to be characterized as an organic product, vinegar must meet these criteria.

All these factors add commercial value to the product, making them susceptible to fraudulent practices (Capuano et al., 2013). The fraud practice can be applied in several ways within the vinegar industry, from altering the original chemical composition to disseminating false information; therefore, combating this food fraud is necessary (Cavdaroglu & Ozen, 2022; Consonni et al., 2008; Sáiz-Abajo et al., 2004). In Brazil, there is a Normative Instruction N°. 16 of March 19, 2020, which aims to maintain a standard of vinegar quality integrity. However, it is more focused on guaranteeing a chemical standard than preserving the identity of a genuine and quality product (Brasil, Ministério da Agricultura, 2020).

Therefore, there is a growing demand for fast, accurate, user-friendly, and low-cost analytical techniques to support identification, authentication, and fraud detection. Making it possible in the future, in addition to fraud confirmation, to generate historical data and knowledge to reduce vulnerability to fraud (Cavdaroglu & Ozen, 2022). In this sense, non-directed techniques detailing the food matrix through the construction of a fingerprint or "spectralprint" when spectroscopic methods based have been increasingly desirable (Boffo et al., 2009; Galvin-King et al., 2019; Ríos-Reina et al., 2021). On the other hand, these techniques generate a large volume of highly complex data that can be resolved with multivariate analysis (Galvan et al., 2021a).

Studies with spectralprint in vinegar are still discrete $n \sim 29$ between 2005 and 2020 (Ríos-Reina et al., 2021). Some of these studies classify vinegar according to raw material/production methods using near-infrared (NIR) spectroscopy (Sáiz-Abajo et al., 2004), fraud detection with Fourier transform mid-infrared (FT-IR), and ultraviolet-visible (UV-VIS) spectroscopy (Cavdaroglu & Ozen, 2022), authentication with nuclear magnetic resonance (NMR) (Papotti et al., 2015) and PDO authentication with FT-IR (Ríos-Reina et al., 2017). However, as far as we know, there are no works that investigate organic vinegar by spectralprint techniques. In this work, we studied the feasibility of different fast spectroscopic techniques with chemometric tools to differentiate commercial vinegar from Brazil by **(i)** organic and conventional, **(ii)** raw materials, and **(iii)** aging times supported by common dimension analysis (ComDim) and partial least squares with discriminant analysis (PLS-DA).

2. Experimental session

2.1. Vinegar samples

Eighty vinegar samples were used, categorized according to the types of raw material,

agronomic method of raw material cultivation, and aging time. All samples from different batches, produced using the rapid process method (or German) that make up this set are intended for Brazilian commerce and were obtained together with the industry that produces them, “Tecnologia em Saúde Indústria de Alimentos Ltda” - Assis, São Paulo, Brazil. Vinegars were stored in 100 mL sterilized plastic bottles at room temperature and free from light. Subsequently, identified by the category of raw material: fruit (**F**) or alcohol (**A**); and then by cultivation method: organic (**O**) or conventional (**C**); and finally by aging time: type I (**I**) or type (**II**), with years of manufacture between 2005 to 2015 (6 to 16 years) and 2016 to 2021 (1 to 5 years), respectively.

Raw materials used to manufacture organic vinegars comprise only fruit with the certification of organic products accredited by the Ministry of Agriculture, Livestock, and Supply and the National Institute of Metrology, Standardization and Industrial Quality (Brasil, 2020). Different raw materials are used in manufacturing vinegars, totaling 18 types, such as apple, grape, cereal alcohol, sugar cane alcohol, tropical fruits, citrus, and others. For more details, see **Figure S1** in the **Supplementary Material**.

2.2. Instrumentation

2.2.1. ¹H NMR

Aliquots of 550 μ L of each sample were diluted with 50 μ L of D₂O (99.9% D atom; Sigma-Aldrich) and then transferred to a 5 mm glass tube for analysis. Spectra were obtained in a single measurement using a 9.4 T Bruker Avance III spectrometer (400.13 MHz, ¹H frequency), equipped with a BBO (Broadband Observe) probe (5 mm o.d.) with a CPMG 1D pulse sequence (Carr-Purcell-Meiboom-Gill, Bruker Library). The spectra acquisition parameters were 20 ppm spectral width, 50 k digitized points, 128 scans, the 298 K, with an estimated acquisition time of 13 min. Some spectra processing was applied in the TopSpin

software (v4.1.1, Bruker Biospin), such as automatic phase/baseline corrections and suppression of the water analytical signal. The spectra were referenced based on the acetic acid signal ~ 2.1 ppm and then exported to ASCII format.

2.2.2. FTIR-ATR

A Shimadzu IRPrestige-21 FT-IR spectrometer equipped with an attenuated total reflectance (ATR) IRIS module with a diamond crystal plate (PIKE Technologies) was used for spectral acquisitions without any sample preparation. Measurements were performed in triplicate, from 10 μL of each sample, placed in direct contact with the area of the ATR accessory. Spectra acquisition parameters ranged from 4000 to 500 cm^{-1} , 64 scans with a resolution of 8 cm^{-1} at ambient conditions of 298 K, and relative humidity below 15%. Before each new acquisition, the crystal surface was cleaned with ultrapure water, and a new scan was performed to subtract the background from the actual spectra. Finally, the spectra were previously processed in the IRsolutions software (version 1.04), with the suppression of the CO_2 analytical signal band. Then the data were exported to ASCII format, and the triplicate averages were obtained.

2.2.3. UV-VIS

Before obtaining the UV-VIS spectra, the samples were diluted 1/100 (V/V) in ultrapure water to adjust the intensity of the spectral response. Then, 3.0 mL of each sample was transferred to a quartz cuvette with an optical path of 10 mm with a sample volume of 3.5 mL; the spectra were acquired in triplicate on a benchtop UV-VIS spectrophotometer, Cary model 60, at room temperature ~ 298 K. The scans were taken between 200 and 600 nm, using a spectral resolution of 1 nm expressed in absorbance. After the spectral acquisitions, the data were exported, and the triplicate average was obtained.

2.2.4. FT-NIR

For FT-NIR spectral acquisitions, a PerkinElmer Frontier benchtop spectrophotometer was used. The analyzes were performed in triplicate using the diffuse reflectance mode supported by the near infrared reflectance accessory (NIRA) coupled to the equipment. NIR acquisitions were performed together with UV-VIS using the same diluted samples. About 3 mL of sample (enough to cover the entire region of analysis) were directly inserted into a glass Petri dish used as a support. After acquiring the spectra, the support was washed with distilled water before performing a new acquisition. Spectra were acquired from 900 to 2500 nm, with a spectral resolution of 1 nm and an average of 32 scans at room temperature ~ 298 K. After the measurements, the averages of the spectra were obtained.

2.3. Chemometric tools

All pre-processing, processing and post-processing data were performed in internal routines built in Matlab[®] 2021a. Different chemometric approaches were evaluated using an unsupervised method with multi-block analysis by common dimension analysis (ComDim) and supervised classification with partial least squares with discriminant analysis (PLS-DA).

2.3.1. Spectra pre-treatment

Different pre-treatments for the samples and variables were applied for each spectral set to estimate the best classification performances for **(i)** agronomic method of raw material cultivation, **(ii)** aging time, and **(iii)** type of raw material used in the manufacture of the vinegars. Next, the pre-treatments given to NMR, FT-IR, NIR, and UV-VIS are described. For better visualization, see **Figure S2** of the **Supplementary Material**.

For NMR, different possibilities were evaluated: **(1)** spectra alignment with icoshift

using the 'max' option (Savorani et al., 2010) for reference to the acetic acid signal with a range of 1.9 to 2.1 ppm; **(2)** baseline correction using 'msbackadj' function with 'pchip' as a method to regression, for more details see 'help msbackadj' in Matlab software (MathWorks, 2022); **(3)** normalization by maximum (norm ∞), by the sum of the absolute values (norm 1) and euclidian (norm 2); and **(4)** spectrum from 0 to 4.5 ppm (no sign of water suppression). The FT-IR, NIR, and UV-VIS spectra were initially cut between 950-3900 cm^{-1} , 1050-2500 nm, and 195-450 nm, respectively; the original spectra were pre-processed by a mean smoother (noise and variable number reduction) to increase the S/N ratio for each of the three data sets, as recommended by Pedro and Ferreira (2005). Then, the following approaches were evaluated: **(5)** raw data; **(6)** 1^a and 2^a derivative with Savitzky-Golay (S-G) with different order and window-point; **(7)** standard normative variance (SNV) and multiplicative scatter correction (MSC); and **(8)** 1^a and 2^a derivative with MSC and SNV. In addition, different pre-processing for the variables in the four analytical techniques were evaluated by mean-centered, autoscaling, and Pareto scaling.

2.3.2. *ComDim*

ComDim algorithm is an unsupervised multiblock analysis method that finds a common space representation in a group of tables for the same n samples but with different variables. This algorithm has been used to compare different analysis techniques applied to the same sample group. In this case, it was used to compute weights (salience) that express the importance of each spectroscopic technique (NMR, FT-IR, NIR, and UV-VIS) for each common dimension (CD). Each CD extracted has a set of saliences, scores, and loadings. Where salience is the weight assigned to each data block for constructing a specific CD; and scores describe the projections of samples and loadings are the weights of the variables contained in each data block, analogous to the principal component analysis (PCA) (Aguiar et al., 2022).

2.3.3. *Samples selection*

For supervised analyses, samples were selected using the Kennard & Stone algorithm by dividing the sample set into training and test sets. In PLS-DA, 67% of samples from each class were used for training, and the remaining 33% for the test. This procedure was repeated for each analytical technique according to the type of raw material, agronomic method of cultivation of raw materials, and aging time. See the flowchart in **Figure S3** in **Supplementary Material**.

2.3.4. *PLS-DA*

PLS-DA is a discriminant classifiers algorithm that emerged from the PLS regression, where a linear relationship between the dependent variable (Y) and the independent variable matrix (X) is established based on PCA. The X and Y matrices are decomposed into the scores and loadings matrices applying the SIMPLS algorithm (Jong, 1993). In this method, there is a slight rotation in the principal components (PC) axis seeking the maximum covariance of X with Y, called latent variables (LVs). In PLS-DA, the Y matrix has a column for each class with information about sample classes (binary data) with a column value of 0 or 1. Thus, it is necessary to establish threshold values to define the class limits estimated by the Bayesian theorem (Ballabio & Consonni, 2013).

The PLS-DA models were obtained using the pretreated dataset spectra (X matrix) as input. The Y matrix was created to incorporate the type of raw material, agronomic method of cultivation, and aging time. The number of LVs in each model was chosen based on the root mean square error of cross-validation (RMSECV) performed by leave-one-out cross-validation (LOOCV). Based on the PLS-DA classification models, the most important signals for each dataset spectra were evaluated by variable importance projection (VIP) scores, which measure

each variable's contribution to the model (Farrés et al., 2015).

Outlier tests were also performed with the Q (square residuals of the X matrix) and T² (hotelling) statistics in the sample set. Samples with Q and T² values higher than the critical values are considered outliers with 95% accuracy.

2.3.5. Model performances

Model performances were evaluated based on root mean square error (RMSE), percentage of correct classification (PCC), area under the ROC curve (AUC), accuracy (ACC), sensitivity (SEN), specificity (SPE), and the Matthews correlation coefficient (MCC), see **Equation (1-4)**.

$$SEN = \frac{TP}{TP + FN} \quad (\text{Eq. 1})$$

$$SPE = \frac{TN}{TN + FP} \quad (\text{Eq. 2})$$

$$ACC = \frac{TN + TP}{TN + TP + FN + FP} \quad (\text{Eq. 3})$$

$$MCC = \frac{(TP \times TN) - (FP \times FN)}{\sqrt{(TP + FP)(TP + FN)(TN + FP)(TN + FN)}} \quad (\text{Eq. 4})$$

Where: TP – true positive samples, TN – true negative samples, FP – false positive samples and FN – false negative samples.

3. Results and discussion

3.1. Visual attributions of the spectra

Figure 1 shows the mean spectra of the vinegar samples by classes, that is, the type of raw material, agronomic method of cultivation, and aging time obtained by **(i)** NMR, **(ii)** FT-IR, **(iii)** NIR, and **(iv)** UV-VIS. In general, the mean spectral profiles between classes are very similar with subtle differences; however, it is noted that the classes of organic alcohol vinegar

aged up to 1-5 and 6-16 years of aging (O-I-A and O-II-A) showed greater variations. This profile may be associated with the ability of reminiscent acetic acid bacteria ability to generate the so-called acetate overoxidation during aging, providing a difference in acetic acid concentrations, the main compound in white distilled vinegar (Mamlouk & Gullo, 2013). Another similar behavior was observed in the UV-VIS spectra for the conventional and organic fruit vinegar classes aged up to 6-16 years (C-I-F and O-I-F). Such differences between the UV-VIS spectra may be associated with higher concentrations of chromophore compounds released by biotransformations that occur during long aging times (Callejón et al., 2010; Cozzolino et al., 2009; Ríos-Reina et al., 2018).

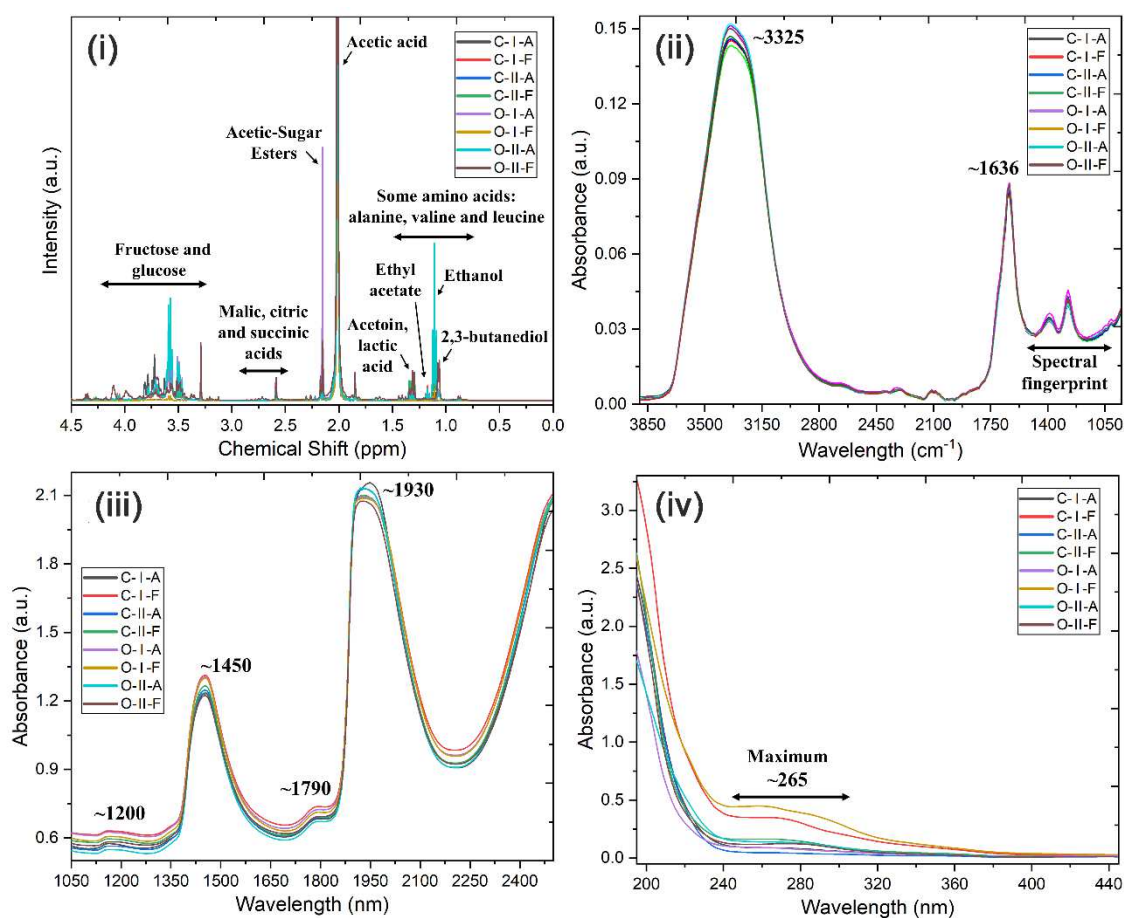


Figure 1 - Mean spectra for the different classes of vinegar obtained by (i) NMR, (ii) FT-IR, (iii) NIR, and (iv) UV-VIS. Defined as: conventional aged (6-16 years) alcohol vinegar (C-I-A), conventional aged (6-16 years) fruit vinegar (C-I-F), conventional aged (1-5 years) alcohol

vinegar (**C-II-A**), conventional aged (1-5 years) fruit vinegar (**C-II-F**), organic aged (6-16 years) alcohol vinegar (**O-I-A**), organic aged (6-16 years) fruit vinegar (**O-I-F**), organic aged (1-5 years) alcohol vinegar (**O-II-A**), organic aged (1-5 years) fruit vinegar (**O-II-F**).

^1H NMR spectra (**Figure 1i**) can be divided into different regions, one predominated by carbohydrates, with the presence of glucose and fructose between ~ 3.1 and 4.2 ppm; one by some organic acids such as acetic, malic, citric, and succinic acid between ~ 1.9 and 3.0 ppm; and a more complex one consisting of alcohols, polyols, organic acids, amino acids and volatile substances, including ethanol, acetoin, 2,3-butanediol, lactic acid, alanine, leucine, valine, and ethyl acetate between ~ 0.75 to 1.75 ppm (Boffo et al., 2009; Caligiani et al., 2007).

FT-IR spectra (**Figure 1ii**) showed an intense band at $\sim 3325\text{ cm}^{-1}$ attributed to the O–H bond of water/acetic acid and another band at $\sim 1636\text{ cm}^{-1}$ referring to the C=O bond mainly of acetic acid. Other bands with lower intensities were observed in the fingerprint region between ~ 1475 and $\sim 1185\text{ cm}^{-1}$; this region contains a highly complex series of absorptions mainly due to all manner of bending vibrations within the molecule, which here can be represented by aldehydes, esters, ethers, organic acids, sugars, and others (Moros et al., 2008; Ríos-Reina et al., 2017; Silva et al., 2014).

NIR spectra (**Figure 1iii**) follow the same trend, with two intense absorption bands at ~ 1450 and $\sim 1930\text{ nm}$ related to the first and second overtones regions associated with CH, $\text{RCO}_2\text{R}'$, CONH_2 , ROH, H_2O , which can be attributed to acetic acid, ethanol, and water that make up the majority of vinegar. Two other bands in the first and second overtones region with lower intensities are noted at ~ 1200 and $\sim 1790\text{ nm}$, which may be associated with the stretch and deformation vibration $-\text{CH}_3$, C–H, and O–H associated with acetic acid, chemical compounds aromatics, sucrose, fructose, and glucose (Ríos-Reina et al., 2018).

UV-VIS bands are usually quite broad and difficult to associate with single chromophores in complex matrices such as vinegar. In general, the UV-VIS spectra (**Figure**

iv) had a greater spectral difference between ~250 and 300 nm with a maximum absorbance of ~265 nm, possibly attributed to aromatic compounds, such as phenolic compounds, organic acids, and other chromophores, with ROH e RCO₂R' groups (Cavdaroglu & Ozen, 2022). In contrast, UV-VIS can be considered limited in fingerprinting compared to other spectroscopic techniques since chemical information is less abundant (Ríos-Reina et al., 2021).

In general, all these analytical techniques generate a large volume of highly complex data; added to these factors, the quantity/variability of the vinegar samples makes it even more challenging to interpret the results viably; therefore, the need to use multivariate analysis tools is notable (Galvan et al., 2021a).

3.2. Multi-block analysis

Multi-block analysis was applied to the sets of spectra to verify the ability of simultaneous grouping of the samples according to the type of raw material, agronomic method of cultivation, and aging time. The analysis indicated that all common information for each sample set was contained in the first eight CDs, with an accumulated variance of 99.9%. Furthermore, the values of saliences in **Table 1** indicate that the spectral information produced by the instrumental techniques are different and complementary, as the saliences for each technique prevailed in a given CD.

Table 1 - Saliences of each analytical technique for each common dimension.

Table	CD1	CD2	CD3	CD4	CD5	CD6	CD7	CD8	Accumulated variance (%)
NMR	0.88	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	89.4
FT-IR	0.01	0.02	0.74	0.01	0.18	0.00	0.00	0.00	95.1
NIR	0.04	0.02	0.01	0.69	0.00	0.14	0.06	0.00	96.5

UV-VIS	0.01	0.88	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	96.6
CD variance (%)	50.8	21.5	14.0	12.0	0.9	0.5	0.1	0.1	99.9
Total accumulated variance (%)	50.8	72.3	86.3	98.3	99.2	99.7	99.8	99.9	

* bold: predominant salience on each common dimension.

Combining the results between the techniques by the ComDim analysis allows a simultaneous evaluation of the data and a better interpretation of the results. This way, it is possible to infer the consensus more accurately between the different techniques and assess the similarities between the vinegar classes. **Figure 2** shows the score charts for the first four CDs. In general, it is possible to notice that the three possibilities of discrimination between the classes checked using an unsupervised analysis method were subtle since there was a large overlap of samples in all cases. Several other factors may have a more decisive influence on the fingerprint profiles of vinegar than the type of raw material, agronomic method, or aging time; therefore, higher-order CDs than those verified may be required to have class discrimination. **Figure S4** shows the loadings for first 8 CDs for each predominant analytical technique. Then the next step was the application of a supervised method of analysis, whose main objective was to describe the differences between the vinegar classes (Galvan et al., 2021a).

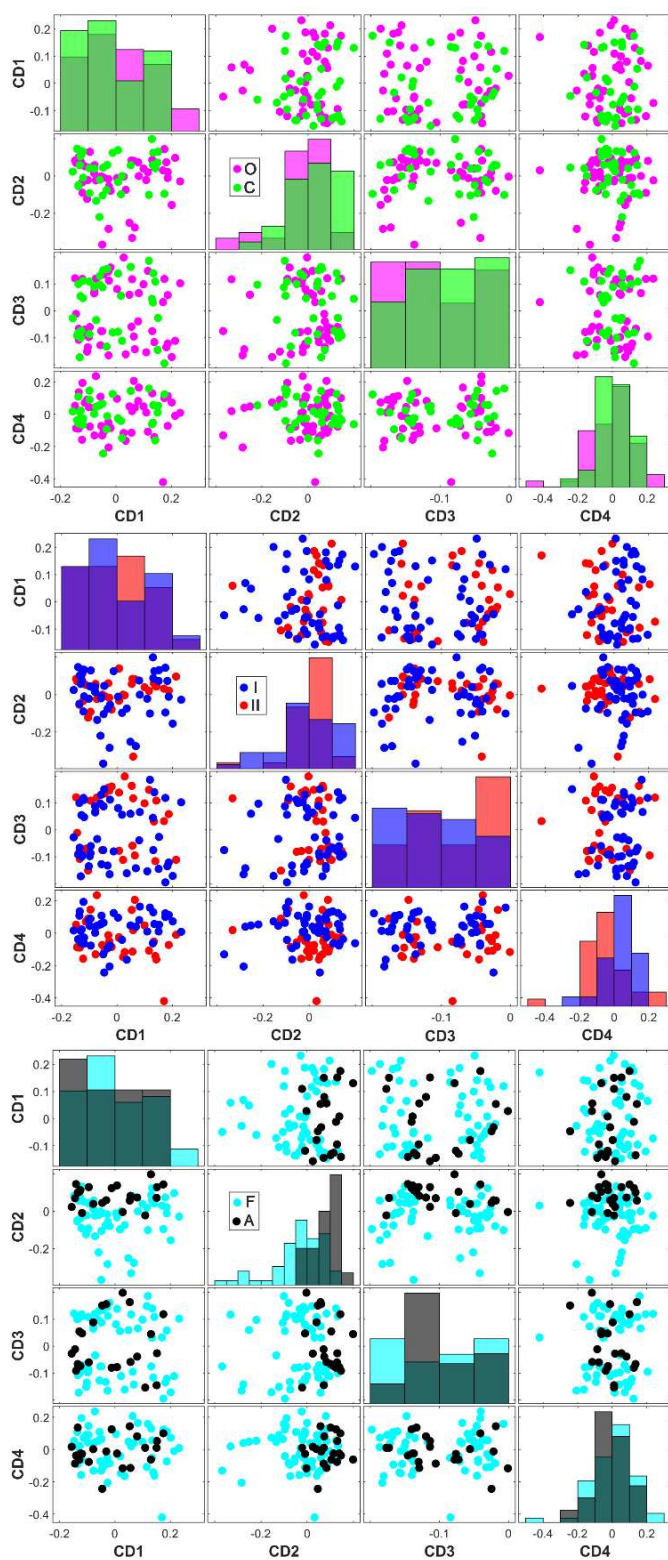


Figure 2 - Score plot for the first four CDs obtained by ComDim from the NMR, FT-IR, NIR, and UV-VIS spectra for the agronomic method of cultivation (**top**), aging time (**center**), and type of raw material (**bottom**). Where: organic (O), conventional (C), aged for 6-16 years (I),

1-5 years (**II**), fruit (**F**), and alcohol (**A**).

3.3. Supervised classification

Several pre-treatment possibilities for NMR, FT-IR, NIR, and UV-VIS data were evaluated, totaling 387 possible combinations. **Table 2** summarizes the PLS-DA models with the best classification performance for each proposed approach. Some criteria can be used to evaluate the performance of classification models, such as sensitivity, specificity, and accuracy, as well as a more comprehensive assessment by the MCC (Oliveri & Downey, 2012). In this context, excellent classification performances were obtained, considering the number of LVs according to the RMSECV values carried out by LOOCV. In addition, the RMSE, AUC, and PCC values for training and test were also checked to ensure no overfitting in the models, see **Table S1** in the **Supplementary Material**.

Table 2 - Performance of the best PLS-DA classification models for each proposed approach

Organic and conventional																				
Analytical technique	Transformation	Pre-processing	Training										Test							
			LVs	Class	FN	TP	FP	TN	MCC	ACC	SEN	SPE	FN	TP	FP	TN	MCC	ACC	SEN	SPE
NMR	Norm 1 + Alignment	Pareto scaling	7	O	1	30	1	22	0.92	96.3	96.8	95.7	1	14	1	10	0.84	92.3	93.3	90.9
				C	1	22	1	30	0.92	96.3	95.7	96.8	1	10	1	14	0.84	92.3	90.9	93.3
FT-IR	Raw data + MSC	Autoscaling	9	O	1	30	7	16	0.71	85.2	96.8	69.6	3	12	2	9	0.61	80.8	80.0	81.8
				C	7	16	1	30	0.71	85.2	69.6	96.8	2	9	3	12	0.61	80.8	81.8	80.0
NIR	2 nd derivative with S-G (4 th order, 21 window-point)	Pareto scaling	5	O	0	31	4	19	0.86	92.6	100.0	82.6	4	11	4	7	0.37	69.2	73.3	63.6
				C	4	19	0	31	0.86	92.6	82.6	100.0	4	7	4	11	0.37	69.2	63.6	73.3
UV-VIS	1 st derivative with S-G (2 nd order, 7 window-point)	Autoscaling	8	O	2	29	4	19	0.77	88.9	93.5	82.6	3	12	0	11	0.79	88.5	80.0	100.0
				C	4	19	2	29	0.77	88.9	82.6	93.5	0	11	3	12	0.79	88.5	100.0	80.0
Aged 1-5 and 6-16 years																				
Analytical	Transformation	Pre-processing	Training										Test							

technique		LVs	Class	FN	TP	FP	TN	MCC	ACC	SEN	SPE	FN	TP	FP	TN	MCC	ACC	SEN	SPE	
NMR	Raw data	Pareto scaling	5	I	0	32	1	20	0.96	98.1	100.0	95.2	0	16	1	10	0.92	96.3	100.0	90.9
				II	1	20	0	32	0.96	98.1	95.2	100.0	1	10	0	16	0.92	96.3	90.9	100.0
FT-IR	2 nd derivative with S-G (4 th order, 11 window-point)	Autoscaling	9	I	1	31	0	21	0.96	98.1	96.9	100.0	0	16	2	9	0.85	92.6	100.0	81.8
				II	0	21	1	31	0.96	98.1	100.0	96.9	2	9	0	16	0.85	92.6	81.8	100.0
NIR	2 nd derivative with S-G (4 th order, 7 window-point)	Pareto scaling	2	I	0	32	0	21	1.00	100.0	100.0	100.0	3	13	4	7	0.46	74.1	81.3	63.6
				II	0	21	0	32	1.00	100.0	100.0	100.0	4	7	3	13	0.46	74.1	63.6	81.3
UV-VIS	2 nd derivative with S-G (2 nd order, 21 window-point)	Pareto scaling	5	I	1	31	2	19	0.88	94.3	96.9	90.5	2	14	1	10	0.78	88.9	87.5	90.9
				II	2	19	1	31	0.88	94.3	90.5	96.9	1	10	2	14	0.78	88.9	90.9	87.5
Alcohol and fruit																				
Analytical	Transformation	Pre-processing	Training										Test							
technique			LVs	Class	FN	TP	FP	TN	MCC	ACC	SEN	SPE	FN	TP	FP	TN	MCC	ACC	SEN	SPE
NMR	Alignment + Baseline correction	Autoscaling	5	F	0	38	0	15	1.00	100.0	100.0	100.0	0	18	0	7	1.00	100.0	100.0	100.0
				A	0	15	0	38	1.00	100.0	100.0	100.0	0	7	0	18	1.00	100.0	100.0	100.0
FT-IR	2 nd derivative with S-G (4 th order)	Pareto scaling	4	F	2	36	2	13	0.81	92.5	94.7	86.7	0	18	1	6	0.90	96.0	100	85.71

	order, 11 window-point)			A	2	13	2	36	0.81	92.5	86.7	94.7	1	6	0	18	0.90	96.0	85.7	100.0
NIR	2 nd derivative with S-G (4 th	Autoscaling	5	F	2	36	4	11	0.71	88.7	94.7	73.3	1	17	3	4	0.58	84.0	94.4	57.1
	order, 21 window-point)			A	4	11	2	36	0.71	88.7	73.3	94.7	3	4	1	17	0.58	84.0	57.1	94.4
UV-VIS	2 nd derivative with S-G (2 nd	Autoscaling	6	F	0	38	3	12	0.86	94.3	100.0	80.0	2	16	0	7	0.83	92.0	88.9	100.0
	order, 21 window-point)			A	3	12	0	38	0.86	94.3	80.0	100.0	0	7	2	16	0.83	92.0	100.0	88.9

Where: organic (**O**), conventional (**C**), fruit (**F**), alcohol (**A**), aged for up to 6-10 years (**I**), aged for up to 1-5 years (**II**), latent variables (**LVs**), Matthews correlation coefficient (**MCC**), accuracy (**ACC**), sensitivity (**SEN**), specificity (**SPE**), false positive (**FP**), true positive (**TP**), false negative (**FN**), and true negative (**TN**) rates.

Table 2 shows that the NMR data combined with PLS-DA had superior classification performances in all cases compared to the other analytical techniques. Overall, the NMR with PLS-DA models had MCC values between 0.84 and 1.00, see **Figure 3**. MCC is preferable to evaluate models' performance, as it considers the equilibrium index between classes, in which values of +1 indicate that all samples are perfectly classified (Oliveri & Downey, 2012). Higher performances were already expected for the NMR; since it is currently one of the most powerful analytical techniques available for chemical and biochemical elucidation, providing highly informative spectra about the purity of a given substance, molecular chemical environment, chemical bonds, and stereochemistry of atoms (Ates et al., 2021).

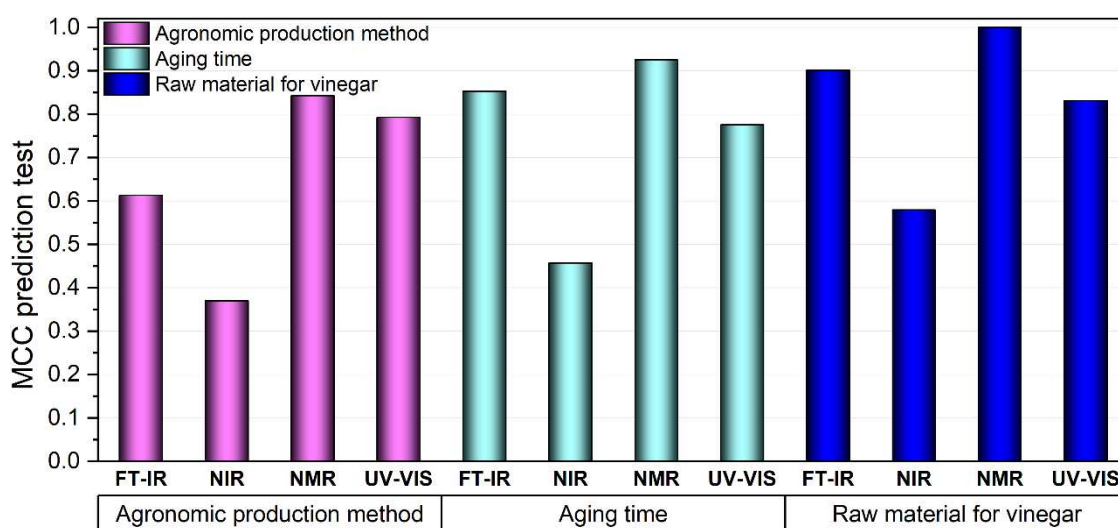


Figure 3 – Matthews correlation coefficient (MCC) values of the test set for PLS-DA models according to the agronomic production method (left), aging time (middle), and the type of raw material (right).

If a decrease in performance is tolerable, FT-IR and UV-VIS with PLS-DA also proved to be good analytical techniques, with MCC values between 0.61 and 0.90. These results suggest that FT-IR and UV-VIS can be used as screening tools to classify vinegar

samples according to the agronomic cultivation method, aging time, and the type of raw material used to manufacture vinegar. In addition, these techniques have instrumental acquisition and operating costs that are relatively lower than NMR and do not require sample preparation or skilled labor to perform the measurements (Galvan et al., 2021b). In contrast, the combinations between NIR with PLS-DA checked had poor MCC values, between 0.37 and 0.58. A plausible explanation for this can be attributed to the sample since vinegar is not clear a liquid as water, and the scattering characteristics of the samples are stronger and require optical path length adjustments (Ríos-Reina et al., 2021).

Figure 4 presents the VIP score indicators for the variables that most contributed to the classification of each vinegar class using NMR, FT-IR, NIR, and UV-VIS data; as a criterion, a VIP value greater than 1 is considered important (Farrés et al., 2015). According to **Figure 4i**, the highest VIP scores for NMR are across the entire spectrum, distributed among regions dominated by some carbohydrates, organic acids, alcohols, polyols, and amino acids. These results demonstrate the difficulty in classifying organic vinegars and conventional, because a series of compounds were the main ones responsible for classifying the samples. However, it should be noted that the PLS-DA model with 7 LVs presented only two samples misclassified in the test set.

Previous studies have reported that recognizing metabolomic fingerprints in fruit/vegetables grown by the organic and conventional methods is challenging, as they vary less than other external sources, such as climatic, botanical factors, and stage of maturation, among others. However, some considerations have already been postulated, and normally samples cultivated by the organic method have higher contents of vitamins, minerals, amino acids, organic acids, and phenolic compounds (Demir et al., 2010; Novotná et al., 2012). Therefore, it is assumed that the impact of agricultural practices influences the respective cellular processes and, thus, the chemical profile of the samples.

Studies on organic vinegar are still scarce; however, an initial study compared the bacterial microbiota of acetic apple fermented conventional and organic origin and made it possible to verify that the microbiota of organic vinegar proved to be more heterogeneous, thus being able to positively influence the chemical composition and the sensory quality of the vinegar (Štornik et al., 2016).

FTIR-ATR technique is more sensitive than NIR and has a shorter analysis time than FTIR conventional (Liu & Kazarian, 2022). In the FT-IR data, the most predominant VIP scores were in the fingerprint region of the spectrum between 1400 and 1000 cm^{-1} , with greater variability of chemical information in this region, see **Figure 4ii**. Similarly, a study of wines produced in organic and conventional systems using FT-IR with PLS-DA also showed that many chemical compounds in this region could contribute to the discrimination of samples, including phenolic compounds and volatile and non-volatile compounds (Cozzolino et al., 2009).

Due to the intrinsic characteristics of the techniques, the assignment of signals in the NIR and UV-VIS spectra is not trivial. However, it is noted that the most important VIP scores for the NIR were between 1900 and 2000 nm, which correspond to the first overtone region associated with the $\text{RCO}_2\text{R}'$, CONH_2 , and H_2O (**Figure 4iii**); for UV-VIS, the initial region of the spectra between 195 and 300 nm which may be attributed to some chromophore agents present in each class of vinegar (**Figure 4iv**). Although the UV-VIS bands are quite broad, it is not easy to associate a single chromophore with spectra of complex matrices such as vinegar (Ríos-Reina et al., 2021).

VIP scores for the classification of vinegar according to aging time. Again, the VIP scores for NMR are distributed over the entire spectrum region, i.e., several compounds were responsible for classifying the vinegar samples with 1-5 and 6-16 years of aging, this classification was created according by Balsamic and Jerez Vinegars characteristics,

both popular for having different aging times, which implies in their composition variance, see **Figure 4v**; where the PLS-DA model with 5 LVs presented only one misclassified sample for the test set (Consonni et al., 2008; García Parrilla et al., 1999). During vinegar aging, a series of bioactive compounds and nutrients, such as polyphenols, melanoidins, minerals, vitamins, amino acids, and sugars, undergo biochemical and physical-chemical transformations due to the raw material and aging time (Nie et al., 2019; Xia et al., 2020). Promising studies have successfully applied ^1H NMR with chemometrics to differentiate vinegar, showing that different biomarkers can be identified according to the raw material or during maturation/aging (Consonni et al., 2008; Hsieh et al., 2013).

For FT-IR, the VIP scores also followed the same trend, with the fingerprint region of the spectrum being one of the most important, see **Figure 4vi**. In contrast, the NIR and UV-VIS data had a drastic change in the VIP scores profile, with the scores for the NIR now distributed between the second and first overtone regions at ~ 1450 and ~ 1930 nm, respectively (**Figure 4vii**). Absorption bands around ~ 1690 nm may also be related to chemical compounds that change during aging, widely described in the literature (Callejón et al., 2010; Tesfaye et al., 2004), as aromatic compounds and esters that increase in concentration during aging or phenolic compounds released by wooden barrels or oxidation products derived from chemical reactions (Callejón et al., 2010; Cozzolino et al., 2009; Li et al., 2021; Ríos-Reina et al., 2018). While the UV-VIS data, the VIP scores predominated throughout the spectral region evaluated, see **Figure 4viii**.

Finally, VIP scores for classifying vinegar produced using fruit or alcohol as raw materials. This time, the VIP scores profile for NMR spectra had changed, the carbohydrates regions between ~ 3.1 to 4.2 ppm and the region of alcohols, polyols, organic acids, amino acids, and volatile substances between ~ 0.75 at 1.75 ppm, the most

important, see **Figure 4ix**. It is known that fruit vinegar has a relatively higher concentration of phenolic compounds, carbohydrates, and specific amino acids than other types (Boffo et al., 2009). Compared to the other classifications, these results suggest that the classification of fruit and alcohol vinegar is less complex because a smaller amount of compounds was required for classification; in addition, the PLS-DA model with 5 LVs had no misclassified samples for the test set.

Again, FT-IR spectra had more predominant VIP scores in the fingerprint region of the spectrum between 1600 and 1000 cm^{-1} (**Figure 4x**), while NIR (**Figure 4xi**) and UV-VIS (**Figure 4xii**) spectra had a homogeneous distribution of the VIP scores for all spectral regions considered. Similarly, studies with IR spectroscopy supported by chemometrics tools have generated good classification performances for vinegar produced from different raw materials, such as wine, cereals, and fruit (Cavdaroglu & Ozen, 2022; Sáiz-Abajo et al., 2004; Xie et al., 2012).

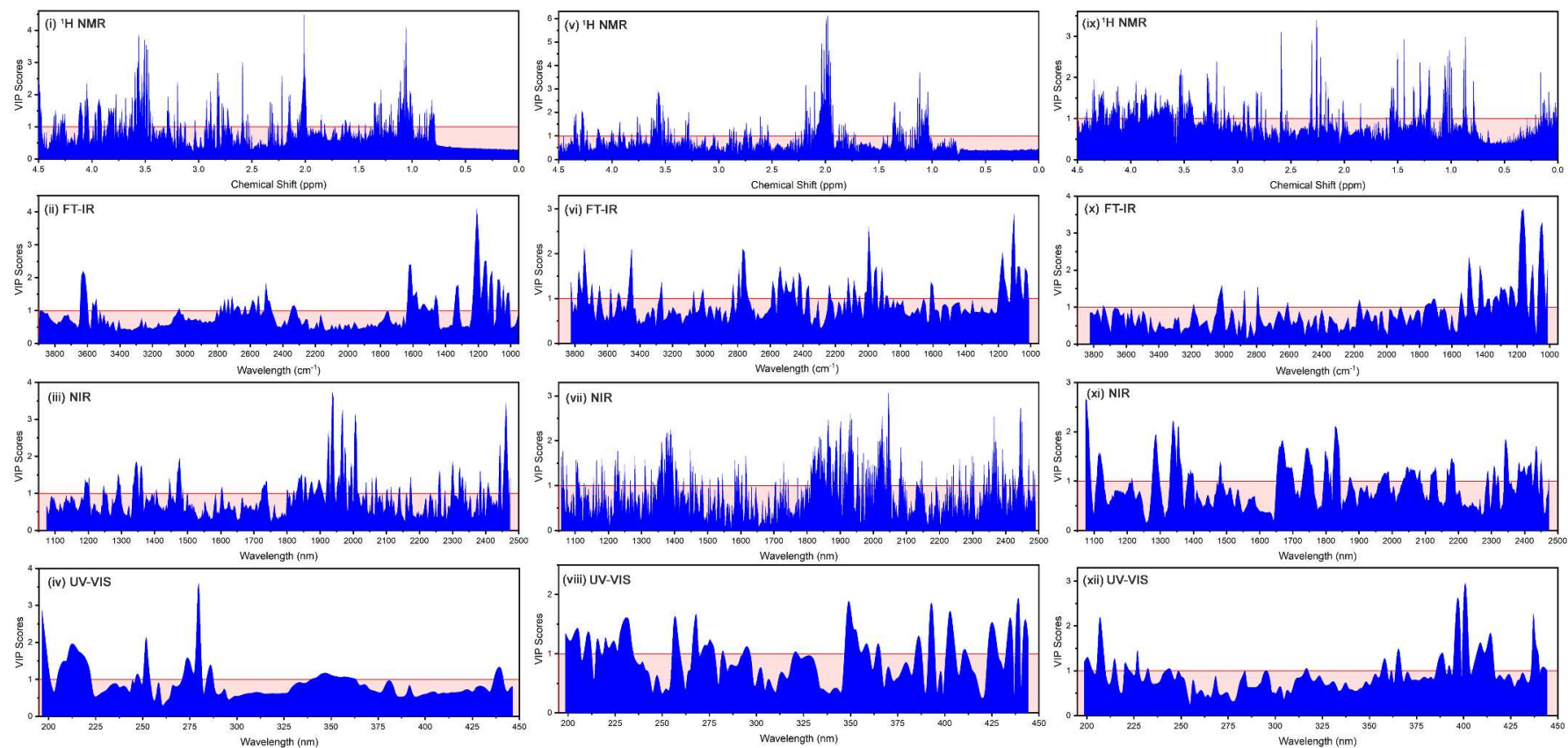


Figure 4 – Variable importance projection (VIP) scores for the classification by agronomic method of raw material cultivation (**left**), by aging time (**middle**), and by types of raw material (**right**) for ^1H NMR, FT-IR, NIR, and UV-VIS.

4. Conclusion

The combined use of spectralprint techniques with chemometric tools proved an excellent alternative to discriminate vinegar samples according to the agronomic mode of production, aging time, and type of raw material used in production. Of the four spectroscopy techniques evaluated, NMR presented the best classification performances in all the tested approaches, followed by FT-IR and UV-VIS, which had equivalent performances, and finally, NIR with poor classification performances.

In general, the results indicated that the classification of vinegar according to the agronomic cultivation method (organic or conventional) is more complex than the classifications by aging time or type of raw material. This behavior can be attributed to other external sources of more significant variation, such as climatic, botanical, maturation stage, and raw material, among others, than the agronomic cultivation method.

These results indicated that the four spectralprint techniques are suitable for vinegar classification, some more expensive and more accurate, others more accessible and less accurate. The choice of a technique depends exclusively on financial resources and the purpose of the application, although any of them can be used for identification, authentication, and fraud detection.

5. Acknowledgments

The authors also thank the Spectroscopy Laboratory (LABSPEC) – UEL for support with the NMR analyses and the Laboratory (LAABBM) – IQ-UFRJ for support with FT-IR analysis. The financial support provided by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) – grant number [307846/2020-2]; the Federal University of Mato Grosso do Sul (UFMS)/Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência, e Tecnologia de Mato Grosso do Sul (Fundect/MS) — grant number [23104.016018/2022-84], Fundação de

Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) Brazil — grant number [E-26/201.534/2022]. This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001.

6. References

- Aguiar, L. M., Galvan, D., Bona, E., Colnago, L. A., & Killner, M. H. M. (2022). Data fusion of middle-resolution NMR spectroscopy and low-field relaxometry using the Common Dimensions Analysis (ComDim) to monitor diesel fuel adulteration. *Talanta*, 236(June 2021). <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.122838>
- Ates, E. G., Domenici, V., Florek-Wojciechowska, M., Gradišek, A., Kruk, D., Maltar-Strmečki, N., Oztop, M., Ozvural, E. B., & Rollet, A. L. (2021). Field-dependent NMR relaxometry for Food Science: Applications and perspectives. *Trends in Food Science and Technology*, 110(August 2020), 513–524. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.026>
- Ballabio, D., & Consonni, V. (2013). Classification tools in chemistry. Part 1: Linear models. PLS-DA. *Analytical Methods*, 5(16), 3790–3798. <https://doi.org/10.1039/c3ay40582f>
- Boffo, E. F., Tavares, L. A., Ferreira, M. M. C., & Ferreira, A. G. (2009). Classification of Brazilian vinegars according to their ¹H NMR spectra by pattern recognition analysis. *LWT - Food Science and Technology*, 42(9), 1455–1460. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.05.008>
- Brasil, Ministério da Agricultura, P. e A. (2020). Instrução Normativa, nº16, de 19 de Março de 2020 e nº 17 de 28 de maio de 2009. In *Diário Oficial da República Federal do Brasil* (8.918; p. 2). 2009. <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-no-16-de-19-de-marco-de-2020-249311176>
- Caligiani, A., Acquotti, D., Palla, G., & Bocchi, V. (2007). Identification and quantification of

- the main organic components of vinegars by high resolution ^1H NMR spectroscopy. *Analytica Chimica Acta*, 585(1), 110–119. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.12.016>
- Callejón, R. M., Torija, M. J., Mas, A., Morales, M. L., & Troncoso, A. M. (2010). Changes of volatile compounds in wine vinegars during their elaboration in barrels made from different woods. *Food Chemistry*, 120(2), 561–571. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.026>
- Capuano, E., Boerrigter-Eenling, R., van der Veer, G., & van Ruth, S. M. (2013). Analytical authentication of organic products: An overview of markers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(1), 12–28. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5914>
- Cavdaroglu, C., & Ozen, B. (2022). Detection of vinegar adulteration with spirit vinegar and acetic acid using UV–visible and Fourier transform infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, 379(August 2021), 132150. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132150>
- Consonni, R., Cagliani, L. R., Benevelli, F., Spraul, M., Humpfer, E., & Stocchero, M. (2008). NMR and Chemometric methods: A powerful combination for characterization of Balsamic and Traditional Balsamic Vinegar of Modena. *Analytica Chimica Acta*, 611(1), 31–40. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.01.065>
- Cozzolino, D., Holdstock, M., Damberg, R. G., Cynkar, W. U., & Smith, P. A. (2009). Mid infrared spectroscopy and multivariate analysis: A tool to discriminate between organic and non-organic wines grown in Australia. *Food Chemistry*, 116(3), 761–765. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.03.022>
- Demir, K., Sahin, O., Kadioglu, Y. K., Pilbeam, D. J., & Gunes, A. (2010). Essential and non-essential element composition of tomato plants fertilized with poultry manure. *Scientia Horticulturae*, 127(1), 16–22. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.08.009>
- Farrés, M., Platikanov, S., Tsakovski, S., & Tauler, R. (2015). Comparison of the variable importance in projection (VIP) and of the selectivity ratio (SR) methods for variable

- selection and interpretation. *Journal of Chemometrics*, 29(10), 528–536.
<https://doi.org/10.1002/cem.2736>
- Galvan, D., Aquino, A., Effting, L., Mantovani, A. C. G., Bona, E., & Conte-Junior, C. A. (2021a). E-sensing and nanoscale-sensing devices associated with data processing algorithms applied to food quality control: a systematic review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 0(0), 1–41. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1903384>
- Galvan, D., Tanamati, A. A. C., Casanova, F., Danieli, E., Bona, E., & Killner, M. H. M. (2021b). Compact low-field NMR spectroscopy and chemometrics applied to the analysis of edible oils. *Food Chemistry*, 365(June), 130476.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130476>
- Galvin-King, P., Haughey, S. A., Montgomery, H., & Elliott, C. T. (2019). The rapid detection of sage adulteration using Fourier transform infra-red (FTIR) spectroscopy and chemometrics. *Journal of AOAC International*, 102(2), 354–362.
<https://doi.org/10.5740/jaoacint.18-0341>
- García Parrilla, M. C., Heredia, F. J., & Troncoso, A. M. (1999). Sherry wine vinegars: Phenolic composition changes during aging. *Food Research International*, 32(6), 433–440.
[https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(99\)00105-2](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(99)00105-2)
- Hsieh, C. W., Li, P. H., Cheng, J. Y., & Ma, J. T. (2013). Using SNIF-NMR method to identify the adulteration of molasses spirit vinegar by synthetic acetic acid in rice vinegar. *Industrial Crops and Products*, 50, 904–908.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.08.014>
- Jong, S. (1993). SIMPLS: an alternative approach to partial least squares regression. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 18, 251–263.
- Li, H., Ming, X., Liu, Z., Xu, L., Xu, D., Hu, L., Mo, H., & Zhou, X. (2021). Accelerating vinegar aging by combination of ultrasonic and magnetic field assistance. *Ultrasonics*

- Sonochemistry*, 78, 105708. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105708>
- Liu, G. L., & Kazarian, S. G. (2022). Recent advances and applications to cultural heritage using ATR-FTIR spectroscopy and ATR-FTIR spectroscopic imaging. *Analyst*, 147(9), 1777–1797. <https://doi.org/10.1039/d2an00005a>
- Mamlouk, D., & Gullo, M. (2013). Acetic Acid Bacteria: Physiology and Carbon Sources Oxidation. *Indian Journal of Microbiology*, 53(4), 377–384. <https://doi.org/10.1007/s12088-013-0414-z>
- MathWorks. (2022). *Correct baseline of signal with peaks*. MathWorks. <https://www.mathworks.com/help/bioinfo/ref/msbackadj.html>
- Moros, J., Iñón, F. A., Garrigues, S., & de la Guardia, M. (2008). Determination of vinegar acidity by attenuated total reflectance infrared measurements through the use of second-order absorbance-pH matrices and parallel factor analysis. *Talanta*, 74(4), 632–641. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.06.046>
- Nie, J., Li, Y., Xing, J., Chao, J., Qin, X., & Li, Z. (2019). Comparison of two types of vinegar with different aging times by NMR-based metabolomic approach. *Journal of Food Biochemistry*, 43(5), 1–11. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12835>
- Novotná, H., Kmiecik, O., Gałazka, M., Krtková, V., Hurajová, A., Schulzová, V., Hallmann, E., Rembiałkowska, E., & Hajšlová, J. (2012). Metabolomic fingerprinting employing DART-TOFMS for authentication of tomatoes and peppers from organic and conventional farming. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 29(9), 1335–1346. <https://doi.org/10.1080/19440049.2012.690348>
- Oliveri, P., & Downey, G. (2012). Multivariate class modeling for the verification of food-authenticity claims. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 35, 74–86. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.02.005>

- Papotti, G., Bertelli, D., Graziosi, R., Maietti, A., Tedeschi, P., Marchetti, A., & Plessi, M. (2015). Traditional balsamic vinegar and balsamic vinegar of Modena analyzed by nuclear magnetic resonance spectroscopy coupled with multivariate data analysis. *Lwt*, *60*(2), 1017–1024. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.10.042>
- Pedro, A. M. K., & Ferreira, M. M. C. (2005). Nondestructive determination of solids and carotenoids in tomato products by near-infrared spectroscopy and multivariate calibration. *Analytical Chemistry*, *77*(8), 2505–2511. <https://doi.org/10.1021/ac048651r>
- Ríos-Reina, R., Callejón, R. M., Oliver-Pozo, C., Amigo, J. M., & García-González, D. L. (2017). ATR-FTIR as a potential tool for controlling high quality vinegar categories. *Food Control*, *78*, 230–237. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.02.065>
- Ríos-Reina, R., Camiña, J. M., Callejón, R. M., & Azcarate, S. M. (2021). Spectralprint techniques for wine and vinegar characterization, authentication and quality control: Advances and projections. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, *134*. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.116121>
- Ríos-Reina, R., García-González, D. L., Callejón, R. M., & Amigo, J. M. (2018). NIR spectroscopy and chemometrics for the typification of Spanish wine vinegars with a protected designation of origin. *Food Control*, *89*, 108–116. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.01.031>
- Sáiz-Abajo, M. J., González-Sáiz, J. M., & Pizarro, C. (2004). Classification of wine and alcohol vinegar samples based on near-infrared spectroscopy. Feasibility study on the detection of adulterated vinegar samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*(25), 7711–7719. <https://doi.org/10.1021/jf049098h>
- Santos Júnior, V. Dos, Nizoli, É., Galvan, D., Gomes, R. J., Biz, G., Ressutte, J. B., Rocha, T. de S., & Spinosa, W. A. (2022). Micronutrient requirements and effects on cellular growth of acetic acid bacteria involved in vinegar production. *Food Science and Technology*

- (Brazil), 42, 1–10. <https://doi.org/10.1590/fst.05121>
- Savorani, F., Tomasi, G., & Engelsen, S. B. (2010). icoshift: A versatile tool for the rapid alignment of 1D NMR spectra. *Journal of Magnetic Resonance*, 202(2), 190–202. <https://doi.org/10.1016/j.jmr.2009.11.012>
- Silva, S. D., Feliciano, R. P., Boas, L. V., & Bronze, M. R. (2014). Application of FTIR-ATR to Moscatel dessert wines for prediction of total phenolic and flavonoid contents and antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 150, 489–493. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.028>
- Štornik, A., Skok, B., & Trček, J. (2016). Comparison of cultivable acetic acid bacterial microbiota in organic and conventional apple cider vinegar. *Food Technology and Biotechnology*, 54(1), 113–119. <https://doi.org/10.17113/ftb.54.01.16.4082>
- Tesfaye, W., Morales, M. L., Benítez, B., García-Parrilla, M. C., & Troncoso, A. M. (2004). Evolution of wine vinegar composition during accelerated aging with oak chips. *Analytica Chimica Acta*, 513(1), 239–245. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2003.11.079>
- Xia, T., Zhang, B., Duan, W., Zhang, J., & Wang, M. (2020). Nutrients and bioactive components from vinegar: A fermented and functional food. *Journal of Functional Foods*, 64(November 2019), 103681. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103681>
- Xie, H., Bu, L., Peng, X., & Li, Z. (2012). Ultraviolet spectroscopy method for classifying vinegars. *Advanced Materials Research*, 346, 865–874. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.346.865>

MATERIAL SUPLEMENTAR**Spectralprint techniques coupled with chemometric tools for vinegar classifications**

Vinícius Avanzi Barbosa Mascareli^a, Diego Galvan^{b,1}, Jelmir Craveiro de Andrade^{c,d,e}, Carini Lelis^{c,d,e}, Carlos Adam Conte-Junior^{c,d,e}, Giancarlo Michelino Gaeta Lopes^f, Fernando César de Macedo Júnior^g, Wilma Aparecida Spinosa^a

^a Department of Food Science and Technology, State University of Londrina (UEL), Londrina, PR 86.057-970, Brazil.

^b Institute of Chemistry, Federal University of Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande, MS, 79.070-900, Brazil.

^c Analytical and Molecular Laboratorial Center (CLAn), Institute of Chemistry (IQ), Federal University of Rio de Janeiro (UFRJ), Cidade Universitária, Rio de Janeiro, RJ, 21.941-909, Brazil.

^d Center for Food Analysis (NAL), Technological Development Support Laboratory (LADETEC), Federal University of Rio de Janeiro (UFRJ), Cidade Universitária, Rio de Janeiro, RJ, 21.941-598, Brazil.

^e Graduate Program in Chemistry (PGQu), Institute of Chemistry (IQ), Federal University of Rio de Janeiro (UFRJ), Cidade Universitária, Rio de Janeiro, RJ, 21.941-909, Brazil.

^f Department of Electrical Engineering, State University of Londrina (UEL), Londrina, PR 86.057-970, Brazil.

^g Department of Chemistry, State University of Londrina (UEL), Londrina, PR 86.057-970, Brazil.

¹ Corresponding author: *D. Galvan. E-mail: diegogalvann@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8394-3431>. Institute of Chemistry, Federal University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Brazil.

Supplementary material

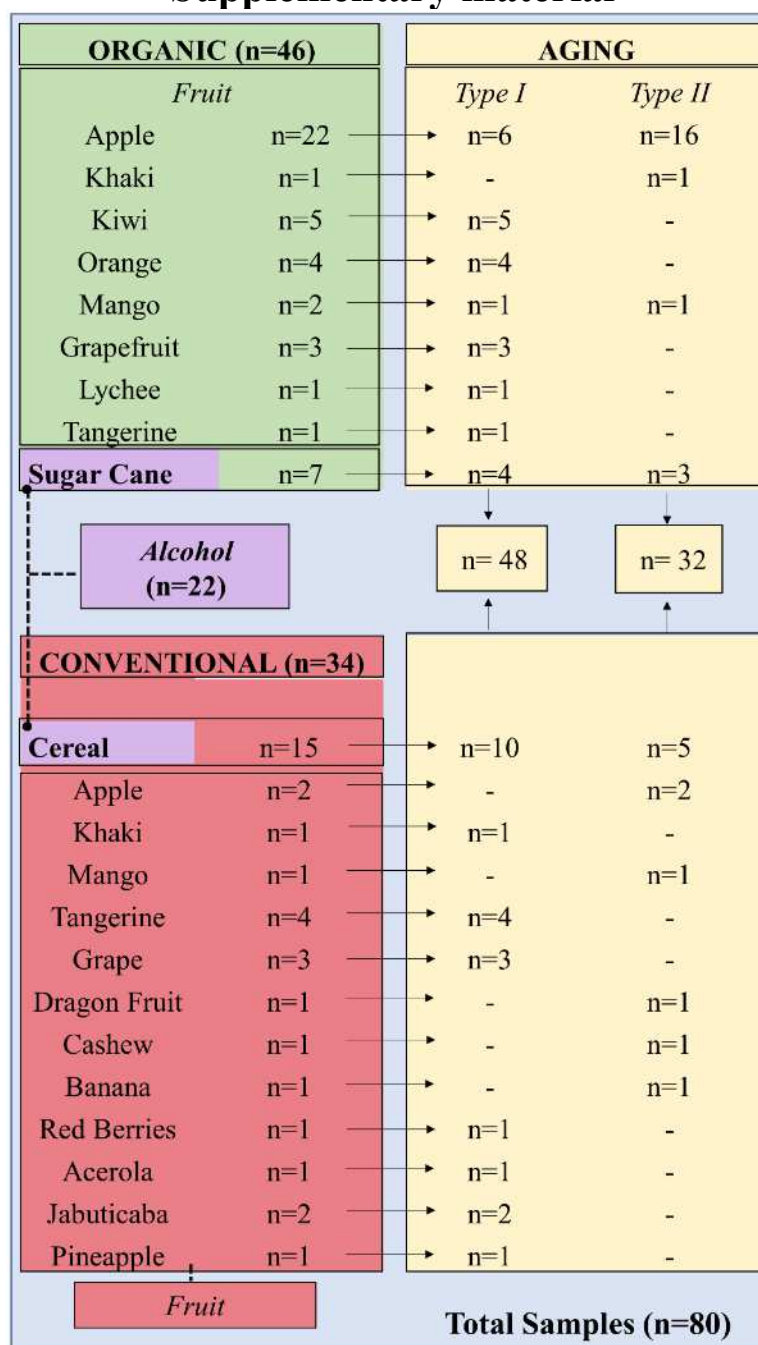


Figure S1 – Vinegar samples (n=80) of different raw material cultivation methods (organic or conventional), type of raw material (fruit or alcohol) and aging times (type I, 6 to 16 years; type II, 1 to 5 years).

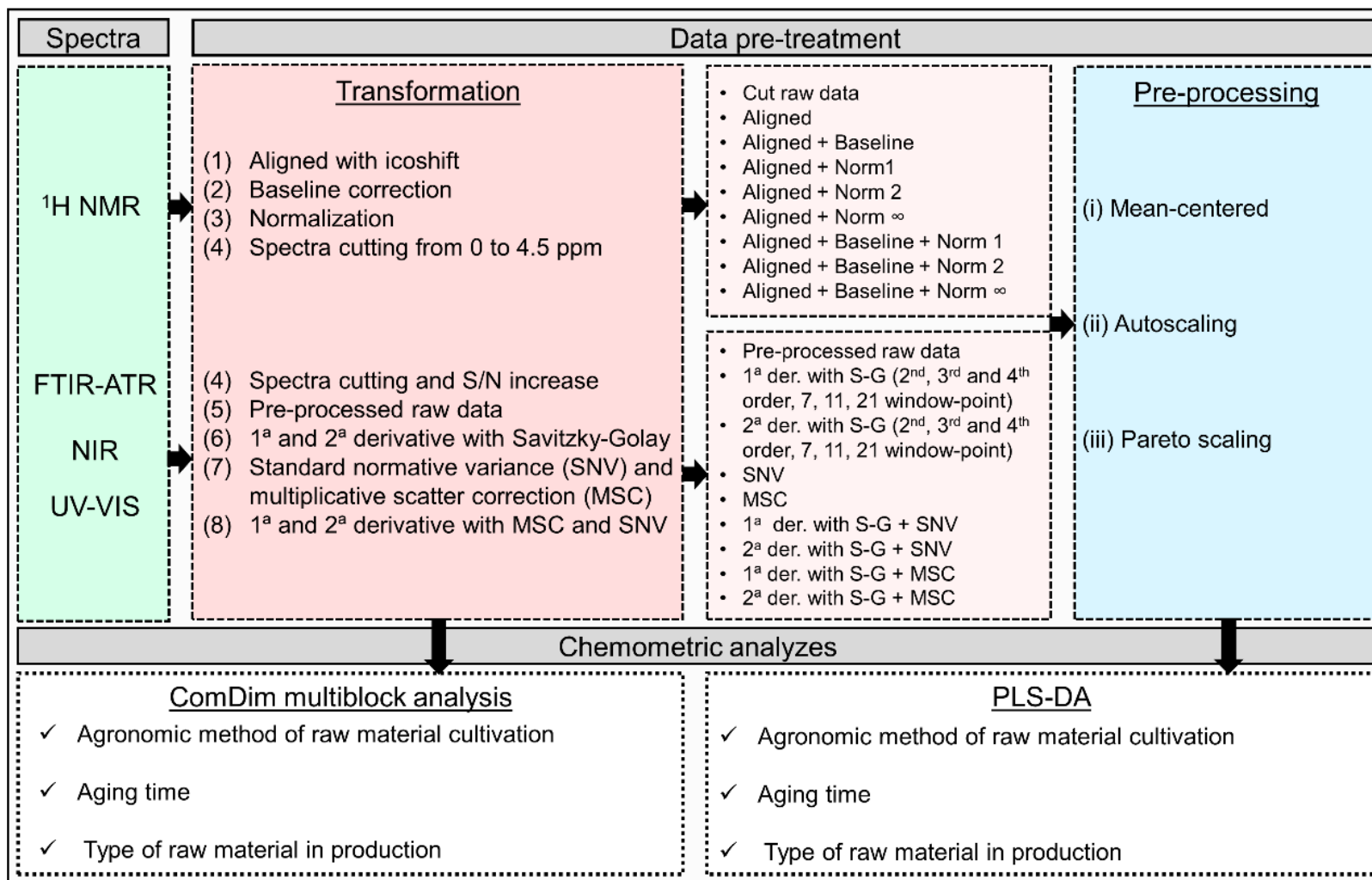


Figure S2 – Schematic showing the pre-treatments applied to the X matrix for each spectroscopic dataset.

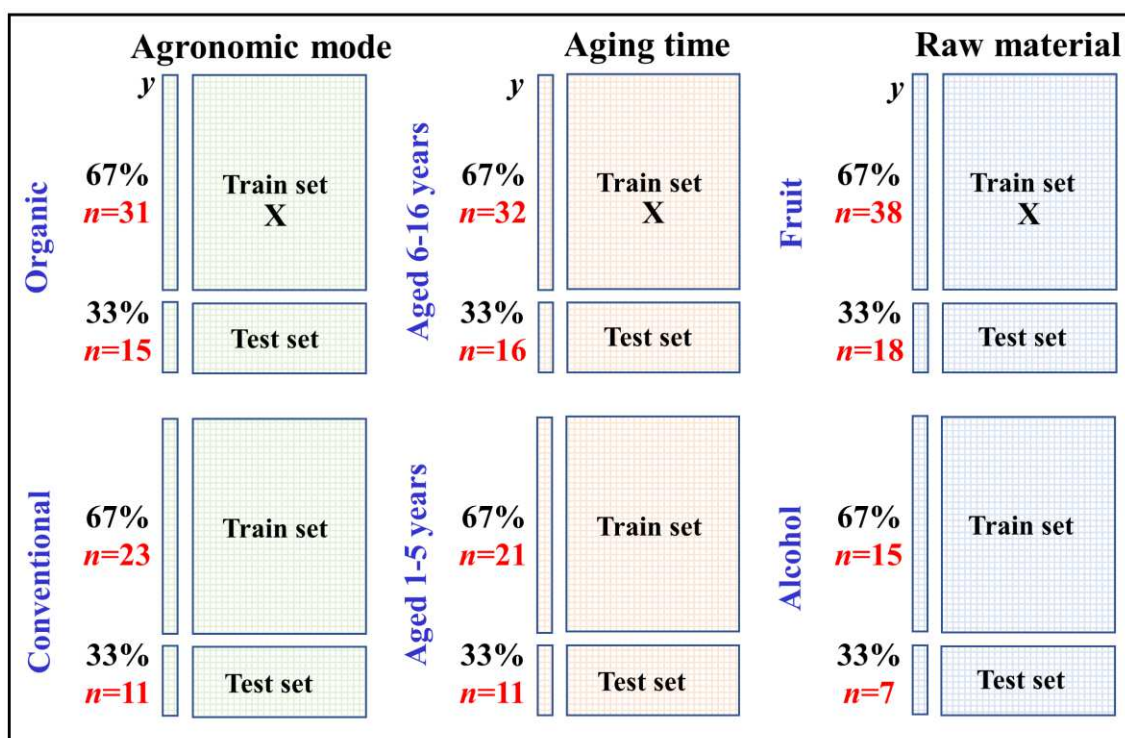


Figure S3 – Flowchart of samples selection by Kennard & Stone algorithm by dividing the sample set into training and test sets for NMR, FT-IR, NIR and UV-VIS datasets.

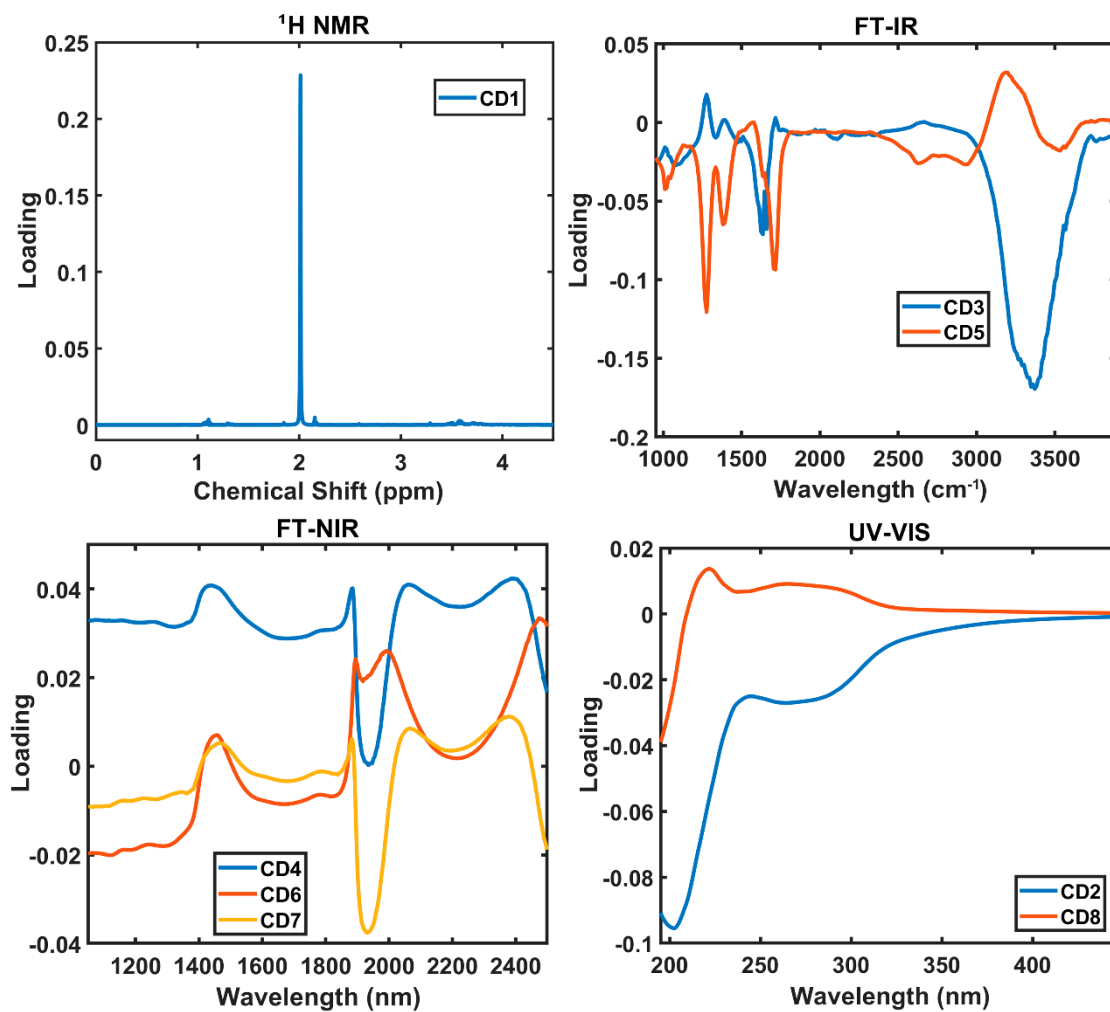


Figure S4 – Loading for each predominant analytical technique on their respective common dimension (CD).

Table S1 – Classification performance obtained by PLS-DA model.

Organic and conventional												
Analytical technique	Variance in Y (%)	Variance in X (%)	Cross-validation				Calibration			Prediction		
			LVs	RMSE	AUC	PCC (%)	RMSE	AUC	PCC (%)	RMSE	AUC	PCC (%)
NMR	72.4	68.4	7	0.51	0.70	63.0	0.26	0.99	96.3	0.33	0.99	92.3
FT-IR	51.4	97.8	9	0.58	0.57	60.0	0.34	0.92	83.3	0.39	0.89	80.1
NIR	71.7	55.38	5	0.32	0.97	87.0	0.26	0.99	90.7	0.50	0.65	61.5
UV-VIS	49.4	96.4	8	0.53	0.70	66.7	0.35	0.94	88.9	0.37	0.96	88.5
Aged 1-5 and 6-16 years												
Analytical technique	Variance in Y (%)	Variance in X (%)	Cross-validation				Calibration			Prediction		
			LVs	RMSE	AUC	PCC (%)	RMSE	AUC	PCC (%)	RMSE	AUC	PCC (%)
NMR	83.6	35.5	5	0.47	0.76	71.7	0.20	1.00	96.2	0.27	1.00	96.3
FT-IR	86.8	75.2	9	0.66	0.56	52.8	0.18	1.00	98.1	0.35	0.94	92.6
NIR	82.2	14.0	2	0.34	0.93	86.8	0.21	1.00	100.0	0.46	0.72	74.1
UV-VIS	59.1	73.1	5	0.55	0.78	71.7	0.31	0.98	92.5	0.39	0.92	88.9
Alcohol and fruit												

Analytical technique	Variance in Y (%)	Variance in X (%)	Variance in X				Variance in Y			Variance in X		
			LVs	RMSE	AUC	PCC (%)	RMSE	AUC	PCC (%)	RMSE	AUC	PCC (%)
NMR	79.8	58.8	5	0.44	0.90	86.8	0.22	1.00	98.1	0.33	1.00	98.1
FT-IR	63.6	67.5	4	0.43	0.79	77.3	0.27	0.98	90.57	0.34	0.98	88.0
NIR	52.6	58.3	5	0.53	0.56	64.2	0.31	0.95	88.7	0.39	0.79	84.0
UV-VIS	66.7	78.9	6	0.46	0.82	79.2	0.26	0.97	90.57	0.35	0.97	84.0

LV: latent variables; **RMSE:** root mean square error; **AUC:** area under the ROC curve; **PCC:** percentage of correct classification.

CONCLUSÃO GERAL

Pode-se inferir a partir dos resultados obtidos que o uso combinado de técnicas de *spectralprint* acopladas a ferramentas quimiométricas demonstrou-se uma excelente alternativa para discriminar amostras de vinagre de acordo com o modo agrônômico de produção, tempo de envelhecimento e tipo de matéria-prima utilizada na produção.

Dentre as técnicas de espectroscopia avaliadas, a ^1H -RMN apresentou os melhores desempenhos de classificação em todas as abordagens testadas, seguida por FT-IR e UV-VIS, que tiveram desempenhos equivalentes, e por fim, NIR com desempenhos de classificação inferiores que as anteriores.

No geral, os resultados indicaram que a classificação do vinagre de acordo com o método de cultivo agrônômico (orgânico ou convencional) é mais complexa do que as classificações por tempo de envelhecimento ou tipo de matéria-prima. Esse comportamento pode ser atribuído a outras fontes externas de variação mais significativa, como clima, botânica, estágio de maturação, matéria-prima, entre outras.

Esses resultados preliminares além de fornecerem material inédito e atualizado a respeito do tema para a literatura, indicaram que as quatro técnicas de *spectralprint* são adequadas para a classificação do vinagre, sendo, qualquer uma delas passíveis de serem utilizadas para identificação, autenticação e detecção de fraude.