

APLICAÇÃO DE MÉTODOS DE ANÁLISE MULTIVARIADA NO CONTROLE QUALITATIVO DE ESSÊNCIAS ALIMENTÍCIAS EMPREGANDO ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO MÉDIO¹

Gilson Augusto HELFER², Marco Flôres FERRÃO^{3,*}, Cristiano de Vargas FERREIRA², Nadir HERMES²

RESUMO

No presente trabalho é apresentada uma nova metodologia para a análise qualitativa de essências alimentícias, empregando espectroscopia por reflexão na região do infravermelho médio associada à análise multivariada. Este método apresenta entre suas principais vantagens: a não destruição da amostra e conseqüente não agressão ao ambiente; e a não necessidade de separação prévia dos seus componentes, que resulta em menor tempo de análise e redução de custos. Para tanto, diferentes lotes de amostras de essências alimentícias de baunilha, de leite, de caramelo, de cereja e de morango foram empregadas para a aquisição dos espectros, visando à construção dos modelos e validação do método. Como resultados mais significativos, foi possível observar que o método empregado, não só discrimina as diferentes essências (em função da composição), mas também a origem e uniformidade delas.

Palavras-chave: essências alimentícias, controle de qualidade, reflexão no infravermelho, análise discriminante, análise multivariada.

SUMMARY

USING MULTIVARIATE ANALYSIS METHODS IN QUALITY CONTROL OF FOOD ESSENCE BY MID-IRRED SPECTROSCOPY. In the present work a new methodology for the qualitative analysis of food essences is presented, using a mid-infrared spectroscopy associated to the multivariate analysis. This method presents the main advantages: not to destroy the sample, it has a lower cost, it makes the analysis quicker and does not produce residues. Taking this into account, different lots of samples of food essences of vanilla, milk, caramel, cherry and strawberry were used to acquire the spectra with the purpose of developing models and validation of the method. Having more significant results, it can be observed that the used method not only discriminates the different essences (due to the composition), but also the origin and uniformity of the same ones.

Keywords: food essence, quality control, infrared, discriminant analysis, multivariate analysis.

1 - INTRODUÇÃO

Com a popularização das ferramentas de análise multivariada, a técnica de espectroscopia no infravermelho médio vem sendo cada vez mais empregada para a análise qualitativa e quantitativa de alimentos [6, 11, 20, 21]. A intensificação dessas aplicações na área de alimentos ocorreu no início da última década sendo marcada por Wilson [29], que, em 1990, apresentou as potencialidades da espectroscopia por reflexão no infravermelho médio: reflexão total atenuada (ATR), detecção fotoacústica e reflexão difusa (DRIFTS), para análise de alimentos e sua utilização no controle industrial.

Diversos trabalhos foram apresentados à comunidade de pesquisadores, a exemplo do de VAN DE VOORT & ISMAIL [23], que discutiram as vantagens do emprego da espectroscopia por reflexão total atenuada (ATR) na análise quantitativa de leite. Em 1992, VAN DE VOORT [24], descreveu as principais aplicações da espectroscopia ATR na análise

de leite, carne, óleos, gorduras, manteiga, margarina, leite condensado e frutas, avaliando tanto aspectos quantitativos quanto qualitativos, como a certificação da qualidade.

O emprego das técnicas multivariadas para discriminar ingredientes alimentares também foi feito por REEVES III & ZAPF [19], por meio de dados de espectroscopia por reflexão difusa no infravermelho com transformada de Fourier (DRIFTS).

Em 1999, WILSON & TAPP [28] publicaram uma revisão para o emprego da espectroscopia no infravermelho médio na análise de alimentos, na qual a reflexão difusa (DRIFTS) vem sendo principalmente utilizada na certificação dos alimentos e a reflexão total atenuada (ATR) na determinação de açúcares.

Este notável crescimento da utilização da espectroscopia no infravermelho médio [10], nos últimos anos, e o contínuo desenvolvimento de métodos no infravermelho próximo [17] se devem à procura de métodos analíticos rápidos e limpos, neste caso, evitando-se o emprego de reagentes agressivos ou a geração de resíduos danosos ao ambiente. O uso da análise por reflexão difusa no infravermelho médio e próximo pode satisfazer os dois quesitos acima, pois requer pouco ou nenhum tratamento das amostras. Entretanto, é imperioso reconhecer que a análise multivariada de dados é uma ferramenta valiosa e que contribui para o emprego mais extensivo dessas técnicas [13, 16, 25].

¹Recebido para publicação em 5/8/2005. Aceito para publicação em 20/10/2006 (001599)

²Central Analítica da Universidade de Santa Cruz do Sul, C. P. 188, CEP 96815-900, Santa Cruz do Sul (RS), Brasil

³Departamento de Química e Física, Universidade de Santa Cruz do Sul, C. P. 188, CEP 96815-900, Santa Cruz do Sul (RS), Brasil,

E-mail: ferrao@unisc.br

* A quem a correspondência deve ser enviada

2 - REFLEXÃO NO INFRAVERMELHO

O avanço da espectroscopia no infravermelho médio, como técnica para análise quantitativa, deve-se à combinação da transformada de Fourier e da nova geometria dos espectrofotômetros com a utilização do interferômetro de Michelson, tornando-os mais rápidos e robustos [5, 7, 8, 15]. Um esquema ilustrativo para o interferômetro de Michelson do espectrofotômetro FT-IR pode ser visualizado na *Figura 1*.

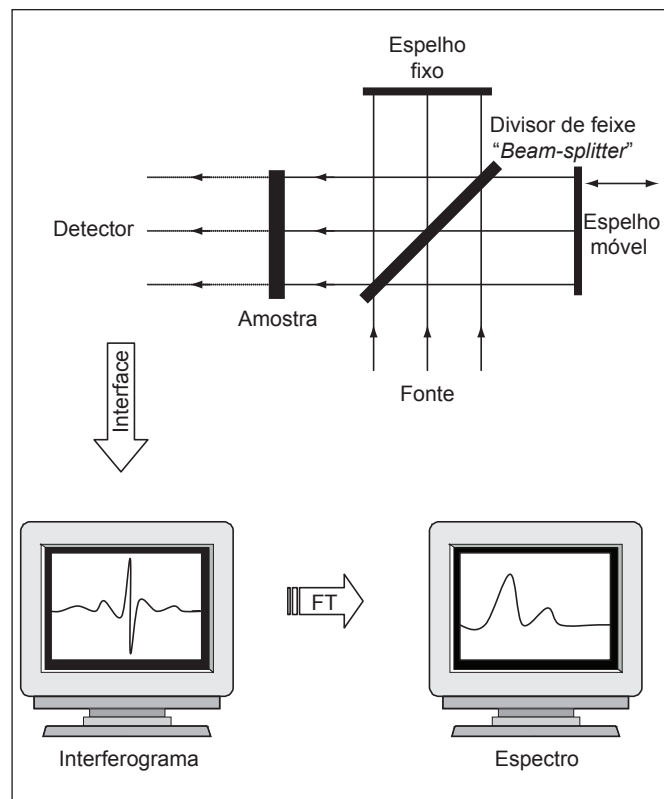


FIGURA 1 – Esquema ilustrativo para o interferômetro de Michelson e do espectro resultante da aplicação da transformada de Fourier.

O interferômetro de Michelson consiste basicamente de dois espelhos (um fixo e um móvel) e um divisor de feixe (*beam-splitter*) que transmite 50% da radiação incidente da fonte para o espelho móvel e reflete os outros 50% para o espelho fixo. Os espelhos, por sua vez, refletem os dois feixes para o divisor, onde se recombinam. Se os dois espelhos encontram-se equidistantes do divisor, as amplitudes combinam-se construtivamente. Se o espelho móvel mover-se a uma distância de $\lambda/4$ do divisor, as amplitudes combinam-se destrutivamente. Para a radiação no infravermelho (policromática), a soma de todas as interações construtivas e destrutivas para cada componente resulta num sinal complexo denominado interferograma. Após a aquisição do interferograma, é aplicada a transformada de Fourier que converte os dados obtidos no interferômetro em um espectro que relaciona a intensidade *versus* frequência (número de onda).

Embora existam outras concepções óticas para a instrumentação do infravermelho próximo [8], o presente trabalho empregou os princípios do interferômetro de Michelson para as aquisições de espectros realizadas na região do infravermelho médio.

Segundo a maioria dos autores, três métodos de reflexão no infravermelho têm apresentado aplicações práticas na aquisição de espectros que contenham informações químicas de determinada matriz [24, 28, 29]. São eles: o método por reflexão especular (ou externa); o método por reflexão difusa; e o método por reflexão interna.

A técnica de reflexão difusa é principalmente aplicada a amostras sólidas pulverizadas e é bastante difundida, estando muito associada com equipamentos que operam na região do infravermelho próximo, associada à sigla *NIRRS*, do inglês *Near Infrared Reflectance Spectroscopy* ou, simplesmente, *NIR* [18, 22, 26]. No final dos anos 70 e início dos 80, foi demonstrada a utilidade desta técnica quando associada com espectrômetros interferométricos com transformada de Fourier, sendo conhecida pela sigla *DRIFTS*, do inglês *Diffuse Reflection Infrared Fourier Transform Spectroscopy* [4, 10, 14].

É importante salientar que num experimento de reflexão difusa é também observada a reflexão especular (que obedece à lei de Snell), sendo mais importante aquela que ocorre na interface ar/superfície da matriz, mas também ocorrendo nas faces das partículas, cujo efeito pode ser minimizado pela redução do tamanho da partícula. A reflexão especular é de maior intensidade na região onde a amostra apresenta forte absorção e, neste caso, podem ocorrer severas distorções no espectro obtido. Um detalhamento das técnicas mais comuns de reflexão é apresentado em recente revisão, por FERRÃO [9], em que também é discutida a reflexão interna.

Apesar de existirem comercialmente acessórios que visam otimizar uma determinada técnica de reflexão e minimizar a interferência de outras, um importante fator a ser levado em consideração é a característica da amostra. Por exemplo, se empregarmos um típico acessório de *DRIFTS* para uma amostra líquida, o fenômeno observado não será a reflexão difusa, mas sim um tipo pouco comum de reflexão que envolve primeiramente a transmissão do feixe no filme líquido, seguido de uma reflexão na superfície do acessório e nova transmissão no retorno da radiação através do filme líquido, conforme ilustra a *Figura 2*.

No presente trabalho, esta técnica aqui denominada transmissão/reflexão/transmissão foi empregada na aquisição de espectros de amostras líquidas de essências comumente empregadas na elaboração de alimentos industrializados.

3 - ANÁLISE MULTIVARIADA

3.1 - A natureza multivariada dos dados

Os métodos de análise multivariada são assim chamados, pois, no caso em que empregamos técnicas espectroscópicas

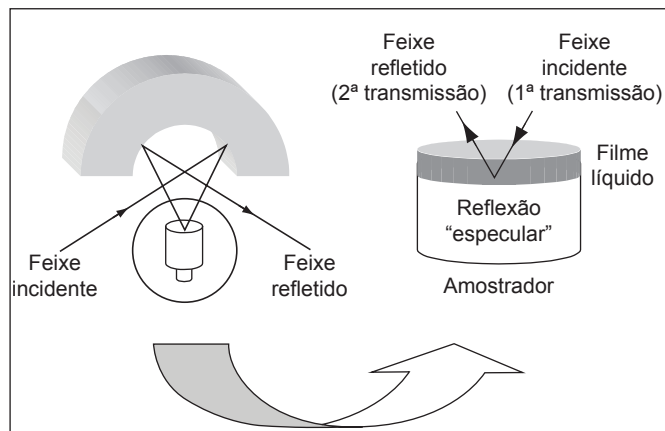


FIGURA 2 – Esquema empregando o amostrador do acessório DRIFTS para a aquisição de espectros de filmes líquidos por transmissão/reflexão/transmissão.

no infravermelho, é possível manipular dados de absorvância espectral associados a mais de uma frequência ao mesmo tempo. Estes métodos têm, recentemente, tornado possível modelar propriedades químicas e físicas de sistemas simples e complexos a partir de seus dados espectroscópicos [27].

As análises qualitativas e quantitativas utilizando espectroscopia na região do infravermelho expandiram-se a partir do momento em que os dados gerados por um espectrofotômetro FT-IR puderam ser digitalizados, habilitando os métodos estatísticos na resolução de problemas de análise química. Inicialmente, muitas amostras não comportavam o isolamento de uma banda para análise, o que tornava necessário o uso de métodos de separação química tal como a cromatografia. Porém, a possibilidade de utilizar várias frequências do espectro tem aumentado o tipo de amostras que podem ser quantificadas por espectroscopia no infravermelho.

Nos métodos clássicos de análise univariável, somente a absorvância de uma frequência é associada à concentração, enquanto que métodos que usam simultaneamente duas ou mais frequências são conhecidos como métodos multivariáveis. A precisão dos métodos univariáveis é dependente da capacidade para identificar uma única banda isolada para cada componente. Os métodos multivariáveis, entretanto, podem ser utilizados igualmente quando estão sobrepostas informações espectrais de vários componentes através de várias regiões espectrais selecionadas.

3.2 - Reconhecimento de padrões

Os dados analíticos são normalmente obtidos com o fim de caracterizar amostras. Esta caracterização é relativamente simples, quando o número de variáveis é pequeno. Com o desenvolvimento tecnológico dos instrumentos e dos computadores, a quantidade de informação que se pode obter é não só de grande dimensão, mas também muito complexa e variada. Na posse de uma grande quantidade de dados, o problema passa a ser como tratá-los.

Os dados multivariados geralmente são dispostos numa matriz \mathbf{X} de valores, correspondendo a m variáveis para n amostras, conforme *Figura 3*.

O ser humano possui percepção única para o reconhecimento de padrões. Toda a nossa aprendizagem está relacionada com a capacidade do nosso cérebro de identificar, isolar, associar e reconhecer formas, sons ou conceitos. De fato, a combinação da visão, dos processos de memorização e de reconhecimento, confere aos seres humanos habilidades ainda inatingíveis pelo computador mais sofisticado. No entanto, a capacidade humana de identificação por reconhecimento visual termina na terceira dimensão, sendo esta última, para alguns, já uma dificuldade quando representada num plano.

Para fazer uso da nossa capacidade de padronizar, é necessário, portanto, representar os dados em três dimensões ou em duas, preferencialmente. A questão fundamental reside em transformar informações m -dimensionais em bidimensional ou tridimensional.

3.3 - Análise por componentes principais (PCA)

A análise vetorial que permite descrever a variação (ou dispersão) de um determinado conjunto de dados é conhecida como análise de componentes principais ou, simplesmente, como análise de fatores [2, 12]. Entre as primeiras aplicações destes métodos, destacam-se os controles estatísticos de processos que usualmente necessitam avaliar diferentes variáveis de processo, simultaneamente.

Recentemente, com a aplicação dos algoritmos de decomposição de valor singular (SVD), que se generalizaram pelo desenvolvimento de *hardwares* mais compactos e com alta velocidade no tratamento matemático dos dados, estes métodos de análises de componentes principais firmaram sua utilização no ramo da quimiometria [3].

A análise de fatores é realizada sobre uma matriz de dados que relaciona um conjunto de variáveis a diversos experimentos (amostras). Geralmente, esta matriz de dados \mathbf{X} é centrada na média, podendo, também, os dados sofrerem outros tipos de tratamento, como por exemplo, os escalonamentos. A matriz, após serem centrados seus dados na média, é decomposta no produto de três matrizes pelo algoritmo de decomposição de valor singular (SVD), resultando na *Expressão 1*.

$$\mathbf{X} = \mathbf{U} \cdot \mathbf{S} \cdot \mathbf{V}^t \quad (1)$$

A matriz \mathbf{V} é denominada de matriz dos *loadings*, as colunas da matriz \mathbf{V} correspondem aos autovetores e \mathbf{S} é uma matriz diagonal. As matrizes \mathbf{U} e \mathbf{V} são ortogonais entre si e o produto entre matrizes \mathbf{U} e \mathbf{S} é denominado *scores*. Como resultado da análise de componentes principais, o conjunto de dados originais é agrupado em função da correlação existente entre as variáveis, gerando um novo conjunto de eixos (componentes principais) ortogonais entre si, e de mais simples manipulação matemática [30].

3.4 - Análise hierárquica por agrupamentos (HCA)

Outro método que se apresenta útil na classificação de diferentes amostras é a análise hierárquica por agrupamentos [1]. Tal como o nome indica, a análise de *clusters* (agrupamentos) tem como objetivo agrupar os dados de forma a permitir identificar semelhanças entre os objetos. Existem diversas abordagens, sendo uma delas a resolução de um problema de otimização em que se pretende, de uma forma geral, maximizar a semelhança intergrupo e a diferença entre grupos. No entanto, o método mais comum é a classificação hierárquica, em que os objetos são agrupados à semelhança de uma classificação taxonômica e representados num gráfico com uma estrutura em árvore denominada dendograma.

Para proceder a esta classificação, é necessário definir matematicamente o conceito de proximidade, ou seja, a distância entre dois objetos. Entre as medidas mais usuais, para estabelecer o conceito de distância entre n e m , destacam-se o coeficiente de correlação de Pearson, a distância Euclidiana e a distância de Manhattan.

3.5 - Análise discriminante

Análise discriminante é uma técnica de classificação que determina uma classe ou classes de amostras conhecidas que são muito semelhantes a uma amostra desconhecida. O método deve, no mínimo, especificar duas classes de amostras conhecidas. Podem ser usados padrões múltiplos para descrever cada classe (pelo menos cada classe deve conter dois ou mais padrões). Quando se trata de dados espectrais, podem ser usadas múltiplas regiões do espectro para a análise.

O algoritmo da análise discriminante, cálculo da distância de Mahalanobis, *Expressão 2*, pode ser usado para separar uma variedade de amostras entre espectros de

$$X = \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \\ \vdots \\ x_n \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} x_{11} & x_{12} & \cdots & \cdots & x_{1m} \\ x_{21} & x_{22} & \cdots & \cdots & x_{2m} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \ddots & \vdots \\ \vdots & \vdots & & & \vdots \\ x_{n1} & x_{n2} & \cdots & \cdots & x_{nm} \end{bmatrix}$$

FIGURA 3 – Representação de uma matriz de dados.

amostras desconhecidas, com base em diferentes classes padrões.

$$D^2 = (X - \bar{X})^t \cdot S^{-1} \cdot (X - \bar{X}) \quad (2)$$

em que D é igual à distância de Mahalanobis, X é um vetor de dados ($n \times 1$), \bar{X} é a média do vetor de dados ($n \times 1$) e S é a covariância de uma matriz de dados ($n \times n$).

O método aplica a informação espectral na região especificada, ou regiões de um espectro desconhecido, a

um modelo de calibração para determinar qual classe de padrões é muito semelhante ao desconhecido. O resultado é o nome da classe que é muito semelhante ao espectro desconhecido e uma medida da distância entre ele e cada classe constituinte do modelo.

Neste artigo, é apresentado um novo método de análise empregando uma técnica pouco explorada, que envolve transmissão/reflexão/transmissão no infravermelho médio de filmes de amostras líquidas de essências alimentícias e, também, o emprego de técnicas de análise multivariada.

4 - MATERIAL E MÉTODOS

4.1 - Amostras

As amostras de essências empregadas na produção de biscoitos que foram utilizadas na realização deste trabalho foram gentilmente doadas pela Filler S. A., indústria alimentícia localizada na BR 471 Km 58, Santa Cruz do Sul, RS. A identificação destas amostras foi realizada conforme apresentado na *Tabela 1*.

TABELA 1 – Descrição das amostras de essências utilizadas.

Essência	Identificação	Coloração
Baunilha 01	A	Marrom
Baunilha 02	B	Amarelo
Baunilha 03	C	Marrom
Leite	D	Amarelo claro
Caramelo	F	Amarelo claro
Cereja	E	Incolor
Morango	M	Incolor

4.2 - Obtenção dos espectros

Para cada amostra, foram coletados de três a quatro réplicas com 32 varreduras, com exceção da essência de cereja, por possuir componentes voláteis na sua constituição; nesse caso, foram empregadas 16 varreduras. Após a instalação e o devido alinhamento do acessório *DRIFTS*, os espectros foram obtidos em um espectrofotômetro Magna 550 da NICOLET, conforme *Tabela 2*.

Antes de cada coleta, foi realizada uma leitura do espectro de fundo (*background*), em condições padronizadas, sendo que a amostra foi colocada em seguida, sem nenhuma diluição ou tratamento. Para cada amostra, foi depositada uma fina película da essência sobre o compartimento do acessório onde incidiam os raios na faixa do infravermelho, sendo os espectros assim obtidos, conforme *Figura 4*.

TABELA 2 – Parâmetros de coleta das amostras de essências

Parâmetros	Condições
Resolução	4 cm ⁻¹
Apodização	Happ-Genzel
Formato final	Absorbância
Faixa espectral	650 – 4.000 cm ⁻¹
Detector	DTGS KBr
Divisor de feixe	KBr

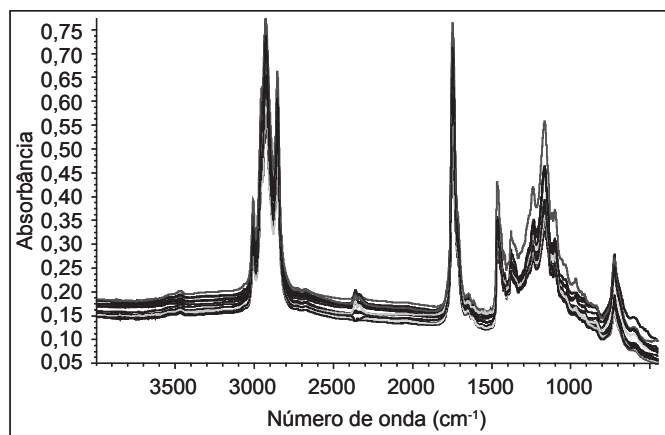


FIGURA 4 – Espectros das amostras da essência leite obtidos por FT-IR.

4.3 - Seleção das regiões espectrais a serem modeladas

Para selecionar as regiões espectrais, foi utilizada uma ferramenta do *software* OMNIC TQ Analyst para processar os espectros, denominada análise por componentes principais. Em seguida, foram selecionadas as sub-regiões, cujas intensidades das componentes principais fossem relevantes (informativas), apresentadas na *Tabela 3*.

TABELA 3 – Regiões espectrais em número de onda selecionadas pelo critério das componentes principais.

Modelo	Essências	Regiões (cm ⁻¹)
ABC	BAUNILHAS A, B e C	3200-2750 1750-1550 1200-900
DF	LEITE e CAMELO	3700-2750 1800-1300
EM	CEREJA e MORANGO	3700-2750 1800-950

4.4 - Modelagem dos dados

Todos os modelos de análise discriminante foram obtidos empregando-se o programa de análise multivariada *TQ Analyst*, versão 1.1a. da *OMNIC*.

5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 - Construção dos Modelos

A fim de possibilitar o emprego do processo de análise discriminante, foram desenvolvidos modelos que empregassem pelo menos dois grupos de essências identificados conforme *Tabela 1*.

Na seleção das amostras que deveriam fazer parte de cada um dos modelos, foram preferencialmente agrupadas aquelas essências de natureza semelhante, a fim de que fossem realçadas as características individuais de cada uma, quando da escolha do número de componentes principais a ser empregado. Na *Tabela 4*, são apresentados os valores para o número de componentes principais empre-

gados na construção de cada um dos modelos de análise discriminante.

TABELA 4 – Regiões espectrais em número de onda selecionadas pelo critério das componentes principais.

Modelo	Essências	Componentes principais
ABC	Baunilhas A, B e C	16
DF	Leite e Caramelo	5
EM	Cereja e Morango	3

O primeiro modelo desenvolvido, modelo ABC, empregou os espectros em triplicata de todas as amostras de essência de baunilha (A, B e C), sendo ainda empregados 16 componentes principais. Os valores das distâncias entre cada amostra e as três classes utilizadas são ilustrados na *Figura 5*.

Para refinar este modelo, foram retirados os espectros C03b e C06a que apresentaram resíduos acentuados se comparados na análise por componentes principais (PCA) com os das demais réplicas da respectiva amostra. Para o modelo assim construído, amostras de natureza semelhante puderam ser discriminadas para confirmação de sua origem, composição e uniformidade.

A *Figura 5* apresenta graficamente a dispersão das amostras segundo suas distâncias em relação à baunilha A (eixo x) e baunilha C (eixo y), demonstrando a discriminação das 3 classes.

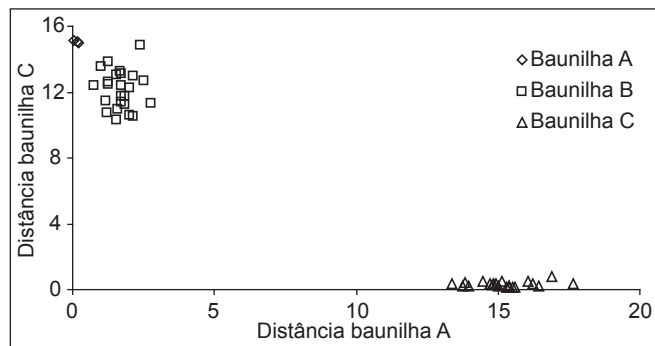


FIGURA 5 – Gráfico de dispersão das amostras de baunilha, em relação às distâncias da baunilha A x baunilha C.

Para validar o modelo, dois outros lotes das baunilhas B e C foram testados e os resultados de classificação são apresentados nas *Figuras 6 e 7*.

Um segundo modelo foi construído empregando amostras de leite e caramelo (D e F) em triplicata e 5 componentes principais, sendo apresentadas as distâncias relativas às 2 classes na *Figura 8*, na qual, graficamente, podemos observar a discriminação das amostras, segundo suas diferentes classes.

Para validar o modelo DF, um outro lote de essência de leite foi testado e o resultado de classificação é apresentado na *Figura 9*.

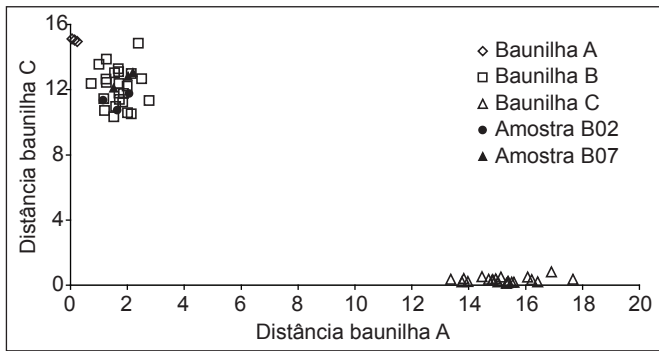


FIGURA 6 – Gráfico de dispersão das amostras de validação da essência de baunilha B, segundo o modelo ABC.

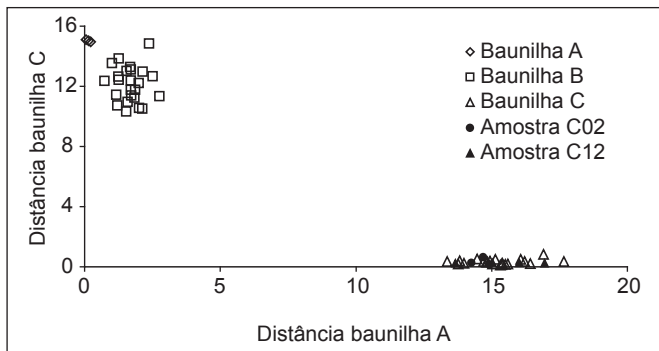


FIGURA 7 – Gráfico de dispersão das amostras de validação da essência de baunilha C, segundo o modelo ABC.

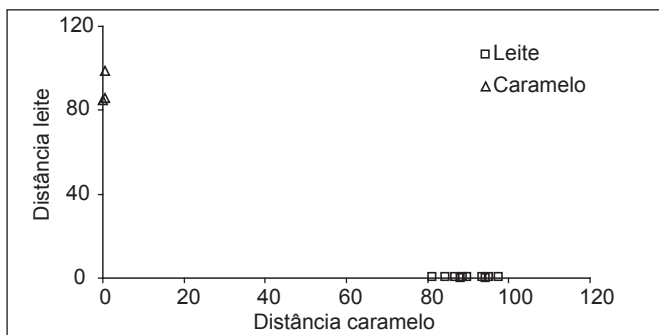


FIGURA 8 – Gráfico de dispersão das amostras de leite e caramelo, em relação às suas distâncias.

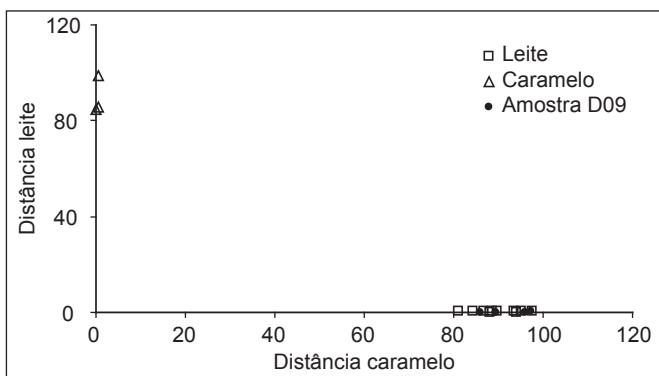


FIGURA 9 – Gráfico de dispersão das amostras de validação da essência de Leite D, segundo o modelo DF.

Um terceiro modelo foi construído, empregando os espectros das amostras de cereja e morango (E e M), além de 3 componentes principais, sendo utilizados os espectros de cereja em quintuplicata e morango em triplicata. Isto se deve ao fato das amostras de cereja terem apresentado uma dificuldade na obtenção dos espectros em função da sua alta volatilidade. As suas distâncias relativas às 2 classes modeladas estão apresentadas graficamente na *Figura 10*.

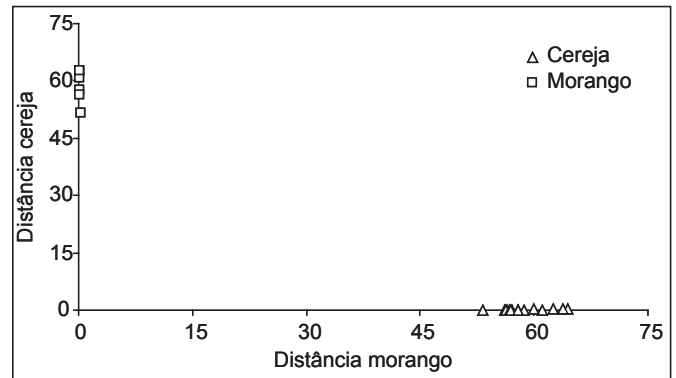


FIGURA 10 – Gráfico de dispersão das amostras de cereja e morango, em relação às suas distâncias.

Lotés das amostras de cereja e de morango também foram utilizados para validar o modelo EM, sendo os resultados apresentados nas *Figuras 11 e 12*, respectivamente.

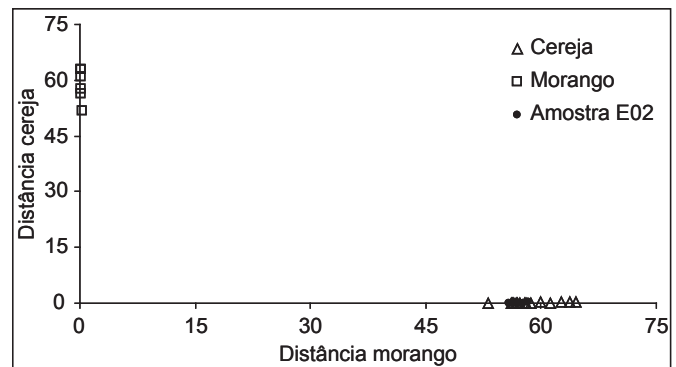


FIGURA 11 – Gráfico de dispersão das amostras de validação da essência de cereja E, segundo o modelo EM.

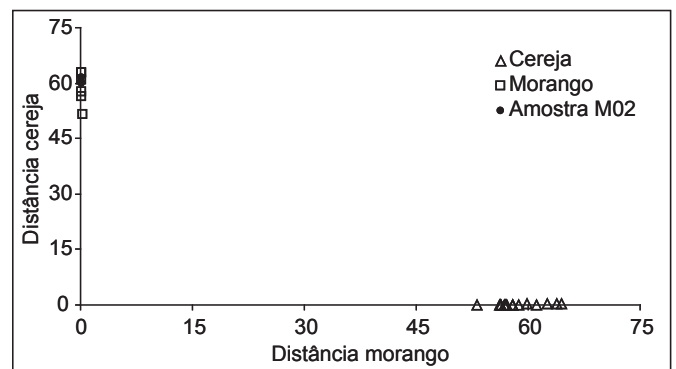


FIGURA 12 – Gráfico de dispersão das amostras de validação da essência de morango M, segundo o modelo EM.

6 - CONCLUSÕES

Todos os modelos desenvolvidos apresentaram discriminação entre as classes modeladas. Todas as amostras de validação foram classificadas de forma correta, sendo atribuídas às respectivas classes às quais pertenciam.

Estes resultados revelam o excelente desempenho da técnica de análise discriminante aplicada aos espectros de essências alimentícias líquidas obtidos na região do infravermelho médio. Esta técnica apresenta vantagens como a não destruição das amostras, o baixo tempo para a aquisição dos espectros, baixo custo e não geração de resíduos.

Como principal aplicação para esta metodologia, encontra-se o controle da produção de essências, bem como o controle dos lotes recebidos pelas empresas, que as empregam em suas linhas de industrialização de alimentos.

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] BRATCHELL, N. Cluster Analysis. **Chemometr. Intell. Lab. Syst.**, Amsterdam, v. 6, p.105-125, 1989.
- [2] BRERETON, R. G. Introduction to multivariate calibration in analytical chemistry. **Analyst**, London, v. 125, p. 2125-2154, 2000.
- [3] BROWN, S. D. Chemical systems under indirect observation: Latent properties and chemometrics. **Appl. Spectrosc.**, Baltimore, v. 49, n. 12, p. 14A-31A, 1995.
- [4] CHALMERS, J. M.; MACKENZIE, M. W. Solid sampling techniques. In: MACKENZIE, M. W. (Ed.) **Advances in applied Fourier transform infrared spectroscopy**. Chichester: John Wiley & Sons. 1988. p. 105-188.
- [5] COATES, J. Vibrational Spectroscopy: Instrumentation for infrared and Raman spectroscopy. **Appl. Spectrosc. Rev.**, New York, v. 33, p. 267-425, 1998.
- [6] COSTA FILHO, P. A.; POPPI, R. J. Aplicação de genetic algorithms in the variable selection in mid infrared spectroscopy: simultaneous determination of glucose, maltose and fructose. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 25, n. 1, p. 46-52, 2002.
- [7] DURIG, J. R.; SULLIVAN, J. F. Vibrational spectroscopy, Fourier transforms and analytical chemistry. **Trends Anal. Chem.**, Amsterdam, v. 9, n. 4, p. 104-106, 1990.
- [8] EIKREM, L. O. Process Fourier transform infrared spectroscopy. **Trends Anal. Chem.**, Amsterdam, v. 9, n. 4, p. 107-109, 1990.
- [9] FERRÃO, M. F. Técnicas de reflexão no infravermelho aplicadas na análise de alimentos. **Tecno-lóg.**, Santa Cruz do Sul, v. 5, n. 1, p. 63-85, 2001.
- [10] FERRÃO, M. F.; CARVALHO, C. W.; MULLER, E. I.; DAVANZO, C. U. Determinação simultânea dos teores de cinza e proteína em farinha de trigo empregando NIR-PLS e DRIFT-PLS. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 24, p. 333-340, 2004.
- [11] FERRÃO, M. F.; DAVANZO, C. U. Horizontal attenuated total reflection applied to simultaneous determination of ash and protein contents in commercial wheat flour. **Anal. Chim. Acta**, Amsterdam, v. 540, p. 411-415, 2005.
- [12] FERREIRA, M. M. C.; ANTUNES, A. M.; MELGO, M. S.; VOLPE, P. L. O. Quimiometria I: Calibração multivariada, um tutorial. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 22, n. 5, p. 724-731, 1999.
- [13] FERREIRA, M. M. C.; MORGANO, M. A.; QUEIROZ, S. C. N. *et al.* Relationships of the minerals and fatty acid contents in processed turkey meat products. **Food Chem.**, London, v. 69, p. 259-265, 2000.
- [14] FULLER, M. P.; GRIFFITHS, P. R. Diffuse reflectance measurements by infrared Fourier transform spectrometry. **Anal. Chem.**, Washington, v. 50, n. 13, p. 1906-1910, 1978.
- [15] KALASINSKY, K. S. Industrial applications of vibrational spectroscopy. **Trend. Anal. Chem.**, Amsterdam, v. 9, n. 3, p. 83-89, 1990.
- [16] MORGANO, M. A.; FERREIRA, M. M. C.; QUEIROZ, S. C. N. Aplicação da análise exploratória na diferenciação de vegetais. **Braz. J. Food Technol.**, Campinas, v. 2, p. 73-79, 1999.
- [17] MORGANO, M. A.; FARIA, C. G.; FERRÃO, M. F. *et al.* Determination of protein in raw coffee for NIR spectroscopy and regression PLS. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 25, n. 1, p. 25-31, 2005.
- [18] OSBORNE, B. G.; FEARN, T. **NIR Spectroscopy in Food Analysis**. New York: John Wiley and Sons, 1986.
- [19] REEVES III, J. B.; ZAPF, C. M. Mid-infrared diffuse reflectance spectroscopy for discriminant analysis of food ingredients. **J. Agric. Food Chem.**, Easton, v.46, p. 3614-3622, 1998.
- [20] RUÍZ, A.; CAÑADA, M. J. A.; LENDEL, B. A rapid method for peroxide value determination in edible oils based on flow analysis with Fourier transform infrared spectroscopic detection. **Analyst**, London, v. 126, p. 242-246, 2001.
- [21] SIVAKESAVA, S.; IRUDAYARAJ, J. Detection of inverted beet sugar adulteration of honey by FTIR spectroscopy. **J. Sci. Food Agric.**, London, v. 81, p. 683-690, 2001.
- [22] STARK, E.; LUCHTER, K.; MARGOSHES, M. Near-infrared analysis (NIRA): A technology for quantitative and qualitative analysis. **Appl. Spect. Rev.**, New York, v. 22, n. 4, p. 335-399, 1986.
- [23] VAN DE VOORT, F. R.; ISMAIL, A. A. Proximate analysis of foods by mid-FTIR spectroscopy. **Trends Food Sci. Technol.**, Cambridge, v. 2, p. 13-17, 1991.
- [24] VAN DE VOORT, F. R. Fourier transform infrared spectroscopy applied to food analysis. **Food Res. Int.**, Barking, v. 25, p. 397-403, 1992.
- [25] WEBSTER, L.; SIMPSON, P.; SHANKS, A. M.; MOFFAT, C. F. The authentication of olive oil on the basis of hydrocarbon concentration and composition. **Analyst**, London, v. 125, p. 97-104, 2000.
- [26] WILLIAMS, P. C.; NORRIS, K. H. **Near-infrared technology in the agricultural and food industries**. Saint Paul: American Association of Cereal Chemists, 1987.
- [27] WILLIAMS, P. C. Commercial Near-Infrared Reflectance Analyzers. In: WILLIAMS, P. C.; NORRIS, K. H. (Ed.) **Near-infrared technology in the agricultural and food industries**. Saint Paul: American Association of Cereal Chemists, 1987. p. 107-142.

- [28] WILSON, R. H.; TAPP, H. S. Mid-infrared spectroscopy for food analysis: Recent new applications and relevant developments in sample presentation methods. **Trends Anal. Chem.**, Amsterdam, v. 18, n. 2, p. 85-93, 1999.
- [29] WILSON, R. H. Fourier transform mid-infrared spectroscopy for food analysis. **Trends Anal. Chem.**, Amsterdam, v. 9, n. 4, p. 127-131, 1990.
- [30] WOLD, S. Cross-Validatory estimation of the number of components in factor and principal components models. **Technometrics**, Washington, v. 20, p. 397-405, 1978.

8 - AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Filler S. A., indústria alimentícia localizada na BR 471 Km 58, Santa Cruz do Sul, RS, ao Curso de Química da UNISC pela disponibilização do equipamento de FT-IR e pela colaboração da Central Analítica da UNISC, Santa Cruz do Sul, RS.