

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

Centro de Ciências Exatas e da Natureza

Departamento de Química Fundamental

Programa de Pós-Graduação em Química

Thaisa Oliveira Folha

**Uso da espectroscopia no infravermelho próximo (NIR)
para a avaliação de parâmetros de qualidade de farinhas
de mandioca**

RECIFE

2014

Thaisa Oliveira Folha

**Uso da espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) para
a avaliação de parâmetros de qualidade de farinhas de
mandioca**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco como parte integrante do requisito para obtenção de título de Mestre em Química;

Sub-Área de concentração: Química Analítica;
Orientadora: Profª. Drª. Ana Paula S. Paim;
Co-orientadora: Profª. Drª. Claudete Fernandes Pereira.

RECIFE

2014

Catalogação na fonte
Bibliotecária Alice Maria dos Santos Costa, CRB 4-711

Folha, Thaisa Oliveira.

Uso da espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) para a avaliação de parâmetros de qualidade de farinha de mandioca. / Thaisa Oliveira Folha. – Recife: O Autor, 2014.

101 f.: fig., tab.

Orientadora: Ana Paula Silveira Paim.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco. CCEN. Química Fundamental , 2014.

Inclui referências e apêndice.

1. Química analítica. 2. Espectroscopia de infravermelho. 3. Farinha de mandioca. I. Paim, Ana Paula Silveira (orientadora). II. Título.

543 (22. ed.)

FQ 2014- 36

Dissertação submetida ao Corpo Docente do Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Mestre em Química.

Aprovada:

Prof^a Ana Paula Silveira Paim
(Orientadora)
Departamento de Química Fundamental
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Simone da Silva Simões
Departamento de Química
Universidade Federal da Paraíba

Prof^a Fernanda Araújo Honorato
Departamento de Engenharia Química
Universidade Federal de Pernambuco

**Uso da espectroscopia no infravermelho próximo (NIR)
na avaliação de parâmetros de qualidade de
farinhas de mandioca**

Por

Thaisa Oliveira Folha

Departamento de Química Fundamental
Centro de Ciências Exatas e da Natureza
Universidade Federal de Pernambuco
Recife-PE-Brasil
19 de Maio de 2014

Dedico,

a Deus e à minha família, por todo o apoio e amor.

Agradecimentos

- A Deus pela proteção e as oportunidades que me foram concedidas durante toda a minha vida;
- Aos meus pais, Rosicleide de Vasconcelos Oliveira Folha e Aessio Alves Folha, pelo exemplo, por todo amor, dedicação, ajuda incondicional, incentivo e confiança;
- Aos meus irmãos, Regina Folha e Vinicius Folha, e primos pela lealdade, carinho e risadas;
- À Ana Paula Silveira Paim pela orientação científica, pela ajuda, amizade, paciência e sugestões;
- À Claudete pelo suporte científico, disponibilidade, paciência, amizade, críticas e sugestões;
- Aos meus amigos pelo companheirismo e amizade, em especial a Érica Tatiane, Grasielly Karine, Nathália Carreira, Rafaella Sales e Salim Arruda;
- À Paula Tereza, pelo fornecimento de algumas amostras de farinha;
- Aos colegas de Laboratório de Instrumentação e Automação para Análises Químicas – LIAAQ pelas conversas e risadas e a Liderlânia pela ajuda no desenvolvimento deste trabalho;
- À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pela bolsa concedida durante a realização do mestrado;
- Ao Departamento de Química da UFPE, em nome dos funcionários e dos professores;

E a todos que de alguma maneira contribuíram de forma direta ou indireta para a realização deste trabalho.

"Talvez não tenhamos conseguido fazer o melhor, mas lutamos para que o melhor fosse feito. Não somos o que deveríamos ser, não somos o que iremos ser, mas, Graças à Deus, não somos o que éramos antes."

Martin Luther King

Resumo

A espectroscopia no infravermelho próximo associada à quimiometria tem sido empregada para a análise de diferentes amostras. Este trabalho teve como principal objetivo o desenvolvimento de metodologias analíticas multivariadas orientadas a análise de farinhas de mandioca de diferentes regiões do Brasil utilizando-se da espectroscopia de infravermelho próximo (NIR). Os parâmetros de qualidade: cinzas, umidade, e pH foram determinados pelos métodos físico-químicos da AOAC (1995) e do Instituto Adolf Lutz (1985). Os espectros no infravermelho próximo foram adquiridos na faixa de 10000 a 4000 cm^{-1} . Os modelos de calibração foram desenvolvidos utilizando setenta e duas amostras de farinha correlacionando os dados físico-químicos com os espectros NIR por Regressão por Mínimos Quadrados Parciais - PLS, Regressão por Mínimos Quadrados Parciais com coeficientes de regressão selecionados pelo algoritmo Jack-Knife - PLS/JK e Regressão Linear Múltipla com seleção de variáveis pelo Algoritmo das Projeções Sucessivas - MLR/SPA. A capacidade preditiva dos modelos foi avaliada por validação externa, utilizando um conjunto de trinta e cinco amostras que não fizeram parte da modelagem. Os modelos foram testados utilizando diferentes pré-processamentos. A análise de componentes principais (PCA) não permitiu a discriminação das amostras de farinha em função do estado de origem. Quanto aos modelos de calibração e validação, para determinação do teor de umidade, o melhor modelo foi obtido utilizando a correção multiplicativa de sinal (MSC), com RMSEP igual a 0,39%. Para a determinação do pH, o melhor modelo foi obtido empregando a primeira derivada com filtro de Savitzky Golay com janela de 21 pontos, com RMSEP igual a 0,29 . Para a determinação do teor de cinzas, o melhor modelo empregou o MSC, com RMSEP igual 0,11%. As vantagens do emprego dessa técnica são a simplicidade, a rapidez e a ausência de resíduos químicos, os quais são geralmente gerados pelos métodos tradicionais de análises.

Palavras-chave: Farinha de mandioca. Espectroscopia no infravermelho próximo (NIR). Calibração multivariada.

Abstract

Near infrared spectroscopy associated with chemometrics is used for the analysis of different samples. This work had as its main objective the development of analytical methodologies oriented towards a multivariate analysis of cassava flour from different regions of Brazil, using near infrared spectroscopy (NIR). Initially ash, moisture and pH were investigated using the physicochemical methods of AOAC (1995) and Adolfo Lutz Institute (1985). The spectra were acquired in the near infrared range 10000 - 4000 cm⁻¹. The calibration models were developed with seventy-two samples of flour correlating the physicochemical data with the NIR spectra using Partial Least Squares Regression - PLS, Partial Least Squares Regression with regression coefficients selected by the Jack-Knife algorithm; and PLS / JK and multiple linear regression with variable selection by the Successive Projections Algorithm - MLR / SPA. The predictive ability of the models was evaluated by external validation, using a set of thirty five samples that were not part of the modeling. The models were tested using different pre-processing techniques. The principal component analysis (PCA) did not allow for the discrimination of samples of flour by state of origin. As for the model calibration and validation for determination of moisture content, the best model was obtained using multiplicative signal correction (MSC), with RMSEP equal to 0.39%. For the determination of pH, the best model was obtained using the first derivative with a Savitzky Golay filter of 21 points with the window, RMSEP equal to 0.29. MSC, with RMSEP equal to 0.11, was the best model to determine ash content. The advantages of this technique are simplicity, speed and lack of chemical waste, which are usually generated by traditional analysis methods.

Keywords: Cassava flour. Infrared spectroscopy (NIR). Multivariate calibration.

Lista de Figuras

Figura 1 - Distribuição mundial dos países que cultivaram mandioca em 2008 (ha/km ²).	18
Figura 2 - Principais produtos obtidos da mandioca.	19
Figura 3 - Crescimento da produção mundial das principais culturas alimentares, 1980-2011.	20
Figura 4- Etapas do processo de produção de farinha de mandioca seca e d'água.	25
Figura 5 - Lavador-descascador rotativo.	26
Figura 6 - Triturador de raízes de mandioca.	28
Figura 7 Prensa manual utilizada no processamento de farinha de mandioca.	29
Figura 8 - Mandioca prensada.	29
Figura 9 - Torrador com giro mecânico.	30
Figura 10 - Interação da radiação com partículas em uma amostra sólida.	35
Figura 11 - Oscilações moleculares de deformação.	36
Figura 12 - Representação sistemática da energia potencial para (a) oscilador harmônico, (b) oscilador anarmônico. De = distância do equilíbrio (E = mínimo).	37
Figura 13 - Disposição da matriz de dados espectrométricos.	41
Figura 14 - Representação matricial dos dados.	41
Figura 15 - Gráfico bidimensional ilustrando o efeito da centralização na média (a) Dados originais. (b) Dados centrados na média.	42
Figura 16 - Representação das componentes principais no plano de variáveis x1 e x2: (a) representação dos loadings como cosenos dos ângulos formados entre a componente principal e a variável. (b) representação dos scores em um plano bidimensional.	47
Figura 17 – (a) Moinho rotativo PULVERISETTE 14 da FRITSCH. (b) Parte interna do moinho.	60
Figura 18 - Espectrofotômetro da PerkinElmer, modelo Spectrum 400, acoplado com o acessório NIRA.	61
Figura 19 - Amostra posicionada sobre o acessório NIRA.	61
Figura 20 - Espectros NIR originais de 107 amostras de farinha de mandioca.	67
Figura 21 - Espectros das 107 amostras de farinhas de mandioca pré-processados com: (a) primeira derivada com filtro de Savitzky-Golay com janela de 15 pontos; (b) primeira derivada com filtro de Savitzky-Golay com janela de 21 pontos; (c) MSC; (d) SNV.	68
Figura 22 - Gráfico dos scores PC1 versus PC2 nos espectros NIR.	69
Figura 23 - Gráfico dos scores PC1 versus PC2 resultante da PCA realizada em Y.	70
Figura 24 - Gráfico dos loadings da PC1 versus PC2 resultante da PCA realizada em Y.	70
Figura 25 - Gráfico dos valores previstos para umidade versus valores de referência para os modelos: (a) MLR/SPA (b) PLS e (c) PLS/JK (●: amostras de calibração e ●: validação externa).	74
Figura 26 - Variáveis espectrais selecionadas pelas estratégias: (a) MLR/SPA e (b) PLS/JK para umidade utilizando como pré-processamento o MSC.	75

Figura 27 - Gráfico dos valores previstos para pH versus valores de referência para os modelos: (a) MLR/SPA (b) PLS e (c) PLS/JK (●: amostras de calibração e ●: validação externa).	79
Figura 28 - Variáveis espectrais selecionadas pelas estratégias: (a) MLR/SPA e (b) PLS/JK para pH utilizando como pré-processamento a 1 ^a Derivada com filtro de Savitzky Golay com janela de 21 pontos.	81
Figura 29 - Gráfico dos valores previstos para cinzas versus valores de referência para os modelos: (a) MLR/SPA (b) PLS e (c) PLS/JK (●: amostras de calibração e ●: validação externa).	85
Figura 30 - Variáveis espectrais selecionadas pelas estratégias: (a) MLR/SPA e (b) PLS/JK para cinzas utilizando como pré-processamento MSC.	86

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Características físico-químicas da farinha de mandioca de acordo com a Legislação.Instrução Normativa Nº- 52, 7/11/2011.	23
Tabela 2- Regiões espectrais do infravermelho.	33
Tabela 3 - Atribuições das bandas espectrais as transições vibracionais.	38
Tabela 4 - Características físico-químicas para as 107 amostras de farinha de mandioca.	65
Tabela 5 - Resultados obtidos para os modelos de calibração multivariada PLS, PLS-JK e MLR/SPA para umidade utilizando diferentes estratégias de pré-processamento dos espectros.	71
Tabela 6 - Resultados para o teste F (95% de confiança) obtidos na comparação das diferentes técnicas de pré-processamento empregadas na construção dos modelos (MLR/SPA, PLS e PLS/JK) para umidade.	73
Tabela 7 - Resultados obtidos para os modelos de calibração multivariada PLS, PLS-JK e MLR/SPA para pH utilizando diferentes estratégias de pré-processamento dos espectros.	76
Tabela 8- Resultados para o teste F (95% de confiança) obtidos na comparação das diferentes técnicas de pré-processamento empregadas na construção dos modelos (MLR/SPA, PLS e PLS/JK) para pH.	78
Tabela 9 - Resultados obtidos para os modelos de calibração multivariada PLS, PLS-JK e MLR/SPA para cinzas utilizando diferentes estratégias de pré-processamento dos espectros.	82
Tabela 10 - Resultados para o teste F (95% de confiança) obtidos na comparação das diferentes técnicas de pré-processamento empregadas na construção dos modelos (MLR/SPA, PLS e PLS/JK) para cinzas.	84

Lista de Abreviaturas e Siglas

ATR - *Attenuated Total Reflectance* (Reflectância Total Atenuada)

FAR – Região de infravermelho distante

JK - Algoritmo Jack-Knife

IR – Infravermelho

MID – Região de infravermelho médio

MLR - *Multiple Linear Regression* (Regressão Linear Múltipla)

MSC – *Multiplicative Signal Correction* (Correção multiplicativa de sinal)

NIR – Região de infravermelho próximo

NIRA - *Near Infrared Reflectance Accessory*

p – *Loadings*

PC - *Principal Component* (Componente principal)

PCA - *Principal Components Analysis* (Análise por Componentes Principais)

PLS – *Partial Least Squares* (Regressão por Mínimos Quadrados Parciais)

R_{cal} – Coeficiente de correlação de calibração

RMSEP – *Root Mean Square Error of Prediction* (Erro médio quadrático de previsão)

RMSECV – *Root Mean Square Error of Cross Validation* (Erro médio quadrático de validação cruzada)

rpm – Rotações por minuto

S. G. – Savitzky Golay

SNV - *Standard Normal Variate* (Variação normal padrão)

SPXY - *Sample set Partitioning based on joint x-y distances*

t – *Scores*

VLs – Número de variáveis latentes

X – Matriz de dados espectrais (variáveis independentes)

y – Matriz de dados experimentais (variáveis dependentes)

Sumário

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 MANDIOCA	17
2.2 FARINHA DE MANDIOCA	20
2.2.1 História do cultivo	21
2.2.2 Classificação da farinha	21
2.2.3 Processo de beneficiamento	23
2.2.3 Características físico-químicas das farinhas de mandioca	31
2.3 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO	33
2.4 QUIMIOMETRIA	39
2.4.1 Arranjo dos dados e notação algébrica	40
2.4.2 Pré-processamento dos dados	41
2.4.3 Análise de Componentes Principais (PCA)	46
2.4.4 Modelos de Regressão	47
2.4.5 Seleção de variáveis	50
2.4.6 Seleção de amostras	51
2.4.7 Validação	52
2.5.8 Amostras anômalas (<i>Outliers</i>)	53
2.5 MÉTODOS ANALÍTICOS BASEADOS NA ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PARA ANÁLISE DE FARINHAS	53
3 OBJETIVOS	57
3.1 OBJETIVO GERAL	57
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	57
4. METODOLOGIA	59
4.1 AMOSTRAGEM	59
4.2 MÉTODOS DE REFERÊNCIA	59
4.2.1 Determinação da umidade a 105º C	59

4.2.2 pH	59
4.2.3 Cinzas	60
4.3 TRATAMENTO DAS AMOSTRAS	60
4.4 AQUISIÇÃO DOS ESPECTROS	60
4.2.8 Tratamento quimiométrico dos dados	61
4.2.9 Desenvolvimento dos modelos de regressão	62
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
5.1 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	65
5.2 ESPECTROS DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO DE REFLECTÂNCIA DIFUSA	66
5.3 PCA	68
5.4 CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA	71
5.4.1 Umidade	71
5.4.2 pH	76
5.4.3 Cinzas	82
CONCLUSÃO	87
PERSPECTIVAS	88
REFERÊNCIAS	89
APÊNDICE	96

Capítulo 1:

Introdução

1. INTRODUÇÃO

A farinha é um dos principais produtos obtido da raiz da planta mandioca (*Manihot esculenta Crantz*), sendo o seu consumo difundido por todo o Brasil, principalmente nas regiões Norte e Nordeste e nos países da África e Ásia (FERREIRA NETO; FIGUEIRÊDO; QUEIROZ, 2003).

O processo de fabricação da farinha de mandioca é bastante diversificado, pois geralmente é produzida artesanalmente por pequenos produtores, utilizando mão de obra familiar, ou por empresas de pequeno porte que não possuem tecnologia ou procedimentos bem estabelecidos. Em geral, a produção é realizada em precárias condições higiênico-sanitárias. As diferenças de processamento influenciam no padrão de qualidade das farinhas, deixando-as fora do padrão exigido pela legislação vigente e também na segurança alimentar do consumidor (CHISTÉ, 2006).

As análises convencionais utilizadas no controle da qualidade de alimentos são precisas, no entanto, apresentam algumas desvantagens consideráveis, visto que geralmente são laboriosas, pois consomem muito tempo, são dispendiosas e geram muitos resíduos. A espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) vem sendo muito utilizada como método de controle de qualidade de alimentos, uma vez que é uma técnica que requer pouco ou nenhum tratamento das amostras e permite a análise de vários parâmetros, produzindo métodos rápidos e limpos (PASQUINI, 2003).

De acordo com a literatura, os resultados obtidos utilizando a espectroscopia NIR associada às ferramentas quimiométricas para determinação de parâmetros de qualidade de farinhas de trigo (FERRÃO, 2004; DON; SUN, 2013), farinhas de soja (MENEZES *et al.*, 2004), farinhas de linhaça (RIBEIRO, 2012) e farinhas de mandioca, batata doce, cará e inhame produzidas em diferentes países da Ásia (LEBOT *et al.*, 2009) são bastante promissores. Entretanto, nenhum trabalho foi encontrado na literatura que tivesse como matriz a farinha de mandioca fabricada no Brasil.

Nesse contexto, o presente trabalho apresenta um método analítico para determinar os parâmetros de qualidade: teores de umidade, cinzas e pH em farinhas de mandioca de diversas regiões do Brasil por meio da espectroscopia NIR e modelos de calibração multivariada, para o controle de qualidade dessas farinhas.

Capítulo 2:

Revisão de Literatura

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 MANDIOCA

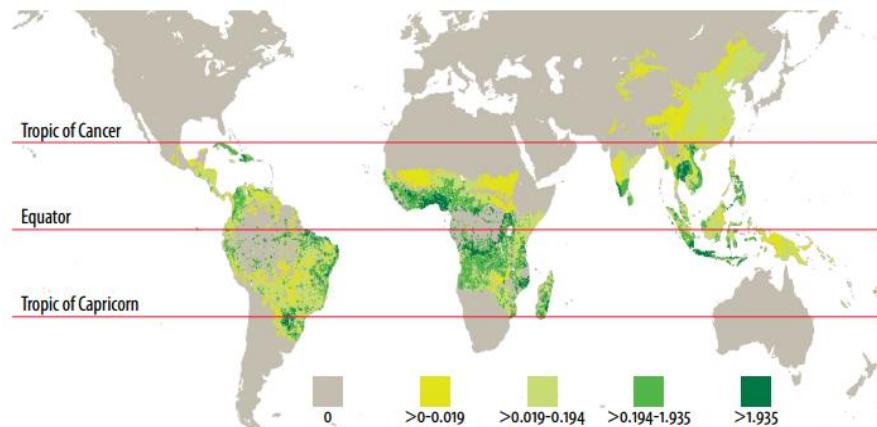
A mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) é uma planta que teve a sua origem no sul do continente americano. Há indícios que desde a descoberta do Brasil, a mandioca já era cultivada e processada pelos índios e utilizada na alimentação. Posteriormente, foi levada à África pelos portugueses e servia de alimentação para os colonizadores e escravos transportados através do Oceano Atlântico, em direção às Américas (LORENZI ; DIAS, 1993, CAMARGO, 2007).

Componente essencial na alimentação dos indígenas brasileiros, a mandioca deve o seu nome ao tupi-guarani *mandióg*, que designa a raiz da planta, chamada *mandii*. Atualmente, há uma grande variedade de nomes pelo qual a mandioca é conhecida, dependendo da região, ela pode ser chamada de: “[...] aipim, aimpim, candinga, castelinha, macamba, macaxeira, macaxera, mandioca-brava, mandioca-doce, mandioca-mansa, maniva, maniveira, moogo, mucamba, pão-da-américa, pão-de-pobre, pau-de-farinha, pau-farinha, tapioca, uaipi, xagala. (RETEC-BA, 2006).”

Por ser uma planta bastante tolerante à seca e a solos de baixa fertilidade, a cultura da mandioca é bem estabelecida nos países que estão localizados nas zonas tropicais da África, América e Ásia (EMBRAPA, 2011).

Atualmente, dos vinte maiores produtores de mandioca, onze estão localizados na África, em seguida tem-se a Ásia, principalmente no sudeste, com seis países produtores: Tailândia, Indonésia, Índia, China, Japão e Malásia. A América do sul possui três países produtores de mandioca: Brasil, Paraguai e Colômbia (FOCO et al., 2008). Da produção mundial, a África é responsável por 54,5%; a Ásia, por 27,8%; e a América Latina, 17,7%. A Figura 1 ilustra a produção mundial de mandioca em ha/km².

Figura 1 - Distribuição mundial dos países que cultivaram mandioca em 2008 (ha/km²).



Fonte: FAO, 2013.

Rica em carboidratos, a mandioca é utilizada tanto na alimentação humana quanto na alimentação animal. A composição química média da raiz desta planta é: 65% água, 25% amido, 3% proteína, 2% celulose e 5% outros (EMBRAPA, 2003). Por isso é muito utilizada na alimentação humana, constituindo a principal fonte de carboidrato para a população de baixa renda. Para alimentação animal utilizam-se tanto as folhas e caule, como as raízes.

As variedades de mandioca podem ser classificadas como mansas ou bravas de acordo com o teor de ácido cianídrico (HCN) presente na raiz. As mandiocas conhecidas como mansas ou doces apresentam menos de 100 mg kg⁻¹ de HCN em polpa crua de raízes e são destinadas ao consumo humano de forma fresca. Por outro lado, as mandiocas bravas ou amargas possuem mais de 100 mg kg⁻¹ de HCN em polpa crua de raízes e necessitam de algum processamento antes de serem consumidas pelos humanos. O ácido cianídrico é um composto volátil, por isso é quase que totalmente eliminado durante os processos de fabricação da farinha, da fécula e durante o cozimento (MAIEVES, 2010; SOARES, 2011).

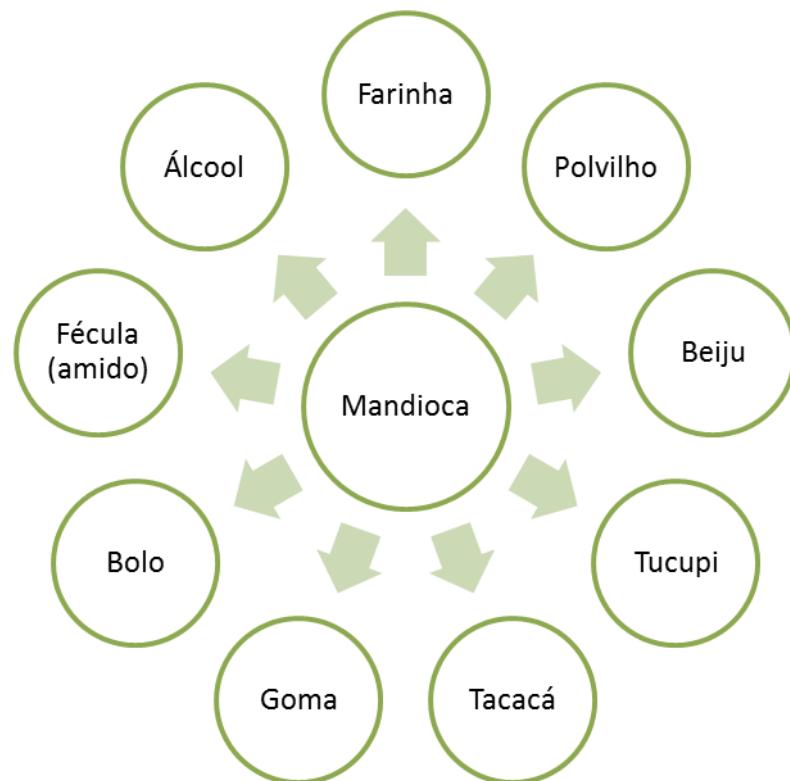
No Brasil, a mandioca e seus subprodutos originaram uma variada gastronomia, na qual os principais produtos utilizados na alimentação humana são: mandioca pré-cozida, farinhas cruas ou torradas, polvilho doce ou azedo, beijus, mingaus e bolos diversos, ou ainda, como aditivo na fabricação de embutidos, balas, bolachas e roscas, sobremesas, sugu, sopas e pão (Figura 2) (SEBRAE, 2009).

Na região Norte, preparam com a mandioca o tacacá e o tucupi, além da farinha d'água. Na Bahia, utilizam-se os brotos novos da planta com o guisado de carne ou peixe para

Mandioca

compor um prato típico, conhecido como maniçoba. Muitas aplicações da mandioca na culinária derivam da inventividade dos índios, que dela extraíam o cauim, bebida fermentada. O álcool que as raízes fornecem está presente ainda hoje na tiquira, aguardente produzida no Maranhão e na Amazônia.

Figura 2 - Principais produtos obtidos da mandioca.

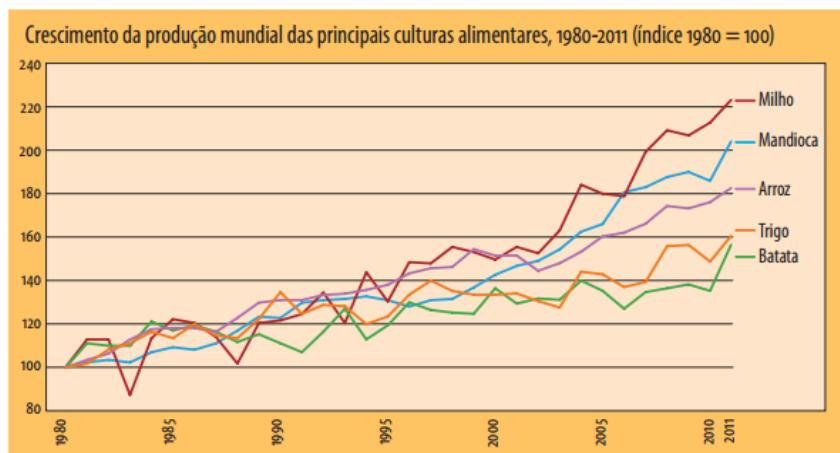


Fonte: Elaborado pela autora.

Mandioca

A mandioca é uma das principais culturas exploradas agronomicamente no mundo (Figura 3), com uma produção acima de 200 milhões de toneladas. Entre as principais culturas alimentares, perde apenas para o milho (FAO, 2013).

Figura 3 - Crescimento da produção mundial das principais culturas alimentares, 1980-2011.



Fonte: FAO, 2013.

2.2 FARINHA DE MANDIOCA

O Ministério da Agricultura define a farinha de mandioca como o produto obtido de raízes do gênero *Manihot*, submetidas a processo tecnológico adequado de fabricação e beneficiamento (BRASIL, 2011).

A farinha de mandioca constitui o produto principal da mandioca. Sendo responsável por, aproximadamente, 70% da produção da raiz. Seu consumo é difundido por todo o país, constituindo a principal fonte de carboidrato para a população de baixo poder aquisitivo, principalmente nas regiões Norte e Nordeste do Brasil (FERREIRA NETO; FIGUEIRÉDO; QUEIROZ, 2003). De acordo com uma pesquisa realizada por Moreira e Santana (2011) no estado do Pará, cerca de 45% dos consumidores não substituem a farinha de mandioca por nenhum outro produto.

2.2.1 História do cultivo

A farinha de mandioca já era produzida pelos indígenas, em operações conhecidas como “farinhadas”, desde a chegada dos portugueses. Também foi muito utilizada como alimento para os escravos que eram mantidos nas fazendas e nos engenhos, além de servir também como suprimento alimentar dos portugueses que faziam viagens longínquas. Levadas em sacos pelos referidos viajantes, conta-se que para evitar que fosse perecível, misturava-se à farinha de mandioca, a farinha de peixe seco socada em pilão (SOARES apud CONCEIÇÃO, 1981).

Segundo Pinto [S.d.] e Camargo (2007), durante o período colonial, outras denominações da farinha eram comuns, tais como:

- Farinha de Barco: assim conhecida porque chegava através do mar e se deprecia no mercado porque ficava com cheiro da maresia;
- Farinha de Foguete: era colocada à venda em situações de calamidade pública e sua chegada era anunciada por um foguete;
- Farinha de Guerra: reservada às tropas em mobilidade, foi usada, por exemplo, pelos bandeirantes quando se deslocavam para o sertão. Era servida no rancho dos quartéis e considerada de má qualidade;
- Farinha de Pau: denominação atribuída pelos portugueses por analogia com a raiz da mandioca.

2.2.2 Classificação da farinha

A classificação da farinha de mandioca é determinada pelo órgão oficial de classificação credenciado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, por meio do Certificado de Classificação e é estabelecida em função dos seus requisitos de identidade e qualidade.

Os requisitos de identidade da farinha de mandioca são definidos pelo gênero e pelo processo tecnológico de fabricação, nos quais, as farinhas podem ser classificadas como: seca, d'água e bijusada. Quanto aos requisitos de qualidade, as farinhas de mandioca são

Farinha de Mandioca

classificadas em função da granulometria e dos teores de amido e cinzas, fibra bruta, casca e entrecascas, características sensoriais e ausência de matérias estranhas.

De acordo com o processo tecnológico de fabricação, conforme já mencionado, a farinha de mandioca será classificada em:

- Farinha seca: quando o produto for obtido das raízes de mandioca sadias, devidamente limpas, descascadas, trituradas, raladas, moídas, prensadas, desmembradas, peneiradas, secas à temperatura adequada, podendo ser peneirada outra vez e ainda beneficiada;

E de acordo com a granulometria, a farinha de mandioca desse grupo, poderá ser classificada em três classes:

- a) fina: quando todo o produto passar pela peneira com abertura de malha de 2 mm e ficar retida em até 10% na peneira com abertura de malha de 1 mm;
- b) grossa: quando mais de 10% da farinha fica retida na peneira com abertura de malha de 2 mm;
- c) média: quando a farinha não se enquadrar nas classes anteriores.

- Farinha d'água: é a farinha fermentada, proveniente das raízes de mandiocas sadias, maceradas, descascadas, trituradas ou moídas, prensadas, desmembradas, peneiradas e secas à temperatura adequada, podendo ser peneirada outra vez;

E de acordo com a sua granulometria, a farinha de mandioca do grupo d'água será classificada nas seguintes classes:

- a) fina: quando a farinha fica retida em até 10% na peneira com abertura de malha de 2 mm;
- b) média: quando o produto fica retido em mais de 10% e até 15% na peneira com abertura de malha de 2 mm;
- c) grossa: quando a farinha fica retida em mais de 15% na peneira com abertura de malha de 2 mm.

- Farinha bijusada: farinha de baixa densidade, proveniente das raízes de mandioca sadias, limpas, descascadas, trituradas, raladas (moídas), prensadas, desmembradas,

peneiradas e laminadas à temperatura adequada, na forma predominante de flocos irregulares;

As farinhas de mandioca, de acordo com o grupo que pertencem, serão classificadas em três tipos para as farinhas do grupo seca ou do grupo d'água ou em um único tipo para as farinhas bijusadas, de acordo com seguintes características físico-químicas estabelecidas na Tabela 1.

Tabela 1 - Características físico-químicas da farinha de mandioca de acordo com a Legislação. Instrução Normativa Nº- 52, 7/11/2011.

	FARINHA SECA			FARINHA D'ÁGUA			FARINHA BIJUSADA
Tipo	1	2	3	1	2	3	Único
Teor de amido (g/100g)	≥86,0 ≤86,0	≥82,0 <86,0	≥80,0 <82,0	≥86,0 ≤86,0	≥82,0 <86,0	≥80,0 <82,0	≥80,0
Cinzas (g/100g)	≤1,4	≤1,4	≤1,4	≤1,4	≤1,4	≤1,4	≤1,4
Umidade (g/100g)	≤13,0	≤13,0	≤13,0	≤13,0	≤13,0	≤13,0	≤13,0
Fibra bruta (g/100g)	≤2,3	≤2,3	≤2,3	≤2,3	≤2,3	≤2,3	≤2,3

Fonte: BRASIL, 2011.

Quanto à acidez, a farinha de mandioca poderá apresentar acidez baixa ou alta: para os grupos seca e bijusada será considerada de acidez baixa a farinha de mandioca que apresentar valores até 3,0 meq NaOH (0,1N)/100 g, ou alta para valores acima de 3,0 meq NaOH (0,1N)/100 g; enquanto que para o Grupo d'água será considerada de acidez baixa a farinha de mandioca que apresentar valores até 5,0 meq NaOH (0,1N)/100 g, ou alta para valores acima de 5,0 meq NaOH (0,1N)/100g (BRASIL, 2011).

2.2.3 Processo de beneficiamento

O processo de fabricação da farinha é simples, porém exige alguns cuidados no seu desenvolvimento a fim de garantir a qualidade da mesma, como por exemplo: a seleção da

matéria-prima adequada, a higiene e os cuidados durante todo o processo de fabricação (SOUZA *et al.*, 2008 a).

A maior parte da farinha de mandioca comercializada é produzida por pequenos agricultores, utilizando a mão de obra familiar, em estabelecimentos denominados de “Casas de Farinha” e processada de forma primitiva, semelhante aos primeiros índios. Nesses locais, as condições higiênico-sanitárias geralmente são precárias, podendo se observar animais domésticos transitando na área de processamento, presença de insetos e/ou roedores, falta de higiene do pessoal da produção e a não higienização do maquinário, além de outras irregularidades, o que compromete a qualidade do produto e a segurança alimentar (CHISTÉ, 2006, FERREIRA NETO; FIGUEIRÉDO; QUEIROZ, 2003).

Além das condições de higiene das Casas de Farinha, as diferenças no processamento da farinha, tais como fermentação da mandioca, intensidade da prensagem da massa triturada e temperatura do forno, influenciam no padrão de qualidade das farinhas (CHISTÉ *et al.*, 2006).

As etapas ou operações unitárias do processamento de farinha de mandioca são: colheita/recepção das raízes, descascamento, lavagem, Trituração, prensagem, esfarelamento, torração e ensacamento, conforme ilustrado na Figura 4. A essas operações básicas outras podem ser acrescentadas, como a de amolecimento em água. O tempo de processamento depende do quanto mecanizado é o processo, pois quando predominam as etapas manuais o tempo de processo é mais longo e o produto mais difícil de padronizar (CEREDA, 2003).

Figura 4- Etapas do processo de produção de farinha de mandioca seca e d'água.



Fonte: Elaborado pela autora.

Colheita / Recepção das raízes:

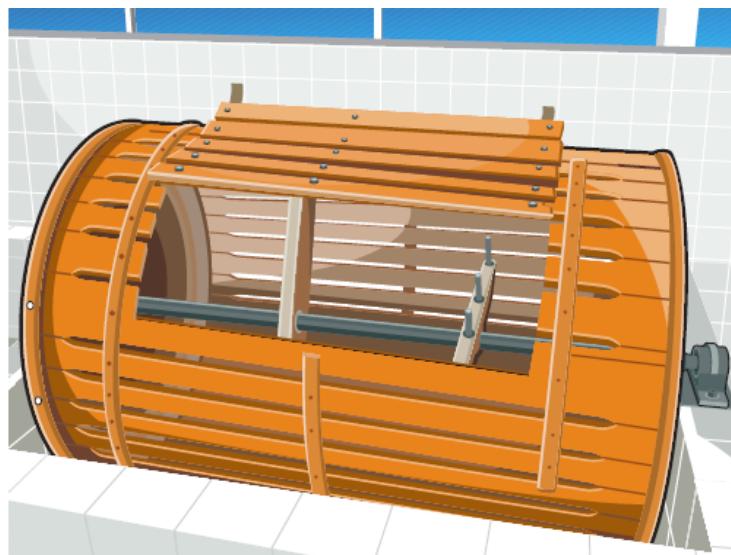
As raízes de mandioca utilizadas na fabricação de farinha são colhidas com a idade de 16 a 20 meses, entre abril e agosto, quando geralmente apresentam o máximo de rendimento (EMBRAPA, 2006). O processamento deve acontecer logo após a colheita ou no prazo máximo de 24 horas, para evitar perdas ou escurecimento da raiz, proveniente do ataque de microrganismos, como fungo, por exemplo (ARAUJO; LOPES, 2009).

As raízes que são selecionadas devem possuir uma boa integridade, textura adequada e ausência de pontos escurecidos ou outra coloração diferente da coloração original da polpa. O odor deve ser característico de raízes frescas (BEZERRA, 2006).

Descascamento:

Nesta etapa, eliminam-se as fibras presente nas cascas e as substâncias tânicas, responsáveis pelo escurecimento da farinha e parte do ácido cianídrico também presente nas cascas (EMBRAPA, 2006). O descascamento pode ser realizado manualmente, através de facas ou do raspador manual, ou ainda através de lavador-descascador rotativo de raízes, equipado com entrada de água corrente potável, Figura 5. Neste equipamento, as impurezas pesadas, como pedras, terra aderida às raízes, cascas e películas, estimadas entre 5% e 10%, são arrastadas pela água ao longo das barras do lavador ou são retiradas pela porta de limpeza. No lavador-descascador rotativo o descascamento e a lavagem são efetuados na mesma etapa (BEZERRA, 2006).

Figura 5 - Lavador-descascador rotativo.



Fonte: BEZERRA, 2006.

Lavagem

As raízes descascadas são lavadas com água corrente, a fim de retirar restos de cascas e qualquer resquício de impurezas que possam comprometer a qualidade da farinha. Em seguida, as raízes lavadas são imersas em uma solução 0,5% de água clorada, para dificultar o

crescimento de bactérias e fungos contaminantes (ARAUJO; LOPES, 2009; BEZERRA, 2006).

Amolecimento em água (FARINHA D'ÁGUA)

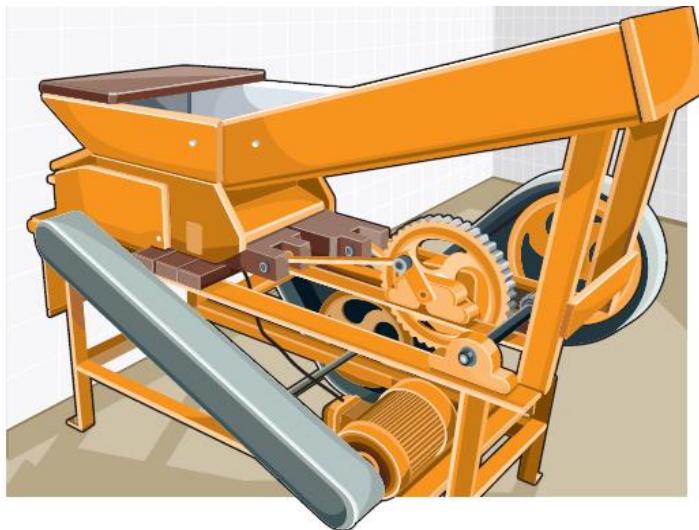
Este procedimento se aplica apenas no processamento da farinha d'água, no qual as raízes descascadas e lavadas são colocadas em um recipiente com água parada ou corrente no período que varia de 3 a 5 dias. Nesta etapa, ocorre a fermentação das raízes, devido ao contato com a água, que provoca o amolecimento das raízes, deixando a massa com características sensoriais peculiares (ARAUJO; LOPES, 2009; BEZERRA, 2006). Segundo Maravalhas (1964) apud Chisté e Cohen (2011), a fermentação é quem determina o sabor e o odor da farinha d'água e a principal fermentação que ocorre é provavelmente a butírica por *Clostridium sp*, uma vez que é observado um acentuado odor butírico exalado.

Trituração

Nesta etapa, a mandioca é transformada em massa. Trituram-se as raízes para que as células das mesmas sejam rompidas, liberando os grânulos de amido, permitindo a homogeneização da farinha (COSTA, 2010).

A mandioca limpa é levada ao triturador, geralmente elétrico, constituído de cilindro de aço inoxidável, provido de lâminas, que ficam dispostas de forma paralela entre si, Figura 6. O cilindro gira a uma velocidade de 1200 a 2500 rpm. Para dar início ao processo, as raízes são empurradas em direção ao centro do cilindro com auxílio de braços de madeira que possuem movimentos alternados (BEZERRA, 2006).

Figura 6 - Triturador de raízes de mandioca.



Fonte: BEZERRA, 2006.

Prensagem

A prensagem é uma operação realizada com o propósito de diminuir a quantidade de água da massa ralada obtida. No geral, elimina-se cerca de 20 a 30% da água presente. Esta água é conhecida como manipueira, líquido rico em amido (BEZERRA, 2006).

Essa operação é de suma importância, uma vez que ao retirar o excesso de água da massa, diminui-se o efeito de fermentações indesejadas, além de diminuir o tempo e economizar combustível na operação de torração (COSTA, 2010).

É possível utilizar prensas manuais, construídas de madeira (Figura 7), ou prensas hidráulicas, que possuem maiores rendimentos e requer menos esforço do trabalhador.

Figura 7 Prensa manual utilizada no processamento de farinha de mandioca.



Fonte: BEZERRA, 2006.

Esfarelamento

Após a etapa de prensagem, a massa obtida encontra-se na forma de bloco, compacto e coeso, Figura 8. A massa deve ser esfarelada antes de seguir para a próxima etapa, a fim diminuir a aglutinação da mesma.

Figura 8 - Mandioca prensada.



Fonte: COSTA, 2010.

O esfarelamento pode ocorrer de forma mecânica ou manual. No caso mecânico, é utilizada uma peneira vibratória acoplada a um motor elétrico. Enquanto que, da forma manual, utiliza-se um rodo sobre uma peneira normal para auxiliar no peneiramento da massa. Com a peneira vibratória é possível obter um maior rendimento quando comparada ao processo manual. A malha das peneiras utilizada nesse processo determinará a granulometria da farinha produzida (ARAUJO; LOPES, 2009; BEZERRA, 2006).

Torrão

Nesta etapa, uma fina camada da massa obtida dos processos anteriores é colocada sobre um forno com temperatura de aproximadamente 160 °C, por cerca de 30 minutos. A massa a ser torrada deve ser movimentada do início ao fim do processo, com auxílio de um rodo ou de um giro mecânico com palhetas de madeira nos processos mais mecanizados, Figura 9. É considerada a etapa mais delicada do processo, pois além de eliminar o remanescente de ácido cianídrico, que causa o sabor amargo da farinha, determina a cor, o sabor e a durabilidade do produto final (ARAUJO; LOPES, 2009; BEZERRA, 2006; COSTA, 2010).

Figura 9 - Torrador com giro mecânico.



Fonte: BEZERRA, 2006.

Resfriamento / Peneiramento

Durante o resfriamento, grânulos da farinha se aglutanam devido à gomagem da fécula. Esta etapa é utilizada para uniformizar a granulometria da farinha e então classificá-la. A classificação é realizada com o auxílio de peneiras padronizadas com abertura de malha de 2 mm (COSTA, 2010).

Ensacamento

Depois de classificada, a farinha é condicionada em sacos de 50 kg destinados às vendas em atacado ou ainda em sacos de 0,5 ou 1 kg para vendas em varejo. O acondicionamento pode ser mecânico, através de uma máquina embaladora automática ou manual, com o fechamento através da costura (ARAUJO; LOPES, 2009).

2.2.3 Características físico-químicas das farinhas de mandioca

A composição das farinhas varia de acordo com a origem do grão e processos tecnológicos de sua fabricação. Especificamente, as farinhas são identificadas por alguns ensaios de qualidade. As análises de rotina incluem, entre outras, as determinações de umidade, pH e cinzas.

Umidade

A umidade é um parâmetro muito importante nas farinhas de mandioca e está relacionado ao tempo de armazenamento das mesmas, valores acima de 13% favorecem o crescimento microbiano e a deterioração em um período de tempo menor, enquanto que valores mais baixos favorecem um tempo vida de prateleira mais longo (SOUZA *et al.*, 2008).

Segundo Chisté e Cohen (2011), o teor de umidade da farinha está relacionado ao processo de fabricação da mesma e varia, principalmente, com o tempo e a temperatura de torração, assim como as condições de armazenamento e o material da embalagem.

Diversos métodos para determinação de umidade são descritos na literatura (LUTZ, 2008). O método gravimétrico é o mais comumente aplicado e utiliza uma pequena quantidade de amostra (FERRÃO, 2000). Este método, entretanto, é muito lento e tem duração média de seis horas (BOTELHO; MENDES; SENA, 2013).

pH

O pH das farinhas está relacionado com o processo de fabricação das mesmas, como por exemplo, o tempo de fermentação ou tempo de prensagem da massa de mandioca triturada. Esse parâmetro é importante em farinhas porque baixos valores de pH, acidez elevada, limitam a capacidade de desenvolvimento de microrganismos no alimento. A maioria dos fungos, leveduras filamentosas e bactérias crescem em pH superior a 4,5 (SOUZA *et al.*, 2008).

De acordo com Santos *et al.* (2008), os alimentos podem ser classificados de acordo com o pH como muito ácidos ($\text{pH} < 4$), ácidos (pH entre 4,0 e 4,5) e pouco ácidos ($\text{pH} > 4,5$). Essa classificação se baseia no pH mínimo para a multiplicação e produção de toxina do *Clostridium botulinum* ($\text{pH} = 4,5$) e no pH mínimo para a multiplicação da grande maioria das bactérias ($\text{pH} = 4,00$).

Os processos que avaliam o pH podem ser colorimétricos ou eletrométricos. Os primeiros são processos limitados, visto que apresentam medidas aproximadas. Nos processos eletrométricos utilizam-se potenciômetros que permitem uma determinação direta e precisa do pH (LUTZ, 2008).

Cinzas

O teor de cinzas da farinha de mandioca está relacionado tanto com as características intrínsecas das raízes, quanto com o processo de fabricação, como, por exemplo, o descascamento (CHISTÉ ; COHEN, 2011). De acordo com Paiva (1991) e Souza *et al.* (2008), teores maiores aos estabelecidos pela legislação de cinzas, podem ser indícios de

fraudes, como adição de areia ou ainda de processamento inadequado, como por exemplo, de lavagem e/ou descascamento incompletos. Valores maiores que a tolerância máxima permitida pode ser ainda um indicativo de teores significativos de Ca, P, Fe e Mg, como também, mais provavelmente, indicam contaminação por material estranho ao produto ocasionado por falhas em algumas etapas do processamento.

O método gravimétrico é o mais aplicado na determinação de cinzas, podendo ter outras variantes que também são oficializadas na literatura (FERRÃO, 2000). O método gravimétrico apesar de ser preciso, é bastante trabalhoso (LUTZ, 2008).

2.3 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO

Princípios teóricos

A radiação infravermelha (IV) compreende a faixa de radiação eletromagnética com números de onda no intervalo de aproximadamente 12800 a 10 cm⁻¹. A radiação IV se divide em três regiões: infravermelho próximo, NIR, do inglês *Near Infrared* (12800 - 4000 cm⁻¹), o infravermelho médio, MID, do inglês *Middle Infrared* (4000 - 200 cm⁻¹) e o infravermelho distante, FIR, do inglês *Far Infrared*, (200 - 10 cm⁻¹) (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009). A Tabela 2 fornece os limites aproximados das três regiões do infravermelho.

Tabela 2- Regiões espectrais do infravermelho.

Região	Comprimentos de onda (λ), μm	Números de onda (\bar{v}), cm ⁻¹	Frequências (v), Hz
Próximo	0,78 – 2,5	12800 – 4000	$3,8 \times 10^{14} - 1,2 \times 10^{14}$
Médio	2,5 – 50	4000 - 200	$1,2 \times 10^{14} - 6,0 \times 10^{12}$
Distante	50 - 1000	200 – 10	$6,0 \times 10^{12} - 3,0 \times 10^{11}$

FONTE: Adaptado de (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009).

Para que a radiação IV seja absorvida por uma molécula, ela deve possuir variações no momento de dipolo durante seus movimentos, sejam eles translacionais ou rotacionais. Desta forma, quando o comprimento de onda da radiação IV coincide com a frequência de oscilação de uma ligação molecular, o campo elétrico alternado da radiação pode interagir com a molécula e causar variações na amplitude dos movimentos. Portanto, a radiação IV é limitada às moléculas que possuem diferenças de energia nos estados vibracionais e rotacionais (HIGSON, 2009; SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009).

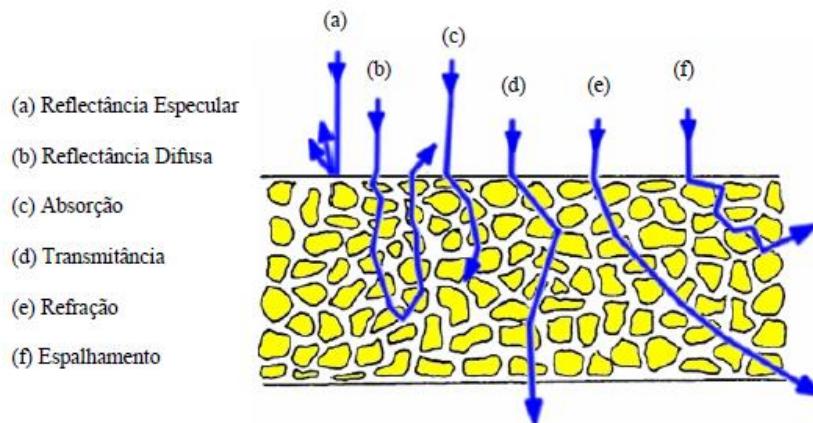
A espectroscopia IV é usada pelos químicos orgânicos para ajudar na identificação estrutural, pois sabe se que cada movimento envolve oscilação em uma frequência específica, logo a absorção pode ajudar a caracterizar o tipo de oscilação molecular que está ocorrendo e, frequentemente, os grupos funcionais presentes nas moléculas (HIGSON, 2009).

A absorção de radiação IV segue a lei de Beer-Lambert, que relaciona a absorção à concentração das moléculas, c_n , ao comprimento do trajeto, l , e à absorvidade molar, ε , Equação 1. Portanto, a absorção da radiação IV está diretamente relacionada à concentração de ligações (ou grupos funcionais) específica na amostra e, portanto, à concentração de analitos existentes (HIGSON, 2009).

$$A = \varepsilon c_n l \quad (1)$$

A incidência da radiação eletromagnética nas partículas da amostra podem causar diversos tipos de fenômenos, como absorção, transmissão, refração e reflexão e difração da luz incidente, Figura 10. Os mecanismos de medida mais utilizados para a caracterização dos compostos no infravermelho são: absorbância, transmitância e reflectância (COSTA FILHO, 2003; PANERO, 2007; SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009).

Figura 10 - Interação da radiação com partículas em uma amostra sólida.



Fonte: PANERO, 2007.

A transmitância se baseia na atenuação do feixe de radiação incidente, devido à interação entre os fótons e os átomos ou moléculas absorventes, sendo a mesma determinada pela razão entre a potência do feixe de saída (P) e o incidente (P_0) : $T = P/P_0$ (CAETANO, 2010; PASQUINI, 2003; SIMÕES, 2008).

Quando interage com a matéria, a radiação eletromagnética pode sofrer diferentes tipos de reflexão, tais como: reflexão difusa, reflexão especular, reflexão interna e reflexão total atenuada. A reflectância difusa é muito utilizada na obtenção dos espectros em amostras sólidas para análises empregando a espectrometria NIR. Nesse processo, a radiação penetra na camada superficial das partículas e excita os modos vibracionais das moléculas do composto de interesse e a energia refletida emerge aleatoriamente e espalha-se em todas as direções. A energia refletida difusamente pela amostra carrega informações suficientes para geração do espectro da amostra na região do infravermelho. Esse tipo de medida permite obter espectros diretamente de amostras sólidas com um mínimo de preparo das mesmas. (FERRÃO, 2000; PANERO, 2007; PEREIRA, 2008; SIMÕES, 2008).

Vibrações moleculares

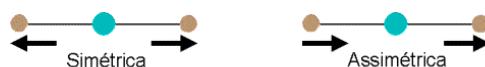
Em uma molécula, os átomos se movimentam, flexionam e vibram em torno de suas ligações moleculares. A frequência de uma oscilação molecular é determinada,

principalmente, pela natureza de cada ligação na molécula e pelos tipos de grupamento diretamente associados à oscilação (HIGSON, 2009; SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009).

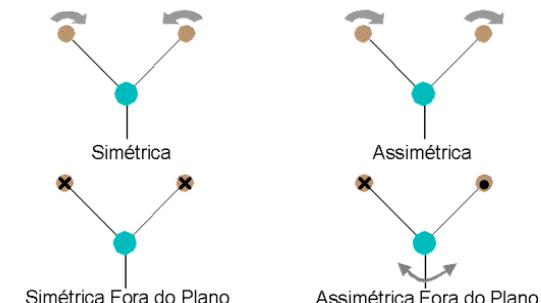
As oscilações ou vibrações moleculares podem ocorrer por: estiramento, que consiste em uma variação interatômica ao longo do eixo da ligação entre dois átomos ou grupos da molécula; bem como por deformação, que envolvem variação de ângulos entre as ligações; além de uma combinação de ambos. Dos modos de vibração conhecidos, os mais utilizados são: a deformação angular simétrica no plano, a deformação angular assimétrica no plano, deformação angular simétrica no plano e deformação angular assimétrica fora do plano, como ilustrado na Figura 11 (HIGSON, 2009).

Figura 11 - Oscilações moleculares de deformação.

Deformações Axiais



Deformações Angulares



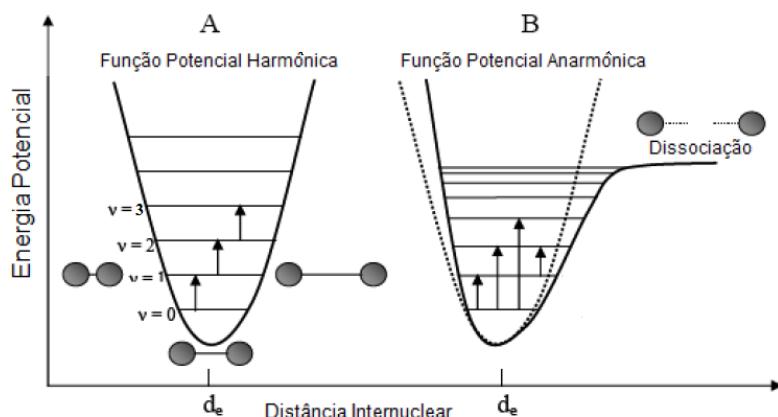
A maioria das moléculas se encontra no estado vibracional fundamental à temperatura ambiente, podendo ocorrer transições entre os níveis vibracionais quando energia é transferida para a molécula. O modelo do oscilador harmônico simples pode ser utilizado para descrever as características de uma vibração atômica, se uma molécula diatômica for aproximada por duas massas esféricas, m_1 e m_2 , conectadas por uma mola que possui constante de força constante, k (PASQUINI, 2003; SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009).

A energia potencial do sistema massa-mola (E), em função da distância entre os átomos (x), é dada pela Equação 2 e tem o formato de uma parábola, como representado pela Figura 12. A energia potencial é mínima na posição de equilíbrio e é máxima quando a mola está esticada ou comprimida na sua amplitude máxima (PASQUINI, 2003). Entretanto, o

modelo harmônico possui limitações quando utilizado para descrever os movimentos vibracionais moleculares, pois os sistemas moleculares possuem energia discreta e não energia contínua, conforme descrito pelo modelo. Além disso, nesse modelo a diferença entre dois modos vibracionais adjacentes são sempre iguais, permitindo apenas a transição entre níveis vibracionais adjacentes $\Delta v = \pm 1$ - Regra de seleção (PASQUINI, 2003).

$$E = \frac{1}{2} k x^2 \quad (2)$$

Figura 12 - Representação sistemática da energia potencial para (a) oscilador harmônico, (b) oscilador anarmônico. d_e = distância do equilíbrio ($E = \text{mínimo}$).



FONTE: Adaptado de PASQUINI, 2003.

Um modelo mais realista para representar as vibrações moleculares é o oscilador anarmônico, que considera a repulsão coulômbica entre dois núcleos, quando os dois átomos se aproximam e o decréscimo da energia potencial, quando a distância interatômica está próximo da dissociação, como mostra a Figura 12-b. Nesse modelo, é possível explicar transições com $\Delta v = \pm 2$ ou ± 3 , denominadas sobretons, com frequências aproximadamente duas a três vezes a frequência fundamental (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009).

Espectroscopia NIR

As absorções moleculares mais frequentes na espectroscopia NIR são harmônicas de estiramentos C-H, N-H e O-H e bandas de combinação, Tabela 3. (HIGSON, 2009; PASQUINI, 2003; SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009). Essa região é caracterizada por possuir bandas sobrepostas e fracas, aproximadamente de 10 a 100 vezes mais fracas quando comparadas às bandas do MID, visto que as probabilidades de transições envolvendo sobretons são menores quando comparadas às transições fundamentais (COSTA FILHO, 2003).

Tabela 3 - Atribuições das bandas espectrais as transições vibracionais.

Região Espectral (nm)	Natureza da transição vibracional
2200 – 2450	Combinação de estiramentos C-H
2000 – 2200	Combinação de estiramentos N-H e O-H
1650 – 1800	Primeiro sobreton do estiramento C-H
1400 – 1500	Primeiro sobreton do estiramento N-H, O-H
1100 – 1225	Segundo sobreton do estiramento C-H
950 – 1100	Segundo sobreton do estiramento N-H, O-H
850 – 950	Terceiro sobreton do estiramento C-H
775 – 850	Terceiro sobreton do estiramento N-H, O-H

Fonte: COSTA FILHO, 2003.

Os espectros obtidos na região do NIR são dependentes de parâmetros físicos, tais como: tamanho e distribuição de partículas, polimorfismo, umidade, temperatura, pressão, densidade, textura, forma, compactação, entre outros (COSTA FILHO, 2003).

A espectroscopia NIR é muito utilizada para análises quantitativas. O primeiro trabalho publicado utilizando a região do infravermelho próximo foi em 1938, em que foi

determinado o teor de água em gelatinas, utilizando as fortes bandas de absorção nessa região (PASQUINI, 2003).

A instrumentação utilizada no infravermelho próximo, geralmente, utiliza lâmpadas de tungstênio-halogênio como fonte, detectores fotocondutores de sulfeto de chumbo (PbS) e seleneto de chumbo (PbSe) a fotodiodos de antimônio de índio (InSb) e Arseneto de Índio (InAs) e células ópticas de quartzo ou de sílica fundida (HIGSON, 2009; SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009).

A instrumentação utilizada para a espectroscopia NIR se assemelha à de muitos espectrômetros UV-visível, sendo possível encontrar espectrofotômetros UV-VIS comerciais projetados para operar na região de 180 a 2500 nm possibilitando a obtenção de espectros NIR (HIGSON, 2009; SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009).

A aplicabilidade da espectroscopia NIR é bem diversificada, sendo utilizada em diversos segmentos, tais como na área agrícola (MORGANO *et al.*, 2005; SENA; POPPI, 2000), alimentícia (BOTELHO; MENDES; SENA, 2013), indústrias petroquímicas (PANTOJA, 2010) e farmacêutica (SIMÕES, 2008) e no monitoramento de reações orgânicas (KILLNER; ROHWEDDER; PASQUINI, 2011).

A grande aceitação da espectroscopia NIR por diferentes tipos de indústria pode ser atribuída a grande facilidade de se trabalhar com amostras sólidas e pós e realizar pouca ou nenhuma manipulação analítica, permitir a análise simultânea de vários parâmetros, as análises são não destrutivas e são pouco invasivas, rápidas, de baixo custo, confiáveis e versáteis e não consomem reagentes químicos (NAES *et al.*, 2002; SIMÕES, 2008).

2.4 QUIMIOMETRIA

O termo Quimiometria foi usado pela primeira vez em 1972 por Svante Wold e Bruce R. Kowalski para descrever o uso crescente de modelos matemáticos, princípios estatísticos e outros métodos baseados em lógica na área da química, especialmente da química analítica (OTTO, 2007).

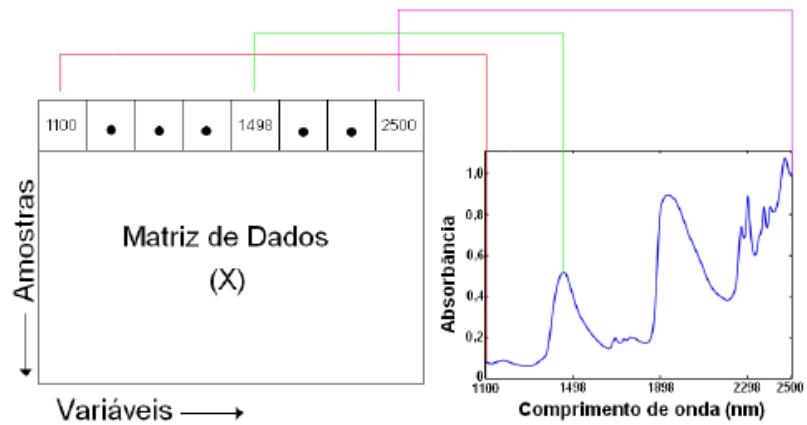
Os métodos quimiométricos utilizados em química analítica usam ferramentas matemáticas e estatísticas para (a) planejar ou selecionar os melhores procedimentos e experimentos de medidas; e (b) para fornecer o máximo de informação química a partir da análise dos dados (OTTO, 2007).

A quimiometria é multidisciplinar e, atualmente, as maiores áreas de aplicação são: calibração, validação e teste de significância; otimização de experimentos e extração do máximo de informação química dos dados analíticos (BEEBE; PELL; SEASHOLTZ, 1998; TAYLOR; FRANCIS, 2006).

As ferramentas quimiométricas permitiram o uso da espectroscopia NIR para as mais diferentes finalidades. No caso da caracterização de alimentos, diferentes aplicações a diferentes matrizes são descritas na literatura: queijo (BOTELHO; MENDES; SENA, 2013), café (MORGANO *et al.*, 2007), leite em pó (CABRAL, 2011), grãos e cereais (CHEEWAPRAMONG, 2007), bananas (GALLO, 2008), mel (ESCUREDO *et al.*, 2013), presunto (TALENS *et al.*, 2013), polpa de açaí (SANDRA *et al.*, 2013) e malte de cevada (SILEONI *et al.*, 2013).

2.4.1 Arranjo dos dados e notação algébrica

Os dados multivariados envolvem um número elevado de variáveis e objetos. Os objetos podem ser amostras, materiais diferentes, moléculas, entre outros. Enquanto as variáveis podem ser absorbâncias em diferentes comprimentos de onda, sinais analíticos em função do potencial elétrico ou do tempo de retenção, concentração de elementos ou outras propriedades físicas. Na espectroscopia, os objetos são as amostras e as variáveis são absorbâncias em diferentes comprimentos de onda, conforme ilustrado na Figura 13.

Figura 13 - Disposição da matriz de dados espetrométricos.

Fonte: PONTES, 2009.

A fim de facilitar a manipulação dos dados multivariados, os mesmos podem ser arranjados na forma de uma matriz X_{ij} , de i objetos e j variáveis (BEEBE; PELL; SEASHOLTZ, 1998; COSTA FILHO, 2003), como representado pela Figura 14.

Figura 14 - Representação matricial dos dados.

$$X = \begin{bmatrix} x_{11} & x_{12} & \dots & x_{1j} \\ x_{21} & x_{22} & \dots & x_{2j} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ x_{i1} & x_{i2} & \dots & x_{ij} \end{bmatrix}$$

Fonte: Elaborado pela autora.

Nesta dissertação, as matrizes serão denotadas por letras maiúsculas em negrito (\mathbf{X}) e os vetores em letras minúsculas e negritas (\mathbf{x}). A transposta de matriz ou vetor será representada por um sobrescrito t (\mathbf{X}^t) e a inversa pelo sobrescrito $^{-1}$ (\mathbf{X}^{-1}). As letras minúsculas representam números escalares (x_{ij}).

2.4.2 Pré-processamento dos dados

Os espectros no infravermelho armazenam muitas informações sobre as amostras e, portanto, podem ser empregados nos mais diversos tipos de análises químicas e/ou físicas. No

entanto, uma parte destes dados não possui informações correlacionadas diretamente com a propriedade de interesse, o que pode ocasionar distorções ao modelo. Para minimizar este problema utilizam-se diversos métodos de pré-processamentos.

Define-se pré-processamento como qualquer manipulação matemática dos dados realizada antes da construção dos modelos quimiométricos. Os pré-processamentos mais utilizados em dados espectroscópicos são: centralização na média, escalonamento de variância, correção multiplicativa de sinal, variação de padrão normal e as derivadas.

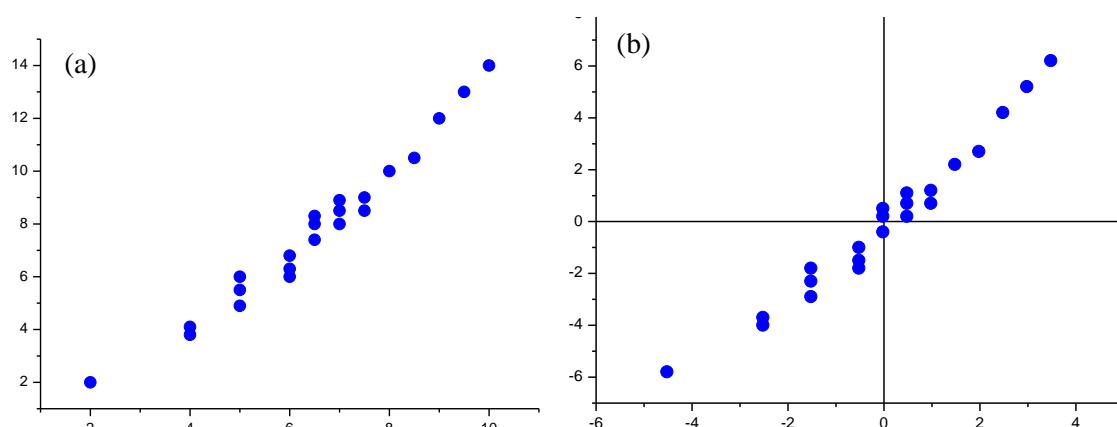
Método de centralização na média

No pré-processamento dos dados através da centralização na média, do inglês *Mean Centering*, calcula-se a absorbância média para cada comprimento de onda e em seguida esse valor é subtraído de todas as absorbâncias desse mesmo comprimento de onda. Os elementos da matriz de dados pré-processados (x_{ij}^*) são dados pela Equação 3. (TAYLOR; FRANCIS, 2006).

$$x_{ij}^* = x_{ij} - \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_{ij} \quad (3)$$

Neste tipo de processamento, a origem dos dados é alterada para o zero, como ilustrado pela Figura 15.

Figura 15 - Gráfico bidimensional ilustrando o efeito da centralização na média (a) Dados originais. (b) Dados centrados na média.



Fonte: Elaborado pela autora.

Método de escalonamento de variância

Essa estratégia é utilizada com o objetivo de dar peso igual a todos os comprimentos de onda pela normalização das variáveis, dispostas nas colunas, de forma que a variância de cada coluna é igual a um (TAYLOR; FRANCIS, 2006).

Neste pré-processamento, as variáveis que contém informação útil terá a mesma influência que o ruído. Por isso, deve ser utilizado com muita cautela.

A combinação destes dois pré-processamentos: centrar na média e escalar, é conhecida como auto-escalonamento (TAYLOR; FRANCIS, 2006). Além da subtração da média, os dados são divididos pelo desvio padrão de cada coluna, s_j , de acordo com as Equações 4 a 6.

$$x_{ij}^* = \frac{x_{ij} - \bar{x}_j}{s_j} \quad (4)$$

$$\bar{x}_j = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_{ij} \quad (5)$$

$$s_j = \left[\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_{ij} - \bar{x}_j)^2 \right]^{1/2} \quad (6)$$

Método da correção multiplicativa de sinal

A correção multiplicativa de sinal, do inglês *Multiplicative Scatter Correction* (MSC) é muito utilizada para corrigir o efeito da dispersão da luz presente nos espectros de infravermelho próximo que utilizam técnicas de reflectância de amostras em pó. Esses espectros apresentam variação da linha de base e efeito multiplicativo devido às diferenças na

granulometria das partículas (BEEBE; PELL; SEASHOLTZ, 1998; FERRÃO, 2000; TAYLOR; FRANCIS, 2006).

O MSC utiliza como referência, em geral, o espectro médio do conjunto de calibração, que é calculado a partir das médias de todas as absorbâncias para todas as amostras em cada um dos comprimentos de onda. Para tentar corrigir a variação da linha de base, o MSC realiza uma regressão linear simples de cada espectro, x_i , em relação ao espectro médio, \bar{x}_i , que resulta na equação 7 (FERRÃO, 2000; TAYLOR; FRANCIS, 2006).

$$\bar{x}_i = \beta_0 + \beta_1 x_i \quad (7)$$

Em que β_0 e β_1 são os coeficientes de regressão da reta.

Os coeficientes obtidos a partir da Equação 7, serão utilizados para corrigir todos os espectros.

$$x_{corrigido} = \beta_0 + \beta_1 x_i \quad (8)$$

No desenvolvimento de modelos de calibração que utilizam a regressão por mínimos quadrados parciais (PLS), observa-se que ao utilizar o MSC nos espectros, o número de variáveis necessário para a construção do modelo é reduzido e, em geral, melhora a linearidade (NAES *et al.*, 2002).

Transformação de padrão normal

O método da transformação de padrão normal, do inglês *Standard Normal Variate* (SNV) possui um efeito muito similar ao MSC. É aplicado para corrigir as interferências de

espalhamento e os efeitos do espalhamento multiplicativo entre diferentes amostras (LUYPAERT *et al.*, 2002).

No SNV, a média do espectro é subtraída de cada espectro inteiro e o comprimento do mesmo é normalizado para um, através da normalização do desvio padrão. Esse método, ao contrário do MSC, padroniza cada espectro utilizando apenas os dados desse espectro. O procedimento matemático é semelhante ao MSC, com $\beta_0 = -\bar{x}_i$ e $\beta_1 = 1/\|x_i\|$, em que $\|x_i\|$ representa a norma do vetor x_i , Equação 9 (NAES *et al.*, 2002).

$$x_{corrigido} = -\bar{x}_i + \frac{1}{\|x_i\|} x_i \quad (9)$$

Método das derivadas

A derivada consiste em um método muito utilizado para reduzir o efeito do espalhamento da luz, pois remove os efeitos aditivos encontrados nos espectros, visto que a derivada de uma constante é igual à zero. Quando se aplica a primeira ou segunda derivada, acentuam-se os picos, bem como a relação entre eles. No entanto, os ruídos também são acentuados, sendo, em geral, necessário antes da aplicação de derivadas o uso de filtros que suavizem os ruídos observados (FERRÃO, 2000; NAES *et al.*, 2002; TAYLOR; FRANCIS, 2006). Uma desvantagem do uso das derivadas é a mudança no formato do espectro original, guardando as características inerentes das derivadas (NAES *et al.*, 2002).

A primeira derivada remove efeitos aditivos na linha de base e evidencia características pouco visíveis no espectro bruto, enquanto que a segunda derivada remove a variação linear da linha de base (NAES *et al.*, 2002).

Vários algoritmos têm sido utilizados no cálculo das derivadas, entre eles destacam-se a derivada de Norris e a derivada de Savitzky-Golay (SOUZA, 2005).

2.4.3 Análise de Componentes Principais (PCA)

O objetivo principal da análise de componentes principais, PCA, do inglês *Principal Component Analysis*, é maximizar as informações oriundas de um conjunto de dados, a partir da redução de sua dimensionalidade pela combinação linear dos dados originais.

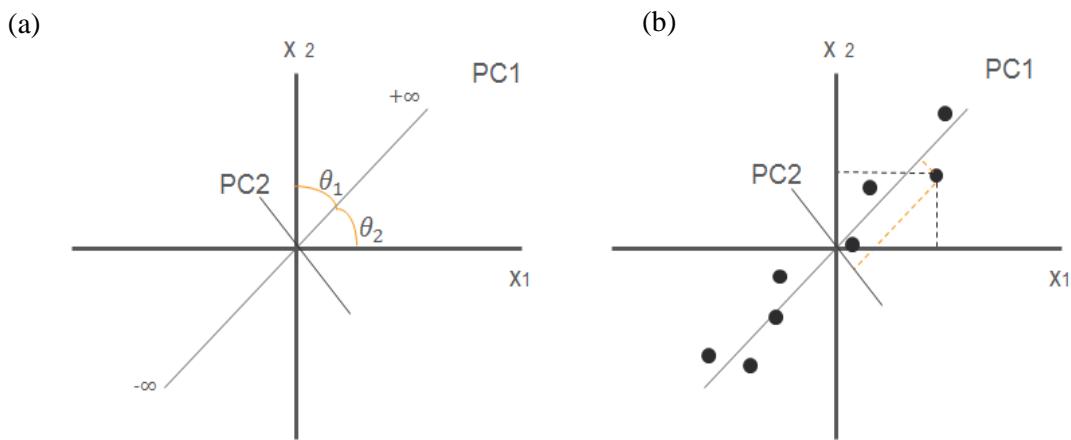
Na redução da dimensão dos dados, a matriz original é representada por novas variáveis que são ortogonais e linearmente independentes entre si. Essas variáveis, chamadas de componentes principais, PC's, são direcionadas em função da distribuição dos dados. A primeira PC é o eixo cuja direção descreve a maior variabilidade dos dados, por isso possui a maior variância. A segunda PC descreve a segunda maior variabilidade do sistema e assim por diante.

A PCA decompõe a matriz de dados originais X , de posto h , em uma soma de h matrizes que possuem posto igual a um. Essas matrizes são produtos vetoriais entre *scores*, t_h , e *loadings*, p_h , conforme Equação 10 (SENA; POPPI, 2000).

$$X = t_1 p_1' + t_2 p_2' + \dots + t_h p_h' \quad (10)$$

Os *scores* representam as coordenadas das amostras nas PC's e os *loadings* correspondem à contribuição de cada variável original para a PC e correspondem ao cosseno do ângulo formado entre a variável e a PC, Figura 16 - a. Os *scores* e os *loadings* são calculados pelo método de ajuste de mínimos quadrados. De forma ilustrativa, é possível verificar na Figura 16 - b os vetores t_1 e p_1' representados no plano bidimensional de variáveis x_1 e x_2 (FIDÊNCIO, 2001).

Figura 16 - Representação das componentes principais no plano de variáveis x_1 e x_2 : (a) representação dos loadings como cossenos dos ângulos formados entre a componente principal e a variável. (b) representação dos scores em um plano bidimensional.



Fonte: Elaborado pela autora.

2.4.4 Modelos de Regressão

O princípio fundamental da calibração multivariada é encontrar uma relação entre as variáveis independentes (**X**) e as variáveis dependentes (**Y**). Essa relação consiste em uma função matemática que pode ser linear ou não, o que depende da complexidade do sistema em estudo (FIDÊNCIO, 2001).

No contexto da química analítica, a calibração multivariada é muito utilizada na obtenção de modelos matemáticos que possibilitem estimar grandezas de interesse, como por exemplo, a concentração de um analito com base em valores mensurados de um conjunto de variáveis explicativas, através de dados químicos de natureza multivariada (SANTIAGO, 2013).

Processos como Regressão Linear Múltipla (MLR), Regressão por Componentes Principais (PCR) e Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS), os dois últimos por meio da Análise de Componentes Principais (PCA), permitem o cálculo de modelos de regressão. Esses modelos podem estimar com eficiência as propriedades de interesse nas amostras (PANERO, 2007).

Segundo Pimentel e Barros Neto (1996), o processo de calibração é dividido em duas etapas: descritiva e preditiva. Na primeira parte, desenvolve-se um modelo de regressão a

partir de medidas analíticas de padrões que possuem concentrações do analito conhecidas. Na segunda parte, utiliza-se esse modelo para obter as concentrações do analito em novas amostras, a partir das medidas analíticas obtidas.

Durante a etapa de calibração, faz-se necessário a detecção de amostras anômalas, ou *outliers*, que sofreram algum tipo de interferência durante a determinação de suas propriedades; e determinar, no caso do PLS, o número de fatores (variáveis latentes) necessários para descrever o modelo.

2.4.4.1 Regressão Linear Múltipla (MLR)

O método da Regressão Linear Múltipla, do inglês *Multiple Linear Regression* (MLR), tem como objetivo encontrar uma combinação linear entre as variáveis independentes (\mathbf{X} - medidas instrumentais) e as variáveis dependentes (\mathbf{y} - propriedade de interesse), de forma a minimizar o erro na estimativa da variável de interesse (COSTA FILHO, 2003; FERRÃO, 2000; SENA; POPPI, 2000).

De forma geral, a regressão pode ser representada de acordo com as Equações 11 e 12 mostradas abaixo:

$$\mathbf{Y} = \mathbf{X}\mathbf{b} \quad (11)$$

$$\mathbf{y} = b_1x_1 + b_2x_2 + \dots + b_nx_n \quad (12)$$

\mathbf{b} é o vetor com os coeficientes de regressão. A equação 13 é utilizada para encontrar \mathbf{b} , através da solução de mínimos quadrados.

$$\mathbf{b} = (\mathbf{X}'\mathbf{X})^{-1}\mathbf{X}'\mathbf{y} \quad (13)$$

Apesar de ser o método de regressão mais simples, o MLR apresenta algumas limitações. Para que o sistema apresente solução, o número de amostras deve ser maior que o número de variáveis e as variáveis independentes não devem ser altamente correlacionadas, para que seja possível determinar a inversa da matriz $(\mathbf{X}'\mathbf{X})$ (COSTA FILHO, 2003; FERRÃO, 2000). Portanto, é necessário realizar a seleção de variáveis.

2.4.4.2 Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS)

A regressão por mínimos quadrados parciais, do inglês *Partial Least Squares* (PLS), foi proposta originalmente por Herman Wold na década de 70 e pode ser calculada pelo método NIPALS (GELADI; KOWALSKI, 1986). Este método é baseado em variáveis latentes, em que cada variável é a combinação linear das variáveis originais da matriz \mathbf{X} e \mathbf{Y} (NAES *et al.*, 2002).

Na regressão PLS, as informações espectrais (\mathbf{X}) e as informações das concentrações (\mathbf{Y}) são usadas ao mesmo tempo na etapa de calibração. As matrizes \mathbf{X} e \mathbf{Y} são decompostas simultaneamente nas matrizes de *scores* e *loadings*, em uma soma de “h” variáveis latentes, como descrito nas Equações 14 e 15 (BERETON, 2007; FERRÃO, 2000; SENA; POPPI, 2000):

$$\mathbf{X} = \mathbf{TP}' + \mathbf{E} = \sum \mathbf{t}_h \mathbf{p}'_h + \mathbf{E} \quad (14)$$

$$\mathbf{Y} = \mathbf{UQ}' + \mathbf{F} = \sum \mathbf{u}_h \mathbf{q}'_h + \mathbf{F} \quad (15)$$

\mathbf{T} e \mathbf{U} representam as matrizes de *scores*, \mathbf{P} e \mathbf{Q} as matrizes de *loadings*, e \mathbf{E} e \mathbf{F} são os resíduos das matrizes \mathbf{X} e \mathbf{Y} , respectivamente.

A correlação entre os dois blocos \mathbf{X} e \mathbf{Y} é uma relação linear obtida pelo coeficiente de regressão linear correlacionando os *scores* de cada bloco, de forma que se maximize a covariância entre eles, de acordo com a Equação 16 (NAES *et al.*, 2002; SENA; POPPI, 2000):

$$\mathbf{u}_h = \mathbf{b}_h \mathbf{t}_h \quad (16)$$

O parâmetro b, para cada variável latente h, representa o coeficiente angular do vetor que melhor explica a relação entre os scores de \mathbf{X} e \mathbf{Y} (BERETON, 2007; SENA; POPPI, 2000).

A matriz \mathbf{Y} é calculada a partir de \mathbf{u}_h :

$$\mathbf{Y} = \mathbf{T} \mathbf{B} \mathbf{Q}' + \mathbf{F} \quad (17)$$

O número ideal de variáveis latentes é dado normalmente pela validação cruzada, ou do inglês *cross validation*, processo pelo qual o erro mínimo de previsão é calculado.

Na validação cruzada, de uma série de n amostras, uma é deixada de fora, e n-1 amostras são utilizadas na calibração, em seguida, realiza-se uma previsão da concentração da amostra que não foi utilizada na calibração. Esse procedimento é realizado até que todas as amostras sejam excluídas uma vez. Posteriormente, comparam-se os valores previstos (\hat{y}_i) com os valores de referência (y_i) através do RMSECV, do inglês *Root Mean Squared Error of Cross Validation*, Equação 18, de forma que o melhor modelo gera um erro menor (NAES *et al.*, 2002)

$$RMSECV = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - y_i)^2}{n}} \quad (18)$$

2.4.5 Seleção de variáveis

Para que a verdadeira relação entre \mathbf{Y} e \mathbf{X} seja estabelecida, faz-se necessário selecionar variáveis apropriadas. A seleção de variáveis aplicada ao conjunto de calibração permite desenvolver um modelo de calibração que forneça uma descrição estatística representativa e adequada para uso em previsão (PONTES, 2009; TAYLOR; FRANCIS, 2006).

A seleção de variáveis é utilizada principalmente em modelos de Regressão Linear Múltipla, em que são frequentes problemas de correlação e em casos que se deseja selecionar apenas informações importantes, uma vez que muitas variáveis da matriz de dados original são irrelevantes ou redundantes (PONTES, 2009; TAYLOR; FRANCIS, 2006).

Entre os diferentes métodos de seleção de variáveis, o algoritmo das projeções sucessivas, do inglês *Successive Projections Algorithm* – SPA tem sido uma alternativa bastante utilizada no contexto da calibração multivariada, especificamente quando aplicado ao MLR. Proposto em 2001, por Araújo *et al.*, o SPA é uma técnica de seleção de variáveis que busca um subconjunto representativo pequeno de variáveis espectrais para minimizar problemas de colinearidade (PONTES, 2009; SIMÕES, 2008).

O algoritmo Jack-Knife (JK) ou teste de incerteza, proposto por Efrom (1982) e adaptado por Martens e colaboradores (2000), também é utilizado para selecionar variáveis espectrais para a construção dos coeficientes de regressão. Esse método se baseia nos erros obtidos na estimativa dos coeficientes de regressão. Os intervalos de confiança desses coeficientes e o nível de significância de cada variável para o modelo são avaliados. Esse algoritmo pode ser utilizado em qualquer método de regressão, no entanto, apresenta grande aplicabilidade em modelos PLS (HONORATO *et al.*, 2007).

2.4.6 Seleção de amostras

As amostras que são utilizadas no subconjunto de calibração devem ser representativas do conjunto total dos dados. Essas amostras podem ser selecionadas de forma aleatória, do inglês: *Random Search* - RS. No entanto, esse método apesar de ser comum, não garante a representatividade do conjunto (SIMÕES, 2008).

O algoritmo Kennard-Stone (KS) é um método clássico de seleção de amostras que se baseia na distância euclidiana das respostas instrumentais (**X**) (KENNARD; STONE, 1969). Inicialmente, selecionam-se duas amostras que possuem a maior distância euclidiana entre si na matriz **X**. Em seguida, calcula-se a distância mínima entre as amostras selecionadas e as amostras remanescentes. É selecionada a amostra que possui a maior distância mínima entre as amostras que foram selecionadas anteriormente. O procedimento se repete até que o número de amostras estipulado pelo analista seja alcançado (HONORATO *et al.*, 2007).

O SPXY, do inglês: *Sample set Partitioning based on joint X-y distances*, é um algoritmo similar ao KS, e diferentemente deste, considera tanto as diferenças de **X** (respostas instrumentais) quanto às de **y** (parâmetro de interesse) no cálculo das distâncias entre as amostras (GALVÃO *et al.*, 2005).

2.4.7 Validação

Depois de desenvolvido o modelo de calibração, faz-se necessário avaliar a capacidade preditiva do mesmo a partir de amostras que não foram utilizadas na calibração.

Existem vários parâmetros que são utilizados com esse fim, como por exemplo, a validação cruzada, já citada anteriormente e a validação externa.

Na validação externa, para avaliar a capacidade preditiva do modelo, utilizam-se amostras diferentes das utilizadas na construção do modelo de calibração. Em seguida, calcula-se o erro entre os valores previstos (\hat{y}_i) e os valores de referência (y_i), através do RMSEP, do inglês *Root Mean Squared Error Prediction*, de acordo com a Equação 19.

$$RMSEP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - y_i)^2}{n}} \quad (19)$$

O RMSEP é uma medida de desvio padrão, de forma que quanto menor o valor de RMSEP melhor o modelo. Para se comparar a qualidade de previsão de dois modelos de calibração diferentes pode-se usar o teste *F*, a partir da comparação da razão da variância de cada modelo, quadrado do RMSEP e o *F* tabelado a um determinado nível de confiança (OLIVEIRA *et al.*, 2004).

2.5.8 Amostras anômalas (*Outliers*)

Existem amostras que apresentam comportamento diferente das amostras do conjunto de calibração e de validação. Essas amostras, conhecidas como anômalas (*outliers*), quando presentes no conjunto de calibração podem desenvolver modelos com baixa capacidade preditiva. Se presentes no conjunto de validação externa, podem influenciar de forma negativa o resultado, indicando que o modelo não está adequado.

O *leverage* indica o grau de influência de uma amostra no modelo de regressão e é uma medida utilizada para detectar amostras anômalas. Se as medidas experimentais de uma amostra se diferenciarem muito das demais, essa amostra possuirá um *leverage* alto, e pode influenciar de forma negativa no modelo. Uma regra utilizada para detectar *outliers* a partir do *leverage* é calcular o *leverage* crítico: multiplicar o número de variáveis latentes por três e dividir esse valor pelo número de amostras utilizadas para construir o modelo de regressão. Amostras que possuem o *leverage* maior que *leverage* crítico devem ser excluídas do modelo de regressão (FERREIRA *et al.*, 1999).

Outra grandeza complementar ao *leverage* na detecção de amostras anômalas é o resíduo de Student. As amostras mal modeladas possuem resíduos altos. Assumindo- se que os resíduos de Student são distribuídos normalmente, aplica-se o teste t a fim de verificar se a amostra está dentro da distribuição com 95% de confiança. Os valores além de $\pm 2,5$ são considerados altos sob as condições usuais da estatística (FERREIRA *et al.*, 1999).

Diante do exposto, utiliza-se a análise gráfica *leverage* versus resíduos de Student para verificar a presença *outliers*.

2.5 MÉTODOS ANALÍTICOS BASEADOS NA ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PARA ANÁLISE DE FARINHAS

O uso da espectroscopia na região do infravermelho associada à calibração multivariada no controle de qualidade de farinhas já é uma realidade e diante dos resultados tem se mostrado uma alternativa muito promissora.

Em 2004, Ferrão e colaboradores utilizaram medidas de reflectância difusa no infravermelho próximo e médio com Transformada de Fourier para construir modelos de regressão multivariados por mínimos quadrados parciais (PLS) para a determinação simultânea dos teores de proteínas e cinzas em amostras de farinha de trigo da variedade *Triticum aestivum L.* Os autores obtiveram valores de SEV menores que 0,3 % (m/m) para teor de proteínas e menor que 0,05 % (m/m) para teor de cinzas. Os modelos foram considerados adequados quando comparados aos métodos de referência.

Menezes *et al.* (2005) determinaram o teor de proteínas e umidade em farinhas de soja e fizeram uma comparação entre os modelos de regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) utilizando apenas a região do MID ou o NIR e os modelos multiblocos com as duas regiões juntas. Foi verificado que o modelo usando apenas a região NIR apresentou melhores resultados quando comparado ao modelo usando a região MID. A partir dos resultados para os multiblocos, foi verificado que há informações no MID que não estão no NIR e quando as duas regiões são usadas juntas melhoram os resultados dos modelos.

Em 2008, Lebot e colaboradores determinaram diferentes constituintes de diversos tipos farinhas de tubérculos provenientes de diferentes países da Ásia usando a espectroscopia no infravermelho próximo e quimiometria. Foram desenvolvidos modelos de calibração PLS para determinação de cada parâmetro analisado. Os modelos obtidos para amido, açúcar, teor de nitrogênio total, cinzas (minerais) e celulose forneceram RMSEP de, respectivamente, 2,74 % (m/m), 1,66 % (m/m), 0,77 % (m/m), 0,70 % (m/m) e 1,03 % (m/m).

Ribeiro (2012) utilizou a espectroscopia na região do infravermelho aliada à regressão de mínimos quadrados parciais (PLS) para determinar a concentração de ácidos graxos em farinhas de linhaça dourada e marrom. A região do NIR forneceu modelos de regressão com coeficientes de determinação de $R^2_{val} = 0,99$ tanto para o ácido oléico quanto para o ácido linolênico, com erro padrão relativo de 1,02% e 1,21%, respectivamente. Já para o teor de ácido linoleico o maior coeficiente de determinação foi de $R^2_{val} = 0,88$, obtido na região do infravermelho médio, e o erro padrão médio relativo foi de 0,76%. Esses resultados demonstraram que análises de infravermelho podem ser utilizadas como técnica alternativa eficaz para determinação de ácidos graxos em linhaça, em substituição à técnica tradicionalmente utilizada, cromatografia gasosa.

Don e Sun (2013) determinaram cinzas e umidade em farinha de trigo utilizando a espectroscopia NIR e o método regressão por mínimos quadrados com seleção de bandas por

intervalos (iPLS). As bandas características de 4000-5500, 6708-7304 e 4000-4896, 5504-6704 cm^{-1} foram escolhidas para cinzas e umidade, respectivamente. A capacidade de previsão dos modelos para cinzas e umidade foi melhorada com RMSEP de 0,019 e 0,088% (m/m) utilizando as bandas características. Os valores preditivos obtidos para novas amostras de farinha de trigo com o modelo NIR desenvolvido não apresentaram diferença significativa com os valores de referência.

Não foi encontrado na literatura estudos referentes à utilização da espectroscopia no infravermelho próximo aliada à calibração multivariada visando a determinação dos teores de umidade, cinzas e pH em farinhas fabricadas no Brasil.

Capítulo 2:

Objetivos

Objetivos

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Determinar os parâmetros de qualidade: teores de umidade, cinzas e pH em farinhas de mandioca de diversas regiões do Brasil por meio da espectroscopia NIR e modelos de calibração multivariada.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Caracterizar farinhas de mandioca de diferentes regiões do Brasil quanto aos seus teores de umidade e cinzas e pH determinados pelos métodos de referência;
- b) Comparar as características físico-químicas das farinhas com os limites estabelecidos pela legislação brasileira vigente;
- c) Desenvolver modelos de calibração multivariada, empregando os métodos de Regressão Linear Múltipla (MLR) e Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS), para determinação dos teores de umidade e cinzas e pH em farinhas de mandioca.

Capítulo 3:

Metodología

4. METODOLOGIA

4.1 Amostragem

Cento e sete amostras de farinhas de mandioca dos grupos seca e d'água foram adquiridas em diferentes supermercados e feiras livres de todas as regiões do Brasil: Sul (10), Nordeste (85), Norte (5), Centro-oeste (4) e Sudeste (3).

4.2 Métodos de referência

As análises de umidade, pH e cinzas foram realizadas empregando os métodos de referência descritos nos itens 4.2.1, 4.2.2 e 4.2.3. As análises foram realizadas em triplicata. Os valores de referência considerados foram as médias das triplicatas.

4.2.1 Determinação da umidade a 105° C

Para a análise de umidade pesou-se aproximadamente 5 g da amostra em cadinhos de porcelana previamente tarados. A amostra foi seca em estufa a temperatura de 105°C até obter peso constante. O material foi seco até que duas pesagens consecutivas apresentassem o mesmo peso, de acordo com o método 012/IV (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

4.2.2 pH

O pH foi determinado de acordo com o método 017/IV (Instituto Adolfo Lutz, 2008), utilizando o pHímetro da MS TECNOPON. Diluiu-se 10 g da amostra em 100 mL de água destilada. O conteúdo foi agitado até que as partículas ficassem uniformemente suspensas. Em seguida, mediu-se o pH na fase líquida da solução.

4.2.3 Cinzas

Na determinação das cinzas, 10 g das amostras foram carbonizadas até cessar a liberação de fumaça e, posteriormente, calcinadas em mufla a 550 °C até peso constante, segundo o método 018/IV (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

4.3 Tratamento das amostras

A fim de minimizar o efeito das diferentes granulometrias das farinhas no espectro NIR, todas as amostras foram passadas em um moinho rotativo PULVERISETTE 14 da FRITSCH (Figura 17), com velocidade de 18000 rpm.

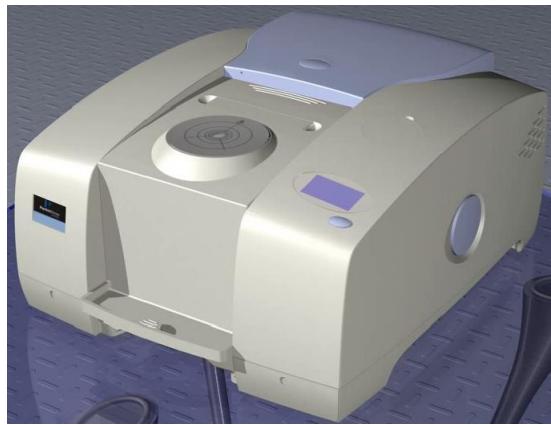
Figura 17 – (a) Moinho rotativo PULVERISETTE 14 da FRITSCH. (b) Parte interna do moinho.



4.4 Aquisição dos espectros

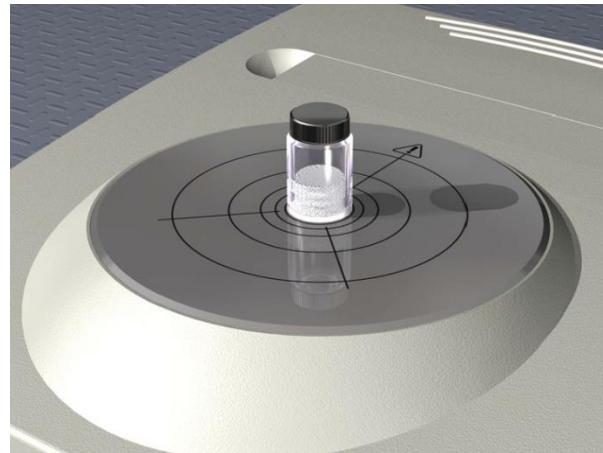
Os espectros de reflectância na região do infravermelho próximo foram coletados em um espectrofotômetro da marca Perkin Elmer, modelo Spectrum 400 (Figura 18), na faixa espectral de 10.000 a 4.000 cm^{-1} , com resolução espectral de 8 cm^{-1} e média de 32 varreduras. As medidas foram realizadas utilizando-se um acessório de reflectância difusa *Near Infrared Reflectance Accessory – NIRA*, Figura 19.

Figura 18 - Espectrofotômetro da PerkinElmer, modelo Spectrum 400, acoplado com o acessório NIRA.



Fonte: Tutorial do Spectrum Multimedia PerkinElmer®.

Figura 19 - Amostra posicionada sobre o acessório NIRA.



Fonte: Tutorial do Spectrum Multimedia PerkinElmer®.

4.2.8 Tratamento quimiométrico dos dados

4.2.8.1 Pré-processamento dos espectros

Diferentes estratégias de pré-processamento dos espectros foram avaliadas: primeira derivada com filtro Savitzky-Golay e polinômio de segunda ordem, variando-se o tamanho das janelas de 15 e 21 pontos; correção do espalhamento multiplicativo (MSC) e transformação padrão normal de variação (SNV). As variáveis (números de onda) foram centradas na média antes da modelagem.

4.2.9 Desenvolvimento dos modelos de regressão

A detecção de amostras anômalas foi realizada utilizando os gráficos dos resíduos versus o *leverage*, na matriz X (espectros) e em y (propriedade de interesse). As amostras que apresentaram resíduos e *leverage* altos foram excluídas do conjunto de dados. Em seguida, novos modelos foram construídos e os parâmetros como coeficiente de correlação (R) e o RMSECV foram reavaliados.

Posteriormente, as amostras foram divididas em dois conjuntos de dados: calibração (2/3) e previsão (1/3), utilizando o algoritmo SPXY.

Foram desenvolvidos modelos de calibração multivariada PLS utilizando-se espectros pré-processados com todas as variáveis espectrais e aquelas com coeficientes de regressão significativos (algoritmo Jack-Knife – JK).

Na construção dos modelos de calibração, para determinar o número ideal de fatores (variáveis latentes) de cada modelo PLS, foram analisadas as ferramentas de diagnóstico do modelo (gráfico da variância explicada versus RMSECV, gráfico dos *loadings* e do resíduo dos modelos).

A capacidade preditiva dos modelos PLS e MLR foi avaliada pelos erros de previsão (RMSEP) para o conjunto de validação externa. Um teste-F, ao nível de confiança de 95%, foi utilizado para avaliar se existiam diferenças estatisticamente significativas entre valores de RMSEP dos modelos MLR/SPA, PLS e PLS/JK. Os valores de F_{cal} foram calculados como a razão entre os valores quadráticos do maior e menor RMSEP obtidos pelos modelos. Esses

Metodologia

valores de F_{cal} foram comparados com os F críticos $(N, N, 0,95)$ tabelados. Em que N é igual ao número de graus de liberdade do modelo, ou seja, (número de amostras utilizados na predição – 1). Por exemplo, na comparação de modelos que utilizaram 35 amostras de validação externa $F_{(N, N, 0,95)} = F_{(34, 34, 0,95)} = 1,77$.

O programa Unscrambler® 9.7 (CAMO S.A) foi empregado no pré-processamento dos dados e na obtenção dos modelos PLS e PLS/JK. Os algoritmos de Kennard-Stone (KS), SPXY e MLR/SPA foram executados utilizando-se rotinas escritas em Matlab®.

Capítulo 5:

Resultados e Discussão

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análises físico-químicas

Os teores de umidade, cinzas e pH das farinhas de mandioca encontram-se no Apêndice A. Os valores médios obtidos, bem como os intervalos e o desvio padrão para as propriedades de umidade, cinzas e pH das 107 farinhas de mandioca são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Características físico-químicas para as 107 amostras de farinha de mandioca.

Propriedade	Intervalo	Média	D.P.
Umidade (%) (m/m)	4,80 – 12,62	9,65	0,78
Cinzas (%) (m/m)	0,28 – 1,69	0,90	0,01
pH	4,35 – 6,62	5,69	0,07

O teor de umidade da farinha de mandioca variou de 4,80 a 12,62% m/m, os valores estavam distribuídos normalmente em torno da média, 9,65%. Todas as amostras apresentaram teores de umidade dentro do limite estabelecido pela legislação brasileira vigente, abaixo dos 13% (BRASIL, 2011).

Os teores de umidade obtidos foram próximos aos teores relatados na literatura. Souza e colaboradores (2008 a, 2008 b) estudaram farinhas de mandioca do estado do Acre e encontraram valores de umidade que variaram entre: 4,47 a 5,94% e 8,10 a 12,02%, respectivamente. Os valores encontrados por Chisté e Cohen (2011) para a farinha d'água do estado do Pará variaram de 1,45 a 8,39%. Maziya-Dixon *et al.* (2005) estudaram farinhas comercializadas na Nigéria e encontraram teores de umidade de: 10,78 e 12,72%.

Os valores de pH variaram de 4,35 a 6,62. De acordo com a classificação de Santos *et al.*, 2008, as amostras de farinha de mandioca analisadas são consideradas ácidas ou pouco ácidas e estão dentro da faixa de risco para a multiplicação e produção da toxina do *C. botulinum* e da maioria das bactérias.

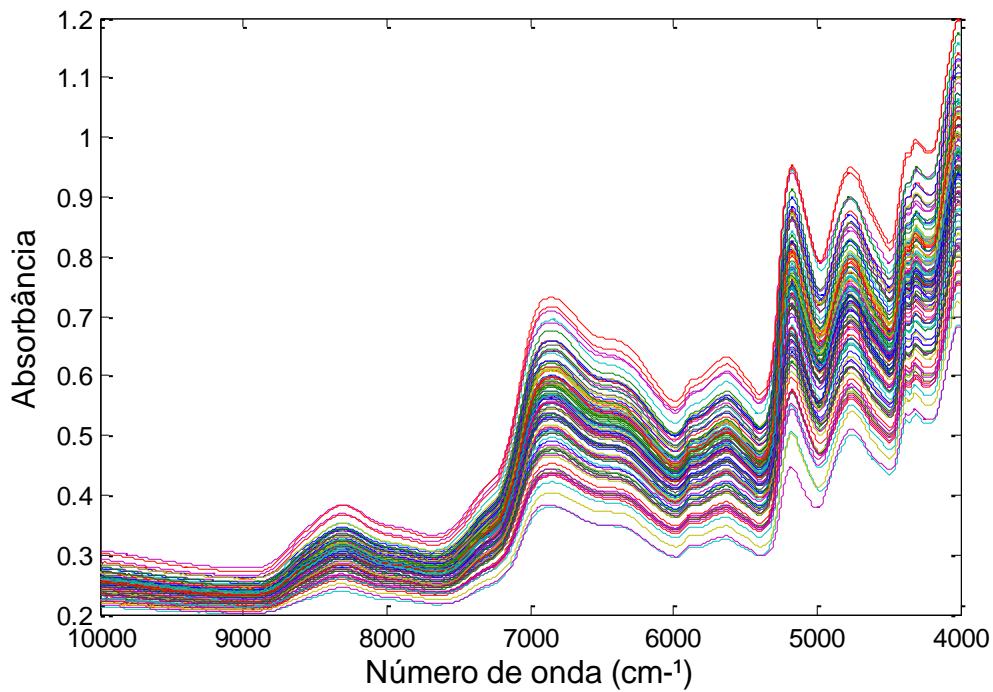
Os resultados obtidos no presente trabalho estão de acordo com os valores encontrados por Miqueloni e colaboradores (2012) que caracterizaram as farinhas de mandioca do estado do Acre (pH de 3,91 a 6,20) e Dias e Leonel (2006) que estudaram farinhas de diversos grupos de diferentes regiões do Brasil (pH de 4,16 a 6,10). Entretanto, quando os resultados de pH obtidos no presente trabalho são comparados a farinhas produzidas em outro país, Gana, os mesmos são inferiores (ERIKSSON, 2013).

O teor de cinzas, ou resíduo mineral fixo, resultante da incineração da amostra do produto variou de 0,28% a 1,69% m/m, estando seis amostras com valores acima do limite estabelecido pela Portaria nº 554 de 30.08.1995 da Secretaria da Agricultura, do Abastecimento e Reforma Agrária (BRASIL, 2011), que estabelece índice máximo de 1,4% para as cinzas. Esses valores podem estar associados a um processamento inadequado da matéria-prima ou contaminação por material estranho ao processo, como areia, por exemplo, proveniente do local de deposição da raiz descascada.

Os valores obtidos para cinzas encontram-se próximos aos relatados por Chisté *et al.* (2006 a) para amostras de farinha de mandioca do grupo seca do estado do Pará, 0,54 a 0,90 % e os relatados por Chisté *et al.* (2006 b) para amostras de farinha de mandioca do grupo d'água do estado do Pará, 0,16 a 1,64%. Os valores obtidos neste trabalho também foram similares aos descritos por Aldana e Quintero (2013) em farinhas da Colômbia.

5.2 Espectros de Infravermelho Próximo de Reflectância Difusa

A Figura 20 mostra os espectros NIR de reflectância difusa das 107 amostras de farinha de mandioca registrados na faixa de 10000 - 4000 cm^{-1} .

Figura 20 - Espectros NIR originais de 107 amostras de farinha de mandioca.

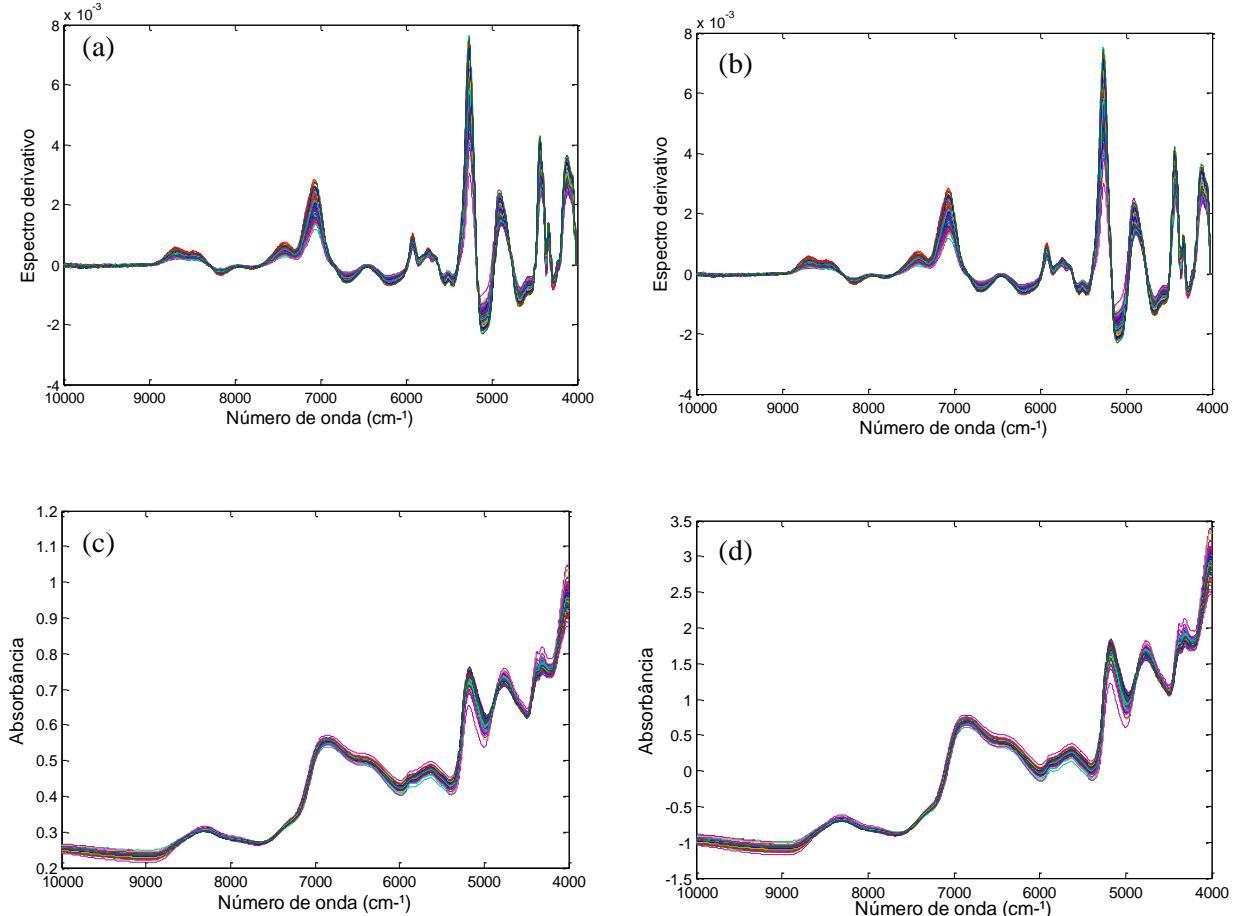
Nos espectros observam-se bandas relacionadas às vibrações do amido associadas à região das combinações dos estiramentos C-H, C-C e C-O-C (4000 cm^{-1}), estiramentos C-H e deformação CH_2 ($4386\text{--}4394\text{ cm}^{-1}$), estiramento O-H e deformação HOH (4762 cm^{-1}), primeiro sobretom (6897 cm^{-1}) do estiramento de ligações O-H. Além dessas, são observadas bandas na região de 4650 e 4587 cm^{-1} , as quais estão relacionadas com aminoácidos e proteínas e em 8370 cm^{-1} proveniente de estiramentos C-H relacionados à celulose. As bandas associadas à região de combinação do estiramento O-H e deformação HOH e o segundo sobretom da deformação O-H ($5208\text{--}5154$) e o primeiro sobretom do estiramento O-H ($6944\text{--}6802\text{ cm}^{-1}$) estão relacionados à absorção da água (WORKMAN, WEYER, 2008; WU *et al.*, 2008).

Observa-se nos espectros uma grande variação sistemática da linha base ao longo de toda faixa de trabalho, provocados pela não uniformidade das amostras, devido, principalmente, a diferença de granulometria, empacotamento, geometria e orientação das partículas de farinha. Verificou-se, portanto, a necessidade do uso de técnicas de correção antes da obtenção dos modelos de calibração a fim de minimizar o efeito do espalhamento de luz presente nos espectros obtidos por reflectância. Os pré-processamentos testados foram:

Resultados e Discussão

primeira derivada com filtro Savitzky-Golay janela de 15 e 21 pontos, MSC e o SNV, Figura 21.

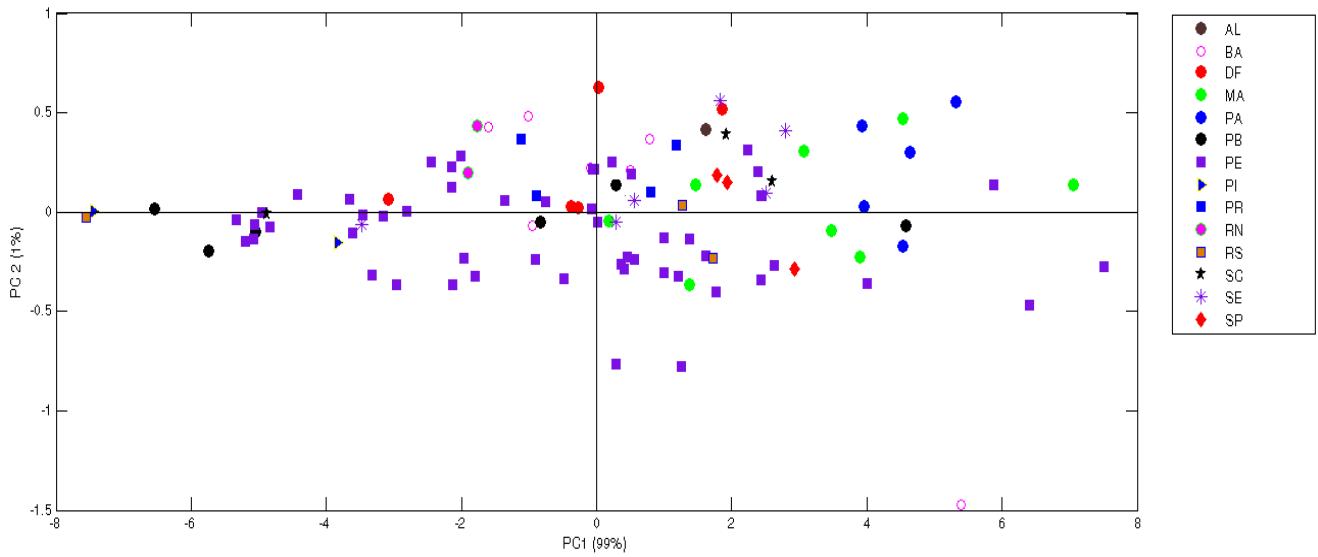
Figura 21 - Espectros das 107 amostras de farinhas de mandioca pré-processados com: (a) primeira derivada com filtro de Savitzky-Golay com janela de 15 pontos; (b) primeira derivada com filtro de Savitzky-Golay com janela de 21 pontos; (c) MSC; (d) SNV.



A partir da Figura 21, observa-se que variação sistemática da linha base dos espectros foi corrigida com o uso dos diferentes pré-processamentos testados.

5.3 PCA

Realizou-se uma PCA nos 107 espectros com o intuito de realizar uma avaliação exploratória dos dados. A Figura 22 mostra o gráfico dos *scores* da PC1 *versus* PC2.

Figura 22 - Gráfico dos *scores* PC1 versus PC2 nos espectros NIR.

Na Figura 22, verifica-se que PC1 e PC2 explicam 100% da variância dos dados, não havendo distinção entre as amostras por estado. Além disso, verifica-se uma dispersão das amostras do mesmo estado, o que pode ser um indicativo da falta de homogeneidade dos processamentos das farinhas de mandioca dentro dos estados ou, principalmente que a espectroscopia no infravermelho próximo não consiga diferenciar essas farinhas por região de origem.

Foi realizada uma PCA em Y, parâmetros de qualidade das farinhas de mandioca determinados no presente trabalho. O gráfico dos *scores* se encontra na Figura 23 e os *loadings* na Figura 24.

Resultados e Discussão

Figura 23 - Gráfico dos *scores* PC1 versus PC2 resultante da PCA realizada em Y.

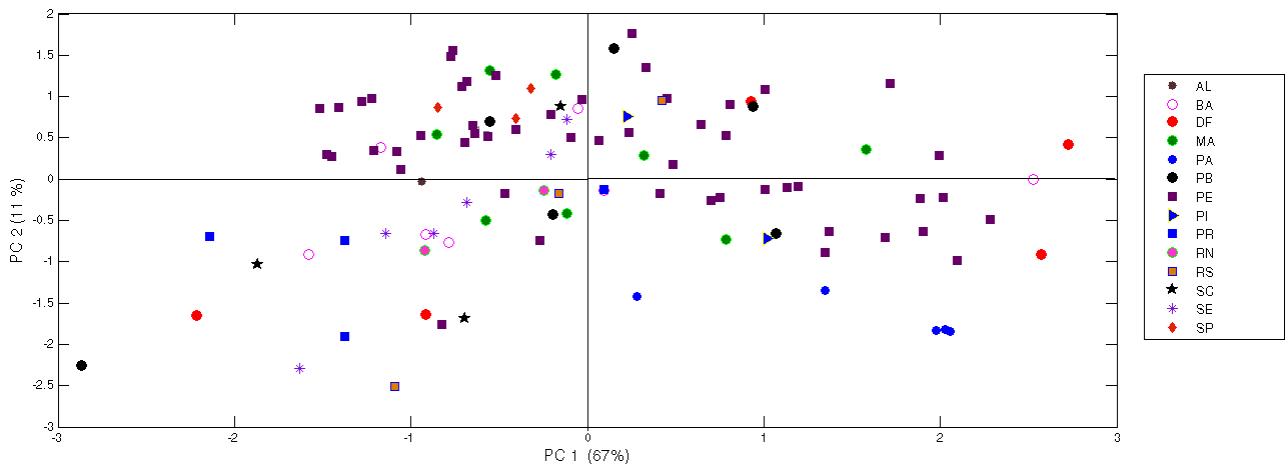
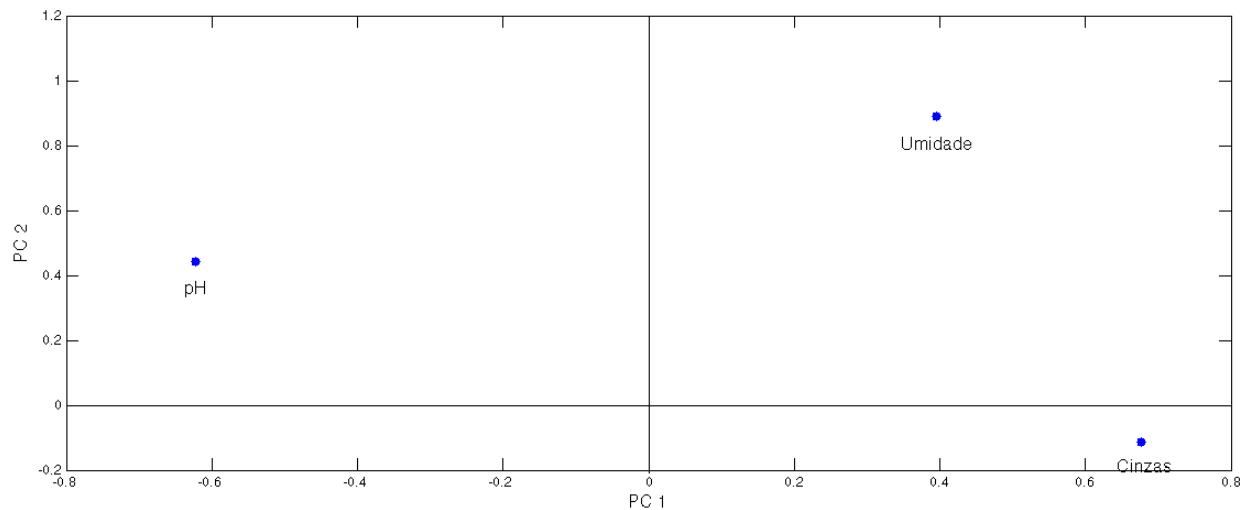


Figura 24 - Gráfico dos *loadings* da PC1 versus PC2 resultante da PCA realizada em Y.



A PC1 e a PC2 explicam 78% da variância dos dados. De acordo com os gráficos, verificou-se que não é possível distinguir as amostras quando relacionadas ao estado de origem utilizando a PCA, visto que há uma superposição dos dados. No entanto, é possível verificar uma certa semelhança nas amostras do Pará. Essas se localizaram no quarto quadrante no gráfico dos *scores*, e possuem como características alto teor de cinzas, baixo teor de umidade e pH baixo.

A partir do gráfico dos *loadings* verifica-se que as farinhas que possuem teores alto de umidade e cinzas, possuem pH mais baixo. Isso ocorre devido à influência da umidade no

processo de fermentação da massa, aumentando a acidez da farinha e consequentemente diminuindo o pH.

5.4 Calibração multivariada

Na construção dos modelos de calibração a faixa espectral utilizada foi de 10000 a 4000 cm⁻¹. Setenta e duas amostras, selecionadas pelo algoritmo SPXY, foram utilizadas na calibração e as trinta e cinco amostras restantes foram utilizadas para validação externa.

5.4.1 Umidade

Na Tabela 5 encontram-se os resultados obtidos para os modelos de calibração multivariada MLR/SPA, PLS e PLS/JK construídos a partir de seus respectivos espectros NIR (10000 a 4000 cm⁻¹) empregando diferentes estratégias de pré-processamento.

Tabela 5 - Resultados obtidos para os modelos de calibração multivariada PLS, PLS-JK e MLR/SPA para umidade utilizando diferentes estratégias de pré-processamento dos espectros.

Modelo	Pré-processamento	Calibração					Previsão ^b	
		Nº V.L ^a	R	RMSECV (%)	Outliers	R	RMSEP (%)	
MLR/SPA	Sem	11	0,79	1,06	0	0,15	1,25	
	MSC	2	0,77	0,99	2	0,91	0,56	
	SNV	8	0,80	1,06	0	0,52	0,79	
	1 ^a Derivada S.G ^c – 15 pontos	8	0,82	0,99	0	0,61	0,76	
	1 ^a Derivada S.G – 21 pontos	2	0,72	1,20	0	0,27	1,25	
PLS	Sem	3	0,80	1,09	0	0,62	0,85	

Resultados e Discussão

Modelo	Calibração					Previsão ^b	
	Pré- processamento	Nº V.L ^a	R	RMSECV (%)	Outliers	R	RMSEP (%)
	MSC	3	0,86	0,88	4	0,96	0,39
	SNV	4	0,84	0,93	1	0,93	0,50
	1 ^a Derivada S.G – 15 pontos	3	0,86	0,88	4	0,71	0,61
	1 ^a Derivada S.G – 21 pontos	3	0,86	0,88	4	0,82	0,55
PLS / JK	Sem	3	0,81	1,09	0	0,62	0,86
	MSC	3	0,88	0,80	2	0,95	0,51
	SNV	4	0,84	0,92	1	0,93	0,49
	1 ^a Derivada S.G – 15 pontos	2	0,85	0,88	4	0,82	0,55
	1 ^a Derivada S.G – 21 pontos	2	0,85	0,88	4	0,86	0,55

^a Número de variáveis latentes (PLS) ou número de variáveis espectrais (MLR/SPA).

^b Número de amostras de validação = 35.

^c S. G. = Savitzky Golay.

Para os modelos MLR/SPA e PLS os menores RMSEP's foram obtidos a partir dos espectros NIR pré-processados com o MSC, 0,56%, 0,39%, respectivamente, enquanto que para o modelo PLS/JK o menor RMSEP foi obtido a partir dos espectros NIR pré-processados com o SNV, 0,49%. Comparando esses resultados com os obtidos com os demais pré-processamentos a partir do teste F ao nível de 95% de confiança (Tabela 6) observa-se que para o modelo MLR/SPA há uma diferença significativa entre o MSC e as demais estratégias de pré-processamento dos dados. Para os modelos PLS, os resultados obtidos com MSC são estatisticamente semelhantes aos obtidos com SNV e diferente das demais estratégias estudadas. No caso dos modelos PLS/JK, não houve diferenças estatisticamente significativas

Resultados e Discussão

entre os modelos pré-processados com o MSC e as demais estratégias de pré-processamento ao nível de 95% de confiança.

Usando o princípio da parcimônia, pode se considerar o MSC como o pré-processamento mais adequado para a determinação do teor de umidade nas amostras de farinhas de mandioca nos modelos MLR/SPA e PLS. Para o modelo PLS/JK, o pré-processado com a estratégia MSC também é o mais adequado, visto que os parâmetros gerais do modelo, tanto para a calibração quanto para a previsão, são melhores quando comparado aos demais pré-processamentos.

Tabela 6 - Resultados para o teste F (95% de confiança) obtidos na comparação das diferentes técnicas de pré-processamento empregadas na construção dos modelos (MLR/SPA, PLS e PLS/JK) para umidade.

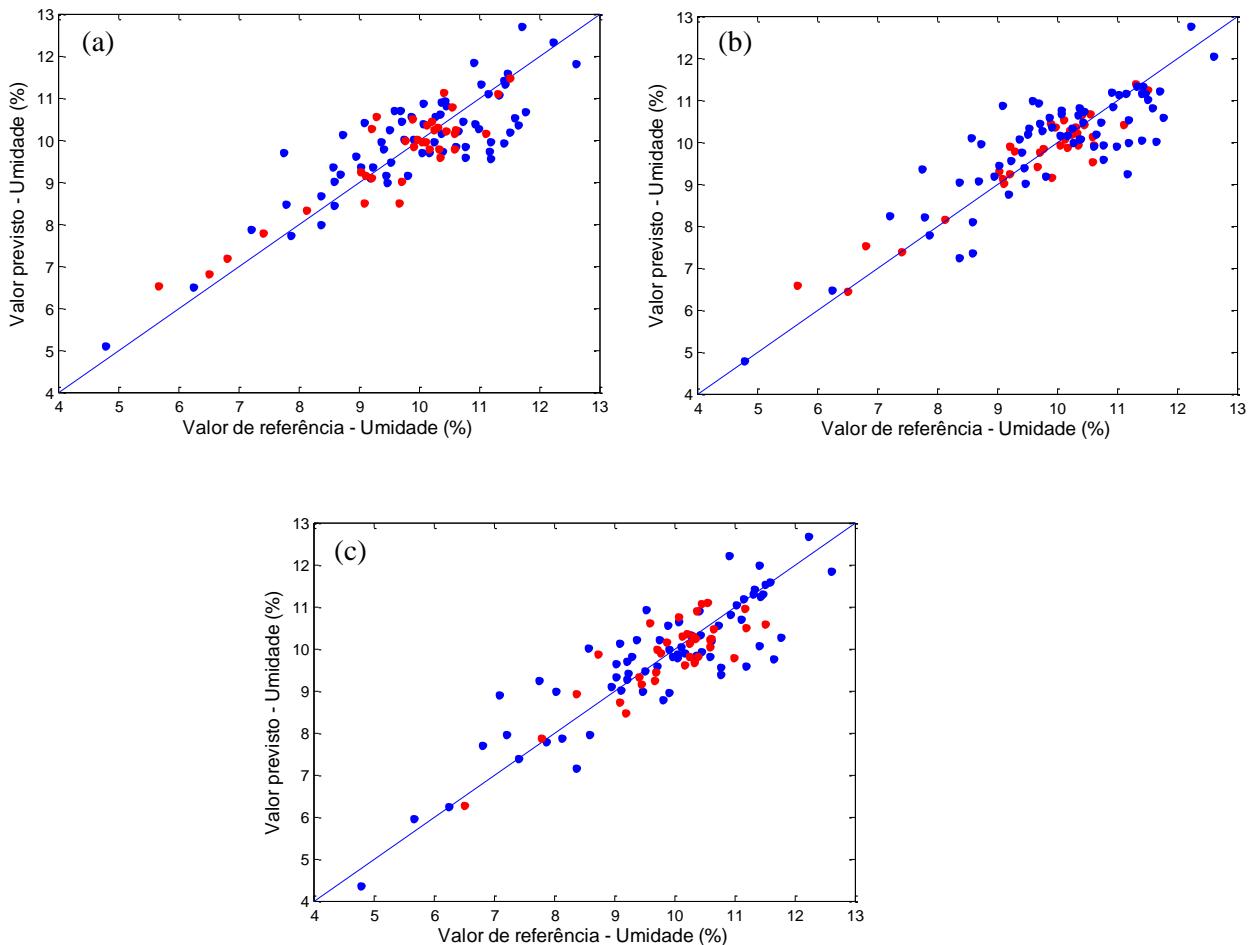
MLR/SPA		PLS		PLS/JK	
	$F_{Calculado}$		$F_{Calculado}$		$F_{Calculado}$
	MSC		MSC		SNV
SNV	1,99	SNV	1,64	MSC	1,08
1 ^a Derivada S. G. - 15 pontos	1,84	1 ^a Derivada S. G. - 15 pontos	2,45	1 ^a Derivada S. G. - 15 pontos	1,26
1 ^a Derivada S. G. - 21 pontos	4,98	1 ^a Derivada S. G. - 21 pontos	1,99	1 ^a Derivada S. G. - 21 pontos	1,26

* $F_{crítico}$ (34, 34, 0,95) = 1,77.

Comparando o desempenho dos modelos MLR/SPA, PLS e PLS/JK utilizando a estratégia de pré-processamento MSC verificou-se que o modelo PLS apresentou menor RMSEP (0,39%), o qual diverge estatisticamente (em um nível de 95% de confiança) do obtido pelo modelo MLR/SPA. O resultado obtido pelo modelo PLS é comparável à reproduutibilidade do método de referência – 0,3% (m/m) (SORVANIEMI *et al.*, 1993).

A Figura 25 mostra o gráfico dos valores de referência em função dos valores previstos pelos modelos MLR/SPA, PLS e PLS/JK (pré-processamento o MSC) nas etapas de calibração e validação externa. Como pode ser observado, não há presença de erro sistemático nos modelos, visto que os valores encontram-se aleatoriamente distribuídos ao longo da bissetriz.

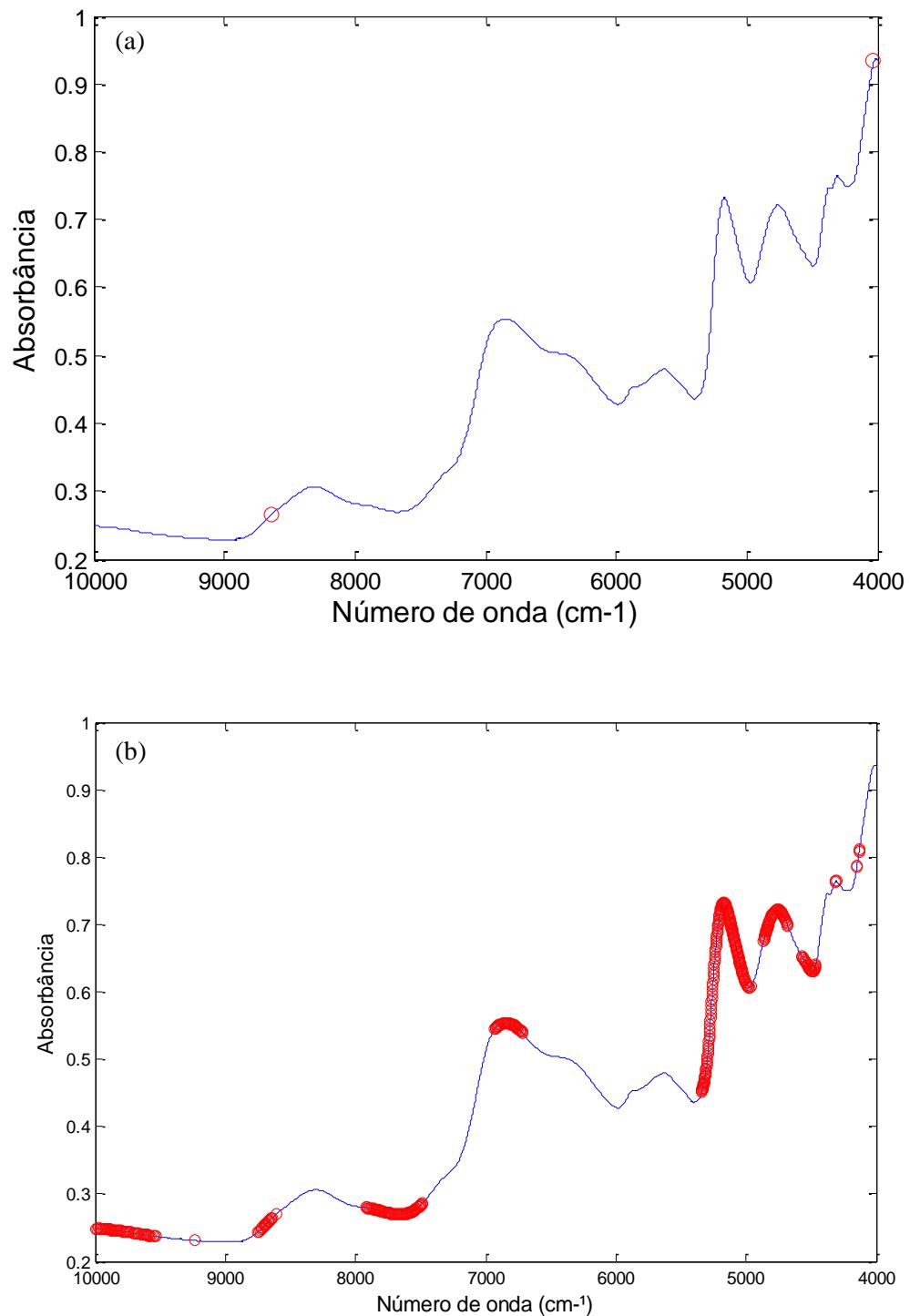
Figura 25 - Gráfico dos valores previstos para umidade versus valores de referência para os modelos: (a) MLR/SPA (b) PLS e (c) PLS/JK (●: amostras de calibração e ●: validação externa).



Na Figura 26, é possível observar as variáveis espectrais selecionadas pelos algoritmos: SPA no modelo de regressão MLR e o Jack-Knife no modelo de regressão PLS construído para a umidade, utilizando como pré-processamento o MSC. Verifica-se que a estratégia MLR/SPA selecionou apenas duas variáveis espectrais originais para a determinação do teor de umidade, sendo, portanto, um modelo mais simples. As variáveis selecionadas pelo algoritmo Jack-Knife para a construção do modelo PLS/JK são correlacionadas com as bandas da água já citadas anteriormente. As variáveis selecionadas pelo algoritmo SPA na construção do modelo MLR foram: 8836 e 4028 cm^{-1} e também estão relacionadas às bandas da molécula de água (BAIANU; GUO, 2011).

Resultados e Discussão

Figura 26 - Variáveis espetrais selecionadas pelas estratégias: (a) MLR/SPA e (b) PLS/JK para umidade utilizando como pré-processamento o MSC.



5.4.2 pH

Os resultados obtidos para os modelos de calibração multivariada MLR/SPA, PLS e PLS/JK obtidos para pH a partir dos respectivos espectros NIR (10000 a 4000 cm^{-1}) empregando diferentes estratégias de pré-processamento são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 - Resultados obtidos para os modelos de calibração multivariada PLS, PLS-JK e MLR/SPA para pH utilizando diferentes estratégias de pré-processamento dos espectros.

Modelo	Pré-processamento	Calibração				Previsão		
		Nº V.L ^a	R	RMSECV	Outliers	N ^b	R	RMSEP
MLR/SPA	Sem	16	0,82	0,32	0	35	0,45	0,39
	MSC	8	0,77	0,33	0	35	0,74	0,31
	SNV	12	0,79	0,32	0	35	0,65	0,35
	1 ^a Derivada S.G ^c – 15 pontos	3	0,83	0,30	0	33	0,51	0,37
	1 ^a Derivada S.G – 21 pontos	3	0,85	0,28	0	33	0,76	0,29
PLS	Sem	8	0,85	0,35	2	35	0,64	0,34
	MSC	6	0,84	0,33	5	33	0,73	0,31
	SNV	6	0,85	0,34	7	34	0,67	0,35
	1 ^a Derivada S.G – 15 pontos	6	0,91	0,34	5	34	0,80	0,26
	1 ^a Derivada S.G – 21 pontos	5	0,82	0,33	5	34	0,68	0,34
PLS / JK	Sem	8	0,83	0,38	0	35	0,60	0,35
	MSC	5	0,84	0,32	5	34	0,73	0,32
	SNV	4	0,83	0,37	7	34	0,72	0,31

Resultados e Discussão

Modelo	Pré-processamento	Calibração					Previsão		
		Nº V.L ^a	R	RMSECV	Outliers	N ^b	R	RMSEP	
	1 ^a Derivada S.G – 15 pontos	6	0,90	0,28	5	34	0,77	0,28	
	1 ^a Derivada S.G – 21 pontos	5	0,83	0,32	5	34	0,71	0,33	

^a Número de variáveis latentes (PLS) ou número de variáveis espectrais (MLR/SPA).

^b N Número de amostras de validação.

^c S. G. = Savitzky Golay.

O pH está relacionado à concentrações do íon hidrônio, H_3O^+ (HARRIS, 2008). A concentração de H_3O^+ encontrada nas amostras de farinha estudadas neste trabalho é muito baixa, $4,5 \times 10^{-5}$ a $2,4 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹. A região do infravermelho próximo possui baixa sensibilidade a esse íon, visto que o limite de detecção do NIR é de cerca de 0,1% (m/m) (PASQUINI, 2003). Por isso, foi necessário um número elevado de variáveis latentes em todos os modelos de calibração construídos (BURNS; CIURCZAK, 2008).

Os menores RMSEP's obtidos para os modelos MLR/SPA, PLS, PLS/JK foram obtidos a partir dos espectros NIR pré-processados com a 1^a Derivada com filtro de Savitzky Golay com 21 pontos para o MLR/SPA (0,29) e com 15 pontos para o PLS (0,26) e o PLS/JK (0,28). Comparando esses resultados com os obtidos com os demais pré-processamentos a partir do teste F ao nível de 95% de confiança, (Tabela 8) observa-se que para esses modelos não há diferenças significativas entre essas estratégias e os demais tipos de pré-processamentos. Exceto, no caso dos modelos PLS, em que o resultado obtido com a primeira derivada e filtro de Savitzky Golay (janela de 15 pontos) difere estatisticamente do modelo pré-processado com o SNV. Portanto, as demais estratégias testadas apresentam desempenho semelhante no pré-processamento de dados espectrais NIR na determinação do pH em amostras de farinhas de mandioca.

Levando-se em conta os menores valores de RMSECV's e maiores valores de coeficientes de correlação, R, a 1^a Derivada com filtro de Savitzky Golay com janelas de 21 pontos e de 15 pontos podem ser consideradas as estratégias de pré-processamento mais

Resultados e Discussão

adequadas quando comparada às demais estudadas para os modelos MLR/SPA e PLS, respectivamente. Enquanto que o pré-processamento mais adequado para o modelo PLS/JK foi o SNV.

Tabela 8- Resultados para o teste F (95% de confiança) obtidos na comparação das diferentes técnicas de pré-processamento empregadas na construção dos modelos (MLR/SPA, PLS e PLS/JK) para pH.

MLR/SPA			PLS			PLS/JK		
	1 ^a Derivada S. G. - 21 pontos (33) ^a			1 ^a Derivada S. G. - 15 pontos (34)			1 ^a Derivada S. G. - 15 pontos (34)	
	F _{Calculado}	F _{Crítico}		F _{Calculado}	F _{Crítico}		F _{Calculado}	F _{Crítico}
MSC (35)	1,14	1,79	MSC (33)	1,42	1,79	MSC (34)	1,31	1,79
SNV (35)	1,46	1,79	SNV (34)	1,81	1,79	SNV (34)	1,23	1,79
1 ^a Derivada S. G. - 15 pontos (33)	1,63	1,80	1 ^a Derivada S. G. - 21 pontos (34)	1,71	1,79	1 ^a Derivada S. G. - 21 pontos (34)	1,39	1,79

^aO valor entre parênteses indica o número de amostras utilizadas para a previsão em cada modelo.

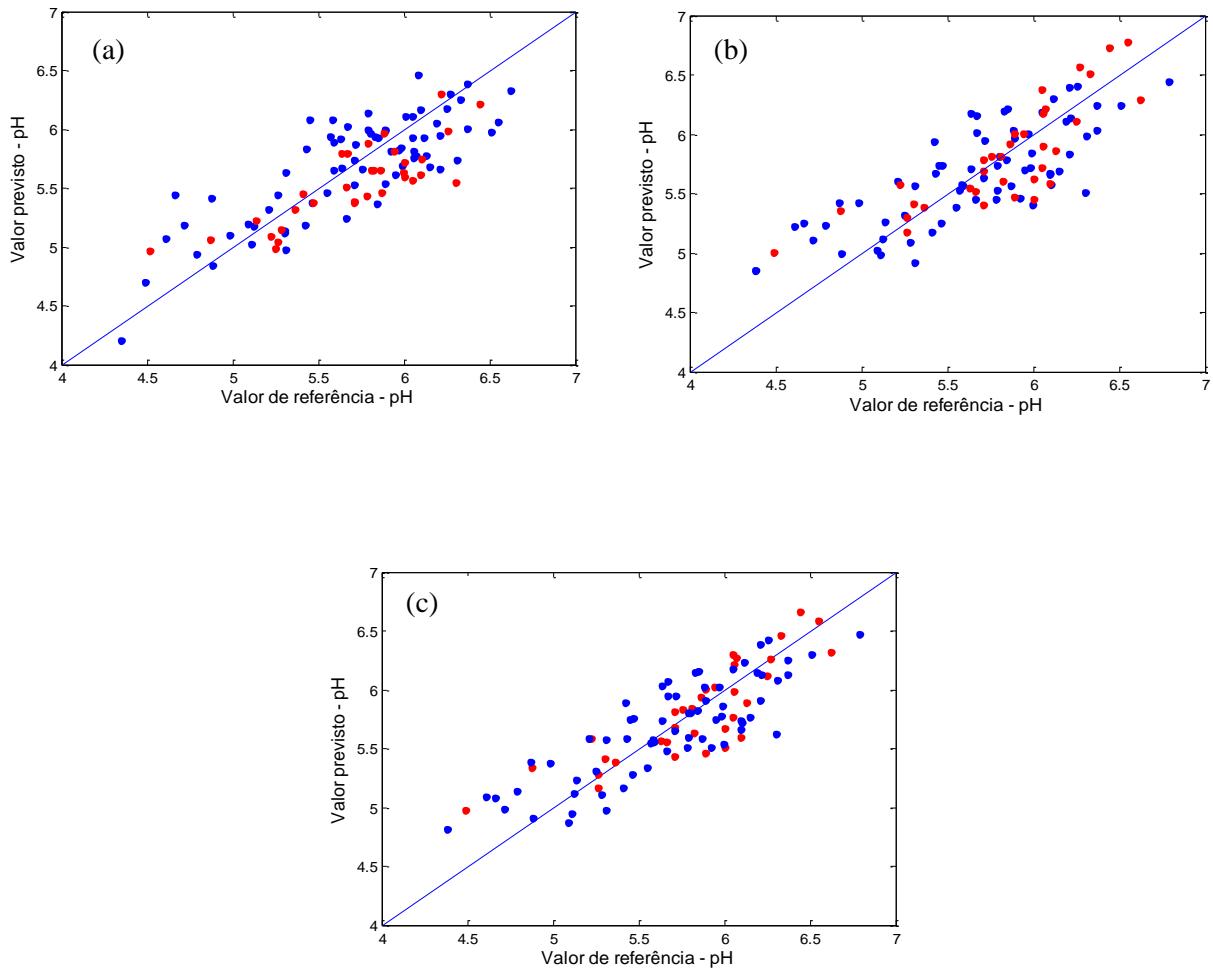
Avaliando os modelos MLR/SPA, PLS e PLS/JK desenvolvidos para pH com a estratégia de pré-processamento 1^a Derivada com filtro de Savitzky Golay com janelas de 21 pontos e 15 pontos para os dois primeiros modelos e o SNV para o último, verificou-se que o modelo PLS apresentou menor RMSEP (0,26 unidades de pH). Esse valor não difere estatisticamente dos valores obtidos pelos modelos MLR e PLS/JK para o nível de 95% de confiança. Nesse caso, é mais indicado utilizar o modelo obtido pelo MLR/SPA para determinar pH em farinhas de mandioca, visto que o MLR/SPA é uma estratégia de modelagem mais simples, pois além de usar menos variáveis espectrais, utiliza as variáveis originais na obtenção dos modelos, ao contrário do PLS (BEEBE *et al.*, 1998). Os resultados obtidos para o modelos são comparáveis aos descritos por Jiang *et al.* (2013) para determinação de pH em alimentos, utilizando 10 variáveis latentes.

A Figura 27 apresenta os gráficos com os valores de referência de pH versus os valores de previstos para os modelos construídos a partir dos espectros pré-processados com

Resultados e Discussão

1^a Derivada com filtro de Savitzky Golay com janela de 21 pontos (MLR/SPA), 1^a Derivada com filtro de Savitzky Golay com janela de 15 pontos(PLS) e SNV (PLS/JK).

Figura 27 - Gráfico dos valores previstos para pH versus valores de referência para os modelos: (a) MLR/SPA (b) PLS e (c) PLS/JK (●: amostras de calibração e ●: validação externa).



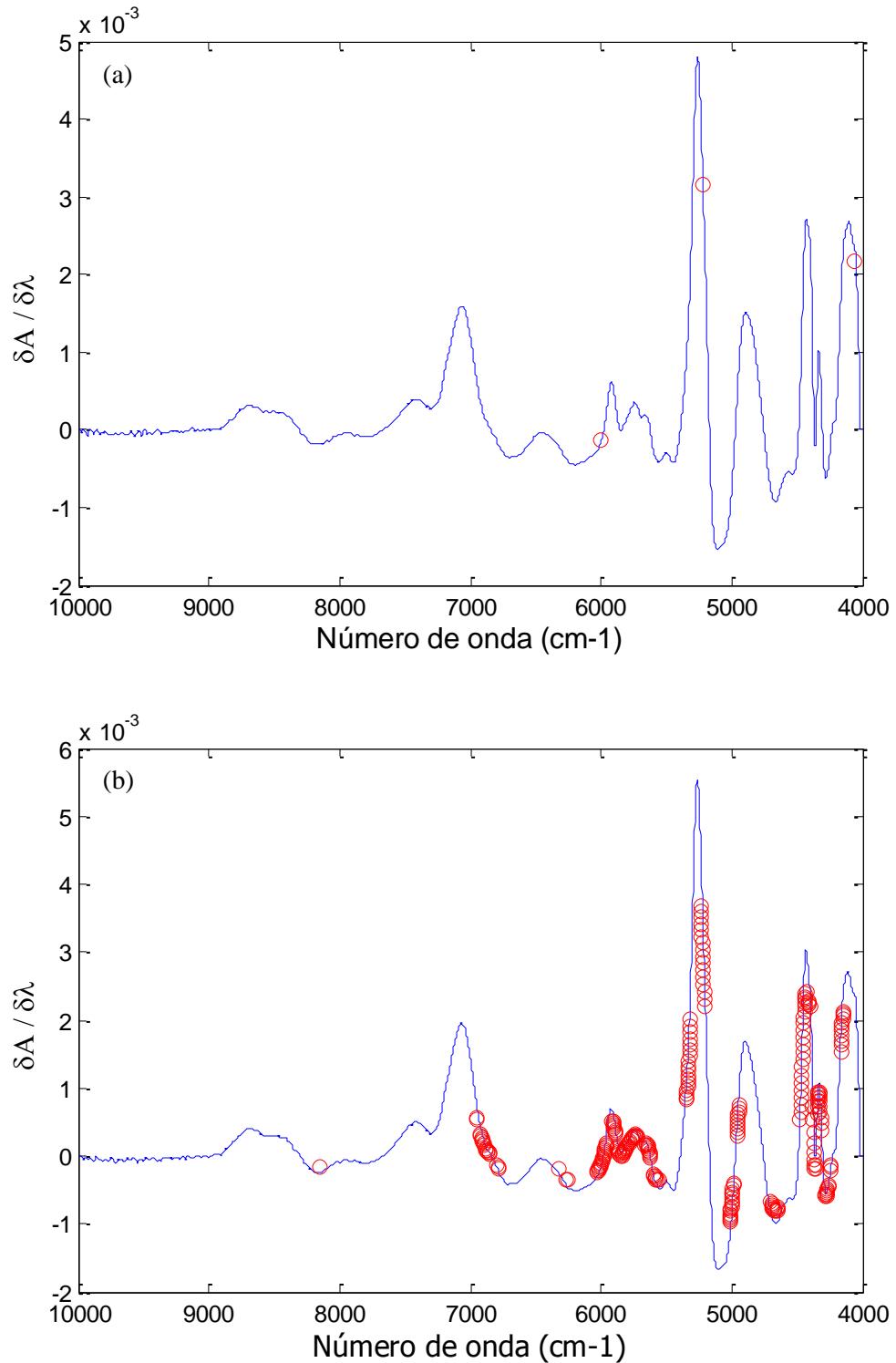
A partir da Figura 27, verifica-se que não há presença de erros sistemáticos, visto que os valores estão distribuídos aleatoriamente ao longo da bissetriz.

As variáveis espectrais selecionadas pelos modelos de calibração MLR/SPA e PLS/JK encontram-se na Figura 28. As variáveis selecionadas pelo algoritmo SPA foram: 4056, 5226 e 6004 cm^{-1} e correspondem a região das combinações e primeiro sobretom do estiramento de

Resultados e Discussão

ligações C-H, respectivamente. As variáveis selecionadas pelo algoritmo Jack-Knife estão distribuídas ao longo de todo o espectro e correspondem às regiões de combinação do estiramento das ligações C-H ($4700\text{-}4146\text{ cm}^{-1}$). Além dessas, foram selecionadas variáveis na região de $6304\text{-}5208\text{ cm}^{-1}$ associadas ao primeiro sobretom do estiramento de ligações C-H (WORKMAN; WEYER, 2012).

Figura 28 - Variáveis espetrais selecionadas pelas estratégias: (a) MLR/SPA e (b) PLS/JK para pH utilizando como pré-processamento a 1^a Derivada com filtro de Savitzky Golay com janela de 21 pontos e o SNV, respectivamente.



5.4.3 Cinzas

Os resultados obtidos para os modelos de calibração multivariada MLR/SPA, PLS e PLS/JK obtidos para cinzas ou resíduos sólidos a partir de seus respectivos espectros NIR (10000 a 4000 cm⁻¹) empregando diferentes estratégias de pré-processamento podem ser encontrados na Tabela 9.

Tabela 9 - Resultados obtidos para os modelos de calibração multivariada PLS, PLS-JK e MLR/SPA para cinzas utilizando diferentes estratégias de pré-processamento dos espectros.

Modelo	Pré- processamento	Calibração					Previsão		
		Nº V.L ^a	R	RMSECV (%)	Outliers	N ^b	R	RMSEP (%)	
MLR/SPA	Sem	10	0,69	0,23	0	35	0,61	0,21	
	MSC	6	0,70	0,21	0	35	0,65	0,20	
	SNV	7	0,74	0,20	0	35	0,66	0,20	
	1 ^a Derivada S.G ^c – 15 pontos	3	0,51	0,27	0	35	0,43	0,19	
	1 ^a Derivada S.G – 21 pontos	8	0,57	0,26	0	35	0,63	0,16	
PLS	Sem	5	0,64	0,26	0	35	0,71	0,15	
	MSC	10	0,87	0,23	0	31	0,91	0,11	
	SNV	10	0,86	0,23	0	31	0,81	0,14	
	1 ^a Derivada S.G – 15 pontos	5	0,68	0,28	0	35	0,71	0,22	
	1 ^a Derivada S.G – 21 pontos	10	0,97	0,27	0	32	0,35	0,22	
PLS / JK	Sem	4	0,64	0,26	0	35	0,69	0,15	
	MSC	7	0,81	0,21	0	31	0,83	0,14	
	SNV	4	0,67	0,24	0	31	0,73	0,17	

Resultados e Discussão

Modelo	Calibração					Previsão		
	Pré- processamento	Nº V.L ^a	R	RMSECV (%)	Outliers	N ^b	R	RMSEP (%)
	1 ^a Derivada S.G – 15 pontos	4	0,69	0,27	3	30	0,74	0,23
	1 ^a Derivada S.G – 21 pontos	7	0,88	0,18	0	33	0,48	0,20

^a Número de variáveis latentes (PLS) ou número de variáveis espectrais (MLR/SPA).

^b N Número de amostras de validação.

^c S. G. = Savitzky Golay.

O modelo de calibração MLR/SPA que obteve o menor RMSEP foi aquele utilizando dados espectrais pré-processados com 1^a Derivada com filtro de Savitzky Golay com janela de 21 pontos (0,16% m/m), enquanto que para os modelos PLS e PLS/JK os menores RMSEP's obtidos foram os pré-processados com MSC - 0,11% e 0,14% (m/m), respectivamente.

Avaliando os modelos que obtiveram os menores RMSEP's com os obtidos com os demais pré-processamentos a partir do teste F ao nível de 95% de confiança, Tabela 10, verifica-se que para os modelos MLR/SPA não há diferenças significativas entre os resultados obtidos com as diferentes estratégias de pré-processamento, em um nível de 95% de confiança. Entretanto, para os modelos PLS e PLS/JK, os resultados obtidos com o pré-processamento MSC são estatisticamente semelhantes apenas aos obtidos com SNV.

Os pré-processamentos que forneceram modelos com parâmetros gerais melhores tanto na calibração quanto na previsão foram o SNV para o modelo MLR/SPA e o MSC para os modelos PLS e PLS/JK.

Resultados e Discussão

Tabela 10 - Resultados para o teste F (95% de confiança) obtidos na comparação das diferentes técnicas de pré-processamento empregadas na construção dos modelos (MLR/SPA, PLS e PLS/JK) para cinzas.

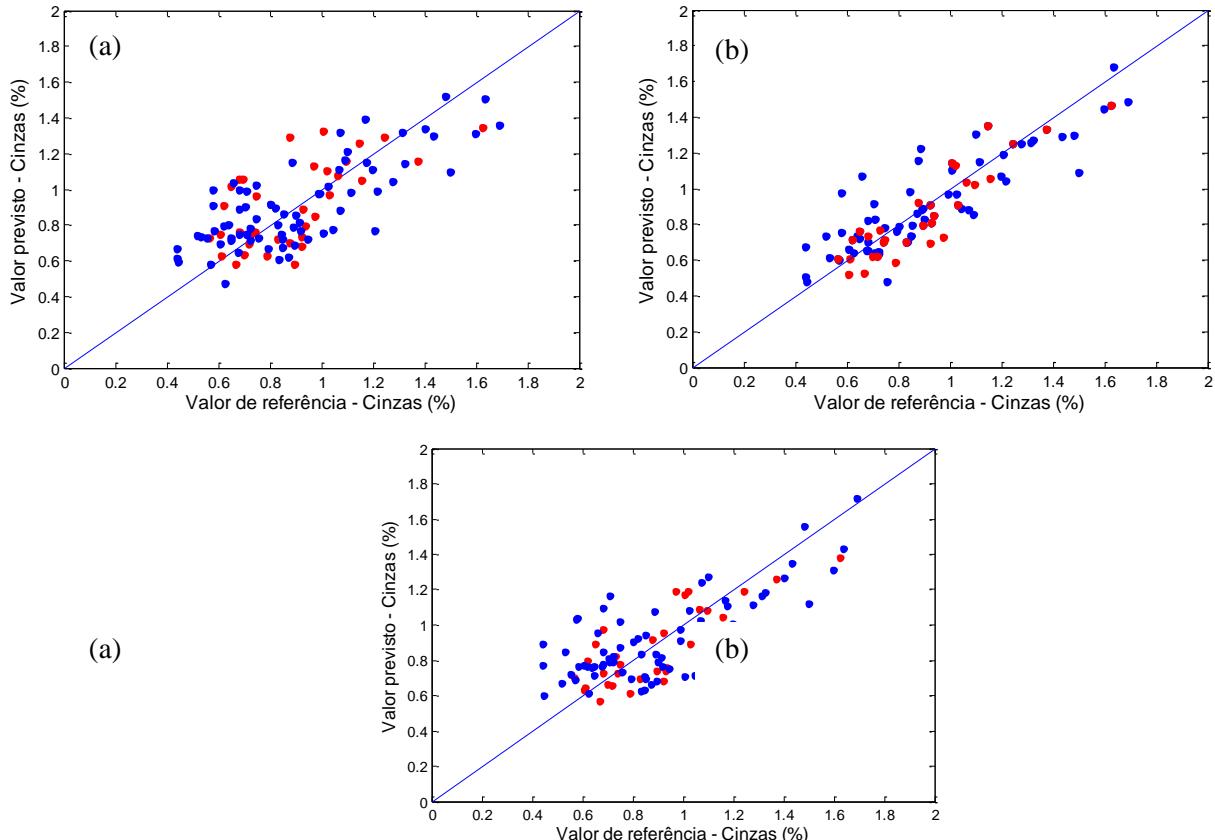
MLR/SPA			PLS			PLS/JK		
	1 ^a Derivada S. G. - 21 pontos (35) ^a			MSC (31)			MSC (31)	
	F _{Calculado}	F _{Crítico}		F _{Calculado}	F _{Crítico}		F _{Calculado}	F _{Crítico}
SNV (35)	1,56	1,77	SNV (31)	1,62	1,84	SNV (31)	1,47	1,82
MSC (35)	1,56	1,77	1 ^a Derivada S. G. - 15 pontos (35)	4,00	1,82	1 ^a Derivada S. G. - 15 pontos (30)	2,70	1,85
1 ^a Derivada S. G. - 15 pontos (35)	1,41	1,77	1 ^a Derivada S. G. - 21 pontos (32)	4,00	1,83	1 ^a Derivada S. G. - 21 pontos (33)	2,04	1,83

^aO valor entre parênteses indica o número de amostras utilizadas para a previsão em cada modelo.

Avaliando-se então o desempenho dos modelos PLS, PLS/JK e MLR/SPA, observou-se que o modelo PLS com todas as variáveis espectrais apresentou o menor valor de RMSEP (0,11%), o qual é estatisticamente diferente do valor obtido pelo modelo MLR/SPA (0,20%) ao nível de 95%. O valor de RMSEP obtido para o modelo PLS é bem menor do que o obtido por Moroi *et al.* (2011), para determinação do teor cinzas em farinhas de trigo (1,5%).

Na Figura 29, encontram-se os gráficos com os valores de referência de cinzas em função dos valores previstos para os modelos MLR/SPA, PLS e PLS/JK construídos a partir dos espectros pré-processados com SNV, MSC e MSC, respectivamente.

Figura 29 - Gráfico dos valores previstos para cinzas versus valores de referência para os modelos: (a) MLR/SPA (b) PLS e (c) PLS/JK (●: amostras de calibração e ●: validação externa).



Observa-se a partir da Figura 29 que não há presença de erros sistemáticos, visto que os valores estão distribuídos aleatoriamente ao longo da bissetriz.

(c)

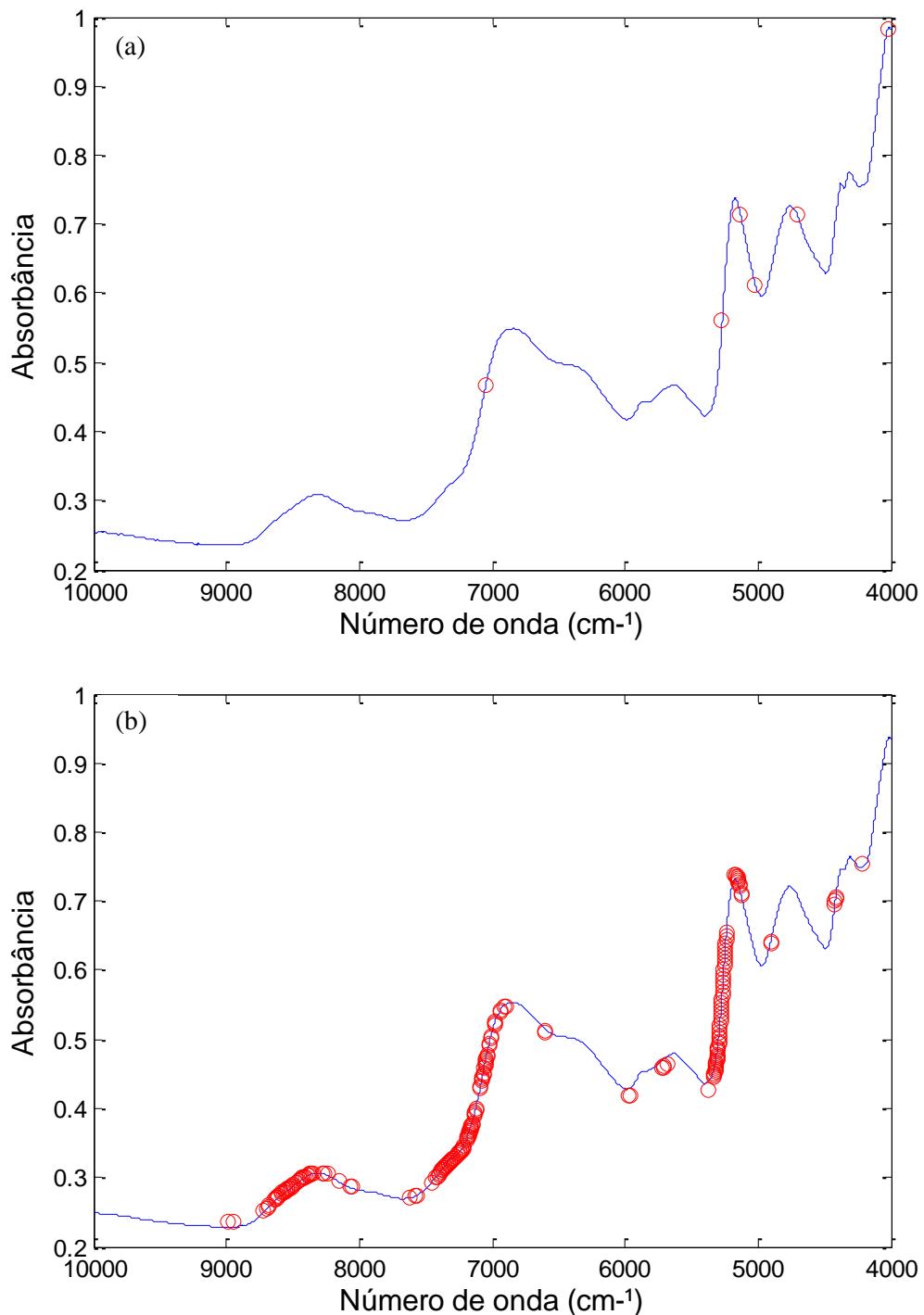
O resíduo mineral resultante do teste de cinzas não apresenta bandas características no espectro NIR, entretanto, o teor de cinzas está altamente correlacionado com o teor de celulose e amido, constituintes principais das farinhas (BURNS; CIURCZAK, 2008).

As variáveis espetrais selecionadas pelos modelos de calibração MLR/SPA e PLS/JK encontram-se na Figura 30. As variáveis selecionadas pelo algoritmo SPA foram: 7050, 5134, 5270, 5020, 4706 e 4024 cm^{-1} e correspondem às bandas do amido e celulose, visto que estão associadas ao segundo sobretom das combinações, primeiro sobretom do estiramento de ligações O-H, bandas de combinação do estiramento das ligações O-H e deformação HOH

Resultados e Discussão

(WORKMAN, WEYER, 2008). As variáveis selecionadas pelo algoritmo Jack-Knife estão distribuídas ao longo de todo o espectro.

Figura 30 - Variáveis espetrais selecionadas pelas estratégias: (a) MLR/SPA e (b) PLS/JK para cinzas utilizando como pré-processamento SNV e MSC, respectivamente.



Conclusão

Neste trabalho foi apresentado o uso da espectroscopia NIR aliada à calibração multivariada para a determinação de parâmetros de qualidade de farinhas de mandioca.

A partir das análises físico-químicas realizadas, verificou-se que o teor de umidade variou de 5,00 a 12,62% (m/m) e que todas as amostras estudadas se encontravam dentro do limite estabelecido pela legislação vigente. O teor de cinzas variou de 0,28 a 1,69% (m/m) e seis amostras apresentaram valores superiores aos estabelecidos pela legislação. O pH das amostras variou de 4,35 a 6,62, sendo classificadas como ácidas ou pouco ácidas.

A PCA não foi capaz de distinguir as farinhas por estado. Os modelos PLS utilizando os espectros pré-processados com o MSC mostraram-se eficientes para determinação do teor de umidade e cinzas, com RMSEPs iguais a 0,39 e 0,11%, respectivamente. Para a determinação do pH, o modelo MLR com seleção de variáveis pelo algoritmo SPA com espectros derivativos da primeira derivada com filtro Savitzky Golay com uma janela de 21 pontos mostrou-se mais eficiente, com RMSEP igual a 0,29 unidades de pH. Os desempenhos observados na previsão de amostras externas foram comparáveis à reproduzibilidade do método e a trabalhos da literatura.

Enfim, este trabalho mostrou que a calibração multivariada é uma alternativa vantajosa para determinação dos teores de umidade, cinzas e pH. O método proposto é mais rápido, de custo relativamente baixo e limpo, além de exigir menos preparo da amostra quando comparado aos métodos oficiais.

Perspectivas

Com a finalização deste trabalho, observaram-se algumas perspectivas para um aprofundamento da análise espectroscópica de farinhas de mandioca.

- Realizar outras análises físico-químicas como: amido, proteínas, lipídeos e fibras na matriz em estudo, e posteriormente construir modelos de calibração para esses parâmetros;
- Validar as metodologias NIR desenvolvidas, utilizando figuras de mérito para a calibração multivariada;
- Construir modelos multiblocos (NIR + MIR).

Referências

- ALDANA, A. S.; QUINTERO, A. F. Physicochemical characterization of two cassava (*Manihot esculenta* Crantz) starches and flours. **Scientia Agroalimentaria**, Tolima, v. 1, p.19-25, fev. 2013.
- AOAC. (1995). **Official Methods of Analysis Association of Official Analytical Chemists**, Washington.
- ARAUJO, J. S. de P.; LOPES, C. A. **Niterói-RJ abril de 2009**. Niterói - RJ: [s.n.], 2009.
- ARAÚJO, M. C. U. *et al.* The successive projections algorithm for variable selection in spectroscopic multicomponent analysis. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 57, n. 2, p. 65 – 73, 2001.
- BAIANU, I. C.; GUO, J. NIR Calibrations for Soybean Seeds and Soy Food Composition Analysis: Total Carbohydrates, Oil, Proteins and Water Contents. **Nature Precedings**. Illinois. 16 nov. 2011.
- BEEBE, K. R.; PELL, R. J.; SEASHOLTZ, M. B. **Chemometrics: a practical guide**. Nova York: Jonh Wiley & Sons, 1998. p. 26 – 55
- BERETON, R. G. **Applied Chemometrics for Scientists**. 1. ed. Reino Unido: Wiley, 2007.
- BEZERRA, V. S. **Farinhas de Mandioca Seca e Mista**. . Brasília - DF: [s.n.], 2006.
- BOTELHO, B. G.; MENDES, B. A. P.; SENA, M. M. Implementação de um método robusto para o controle fiscal de umidade em queijo minas artesanal. Abordagem metrológica multivariada. **Química Nova**, Minas Gerais, 29 abr. 2013. , p. 1–7.
- BRASIL. **Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 52, de 7 de novembro de 2011. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Brasília: [s.n.]. , 2011
- BURNS, D. A.; CIURCZAK, E. W. **Handbook of Near Infrared Analysis**. 3. ed. Nova York: Crc Press - Taylor & Francis Group, 2008. 816 p. (Practical Spectroscopy - 35).
- CABRAL, A. M. **Construção de modelos multivariados para determinação de lipídios totais e umidade em leite em pó comercial utilizando espectroscopia no infravermelho próximo**. 2011. 104 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal - RN.
- CAETANO, V. F. **Modelagem empírica multivariada aplicada a dados no infravermelho médio para predição de propriedades mecânicas do poli(tereftalato de etileno) - PET**. 2010. 83 f. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Pernambuco, Recife - PE.

Referências

- CAMARGO, M. T. L. de A. Estudo etnobotânico da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz – Euphorbiaceae) na diáspora africana. **Anais do Seminário Gastronomia em Gilberto Freyre**, p. 22 – 30, 2007. Disponível em: <http://www.fgf.org.br/centrodedocumentacao/publicacoes/gastronomia_gf/05_MariaTherezaCamargo.pdf>. Acesso em: 16 set. 2013.
- CEREDA, M. P. **Novos produtos para a farinha de mandioca**. 2003, [S.l: s.n.], 2003. p. 15.
- CHEEWAPRAMONG, P. **Use of Near-Infrared Spectroscopy for Qualitative and Quantitative Analyses of Grains and Cereal Products**. 2007. 169 f. Dissertação (Mestrado) - Food Science and Technology Department. University of Nebraska, Lincoln. Disponível em: <<http://digitalcommons.unl.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1001&context=foodscidiss>>. Acesso em: 05 mai. 2013.
- CHISTÉ, R. C. **Estudo das propriedades físico-químicas e microbiológicas na produção da farinha de mandioca dos grupos seca e d'água, subgrupo fina, tipo 1**. 2006.
- CHISTÉ, R. C. *et al.* Qualidade da farinha de mandioca do grupo seca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 4, p. 861–864, 2006.
- CHISTÉ, R. C.; COHEN, K. D. O. Influência da fermentação na qualidade da farinha de mandioca do grupo d'água. **Acta Amazonica**, v. 41, n. 2, p. 279–284, 2011.
- COSTA FILHO, P. A. DA. **Estudo comparativo entre técnicas de inteligência artificial e modelos lineares em determinações quantitativas no infravermelho próximo**. 2003. Tese (Doutorado) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas - SP.
- COSTA, M. R. **Estudo comparativo das hidrólises ácida e enzimática de matérias primas amiláceas visando a obtenção de etanol**. 2010. 109 f. Dissertação (Mestrado) - Pós Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Alagoas, Maceió - AL.
- DIAS, L. T. ; LEONEL, M. Caracterização físico-química de farinhas de mandioca de diferentes localidades do Brasil. **Ciencia e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 4, p.692-700, set. 2006.
- DON, X.; SUN, X. A case study of characteristic bands selection in near-infrared spectroscopy: nondestructive detection of ash and moisture in wheat flour. **Food Measure**. Nova York, p. 141-148. set. 2013.
- EMBRAPA. **Mandioca no Cerrado**. Mandioca no Cerrado: orientações técnicas/ editores técnicos, Josefino de Freitas Fialho, Eduardo Alano Vieira. – Planaltina, DF : Embrapa Cerrados, 2011. Disponível em: <http://www.fbb.org.br/data/files/8AE389DB3309CEE001331C7AC60B55C6/manual_mandioca_no_cerrado.pdf>. Acesso em: 04 fev. 2013
- EMBRAPA, E. B. de P. A. **Efeito do Processo de Fabricação da Farinha de Mandioca**. Belém, PA: [s.n.], 2006.

Referências

- EFRON, B. The Jack-Knife, the bootstrap and other resampling plans. Philadelphia, Pennsylvania: **Society for Industrial and Applied Mathematics**, 1982.
- EMBRAPA - A cultura da mandioca** / editores técnicos: Luciano da Silva Souza, Josefino de Freitas Fialho - Embrapa Mandioca e Fruticultura – Janeiro, 2003.
- ERIKSSON, E. **Flour from three local varieties of Cassava (Manihot Esculenta Crantz) - physico-chemical properties, bread making quality and sensory evaluation : a Minor Field Study in Ghana.** 2013 . 43 f. Tese (Doutorado)- Dept. of Food Science, Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences, Uppsala - Gana. Disponível em: < <http://stud.epsilon.slu.se> > Acesso em: 06 jan. 2014.
- ESCUREDO, O. *et al.* Near infrared spectroscopy for prediction of antioxidant compounds in the honey. **Food Chemistry**, p. 3409-3414. 15 dez. 2013.
- FAO. **Produzir mais com menos - Mandioca: um guia para a intensificação sustentável da produção.** . Rome: [s.n.], 2013 Disponível em: <<http://www.fao.org/ag/save-and-grow/cassava/pdf/FAO-Mandioca.pdf>>. Acesso em: 15 out. 2013
- FERRÃO, M. F. **Aplicação de técnicas espectroscópicas de reflexão no infravermelho no controle de qualidade de farinha de trigo.** 2000. 219 f. Tese (Doutorado) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas - SP.
- FERRÃO, M. F. *et al.* Determinação Simultânea dos Teores de Cinza e Proteína em Farinha de Trigo Empregando NIR-PLS e DRIFT-PLS. **Revista Ciência e Tecnologia em Alimentos**, Campinas, 24(3): 333-340, jul.-set. 2004
- FERREIRA, M. M. C. *et al.* Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial. **Química Nova**, v. 22, n. 5, 1999.
- FERREIRA NETO, C. J., FIGUEIRÊDO, R. M. F. de, QUEIROZ, A. J. de M. Avaliação físico-química de farinhas de mandioca durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, p. 25–31, 2003.
- FIDÊNCIO, P. H. **Análise de solos por espectroscopia no infravermelho próximo e aplicação de métodos quimiométricos.** 2001. 149 f. Tese (Doutorado) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas - SP.
- FOCO, C. O. M. *et al.* **Informações de mercado sobre mandioca.** 2008.
- GALVÃO, R. K. H. *et al.* A method for calibration and validation subset partitioning. **Talanta**, v. 67, n. 4, p. 736–740, 2005.
- GELADI, P.; KOWALSKI, B. R. Partial least-squares regression: a tutorial. **Analytica Chimica Acta**, v. 185, n. 1, p. 1–17, 1986.
- GALLO, L. V. **Determinação de parâmetros de qualidade em bananas utilizando espectroscopia no infravermelho e calibração multivariada.** 2008. 63 f. Dissertação

Referências

- (Mestrado) - Curso de Química, Departamento de Departamento de Química Analítica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.
- HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa**. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2008. p. 199
- HIGSON, S. P. J. **Química Analítica**. São Paulo: McGraw-Hill, 2009.
- HONORATO, F. A. *et al.* Transferência de calibração em métodos multivariados. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1301–1312, 2007.
- JIANG, H. *et al.* Qualitative and quantitative analysis in solid-state fermentation of protein feed by FT-NIR spectroscopy integrated with multivariate data analysis. **Rsc Publishing: Analytical Methods**. China, p. 1872-1880. 13 fev. 2013.
- KADDOUR, A. Ait; CUQ, B.. In line monitoring of wet agglomeration of wheat flour using near infrared spectroscopy. **Powder Technology**. Montpellier, p. 10-18. 30 abr. 2008.
- KENNARD, R. W.; STONE, L. A. Computer-aided design of experiments. **Technometrics**, v. 11, n. 1, p. 137–148, 1969.
- KILLNER, M. H. M.; ROHWEDDER, J. J. R.; PASQUINI, C. A PLS regression model using NIR spectroscopy for on-line monitoring of the biodiesel production reaction. **Fuel**, v. 90, n. 11, p. 3268–3273, nov. 2011.
- LEBOT, V. *et al.* NIR Determination of Major Constituents in Tropical Root and Tuber Crop Flours. **J. Agric. Food Chem.** França, p. 10539-10547. out. 2009.
- LORENZI, J. O.; DIAS, C. C. A. de. **Cultura da mandioca**. 1. ed. Campinas - SP: [s.n.], 1993. p. 41
- LUTZ, A. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo: [s.n.], 2008. p. 1020
- LUYPAERT, J. *et al.* An evaluation of direct orthogonal signal correction and other preprocessing methods for the classification of clinical study lots of a dermatological cream. **Journal Of Pharmaceutical And Biomedical Analysis**. Belgium, p. 453-466. 22 fev. 2002.
- MAIEVES, H. A. **Caracterização Física, Físico Química e Potencial Tecnológico de novas Cultivares de Mandioca**. 2010. 113 f. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis - SC.
- MAZIYA-DIXON, B. *et al.* Effect of variety and drying methods on physico-chemical properties of high quality cassava flour from yellow cassava roots. **African Crop Science Conference Proceedings**, Uganda, v. 7, p.635-641, 2005.
- MARTENS, H., MARTENS, M. Modied Jack-Knife estimation of parameter uncertainty in

Referências

- bilinear modelling by partial least squares regression (PLSR). **Food Quality and Preference** 11: 5, 2000.
- MENEZES, J. C. *et al.* Multiblock PLS as an approach to compare and combine NIR and MIR spectra in calibrations of soybean flour. **Chemometrics And Intelligent Laboratory Systems**. Lisboa, p. 91-99. 26 maio 2004.
- MIQUELONI, D. P. *et al.* **Análise de agrupamento na classificação físico-química de farinha de mandioca**. 2012, Maceió: [s.n.], 2012. p. 1–5.
- MOREIRA, S. D.; SANTANA, A. C. de. **Estudo de mercado da farinha de mandioca na região metropolitana de Belém-PA, envolvendo as principais feiras e supermercados**. 2011, [S.l: s.n.], 2011. p. 5.
- MORGANO, M. A. *et al.* Determinação de açúcar total em café cru por espectroscopia no infravermelho próximo e regressão por mínimos quadrados parciais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 346–350, 2007.
- MORGANO, M. A. *et al.* Determinação de proteína em café cru por espectroscopia nir e regressão pls 1. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 25, n. 1, p. 25–31, 2005.
- MOROI, A. *et al.* Prediction of the ash content of wheat flours using spectral and chemometric methods. **Lwt - Food Science And Technology: The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati**. Bacau, p. 33-45. 28 set. 2011.
- NAES, T. *et al.* **A user friendly guide to multivariate calibration and classification**. Chichester: NIR Publications, 2002. p. 114 – 119
- OLIVEIRA, F. C. C. *et al.* A escolha da faixa espectral no uso combinado de métodos espectroscópicos e quimiométricos. **Química Nova**. Brasília, p. 218-225. set. 2004.
- OTTO, M. **Chemometrics: Statistics and Computer Application in Analytical Chemistry**. 2. ed. Alemanha: Wiley-vch, 2007. 328 p.
- PAIVA, F. F. A. **Controle de qualidade da farinha de mandioca (Manihot esculenta Crantz) produzida na região metropolitana de Fortaleza**. 1991. 216 f. Dissertação (Mestrado) - Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza - CE.
- PANERO, J. dos S. **Determinação de proteína, óleo e umidade por espectroscopia NIR em grãos de soja do estado de Roraima**. 2007. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Química, Universidade Federal de Roraima, Boa Vista - RR.
- PANTOJA, P. A. **Caracterização do petróleo por técnicas espectroscópicas e sua utilização na avaliação e desenvolvimento de métodos de inferência em processo de refino**. 2010. 162 f. Tese (Doutorado) - Departamento de Engenharia Química, Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo - SP.
- PASQUINI, C. **Near Infrared Spectroscopy: Fundamentals, Practical Aspects and Analytical Applications**. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 14, n. 2, p. 198 – 219, 2003.

Referências

- PIMENTEL, M. F.; BARROS NETO, B. de. Calibração: uma revisão para químicos analítico. **Química Nova**, v. 19, n. 3, p. 268 – 277, 1996.
- PINTO, M. D. N. **Mandioca e farinha: subsistência e tradição cultural. Projeto Celebrações e Saberes da Cultura Popular.** [S.l: s.n.]. Disponível em: <http://www.mao.org.br/wp-content/uploads/pinto_01.pdf>. Acesso em: 08 abr. 2013.
- PONTES, M. J. C. de. **Algoritmo das Projeções Sucessivas para Seleção de Variáveis.** 2009. 123 p. Tese (Doutorado) - Pós Graduação em Química, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa - PB.
- RETEC-BA (Rede de Tecnologia da Bahia). **Sensibilidade das plantações de mandioca.** Salvador: Serviço Brasileiro de Respostas técnicas, ago. 2006.
- RIBEIRO, L. F. **Uso de espectroscopia no infravermelho e análise multivariada para previsão de ácidos graxos em linhaça dourada e marrom.** 2012. 118 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba - PR.
- SANDRA, K. L. *et al.* Quantification of soluble solids in reconstituted açaí (*Euterpe oleracea Mart.*) pulp using near-infrared spectroscopy. **International Journal Of Food Science & Technology**, p. 2514-2520. dez. 2013.
- SANTIAGO, K. de S.. **Algoritmo Evolutivo de Cromossomo Duplo para Calibração Multivariada.** 2013. 60 f. Dissertação (Mestrado) - Ciências da Computação, Universidade Federal de Goiás, Goiania - GO.
- SANTOS, G. M. dos *et al.* Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí (*Euterpe oleracea Mart.*). **Organo Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición**, v. 58, n. 2, p. 187–192, 2008.
- SEBRAE, S. B. de A; M. E P. E. **Mandiocultura: derivados da mandioca.** . [S.l: s.n.], 2009
- SENA, M. M.; POPPI, R. J. Avaliação do uso de métodos quimiométricos em análise de solos. **Química Nova**, v. 23, n. 4, p. 547–556, 2000.
- SILEONI, V. *et al.* Evaluation of different validation strategies and long term effects in NIR calibration models. **Food Chemistry**, p. 2639-2648. dez. 2013. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814613005700>>. Acesso em: 10 mar. 2014.
- SIMÕES, S. da S. **Desenvolvimento de métodos validados para a determinação de captopril usando espectrometria NIR e calibração multivariada.** 2008. 83 p. Tese (Doutorado), Pós- Graduação em Química, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa - PB.
- SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Princípios de Análise Instrumental.** 6^a ed. Porto Alegre: Bookman, 2009. p. 1056

Referências

- SOARES, M. O. S. **Sistema de Produção em Casas de Farinha : Uma leitura descritiva na Comunidade de Campinhos – Vitória da Conquista (BA) Ilhéus.** 2007. Universidade Estadual de Santa Cruz, 2007.
- SOARES, M. R. S. **Características de variedades de mandioca em função de épocas de colheita.** 2011. 110 f. Dissertação (Mestrado), Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista - BA.
- SORVANIEMI, J. *et al.* Using Partial Least Squares Regression and Multiplicative Scatter Correction for FT-NIR Data Evaluation of Wheat Flours. **Lwt - Food Science And Technology.** Thessaloniki, p. 251-258. 26 jan. 1993.
- SOUZA, E. R. Determinação de Parâmetros de Qualidade da Gasolina e Estudo de Contaminantes Utilizando Espectros do Infravermelho Próximo na Fase Vapor. 2005. 142 f. Tese (Doutorado) - Instituto de Química, Departamento de Química Analítica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas - SP.
- SOUZA, J. M. L. de *et al.* Caracterização físico-química de farinhas de mandioca oriundas do município de Cruzeiro do Sul - Acre. **Publicatio Uepg: Ciências Exatas e da Terra, Ciências Agrárias e Engenharias**, Ponta Grossa, v. 1, n. 14, p.43-49, abr. 2008 a.
- SOUZA, J. M. L. de *et al.* Variabilidade físico-química da farinha de mandioca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 4, p. 907–912, out. 2008 b.
- SOUZA, J. M. L. de *et al.* Caracterização físico-química de farinhas oriundas de variedades de mandioca utilizadas no vale do Juruá, Acre. **Acta Amazonica: Tecnologia de Alimentos**, Acre, vol. 38, n. 4, p. 761 - 766, dez. 2008 c.
- TALENS, P. *et al.* Prediction of water and protein contents and quality classification of Spanish cooked ham using NIR hyperspectral imaging. **Journal Of Food Engineering**, p. 272-280. ago. 2013.
- TAYLOR; FRANCIS. **Practical guide to chemometrics**. 2. ed. Nova York: CRC, 2006.
- WORKMAN, J.; WEYER, L. **Practical Guide and Spectral Atlas for Interpretive Near-Infrared Spectroscopy**. 2. ed. Nova York: Crc Press, 2008. 312 p.
- WU, D. *et al.* Study on infrared spectroscopy technique for fast measurement of protein content in milk powder based on LS-SVM. **Journal Of Food Engineering**. China, p. 124-131. jan. 2008.

Apêndice

APÊNDICE A – Parâmetros físico-químicos determinados para as farinhas de mandioca.

Amostra	Estado	Umidade (%)	pH	Cinzas (%)
1	PE	9,87 ± 1,34	5,36 ± 0,02	1,02 ± 0,02
2	PE	10,17 ± 1,48	5,71 ± 0,30	0,57 ± 0,18
3	PE	9,90 ± 1,84	4,87 ± 0,01	1,02 ± 0,17
4	PE	10,94 ± 1,04	5,42 ± 0,09	0,72 ± 0,20
5	PE	9,09 ± 1,34	5,28 ± 0,05	1,62 ± 0,05
6	PI	11,20 ± 1,66	5,46 ± 0,06	0,71 ± 0,08
7	DF	10,77 ± 1,77	6,30 ± 0,07	1,48 ± 0,02
8	PE	10,35 ± 0,72	5,87 ± 0,03	0,65 ± 0,01
9	PE	10,42 ± 0,61	5,78 ± 0,02	0,70 ± 0,03
10	PE	10,99 ± 0,36	6,05 ± 0,04	0,66 ± 0,01
11	PE	10,05 ± 0,84	5,47 ± 0,01	1,22 ± 0,04
12	BA	11,31 ± 1,14	4,79 ± 0,01	1,31 ± 0,02
13	DF	9,52 ± 1,37	5,11 ± 0,06	1,69 ± 0,02
14	PE	10,07 ± 1,67	5,71 ± 0,02	1,07 ± 0,05
15	PE	10,34 ± 0,67	6,15 ± 0,02	0,53 ± 0,12
16	PE	10,45 ± 1,52	5,14 ± 0,01	1,37 ± 0,05
17	PE	10,38 ± 0,93	5,76 ± 0,02	0,82 ± 0,01
18	PE	11,76 ± 1,01	5,63 ± 0,13	1,06 ± 0,07

Apêndice

19	PE	$12,62 \pm 0,23$	$5,12 \pm 0,03$	$1,01 \pm 0,07$
20	DF	$11,51 \pm 2,64$	$5,30 \pm 0,02$	$1,64 \pm 0,01$
21	PE	$9,59 \pm 1,38$	$5,30 \pm 0,03$	$1,50 \pm 0,01$
22	PE	$11,65 \pm 1,53$	$5,41 \pm 0,03$	$0,88 \pm 0,36$
23	PE	$9,47 \pm 1,55$	$5,66 \pm 0,03$	$1,20 \pm 0,05$
24	PE	$10,16 \pm 0,72$	$6,13 \pm 0,01$	$0,44 \pm 0,06$
25	PI	$10,05 \pm 1,85$	$4,52 \pm 0,04$	$0,68 \pm 0,29$
26	PE	$10,33 \pm 1,13$	$5,25 \pm 0,02$	$1,10 \pm 0,02$
27	PE	$9,41 \pm 0,98$	$5,31 \pm 0,02$	$1,43 \pm 0,05$
28	PE	$10,77 \pm 1,16$	$5,66 \pm 0,02$	$1,09 \pm 0,01$
29	PE	$9,96 \pm 1,33$	$5,26 \pm 0,02$	$1,60 \pm 0,04$
30	PE	$9,71 \pm 1,61$	$5,71 \pm 0,06$	$1,33 \pm 0,01$
31	PE	$7,13 \pm 1,12$	$5,21 \pm 0,02$	$0,58 \pm 0,32$
32	PE	$11,44 \pm 0,97$	$4,98 \pm 0,01$	$1,18 \pm 0,12$
33	PE	$9,11 \pm 1,31$	$5,22 \pm 0,04$	$1,28 \pm 0,03$
34	PE	$11,02 \pm 1,58$	$5,59 \pm 0,01$	$0,97 \pm 0,19$
35	PE	$10,26 \pm 1,28$	$5,26 \pm 0,03$	$1,40 \pm 0,06$
36	PR	$7,40 \pm 0,13$	$6,21 \pm 0,01$	$0,52 \pm 0,22$
37	PR	$7,78 \pm 0,01$	$5,99 \pm 0,02$	$0,68 \pm 0,24$
38	RN	$9,10 \pm 0,07$	$5,95 \pm 0,01$	$0,99 \pm 0,10$
39	SC	$10,64 \pm 0,10$	$6,06 \pm 0,08$	$0,92 \pm 0,07$
40	RN	$7,86 \pm 0,38$	$5,85 \pm 0,02$	$0,79 \pm 0,02$

Apêndice

41	PE	$10,40 \pm 0,12$	$6,51 \pm 0,03$	$0,95 \pm 0,09$
42	PE	$8,37 \pm 0,13$	$5,71 \pm 0,02$	$0,94 \pm 0,08$
43	SP	$10,55 \pm 0,24$	$5,86 \pm 0,05$	$0,72 \pm 0,04$
44	BA	$7,08 \pm 0,22$	$6,33 \pm 0,01$	$0,85 \pm 0,08$
45	PE	$10,62 \pm 0,07$	$5,92 \pm 0,05$	$0,83 \pm 0,03$
46	PE	$10,91 \pm 0,19$	$5,97 \pm 0,01$	$0,90 \pm 0,07$
47	PE	$11,71 \pm 0,26$	$5,89 \pm 0,04$	$0,92 \pm 0,05$
48	BA	$8,36 \pm 0,11$	$5,67 \pm 0,05$	$0,65 \pm 0,05$
49	PE	$12,23 \pm 0,17$	$6,01 \pm 0,02$	$0,89 \pm 0,38$
50	PE	$9,29 \pm 0,15$	$6,26 \pm 0,04$	$0,73 \pm 0,07$
51	PE	$9,02 \pm 0,09$	$6,37 \pm 0,05$	$0,70 \pm 0,23$
52	RS	$11,19 \pm 0,07$	$5,81 \pm 0,01$	$0,97 \pm 0,08$
53	RS	$9,24 \pm 0,04$	$5,79 \pm 0,01$	$0,93 \pm 0,02$
54	SC	$6,81 \pm 0,07$	$5,64 \pm 0,01$	$0,89 \pm 0,10$
55	SC	$10,21 \pm 0,14$	$5,98 \pm 0,04$	$0,75 \pm 0,04$
56	PE	$9,75 \pm 0,37$	$6,55 \pm 0,03$	$0,75 \pm 0,03$
57	PE	$10,72 \pm 0,14$	$5,43 \pm 0,02$	$0,68 \pm 0,05$
58	PE	$11,10 \pm 0,09$	$6,10 \pm 0,02$	$0,74 \pm 0,02$
59	SP	$11,40 \pm 0,06$	$5,64 \pm 0,01$	$0,55 \pm 0,15$
60	BA	$8,12 \pm 0,11$	$5,79 \pm 0,01$	$0,79 \pm 0,04$
61	BA	$9,54 \pm 0,40$	$6,08 \pm 0,03$	$0,63 \pm 0,05$
62	PE	$10,13 \pm 0,12$	$5,89 \pm 0,02$	$0,72 \pm 0,02$

Apêndice

63	SP	$10,45 \pm 0,05$	$6,05 \pm 0,10$	$0,65 \pm 0,04$
64	PE	$9,37 \pm 0,03$	$5,58 \pm 0,01$	$0,68 \pm 0,09$
65	PE	$9,45 \pm 0,07$	$6,44 \pm 0,01$	$0,91 \pm 0,03$
66	BA	$10,58 \pm 0,11$	$6,10 \pm 0,03$	$0,99 \pm 0,01$
67	BA	$9,21 \pm 0,44$	$5,94 \pm 0,03$	$1,11 \pm 0,09$
68	RS	$5,44 \pm 0,16$	$5,59 \pm 0,01$	$0,85 \pm 0,10$
69	PE	$11,40 \pm 0,10$	$6,22 \pm 0,01$	$0,67 \pm 0,10$
70	PE	$9,18 \pm 0,20$	$6,19 \pm 0,22$	$0,61 \pm 0,01$
71	PE	$11,46 \pm 0,14$	$6,05 \pm 0,01$	$0,57 \pm 0,06$
72	PE	$9,88 \pm 0,62$	$5,72 \pm 0,03$	$0,44 \pm 0,03$
73	PE	$8,95 \pm 0,21$	$6,27 \pm 0,03$	$0,83 \pm 0,05$
74	PE	$10,30 \pm 0,15$	$6,25 \pm 0,02$	$0,61 \pm 0,08$
75	PE	$11,15 \pm 0,32$	$5,89 \pm 0,02$	$1,03 \pm 0,01$
76	PE	$10,38 \pm 0,16$	$4,88 \pm 0,03$	$0,58 \pm 0,01$
77	PR	$9,76 \pm 0,02$	$5,45 \pm 0,02$	$0,80 \pm 0,03$
78	PR	$6,24 \pm 0,08$	$5,67 \pm 0,03$	$0,68 \pm 0,16$
79	PE	$10,28 \pm 0,27$	$5,79 \pm 0,02$	$0,62 \pm 0,11$
80	MA	$9,90 \pm 0,12$	$6,06 \pm 0,02$	$0,71 \pm 0,12$
81	MA	$10,62 \pm 0,06$	$6,62 \pm 0,02$	$1,04 \pm 0,05$
82	MA	$11,51 \pm 0,46$	$5,83 \pm 0,03$	$0,70 \pm 0,04$
83	MA	$9,09 \pm 0,36$	$5,57 \pm 0,03$	$0,85 \pm 0,04$
84	MA	$8,58 \pm 0,01$	$5,80 \pm 0,02$	$0,83 \pm 0,16$

Apêndice

85	MA	$9,81 \pm 0,29$	$4,66 \pm 0,03$	$0,68 \pm 0,06$
86	MA	$11,32 \pm 0,06$	$5,09 \pm 0,03$	$1,07 \pm 0,10$
87	MA	$10,36 \pm 0,14$	$5,55 \pm 0,02$	$0,89 \pm 0,65$
88	DF	$7,21 \pm 0,09$	$5,31 \pm 0,02$	$0,58 \pm 0,05$
89	DF	$5,68 \pm 0,06$	$6,37 \pm 0,01$	$0,76 \pm 0,03$
90	PB	$4,80 \pm 0,09$	$6,12 \pm 0,01$	$0,28 \pm 0,09$
91	PB	$10,07 \pm 0,01$	$4,61 \pm 0,01$	$0,75 \pm 0,08$
92	PB	$11,59 \pm 0,06$	$6,31 \pm 0,04$	$1,07 \pm 0,01$
93	AL	$9,22 \pm 0,07$	$5,82 \pm 0,01$	$0,62 \pm 0,41$
94	PB	$7,08 \pm 0,08$	$6,10 \pm 0,01$	$0,61 \pm 0,09$
95	PB	$11,16 \pm 0,14$	$5,84 \pm 0,04$	$1,21 \pm 0,05$
96	PB	$8,59 \pm 0,83$	$6,00 \pm 0,01$	$1,09 \pm 0,04$
97	PA	$8,69 \pm 0,16$	$6,00 \pm 0,05$	$0,88 \pm 0,01$
98	PA	$9,69 \pm 0,01$	$6,07 \pm 0,03$	$1,01 \pm 0,02$
99	PA	$8,04 \pm 0,40$	$6,00 \pm 0,03$	$0,87 \pm 0,02$
100	PA	$10,59 \pm 0,01$	$5,88 \pm 0,07$	$0,85 \pm 0,04$
101	PA	$7,74 \pm 0,11$	$6,21 \pm 0,01$	$0,90 \pm 0,01$
102	SE	$5,10 \pm 0,13$	$6,10 \pm 0,02$	$0,92 \pm 0,03$
103	SE	$8,57 \pm 0,07$	$4,49 \pm 0,02$	$1,24 \pm 0,07$
104	SE	$8,73 \pm 0,07$	$4,88 \pm 0,01$	$1,15 \pm 0,08$
105	SE	$8,66 \pm 0,07$	$4,38 \pm 0,01$	$1,16 \pm 0,04$
106	SE	$8,70 \pm 0,08$	$4,35 \pm 0,02$	$1,17 \pm 0,06$

Apêndice

107	SE	$8,51 \pm 0,05$	$4,72 \pm 0,56$	$0,64 \pm 0,03$
-----	----	-----------------	-----------------	-----------------