

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA TERRA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



Programa de Pós-Graduação  
em Química



Ferramentas quimiométricas aplicadas à classificação de  
amostras de leite em pó e quantificação de proteínas

**Maria Raquel Cavalcanti Inácio**

---

Dissertação de Mestrado  
Natal/RN, fevereiro de 2010

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Maria Raquel Cavalcanti Inácio

**FERRAMENTAS QUIMIOMÉTRICAS APLICADAS A CLASSIFICAÇÃO DE  
AMOSTRAS DE LEITE EM PÓ E QUANTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, em cumprimento às exigências para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientadora: Dr<sup>a</sup>. Maria de Fátima Vitória de Moura

NATAL - RN

2010

Divisão de Serviços Técnicos

Catálogo da Publicação na Fonte. UFRN / Biblioteca Setorial de Química

Inácio, Maria Raquel Cavalcanti.

Ferramentas quimiométricas aplicadas à classificação de amostras de leite em pó e quantificação de proteínas / Maria Raquel Cavalcanti Inácio. Natal, RN, 2010. 119 f.

Orientadora: Maria de Fátima Vitória de Moura

Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Ciências Exatas e da Terra. Programa de Pós-Graduação em Química.

1. Leite em pó – Dissertação. 2. Infravermelho próximo – Dissertação. 3. SIMCA – Dissertação. 4. PLS – Dissertação. 5. PCR – Dissertação. I. Moura, Maria de Fátima Vitória de. II. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. III. Título.

RN/UFRN/BSE- Química

CDU 637.143

MARIA RAQUEL CAVALCANTI INÁCIO

FERRAMENTAS QUIMIOMÉTRICAS APLICADAS À CLASSIFICAÇÃO DE  
AMOSTRAS DE LEITE EM PÓ E QUANTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS

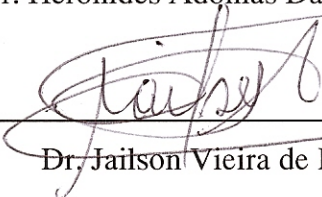
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, em cumprimento às exigências para obtenção do título de Mestre em Química.

Aprovada em: 24 de fevereiro de 2010.

Comissão Examinadora:



Dr. Heronides Adonias Dantas Filho – UFPA



Dr. Jailson Vieira de Melo – UFRN



Dr. Kássio Michell Gomes de Lima – UFRN (co-orientador)

Dedico

À minha mãe Maria Lêda, exemplo de força e garra diante da vida, responsável por quem sou hoje. Com admiração, gratidão e amor.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pelo dom da vida e sua presença constante ao meu lado. Por sua força e sabedoria para chegar até aqui.

A minha família, meu porto seguro. Sem ela eu nada faria, nada seria.

A minha orientadora, professora doutora Maria de Fátima pelo carinho e orientação.

Ao professor doutor Kássio Michell, pela orientação e apoio.

Aos meus amigos e amigas pelo carinho e apoio, em especial aos meus amigos químicos: Antônio Marcos, Carol, Jeanne, Patrícia e Rosi pela convivência e paciência.

Aos amigos do laboratório de química analítica, em especial Angela e Denise por todo apoio.

Ao Professor Célio Pasquini e aos demais professores e alunos do Grupo de Instrumentação e Automação - GIA/UNICAMP, pela acolhida durante o desenvolvimento da parte experimental, em especial as amigas Klécia Moraes e Lívia Paulia.

Aos professores e funcionários do departamento de química da UFRN.

A CAPES pela bolsa concedida e auxílio nas missões de estudo.

A todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho: **MUITO OBRIGADA!**

Resplandecente é a sabedoria e sua beleza é inalterável: os que a amam, descobrem-na facilmente, os que a procuram encontram-na. Ela antecipa-se aos que a desejam.

(Livro da Sabedoria, Capítulo 6, versículos 12 e 13 – Bíblia Sagrada)



## RESUMO

Neste trabalho foram utilizadas ferramentas quimiométricas para classificar e quantificar o teor de proteínas em amostras de leite em pó. Empregou-se a espectroscopia NIR com reflectância difusa associada a técnicas multivariadas. Primeiramente, realizou-se um método exploratório das amostras através da análise das componentes principais (PCA), em seguida a classificação de modelagem independente para analogia de classes (SIMCA). Dessa forma se tornou possível classificar as amostras que se agruparam por semelhanças em sua composição. Por fim, as técnicas de regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) e regressão por componentes principais (PCR) permitiram a quantificação do teor de proteínas nas amostras de leite em pó, comparadas com o método de referência Kjeldahl. Um total de 53 amostras de leite em pó comercializadas nas regiões metropolitanas de Natal, Salvador e Rio de Janeiro foram adquiridas para análise, em que após pré-tratamento dos dados obtidos, foram encontrados quatro modelos, os quais empregaram-se para a classificação e quantificação das amostras. Os métodos empregados após serem avaliados e validados apresentaram bom desempenho, demonstrando exatidão e confiabilidade nos resultados obtidos, mostrando que a técnica NIR pode ser uma técnica não invasiva, uma vez que não produz resíduos e ainda economiza tempo na análise das amostras.

**Palavras chave:** Leite em pó. Infravermelho próximo. SIMCA. PLS. PCR.

## ABSTRACT

In this work we used chemometric tools to classify and quantify the protein content in samples of milk powder. We applied the NIR diffuse reflectance spectroscopy combined with multivariate techniques. First, we carried out an exploratory method of samples by principal component analysis (PCA), then the classification of independent modeling of class analogy (SIMCA). Thus it became possible to classify the samples that were grouped by similarities in their composition. Finally, the techniques of partial least squares regression (PLS) and principal components regression (PCR) allowed the quantification of protein content in samples of milk powder, compared with the Kjeldahl reference method. A total of 53 samples of milk powder sold in the metropolitan areas of Natal, Salvador and Rio de Janeiro were acquired for analysis, in which after pre-treatment data, there were four models, which were employed for classification and quantification of samples. The methods employed after being assessed and validated showed good performance, good accuracy and reliability of the results, showing that the NIR technique can be a non invasive technique, since it produces no waste and saves time in analyzing the samples.

**Keywords:** Milk powder. Near infrared. SIMCA. PLS. PCR.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 2.1</b>	Espectro eletromagnético.....	<b>25</b>
<b>Figura 2.2</b>	Diagrama da energia potencial de oscilador: (1) harmônico e (2) anarmônico.....	<b>27</b>
<b>Figura 2.3</b>	Transições eletrônicas entre os níveis vibracionais.....	<b>27</b>
<b>Figura 2.4</b>	Reflectância difusa: (a) radiação incidente, (b) radiação refletida difusamente e (c) amostra sólida.....	<b>31</b>
<b>Figura 2.5</b>	Alisamento Savitzky-Golay: (a) para uma janela de 13 pontos e (b) para janelas com 0, 7, 13 e 25 pontos.....	<b>33</b>
<b>Figura 2.6</b>	Curvas gaussianas: (a) sem aplicação do MSC e (b) com aplicação do MSC.....	<b>34</b>
<b>Figura 2.7(a)</b>	Gráfico PCA.....	<b>37</b>
<b>Figura 2.7(b)</b>	Loadings ou cossenos dos ângulos do vetor direção.....	<b>38</b>
<b>Figura 2.7(c)</b>	Componente principal (PC) orientada no sentido de maior variabilidade dos dados, $t_1$ e $t_2$ são os scores ou projeções das amostras na direção da PC.....	<b>38</b>
<b>Figura 2.8</b>	Modelo SIMCA de classificação.....	<b>39</b>
<b>Figura 3.1</b>	Instrumentação: (a) Espectrofotômetro FT-NIR com acessório de reflectância difusa. (b) Destilador de Nitrogênio.....	<b>50</b>
<b>Figura 4.1</b>	Espectros de Reflectância Difusa Originais de amostras de cada uma das classes de leite em pó.....	<b>53</b>
<b>Figura 4.2</b>	Espectros Originais de Reflectância Difusa das 53 amostras de leite em pó.....	<b>54</b>
<b>Figura 4.2.1</b>	Espectros Originais de Reflectância Difusa das 53 amostras de leite em pó após os pré-tratamentos de alisamento e MSC.....	<b>55</b>
<b>Figura 4.2.2(a)</b>	Espectros de Reflectância Difusa Originais das 53 amostras de leite em pó, após a realização da 1ª Derivada, em janela de 15 pontos.....	<b>56</b>

<b>Figura 4.2.2(b)</b>	Espectros de Reflectância Difusa Originais das 53 amostras de leite em pó, após a realização da 1ª Derivada em janela de 21 pontos.....	<b>56</b>
<b>Figura 4.2.3(a)</b>	Espectros de Reflectância Difusa Originais das 53 amostras de leite em pó, após a realização da 2ª Derivada em janela de 15 pontos.....	<b>57</b>
<b>Figura 4.2.3(b)</b>	Espectros de Reflectância Difusa Originais das 53 amostras de leite em pó, após a realização da 2ª Derivada em janela de 31 pontos.....	<b>58</b>
<b>Figura 4.4.1</b>	Gráfico dos <i>scores</i> (PC1 X PC2) para as amostras de leite em pó, com 1ª derivada em janela de 15 pontos.....	<b>61</b>
<b>Figura 4.4.2</b>	Gráfico dos <i>loadings</i> para as amostras de leite em pó, com 1ª derivada em janela de 15 pontos.....	<b>62</b>
<b>Figura 4.4.3</b>	Gráfico da variância explicada para as amostras de leite em pó, com 1ª derivada em janela de 15 pontos.....	<b>63</b>
<b>Figura 4.4.4</b>	Gráfico dos <i>scores</i> (PC1 X PC2) para as amostras de leite em pó, com 1ª derivada em janela de 21 pontos.....	<b>64</b>
<b>Figura 4.4.5</b>	Gráfico dos <i>loadings</i> para as amostras de leite em pó, com 1ª derivada em janela de 21 pontos.....	<b>65</b>
<b>Figura 4.4.6</b>	Gráfico da variância explicada para as amostras de leite em pó, com 1ª derivada em janela de 21 pontos.....	<b>66</b>
<b>Figura 4.4.7</b>	Gráfico dos <i>scores</i> (PC1 X PC2) para as amostras de leite em pó, com 2ª derivada em janela de 15 pontos.....	<b>67</b>
<b>Figura 4.4.8</b>	Gráfico dos <i>loadings</i> para as amostras de leite em pó, com 2ª derivada em janela de 15 pontos.....	<b>68</b>
<b>Figura 4.4.9</b>	Gráfico da variância explicada para as amostras de leite em pó, com 2ª derivada em janela de 15 pontos.....	<b>69</b>
<b>Figura 4.4.10</b>	Gráfico dos <i>scores</i> (PC1 X PC2) para as amostras de leite em pó, com 2ª derivada em janela de 31 pontos.....	<b>70</b>
<b>Figura 4.4.11</b>	Gráfico dos <i>loadings</i> para as amostras de leite em pó, com 2ª derivada em janela de 31 pontos.....	<b>71</b>
<b>Figura 4.4.12</b>	Gráfico da variância explicada para as amostras de leite em pó, com 2ª derivada em janela de 31 pontos.....	<b>72</b>

<b>Figura 4.5</b>	Gráfico da variância para as amostras de leite em pó, com 1 <sup>a</sup> derivada em janela de 15 pontos.....	<b>76</b>
<b>Figura 4.6</b>	Gráfico de Calibração para as amostras de leite em pó, com 1 <sup>a</sup> derivada em janela de 15 pontos.....	<b>77</b>
<b>Figura 4.7</b>	Gráfico de previsão para as amostras de leite em pó, com 1 <sup>a</sup> derivada em janela de 15 pontos.....	<b>78</b>
<b>Figura 4.8</b>	Gráfico da variância para as amostras de leite em pó, com 1 <sup>a</sup> derivada em janela de 21 pontos.....	<b>79</b>
<b>Figura 4.9</b>	Gráfico de Calibração para as amostras de leite em pó, com 1 <sup>a</sup> derivada em janela de 21 pontos.....	<b>80</b>
<b>Figura 4.10</b>	Gráfico de previsão para as amostras de leite em pó, com 1 <sup>a</sup> derivada em janela de 21 pontos.....	<b>81</b>
<b>Figura 4.11</b>	Gráfico da variância para as amostras de leite em pó, com 2 <sup>a</sup> derivada em janela de 15 pontos.....	<b>82</b>
<b>Figura 4.12</b>	Gráfico de Calibração para as amostras de leite em pó, com 2 <sup>a</sup> derivada em janela de 15 pontos.....	<b>83</b>
<b>Figura 4.13</b>	Gráfico de previsão para as amostras de leite em pó, com 2 <sup>a</sup> derivada em janela de 15 pontos.....	<b>84</b>
<b>Figura 4.14</b>	Gráfico da variância para as amostras de leite em pó, com 2 <sup>a</sup> derivada em janela de 31 pontos.....	<b>85</b>
<b>Figura 4.15</b>	Gráfico de Calibração para as amostras de leite em pó, com 2 <sup>a</sup> derivada em janela de 31 pontos.....	<b>86</b>
<b>Figura 4.16</b>	Gráfico de previsão para as amostras de leite em pó, com 2 <sup>a</sup> derivada em janela de 31 pontos.....	<b>87</b>
<b>Figura 4.17</b>	Gráfico da variância para as amostras de leite em pó, com 1 <sup>a</sup> derivada em janela de 15 pontos.....	<b>89</b>
<b>Figura 4.18</b>	Gráfico de Calibração para as amostras de leite em pó, com 1 <sup>a</sup> derivada em janela de 15 pontos.....	<b>90</b>
<b>Figura 4.19</b>	Gráfico da previsão para as amostras de leite em pó, com 1 <sup>a</sup> derivada em janela de 15 pontos.....	<b>91</b>
<b>Figura 4.20</b>	Gráfico da variância para as amostras de leite em pó, com 1 <sup>a</sup> derivada em janela de 21 pontos.....	<b>92</b>

<b>Figura 4.21</b>	Gráfico de Calibração para as amostras de leite em pó, com 1 <sup>a</sup> derivada em janela de 21 pontos.....	<b>92</b>
<b>Figura 4.22</b>	Gráfico da previsão para as amostras de leite em pó, com 1 <sup>a</sup> derivada em janela de 21 pontos.....	<b>93</b>
<b>Figura 4.23</b>	Gráfico da variância para as amostras de leite em pó, com 2 <sup>a</sup> derivada em janela de 15 pontos.....	<b>94</b>
<b>Figura 4.24</b>	Gráfico de Calibração para as amostras de leite em pó, com 2 <sup>a</sup> derivada em janela de 15 pontos.....	<b>95</b>
<b>Figura 4.25</b>	Gráfico da previsão para as amostras de leite em pó, com 2 <sup>a</sup> derivada em janela de 15 pontos.....	<b>96</b>
<b>Figura 4.26</b>	Gráfico da variância para as amostras de leite em pó, com 2 <sup>a</sup> derivada em janela de 31 pontos.....	<b>97</b>
<b>Figura 4.27</b>	Gráfico de Calibração para as amostras de leite em pó, com 2 <sup>a</sup> derivada em janela de 31 pontos.....	<b>98</b>
<b>Figura 4.28</b>	Gráfico da previsão para as amostras de leite em pó, com 2 <sup>a</sup> derivada em janela de 31 pontos.....	<b>99</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 4.1</b>	Região espectral e transições eletrônicas no NIR.....	<b>52</b>
<b>Tabela 4.3</b>	Estudo da repetibilidade dos espectros.....	<b>59</b>
<b>Tabela 4.4.1</b>	PCA Variância explicada.....	<b>73</b>
<b>Tabela 4.4.2</b>	Resultados da classificação de amostras de leite em pó por SIMCA.....	<b>74</b>
<b>Tabela 4.5</b>	Resultados das modelagens para os dados obtidos em PCR.....	<b>87</b>
<b>Tabela 4.6</b>	Resultados das Modelagens para os dados obtidos em PLS.....	<b>100</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

- ANVISA** - Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- ATR** - Attenuated Total Reflection - Reflexão Total Atenuada
- DRIFTS** – Diffuse Reflectance Fourier Transform - Reflexão Difusa com Transformada de Fourier
- GIA** - Grupo de Instrumentação e Automação
- IBGE** – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
- MID** – Mid Infrared – Infravermelho Médio
- MLR** – Multiple Linear Regression- regressão linear múltipla
- MSC** – Multiplicative Scatter Correction – correção do espalhamento multiplicativo de luz
- NIR** – Near Infrared - Infravermelho Próximo
- PC** - Principal Component - componente principal
- PCA** - Principal Component Analysis - análise de componentes principais
- PCR** - Principal Component Regression - regressão por componentes principais
- PLS** – Partial LeastSquares - regressão por mínimos quadrados parciais
- PRESS** - Prediction Residual Error Sum of Squares – erro residual predito
- RIISPOA** – Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal
- RMSEC** – Root Mean Square Error of Cross- validation – erro de calibração
- RMSEP** - Root Mean Square Error of Prediction – erro de previsão
- SEC** - Standard Error of Calibration - erro padrão de calibração
- SEP** - Standard Errors of Prediction -erro padrão de previsão
- SG** - Savizty-Golay -alisamento
- SIMCA** - Soft Independent Modeling of ClassAnalogy - Modelagem Independente para Analogia de Classes
- SVD** - Singular Value Decomposition- Decomposição de Valores Singulares
- UFRN** – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
- UNICAMP** - Universidade Estadual de Campinas
- UV-VIS** – Ultravioleta Visível
- VL** - Variáveis Latentes



## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	16
1.1	<b>OBJETIVOS</b> .....	17
1.1.1	<b>Objetivo Geral</b> .....	17
1.1.2	<b>Objetivos Específicos</b> .....	17
2	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	18
2.1	<b>LEITE: Características e Processamento</b> .....	18
2.1.1	<b>Aspectos Históricos</b> .....	18
2.1.2	<b>Economia</b> .....	19
2.1.3	<b>Processamento: Industrialização</b> .....	20
2.1.4	<b>Composição Química do leite</b> .....	20
2.1.5	<b>Classificação e Normas de Qualidade</b> .....	21
2.2	<b>ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (NIR)</b> .....	22
2.2.1	<b>Origem da Espectroscopia na Região do Infravermelho Próximo</b> .....	22
2.2.2	<b>Espectroscopia NIR no Brasil aplicada à análise de leite em pó</b> .....	24
2.2.3	<b>A Técnica NIR</b> .....	25
2.2.4	<b>Instrumentação NIR</b> .....	28
2.2.5	<b>Reflectância Difusa</b> .....	29
2.3	<b>ANÁLISE MULTIVARIADA</b> .....	31
2.3.1	<b>Quimiometria</b> .....	31
2.3.2	<b>Pré-tratamento de dados</b> .....	32
2.3.3	<b>Alisamento Savitzky-Golay (SG)</b> .....	32
2.3.4	<b>Correção de Espalhamento Multiplicativo de luz (MSC)</b> .....	33
2.3.5	<b>Centrar na média</b> .....	35
2.3.6	<b>Cálculo das derivadas</b> .....	35
2.4	<b>TÉCNICAS MULTIVARIADAS</b> .....	36
2.4.1	<b>Análise por Componentes Principais (PCA)</b> .....	37
2.4.2	<b>Modelagem Independente para Analogia de Classes (SIMCA)</b> .....	39
2.4.3	<b>Regressão por Componentes Principais (PCR)</b> .....	41
2.4.4	<b>Regressão por mínimos quadrados parciais (PLS)</b> .....	42
2.5	<b>MÉTODO CLÁSSICO PARA DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS: KJELDAHL</b>	45
3	<b>PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	48
3.1	<b>REAGENTES E SOLUÇÕES</b> .....	48

3.2	AMOSTRAS.....	48
3.3	MÉTODO DE REFERENCIA: KJELDAHL.....	48
3.4	INSTRUMENTAÇÃO.....	49
3.5	MÉTODO ESPECTROSCÓPICO.....	50
3.5.1	<b>Obtenção dos espectros.....</b>	50
3.6	ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA.....	51
4	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	52
4.1	ATRIBUIÇÃO DE BANDAS NO NIR.....	52
4.2	PRÉ – TRATAMENTOS.....	54
4.2.1	<b>Espectros com alisamento Savitzky-Golay (SG) e correção de do espalhamento multiplicativo de luz (MSC).....</b>	54
4.2.2	<b>Espectros com aplicação da 1ª derivada (Savitzky-Golay).....</b>	55
4.2.3	<b>Espectros com aplicação da 2ª derivada (Savitzky-Golay).....</b>	57
4.3	REPETIBILIDADE DOS ESPECTROS DE REFLECTÂNCIA.....	58
4.4	MODELAGEM DE CLASSIFICAÇÃO.....	60
4.4.1	<b>Classificação por Análise de Componentes Principais (PCA).....</b>	60
4.4.2	<b>Programa de Modelagem Independente para Analogia de Classes (SIMCA).....</b>	73
4.5	REGRESSÃO POR COMPONENTES PRINCIPAIS (PCR).....	75
4.6	REGRESSÃO POR MÍNIMOS QUADRADOS PARCIAS (PLS).....	88
5	<b>CONCLUSÃO.....</b>	101
6	<b>PERSPECTIVAS.....</b>	103
7	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	104
	<b>APÊNDICE A-</b> Correlação entre os teores de proteínas medidos através do método de referencia (Kjeldahl) e preditos em NIR – Valores para PCR.....	116
	<b>APÊNDICE B-</b> Correlação entre os teores de proteínas medidos através do método de referencia (Kjeldahl) e preditos em NIR – Valores para PLS.....	118

## 1 INTRODUÇÃO

O método de Kjeldahl é empregado há muitas décadas na determinação do teor de proteína em diferentes amostras, inclusive em matrizes lácteas, como o leite em pó. Este procedimento é bastante demorado e tedioso devido a várias etapas de análise: digestão, destilação e titulação. Neste método a matéria orgânica é decomposta e o nitrogênio existente é transformado em amônia, e se introduz o fator de conversão para transformar o número de gramas de nitrogênio encontrado em número de gramas de proteína. No entanto, a espectroscopia NIR (do inglês “Near Infrared Spectroscopy”) com reflectância difusa, é utilizada na determinação direta de uma grande quantidade de amostras, com economia de reagentes e de tempo, além da vantagem de ser não destrutiva. É uma técnica que apresenta resultados rápidos para análises de grãos e amostras em pó (MIYAMAE et al, 2007, p.213; SORENSEN, 2009, p.2275).

A espectroscopia NIR tem sido freqüentemente aplicada em determinações de moléculas orgânicas como proteína, gordura, sendo um método analítico que apresenta resultados satisfatórios para essas determinações. Diversas aplicações têm sido realizadas nas indústrias de petróleo, têxtil, carvão, cosméticos, polímeros, química, tintas, farmacêuticas, sendo também aplicada na restauração de imagens decorativas de pinturas históricas (ILARI et al, 1988, p.722). A espectroscopia NIR também já foi aplicada em leite para determinação de caseína, proteína e lactose, bem como para classificação de leite e em casos de adulteração com gordura, e com soro em leite em pó desnatado (SORENSEN et al, 2003, p.213; SASIC et al, 2002, p.267), porém os autores destes trabalhos não utilizaram respectivamente as técnicas de classificação e regressão para determinação de proteínas, como realizado neste estudo.

A complexidade dos espectros de reflectância difusa em NIR, sua classificação e quantificação requerem o emprego de ferramentas quimiométricas, que desenvolvem modelos matemáticos a partir dos sinais instrumentais, sendo a regressão por mínimos quadrados parciais PLS (do inglês “partial least squares”), regressão por componentes principais PCR (do inglês “principal component regression”), a classificação por análise de componentes principais PCA (do inglês “principal component analysis”) e o programa de modelagem independente para analogia de classes SIMCA (do inglês “soft independent modeling of class analogy”) os modelos mais empregados e que foram utilizados neste trabalho para a classificação e quantificação dos teores de proteínas em amostras de leite em pó.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.2 Geral:

Aplicar a técnica da espectroscopia na região do infravermelho próximo com reflectância difusa para a classificação e quantificação do teor de proteínas em amostras de leite em pó de diferentes marcas comerciais.

### 1.1.3 Específicos:

Propor rotinas de análise dos teores de proteína em amostras de leite em pó, empregando espectroscopia na região do infravermelho próximo;

Avaliar a técnica NIR quanto a sua capacidade de diferenciar amostras de leite em pó (integral, desnatado, semidesnatado, nestogeno, soja e soro de leite);

Construir um modelo quantitativo para a determinação do teor de proteína em amostras de leite em pó.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 LEITE: características e processamento

#### 2.1.1 Aspectos Históricos

Entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas. O leite de outros animais deve denominar-se segundo a espécie de que proceda (ZENEBO et al 2008, p.825; RIISPOA, art. 475).

É de 1784 a recomendação primeira, atribuída ao médico inglês Underwood, para o uso do leite de vaca como alternativa ao leite humano (REA, 1990, p.241). A descoberta, em 1838, na Alemanha, de que o leite de vaca tem mais proteína do que o leite materno pode ser considerado o marco referencial para todo um discurso de favorecimento do uso do leite de vaca, que passou a prevalecer em toda a história pró-proteína da nutrição no final do século XIX aos dias de hoje (REA, 1990, p.241).

No Brasil esse produto, hoje tão popular na mesa dos brasileiros, ficou conhecido após 1500 durante o processo de colonização. Martim Afonso de Souza foi o responsável por trazer as primeiras cabeças de gado ao Brasil, que foram deixadas em São Vicente, litoral de São Paulo em 1532. No entanto, as primeiras referências ao leite bovino no Brasil só foram feitas 20 anos depois, em 1552, por meio de cartas escritas pelo padre Manoel da Nóbrega a seus superiores em Portugal. Naquelas correspondências, consideradas fontes das mais importantes para conhecer a história do leite no Brasil, ele conta como usava o produto, que era extraído de 12 vacas, para atrair alguns índiozinhos que queria catequizar. Mas se hoje o leite é muito popular por aqui, onde também é consumido por crianças e adultos em forma de queijos, iogurtes, requeijões, manteigas, entre outros, as coisas nem sempre foram assim. Foram necessários, segundo pesquisas, cerca de 300 anos para o produto cair no gosto do povo, pois existia um preconceito terrível contra o consumo de leite no Brasil, provocado por fatores diversos, e isso só começou a acabar em 1808, com a chegada da família real ao Rio de Janeiro, que fazia questão de queijo e manteiga nas refeições (DIAS, 2006. p. 25-26).

### 2.1.2 Economia

O leite está entre os seis produtos mais importantes da agropecuária brasileira, ficando à frente de produtos tradicionais como café beneficiado e arroz. O Agronegócio do Leite e seus derivados desempenham um papel relevante no suprimento de alimentos e na geração de emprego e renda para a população. A cadeia produtiva do leite é uma das mais importantes do complexo agroindustrial brasileiro movimentando anualmente cerca de US\$10 bilhões, empregando 3 milhões de pessoas, das quais acima de 1 milhão são produtores, e produzindo aproximadamente 20 bilhões de litros de leite por ano, provenientes de um dos maiores rebanhos do mundo, com grande potencial para abastecer o mercado interno e exportar (IBGE; ABPL; FAO, 2009).

Pesquisa divulgada recentemente pelo IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) revela que, no ano de 2008, foram produzidos 27,579 bilhões de litros de leite, com aumento de 5,5% ante o ano anterior. Em termos mundiais, o Brasil é o quarto maior produtor, ficando atrás da Índia, China e Rússia. De acordo com a pesquisa, a região Sul do Brasil teve aumento de produção de 10,1% ante o ano anterior, alavancado pelos incrementos em Santa Catarina (14%) e no Rio Grande do Sul (12,6%). O Centro-Oeste teve aumento de 6,5%, tendo o principal incremento ocorrido em Goiás (8,9%). A principal variação positiva geral ocorreu no Amazonas (101,9%), enquanto a principal queda ocorreu no Distrito Federal (-18,6%). Os principais municípios produtores de leite são Castro (PR), Patos de Minas (MG) e Piracanjuba (GO). De acordo com o IBGE, a aquisição de leite no ano de 2008, apurada pela Pesquisa Trimestral do Leite, foi de 19,238 bilhões de litros, com alta de 7,5% em relação ao ano de 2007. Em termos regionais, o Sudeste é a principal região em produção de leite onde cerca de 42,4% de todo o leite nacional vem desta região. Em seguida vem o Sul, que concentra 30,3% das compras do produto. Minas Gerais, por sua vez, é o principal Estado em aquisição de leite, 27,5% do total, segundo o documento de divulgação da pesquisa. No ano de 2008 os investimentos no Brasil foram maciçamente voltados à produção de leite em pó, em função dos altos preços no mercado mundial e na expansão das exportações, com construção de torres de secagem e ampliação de unidades processadoras. Atualmente, a capacidade instalada para fabricação de leite em pó é de aproximadamente 500 mil toneladas anuais, e o Brasil exporta o equivalente a 75 mil toneladas (OLIVEIRA, 2009).

### 2.1.3 Processamento: industrialização

A industrialização do leite pode ser considerada como o processo de torná-lo livre de contaminações, através da eliminação de impurezas por peneiramento e filtração, e pela eliminação de microorganismos patogênicos através do tratamento térmico, proporcionando assim, condições para o consumo e obtenção de produtos derivados do leite. Para se obter produto de boa qualidade, é fundamental que a matéria prima também seja de boa qualidade. Por isso, é necessário que o leite receba, logo após a ordenha, cuidados especiais, para que chegue a indústria dentro dos padrões necessários à sua industrialização.

O leite em pó é obtido pela desidratação do leite, que pode ser integral, semidesnatado ou desnatado. A água que é o maior componente existente no leite *in natura*, com aproximadamente 90 %, é eliminada através de um processo que envolve operações unitárias, evaporação e secagem por pulverização, restando o extrato seco do leite e uma pequena quantidade de água, cerca de 2,5 a 4,0 %. O leite em pó é uma forma moderna de consumo de leite que, desidratado, tem sua longevidade estendida. As fases de fabricação do leite em pó são: Resfriamento e estocagem; Padronização e pasteurização; Mistura de ingredientes; concentração; secagem; separação ar/pó; instantaneização e por fim o envase (ITAMBÉ, 2009).

Existe também o leite de soja que é uma bebida produzida a partir do feijão de soja, onde os grãos de soja são triturados, a massa formada é cozida e o filtrado obtido é o leite de soja. Existe já empacotado, podendo ser consumido puro ou de forma aromatizada (ANGELIS, 2001, p.270). Já o soro de leite é o líquido obtido a partir da coagulação do leite destinado à fabricação de queijos, caseína ou produtos lácteos similares (ANVISA RDC nº 348/2003).

### 2.1.4 Composição Química do leite

O leite em pó é um alimento complexo que apresenta um alto valor nutritivo, sendo composto por: água, carboidratos (basicamente lactose), gorduras, proteínas (principalmente caseína), minerais e vitaminas em diferentes estados de dispersão (FRANCO, 2007, p.132).

Apesar de ser considerado um alimento completo, o leite não possui quantidade suficiente de ferro e vitamina D para atender as exigências de uma nutrição completa (GUIMARÃES, 2007,; TORRES et al, 2000, p.146). O leite de soja não contém colesterol e tem menos gordura que o leite de vaca. Apresenta um baixo teor de açúcares, não possui lactose (o açúcar natural do leite), e é rico em fitoquímicos, em especial as isoflavonas (ANGELIS, 2001, p.270). O soro de leite é composto por proteínas, gorduras e açúcar (RIEDEL, 2005, p.262).

As proteínas são elementos estruturais imprescindíveis a todas as células, tendo um elevado peso molecular, produzindo aminoácidos por hidrólise. Na ausência de carboidratos e gorduras, as proteínas agem como elementos energéticos, porém de baixo rendimento. As proteínas são compostas por vinte aminoácidos, dos quais oito não são sintetizados pelo organismo humano, sendo chamados de “essenciais”. Quanto mais aminoácidos essenciais a proteína possuir, mais nobre será o alimento. Dessa forma os produtos de origem animal são considerados os mais nobres (RIEDEL, 2005, p.3).

As proteínas são os componentes mais importantes do leite e são classificadas em: Caseínas (mínimo de 3,0 %) e Albuminas (mínimo de 0,6 %). A Caseína forma uma solução coloidal e constitui a maior parte da matéria nitrogenada do leite. A Albumina é a película que se forma no leite logo após o seu cozimento. A importância industrial da caseína está na: fabricação de queijos e leite em pó associado a outros componentes do leite e a Albumina é utilizada na fabricação do queijo ricota, por meio de acidificação e aquecimento (GUIMARÃES, 2007).

### **2.1.5 Classificação e Normas de Qualidade**

A qualidade do leite em pó é regimentada pelo regulamento técnico de identidade e qualidade de leite em pó e as fraudes mais frequentes são: adição de soro de leite, maltose, sacarose, amido e soda cáustica. A fraude mais comum praticada no Brasil é a adição de soro de leite, que é mais barato que o leite cerca de 90 % (FERRÃO et al 2007, p.855).

De acordo com os Artigos 665 e 666 do RIISPOA (Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal) entende-se por leite em pó o produto obtido por desidratação do leite de vaca integral, desnatado ou parcialmente desnatado e apto para alimentação humana, mediante processos tecnologicamente adequados e, quando



necessário, será permitida a adição de estabilizador de caseína e ainda, da lecitina, para elaboração de leite instantâneo. De acordo com o artigo 668 quanto ao teor de gordura, fica estabelecida a seguinte classificação do leite em pó: leite em pó integral, o que apresentar no mínimo 26% (vinte e seis por cento); leite em pó parcialmente desnatado, o que apresentar entre 1,5% (um e cinco décimo por cento) e 25,9% (vinte e cinco e nove décimos por cento); leite em pó desnatado, o que apresentar menos que 1,5% (um e cinco décimos por cento). O leite em pó deverá conter somente as proteínas, açúcares, gorduras e outras substâncias minerais do leite e nas mesmas proporções relativas, salvo quando ocorrer modificações originais por um processo tecnologicamente adequado (RIISPOA, art.475).

Segundo o artigo 694 do RIISPOA entende-se como "soro de leite" o líquido residual obtido a partir da coagulação do leite, destinado à fabricação de queijos e caseína. Os ingredientes lácteos devem representar cerca de 51 % massa/massa (m/m) do total de ingredientes obrigatórios ou matéria prima do produto, devendo apresentar 9g / 100 g de proteína Láctea (RIISPOA, art.475). Segundo a RDC (Resolução de Diretoria Colegiada) nº 268 de 2005, os produtos proteicos de origem vegetal são os alimentos obtidos a partir de partes protéicas de espécies vegetais, podendo se apresentar em grânulos, pó, líquido ou outras formas. Já a RDC nº 91 de 2000, diz que alimento com soja, assim como o leite de soja é o produto cuja principal fonte de proteínas é proveniente da soja, classificando-se como um produto pronto para o consumo e que necessita de preparo para ser consumido e a qualidade da proteína de soja presente no produto, não deve ser inferior a 70% da qualidade da caseína (ANVISA, 2000, RDC 91).

## 2.2 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (NIR)

### 2.2.1 Origem da Espectroscopia na Região do Infravermelho Próximo

Na literatura data de 1800 os primeiros documentos sobre a descoberta da região do Infravermelho Próximo (NIR), antes mesmo da descoberta da região do Infravermelho Médio (MID). Porém, apenas em 1950 estudos começaram a ser realizados e divulgados por

espectroscopistas que se interessaram a verificar essa região do espectro (BURNS et al,2001, p. 4).

Em 1990, foram introduzidas as potencialidades da região do infravermelho médio e as técnicas de reflexão: reflexão total atenuada (ATR), detecção fotoacústica e reflexão difusa com transformada de Fourier (DRIFTS), para análise de alimentos e sua utilização no controle industrial (WILSON, et al 1999, p.86 citado por FERRÃO et al 2004, p.333). Em 1991, foram reveladas as vantagens do emprego da espectroscopia por reflexão total atenuada (ATR) na análise quantitativa de leite. No ano seguinte foram descritas as principais aplicações da espectroscopia ATR na análise de leite, carne, óleos, gorduras, manteiga, margarina, leite condensado e frutas, onde foram avaliados tanto aspectos quantitativos quanto qualitativos, como a certificação da qualidade. Atualmente a espectroscopia por reflexão difusa no infravermelho com transformada de Fourier, tem sido empregada com o objetivo de discriminar vários ingredientes alimentares (REEVES III et al 1998, p.3617; FERRÃO et al 2004, p.334).

O uso da espectroscopia na região do infravermelho próximo começou a ser realizado desde a década de sessenta quando Norris et al, apresentaram um método para determinar umidade em sementes baseada na análise espectrofotométrica no infravermelho próximo (WILLIAMS et al 1985, p.239). Em 1963, Hoffman apontou as vantagens da espectroscopia na região do Infravermelho Próximo com Reflectância Difusa para a determinação do teor de umidade em sólidos. Ele apresentou a relação da reflectância para o teor de umidade em várias amostras sólidas incluindo farinha e amido. Ben-Gera e Norris apresentaram o efeito da concentração de gordura no leite sobre o espectro de absorção na região do NIR (WATSON, 1977, p.835 A).

A espectroscopia NIR tem sido frequentemente aplicada em determinações de moléculas orgânicas como proteína e gordura, sendo um método analítico que apresenta resultados satisfatórios para essas determinações. Aplicações têm sido realizadas nas indústrias de petróleo, têxtil, carvão, cosméticos, polímeros, química, tintas, farmacêuticas, sendo aplicada também na restauração de imagens decorativas de pinturas históricas (ILARI, 1998, p.724; RUFINO 2004, p.21).

Com a chegada de computadores e o surgimento de instrumentos modernos, a Espectroscopia na região do Infravermelho Próximo se tornou uma técnica eficiente e fascinante no campo da química analítica. Isto contribuiu para o aumento do número de trabalhos realizados nesta área (NETO et al, 2006, p.1401; FERRÃO et al, 2007, p.852).

Inicialmente a aplicação da região do infravermelho próximo na análise de alimentos foi restrita ao emprego da reflexão difusa sendo amplamente empregada na análise de grãos, farinhas e produtos industrializados, tendo destaque o emprego da espectroscopia NIR na determinação de proteína em substituição ao método Kjeldahl, que, apesar de ser bastante preciso apresenta procedimento lento, além de gerar uma grande quantidade de resíduos danosos ao meio ambiente (NETO et al, 2006, p.1403; FERRÃO et al, 2007, p.854).

Entre os anos de 1950 e 1980, relatou-se os primeiros estudos sobre a descoberta e tecnologia NIR, onde sua teoria vibracional, técnicas e instrumentos espectroscópicos (características e vantagens) e suas aplicações foram enfocadas. Nesta época também, surgiram as primeiras análises qualitativas e quantitativas em produtos agrícolas e farmacêuticos utilizando reflectância difusa (BURNS, 2001, p.27).

A partir de 1985 houve destaque para o desenvolvimento da tecnologia instrumental com a construção de equipamentos cada vez mais modernos, acompanhados de softwares próprios para o seu manuseio (NETO et al, 2006, p.1403). E com isso artigos enfatizando a técnica NIR junto à quimiometria foram publicados, e dessa forma houve a necessidade da construção de pacotes computacionais sofisticados, de fácil operação, que auxiliassem no tratamento dos dados multivariados (FERRÃO et al, 2007, p.853). A literatura tem trazido recentemente artigos que abordam a técnica NIR em sua origem, seus fundamentos, aspectos teóricos e aplicações analíticas e a importância desta técnica quando associada com técnicas quimiométricas.

### **2.2.2 Espectroscopia NIR no Brasil aplicada à análise de leite em pó**

O Brasil vem desenvolvendo pesquisas que crescem continuamente, o que resulta em um considerável aumento da produção científica do país. Atualmente o Brasil possui duas importantes áreas em estudos: a agricultura e a petroquímica. Na agricultura destacam-se alguns trabalhos como: quantificação de cinzas e proteínas em farinha de trigo (FERRÃO, 2004, p.335), determinação de proteína bruta e aminoácidos em farelo de soja (SIMAS, 2005, p.45), quantificação de adulterantes em leite em pó (FERRÃO, 2007, p.855), entre outros. E na petroquímica tem-se a determinação dos parâmetros de qualidade de combustíveis, entre

outros. Há também contribuições na área farmacêutica através da identificação de medicamentos falsificados (SCAFI et al 2001, p.2219).

Referências internacionais podem também ser citadas: determinação de gordura, lactose e proteína em leite (WOO et al, 2002, p.600), detecção de proteínas vegetais isoladas de soja, ervilha e trigo em leite em pó (MARABOLI et al, 2002, p.64), determinação de proteína total em amostras de leite em pó (KAMIZAKE et al, 2003, p.509), estudo sobre a técnica de espectroscopia no infravermelho para a medição rápida do teor de proteína no leite em pó com base no LS-SVM (WU et al, 2008, p.126) entre outros.

### 2.2.3 A Técnica NIR

A espectroscopia na região do infravermelho próximo é uma técnica poderosa bastante utilizada na determinação de compostos químicos, sendo sua larga faixa espectral dividida em: radiação do Infravermelho Próximo (780 a 2500 nm), Médio (2500 a  $5 \times 10^4$  nm) e Distante ( $5 \times 10^4$  a  $1,0 \times 10^6$  nm) (BURNS et al 2001, p.302; SKOOG, 2006, p.674). O que pode ser observado na Figura 2.1.

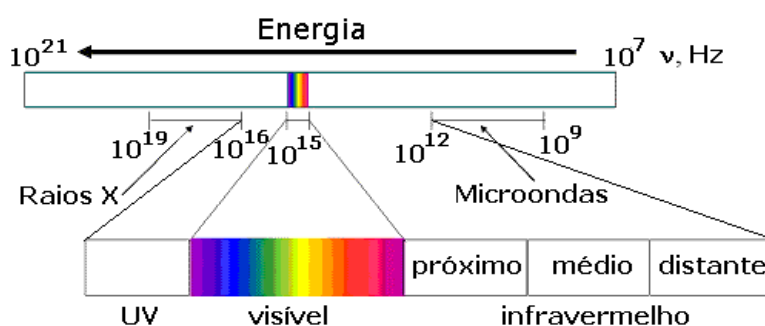


FIGURA 2.1 – Espectro eletromagnético (Fonte: SKOOG, 2006, p. 674).

A espectroscopia do infravermelho próximo é aplicada em determinação qualitativa e quantitativa de espécies moleculares de todos os tipos, as quais são representadas através de espectros de absorção, reflexão ou emissão, onde os métodos espectroscópicos utilizados são baseados na interação da energia radiante com a matéria e fornecem diferentes tipos de informações, dependendo da região espectral em que ocorrem (MCCLURE, 2003, p.489). Nesta região as moléculas experimentam transições vibracionais e rotacionais podendo passar

diretamente de um determinado nível energético para dois ou mais níveis de maior energia. As bandas de absorção mais proeminentes que ocorrem na região do infravermelho próximo estão relacionadas a sobretons e combinações de vibrações fundamentais de grupos funcionais –CH, –NH, –OH e –SH (PASQUINI, 2003, p.203).

Assumindo o modelo do oscilador harmônico, Figura 2.2, a mecânica quântica prevê separações iguais entre os níveis vibracionais e assim impõe a regra de seleção  $\Delta v = \pm 1$ . Já em oscilações anarmônicas, a separação entre os níveis não é igualmente espaçada diminuindo para energias mais altas. Assim, a regra de seleção  $\Delta v = \pm 1$  é relaxada e transições com  $\Delta v = \pm 2$  ou  $\Delta v = \pm 3$  dão origem aos sobretons, que são as transições observadas no NIR. As bandas de combinação aparecem entre 1900 e 2500 nm e são resultantes de interferências construtivas de frequências, isto é, suas frequências são a soma dos múltiplos da cada frequência de interação (SKOOG et al, 2006, p.684). A frequência de vibração depende da força da ligação e da massa dos átomos, estando em acordo com a Lei de Hooke sendo representada em número de onda pelas equações 2.1 e 2.2:

$$E_p = \frac{1}{2} K(r - r_e)^2 = \frac{1}{2} K x^2 \quad (2.1)$$

$$\nu = 1/2\pi * (K/\mu)^{1/2} \quad (2.2)$$

onde,  $E_p$  = energia potencial;

$K$  = constante de força da ligação;

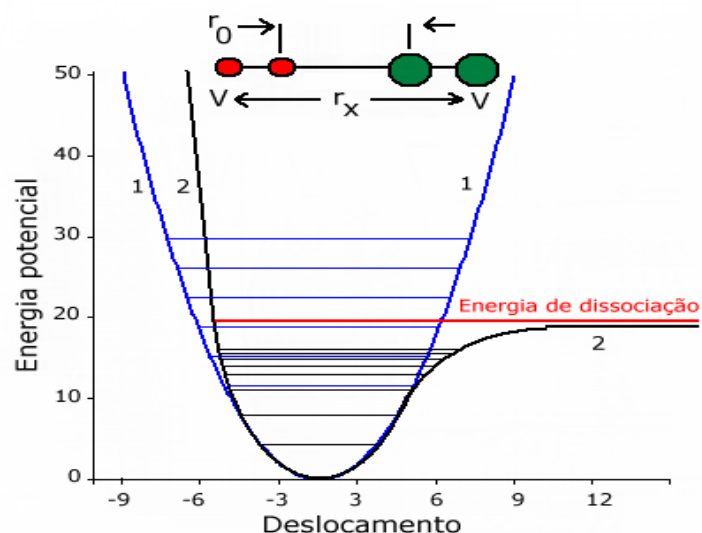
$r$  = distância internuclear;

$r_e$  = distância internuclear de equilíbrio;

$x$  = deslocamento;

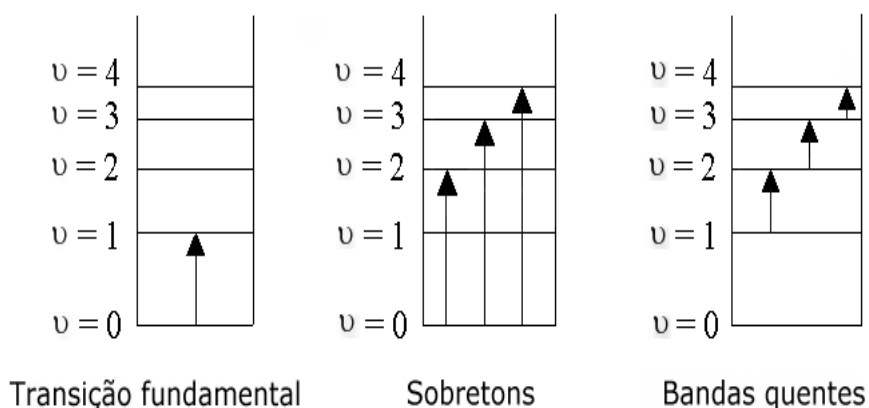
$\nu$  = número de onda; e

$\mu$  = massa reduzida ( $\mu = m_1 m_2 / m_1 + m_2$ )



**FIGURA 2.2** – Diagrama da energia potencial de oscilador: (1) harmônico e (2) anarmônico.  
(Fonte: SKOOG et al, 2006, p.686)

Como os níveis de energia quantizados não são igualmente distanciados por não se comportarem como previsto para um oscilador harmônico, as moléculas desviam da idealidade comportando-se como um oscilador anarmônico. Isto porque bandas de transição “hot bands” (bandas quentes), originárias de níveis vibracionais excitados ( $v \neq 0$ ), não possuem a mesma frequência da banda fundamental. A Figura 2.3 mostra os três tipos de transições eletrônicas ocorridos nos níveis energéticos (SKOOG et al, 2006, p.69)



**FIGURA 2.3** – Transições eletrônicas entre os níveis vibracionais. (Fonte: SKOOG et al, 2006, p.687)

As bandas de absorção NIR são largas, sobrepostas e de 10 a 100 vezes mais fracas que suas bandas fundamentais na região do infravermelho médio. Sua baixa absorvidade, permite, no entanto alta profundidade de penetração, o que é uma vantagem analítica, permitindo análises diretas de fortes absorventes e nivelando amostras com espalhamento, como os líquidos turvos ou sólidos nos modos de refletância ou transmitância sem necessidade de pré-tratamento. A dependência do sinal analítico NIR em relação às propriedades químicas e físicas da amostra, que são resultantes da absorção e do espalhamento, pode ser usada favoravelmente para realizar análises químicas e físicas em uma única medida (MILLER et al, 1995, p.430). Os espectros em NIR são de difícil interpretação devido a sua grande complexidade, em virtude da sua natureza (sobretons e bandas de combinação de níveis vibracionais de energia) (SKOOG et al, 2006, p.670).

#### **2.2.4 Instrumentação NIR**

Muitos tipos de instrumentos NIR comerciais são úteis para o processo de medições, sendo os mais utilizados os fotômetros de comprimento de onda fixo, que usam comprimentos de onda da radiação NIR (WORKMAN, 1996, p.259). Fotômetros são geralmente mais baratos, de fácil utilização, mais adaptados para as condições do processo de espectrofotômetros, porém são menos versáteis e poderosos para realizar medidas difíceis em sistemas complexos. Normalmente, os instrumentos NIR utilizam uma metodologia de transmissão de amostras transparentes, incluindo a maioria dos líquidos e gases. Na transmissão, a radiação NIR passa através da amostra e é detectada depois. Para amostras opacas, incluindo sólidos, é utilizada a geometria de reflexão, onde a radiação na amostra é refletida através dos instrumentos de detecção da radiação. Os espectrofotômetros usam uma variedade de métodos para produzir espectros de radiação NIR, incluindo redes de difração, detectores de dispositivos de diodo, fontes de radiação de interferências com diodos de emissão de infravermelho e filtros ópticos de comprimento de onda variável (BENITO et al, 2008, p.463). Geralmente, as medidas de NIR podem ser realizadas tendo em conta a radiação transmitida / absorvida, a radiação refletida (difusa ou reflexão interna total), ou ambos ao mesmo tempo. É importante ressaltar que as características necessárias para uma boa instrumentação NIR estão relacionadas, principalmente, à precisão do comprimento de

onda e à medida espectral. Os componentes básicos existentes numa instrumentação NIR são: Fonte de luz, Seletor de  $\lambda$ , Amostra, Detector e Registro (SKOOG et al, 2006, p.705). Os cálculos apropriados e os comprimentos de onda são determinados por uma grande variedade de métodos matemáticos conhecidos como quimiometria. Métodos Quimiométricos desenvolvem uma excelente medida utilizando estatística para analisar os espectros de muitas amostras. Os métodos quimiométricos padrões incluem a regressão linear múltipla (MLR), regressão de componentes principais (PCR), análise de componentes principais (PCA), programa de modelagem independente para analogia de classes (SIMCA) e mínimos quadrados parciais (PLS) (BENITO et al, 2008, p.470).

Incontestavelmente os instrumentos com base na Transformada de Fourier são, os equipamentos que combinam as melhores características em termos de precisão e exatidão no comprimento de onda, alta razão sinal/ruído e velocidade de varredura. Portanto, instrumentos multiplexados com transformada de Fourier (FT) são apropriados tanto para medidas qualitativas como quantitativas (SKOOG, 2006, p.734; WILLIAMS, 2001, p.241), sendo utilizada em processamento de dados e substituído amplamente os instrumentos dispersivos, já que no decorrer dos anos os instrumentos foram reduzidos de tamanho para topo de bancada e tornaram-se mais confiáveis, de fácil manutenção, de custo mais viável e competitivo (DURIG, 1990, p.104).

### **2.2.5 Reflectância Difusa**

A Reflectância Difusa é um tipo de radiação que pode ser utilizada em equipamentos que operam na região do UV-VIS, infravermelho próximo e médio, designadas por espectroscopia de reflectância no infravermelho próximo (NIR) e espectroscopia por reflectância difusa no infravermelho médio com transformada de Fourier (DRIFTS), sendo esta técnica empregada em superfícies não totalmente planas e podendo ser aplicada em um sólido contínuo ou fragmentado (pulverizado). A reflectância está bem difundida na literatura já que pode ser aplicada com sucesso em análises de materiais sólidos (FERRÃO, 2004, p.337; NEUMANN, 2002, p.2). Uma série de teorias empíricas sobre a reflectância difusa foram propostas, entre as quais a mais popular é a teoria de Kubelka-Munk (MOHAMMADI



et al, 2004, p.2). A equação matemática de Kubelka-Munk que relaciona concentração (C) e reflectância (R) é representada pela equação 2.3:

$$C = (1-R)^2/2R = k/s \rightarrow R = R_a / R_r \quad (2.3)$$

onde, R = reflectância da amostra;

R<sub>r</sub> = reflectância medida com um padrão de referência;

R<sub>a</sub> = reflectância da amostra (medida nas mesmas condições);

k = coeficiente de absorção da amostra (proporcional a concentração) e

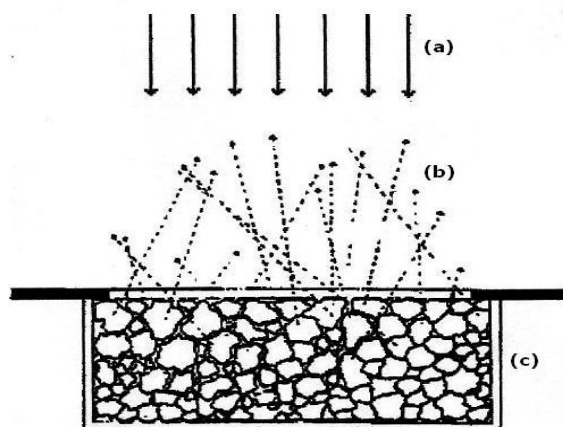
S = coeficiente de espalhamento da amostra. (MOHAMMADI et al, 2004, p.2).

A reflectância depende dos coeficientes k e S. O k indica o quanto a luz foi absorvida pela amostra e S determina a extensão do espalhamento de luz pela amostra, antes dela retornar a superfície. Assim, quanto menor for o espalhamento (S), maior será a reflectância (R) do material. A função de Kubelka-Munk é também conhecida como a lei de Beer da espectroscopia de reflectância, transformando espectros de reflectância em espectros semelhantes a um espectro de absorbância, pois relaciona reflectância com concentração da amostra. Por este motivo, a equação de Kubelka-Munk é raramente empregada, sendo substituída por uma mais prática que relaciona o logaritmo com o inverso da reflectância, equação 2.4:

$$f(R) = \log I / R \quad (2.4)$$

Esta expressão não difere muito da equação de Kubelka-Munk, uma vez que para pequenas mudanças na reflectância, é possível assumir um comportamento linear (intensidade da banda de absorção) com a concentração do analito (MOHAMMADI et al, 2004, p.2).

A reflectância difusa ocorre quando um feixe de luz penetra na camada superficial das partículas, excitando modos vibracionais das moléculas e espalhando radiação em todas as direções. Parte dessa radiação é absorvida pela amostra, e a outra parte é refletida difusamente. Como resultado, é obtido um espectro de reflectância que contém informações qualitativas e quantitativas sobre a natureza química do analito, conforme a Figura 2.4. (WETZEL et al, 1983, p.1169; WILLIAMS et al, 2001, p.197).



**FIGURA 2.4** – Reflectância difusa: (a) radiação incidente, (b) radiação refletida difusamente e (c) amostra sólida. (Fonte: SKOOG et al, 2006, p.711)

## 2.3 ANÁLISE MULTIVARIADA

### 2.3.1 Quimiometria

A Quimiometria é definida como a pesquisa e a utilização de métodos matemáticos e estatísticos para o tratamento de dados químicos de forma a extrair uma maior e melhor quantidade de informações e resultados analíticos (BLANCO et al, 2006, p.354). A análise multivariada é empregada em dados obtidos no infravermelho próximo (RUBIM, 2004, p.218).

Por volta dos anos 60 os métodos instrumentais computadorizados para a análise química passaram a gerar grandes quantidades de dados, obtidos de maneira rápida e despendendo menor esforço por parte dos analistas, sendo possível analisar todos esses dados e extrair maior quantidade de informações relevantes. Graças à quimiometria, tornou-se possível empregar para fins analíticos a região espectral do NIR, de modo que atualmente pode-se afirmar que um equipamento para determinações analíticas por esta técnica baseia-se no hardware (instrumento) e software (quimiometria) (MASSART, 1997. p.456). Na Indústria

Química em geral, a associação de ferramentas quimiométricas com técnicas instrumentais, principalmente as espectrométricas e cromatográficas, é empregada no desenvolvimento de métodos analíticos para controle de qualidade, qualificação de matéria prima e controle de processos (OTTO, 1999, p.91; BLANCO et al, 2006, p.355). O crescimento dessa nova disciplina deu origem a uma série de eventos e publicações de artigos e livros, trazendo assuntos diversos, tais como planejamento de experimentos, otimização, análise de dados multivariados, entre outros (MASSART, 1997, p.457; SIMÕES, 2008, p.15).

### 2.3.2 Pré-tratamento de dados

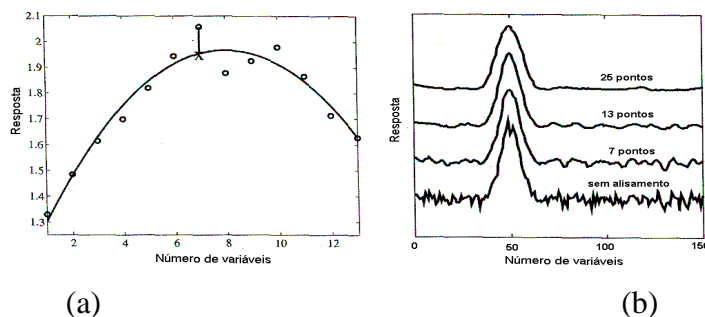
O pré-tratamento de dados é uma parte muito importante da quimiometria, tornando os cálculos computacionais mais precisos e exatos. É um procedimento comum que deve ser aplicado aos espectros antes de qualquer técnica multivariada (classificação ou calibração) (CHAMINADE et al, 1998, p.34).

Os sinais analíticos em uma medida instrumental representam a variação de uma propriedade físico-química em função de uma variável (comprimento de onda, pH, tempo, etc). Existem ruídos na aquisição dos espectros que dificultam a interpretação e modelagem das propriedades associadas aos sinais analíticos. Programas computacionais oferecem várias técnicas de pré-tratamento de dados (CAMO S.A, 2008, p.219). Grande parte desses pré-tratamentos reduz as variações aleatórias dos espectros. São exemplos: suavização Savitzky-Golay (SG), correção de espalhamento multiplicativo de luz MSC (do inglês “multiplicative scatter correction”), cálculo das derivadas, entre outros.

### 2.3.3 Alisamento Savitzky-Golay (SG)

Trata-se de um método matemático de suavização, baseado em uma regressão polinomial, visando remover dos espectros a presença de ruídos instrumentais aleatórios. O alisamento Savitzky-Golay é um dos mais aplicados a dados espectrais e consiste em definir uma janela de comprimento “n” e movê-la um ponto por vez ao longo de todo o sinal

analítico. Executa-se uma regressão polinomial dos pontos (1ª, 2ª e ordem superior) para calcular o valor do ponto central (x) da janela e este passa a ser o valor suavizado. Este ajuste traz como benefício o aumento da razão sinal/ruído e quanto maior for o número de pontos aplicados aos dados, maior será a suavização dos espectros (SAVITZKY et al, 1964, p.1632). Deve-se ressaltar que o alisamento SG também pode provocar perda de informação espectral a medida que se aumenta o número de pontos a serem suavizados, como indicado na Figura 2.5 que ilustra exemplos de alisamento SG aplicado em espectros. Artigos recentes trazem a aplicação deste pré-tratamento em princípios e aplicações na ciência da produção animal (BERZAGHI et al, 2009, p.42), predição de propriedades selecionadas de leite de ovelha (MOUAZEN et al, 2009, p.353), entre outros.



**FIGURA 2.5**– Alisamento Savitzky-Golay: (a) para uma janela de 13 pontos e (b) para janelas com 0, 7, 13 e 25 pontos. (Fonte: SAVITZKY et al, 1964, p.1632).

### 2.3.4 Correção de Espalhamento Multiplicativo de luz (MSC)

Esta técnica de pré-processamento é empregada para corrigir o espalhamento de luz de espectros obtidos por reflectância difusa (NAES et al, 1990, p.667), tendo sido proposta pela primeira vez, por Marten e Geladi para reduzir a diferença de espalhamento de luz das amostras antes da etapa de calibração (GELADI et al, 1985, p.493).

Na aquisição dos espectros por técnicas de reflectância ocorre o espalhamento de luz, pois as partículas das amostras possuem diferentes granulometrias e geometrias que são responsáveis pela dispersão da luz em todas as direções, o que provoca uma das principais fontes de erros em determinações analíticas, pois altera a relação entre a intensidade das medidas de reflectância e a concentração das espécies presentes na amostra. Para amenizar

este efeito, aplica-se a MSC ao conjunto de dados para obter espectros ideais (ou médias dos espectros) para construção de modelos mais precisos e robustos que possam oferecer uma boa habilidade de previsão (OSBORNE, 1988, p.264; NAES et al, 1990, p.668).

A aplicação do MSC apresenta grande utilidade na interpretação e modelagem dos espectros que são tratados por reflectância difusa. Matematicamente, a correção de espalhamento de luz é feita de acordo com algumas etapas:

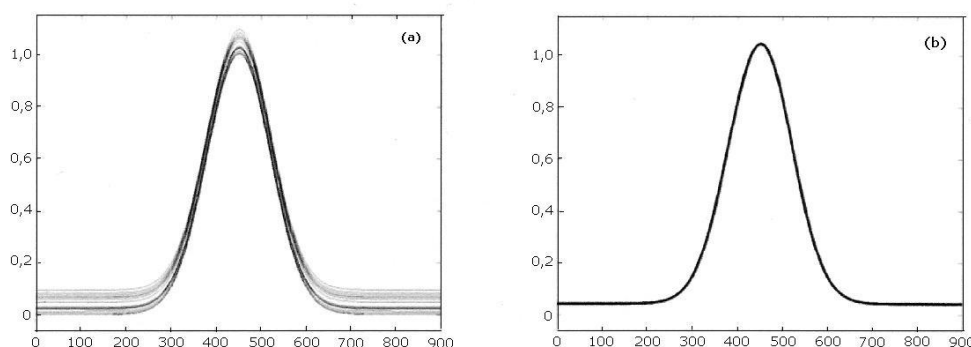
1ª - Um espectro médio  $X_m$  é calculado a partir do conjunto total de espectros;

2ª - Para cada espectro individual  $X_i$  os parâmetros  $a_i$  (coeficiente linear) e  $b_i$  (coeficiente angular) são estimados por regressão, como mostra a equação 2.5:

$$X_i = a_i + b_i \cdot X_m \quad (2.5)$$

3ª - Correção dos espectros, indicada pela equação 2.6:

$$X_{icorr} = (X_i - a_i) / b_i \quad (2.6)$$



**FIGURA 2.6** – Curvas gaussianas: (a) sem aplicação do MSC e (b) com aplicação do MSC. (Fonte: SAVITZKY et al, 1964, p.1633)

A Figura 2.6 ilustra a correção do espalhamento de luz para uma amostra que recebeu o pré-tratamento MSC, indicando a grande capacidade que a técnica apresenta em reduzir a diferença deste espalhamento (NETO, 2004, p.5). Recentes pesquisas mostram a utilização de MSC em monitoramento em qualidade de alimentos e bebidas (HUANG et al, 2008, p.307), em análise dos principais componentes do leite em pó (WU et al, 2008, P.234), entre outros.

### 2.3.5 Centrar na média

Este pré-tratamento é bastante simples. Apenas é necessário subtrair o valor de cada elemento da j-ésima coluna pela média calculada para esta mesma coluna.

$$X_{ij}^C = X_{ij} - X_{mj} \quad (2.7)$$

onde,  $X_{ij}^C$  = elemento da i-ésima linha da coluna j centrado na média  $X_{mj}$ , que é o valor médio da coluna j (NETO, 2004, p.6). Alguns trabalhos utilizaram a centragem na média, como em análise exploratória em química analítica com emprego de quimiometria: PCA e PCA de imagens (MATOS et al, 2003, p.43).

### 2.3.6 Cálculo das derivadas

O cálculo das derivadas é empregado para correção de linha de base e pode ser representado por um modelo linear, como mostra a equação 2.8:

$$A = a\lambda + b \quad (2.8)$$

Quando se aplica o cálculo da 1ª derivada o termo “b” é removido do modelo linear (equação 2.9), e quando se aplica a 2ª derivada exclui-se o termo “a” (equação 2.10), conforme equações abaixo.

$$dA / d\lambda = a \quad (2.9)$$

$$d^2A/d\lambda^2 = 0 \quad (2.10)$$

O algoritmo mais utilizado no cálculo das derivadas é o de Savitzky-Golay (BEEBE et al, 1998, p.46; SAVITZKY et al, 1964, p.1633). Lembrando que a utilização das derivadas

apresenta um problema: a amplificação dos ruídos espectrais, sendo importante a observação do uso correto de tal cálculo. Recentes estudos mostram a utilização do pré-tratamento com derivadas em estudo da detecção de melanina em fórmula infantil (MAUER, et al 2009, p.3975), determinação do teor de proteínas em aurícula Auricularia (LIU et al, 2009, p.4523), entre outros.

## 2.4 TÉCNICAS MULTIVARIADAS

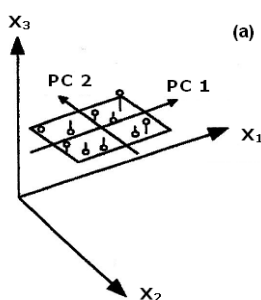
A análise multivariada corresponde a um grande número de técnicas que utilizam, simultaneamente, todas as variáveis na interpretação teórica do conjunto de dados, sendo esses métodos operados através de softwares que realizam cálculos matemáticos complexos com extrema habilidade. É preciso, porém, saber exatamente qual o objetivo a ser alcançado no trabalho, para que se possa escolher uma técnica adequada para a avaliação estatística das informações, uma vez que cada método tem sua fundamentação teórica e sua faixa de aplicabilidade (NETO, 2004, p.8; FERREIRA, 1999, p.726).

Alguns exemplos dessas técnicas são: Análise de Agrupamento Hierárquico (HCA), Análise por Componentes Principais (PCA) e Programa de Modelagem Independente para Analogia de Classes (SIMCA), empregadas para estudar o comportamento das amostras em termos de similaridade (MOITA et al, 1998, p.468), a Regressão Linear Múltipla (RLM), Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS), Regressão por Componentes Principais (PCR) e Redes Neurais (POPPI et al, 2001, p.868), aplicadas para fazer previsões amostrais; planejamento fatorial e simplex usados para otimização de experimentos (NETO et al, 2003, p.102). Como a finalidade deste trabalho é investigar a classificação (por similaridade) entre as amostras e quantificação do teor de proteínas abordaram-se os métodos PCA, SIMCA, PLS e PCR.

### 2.4.1 Análise por Componentes Principais (PCA)

A análise por componentes principais é a base fundamental da maioria dos métodos modernos para tratamento de dados multivariados, sendo introduzida em estudos científicos a partir de 1960. A PCA fornece as ferramentas adequadas para identificar as variáveis mais importantes no espaço das componentes principais, descartando as informações redundantes e agrupando as variáveis que estão mais correlacionadas, permitindo que haja uma melhor visão estatística dos resultados (CAZAR, 2003, p.1027).

A análise PCA é empregada comumente para separação ou classificação de grupos amostrais e para identificação de amostras anômalas no modelo, de acordo com suas similaridades. É bastante aplicada em trabalhos científicos devido a sua versatilidade (SORENSEN et al, 1998, p.867; PASCHOAL et al, 2003, p.215). É baseada no princípio da álgebra linear, tendo como objetivo extrair o máximo de informação de uma tabela de dados (matriz), convertendo-a em gráficos que mostram a relação entre as amostras (linhas da matriz) e as variáveis (colunas da matriz) para transformar um conjunto de dados complexos (várias dimensões) em um conjunto mais simples (menos dimensões). Ou seja, a PCA reduz o número de variáveis originais e gera uma nova representação deste conjunto (espectros) através de componentes principais que são ortogonais entre si (MASSART, 1997, p.460), conforme a Figura 2.7 (a).



**FIGURA 2.7** – (a) Gráfico PCA  
(Fonte: LIU, F et al, 2009, p.130)

Na análise PCA uma matriz  $X$  é decomposta no produto de duas matrizes: os “Scores” ( $T$ ) que contém a informação sobre as amostras e os “Loadings” ( $P$ ) que contém informações sobre as variáveis, sendo  $M_1, M_2, \dots, M_n$  referentes aos espectros 1, 2, ... n respectivamente, de acordo com as equações 2.11 e 2.12.



$$X = M_1 + M_2 + M_3 + \dots + M_n = T_1 P_1 + T_2 P_2 + T_3 P_3 \dots T_n P_n \quad (2.11)$$

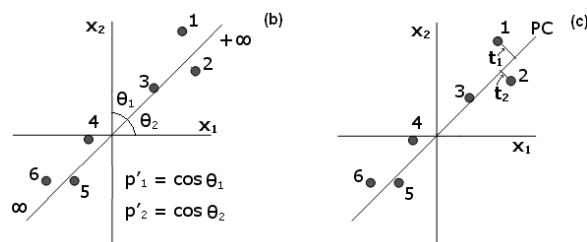
O cálculo dos “scores” e “loadings” é feito através do algoritmo da Decomposição de Valores Singulares (SVD), sendo a matriz de dados escrita como:

$$X = U S P^t \quad (2.12)$$

onde, P = matriz dos loadings; U.S = matriz T dos scores; U e P = colunas ortogonais e S = matriz diagonal cujos elementos (valores singulares) contém a informação sobre a variância (ou espalhamento entre os pontos) que cada componente descreve (CANDOLFI,1999, p.927), sendo calculada segundo a equação 2.13:

$$\%Var(PC_j) = \frac{S_{jj}^2}{\sum_{j=1}^p S_{jj}^2} \times 100 \quad (2.13)$$

onde, o denominador indica o valor da variância total, “p” é o número total de valores singulares do conjunto de dados e o numerador indica o valor da variância de cada PC. A Figura 2.7 (b e c) mostra o gráfico de uma PCA bidimensional que contém as componentes principais, “scores” e “loadings” (CANDOLFI et al,1999, p.927).



**FIGURA 2.7** - (b) loadings ou cossenos dos ângulos do vetor direção, (c) componente principal (PC) orientada no sentido de maior variabilidade dos dados,  $t_1$  e  $t_2$  são os scores ou projeções das amostras na direção da PC. (Fonte: LIU, F et al, 2009, p.130)

A construção do gráfico PCA é feita através de softwares sofisticados obedecendo a seguinte seqüência:

1<sup>a</sup> - realiza-se o tratamento da matriz de dados usando-se as técnicas de pré-processamento citadas anteriormente;

2ª - Criam-se variáveis de categoria (ou códigos) para cada classe de amostras, individualmente;

3ª - Selecionam-se os números de variáveis e amostras, sugerindo um número de PCs a serem usadas no modelo;

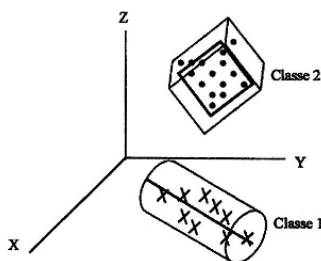
4ª - Aplica-se a técnica da validação cruzada (“Full Cross Validation”) para determinar o número ótimo de PCs para a modelagem de cada classe com os dados centrados na média;

5ª - Por fim, executa-se a análise de PCA, onde são feitas combinações lineares dos dados para gerar o gráfico dos scores.

A validação cruzada é um método realizado no próprio “software” no momento da construção do gráfico PCA e tem por objetivo escolher o número de componentes principais necessárias ao modelo baseando-se na avaliação do seu erro de previsão (CAMO S.A, 2008, p.258). Algumas publicações recentes citam o uso de PCA em análise rápida e não-destrutiva da qualidade de frutos de damasco (BUREAU et al, 2009, p.1324), entre outras.

#### 2.4.2 Modelagem Independente para Analogia de Classes (SIMCA)

O SIMCA é um método quimiométrico probabilístico e modelativo fundamentado na análise por componentes principais, onde para cada classe de amostras, cria-se um modelo PCA separadamente, onde são construídos envelopes em torno de cada classe de amostra de acordo com as componentes principais que melhor agrupam as classes (CAMO S.A,2008, p.259; MAESSCHALCK, 1999, p.68), como mostrado na Figura 2.8.



**FIGURA 2.8**– Modelo SIMCA de classificação. (Fonte: LIU, F et al, 2009, p.130)

O agrupamento das classes é feito através do cálculo da distância da amostra ao modelo, que é a variância residual para cada amostra de uma determinada classe ( $S_i$ ) e da

variância residual total ( $S_0$ ), conforme as equações 2.14 e 2.15 (CAMO S.A, 2008, p.260; MAESSCHALCK, 1999, p.68).

$$S_i = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^P e_{ij}^2}{(P - A)}} \quad (2.14)$$

$$S_0 = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^P e_{ij}^2}{(N - A - 1)(P - A)}} \quad (2.15)$$

onde, N = número de espectros (ou amostras) usado no modelo, A = número de componentes principais, P = o número de variáveis (ou comprimentos de onda), i e j = índices das amostras e variáveis, respectivamente (CAMO S.A, 2008, p.260; MAESSCHALCK, 1999, p.68).

Depois de calculadas as variâncias residuais, aplicam-se o teste F (Fischer) para verificar a posição da amostra no modelo, conforme a equação 2.16

$$F = S_i^2 / S_0^2 \times N / (N - A - 1) \quad (2.16)$$

Este valor é comparado com um valor crítico de F (tabelado), em um determinado nível de probabilidade e graus de liberdade. O julgamento da classificação das amostras é feito da seguinte maneira (CAMO S.A, 2008, p.260; MAESSCHALCK, 1999, p.69):

- Nível de probabilidade (0,1 – 1,0): amostra pertence ao modelo.
- Nível de probabilidade (< 0,05): amostra não pertence ao modelo.
- Nível de probabilidade (0,05 – 0,1): amostra “outliers”.

O SIMCA expressa os resultados em forma de uma tabela, onde são mostradas com asteriscos, as amostras que são classificadas e a que classe pertencem. Na construção do modelo podem ocorrer dois tipos de erros:

Erro Tipo I: amostra pertence a mais de uma classe;

Erro Tipo II: amostra não pertence a nenhuma das classes conhecida (“outliers”). (CAMO S.A,2008, p.261). Alguns pesquisadores recentemente realizaram o método SIMCA em classificação de tomates com diferentes genótipos (XIE et al, 2009, p.35), entre outros.

### 2.4.3 Regressão por Componentes Principais (PCR)

O algoritmo utilizado no método de regressão por componentes principais (PCR), emprega etapas semelhantes a análise por componentes principais (PCA), decompondo a matriz de dados X (variáveis independentes) e relacionando os resultados do PCA com os dados de interesse (variáveis dependentes ou matriz Y). Nos modelos que envolvem dados espectroscópicos, a matriz X é composta por valores de absorvância para medidas por transmissão ou por  $(\log 1 / R)$  para medidas de reflexão. A matriz X apresentará tantas linhas quanto for o número de amostras modeladas e tantas colunas quanto for o número de frequências (ou número de onda) selecionadas para o modelo. A matriz Y, terá o mesmo número de linhas que a matriz X, e seu número de colunas respectivo aos números de parâmetros de interesse, que podem ser relacionados as concentrações de diversas espécies químicas, bem como propriedades físico-químicas relacionada a informação contida no espectro (FERRÃO, 2000, p.65).

A vantagem do método PCR é o fato de não ser sensível aos problemas induzidos pela correlação entre variáveis, que se apresentam em conjunto de dados espectroscópicos. Para se obter bons resultados com o PCR é preciso observar algumas particularidades como: fazer seleção do menor número de variáveis, pois a introdução de variáveis desnecessárias provoca a redução da precisão dos valores na etapa de previsão e escolher as variáveis independentes que não estejam correlacionadas altamente umas com as outras, uma vez que essa colinearidade pode provocar instabilidade dos coeficientes de regressão (FERRÃO, 2000, p.65). O método PCR é realizado em duas etapas: primeiro a informação espectral é utilizada no cálculo dos espectros das componentes principais e em seguida, os espectros das componentes principais e as variáveis dependentes são empregadas, gerando o modelo de calibração. O resultado desse processo é uma equação linear, equação 2.25, proveniente da regressão.

$$\hat{Y}=t.b+e \tag{2.25}$$

Onde, b = vetor de coeficiente de regressão a serem determinados e a = vetor de erro.

Os coeficientes de regressão são calculados pela modelagem dos componentes principais, originados no processo de compressão da matriz x, realizado pelo algoritmo SVD (FERRÃO, 2000, p.66). Alguns trabalhos envolvendo PCR são estimativa da composição do

leite fresco (ARTIME et al, 2008, p.1473), quantificação de cálcio em comprimidos (MAZUREK et al, 2009, p.169), entre outros.

#### 2.4.4 Regressão por mínimos quadrados parciais (PLS)

O método PLS é o mais amplamente aplicado no processo de calibração multivariada na técnica de espectroscopia. O modelo PLS tem a capacidade de desenvolver uma relação linear entre os dados espectrais e as variáveis químicas. Este método foi desenvolvido na década de 70 por Hermam Wold, sendo as informações espectrais e as informações das concentrações usadas ao mesmo tempo na fase de calibração. É um método de previsão de uma informação  $y$ , a partir de valores de medida, como absorbância  $x$ , via alguma função de transferência  $y = f(x)$  (LIU, et al, 2009, p.4524).

No modelo PLS a matriz de espectros é decomposta em matrizes de variações dos espectros, denominados loadings ou pesos e em posição das amostras, denominada scores, onde os espectros originais são considerados combinações lineares das variações dos espectros e os scores representam suas contribuições. Neste modelo as informações espectrais e as informações das concentrações são usadas ao mesmo tempo na fase de calibração (GELADI et al, 1986, p.494; SIMAS, 2005, p.25).

Na construção dos modelos, é utilizado tanto às informações da matriz de dados espectroscópicos (matriz  $X$ ), como as informações da matriz de concentrações (matriz  $Y$ ). Este modelo estende o conceito do modelo inverso (propriedade sendo função da resposta instrumental) onde as variáveis originais são trocadas por um subconjunto truncado das variáveis latentes dos dados originais (FERRÃO, 2000, p.71).

Para se determinar mais de uma espécie de interesse, as matrizes  $X$  e  $Y$  são decompostas em suas matrizes de pesos e scores respectivamente, como mostra as equações 2.17 e 2.18.

$$X=TP^T+E \quad (2.17)$$

$$Y=UQ^T+F \quad (2.18)$$

Onde:

T e U = matrizes dos scores

$P$  e  $Q$  = matrizes dos pesos das matrizes  $X$  e  $Y$

$E$  = matriz de resíduos espectrais

$F$  = matriz dos resíduos de concentração

O modelo final em PLS consiste em relacionar linearmente os escores da matriz  $X$  com os escores da matriz  $Y$ , de acordo com as equações 2.19 e 2.20 (SIMÕES, 2008, p.20; CHAMINADE et al, 1998, p.35).

$$U=BT+G \tag{2.19}$$

$$Y=BTQ^T+H \tag{2.20}$$

onde:

$B$  = matriz dos coeficientes de regressão

$G$  = matriz de resíduos dos escores

$H$  = matriz de resíduos de concentração

Uma boa calibração leva em consideração parâmetros de medidas de tendência central, dispersão e qualidade dos modelos que serão descritos para se poderem avaliar os modelos desenvolvidos. É necessário compreender a identificação das amostras anômalas, através das medidas que descrevem o quanto a amostra está distante do centro do modelo ou dos vizinhos mais próximos. Por isso existem alguns recursos para melhorar a compreensão dos dados obtidos (LIU, et al, 2009, p.4525). Um deles é o erro padrão de calibração (SEC) que é a raiz quadrada da soma dos quadrados de erros entre os valores de referência e os valores previstos divididos pelo grau de liberdade. Outra notação utilizada é o SEP que se refere ao conjunto de amostras empregadas para a previsão. Já as variáveis latentes (VL) são determinadas pelo PRESS que é a soma dos desvios quadrados para os valores estimados em relação aos valores atuais (FERRÃO et al, 2004, p.335; SIMAS, 2005, p.26).

Para a determinação do número de componentes principais empregadas na modelagem, seria ideal a utilização de um conjunto-teste de dados. Como isso pode ser um processo demorado e caro, o método de validação cruzada é uma alternativa prática que apresenta excelentes resultados. A validação cruzada é uma metodologia utilizada para a determinação do número de componentes principais baseada na avaliação da magnitude dos erros de previsão de um dado modelo de calibração. Esta avaliação é feita pela comparação das previsões das concentrações previamente conhecidas ( $y_i$ ,  $i = 1:n$ ). Este método consiste em remover uma amostra  $i$  do conjunto de calibração, construir-se o modelo, usar o novo

modelo para prever os dados removidos ( $\hat{y}$ ), calcular-se o erro de previsão ( $y - \hat{y}$ ) e calcula-se a soma dos quadrados dos erros de previsão que é definido pela equação 2.21

$$PRESS = \sum (y - \hat{y})^2 \quad (2.21)$$

Onde,  $y$  é o valor conhecido e  $\hat{y}$  é o valor calculado (RUFINO, 2004, p.37).

Para validar o modelo é utilizada uma série de amostras de referência, de composição que não estejam contidas na etapa da calibração (validação externa). Para obter uma boa estimativa da habilidade de previsão, a série de amostras de validação deve ser representativa, ou seja, suas concentrações devem estar dentro do intervalo da concentração de calibração e das concentrações de amostras futuras. Também, não se pode esperar uma boa previsão pela extrapolação da faixa do modelo de calibração, a menos que a resposta linear seja precisa (FERREIRA et al, 1999, p.728). A determinação do erro padrão de calibração (SEC) e do erro padrão de previsão (SEP) pode dar uma boa medida do desempenho do modelo e, é definido pela equação 2.22

$$SEC = [\sum (y - \hat{y})^2 / n - p - 1]^{1/2} \quad (2.22)$$

onde,  $y$  = valor conhecido e  $\hat{y}$  = valor calculado,  $n$  = número de amostras utilizadas para a calibração e  $p$  = número de componentes principais utilizadas. O valor de SEP é obtido do conjunto de amostras de validação. São considerados bons modelos, àqueles que apresentam valores de SEC e SEP mínimos e ambos próximos. A habilidade de previsão de um método analítico pode ser descrito em termos do erro relativo. Esse erro pode ser usado para comparação dos resultados entre diferentes métodos e determina a exatidão que pode ser esperada para amostras de composição desconhecida (MESSERSCHMIDT, 1999, p.73) sendo definido pela equação 2.23.

$$ER\% = [|(y - \hat{y})| / y] \times 100 \quad (2.23)$$

onde,  $y$  = valor conhecido e  $\hat{y}$  = valor calculado.

Precisão é uma medida da reprodutibilidade de um resultado quando medido várias vezes e os valores forem muito próximos uns dos outros, e a exatidão se refere a quão próximo o valor de uma medida está do valor “verdadeiro” (SAVITZKY et al, 1964, p.1632).

Os índices de precisão para comparar repetibilidade é o desvio padrão (SD), definido pela equação 2.24.

$$SD = \left[ \frac{\sum (y' - y_m)^2}{n} \right]^{1/2} \quad (2.24)$$

Onde,  $y_m$  = valor médio das concentrações previstas, e  $y'$  = valor das concentrações previstas e  $n$  = número de medidas independentes (RUFINO, 2004, p.38). Alguns estudos que utilizaram PLS: medição rápida do teor de proteína no leite em pó (WU et al, 2008, p.128), traços de ferro e zinco em leite em pó (WU et al, 2009, p.1699), entre outros.

## 2.5 MÉTODO CLÁSSICO PARA DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS: KJELDAHL

A determinação de Nitrogênio total (NT) proposta por Kjeldahl em 1883, ainda é bastante utilizada por ser uma técnica confiável, com rotinas bem estabelecidas, permanecendo praticamente a mesma ao longo do tempo. Com poucas modificações. Esta técnica possibilita a determinação indireta de proteínas em várias amostras biológicas, (YASUHARA et al, 2001, p.1481; COTTA et al, 2006, p.69).

O método se baseia na decomposição da matéria orgânica através da digestão da amostra a 400° C com ácido sulfúrico concentrado, em presença de sulfato de cobre como catalisador que acelera a oxidação da matéria orgânica. O nitrogênio presente na solução ácida resultante é determinado por destilação por arraste de vapor, seguida de titulação com ácido diluído. As reações químicas que se passam durante o processo da determinação dos compostos nitrogenados podem ser resumidas da seguinte forma: destilação, digestão e titulação (COTTA et al, 2006, p.70).

Durante o processo de digestão ocorrem algumas reações onde o carbono contido na matéria orgânica é oxidado e o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) se desprende. Durante o processo da digestão a solução passa de uma coloração escura (preto) para um verde claro. Além dos agrupamentos protéicos, existe o nitrogênio sob a forma de amina, amida e nitrila, que é transformado em amônia (NH<sub>3</sub>) a qual reage com o H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, formando o sulfato de amônio



$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ), e esse ao esfriar forma cristais. Após a digestão inicia-se o processo de destilação que pode ser feito por aquecimento direto ou por arraste de vapor. O sulfato de amônio é tratado com hidróxido de sódio (NaOH), em excesso, ocorrendo a liberação de amônia. Ao se adicionar o hidróxido de sódio, deve-se utilizar algumas gotas de solução indicadora, no destilador, para garantir um ligeiro excesso de base. A amônia que desprende na reação é coletada num frasco contendo ácido bórico ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ) com o indicador, previamente adaptado ao conjunto da destilação. Considera-se terminado o processo, quando toda a amônia já se despreendeu. A solução contendo ácido bórico com o indicador que no início apresentava coloração rósea adquire a cor azulada à medida que vai se formando o borato de amônio ( $\text{NH}_4\text{H}_2\text{BO}_3$ ). A última etapa do processo corresponde a titulação, onde o borato de amônio é titulado com uma solução padrão de ácido clorídrico (HCl) de título conhecido até a viragem do indicador. E assim o nitrogênio total (NT) é determinado pela equação 2.26

$$NT = (V_a - V_b) \times F \times 0,1 \times 0,014 \times 100 / P_1, \quad (2.26)$$

Onde:

NT – teor de nitrogênio total na amostra, em percentagem;

$V_a$  – volume da solução de ácido clorídrico gasto na titulação da amostra, em mililitros;

$V_b$  – volume da solução de ácido clorídrico gasto na titulação do branco, em mililitros;

F – fator de correção para o ácido clorídrico 0,01 mol/L;

$P_1$  – massa da amostra (em gramas).

Na determinação da proteína bruta, multiplica-se o valor do nitrogênio total encontrado pelo método de Kjeldahl por um fator que converte o nitrogênio em proteína. Convencionalmente, em amostras de alimentos para animais: plantas forrageiras, rações concentradas, entre outros materiais, a proteína bruta (PB) é expressa pelo fator 6,25, considerando que a maioria das proteínas contém nas suas moléculas aproximadamente 16% de nitrogênio. A equação 2.27 abaixo é utilizada para determinar a proteína bruta:

$$PB = NT \times F_N \quad (2.27)$$

Onde:

PB – teor de proteína bruta na amostra, em percentagem;

$F_N - 6,25$ .

Se Expressa o resultado corrigido, tendo-se como base de correção a matéria seca a 105° C. Deve se fazer testes em branco com o objetivo de eliminar a interferência e contaminação dos reagentes (GALVANI et al, 2006, p.3). Alguns estudos com o método Kjeldahl são validação do método para determinação de nitrogênio kjeldahl total (COTTA et al, 2007, p.70), avaliação da composição química de sedimentos do Rio Barigui (FROEHNER et al , 2008, p.2022), entre outros.

### 3 PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1 REAGENTES E SOLUÇÕES

Para a determinação de proteína através do método Kjeldahl utilizou-se os seguintes reagentes e soluções:

Ácido sulfúrico concentrado P.A (VETEC); catalisador sulfato de potássio ( $K_2SO_4$ ) (VETEC) + sulfato de cobre ( $CuSO_4$ ) (Reagen) preparado na seguinte proporção: 0,05g de  $K_2SO_4$  para 2 g de  $CuSO_4$ ; hidróxido de sódio 40% m/v (VETEC); ácido bórico 10 % m/v (VETEC); solução indicadora [vermelho de metila 0,2% m/v + azul de metileno 0,2% m/v] (Synth); ácido clorídrico 0,0196 mol .L<sup>-1</sup> (VETEC).

#### 3.2 AMOSTRAS

Adquiriu-se um total de 53 amostras, entre elas: leite integral, leite desnatado, leite semidesnatado, nestogeno (alimento para lactentes), leite de soja e soro de leite, no período de Agosto de 2008 a Janeiro de 2009, provenientes de supermercados das regiões metropolitanas de Natal, Salvador e Rio de Janeiro. Realizou-se a determinação do teor de proteínas através do método de referência e obtiveram-se espectros NIR a partir dos quais se construíram modelos de classificação e regressão para as referidas amostras.

#### 3.3 MÉTODO DE REFERENCIA: KJELDAHL

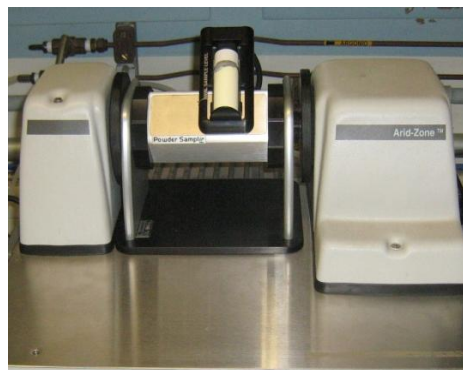
As 53 amostras foram utilizadas para a determinação do teor de Nitrogênio, através do Método Kjeldahl, com as determinações realizadas em triplicata no laboratório de Química Analítica Aplicada na UFRN.

Para a determinação do método Kjeldahl utilizou-se cerca de 0,1 g de amostra de leite em pó juntamente com 2,05 g do catalisador, para em seguida realizar-se o processo de digestão com 4 mL de ácido sulfúrico a uma temperatura de 350°C por um período de 3 horas. Em seguida realizou-se o processo de destilação, em um destilador de Nitrogênio da marca Tecnal, adicionando-se à amostra 15 mL de hidróxido de sódio e por fim a titulação com ácido clorídrico.

### 3.4 INSTRUMENTAÇÃO

A seguir são ilustrados os equipamentos utilizados na realização da parte experimental. A Figura 3.1 (a) representa o espectrofotômetro NIR, composto por uma fonte de luz, seletor de  $\lambda$ , amostra, detector e registro. A fonte de luz é o local de onde emerge a radiação contínua que irá penetrar no material analisado. O seletor é um dispositivo que seleciona a radiação na faixa de interesse. A célula de medida (porta amostra) deve ser transparente para armazenar a amostra. O detector capta a radiação que é refletida pelo material e converte esta radiação em um sinal elétrico, através do qual se obtém os espectros desejados. E o registro processa e registra o sinal analítico emitido pelo detector.

Já para a determinação de proteínas pelo método Kjeldahl foi utilizado o destilador de nitrogênio, representado na Figura 3.1 (b) onde ocorre arraste de vapor. O sulfato de amônio é tratado com hidróxido de sódio, ocorrendo à liberação da amônia, que é coletada num frasco erlenmeyer.



(a)



(b)

**FIGURA 3.1** - Instrumentação: (a) Espectrofotômetro FT-NIR com acessório de reflectância difusa. (b) Destilador de Nitrogênio.

### 3.5 MÉTODO ESPECTROSCÓPICO

#### 3.5.1 Obtenção dos espectros

A aquisição dos espectros em triplicata foi realizada através de um espectrofotômetro da marca Bomem MB 160 no IQ da UNICAMP, considerando-se as seguintes condições: região espectral de 714 a 2500 nm, resolução de  $8 \text{ cm}^{-1}$  50 varreduras para cada espectro e os sinais analíticos expressos como absorvância, utilizando - se um acessório de reflectância difusa. As amostras de leite não sofreram nenhum tipo de tratamento prévio, sendo retiradas diretamente de suas embalagens sem sofrer qualquer adição de reagente ou processo químico e adicionadas em frascos de vidro apropriados (porta amostra) e posicionadas no acessório de reflectância difusa no modo rotativo, obtendo-se primeiramente o espectro de referência. Como referência utilizou-se o material politetrafluoretileno, o qual foi utilizado para realizar a calibração do equipamento antes das análises realizadas. O material no porta amostra, foi posicionado no acessório de reflectância difusa e sua medida realizada nas mesmas condições em que seriam realizadas as medidas das amostras.

### 3.6 ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA

A importação dos dados obtidos, seu pré-tratamento e a construção dos modelos quimiométricos foram realizados utilizando o software Unscrambler 9.8 da Camo S.A.

O Pré - tratamento dos dados deve ser aplicado aos espectros antes de qualquer técnica multivariada, seja calibração ou classificação (CHAMINADE et al, 1998). Alguns aplicados nesse trabalho foram alisamento Savitzky-Golay, correção de espalhamento multiplicativo (MSC) e cálculo das derivadas.

Os modelos utilizados neste trabalho foram de classificação SIMCA e regressão PLS e PCR. As amostras foram subdivididas em três categorias: 27 amostras para a fase de calibração, 13 amostras para a fase de validação e 13 amostras para a fase de previsão, seguindo a seguinte ordem: a 1ª amostra selecionada para a calibração, a 2ª para a validação, a 3ª novamente para a calibração e a 4ª para a previsão, repetindo-se essa ordem até a última amostra.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 ATRIBUIÇÃO DE BANDAS NO NIR

Na região do infravermelho próximo (NIR) as moléculas experimentam transições vibracionais e rotacionais que podem passar diretamente de um determinado nível energético para dois ou mais níveis de maior energia. Devido a este fato, o NIR, apresenta bandas de combinação e de sobretons. Essas ocorrências espectrais provêm de moléculas com ligações C-H, N-H e O-H, como mostra a Tabela 4.1.

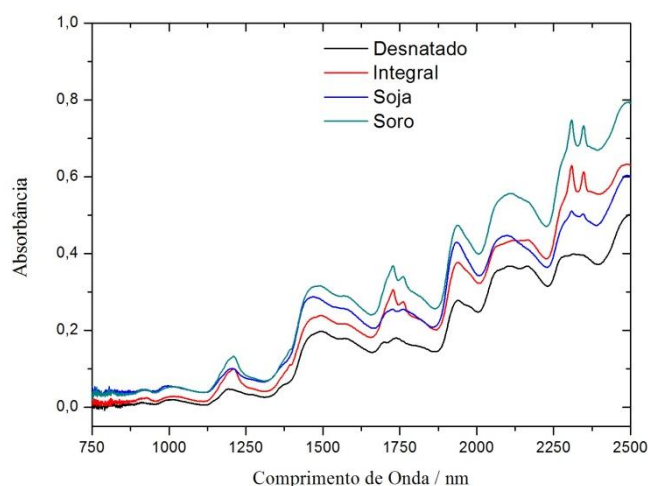
**TABELA 4.1** – Região espectral e transições eletrônicas no NIR

<b>Comprimento de Onda (nm)</b>	<b>Grupo funcional</b>	<b>Transições eletrônicas</b>
2200 a 2500	C-H	
*2110 a 2205 – 2250 a 2260	*N-H(aminas) O-H(água)	Combinação de vibrações
1800 a 2200	O-HN-H	Combinação de vibrações
*1910 a 1980	*C=O (amidas)	Segundo Sobreton
1900 a 1950	O-H (água)	Combinação de vibrações
1600 a 1800	C-H	Primeiro sobreton
1420 a 1600	N-H O-H	Primeiro sobreton
*1450 a 1460	*N-H (amidas)	Primeiro Sobreton
*1490 a 1510	*N-H (aminas)	Primeiro Sobreton
1400 a 1470	O-H (água)	Primeiro Sobreton
1300 a 1420	C-H	Sobreton de combinações
1100 a 1300	C-H	Segundo sobreton
*1050 a 1080	*N-H (aminas)	Segundo Sobreton
800 a 1100	N-H C-H	Terceiro sobreton

Em algumas regiões existem variáveis contendo informações importantes para a construção dos modelos de calibração e regressão para determinações dos componentes

de cada amostra, como os grupos funcionais mais importantes referentes a proteínas (\*) (BURNS et al, 1992).

Analisaram-se 53 amostras de leite em pó, das quais as mais importantes foram divididas em quatro classes: leite integral, leite desnatado, leite de soja e soro de leite. Cada tipo de amostra apresentou bandas características que podem ser visualizadas na Figura 4.1.



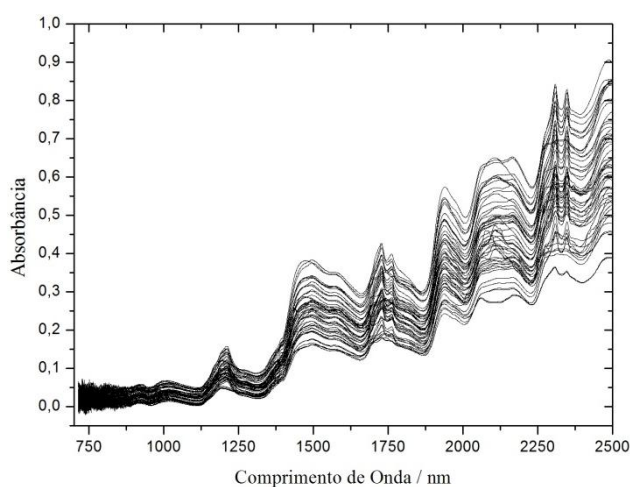
**FIGURA 4.1** – Espectros de Reflectância Difusa Originais de amostras de cada uma das classes de leite em pó.

As quatro classes de leite apresentaram espectros semelhantes. Todas apresentaram bandas intensas de C-H do segundo sobretom entre 1100 e 1300 nm, O-H da água em torno de 1450 nm pertencente ao 1º sobretom; N-H (proteína) pertencente ao primeiro sobretom entre 1471 e 1580 nm; C-H do primeiro sobretom entre 1690 e 1761 nm; O-H da água em torno de 1940 nm; e as principais bandas referentes a proteínas: combinação N-H em torno de 2000 nm no leite integral (linha vermelha), 2058 nm no leite de soja (linha azul), entre 2007 e 2164 nm no leite desnatado (linha preta) e entre 2075 e 2097 nm no soro de leite (linha verde). Banda N-H do 2º sobretom em torno de 2180 nm nas amostras de leite integral e desnatado e banda C-H do 2º sobretom em torno de 2300 nm para as quatro classes com maior intensidade para as amostras de leite integral e soro de leite. Analisando estes espectros foi possível observar que as amostras das quatro classes se comportam de modo semelhante em relação a sua composição.



## 4.2 PRÉ – TRATAMENTOS

Realizaram-se os seguintes pré – tratamentos para o conjunto de espectros originais em busca do melhor modelo de classificação e regressão para esta matriz de dados: Correção de Espalhamento Multiplicativo de luz (MSC), alisamento e 1ª e 2ª derivadas Savitzky-Golay. Construiu-se um conjunto de dados com 53 espectros (amostras) e 2.595 variáveis (comprimentos de onda), representado pela matriz (53 x 2.595), extraídos da Figura 4.2.



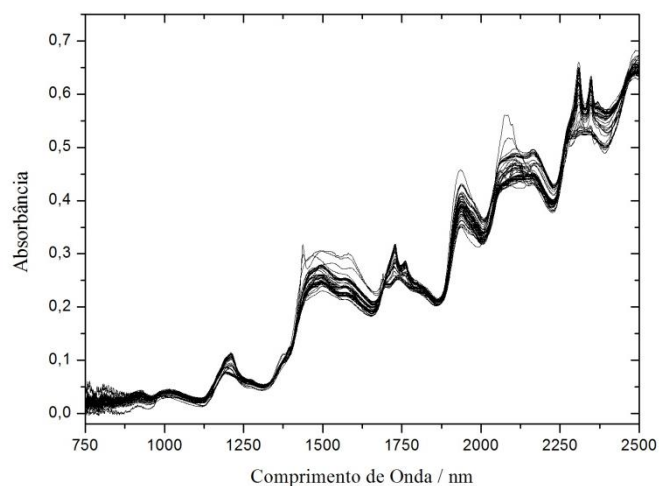
**FIGURA 4.2** – Espectros Originais de Reflectância Difusa das 53 amostras de leite em pó.

A Figura 4.2 mostra os espectros originais das 53 amostras de leite em pó sem a realização de nenhum pré-tratamento, com ruídos instrumentais e erro no espalhamento de luz.

### 4.2.1 Espectros com alisamento Savitzky-Golay (SG) e correção de do espalhamento multiplicativo de luz (MSC)

Aplicou-se o método de alisamento Savitzky-Golay visando remover dos espectros ruídos instrumentais aleatórios, promovendo assim uma suavização (alisamento) do espectro. Com isso obteve-se o aumento da razão sinal/ruído. Após a realização do método de alisamento Savitzky-Golay os espectros foram submetidos à correção de espalhamento multiplicativo de luz, cuja finalidade foi minimizar os efeitos

de luz que ocorrem durante a aquisição dos espectros, devido a algumas diferenças nas partículas das amostras tais como granulometria, morfologia e geometria. O MSC foi empregado como um pré-tratamento dos dados antes da aplicação de qualquer técnica quimiométrica para refinar as informações contidas nos espectros e permitir a construção de modelos mais robustos e precisos. A Figura 4.2.1 ilustra a suavização dos espectros, bem como a correção do espalhamento de luz.

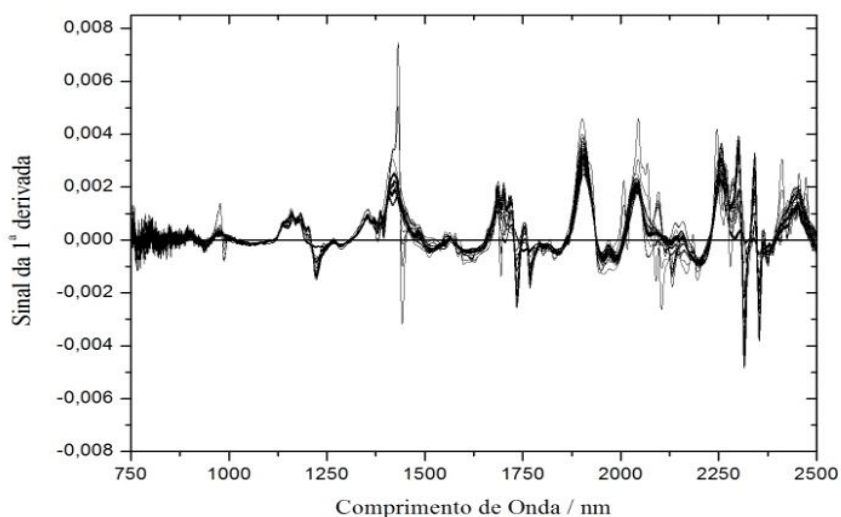


**FIGURA 4.2.1-** Espectros Originais de Reflectância Difusa das 53 amostras de leite em pó após os pré-tratamentos de alisamento e MSC.

Comparando-se as Figuras 4.2 e 4.2.1 pode-se observar a suavização dos espectros originais, o que permitiu se obter uma melhor razão sinal/ruído e a correção do espalhamento multiplicativo de luz.

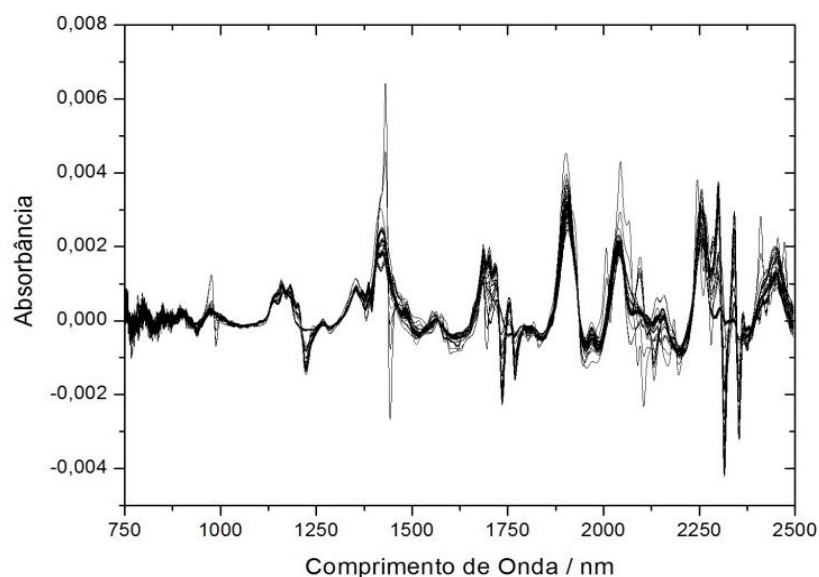
#### 4.2.2 Espectros com aplicação da 1ª derivada (Savitzky-Golay)

Aplicou-se aos espectros a primeira derivada, com a intenção de maximizar e acentuar as informações dos espectros para obtenção de um melhor modelo de classificação. Utilizando-se um polinômio do 1º grau, realizou-se o cálculo da 1ª derivada com janelas de 9, 15, 21 e 31 pontos para correção de linha base, conforme o método de Savitzky-Golay. Os melhores resultados foram obtidos utilizando-se janelas com 15 e 21 pontos, com uma melhor suavização dos espectros. A Figura 4.2.2 (a) ilustra as amostras com 1ª derivada em janela de 15 pontos.



**FIGURA 4.2.2 (a)** - Espectros de Reflectância Difusa Originais das 53 amostras de leite em pó, após a realização da 1ª Derivada, em janela de 15 pontos.

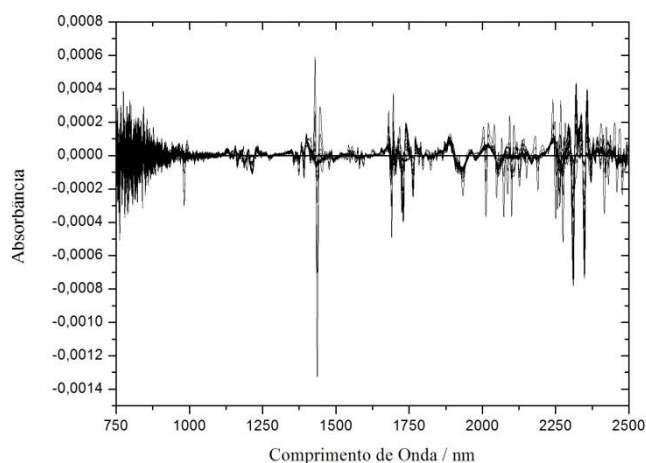
Após a realização da 1ª derivada em janela de 15 pontos, realizou-se também a 1ª derivada em janela de 21 pontos, observando-se uma suavização dos espectros semelhante a anterior. A Figura 4.2.2 (b) demonstra esse resultado.



**FIGURA 4.2.2 (b)** – Espectros de Reflectância Difusa Originais das 53 amostras de leite em pó, após a realização da 1ª Derivada em janela de 21 pontos.

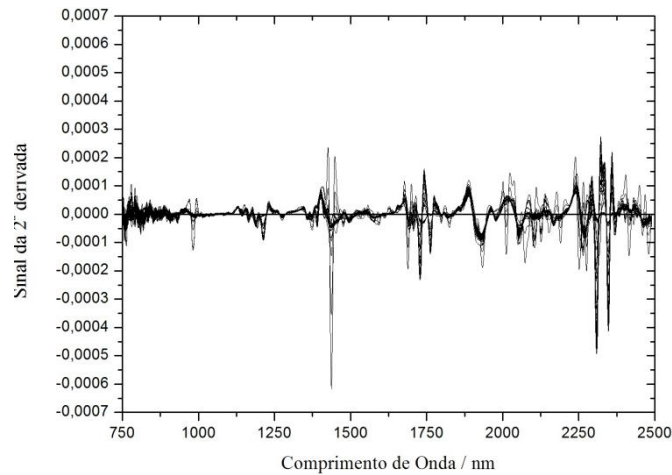
#### 4.2.3 Espectros com aplicação da 2ª derivada (Savitzky-Golay)

A 2ª derivada também foi aplicada aos espectros para tentar maximizar e acentuar suas informações com a intenção de se obter um melhor modelo de classificação. O cálculo da segunda derivada foi realizado utilizando - se um polinômio do 2º grau e janelas de 9, 15, 21 e 31 pontos. A seguir estão exemplificados os melhores resultados obtidos para as janelas com 15 e 31 pontos, utilizados no modelo de classificação. As Figuras 4.2.3 (a) e (b) a seguir ilustram os resultados.



**FIGURA 4.2.3 (a)** – Espectros de Reflectância Difusa Originais das 53 amostras de leite em pó, após a realização da 2ª Derivada em janela de 15 pontos.

Após a realização da 2ª derivada em janela de 15 pontos, observou-se uma maior suavização dos espectros. Também se pode observar uma suavização semelhante para a 2ª derivada em janela de 31 pontos, conforma a Figura 4.2.3 (b).



**FIGURA 4.2.3 (b)** – Espectros de Reflectância Difusa Originais das 53 amostras de leite em pó, após a realização da 2ª Derivada em janela de 31 pontos.

#### 4.3 REPETIBILIDADE DOS ESPECTROS DE REFLECTÂNCIA

Um estudo da repetibilidade dos espectros de reflectância foi efetuado para se inferir uma maior confiabilidade estatística das medidas espectrofotométricas, visto que desta forma é possível conhecer melhor a precisão dos espectros. A análise dos resultados de tal estudo, através dos desvios padrão dos espectros, permitiu estabelecer o limite de precisão associado à instrumentação utilizada. O teste foi realizado utilizando-se cinco frações de uma mesma amostra de cada classe de leite para a leitura no espectrofotômetro. A Tabela 4.3 apresenta os resultados deste estudo.

**TABELA 4.3** – Estudo da repetibilidade dos espectros

<i>Amostras</i>	<i>Média Absorbância.</i>	<i>Desvio Padrão</i>	<i>Desvio Padrão Relativo</i>	<i>Comprimento de onda (<math>\lambda</math>)nm</i>
<i>Desnatado1</i>	0,2012	$6,72 \times 10^{-3}$	3,34	1677,24
<i>Desnatado 2</i>	0,26294	$3,66 \times 10^{-3}$	1,39	1569,85
<i>Desnatado 3</i>	0,28282	$6,6 \times 10^{-3}$	2,33	1481,48
<i>Integral 1</i>	0,21212	$3,95 \times 10^{-3}$	1,86	1677,24
<i>Integral 2</i>	0,27078	$2,70 \times 10^{-3}$	0,99	1569,85
<i>Integral 3</i>	0,30218	$4,19 \times 10^{-3}$	1,38	1481,48
<i>Soja 1</i>	0,15688	$6,77 \times 10^{-3}$	4,31	1677,24
<i>Soja 2</i>	0,19308	$4,63 \times 10^{-3}$	2,39	1569,85
<i>Soja 3</i>	0,21882	$4,20 \times 10^{-3}$	1,92	1481,48
<i>Soro 1</i>	0,25376	$1,91 \times 10^{-3}$	0,75	1677,24
<i>Soro 2</i>	0,29862	$4,14 \times 10^{-4}$	0,14	1569,85
<i>Soro 3</i>	0,33024	$5,78 \times 10^{-3}$	1,75	1481,48

Foram utilizados comprimentos de onda iguais para amostras de classes diferentes: desnatado, integral, soja e soro (1) com comprimento de onda de 1677,24 nm. Desnatado, integral, soja e soro (2) com 1569,85 nm e desnatado, integral, soja e soro (3) com 1481,48 nm. Dessa forma se observou os resultados em amostras de classes diferentes analisadas em mesmo comprimento de onda, encontrando-se os valores das médias das leituras das amostras, bem como seus desvios padrão e desvios padrão relativos.

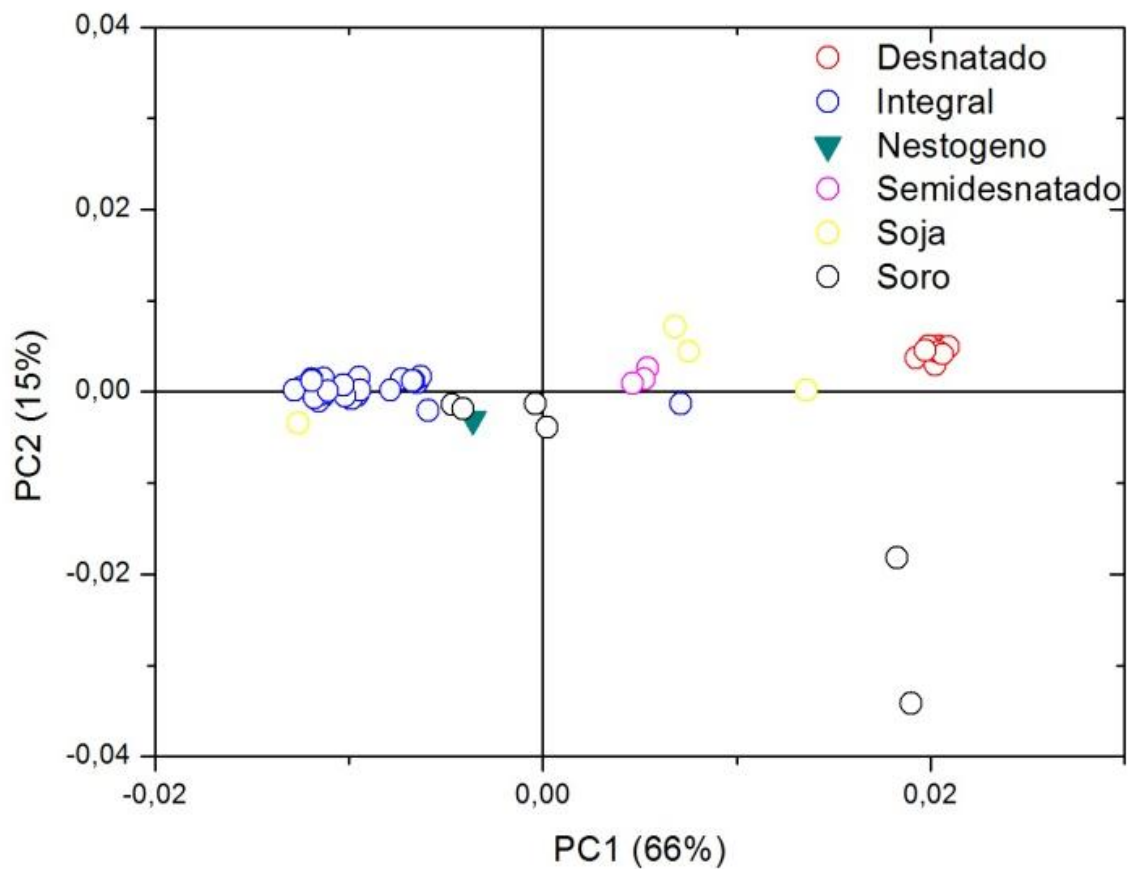
#### 4.4 MODELAGEM DE CLASSIFICAÇÃO

A classificação das amostras de leite em pó ocorreu através de duas técnicas quimiométricas: Análise por Componentes Principais (PCA) e Programa de Modelagem Independente para Analogia de Classes (SIMCA).

##### 4.4.1 Classificação por Análise de Componentes Principais (PCA)

Foram realizadas diversas análises PCA para as 53 amostras de leite, onde observou-se 4 resultados satisfatórios, os quais foram usados para os modelos de classificação e regressão. São eles: 1ª derivada em janela de 15 pontos; 1ª derivada em janela de 21 pontos; 2ª derivada em janela de 15 pontos e 2ª derivada em janela de 31 pontos. Os gráficos de PCA construídos com 53 amostras, 2.217 variáveis, com 4 classes de leite em pó mais significativas designadas pelas seguintes variáveis de categorias: integral (I), desnatado (D) e Soja (SJ) e Soro de leite (SO), são mostrados nas Figuras a seguir.

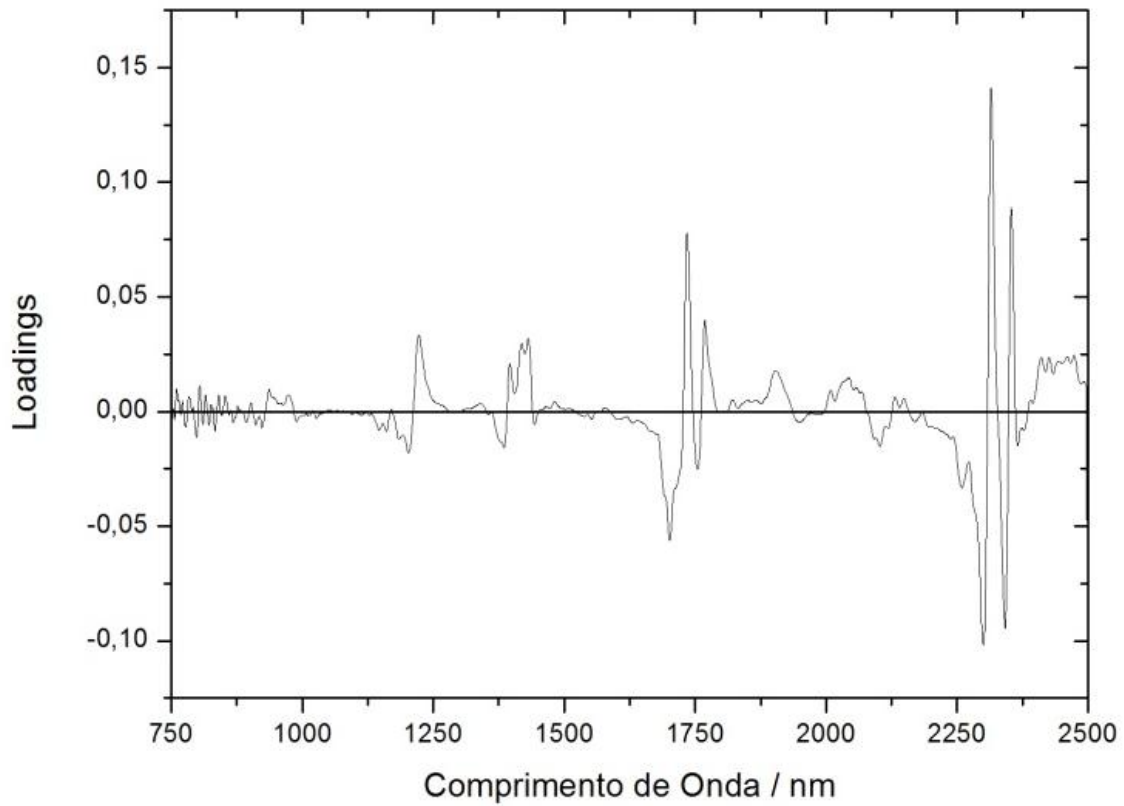
Na Figura 4.4.1, gráfico dos scores, observou-se as diferentes classes se agrupando em relação à semelhança em sua composição (proteína, gordura, lactose, etc.), com porcentagens de 66% para a primeira componente principal, PC 1 e 15 % para a segunda componente principal, PC 2.



**FIGURA 4.4.1** - Gráfico dos *scores* (PC1 X PC2) para as amostras de leite em pó, com 1ª derivada em janela de 15 pontos.

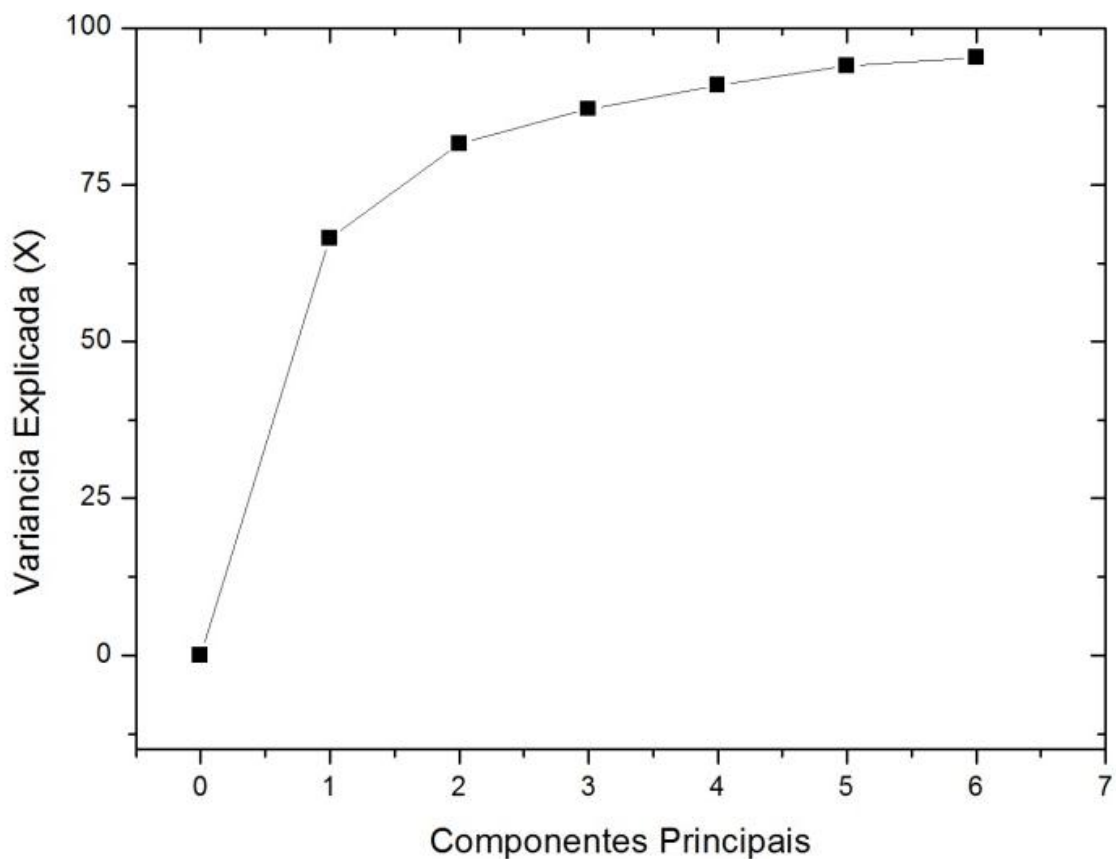
O gráfico dos *loadings* ou peso, Figura 4.4.2, indica as regiões de maior importância na composição das amostras de leite em pó, confirmando a presença de ligações C-H do segundo sobretom entre 1100 e 1300 nm; O-H da água em torno de 1450 nm pertencente ao 1º sobretom; N-H pertencente ao primeiro sobretom em torno de 1470 nm; C-H do primeiro sobretom entre 1690 e 1761 nm; e as regiões referentes a proteínas após o comprimento de





**FIGURA 4.4.2** – Gráfico dos *loadings* para as amostras de leite em pó, com 1ª derivada em janela de 15 pontos.

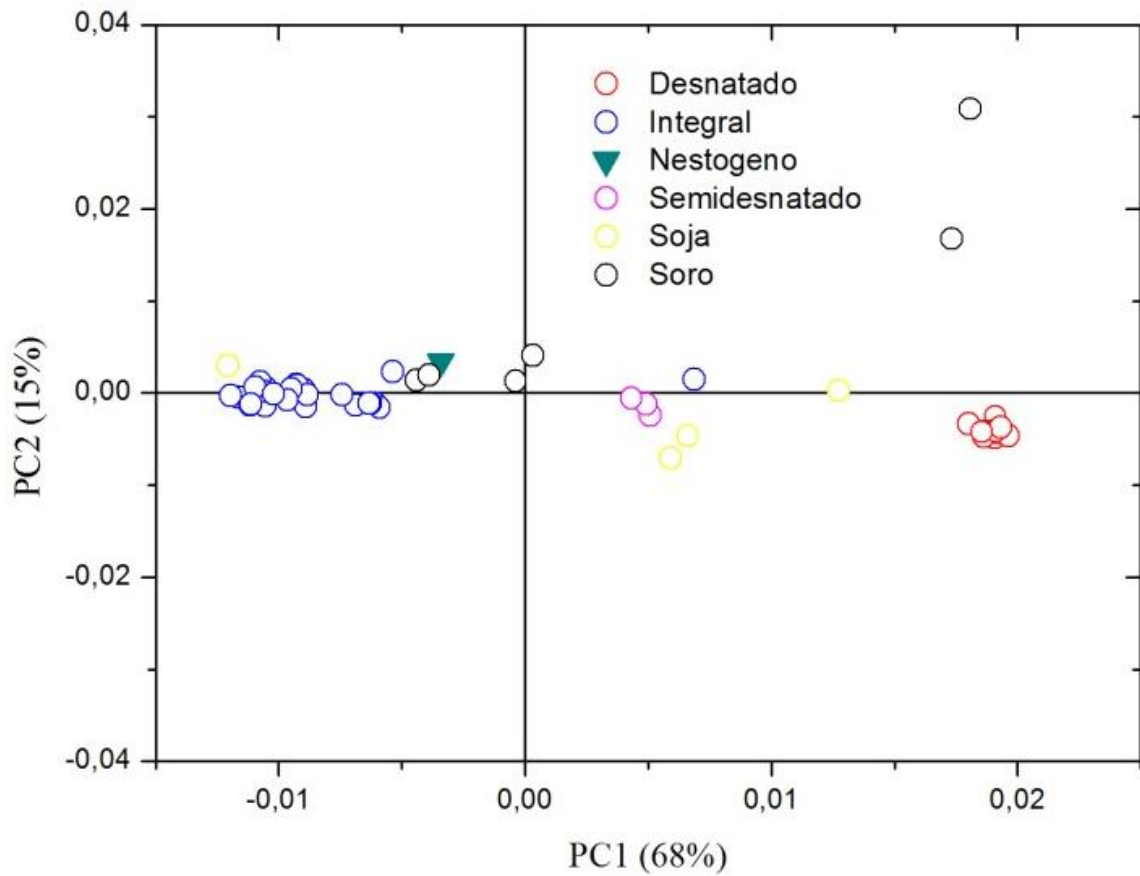
A variância é explicada pela quantidade de componentes principais. Na Figura 4.4.3 observa-se que a primeira componente principal explicou 66 % da variância, ou seja com apenas uma componente principal foi possível, obter quase todas as informações a respeito da amostra, com apenas 15 % das informações explicadas pela 2ª componente principal.



**FIGURA 4.4.3** – Gráfico da variância explicada para as amostras de leite em pó, com 1ª derivada em janela de 15 pontos.

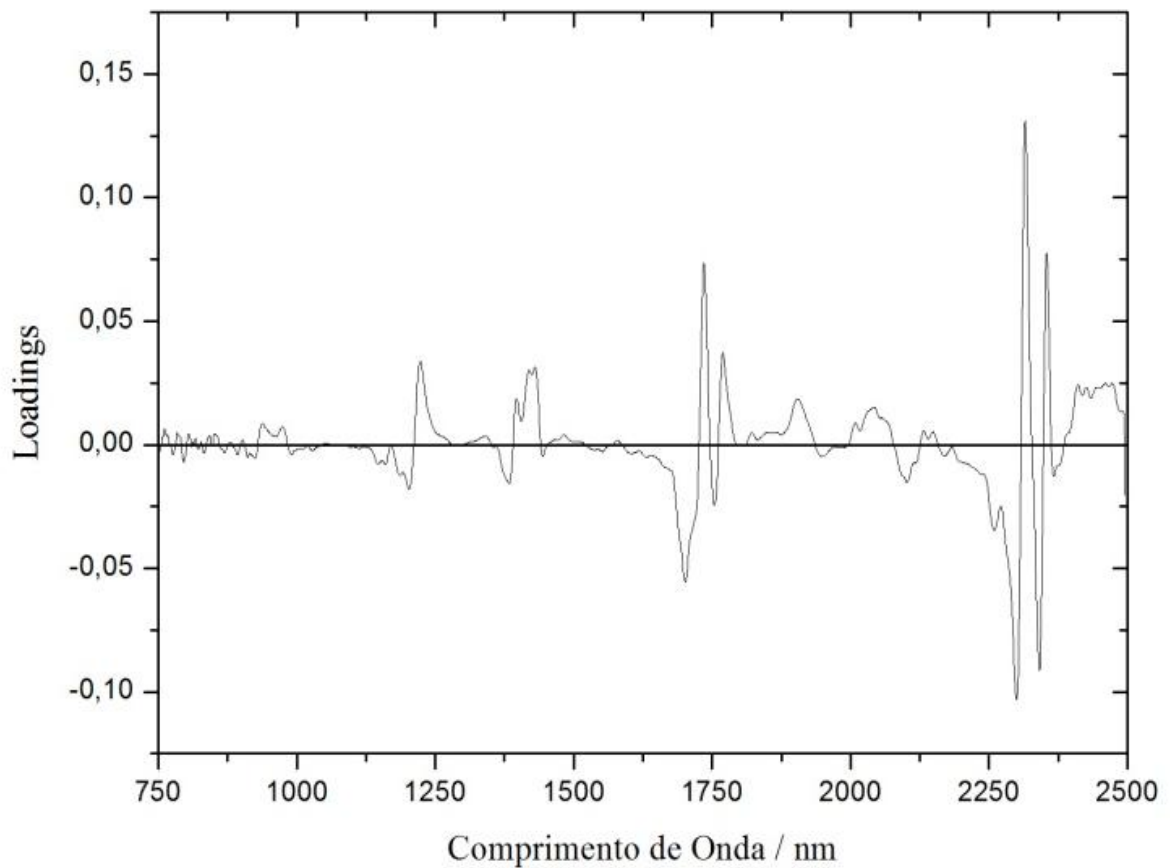
Os resultados obtidos para as amostras tratadas com 1ª derivada em janela de 21 pontos foram semelhantes aos anteriores, como mostram as Figuras seguintes.

No gráfico dos *scores*, Figura 4.4.4, observou-se as diferentes classes se agrupando em relação à semelhança em sua composição (proteína, gordura, lactose, etc.), tendo os agrupamentos sido semelhantes aos da janela de 15 pontos, com porcentagens de 68 % para a primeira componente principal, PC1 e 15 % para a segunda componente principal, PC2.



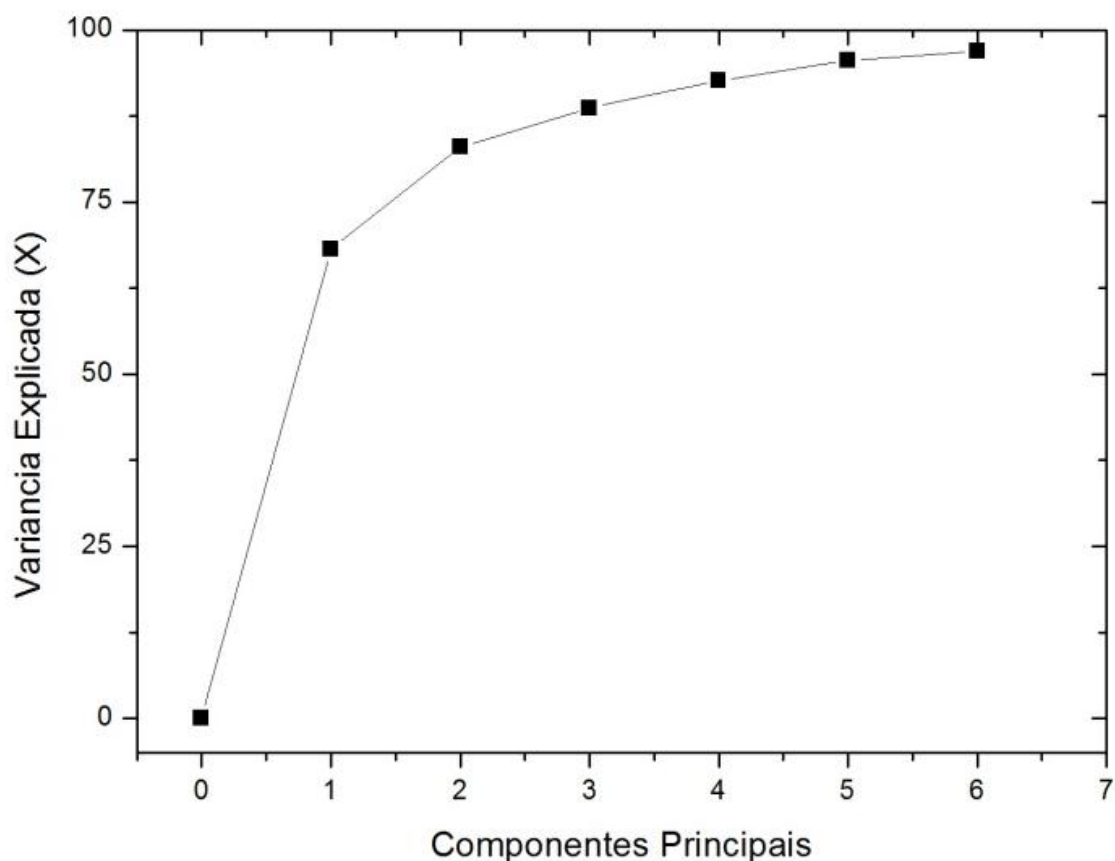
**FIGURA 4.4.4** - Gráfico dos *scores* (PC1 X PC2) para as amostras de leite em pó, com 1ª derivada em janela de 21 pontos.

O gráfico dos *loadings*, Figura 4.4.5, demonstrou as regiões de maior importância na composição das amostras de leite em pó, confirmando a presença de ligações C-H do segundo sobretom entre 1100 e 1300 nm; O-H da água em torno de 1450 nm pertencente ao 1º sobretom; N-H pertencente ao primeiro sobretom em torno de 1470 nm; C-H do primeiro sobretom entre 1690 e 1761; e as regiões referentes a proteínas após o comprimento de onda de 2000 nm.



**FIGURA 4.4.5** - Gráfico dos *loadings* para as amostras de leite em pó, com 1ª derivada em janela de 21 pontos.

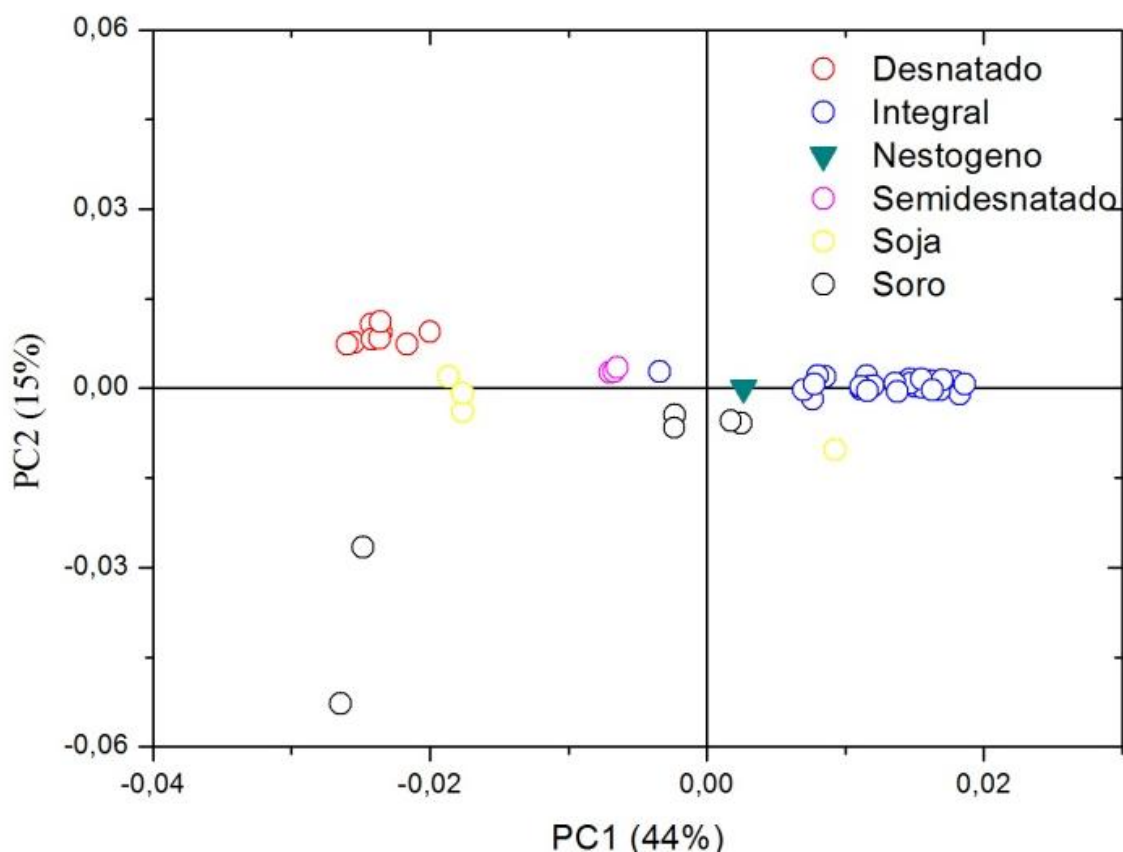
As componentes principais explicam a porcentagem da variância. Na Figura 4.4.6 observa-se que a primeira componente principal explicou 68 % da variância, ou seja com apenas uma componente principal foi possível, obter quase todas as informações a respeito da amostra, com apenas 15 % das informações explicadas pela 2ª componente.



**FIGURA 4.4.6** - Gráfico da variância explicada para as amostras de leite em pó, com 1ª derivada em janela de 21 pontos.

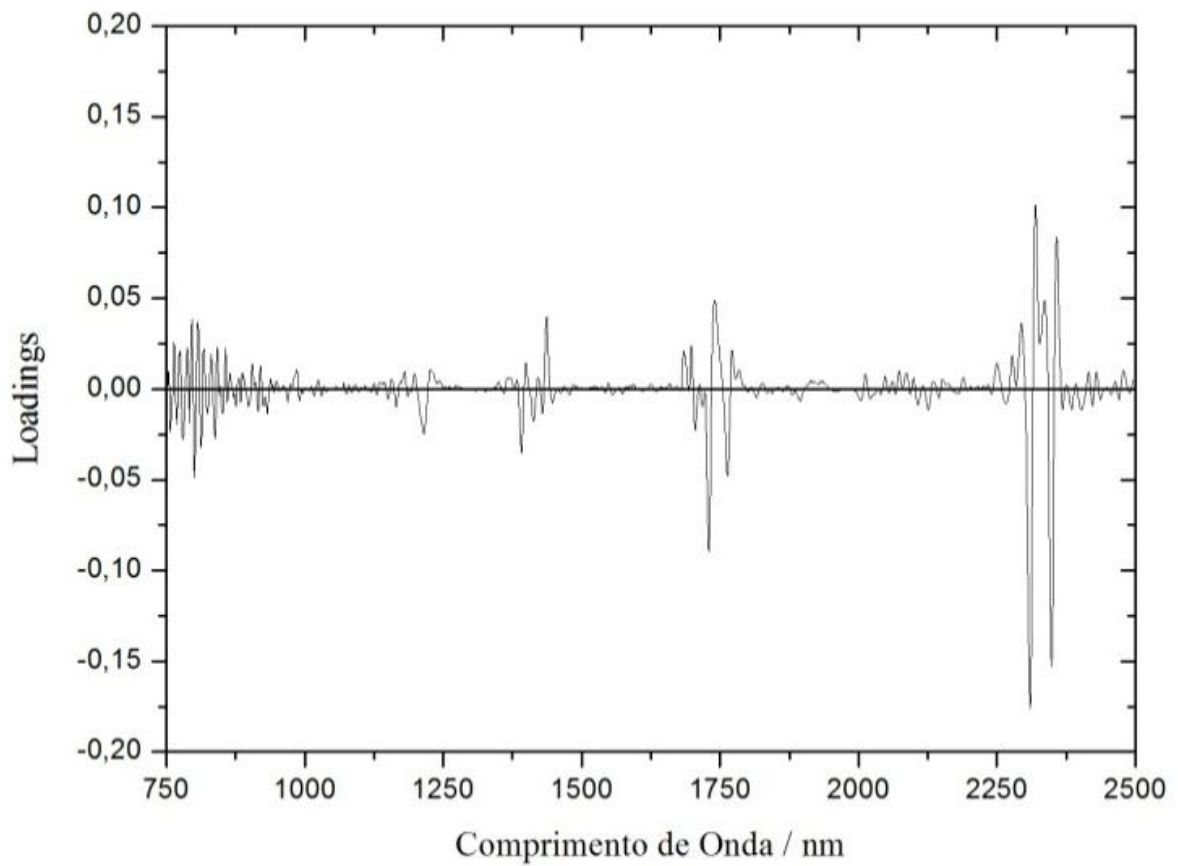
Com a realização da 1ª derivada foi possível observar um melhor agrupamento das quatro classes principais de amostras tanto para a janela de 15 pontos como para a janela de 21 pontos, em especial as amostras de leite integral e leite desnatado. As amostras de leite de soja e soro de leite também se agruparam, mas não com tanto êxito como as anteriores. Uma vez que as amostras analisadas são de fabricantes diferentes, possivelmente o processo de produção é diferenciado, podendo provocar uma discrepância entre amostras da mesma classe, além disso, algumas amostras podem apresentar um teor de impurezas mais elevado que outras após seu processo de produção, fazendo com que estas não pertençam ao mesmo grupo, apesar de se encontrarem em uma mesma classe de leite. Para a 2ª derivada os resultados se apresentaram conforme as Figuras a seguir.

A Figura 4.4.7, *scores* para a 2ª derivada em janela de 15 pontos, ilustra as diferentes classes se agrupando em relação à semelhança em sua composição (proteína, gordura, lactose, etc.), com porcentagens de 44 % para a primeira componente principal, PC1 e 15 % para a segunda componente principal, PC2.



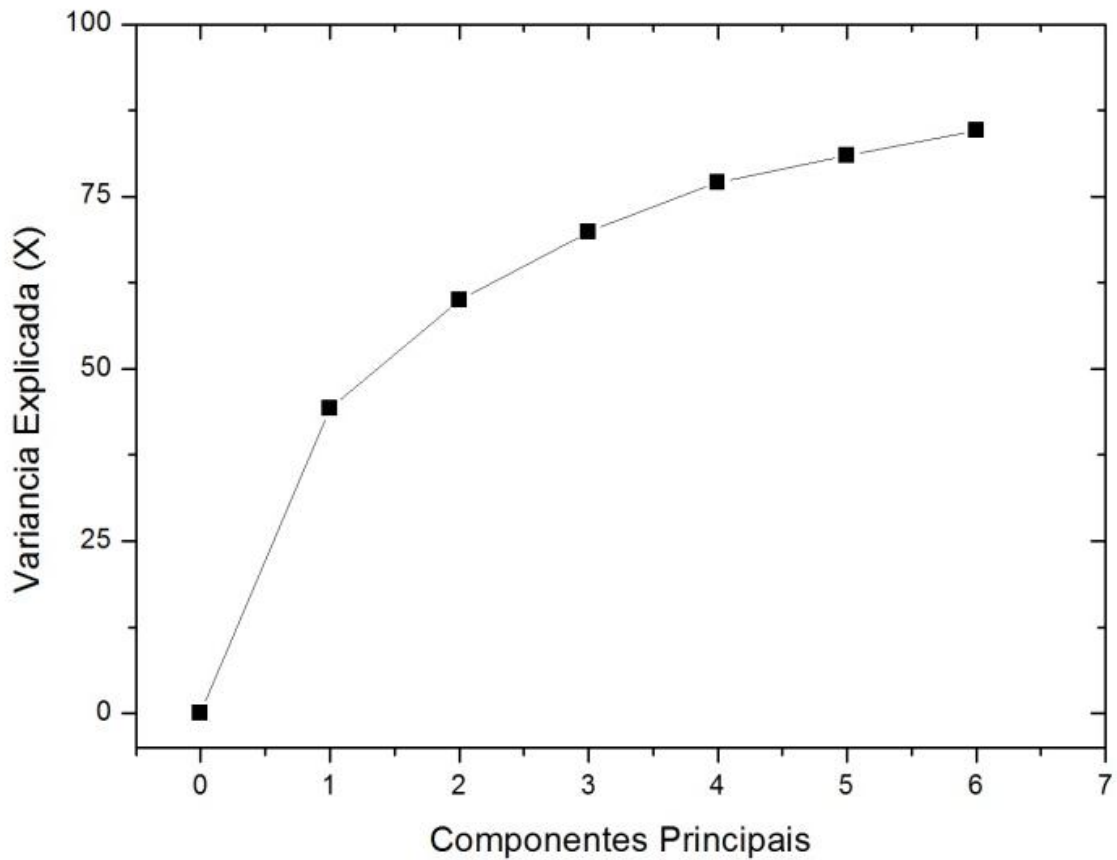
**FIGURA 4.4.7** - Gráfico dos *scores* (PC1 X PC2) para as amostras de leite em pó, com 2ª derivada em janela de 15 pontos.

O gráfico dos *loadings*, Figura 4.4.8, demonstrou as regiões de maior importância na composição das amostras de leite em pó, assim como ocorreu com a 1ª derivada, confirmando a presença de ligações C-H do segundo sobretom entre 1100 e 1300 nm; O-H da água em torno de 1450 nm pertencente ao 1º sobretom; N-H pertencente ao primeiro sobretom em torno de 1470 nm; C-H do primeiro sobretom entre 1690 e 1761 nm; e as regiões referentes a proteínas após o comprimento de onda de 2200 nm.



**FIGURA 4.4.8** - Gráfico dos *loadings* para as amostras de leite em pó, com 2ª derivada em janela de 15 pontos.

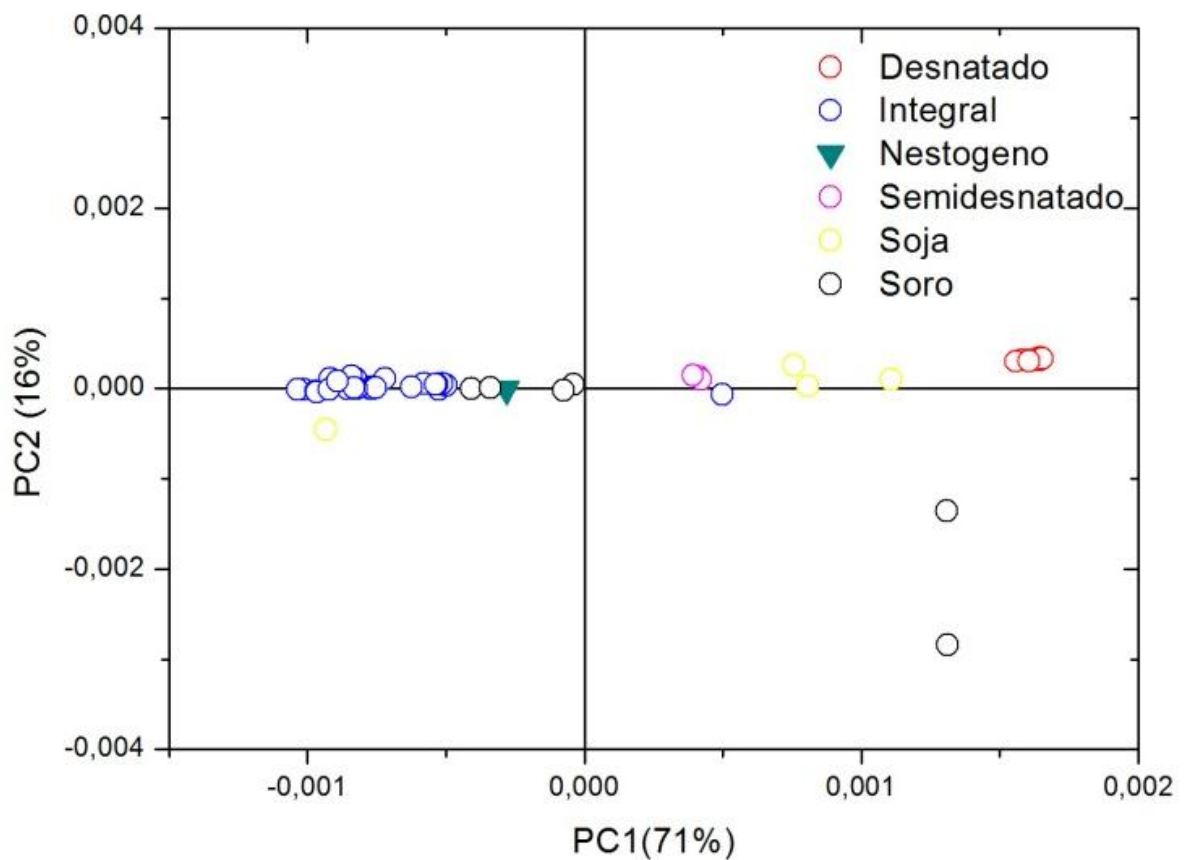
A variância foi explicada pela quantidade de componentes principais. Na Figura 4.4.9 observou-se que a primeira componente principal explicou 44 % da variância, com apenas 15 % das informações explicadas pela 2ª componente.



**FIGURA 4.4.9** - Gráfico da variância explicada para as amostras de leite em pó, com 2ª derivada em janela de 15 pontos.

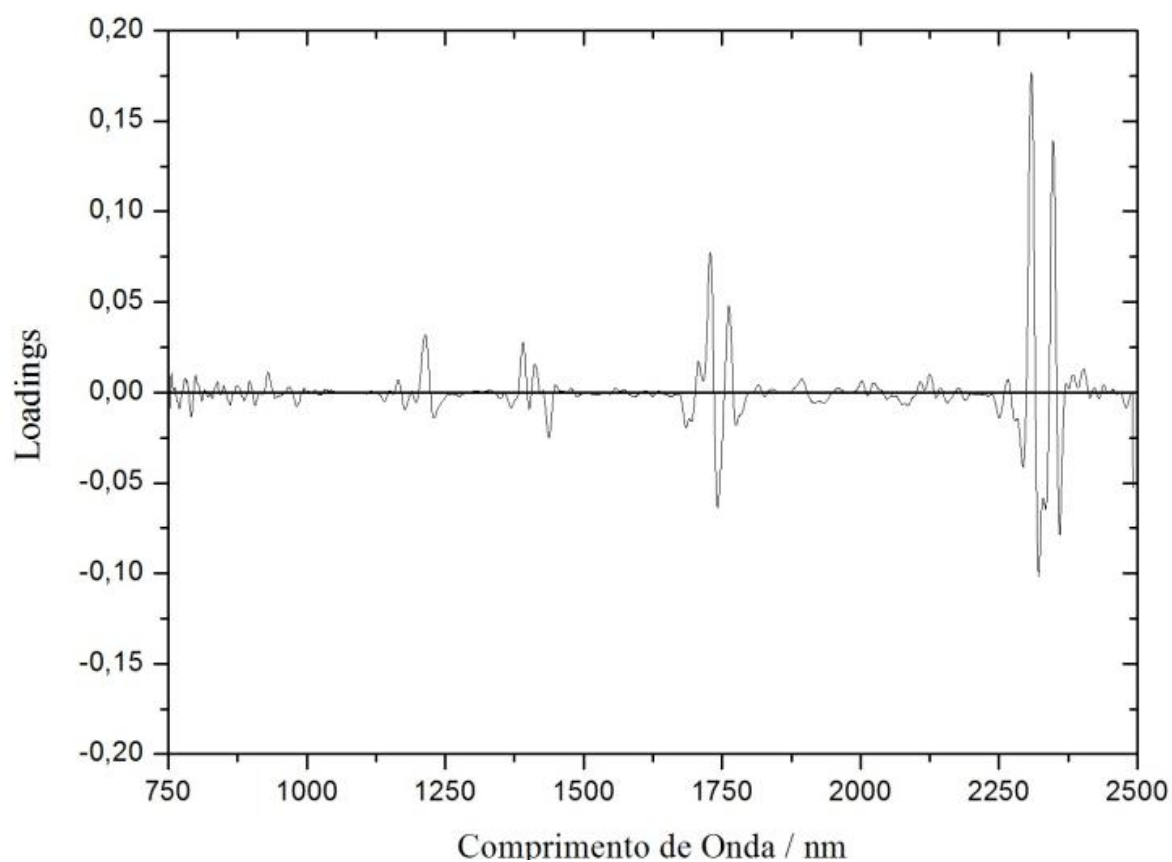
Para a 2ª derivada com janela de 31 pontos, foram obtidos os seguintes resultados. A Figura 4.4.10, gráfico dos *scores*, ilustra o agrupamento das diferentes classes em relação à semelhança em sua composição (proteína, gordura, lactose, etc.), com porcentagens de 71 % para a primeira componente principal, PC1 e 16 % para a segunda componente principal, PC2.





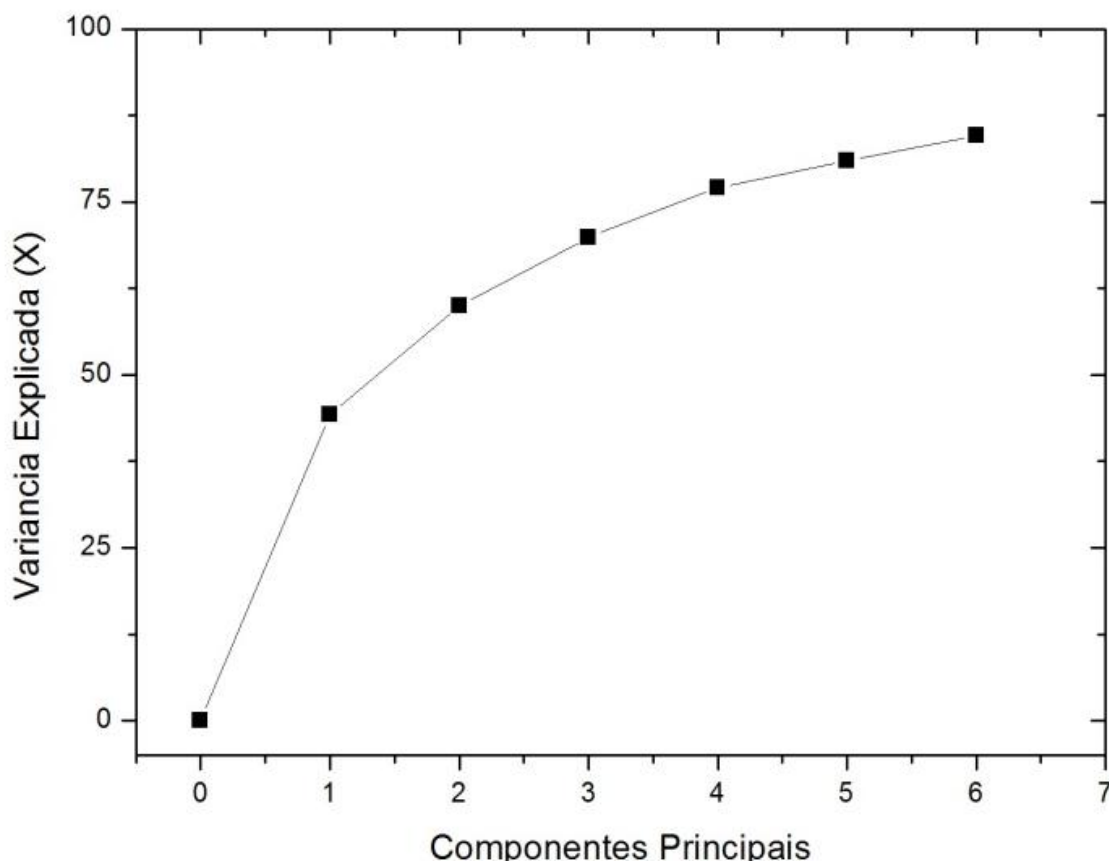
**FIGURA 4.4.10** - Gráfico dos *scores* (PC1 X PC2) para as amostras de leite em pó, com 2ª derivada em janela de 31 pontos.

No gráfico dos *loadings*, Figura 4.4.11, verifica-se as regiões de maior importância no modelo extraído do espectro original, sendo o comportamento semelhante à janela de 15 pontos, confirmando a presença de ligações C-H do segundo sobretom entre 1100 e 1300 nm; O-H da água em torno de 1450 nm pertencente ao 1º sobretom; N-H pertencente ao primeiro sobretom em torno de 1470 nm; C-H do primeiro sobretom entre 1690 e 1761 nm; e as regiões referentes a proteínas após o comprimento de onda de 2200 nm.



**FIGURA 4.4.11** - Gráfico dos *loadings* para as amostras de leite em pó, com 2ª derivada em janela de 31 pontos.

A variância foi explicada pela quantidade de componentes principais. Na Figura 4.4.12, a primeira componente principal explicou 71 % da variância e 16 % das informações foram explicadas pela 2ª componente principal.



**FIGURA 4.4.12** - Gráfico da variância explicada para as amostras de leite em pó, com 2ª derivada em janela de 31 pontos.

Após a realização da 2ª derivada foi possível observar um melhor agrupamento das quatro classes principais de amostras tanto para a janela de 15 pontos como para a janela de 31 pontos, em especial as amostras de leite integral e leite desnatado. As amostras de leite de soja e soro de leite também se agruparam, mas não com tanto êxito da mesma forma que ocorreu com a 1ª derivada.

Devido à semelhança na composição das amostras foi possível o agrupamento em classes. Segundo dados da literatura os leites: integral, desnatado, leite de soja e soro de leite, apresentam teores de proteína e gordura variados. Apesar de não ter sido realizado nenhum tipo de análise quantitativa, esta diferença de composição química pode ter sido útil na discriminação das diferentes categorias de leite em pó. As amostras de leite de soja e soro de leite não se agruparam bem em nenhum dos quatro modelos construídos, o que pode ser causado por falta de um padrão no processo de produção nas indústrias produtoras de tais amostras de leite. Dessa forma foi observado que os resultados da PCA e espectroscopia NIR com reflectância difusa, indicaram ser possível obter um modelo de classificação, mas ainda

não satisfatório para as 4 classes de leite em pó. A seguir a Tabela 4.4 ilustra os valores da variância explicada para as análises PCA para a 1ª derivada em janelas de 15 e 21 pontos, bem como para a 2ª derivada em janelas de 15 e 31 pontos.

**TABELA 4.4.1 – PCA- Variância explicada**

<i><b>DERIVADAS</b></i>	<i><b>PC1</b></i>	<i><b>PC2</b></i>
<i><b>1ª Der. 15 Pontos</b></i>	<b>66 %</b>	<b>15 %</b>
<i><b>1ª Der. 21 Pontos</b></i>	<b>68 %</b>	<b>15 %</b>
<i><b>2ª Der. 15 Pontos</b></i>	<b>44 %</b>	<b>15 %</b>
<i><b>2ª Der. 31 Pontos</b></i>	<b>71 %</b>	<b>16 %</b>

Para a 1ª derivada são observados valores semelhantes da variância explicada para as janelas de 15 e 21 pontos, tanto para a PC1 como para a PC2. Na 2ª derivada os valores para a PC1 se apresentam distintos nas janelas de 15 e 31 pontos, porém se apresentam semelhantes para a PC2, em ambas as janelas.

#### **4.4.2 Programa de Modelagem Independente para Analogia de Classes (SIMCA).**

Depois de construído o gráfico PCA para cada classe de leite em pó: uma PCA para a classe do leite integral, assim como para as classes de leite desnatado, leite de soja e soro de leite, aplicou-se o programa SIMCA para confirmar a classificação das amostras em cada classe e para estimar o erro relativo (%) referente a cada uma delas.

A Tabela 4.5 apresenta os resultados do SIMCA obtidos para o conjunto de dados com um nível de confiança de 95% para o teste F.

TABELA 4.4.2 - Resultados da classificação de amostras de leite em pó por SIMCA.

<i>Amostras</i>	<i>Acertos na classe</i>	<i>Acertos em outra classe</i>
<b>DESNATADO</b>		
<i>SIMCA 1</i>	100 %	0 %
<i>SIMCA 2</i>	100 %	0 %
<i>SIMCA 3</i>	100 %	90 % (Soro)
<i>SIMCA 4</i>	100 %	0 %
<b>INTEGRAL</b>		
<i>SIMCA 1</i>	92,85 %	66,6 % (Soro)
<i>SIMCA 2</i>	92,85 %	50 % (Soro)
<i>SIMCA 3</i>	100 %	66,6 % (Soro)
<i>SIMCA 4</i>	92,85 %	66,6 % (Soro)
<b>SORO</b>		
<i>SIMCA 1</i>	100 %	100 % (integral)
<i>SIMCA 2</i>	100 %	100 % (Integral)
<i>SIMCA 3</i>	100 %	90 % (Desnatado) e 100 % (Integral)
<i>SIMCA 4</i>	100 %	100 % (Integral)
<b>SOJA</b>		
<i>SIMCA1</i>	100 %	100 % (Desnatado, Integral e Soro)
<i>SIMCA 2</i>	100 %	100 % (Desnatado, Integral e Soro)
<i>SIMCA 3</i>	100 %	100 % (Desnatado, Integral e Soro)
<i>SIMCA 4</i>	100 %	100 % (Desnatado, Integral e Soro)

A classe das amostras de leite em pó desnatado indicou 100 % de acerto dentro da sua classe no modelo de classificação, o que era de se esperar ao visualizar seu agrupamento no gráfico da PCA, apresentando apenas um acerto em outra classe de leite. A classe das amostras de leite integral apresentou mais de 90 % de acertos em sua classe que pode ser observado por seu agrupamento no PCA. Apresentou também um erro na sua classe em torno de 7 %, e acerto em torno de 66 % na classe do soro de leite. A classe das amostras de soro de leite apresentou 100 % de acerto em sua classe, porém um grande percentual de acertos também em outras classes como integral e desnatado (100 e 90 % respectivamente). A classe das amostras de leite de soja apresentou 100 % de acerto em sua classe, mas apresentou também 100 % de acertos em outras classes como soro, integral e desnatado. O número de

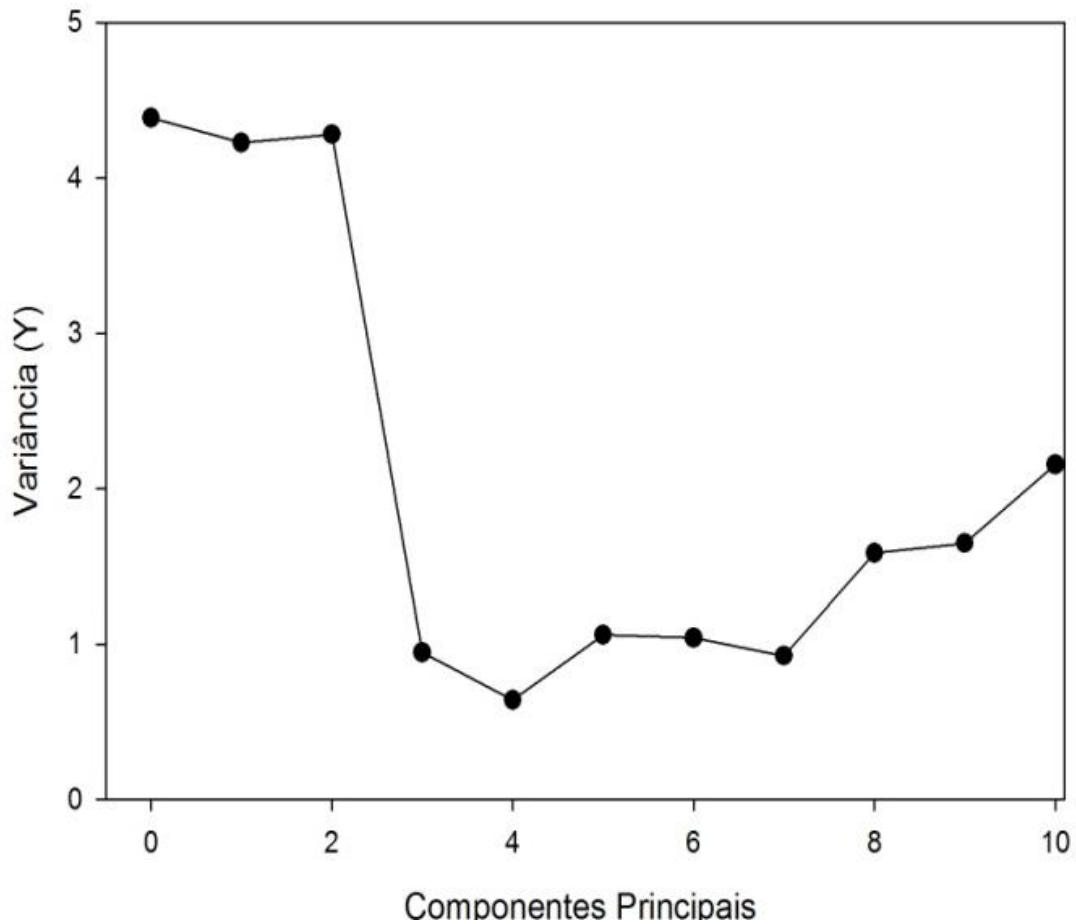
amostras de leite de soja e soro de leite analisado foi pequeno, se comparado com as demais classes, sendo interessante obter um número maior de tais amostras para que as mesmas viessem a se agrupar mais satisfatoriamente em suas classes e não se confundissem em outras classes. Os resultados do SIMCA para a classe do leite desnatado foram os mais satisfatórios, uma vez que apresentaram 100 % de acertos em sua classe e 0 % de acerto em outra classe, com exceção do SIMCA 3 com 90 % de acerto na classe do soro de leite. Para as demais classes, os resultados dos SIMCA apresentaram um excelente grau de acerto em suas classes, porém apresentando também uma elevada percentagem de erro tipo I, quando a amostra pertence a mais de uma classe.

#### 4.5 REGRESSÃO POR COMPONENTES PRINCIPAIS (PCR)

No método de regressão por componentes principais (PCR) foram empregadas etapas semelhantes ao PCA, sendo observadas as mesmas condições: pré-tratamentos (Alisamento, MSC, 1ª e 2ª derivadas) e os melhores resultados (1ª derivada em janela de 15 e 21 pontos e 2ª derivada em janelas de 15 e 31 pontos). As amostras foram subdivididas em três categorias: 27 amostras para a fase de calibração, 13 amostras para a fase de validação (série de teste) e 13 amostras para a fase de previsão externa. A equação de calibração é capaz de prever valores de Y desconhecidos. A calibração pode ser obtida por um modelo matemático através dos dados experimentais. A função de calibração mais conveniente é linear, passa pela origem e é aplicável em uma ampla faixa dinâmica. Na calibração, é aplicada regressão, o que significa que todas as observações são dependentes de uma única variável x. Para a validação, também é útil olhar para o gráfico de y versus  $\hat{y}$  para as amostras utilizadas para testes. Os testes de previsão baseiam-se na divisão do conjunto de dados em dois, um para a calibração e outro para validação / teste.

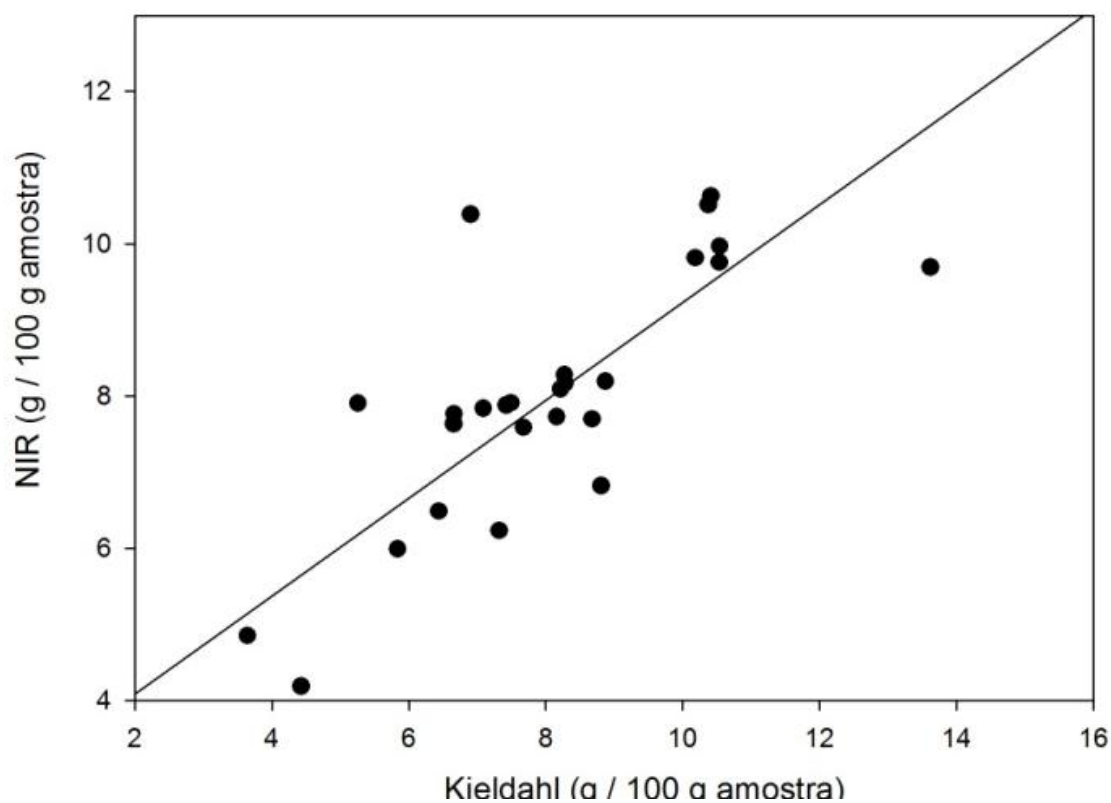
A matriz de dados X foi decomposta e relacionada aos resultados da análise PCA com os dados da matriz Y. As Figuras a seguir demonstram os resultados obtidos.

No gráfico da variância, Figura 4.5, dados com 1ª derivada em janela de 15 pontos, observa-se que com apenas duas componentes principais, obtêm-se quase todas as informações sobre a variância e nota-se que quanto maior o número de componentes principais menor o número de informações.



**FIGURA 4.5**– Gráfico da variância para as amostras de leite em pó, com 1ª derivada em janela de 15 pontos.

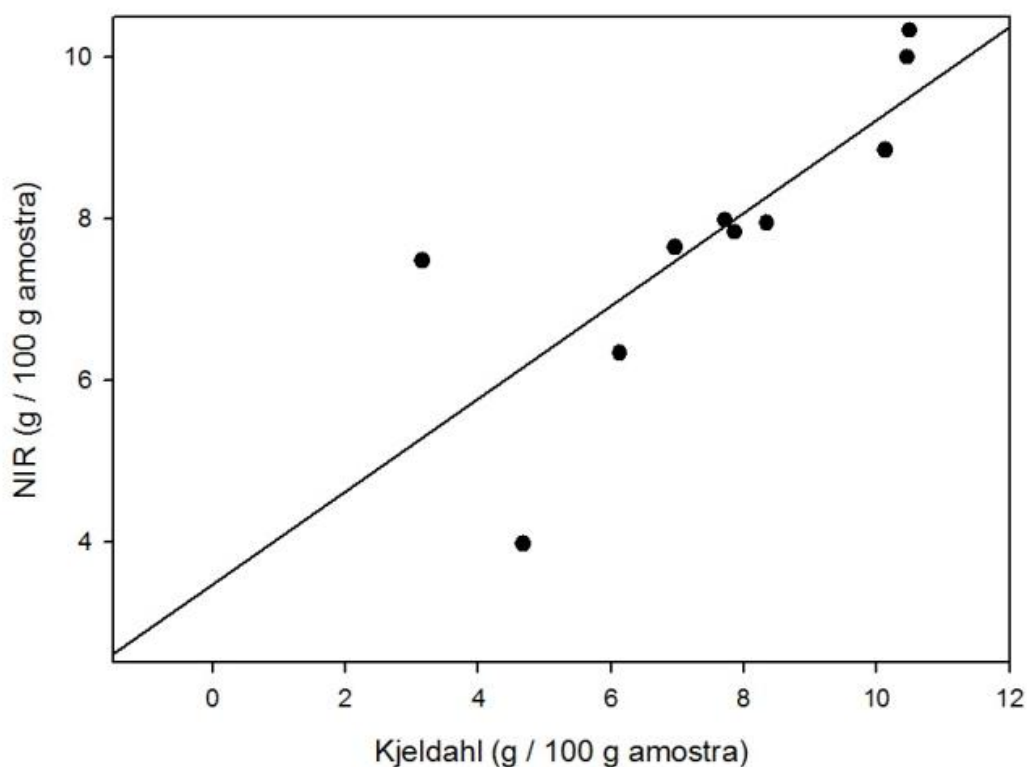
A Figura 4.6 ilustra o gráfico de calibração, onde se compara o teor de proteína medido pelo método de referência Kjeldahl com o medido através da técnica NIR. Observou-se que a maioria das amostras se comportou satisfatoriamente, com teores de proteínas próximos aos medidos em NIR. Porém algumas amostras se comportaram de forma anômala, não se ajustando a este modelo, apresentando assim um erro de calibração igual a 1,32 e correlação de 0,80 não satisfatórias, uma vez que era esperado que esse valor se aproximasse o máximo possível do valor 1. As amostras que mais se distanciaram do modelo foram retiradas e o modelo recalculado para se obter um melhor resultado.



**FIGURA 4.6** - Gráfico de Calibração para as amostras de leite em pó, com 1ª derivada em janela de 15 pontos.

Após a calibração, foi realizada a previsão, onde os resultados, Figura 4.7, apresentaram-se semelhantes à calibração. Algumas amostras apresentaram valores semelhantes no método Kjeldahl e na técnica NIR, porém com valores de erro de previsão e correlação de 1,47e 0,78 respectivamente, não tão satisfatórios. As amostras que se apresentaram muito distantes do modelo foram retiradas e o modelo recalculado, para a obtenção de um melhor resultado.

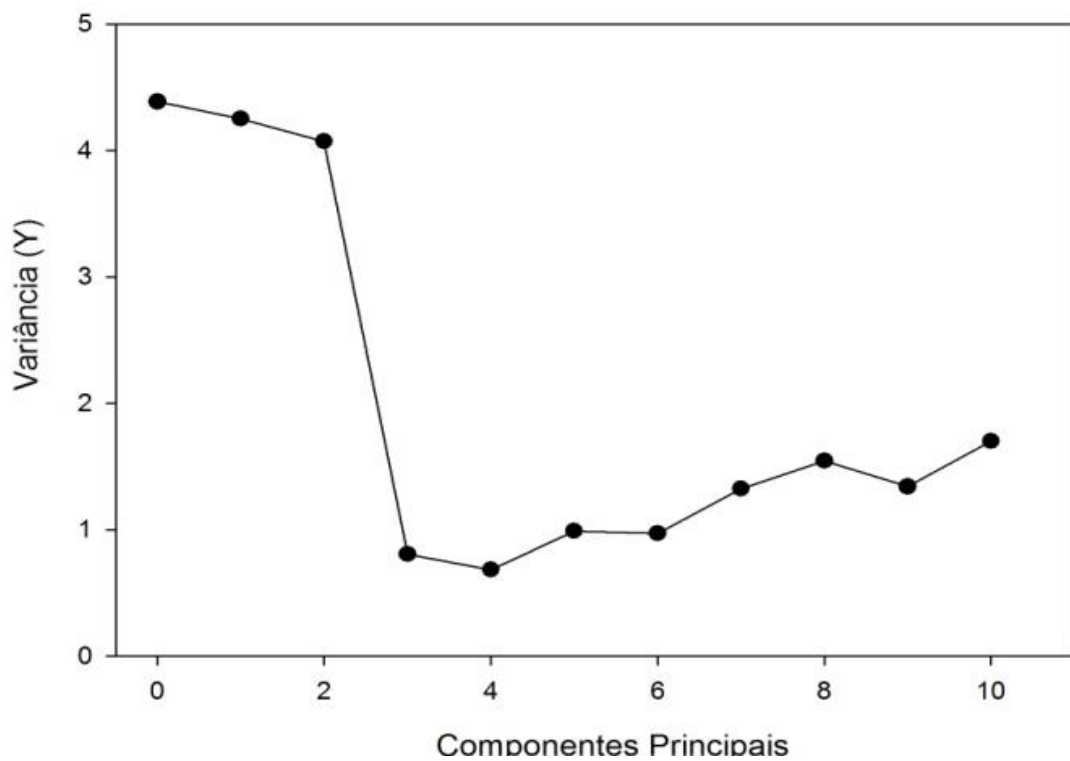




**FIGURA 4.7** – Gráfico de previsão para as amostras de leite em pó, com 1ª derivada em janela de 15 pontos.

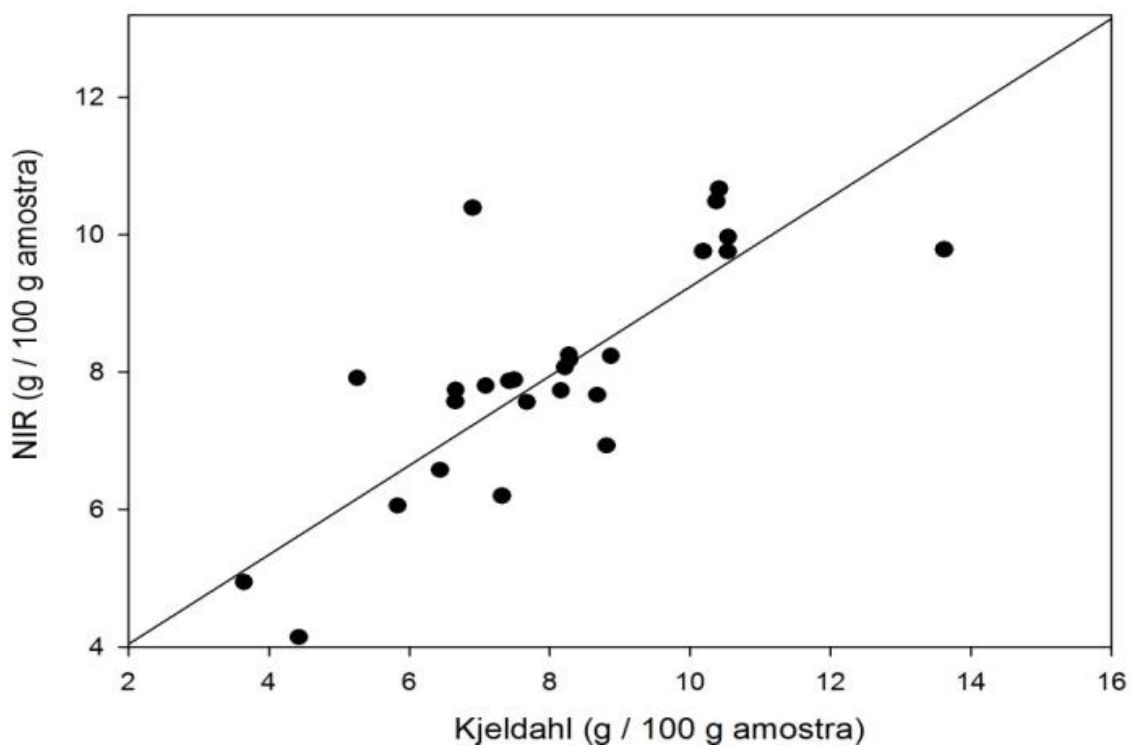
Após as medidas com 1ª derivada em janela de 15 pontos, realizaram-se também medidas em janela de 21 pontos. Os resultados são apresentados a seguir.

No gráfico da variância, Figura 4.8, observa-se que com apenas duas componentes principais, assim como na janela de 15 pontos, obtêm-se quase todas as informações sobre a variância e nota-se que quanto maior o número de componentes principais, menor o número de informações.



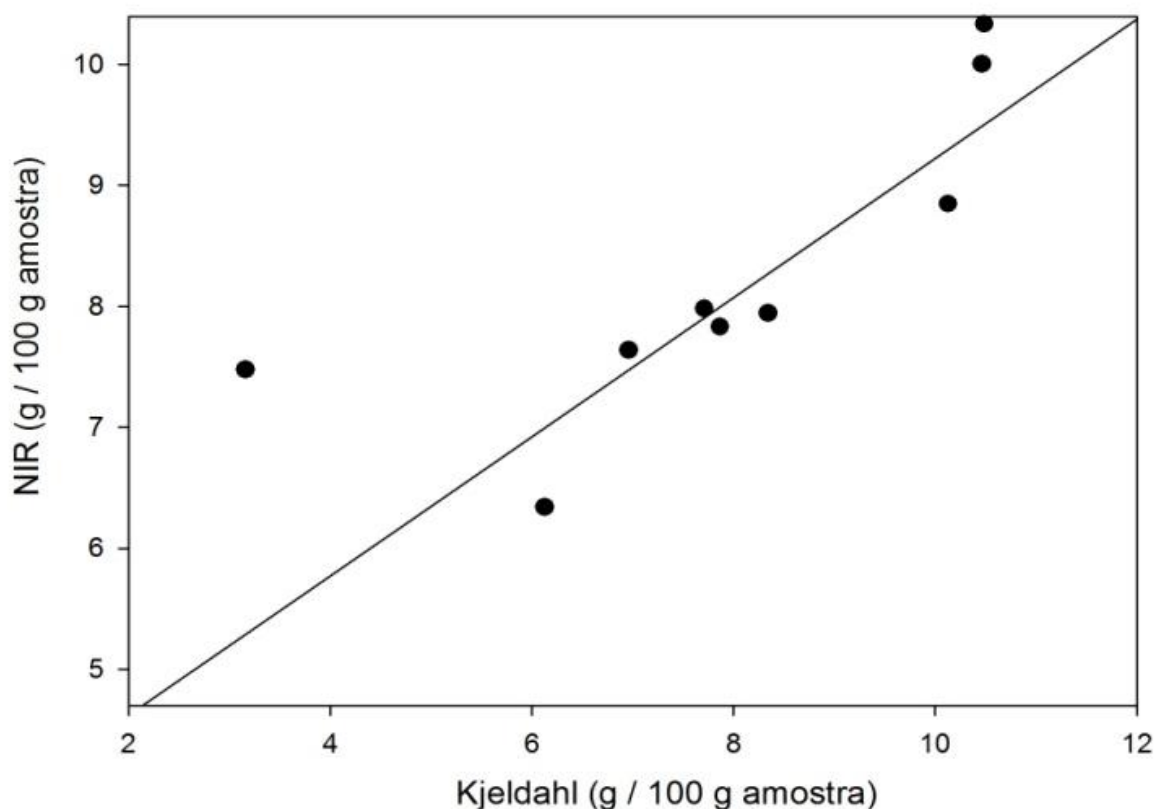
**FIGURA 4.8** – Gráfico da variância para as amostras de leite em pó, com 1ª derivada em janela de 21 pontos.

A Figura 4.9 ilustra o gráfico de calibração, onde se compara o teor de proteína medido pelo método de referência Kjeldahl com o medido no NIR. Assim como para a janela de 15 pontos, observou-se que a maioria das amostras se comportou satisfatoriamente, com teores de proteínas próximos aos medidos em NIR. Porém algumas amostras se comportaram de forma anômala, não se ajustando a este modelo. Os valores da correlação e erro de calibração foram próximos aos encontrados para a janela de 15 pontos, 0,80 para a correlação e 1,31 para o erro, tendo sido retiradas as amostras mais distantes do modelo, e o modelo recalculado para obtenção de resultados mais satisfatórios.



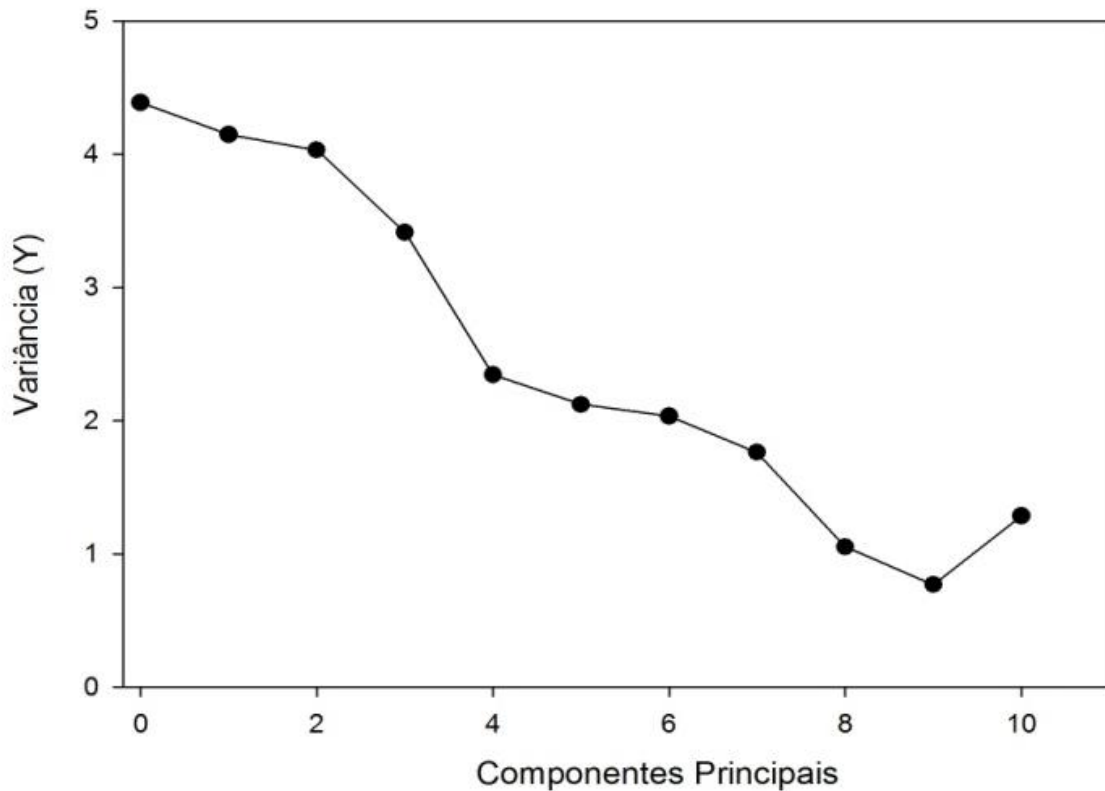
**FIGURA 4.9** - Gráfico de Calibração para as amostras de leite em pó, com 1ª derivada em janela de 21 pontos.

Após a calibração, foi realizada a previsão, onde esse modelo, Figura 4.10, não se apresenta tão satisfatório, uma vez que algumas amostras não apresentaram teor de proteína compatível com o valor previsto, tendo os valores de erro de previsão e correlação insatisfatórias. A correlação foi 0,79, enquanto o erro de previsão foi de 1,46. As amostras que se apresentaram mais distantes do modelo foram retiradas para a realização de um novo cálculo, para que se obtivesse resultado mais satisfatório.



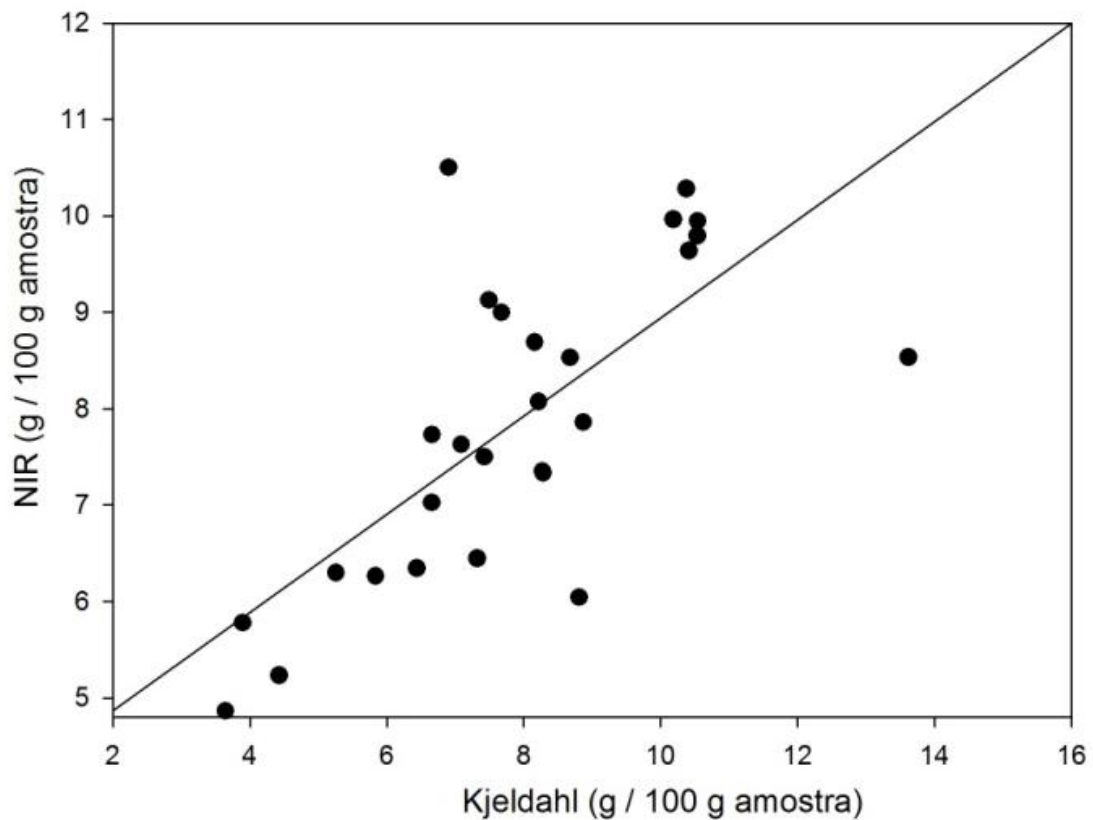
**FIGURA 4.10-** Gráfico de previsão para as amostras de leite em pó, com 1ª derivada em janela de 21 pontos.

Após a realização do método PCR com 1ª derivada, foi realizado também PCR com 2ª derivada, para se observar e comparar os resultados em ambas as derivadas. A seguir são apresentados os dados para a 2ª derivada em janela de 15 pontos. No gráfico da variância, Figura 4.11, observa-se que com apenas duas componentes principais, assim como na 1ª derivada em janela de 15 pontos, obtêm-se quase todas as informações sobre a variância e nota-se que quanto maior o número de componentes principais, menor o número de informações.



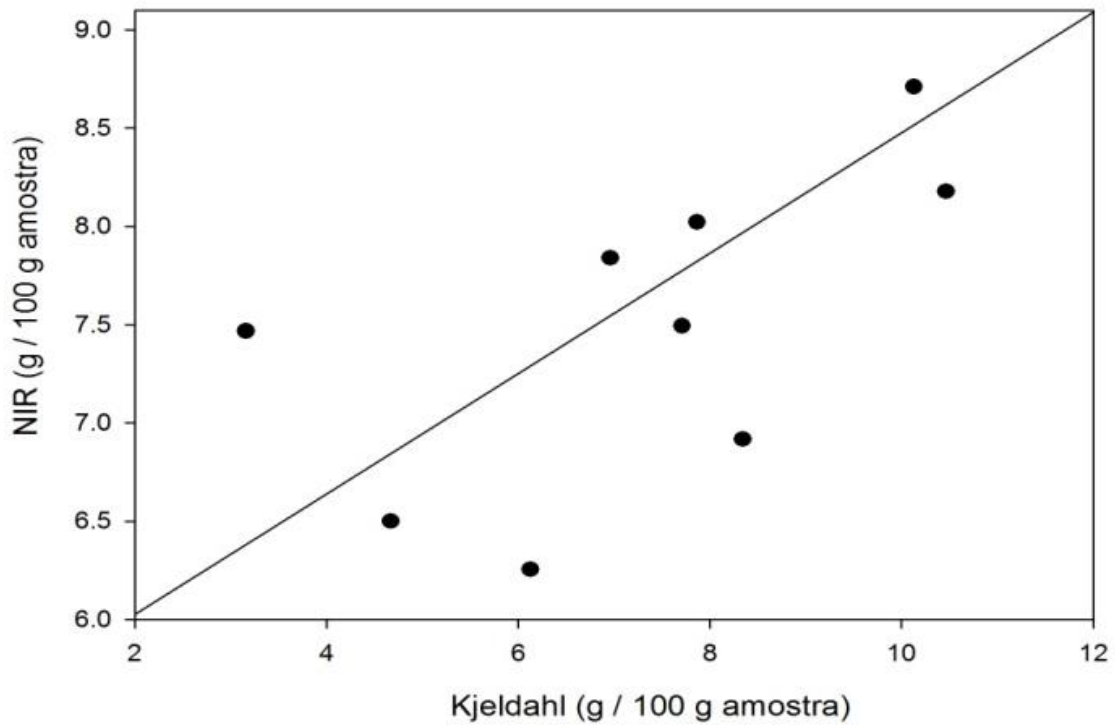
**FIGURA 4.11** - Gráfico da variância para as amostras de leite em pó, com 2ª derivada em janela de 15 pontos.

No processo de calibração, onde se comparou o teor de proteína medido pelo método de referência Kjeldahl com o medido no NIR, Figura 4.12, observou-se que a maioria das amostras se comportou satisfatoriamente, com teores de proteínas próximos aos medidos em NIR, assim como ocorreu com a 1ª derivada. Porém algumas amostras se comportaram de forma anômala, não se ajustando a este modelo. A calibração apresentou um erro de 1,55 e uma correlação de 0,71 não tão satisfatória. Assim como para a 1ª derivada, as amostras que se apresentaram distantes do modelo foram retiradas e em seguida realizados novos cálculos com o intuito de se obter melhores resultados.



**FIGURA 4.12** - Gráfico de Calibração para as amostras de leite em pó, com 2ª derivada em janela de 15 pontos.

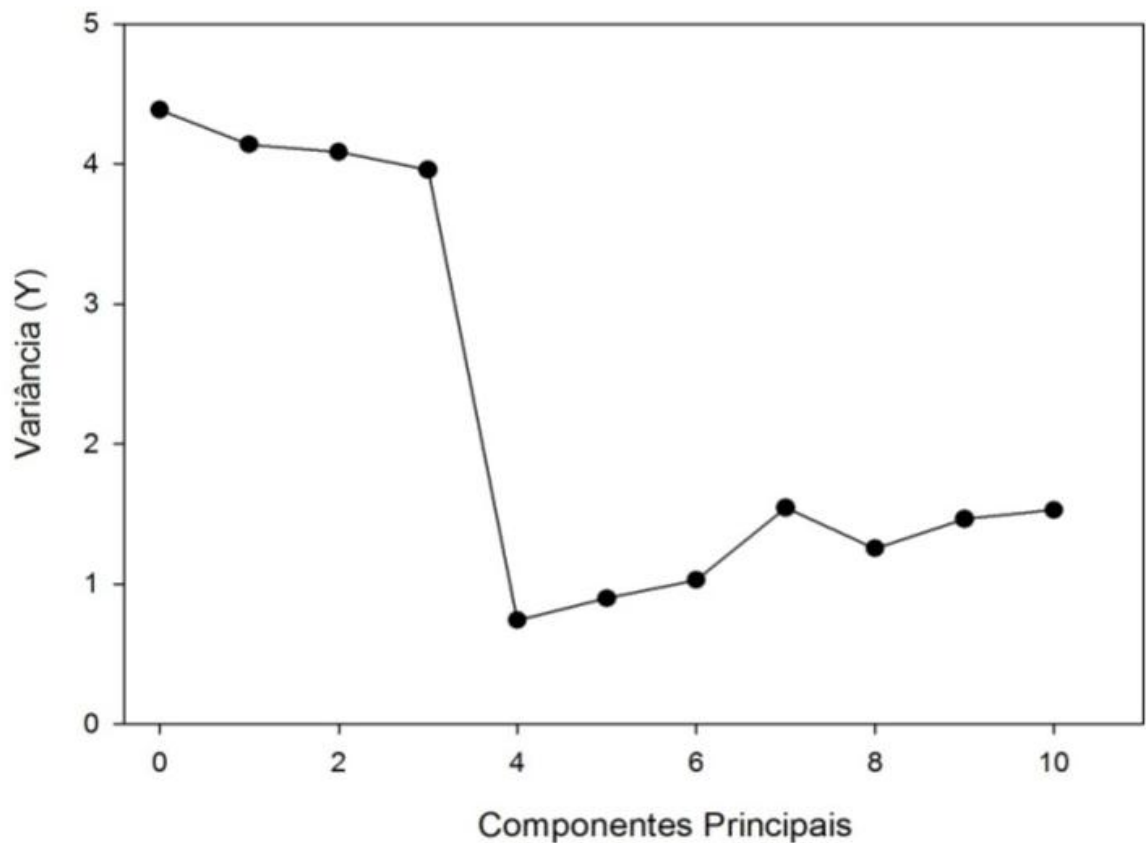
O modelo de previsão foi realizado logo após a calibração, Figura 4.13, não se apresentando tão satisfatório, uma vez que algumas amostras não apresentaram teor de proteína compatível com o valor previsto. A correlação da previsão foi de 0,68, a menor dos quatro resultados mais significativos. E apresentou um erro de 1,79, o maior dos resultados estudados. Assim como na calibração, no modelo de previsão também foram retiradas as amostras que se apresentaram distantes do modelo e esse modelo recalculado para se observar um resultado mais satisfatório.



**FIGURA 4.13** - Gráfico de previsão para as amostras de leite em pó, com 2ª derivada em janela de 15 pontos.

Após a realização das medidas com 2ª derivada em janela de 15 pontos, observaram-se também as medidas em janela de 31 pontos, para a comparação de tais resultados. A seguir os resultados para a janela de 31 pontos.

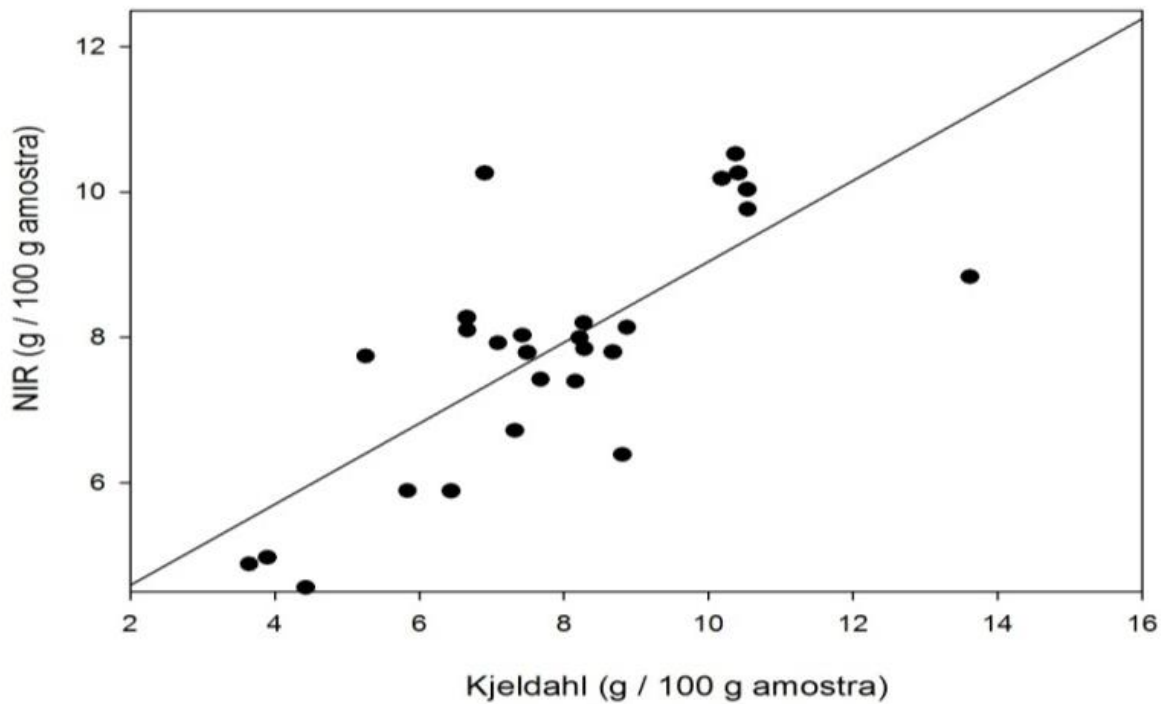
No gráfico da variância, Figura 4.14, observa-se que com apenas duas componentes principais, assim como na 1ª derivada e 2ª derivada em janela de 15 pontos, obtêm-se quase todas as informações sobre a variância e nota-se que quanto maior o número de componentes principais, menor o número de informações.



**FIGURA 4.14-** Gráfico da variância para as amostras de leite em pó, com 2ª derivada em janela de 31 pontos.

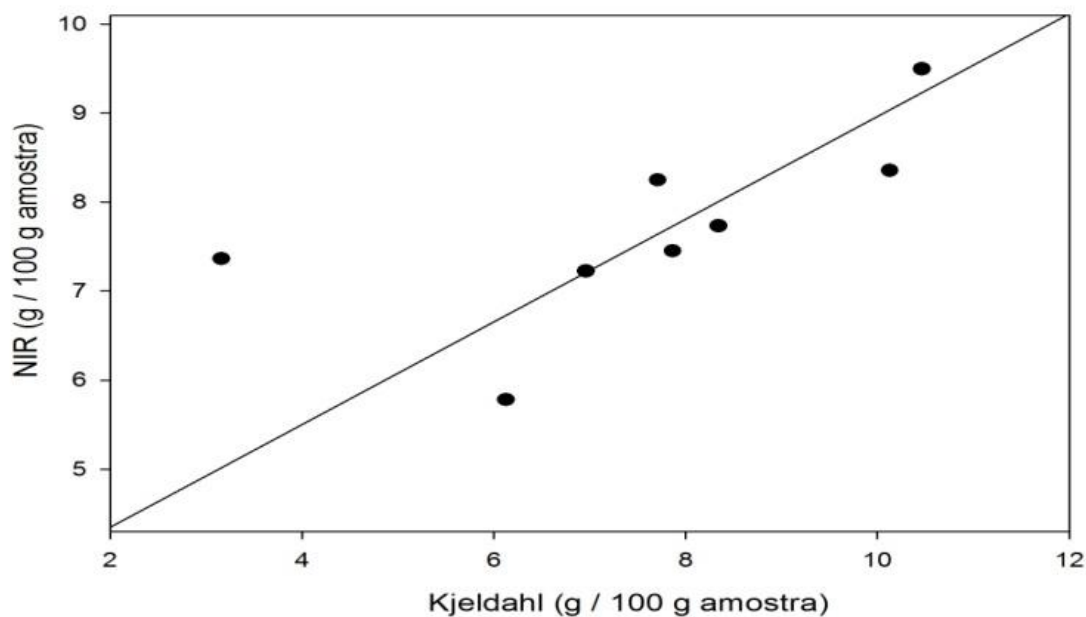
A calibração foi realizada e o resultado expresso no seu gráfico, Figura 4.15, onde se comparou o teor de proteína medido pelo método de referência Kjeldahl com o medido no NIR. Observou-se que a maioria das amostras se comportou satisfatoriamente, com teores de proteínas próximos aos medidos em NIR, assim como ocorreu com a 1ª derivada e 2ª derivada em janela de 15 pontos. Porém algumas amostras se comportaram de forma anômala, não se ajustando a este modelo. Os valores de correlação e erro de calibração foram de 0,74 e 1,47 respectivamente.





**FIGURA 4.15** - Gráfico de Calibração para as amostras de leite em pó, com 2ª derivada em janela de 31 pontos.

A realização da previsão ocorreu após a calibração e seu modelo é ilustrado na Figura 4.16. O modelo de previsão não se apresenta tão satisfatório, uma vez que algumas amostras não apresentaram teor de proteína compatível com o valor previsto. Seus valores de correlação e erro de previsão se aproximaram dos valores da calibração. Sendo a correlação de 0,75 e erro de 1,54.



**FIGURA 4.16** - Gráfico de previsão para as amostras de leite em pó, com 2ª derivada em janela de 31 pontos.

Observando-se os resultados obtidos, nota-se que a 1ª derivada em janela de 21 pontos apresentou os resultados mais significativos, uma vez que a correlação ficou mais próxima do valor 1, que é o valor considerado satisfatório. E o seu erro apresentou o menor valor, em relação aos demais resultados, tanto na calibração como na previsão. A Tabela 4.6 a seguir demonstra os resultados das modelagens dos dados obtidos.

**TABELA 4.5.** Resultados das modelagens para os dados obtidos em PCR

<i>Pré-tratamentos</i>	<i>Calibração</i>			<i>Previsão</i>		
	$R^2$	RMSEC	Inclinação	$R^2$	RMSEP	Inclinação
<i>(1) - 1ª Derivada - 15 pontos</i>	0,80	1,32	0,64	0,78	1,47	0,57
<i>(2) - 1ª Derivada - 21 pontos</i>	0,80	1,31	0,65	0,79	1,46	0,57
<i>(3) - 2ª Derivada - 15 pontos</i>	0,71	1,55	0,51	0,68	1,79	0,31
<i>(4) - 2ª Derivada - 31 pontos</i>	0,74	1,47	0,56	0,75	1,54	0,58

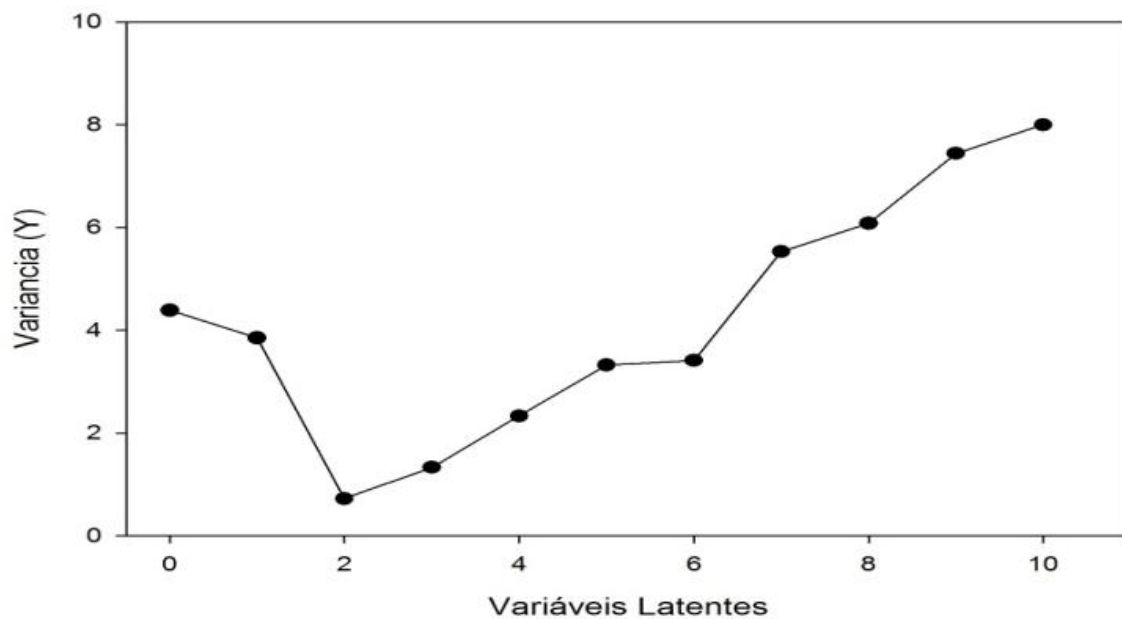
O método PCR leva somente em consideração os valores da matriz X, mas não a matriz y (proteínas), por isso os resultados observados não se apresentam de forma muito

satisfatória. Os valores da correlação se apresentaram abaixo de 1, quando o esperado é que tal valor se aproxime o máximo desse número. Já os valores de calibração e previsão, RMSEC e RMSEP, respectivamente, se apresentaram maiores que 1, quando o indicado é que esses valores sejam próximos e mínimos. Em seguida ao método PCR foi realizado o método PLS, que leva em consideração as matrizes  $x$  e  $y$ .

#### 4.6 REGRESSÃO POR MÍNIMOS QUADRADOS PARCIAS (PLS)

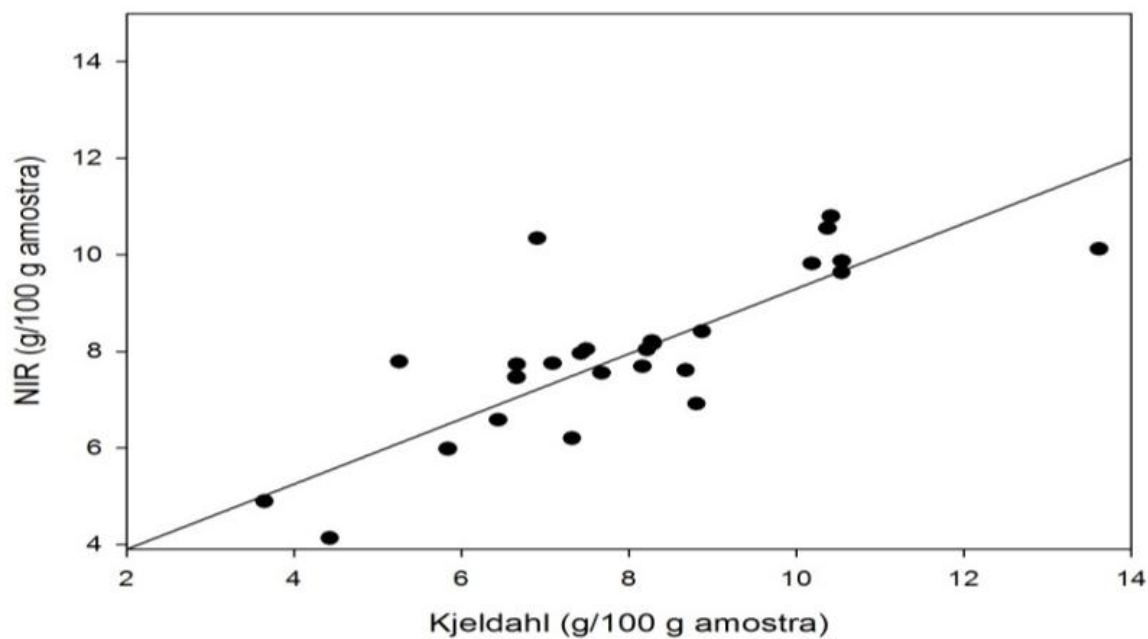
O conjunto de dados obtidos foi organizado na forma de uma matriz (matriz  $X$ ) e as amostras subdivididas em três categorias: 27 amostras para a fase de calibração, 13 amostras para a fase de validação (série de teste) e 13 amostras para a fase de previsão externa. Uma segunda matriz  $53 \times 1$ , (matriz  $Y$ ), formada pelos valores médios de proteína total (g proteína / 100 g amostra) foi determinada pelo método Kjeldahl. Para a realização do PLS foram utilizadas as mesmas condições da análise PCA: os mesmos pré-tratamentos (Alisamento, MSC, 1ª e 2ª derivadas) bem como os quatro melhores resultados (1ª derivada em janela de 15 e 21 pontos e 2ª derivada em janela de 15 e 31 pontos). As Figuras a seguir ilustram os resultados obtidos.

No gráfico da variância, Figura 4.17, observar-se que a variância cresce à medida que o número de variáveis latentes também cresce, ou seja, a máxima variância será alcançada com um maior número de variáveis latentes.



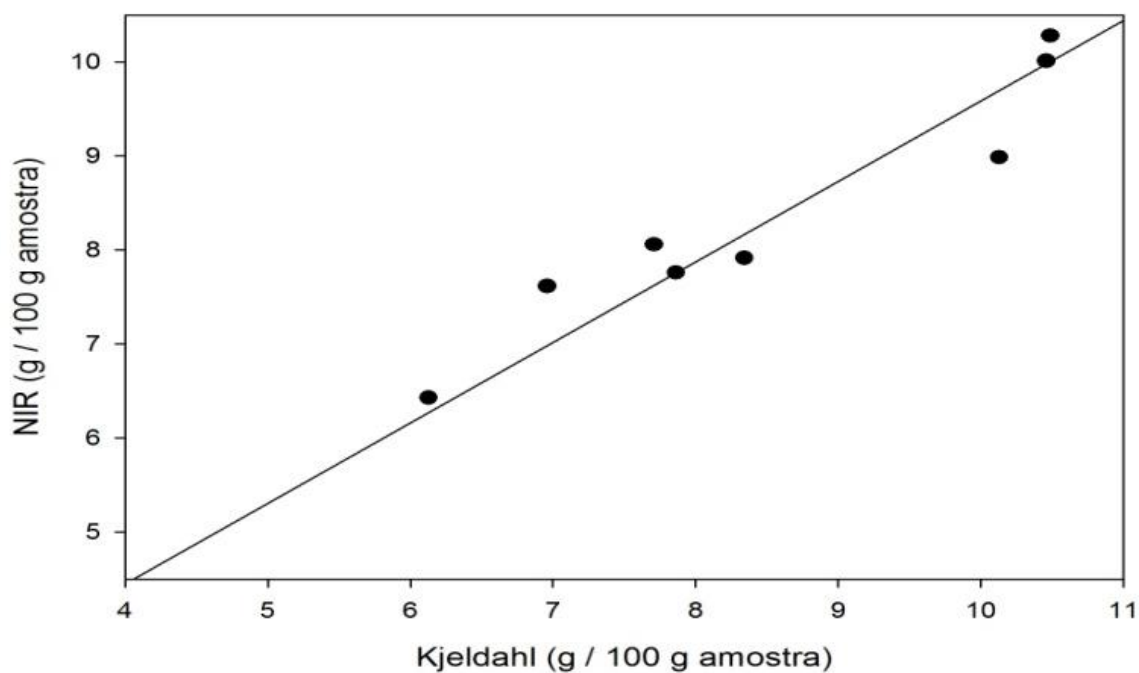
**FIGURA 4.17** - Gráfico da variância para as amostras de leite em pó, com 1ª derivada em janela de 15 pontos.

Os resultados do PLS foram mais satisfatórios que os resultados do PCR, o que pode ser observado através do gráfico de calibração, Figura 4.18, onde nota-se que os teores de proteínas medidos pelo método Kjeldahl são compatíveis com os medidos em NIR, com correlação 0,82, e de erro de calibração de 1,26. Assim como nos modelos PCR, em PLS as amostras que se apresentaram mais distantes do modelo foram retiradas e o modelo recalculado com o intuito de se obter melhores resultados.



**FIGURA 4.18** - Gráfico de Calibração para as amostras de leite em pó, com 1ª derivada em janela de 15 pontos.

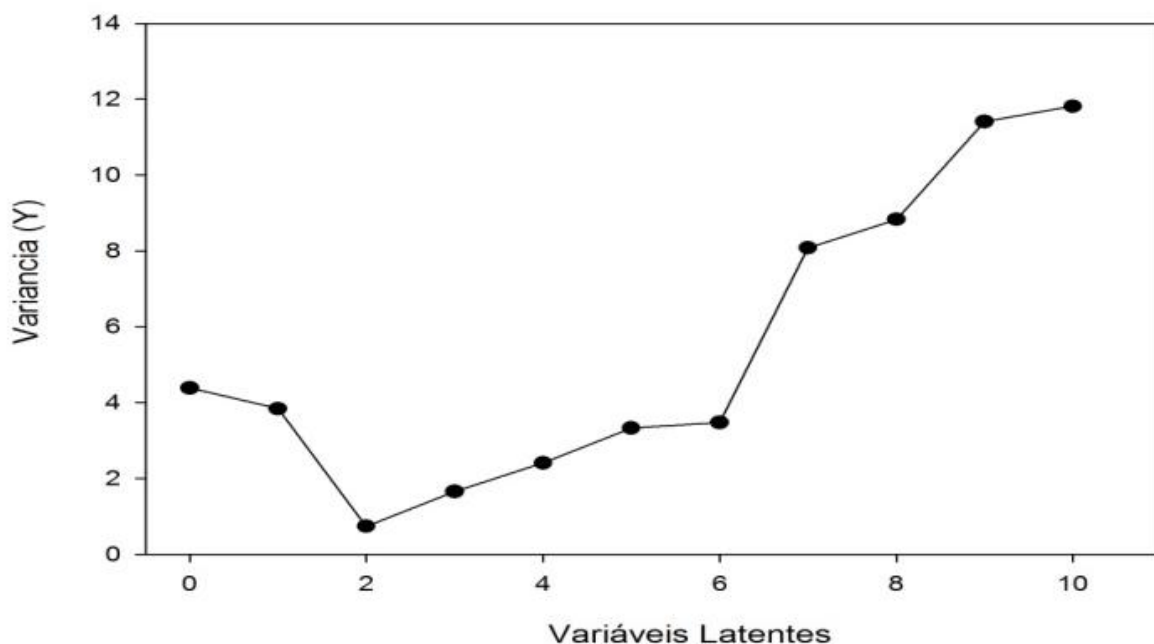
Logo após a calibração, foi realizado o método de previsão, ilustrado na Figura 4,19, com um resultado mais satisfatório que o método PCR, uma vez que os valores previstos e os valores previamente conhecidos (Kjeldahl) são semelhantes, apresentando uma correlação igual 0,98, a maior dos resultados obtidos, com erro de previsão de 0,52.



**FIGURA 4.19** – Gráfico da previsão para as amostras de leite em pó, com 1ª derivada em janela de 15 pontos.

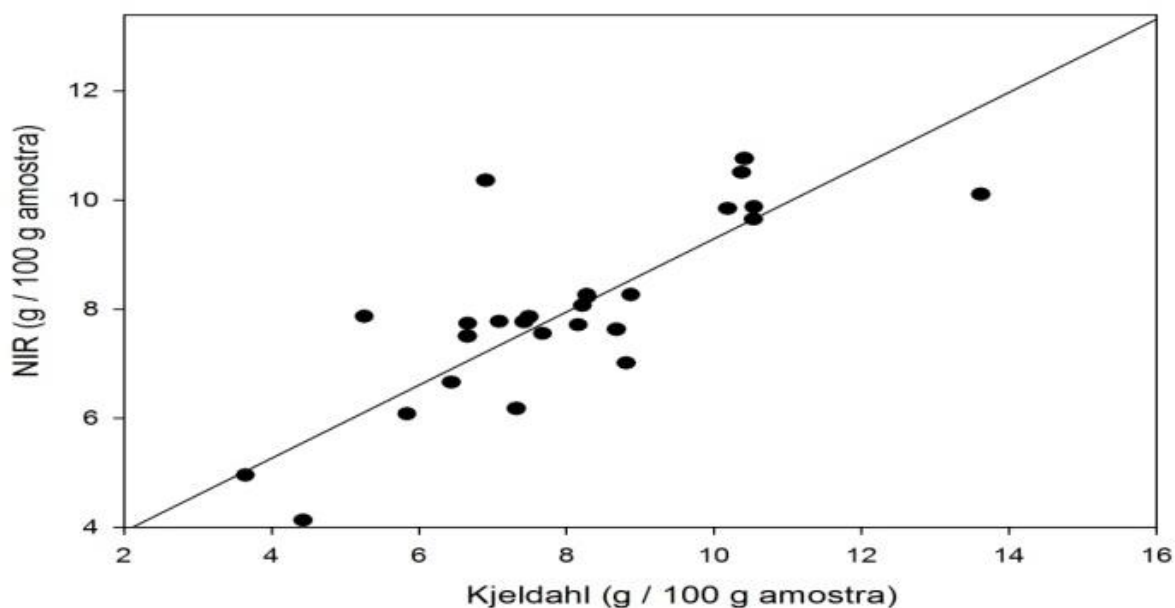
Assim como no método PCR, foram realizadas 1ª derivada em janelas de 15 e 21 pontos, em busca de um melhor resultado. A seguir, observam-se os resultados para a janela de 21 pontos.

No gráfico da variância, Figura 4,20, observa-se que a variância cresce na medida em que o número de variáveis latentes também cresce, ou seja, a máxima variância será alcançada com um maior número de variáveis latentes, o mesmo que ocorreu com a janela de 15 pontos.



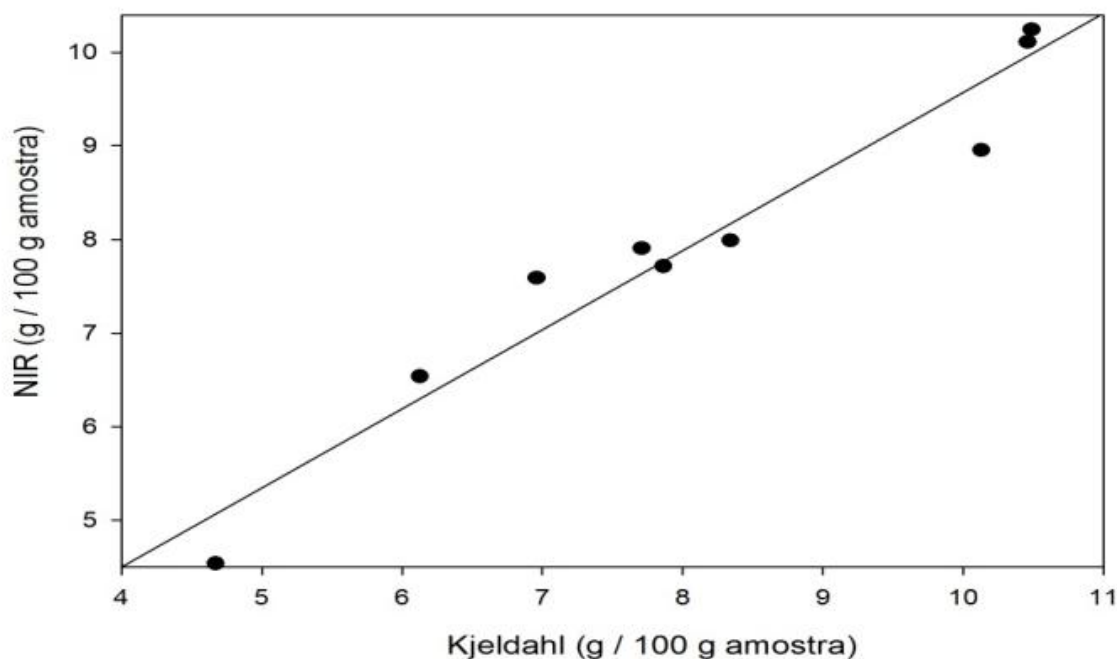
**FIGURA 4.20** - Gráfico da variância para as amostras de leite em pó, com 1ª derivada em janela de 21 pontos.

Assim como para a janela de 15 pontos, os resultados do PLS foram mais satisfatórios que os resultados do PCR. Na calibração realizada, ilustrada na Figura 4.21, os teores de proteínas medidos pelo método Kjeldahl são compatíveis com os medidos em NIR, apresentando uma correlação de 0,82 e erro de 1,27, valores semelhantes à janela de 15 pontos. Retirou-se do modelo as amostras mais distantes, em seguida o modelo foi recalculado para a obtenção de melhores resultados.



**FIGURA 4.21** - Gráfico de Calibração para as amostras de leite em pó, com 1ª derivada em janela de 21 pontos.

A previsão realizada após a calibração é apresentada na Figura 4.22, e ilustra um resultado satisfatório, uma vez que os valores previstos e os valores previamente conhecidos (Kjeldahl) são semelhantes, apresentando correlação de 0,97 e erro de previsão igual a 0,51, o menor entre os observados.

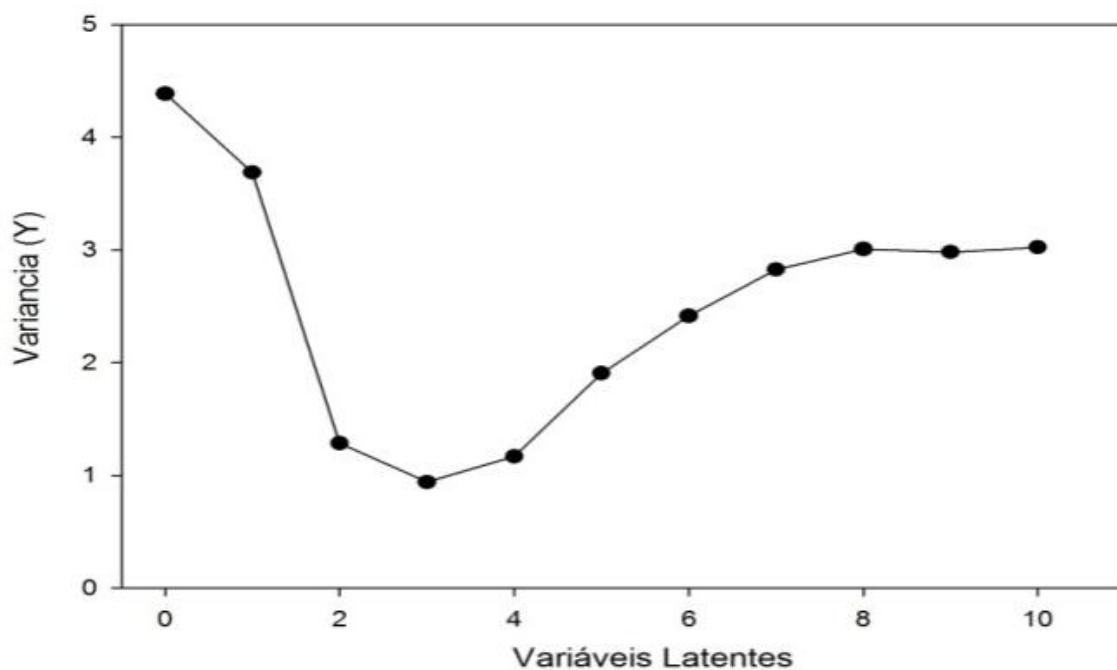


**FIGURA 4.22** - Gráfico da previsão para as amostras de leite em pó, com 1ª derivada em janela de 21 pontos.

Após a realização da 1ª derivada, foram também realizadas 2ª derivadas em janelas de 15 e 31 pontos, para se observar e comparar tais resultados. A seguir são apresentados os valores para a 2ª derivada.

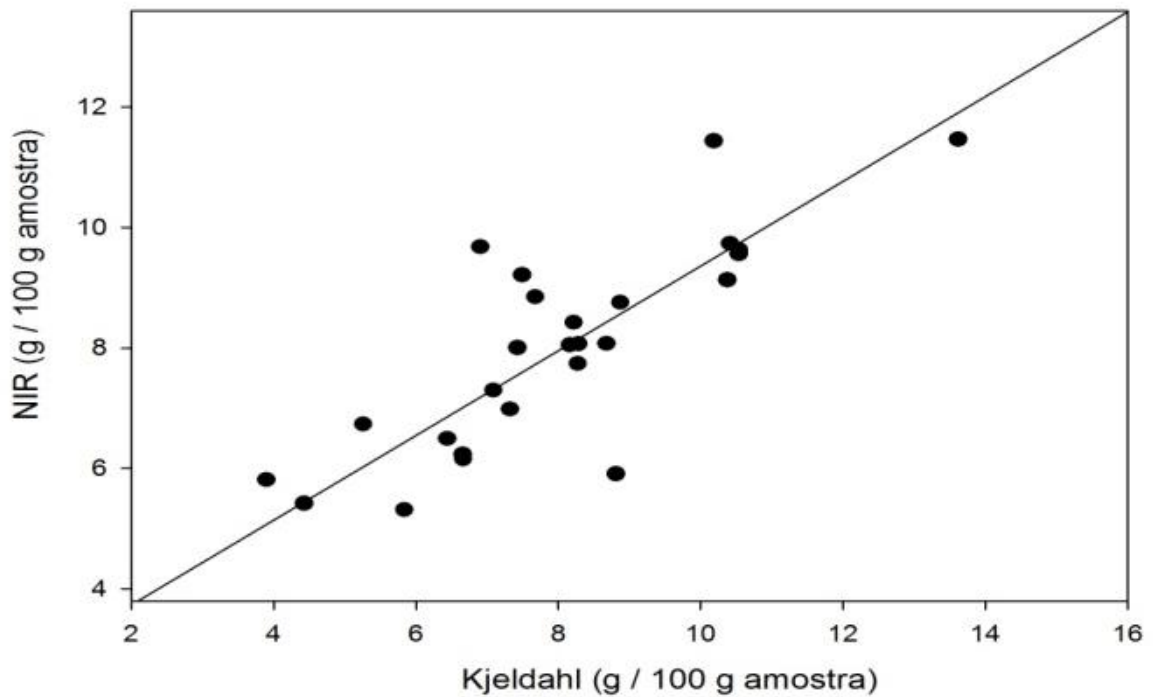
No gráfico da variância, Figura 4,23, observar-se que a variância diminui em relação ao aumento do número de variáveis latentes, até a terceira variável. Em seguida volta a crescer na medida em que o número de variáveis latentes também cresce.





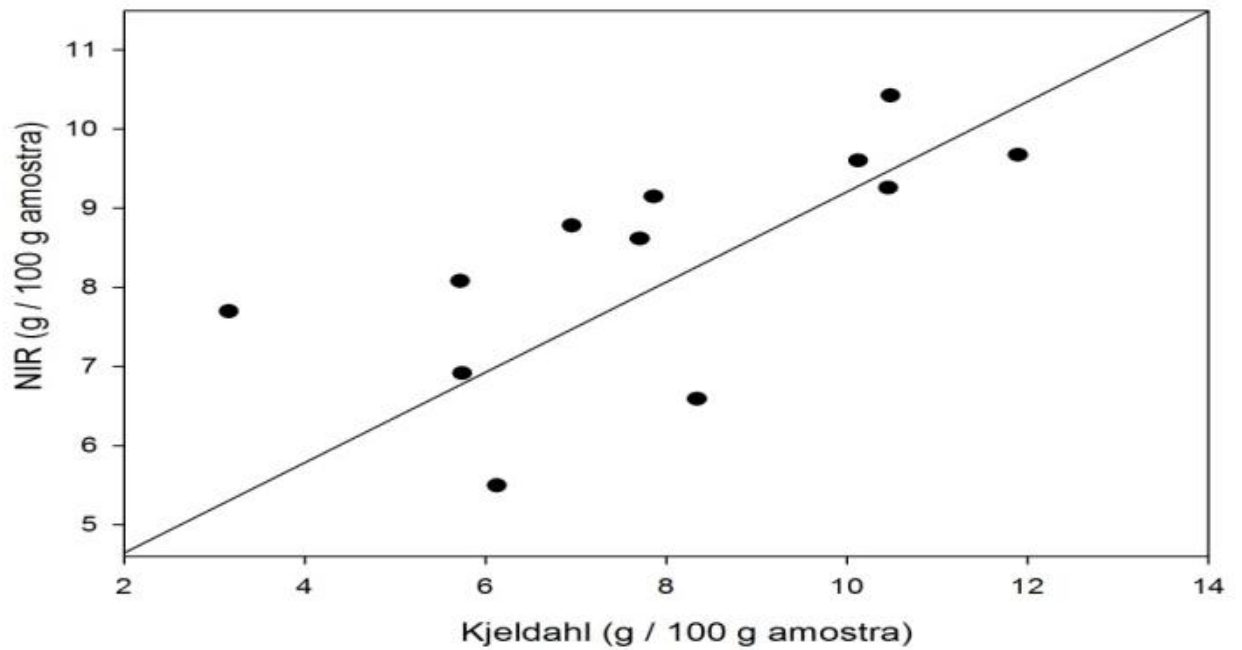
**FIGURA 4.23** - Gráfico da variância para as amostras de leite em pó, com 2ª derivada em janela de 15 pontos.

Assim como para a 1ª derivada, os resultados do PLS foram mais satisfatórios que os resultados do PCR, também para a 2ª derivada. A Figura 4.24, gráfico da calibração, apresenta que os teores de proteínas medidos pelo método Kjeldahl são compatíveis com os medidos em NIR, apresentando uma correlação de 0,84 e erro de 1,21, com amostras distantes do modelo retiradas e o modelo recalculado.



**FIGURA 4.24** - Gráfico de Calibração para as amostras de leite em pó, com 2ª derivada em janela de 15 pontos.

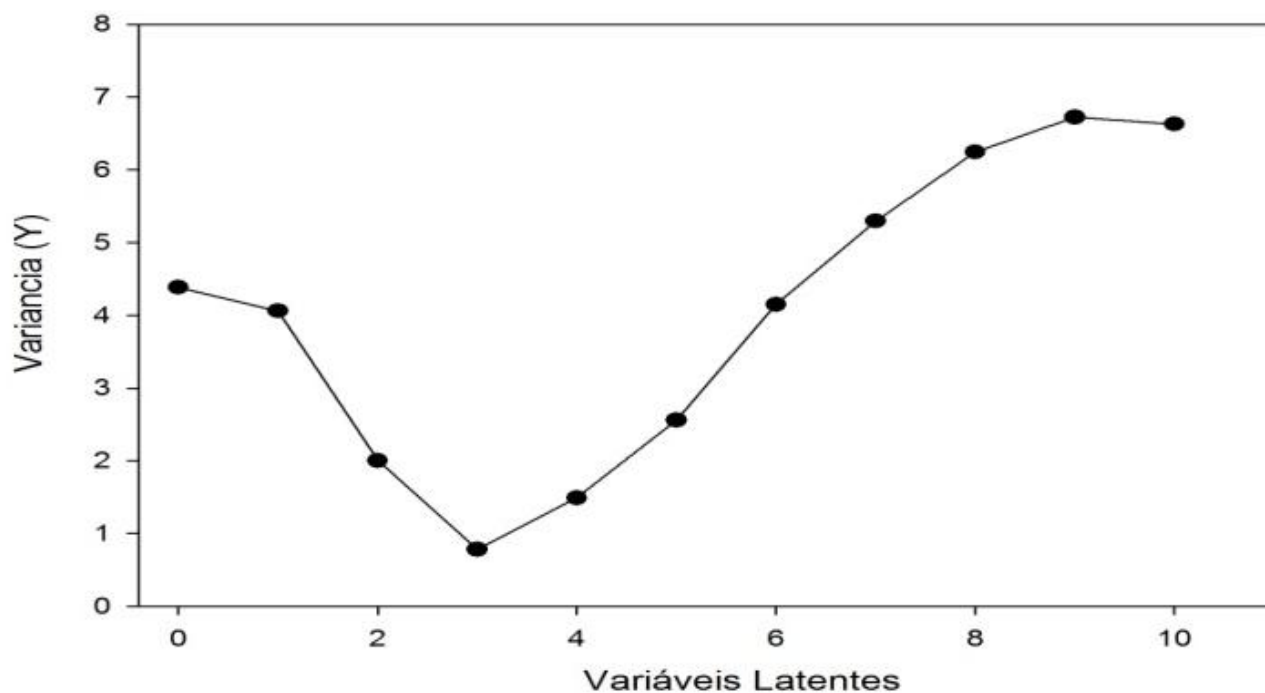
Após a realização da calibração, houve a previsão representada pela Figura 4.25, onde os resultados podem ser considerados satisfatórios, uma vez que os valores previstos e os valores previamente conhecidos (Kjeldahl) são semelhantes, apresentando uma boa correlação, porém a 1ª derivada apresentou melhores resultados. A correlação neste caso foi de 0,65 e erro de 1,98. As amostras mais distantes do modelo foram retiradas e o modelo recalculado para se obter um melhor resultado.



**FIGURA 4.25** - Gráfico da previsão para as amostras de leite em pó, com 2ª derivada em janela de 15 pontos.

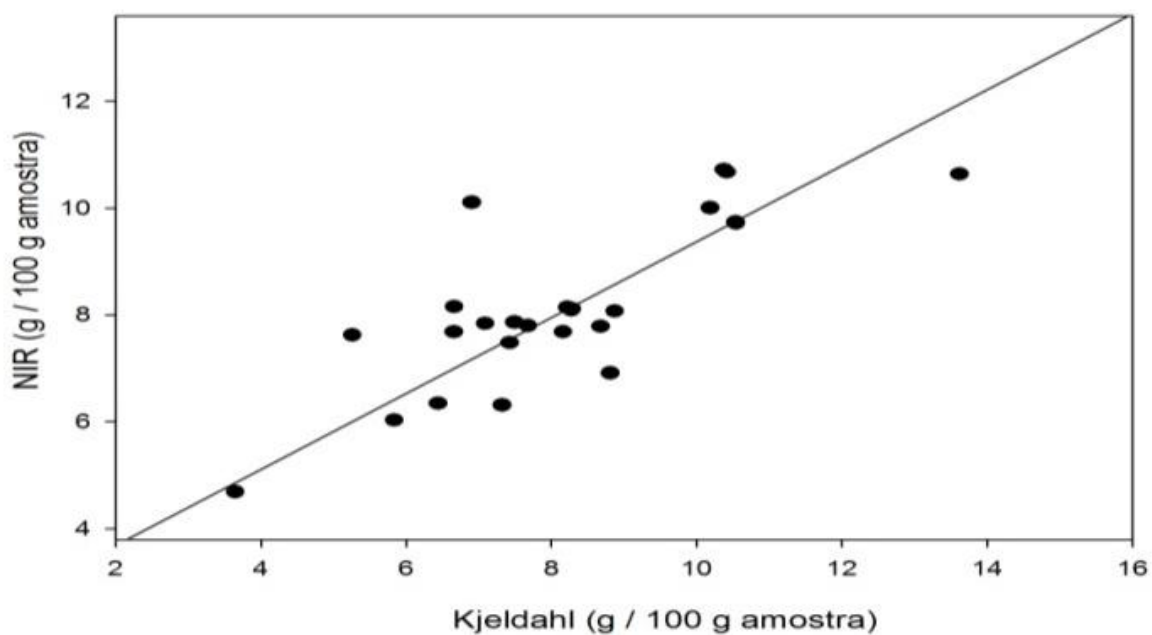
Após a realização da 2ª derivada em janela de 15 pontos são apresentados os resultados para a janela de 31 pontos.

No gráfico da variância, Figura 4.26, observar-se que a variância diminui em relação ao aumento do número de variáveis latentes, até a terceira variável, o mesmo ocorreu na janela de 15 pontos. Em seguida volta a crescer na medida em que o número de variáveis latentes também cresce.



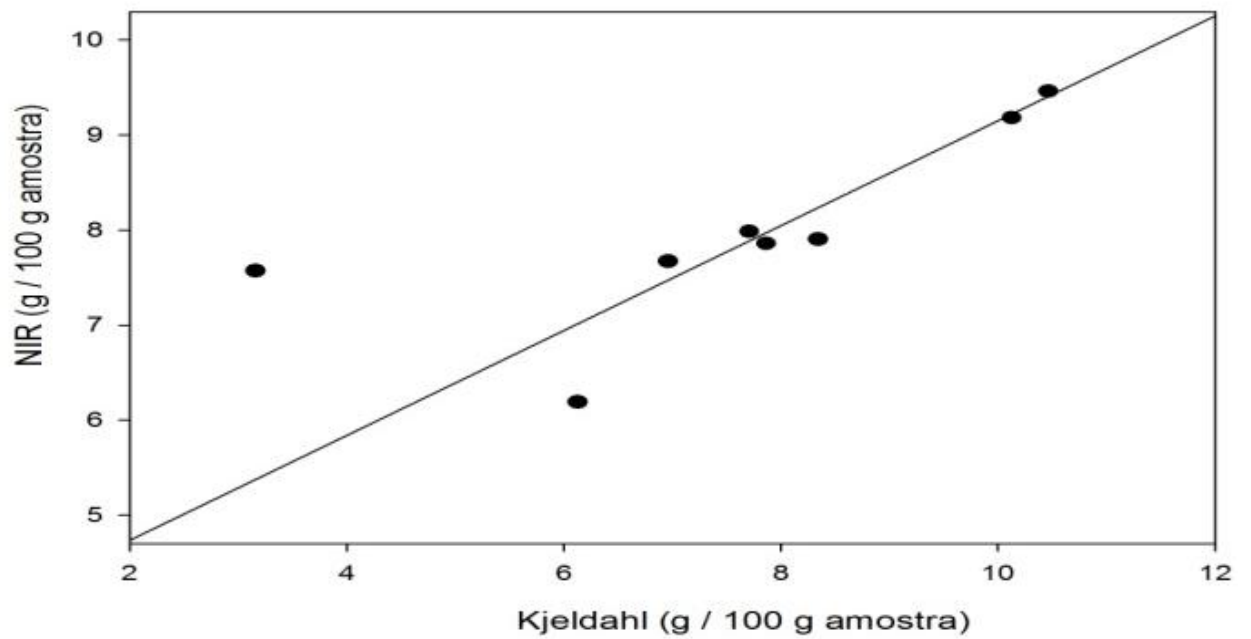
**FIGURA 4. 26** - Gráfico da variância para as amostras de leite em pó, com 2ª derivada em janela de 31 pontos.

O gráfico de calibração, Figura 4.27, apresenta que os teores de proteínas medidos pelo método Kjeldahl são compatíveis com os medidos em NIR, apresentando correlação não tão satisfatória quanto à 1ª derivada, de 0,84 e erro de calibração igual a 1,19, com amostras distantes do modelo retiradas.



**FIGURA 4.27** - Gráfico de Calibração para as amostras de leite em pó, com 2ª derivada em janela de 31 pontos.

Após a calibração, realizou-se a previsão, ilustrada na Figura 4.28, onde é possível observar que assim como para a janela de 15 pontos, os resultados não se apresentaram tão satisfatoriamente, apresentando uma correlação de 0,77 e erro de previsão de 1,50, com amostras que se apresentaram distantes do modelo retiradas.



**FIGURA 4.28** - Gráfico da previsão para as amostras de leite em pó, com 2ª derivada em janela de 31 pontos.

Observando todos os resultados de calibração e previsão, nota-se que os valores de previsão para os dados com 1ª derivada em janela de 15 pontos foram os mais satisfatórios com correlação igual a 0,98 e RMSEP igual a 0,52.. Enquanto a 2ª derivada em janela de 31 pontos apresentou os melhores valores de calibração, com correlação de 0,84 e RMSEC igual a 1,19.. A Tabela 4.7 ilustra os resultados obtidos.

**TABELA 4.6** – Resultados das Modelagens para os dados obtidos em PLS.

<i>Pré-tratamentos</i>	<i>Calibração</i>			<i>Previsão</i>		
<i>Alisamento e MSC</i>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>RMSEC</b>	<b>Inclinação</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>RMSEP</b>	<b>Inclinação</b>
<i>(1) - 1ª Derivada - 15 pontos</i>	0,82	1,26	0,67	0,98	0,52	0,85
<i>(2) - 1ª Derivada - 21 pontos</i>	0,82	1,27	0,67	0,97	0,51	0,84
<i>(3) - 2ª Derivada - 15 pontos</i>	0,84	1,21	0,70	0,65	1,98	0,57
<i>(4) - 2ª Derivada - 31 pontos</i>	0,84	1,19	0,71	0,77	1,50	0,55

O modelo desenvolvido através das amostras de calibração foi validado por validação externa, utilizando-se medidas espectroscópicas NIR com reflectância difusa de um conjunto de 13 amostras. Valores de erro médio quadrático de previsão para o conjunto de Validação Externa (RMSEP) de 0,555 g proteína / 100 g de amostra empregando 6 variáveis latentes foram obtidos. Os resultados da previsão mostram uma boa correlação existente entre os valores médios do teor de proteína do conjunto das amostras e os valores experimentais verificados para as 13 amostras utilizadas no conjunto de validação externa, com erros relativos médios entre o método quimiométrico e o método de referência inferior a  $\pm 4$  %. Estes resultados indicam uma boa capacidade de previsão dos teores de proteínas pelo método proposto para as amostras de leite em pó.

## 5 CONCLUSÃO

Os experimentos propostos neste trabalho permitiram satisfatoriamente a classificação e quantificação de proteínas em amostras de leite em pó, através das técnicas do infravermelho próximo com reflectância difusa, PLS, PCR, PCA e SIMCA. Comparadas ao método de referência (Kjeldahl), apresentaram rapidez, precisão, exatidão, economia de reagentes e tempo, sendo de natureza não destrutiva.

A análise de componentes principais (PCA) juntamente com a modelagem independente para analogia de classes (SIMCA), permitiu a classificação das amostras de leite que se agruparam formando classes de acordo com semelhanças em sua composição. Em relação ao SIMCA, os resultados para a classe do leite desnatado foram os mais satisfatórios, uma vez que apresentaram 100 % de acertos em sua classe e 0 % de acerto em outra classe, com exceção do SIMCA 3 com 90 % de acerto na classe do soro de leite. Para as demais classes, os resultados dos SIMCA apresentaram um excelente grau de acerto em suas classes, porém apresentando também uma elevada percentagem de erro, ou seja, acertos em outras classes.

As técnicas de regressão por mínimos quadrados parciais (PCR) e regressão por componentes principais (PLS) permitiram a quantificação do teor de proteínas nas amostras analisadas, tendo esses teores sido também determinados pelo método convencional Kjeldahl. Um total de 53 amostras foram analisadas e obtidos seus espectros característicos. Após alguns pré-tratamentos destes espectros, quatro modelos foram utilizados para classificação e quantificação. Após a validação desses modelos observou-se que apresentaram bom desempenho, o que demonstrou exatidão e confiança nos resultados obtidos, através da técnica NIR.

Comparando os resultados dos métodos PCR e PLS, observou-se que o PLS apresentou resultados mais satisfatórios, uma vez que levou em consideração as matrizes  $x$  e  $y$ , enquanto o PCR só considerou a matriz de dados  $x$ , não relacionando as informações das duas matrizes. Para o PCR os valores das correlações observados estiveram abaixo e distante do valor 1, o qual é ideal. Os valores da calibração e previsão, RMSEC e RMSEP, respectivamente também não se apresentaram de forma tão satisfatória, uma vez que tais valores deveriam ser próximos e mínimos, o que não foi observado.



Observando todos os resultados de calibração e previsão para o PLS, nota-se que os valores de previsão para os dados com 1ª derivada em janela de 15 pontos foram os mais satisfatórios com correlação igual a 0,98 e RMSEP igual a 0,52, ou seja um erro pequeno de previsão, onde a maioria das amostras analisadas apresentou teor de proteínas semelhante entre o método Kjeldahl e a técnica NIR, enquanto a 2ª derivada em janela de 31 pontos apresentou os melhores valores de calibração. Os resultados da previsão mostram uma boa correlação entre os valores médios do teor de proteínas das amostras analisadas através do método convencional (Kjeldahl) e através da técnica NIR, com erro médio inferior a  $\pm 4$  %, indicando assim uma boa capacidade de prever o teor de proteína pela técnica proposta.

## 6 PERSPECTIVAS

Após a realização deste trabalho, foram observadas perspectivas futuras para dar continuidade ao mesmo. Algumas etapas poderiam ser seguidas para que o trabalho fosse retomado, tais como:

- Obtenção de um número maior de amostras;
- Determinação do teor de gordura nas amostras de leite em pó;
- Investigação de modelos multivariados não lineares;
- Seleção de variáveis;
- Controle de qualidade

## REFERÊNCIAS

- ANGELIS, R.C. Novos conceitos em nutrição: reflexões a respeito do elo dieta e saúde. **Arq Gastroenterol**, v.38, n.4, p.269–271, 2001. Disponível em:  
<<http://www.nutricaoemfoco.com.br/pt-br/site.php?secao=funcional-nefdebate&pub=3843>>. Acesso em: 08 Jul.2008.
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada. RDC Nº 268, de 22 de Setembro de 2005. Disponível em:  
<[http://www.google.com.br/search?hl=ptBR&q=ANVISA+RDC+n%C2%BA+348%2F2003&btnG=Pesquisar&aq=f&aqi=&aql=&oq=&gs\\_rfai=>](http://www.google.com.br/search?hl=ptBR&q=ANVISA+RDC+n%C2%BA+348%2F2003&btnG=Pesquisar&aq=f&aqi=&aql=&oq=&gs_rfai=>)>. Acesso em: 31 Mar. 2008.
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada Resolução - RDC Nº 91, de 18 de Outubro de 2000. Disponível em:  
<[http://www.google.com.br/search?hl=ptBR&q=ANVISA+RDC+n%C2%BA+348%2F2003&btnG=Pesquisar&aq=f&aqi=&aql=&oq=&gs\\_rfai=>](http://www.google.com.br/search?hl=ptBR&q=ANVISA+RDC+n%C2%BA+348%2F2003&btnG=Pesquisar&aq=f&aqi=&aql=&oq=&gs_rfai=>)>. Acesso em: 31 Mar. 2008.
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada. RDC nº 348, de 02 de dezembro de 2003. Disponível em:  
<[http://www.google.com.br/search?hl=ptBR&q=ANVISA+RDC+n%C2%BA+348%2F2003&btnG=Pesquisar&aq=f&aqi=&aql=&oq=&gs\\_rfai=>](http://www.google.com.br/search?hl=ptBR&q=ANVISA+RDC+n%C2%BA+348%2F2003&btnG=Pesquisar&aq=f&aqi=&aql=&oq=&gs_rfai=>)>. Acesso em: 31 Mar. 2008.
- ARTIME, C. E. C.; LA FUENTE, J. A. B.; GARCIA, M. A. P.; VEGA, R. M.; BLANCO, N. C. On-line Estimation of Fresh Milk Composition by means of VIS-NIR Spectrometry and Partial Least Squares Method (PLS). In: INTERNATIONAL INSTRUMENTATION AND MEASUREMENT TECHNOLOGY CONFERENCE, 2., 2008, Canada. **Anais...** Canada: IEEE *Xplore* Digital Library, 2008. p.1471–1475. Disponível em:  
<[http://ieeexplore.ieee.org/xpl/freeabs\\_all.jsp?arnumber=4547275](http://ieeexplore.ieee.org/xpl/freeabs_all.jsp?arnumber=4547275)>. Acesso em: 02 Nov. 2009.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES DE LEITE – ABPL. **Leite Brasil**. Disponível em: <http://www.leitebrasil.org.br/estatisticas.htm>. Acesso em 10 de março de 2009.
- BENITO, M. T. J.; OJEDA, C. B.; ROJAS, F. S. Process Analytical Chemistry: Applications of Near Infrared Spectrometry in Environmental and Food Analysis: An Overview. **Applied Spectroscopy Reviews**, v.43, n.5, p.452–484, 2008. Disponível em:  
<<http://www.informaworld.com/smpp/content~db=all~content=a795169845>> Acesso em: 06 Fev. 2009.
- BERZAGHI, P.; RIOVANTO, R. Near infrared spectroscopy in animal science production: principles and applications. **Ital. J. AnIm. Sci.**, v.8, n.3, p.39-62, 2009. Disponível em:  
<<http://www.aspajournal.it/index.php/ijas/article/view/ijas.2009.s3.39/691>>. Acesso em: 14 Set. 2009.

BLANCO, M.; ALCALA, M.; Content uniformity and tablet hardness testing of intact pharmaceutical tablets by near infrared spectroscopy - A contribution to process analytical technologies. **Analytica Chimica Acta**, v.557, p.353-359, 2006. Disponível em: <[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleURL&\\_udi=B6TF4-4HHP3RM-4&\\_user=10&\\_coverDate=01%2F31%2F2006&\\_rdoc=1&\\_fmt=high&\\_orig=search&\\_sort=d&\\_docanchor=&\\_view=c&\\_searchStrId=1443720167&\\_rerunOrigin=google&\\_acct=C000050221&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=10&md5=a7b03e3905755f7ea7bedd96b5ae1497](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6TF4-4HHP3RM-4&_user=10&_coverDate=01%2F31%2F2006&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=search&_sort=d&_docanchor=&_view=c&_searchStrId=1443720167&_rerunOrigin=google&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=a7b03e3905755f7ea7bedd96b5ae1497)>. Acesso em: 18 Jul.2008.

BUREAU, S.; RUIZ, D.; REICH, M.; GOUBLE, B.; BERTRAND, D.; AUDERGON, J.; RENARD, C. M. G. C. Rapid and non-destructive analysis of apricot fruit quality using FT-near-infrared spectroscopy. **Journal Food Chemistry**, v.113, p. 1323–1328, 2009. Disponível em: <<http://www.elsevier.com/locate/foodchem>>. Acesso em: 22 Dez. 2009.

BURNS, D.A; CIURCZAK, E.W. **Handbook of Near-Infrared Analysis**. 2. ed. Rev. exp. New York: Marcel Dekker, 2001. v. 27, 814 p. (Série: espectroscopia prática). Disponível em: <[http://www.amazon.com/Handbook-Near-infrared-Analysis-Donald-Burns/dp/0824786572#reader\\_0824786572](http://www.amazon.com/Handbook-Near-infrared-Analysis-Donald-Burns/dp/0824786572#reader_0824786572)>. Acesso em: 30 Maio 2008.

CAMO Software AS. **The Unscrambler Program Operation**: the Unscrambler User Manual. 339 p. Disponível em: <[www.camo.com](http://www.camo.com)>. Acesso em: 09 Out. 2007.

CANDOLFI, A.; DE MAESSCHALCK, R.; MASSART, D. L.; HAILEY, P.A. HARRINGTON, A. C. Identification of pharmaceutical excipients using NIR spectroscopy and SIMCA. **Journal Pharmaceutical Biomed Analytical**, v.19, p.923-935, 1999. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10698559>>. Acesso em: 05 Abr. 2008.

CAZAR, R. A. An Exercise on Chemometrics for a Quantitative Analysis Course. **Journal of Chemical Education**, v.80, n.9, p.1026-1029, 2003. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ed080p1026>>. Acesso em: 18 Nov. 2008.

CHAMINADE, P.; BAILLET, A.; FERRIER, D. Data treatment in near infrared spectroscopy. **Analytical Magazine**, v.26, n.4, p.33-38, 1998. Disponível em: <[www3.interscience.wiley.com/journal/114216717/articletext?DOI=10](http://www3.interscience.wiley.com/journal/114216717/articletext?DOI=10)>. Acesso em: 11 Jan. 2009.

COTTA, J. A. O.; SALAMI, F. H.; MARQUES, A. R.; REZENDE, M. O. O.; LANDGRAF, M.D. **Revista Analytica**, n.26, dez. 2006/jan. 2007. Disponível em: <[www.revistaanalytica.com.br/ed\\_antiores/26/art06.pdf](http://www.revistaanalytica.com.br/ed_antiores/26/art06.pdf)>. Acesso em: 18 Set. 2007

DIAS, J.C. **500 Anos de Leite no Brasil**. Juiz de Fora: Calandra Editorial Pecuária, 2006. 148 p.

DURIG, J.R.; SULLIVAN, J.F. Vibrational spectroscopy, Fourier transforms and analytical chemistry. **Trends Analytical Chemistry**, v.9, n.4, p.104-106, 1990. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scieloOrg/php/reflinks.php?refpid=S0101-2061200600040001100007&pid=S0101-20612006000400011&lng=en>>. Acesso em: 18 Jul. 2009.

FAO - FOOD AGRICULTURE ORGANIZATION - **Statistical data**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/default.jsp>>. Acesso em: 12 Jan. 2009.

FERRÃO, M.F.; CARVALHO, C.W.; MÜLLER, E.I.; DAVANZO, C.U. Determinação Simultânea dos Teores de Cinza e Proteína em Farinha de Trigo Empregando NIR-PLS e DRIFT-PLS. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.24, n.3, p. 333-340, 2004. Disponível em: <[FERRÃO, M.F.; MELLO, C.; BORIN, A.; MARETTO, D.A.; J, POPPI, R.J. LS-SVM: Uma Nova Ferramenta Quimiométrica para Regressão Multivariada. Comparação de Modelos de Regressão LS-SVM e PLS na Quantificação de Adulterantes em Leite em Pó Empregando NIR. \*\*Química Nova\*\*, v.30, n.4, p.852-859, 2007. Disponível em: <\[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=s0100-40422007000400018&script=sci\\\_arttext\]\(http://www.scielo.br/scielo.php?pid=s0100-40422007000400018&script=sci\_arttext\)>. Acesso em: 03 Maio 2009.](http://www.google.com.br/search?hl=pt-BR&q=FERR%C3%83O%2C+M.F.%3B+CARVALHO%2C+C.W.%3B+M%C3%9CCLER%2C+E.I.%3B+DAVANZO%2C+C.U.+Determina%C3%A7%C3%A3o+Simult%C3%A2ne+a+dos+Teores+de+Cinza+e+Prote%C3%ADna+em+Farinha+de+Trigo+Empregando+NIR-PLS+e+DRIFT-PLS.+Ci%C3%A4nc.+Tecnol.+Aliment.%2C+Campinas%2C+24%283%29%3A+333-340%2C+jul.-set.+2004.&btnG=Pesquisar&aq=f&aqi=&aql=&oq=&gs_rfai=>. Acesso em: 13 mar. 2008.</p></div><div data-bbox=)

FERRÃO, M.F. **Aplicação de Técnicas Espectroscópicas de Reflexão no Infravermelho no Controle de Qualidade de Farinha de Trigo**. 2000. 138 f. Tese (Doutorado em Química) Programa de Pós Graduação do Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000. Disponível em: <http://biq.iqm.unicamp.br/arquivos/teses/vtIs000414759.pdf>. Acesso em: 14 Abr. 2009.

FERREIRA, M. M. C., ANTUNES, A. M., MELGO, M. S., VOLPE, P.L.O.. Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial. **Química Nova**, v.22, n.5, p.724-731, 1999. Disponível em: <<http://quimicanova.s bq.org.br/qn/qnol/1999/vol22n5/index.htm>>. Acesso em: 12 Out.2007.

FRANCO, G. **Tabela de Composição Química dos Alimentos**. Rev. 9 Ed. São Paulo: Atheneu, 2007, 305 p.

FROEHNER, S.; MARTINS, R. F. Avaliação da composição química de sedimentos do Rio Barigui na região metropolitana de Curitiba. **Química Nova**, v.31, n.8, p.2020-2026, 2008. Disponível em: <<http://quimicanova.s bq.org.br/qn/qnol/2008/vol31n8/index.htm>>. Acesso em: 08 Jan. 2009.

GALVANI, F.; GAERTNER, E. Adequação da Metodologia Kjeldahl para determinação de Nitrogênio Total e Proteína Bruta. **Circular Técnica**, n.63, p.1-9, Corumbá, MS, Maio, 2006. EMBRAPA. Disponível em: <[www.cpap.embrapa.br/publicacoes/download.php?arq\\_pdf](http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/download.php?arq_pdf)>. Acesso em: 14 Out. 2007.

GELADI, P.; MACDOUGALL, D.; MARTENS, H. Linearization and scatter-correction for near-infrared reflectance spectra of meat. **Applied Spectroscopy**, v.39, n.3, p.491-500, 1985. Disponível em: <<http://www.opticsinfobase.org/abstract.cfm?URI=as-39-3-491>>. Acesso em: 18 Jul. 2008.

GUIMARÃES, P. Composição do Leite. Artigo Publicado em 27 de fevereiro de 2007. Disponível em: <<http://www.planetaorganico.com.br/leite1.htm>>. Acesso em: 16 Jan. 2009.

HUANG, H.; YU, H.; XU, H.; YING, Y. Near infrared spectroscopy for on/in-line monitoring of quality in foods and beverages: A review. **Journal of Food Engineering**, v.87, n.3, p.303–313, 2008. Disponível em:

<[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleURL&\\_udi=B6T8J-4RJ3W9D-6&\\_user=10&\\_coverDate=08%2F31%2F2008&\\_rdoc=1&\\_fmt=high&\\_orig=search&\\_sort=d&\\_docanchor=&\\_view=c&\\_searchStrId=1443823992&\\_rerunOrigin=google&\\_acct=C000050221&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=10&md5=a3de2dee62c1a71d1508eb3944d16599](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6T8J-4RJ3W9D-6&_user=10&_coverDate=08%2F31%2F2008&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=search&_sort=d&_docanchor=&_view=c&_searchStrId=1443823992&_rerunOrigin=google&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=a3de2dee62c1a71d1508eb3944d16599)>. Acesso em: 14 Nov. 2008.

IBGE - Banco de Dados Agregados – Pecuária, Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 10 Mar. 2009.

ILARI, L.; MARTENS, H.; ISAKSSON, T. Determination of Particle Size in Powders by Scatter Correction in Diffuse Near-Infrared Reflectance. **Applied Spectroscopy**, v.42, n.5, p.722–728, 1988. Disponível em: <<http://www.opticsinfobase.org/abstract.cfm?uri=as-42-5-722>>. Acesso em: 14 Jan. 2009.

ITAMBÉ. Pesquisa Escolar: **Leite em pó**. Disponível em: <<http://www.itambe.com.br/Cmi/Pagina.aspx?284>>. Acesso em: 18 Fev. 2009.

KAMIZAKE, N. K. K.; GONÇALVES, M. M.; ZAIA, C. T. V.; ZAIA, D. A. M. Determination of Total Proteins in Cow Milk Powder Samples: a Comparative Study Between the Kjeldahl Method and Spectrophotometric Methods. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.16, p.507–516, 2003. Disponível em:

<[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleURL&\\_udi=B6WJH-48FSWDG-1&\\_user=10&\\_coverDate=08%2F31%2F2003&\\_rdoc=1&\\_fmt=high&\\_orig=search&\\_sort=d&\\_docanchor=&\\_view=c&\\_searchStrId=1441694367&\\_rerunOrigin=google&\\_acct=C000050221&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=10&md5=32c4474a179bcb57743b0898192bc46c](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6WJH-48FSWDG-1&_user=10&_coverDate=08%2F31%2F2003&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=search&_sort=d&_docanchor=&_view=c&_searchStrId=1441694367&_rerunOrigin=google&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=32c4474a179bcb57743b0898192bc46c)>. Acesso em: 14 Fev. 2009.

LIU, F.; HE, Y.; SUN, G. Determination of Protein Content of *Auricularia auricula* Using Near Infrared Spectroscopy Combined with Linear and Nonlinear Calibrations. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.57, p.4520-4527, 2009. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/journal/jafcau>>. Acesso em: 15 Dez. 2009.

LIU, F.; HE, Y.; HE, Y.; WANG, L. Application of visible/near infrared spectroscopy and chemometric calibrations for variety discrimination of instant milk teas, **Journal of Food Engineering**, v.93 p.127–133, 2009. Disponível em:

<[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=GatewayURL&\\_origin=inwardhub&\\_urlversion=4&\\_method=citationSearch&\\_piikey=S026087740900017X&\\_version=1&\\_referrer=http%3A%2F%2Fwww.google.com.br%2Fsearch%3Fhl%3Dpt-BR%26q%3DLIU%252C%2BF.%253B%2BHE%252C%2BY.%253B%2BHE%252C%2BY.%253B%2BWANG%252C%2BL.%2BAApplication%2Bof%2Bvisible%252Fnear%2Binfrared%2Bspectroscopy%2Band%2Bchemometric%2Bcalibrations%2Bfor%2Bvariety%2Bdiscrimination%2Bof%2Binstant%2Bmilk%2Bteas%26btnG%3DPesquisar%26aq%3Df%26aqi%3D%26aq%3D%26oq%3D%26gs\\_rfai%3D&md5=677cee7f923868dcb08595de991c3ccd](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=GatewayURL&_origin=inwardhub&_urlversion=4&_method=citationSearch&_piikey=S026087740900017X&_version=1&_referrer=http%3A%2F%2Fwww.google.com.br%2Fsearch%3Fhl%3Dpt-BR%26q%3DLIU%252C%2BF.%253B%2BHE%252C%2BY.%253B%2BHE%252C%2BY.%253B%2BWANG%252C%2BL.%2BAApplication%2Bof%2Bvisible%252Fnear%2Binfrared%2Bspectroscopy%2Band%2Bchemometric%2Bcalibrations%2Bfor%2Bvariety%2Bdiscrimination%2Bof%2Binstant%2Bmilk%2Bteas%26btnG%3DPesquisar%26aq%3Df%26aqi%3D%26aq%3D%26oq%3D%26gs_rfai%3D&md5=677cee7f923868dcb08595de991c3ccd)>.

Acesso em: 02 Maio 2009.

MAESSCHALCK, R. Decision criteria for soft independent modelling of class analogy applied to near infrared data. **Chemometric Intell. Lab. Sys.**, v.47, p.65–77, 1999.

Disponível em:

<[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=GatewayURL&\\_origin=inwardhub&\\_urlversion=4&\\_method=citationSearch&\\_piikey=S0169743998001592&\\_version=1&\\_referrer=http%3A%2F%2Fwww.google.com.br%2Fsearch%3Fhl%3Dpt-BR%26q%3DMAESSCHALCK%252C%2BR.%2BDecision%2Bcriteria%2Bfor%2Bsoft%2BIndependent%2Bmodelling%2Bof%2Bclass%2Banalogy%2Bapplied%2Bto%2Bnear%2Binfrared%2Bdata%26btnG%3DPesquisar%26aq%3Df%26aqi%3D%26aq%3D%26oq%3D%26gs\\_rfai%3D&md5=1a069588e634644311413c7881b5a5a7](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=GatewayURL&_origin=inwardhub&_urlversion=4&_method=citationSearch&_piikey=S0169743998001592&_version=1&_referrer=http%3A%2F%2Fwww.google.com.br%2Fsearch%3Fhl%3Dpt-BR%26q%3DMAESSCHALCK%252C%2BR.%2BDecision%2Bcriteria%2Bfor%2Bsoft%2BIndependent%2Bmodelling%2Bof%2Bclass%2Banalogy%2Bapplied%2Bto%2Bnear%2Binfrared%2Bdata%26btnG%3DPesquisar%26aq%3Df%26aqi%3D%26aq%3D%26oq%3D%26gs_rfai%3D&md5=1a069588e634644311413c7881b5a5a7)>. Acesso em: 18 Jul. 2008.

MARABOLI, A.; CATTANEO, T. M. P.; GIANGIACOMO, R. Detection of Vegetable Proteins from Soy, Pea and Wheat Isolates in Milk Powder by Near Infrared Spectroscopy. **Journal Near Infrared Spectroscopy**, v.10, p.63-69, 2002. Disponível em:

<<http://www.impublications.com>>. Acesso em: 03 Jul 2008.

MASSART, D. L.; VANDEGINSTE, B. G. M.; BUYDENS, L. M. C.; DE JONG, S.; LEWI, P. J.; VERBEKE, J. S. **Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Part A Data Handling in Science and Technology**. v.20 Amsterdam: Elsevier: 1997. 867 p. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/pdfplus/10.1021/ci980427d>>. Acesso em: 04 Jan. 2008.

MATOS, G. D.; FILHO, E. R. P.; POPPI, R. J.; ARRUDA, M. A.Z. Análise exploratória em Química analítica com emprego de quimimometria: PCA e PCA de imagens. **Revista Analítica**, v.1, n.6 - p.38-50, 2003. Disponível em:

<[http://gepam.iqm.unicamp.br/producao\\_tit1.htm](http://gepam.iqm.unicamp.br/producao_tit1.htm)>. Acesso em: 15 Maio 2008.

MAUER, L. J.; CHERNYSHOVA, A. A.; HIATT, A.; DEERING, A.; DAVIS, R. Melamine Detection in Infant Formula Powder Using Near- and Mid-Infrared Spectroscopy. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v.57, n.10, p.3974–3980, 2009. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2725748/>>. Acesso em: 22 Dez. 2009.

MAZUREK, S.; SZOSTAK, R. Quantification of atorvastatin calcium in tablets by FT-Raman spectroscopy. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.49, n.1, p.168–172, 2009. Disponível em:

<[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleURL&\\_udi=B6TGX-4TTMNB-1&user=10&coverDate=01%2F15%2F2009&rdoc=1&fmt=high&orig=search&origin=search&sort=d&docanchor=&view=c&searchStrId=1444199735&rerunOrigin=google&acct=C000050221&version=1&urlVersion=0&userid=10&md5=a94e2fd89f2a4230c762db789a6c7f14&searchtype=a](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6TGX-4TTMNB-1&user=10&coverDate=01%2F15%2F2009&rdoc=1&fmt=high&orig=search&origin=search&sort=d&docanchor=&view=c&searchStrId=1444199735&rerunOrigin=google&acct=C000050221&version=1&urlVersion=0&userid=10&md5=a94e2fd89f2a4230c762db789a6c7f14&searchtype=a)>. Acesso em: 05 Set. 2009.

MCCLURE, W.F. 204 years of Near Infrared: 1800-2003. **Journal Near Infrared Spectroscopy**, v.11, p.487-518, 2003. Disponível em:

<[http://www.google.com.br/search?hl=pt-BR&q=MCCLURE%2C+W.F.+204+years+of+Near+Infrared%3A+1800-2003.+J.+Near+Infrared+Spectrosc.&btnG=Pesquisar&aq=f&aqi=&aql=&oq=&gs\\_rfai=>](http://www.google.com.br/search?hl=pt-BR&q=MCCLURE%2C+W.F.+204+years+of+Near+Infrared%3A+1800-2003.+J.+Near+Infrared+Spectrosc.&btnG=Pesquisar&aq=f&aqi=&aql=&oq=&gs_rfai=>)>. Acesso em: 03 Abr. 2008.

MESSERSCHMIDT, I.; **Análise quantitativa por espectroscopia no infravermelho médio empregando técnicas de reflectância e calibração multivariada**. 1999. 138 f. Tese (Doutorado em Química). Programa de Pós Graduação do Instituto de Química. Universidade Estadual de Campinas. 1999. Disponível em: <<http://biblioteca.universia.net/ficha.do?id=3259008.html>>. Acesso em: 14 Jul.2009.

MILLER, S.S.; FULCHER, R.G. Oat endosperm cell walls:II Hot-water solubilization and enzymatic digestion of the wall. **Cereal Chemistry**, v.72, n.5, p.428-432, 1995. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scieloOrg/php/reflinks.php?refpid=S0101-2061200700020002500025&pid=S0101-20612007000200025&lng=en>>. Acesso em: 13 Fev. 2008.

MOHAMMADI, M.; BERNS, R.S. Verification of the Kubelka-Munk Turbid Media Theory for Artist Acrylic Paint. **Revista eletrônica: Technical Report**, p.1- 15, 2004. Disponível em: <<http://www.art-si.org/>>. Acesso em: 21 Mar. 2009.

MOITA, G. C; NETO, J. M. M.; Uma introdução à Análise Exploratória de Dados Multivariados. **Química Nova**, v.21, n.4, p.467 – 469, 1998. Disponível em: <<http://quimicanova.sbg.org.br/qn/qnol/1998/vol21n4/index.htm>>. Acesso em: 21 Out. 2008.

MOUAZEN, A. M.; DRIDI, S.; ROUISSI, H.; DE BAERDEMAEKER, J.; RAMON, H. Prediction of selected ewe's milk properties and differentiating between pasture and box feeding using visible and near infrared spectroscopy. **Biosystems Engineering**, v.104 p.353–361. 2009. Disponível em:

<[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleURL&\\_udi=B6WXV-4X3DS19-1&user=10&coverDate=11%2F30%2F2009&rdoc=1&fmt=high&orig=search&sort=d&docanchor=&view=c&searchStrId=1443778520&rerunOrigin=google&acct=C000050221&version=1&urlVersion=0&userid=10&md5=8e6c185b9231e53f126e76a111bd432d](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6WXV-4X3DS19-1&user=10&coverDate=11%2F30%2F2009&rdoc=1&fmt=high&orig=search&sort=d&docanchor=&view=c&searchStrId=1443778520&rerunOrigin=google&acct=C000050221&version=1&urlVersion=0&userid=10&md5=8e6c185b9231e53f126e76a111bd432d)>. Acesso em: 04 Dez. 2009.

NAES, T.; ISAKSSON, T.; KOWALSKI, B. Locally Weighted Regression and Scatter Correction for Near-Infrared Reflectance data. **Analytical Chemistry**, v.62, n.7, p. 664-673, 1990. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac00206a003>>. Acesso em: 27 Out. 2008.



NETO, B. B.; SCARMÍNIO, I. S.; BRUNS, R. E. 25 Anos de Quimiometria no Brasil. **Química Nova**, v.29, n.6, p.1401–1406, 2006. Disponível em: <[http://quimicanova.sbq.org.br/qn/QN\\_OnLine\\_Geral.htm](http://quimicanova.sbq.org.br/qn/QN_OnLine_Geral.htm)>. Acesso em: 16 Fev. 2009.

NETO, B.B.; SCARMINIO, I.S; BRUNS, R.E. **Como fazer experimentos**: Pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria. Campinas: Editora da Unicamp. 401 p. 2003. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scieloOrg/php/reflinks.php?refpid=S0100-4042200600060004200021&pid=S0100-40422006000600042&lng=en>>. Acesso em: 24 Set. 2008.

NETO, J.M.. Estatística Multivariada: Uma visão didática-metodológica. **Revista eletrônica: Filosofia da ciência**, p.1-13, 2004 Disponível em: <[http://criticanarede.com/cien\\_estatistica.html](http://criticanarede.com/cien_estatistica.html)>. Acesso em: 15 Jul. 2009.

NEUMANN, L.G.; KONZEN, P. H. A.; FERRAO, M. F.; FURTADO, J. C.; MORGANO, M. A.; FERREIRA, M. M. C. Desenvolvimento e otimização de rotinas não destrutivas de análise de tanino em café empregando algoritmo genético. In: Trabalho apresentado no XXII ENCONTRO NACIONAL DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO, 22., Curitiba-PR, 2002. **Anais...** Curitiba – PR: s.n. 2002. p.1–8. Disponível em: <[http://www.google.com.br/search?hl=pt-BR&q=Desenvolvimento+e+otimiza%C3%A7%C3%A3o+de+rotinas+n%C3%A3o+destrutivas+de+an%C3%A1lise+de+tanino+em+caf%C3%A9+empregando+algoritmo+gen%C3%A9tico.+&btnG=Pesquisar&aq=f&aql=&aql=&oq=&gs\\_rfai=>](http://www.google.com.br/search?hl=pt-BR&q=Desenvolvimento+e+otimiza%C3%A7%C3%A3o+de+rotinas+n%C3%A3o+destrutivas+de+an%C3%A1lise+de+tanino+em+caf%C3%A9+empregando+algoritmo+gen%C3%A9tico.+&btnG=Pesquisar&aq=f&aql=&aql=&oq=&gs_rfai=>)>. Acesso em: 14 Jul. 2008.

OLIVEIRA, M. P. Reflexões sobre 2009 e perspectivas para o setor lácteo em 2010. **Agripoint**, Artigo publicado em 26/11/2009. Disponível em: <<http://www.noticiasagricolas.com.br/noticias.php?id=58245>>. Acesso em: 10 de Dez 2008.

OSBORNE, B.G. Comparative study of methods of linearisation and scatter correction in near infrared reflectance spectroscopy. **Analyst**, v.113, p.263-267, 1988. Disponível em: <<http://www.rsc.org/publishing/journals/AN/article.asp?doi=AN9881300263>>. Acesso em: 15 Jan. 2008.

OTTO, M., **Chemometrics: Statistics and Computer Application in Analytical Chemistry**. Rev. 2 Ed.. New York : Wiley-VCH. 1999. 181 p. Disponível em: <[http://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=V-jn7wzdKuoC&oi=fnd&pg=PA1&dq=+Chemometrics:+Statistics+and+Computer+Application+in+Analytical+Chemistry&ots=iE1\\_n6afPw&sig=pQgjSl\\_8QpEwxq1rsQXGzXnzbk#v=onepage&q&f=false](http://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=V-jn7wzdKuoC&oi=fnd&pg=PA1&dq=+Chemometrics:+Statistics+and+Computer+Application+in+Analytical+Chemistry&ots=iE1_n6afPw&sig=pQgjSl_8QpEwxq1rsQXGzXnzbk#v=onepage&q&f=false)>. Acesso em: 13 Maio 2008.

PASCHOAL, J.; BARBOZA, F. D.; POPPI, R. J. Analysis of contaminants in lubricant oil by near infrared spectroscopy and interval partial least-squares. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, v.11, n.3, p.211-218, 2003. Disponível em: <[http://www.impublications.com/nir/abstract/J11\\_0211](http://www.impublications.com/nir/abstract/J11_0211)>. Acesso em: 18 Nov. 2008.

PASQUINI, C.; Near infrared spectroscopy: Fundamentals, practical aspects and analytical applications; **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.14, n.2, p. 198-219, 2003. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_pdf&pid=S0103-50532003000200006&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_pdf&pid=S0103-50532003000200006&lng=en&nrm=iso&tlng=en)>. Acesso em: 08 Abr. 2009.

POPPI, R.J.; CERQUEIRA, E.O.; ANDRADE, J.C. Redes Neurais e suas aplicações em Calibração Multivariada. **Química Nova**, v.24, n.6, p.864-873, 2001. Disponível em: <<http://quimicanova.sbg.org.br/qn/qnol/2001/vol24n6/index.html>>. Acesso em: 24 Set. 2008.

REA, M.F. Substitutos do leite passado materno: passado e presente. **Revista de Saúde Pública**, v.24, n.3, p. 241–249, 1990. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_pdf&pid=S003489101990000300011&lng=en&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_pdf&pid=S003489101990000300011&lng=en&nrm=iso&tlng=pt)>. Acesso em: 03 Mar.2009.

REEVES III, J.B.; ZAPF, C.M. Mid-Infrared Diffuse Reflectance Spectroscopy for Discriminant Analysis of Food Ingredients. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 46, p.3614-3622, 1998. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf9801926>>. Acesso em: 13 Jul. 2009.

REGULAMENTO TÉCNICO DE IDENTIDADE E QUALIDADE DE SORO DE LEITE – ANVISA - Resolução de Diretoria Colegiada RDC nº 348/2003. Disponível em: <[http://www.google.com.br/search?hl=ptBR&q=ANVISA+RDC+n%C2%BA+348%2F2003&btnG=Pesquisar&aq=f&aqi=&aql=&oq=&gs\\_rfai=>](http://www.google.com.br/search?hl=ptBR&q=ANVISA+RDC+n%C2%BA+348%2F2003&btnG=Pesquisar&aq=f&aqi=&aql=&oq=&gs_rfai=>)>. Acesso em: 31 Mar. 2009.

RIEDEL, G. **Controle Sanitário dos Alimentos**. 3 Ed. São Paulo: Atheneu, 2005. 455 p.

REGULAMENTO DA INSPEÇÃO INDUSTRIAL E SANITÁRIA DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL. RIISPOA. De 29 de Março de 1952. Capítulo I. TÍTULO VIII. Artigo 475. Disponível em: <[http://www.google.com.br/search?hl=pt-BR&q=RIISPOA+-+REGULAMENTO+DA+INSPE%C3%87%C3%83O+INDUSTRIAL+E+SANIT%C3%81RIA+DE+PRODUTOS+DE+ORIGEM+ANIMAL&btnG=Pesquisar&aq=f&aqi=g1&aql=&oq=&gs\\_rfai=>](http://www.google.com.br/search?hl=pt-BR&q=RIISPOA+-+REGULAMENTO+DA+INSPE%C3%87%C3%83O+INDUSTRIAL+E+SANIT%C3%81RIA+DE+PRODUTOS+DE+ORIGEM+ANIMAL&btnG=Pesquisar&aq=f&aqi=g1&aql=&oq=&gs_rfai=>)>. Acesso em: 07/05/2009.

REGULAMENTO DA INSPEÇÃO INDUSTRIAL E SANITÁRIA DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL. RIISPOA. De 29 de Março de 1952. Capítulo V. Artigos: 665, 666, 668. Disponível em: <[http://www.google.com.br/search?hl=pt-BR&q=RIISPOA+-+REGULAMENTO+DA+INSPE%C3%87%C3%83O+INDUSTRIAL+E+SANIT%C3%81RIA+DE+PRODUTOS+DE+ORIGEM+ANIMAL&btnG=Pesquisar&aq=f&aqi=g1&aql=&oq=&gs\\_rfai=>](http://www.google.com.br/search?hl=pt-BR&q=RIISPOA+-+REGULAMENTO+DA+INSPE%C3%87%C3%83O+INDUSTRIAL+E+SANIT%C3%81RIA+DE+PRODUTOS+DE+ORIGEM+ANIMAL&btnG=Pesquisar&aq=f&aqi=g1&aql=&oq=&gs_rfai=>)>. Acesso em: 07/05/2009.

REGULAMENTO DA INSPEÇÃO INDUSTRIAL E SANITÁRIA DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL. RIISPOA. De 29 de Março de 1952. Capítulo VI. Artigo 694. Disponível em: <[http://www.google.com.br/search?hl=pt-BR&q=RIISPOA+-+REGULAMENTO+DA+INSPE%C3%87%C3%83O+INDUSTRIAL+E+SANIT%C3%81RIA+DE+PRODUTOS+DE+ORIGEM+ANIMAL&btnG=Pesquisar&aq=f&aqi=g1&aql=&oq=&gs\\_rfai=>](http://www.google.com.br/search?hl=pt-BR&q=RIISPOA+-+REGULAMENTO+DA+INSPE%C3%87%C3%83O+INDUSTRIAL+E+SANIT%C3%81RIA+DE+PRODUTOS+DE+ORIGEM+ANIMAL&btnG=Pesquisar&aq=f&aqi=g1&aql=&oq=&gs_rfai=>)>. Acesso em: 07/05/2009.

RUBIM, J.C. A escolha da faixa espectral no uso combinado de métodos espectroscópicos e quimiométricos. **Química Nova**, v.27, n.2, p.218-225, 2004. Disponível em: <<http://quimicanova.sbg.org.br/qn/qnol/2004/vol27n2/index.htm>>. Acesso em: 02 Jul. 2008.

RUFINO, J.L. **Desenvolvimento de Metodologias Analíticas Para Controle de Qualidade de Fármacos, Utilizando-se Técnicas Espectroscópicas (NIR e MID) e Processos de Calibração Multivariada (PLS)**. 2004. 116 f. Dissertação (Mestrado em Química). Programa de Pós Graduação em Química. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2004. Disponível em: <<http://www.google.com.br/search?hl=pt-BR&&sa=X&ei=6QN0TKapDYH-8AbU7Jz0CA&ved=0CBUQvwUoAQ&q=disserta%C3%A7%C3%A3o+de+mestrado+-+Jos%C3%A9+Luiz+Rufino&spell=1>>. Acesso em : 13 Fev. 2009.

SASIC, S.; OZAKI, Y.; OLINGA, A.; SIESLER, H. W. Comparison of various chemometric evaluation approaches for on-line FT-NIR transmission and FT-MIR/ATR spectroscopic data of methyl methacrylate solution polymerization. **Analytica Chimica Acta**, v.452, n.2, p.265-276, 2002. Disponível em: <[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleListURL&\\_method=list&\\_ArticleListID=1438229498&view=c&\\_acct=C000050221&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=10&md5=dd9a528afce53e98206afb7abb208db9](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleListURL&_method=list&_ArticleListID=1438229498&view=c&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=dd9a528afce53e98206afb7abb208db9)>. Acesso em: 04 Maio 2009.

SAVITZKY, A.; GOLAY, M. J. E. Smoothing and differentiation of data by simplified least square procedure. **Analytical Chemistry**, v.36, n.8, p.1627 - 1639, 1964. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac60214a047>>. Acesso em: 14 Set. 2008.

SCAFI, S. H. F.; PASQUINI, C. Identification of counterfeit drugs using near-infrared spectroscopy. **Analyst**, v.126, p.2218–2224, 2001. Disponível em: <[http://scholar.google.com.br/scholar?q=SCAFI,+S.+H.+F.%3B+PASQUINI,+C.+Identificat+ion+of+counterfeit+drugs+using+near-infrared+spectroscopy&hl=pt-BR&as\\_sdt=0&as\\_vis=1&oi=scholar](http://scholar.google.com.br/scholar?q=SCAFI,+S.+H.+F.%3B+PASQUINI,+C.+Identificat+ion+of+counterfeit+drugs+using+near-infrared+spectroscopy&hl=pt-BR&as_sdt=0&as_vis=1&oi=scholar)>. Acesso em: 15 Abr..2009.

SIMAS, R.C. **Determinação de Proteína Bruta e Aminoácidos em Farelo de Soja por Espectroscopia no Infravermelho Próximo**. 2005, 119 f. Dissertação (Mestrado em Química). Programa de Pós Graduação do Instituto de Química. Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 2005. Disponível em: <<http://www.biq.iqm.unicamp.br/arquivos/teses/vtIs000366861.pdf>>, acesso em: 15 Jan 2009.

SIMÕES, S.S. **Desenvolvimento de Métodos Validados para a Determinação de Captopril usando Espectrometria NIRR e Calibração Multivariada**. 2008. 83 f. Tese (Doutorado em Química). Programa de Pós Graduação em Química. Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa. 2008. Disponível em: <[www.quimica.ufpb.br/posgrad/teses/Tese\\_Simone\\_Simoes.pdf](http://www.quimica.ufpb.br/posgrad/teses/Tese_Simone_Simoes.pdf)>. Acesso em: 02 Abr. 2009.

SKOOG, D.A.; HOLLER, F.J.; NIEMAN, T.A; **Fundamentos de Química Analítica**. Trad. 8. Ed. Norte Americana. Porto Alegre: Bookman. 2006. 1026 p.

SORENSEN, L.K; JEPSEN, R. Assessment of sensory properties of cheese by Near Infrared Spectroscopy. **Int. Dairy Journal**, v.8, p.863-871, 1998. Disponível em: <[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleListURL&\\_method=list&\\_ArticleListID=1438187399&\\_sort=r&view=c&\\_acct=C000050221&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=10&md5=33f0531c4edb0585996de8262454fba3](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleListURL&_method=list&_ArticleListID=1438187399&_sort=r&view=c&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=33f0531c4edb0585996de8262454fba3)>. Acesso em: 14 Fev. 2009.

SORENSEN, W. O.; MEIER, S.; PETERSEN, O. B.; DUUS, J. Recent progress in heteronuclear long-range NMR of complex carbohydrates: 3D H<sub>2</sub>BC and *clean* HMBC. **Carbohydrate Research**, v.344, n.16, pag.2274-2278, 2009. Disponível em: <[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleListURL&\\_method=list&\\_ArticleListID=1438187399&\\_sort=r&\\_view=c&\\_acct=C000050221&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=10&md5=33f0531c4edb0585996de8262454fba3](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleListURL&_method=list&_ArticleListID=1438187399&_sort=r&_view=c&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=33f0531c4edb0585996de8262454fba3)>. Acesso em: 12 Jan. 2009.

SORENSEN, M.; BIBBY, M. B. Hyperbolic processes in finance. **Handbook of Heavy Tailed Distributions in Finance**, p.211-248, 2003. Disponível em: <[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleListURL&\\_method=list&\\_ArticleListID=1438187399&\\_sort=r&\\_view=c&\\_acct=C000050221&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=10&md5=33f0531c4edb0585996de8262454fba3](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleListURL&_method=list&_ArticleListID=1438187399&_sort=r&_view=c&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=33f0531c4edb0585996de8262454fba3)>. Acesso em: 04 Mar. 2009.

TORRES, E.A.F.S.; CAMPOS, N.C.; DUARTE, M.; GARBELOTTI, M. L.; PHILIPPI, S. T.; RODRIGUES, R. S. M. Composição Centesimal e Valor Calórico de Alimentos de Origem Animal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.20, n.2, p.145-150, 2000. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-2061200000200003](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-2061200000200003)>. Acesso em: 03 Jun. 2009.

VOGEL, A. I. **Análise Química Quantitativa**, 5 Ed. Tradução de Horácio Macedo. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A. 1992. 712 p.

WATSON, C.A. Near infrared reflectance spectrophotometric analysis of agricultural products, **Analytical Chemistry**, v.49, n.9, p.835A-840A, 1977. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scieloOrg/php/reflinks.php?refpid=S0101-2061200800010000300018&pid=S0101-20612008000100003&lng=en>>. Acesso em: 03 mar. 2008.

WETZEL, D.L. Near-infrared reflectance analysis sleeper among spectroscopic techniques. **Analytical Chemistry**, v.55, n.12, p.1165A-1176A, 1983. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scieloOrg/php/reflinks.php?refpid=S1516-9332200400030001500046&pid=S1516-93322004000300015&lng=en>>. Acesso em: 14 Out. 2008.

WILLIAMS, P.C.E.; NORRIS, K.H. WILLIAMS, P.C.E.; NORRIS, K.H. **Near Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries**. St. Paul: American Association of Cereal Chemists, 1990, 330 p. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scieloOrg/php/reflinks.php?refpid=S0101-2061200400030000500032&pid=S0101-20612004000300005&lng=en>>. Acesso em: 14 Mar. 2008.

WILLIAMS, P. C.; NORRIS, K. H.; SOBERING, D. C. Determination of protein and moisture in wheat and barley (cevada) by near-infrared transmission. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n.33, p.239-244, 1985. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf00062a021>>. Acesso em: 13 maio 2008.

WILSON, R.H.; TAPP, H.S. Mid-Infrared Spectroscopy for Food Analysis: Recent New Applications and Relevant Developments in Sample Presentation Methods. **Trends in Analytical Chemistry**, v.18, p.85-93, 1999. Disponível em: <[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleURL&\\_udi=B6V5H-3VS23Y0-2&\\_user=10&\\_coverDate=02%2F28%2F1999&\\_rdoc=1&\\_fmt=high&\\_orig=search&\\_sort=d&\\_docanchor=&\\_view=c&\\_searchStrId=1439594655&\\_rerunOrigin=google&\\_acct=C000050221&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=10&md5=856faea138566a7752d130d72201fb0e](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6V5H-3VS23Y0-2&_user=10&_coverDate=02%2F28%2F1999&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=search&_sort=d&_docanchor=&_view=c&_searchStrId=1439594655&_rerunOrigin=google&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=856faea138566a7752d130d72201fb0e)>. Acesso em: 03 mar. 2008.

WOO, Y.; TERAZAWA, Y.; CHEN, J.; IYO, C.; TERADA, F.; KAWANO, S. Development of a New Measurement Unit (Milk Spec 1) for Rapid Determination of Fat, Lactose, and Proteins in Raw Milk Using Near – Infrared Transmittance Spectroscopy. **Applied Spectroscopy**, v.56, n.5, p.599–604, 2002. Disponível em: <<http://www.opticsinfobase.org/abstract.cfm?uri=as-56-5-599>>. Acesso em: 14 Abr. 2009.

WORKMAN, Jr. J. J. Interpretive spectroscopy for near infrared. **Applied Spectroscopy Review**, v.31, n.3, p. 251–320, 1996. Disponível em: <<http://www.informaworld.com/smpp/content~db=all~content=a747188189>>. Acesso em: 14 Mar. 2009.

WU, D.; HE, Y.; SHI, J.; FENG, S. Exploring Near and Midinfrared Spectroscopy to Predict Trace Iron and Zinc Contents in Powdered Milk. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v.57, p.1697–1704, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19215130>>. Acesso em: 03 Out.2009.

WU, D.; HE, Y.; FENG, S. Short-wave near-infrared spectroscopy analysis of major compounds in milk powder and wavelength assignment. **Analytica Chimica Acta**, v.610, n.2 p. 232–242, 2008. Disponível em: <[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleURL&\\_udi=B6TF4-4RRFNDG-3&\\_user=10&\\_coverDate=03%2F10%2F2008&\\_rdoc=1&\\_fmt=high&\\_orig=search&\\_sort=d&\\_docanchor=&\\_view=c&\\_searchStrId=1443833712&\\_rerunOrigin=google&\\_acct=C000050221&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=10&md5=1633fda52610a7f81a7c4afc26c6d672](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6TF4-4RRFNDG-3&_user=10&_coverDate=03%2F10%2F2008&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=search&_sort=d&_docanchor=&_view=c&_searchStrId=1443833712&_rerunOrigin=google&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=1633fda52610a7f81a7c4afc26c6d672)>. Acesso em: 14 Set. 2009.

WU, D.; HE, Y.; FENG, S.; SUN, D. Study on infrared spectroscopy technique for fast measurement of protein content in milk powder based on LS-SVM. **Journal of Food Engineering**, v.84 p. 124–131, 2008. Disponível em: <[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ArticleURL&\\_udi=B6T8J-4NR1856-2&\\_user=10&\\_coverDate=01%2F31%2F2008&\\_rdoc=1&\\_fmt=high&\\_orig=search&\\_sort=d&\\_docanchor=&\\_view=c&\\_searchStrId=1441697683&\\_rerunOrigin=google&\\_acct=C000050221&\\_version=1&\\_urlVersion=0&\\_userid=10&md5=577691648d0952e8d8c3fb3a5b291b2f](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6T8J-4NR1856-2&_user=10&_coverDate=01%2F31%2F2008&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=search&_sort=d&_docanchor=&_view=c&_searchStrId=1441697683&_rerunOrigin=google&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=577691648d0952e8d8c3fb3a5b291b2f)>. Acesso em: 14 Jun. 2009.

XIE, L.; YING, Y.; YING, T. Classification of tomatoes with different genotypes by visible and short-wave near-infrared spectroscopy with least-squares support vector machines and other chemometrics. **Journal of Food Engineering**, n.94 p.34–39, 2009. Disponível em: <<http://www.elsevier.com/locate/jfoodeng>>. Acesso em: 14 Set. 2009.

YASUHARA, T.; NOKIHARA, K. High-throughput analysis of total nitrogen content that replaces the classic Kjeldahl method. **Journal of agricultural and food chemistry**, v.49, p.4581-4583, 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11599991>>. Acesso em: 07 Out. 2007.

ZENEON, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. (Coord.). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. Ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008, 1020p 1. Ed. digital. Disponível em: <[http://www.google.com.br/search?hl=pt-BR&q=INSTITUTO+ADOLFO+LUTZ%2C+M%C3%A9todos+F%C3%ADsico+%E2%80%93+qu%C3%ADmicos+para+an%C3%A1lise+de+alimentos.+%E2%80%93+IV+Edi%C3%A7%C3%A3o+-+1%C2%AA+Edi%C3%A7%C3%A3o+Digital&btnG=Pesquisar&aq=f&aqi=&aql=&oq=&gs\\_rfai=>](http://www.google.com.br/search?hl=pt-BR&q=INSTITUTO+ADOLFO+LUTZ%2C+M%C3%A9todos+F%C3%ADsico+%E2%80%93+qu%C3%ADmicos+para+an%C3%A1lise+de+alimentos.+%E2%80%93+IV+Edi%C3%A7%C3%A3o+-+1%C2%AA+Edi%C3%A7%C3%A3o+Digital&btnG=Pesquisar&aq=f&aqi=&aql=&oq=&gs_rfai=>)>. Acesso em: 18 Jan. 2009.

**APÊNDICE A** – Correlação entre os teores de proteínas medidos através do método de referência (Kjeldahl) e preditos em NIR – Valores para PCR

**Tabela A.1 - PCR – 1ª Derivada – 15 Pontos**

<b>AMOSTRAS 1ª Derivada – 15 Pontos</b>	<b>REFERÊNCIA (Kjeldahl)</b>	<b>PREDITO (NIR)</b>	<b>DESVIO</b>
<b>D3</b>	10,488	10,334	0,472
<b>I1</b>	6,959	7,640	0,459
<b>I21</b>	8,343	7,944	0,348
<b>I25</b>	3,162	7,477	0,438
<b>I3</b>	7,864	7,833	0,525
<b>I7</b>	7,710	7,983	0,574
<b>SOJA 2</b>	10,462	10,003	0,863
<b>SORO 2</b>	4,672	3,974	3,904
<b>SORO 6</b>	6,127	6,340	0,427

**Tabela A.2 - PCR - 1ª Derivada – 21 Pontos**

<b>AMOSTRAS – 1ª Derivada - 21 Pontos</b>	<b>REFERÊNCIA (Kjeldahl)</b>	<b>PREDITO (NIR)</b>	<b>DESVIO</b>
<b>D3</b>	10,488	10,289	0,469
<b>I1</b>	6,959	7,613	0,452
<b>I21</b>	8,343	7,984	0,328
<b>I25</b>	3,162	7,439	0,426
<b>I3</b>	7,864	7,766	0,492
<b>I7</b>	7,710	7,966	0,563
<b>SOJA 2</b>	10,462	10,003	0,922
<b>SORO 2</b>	4,672	4,097	4,268
<b>SORO 6</b>	6,127	6,449	0,422

Tabela A.3 - PCR – 2ª Derivada – 15 Pontos

<b>AMOSTRAS 2ª Derivada - 15 Pontos</b>	<b>REFERÊNCIA (Kjeldahl)</b>	<b>PREDITO (NIR)</b>	<b>DESVIO</b>
<b>D3</b>	10,488	10,008	1,136
<b>I1</b>	6,959	7,839	1,107
<b>I21</b>	8,343	6,917	1,093
<b>I25</b>	3,162	7,467	0,925
<b>I3</b>	7,864	8,021	1,377
<b>I7</b>	7,710	7,494	1,789
<b>SOJA 2</b>	10,462	8,177	1,766
<b>SORO 2</b>	4,672	6,500	5,752
<b>SORO 6</b>	6,127	6,255	0,888

Tabela A.4 - PCR – 2ª Derivada – 31 Pontos

<b>AMOSTRAS 2ª Derivada - 31 Pontos</b>	<b>REFERÊNCIA (Kjeldahl)</b>	<b>PREDITO (NIR)</b>	<b>DESVIO</b>
<b>D3</b>	10,488	10,479	0,452
<b>I1</b>	6,959	7,224	0,417
<b>I21</b>	8,343	7,732	0,347
<b>I25</b>	3,162	7,364	0,484
<b>I3</b>	7,864	7,452	0,460
<b>I7</b>	7,710	8,247	0,589
<b>SOJA 2</b>	10,462	9,495	0,876
<b>SORO 2</b>	4,672	3,621	4,550
<b>SORO 6</b>	6,127	5,783	0,427



**APÊNDICE B** – Correlação entre os teores de proteínas medidos através do método de referência (Kjeldahl) e preditos em NIR – Valores para PLS

**Tabela B.1 - PLS – 1ª Derivada – 15 Pontos**

<b>AMOSTRAS – 1ª Derivada - 15 Pontos</b>	<b>REFERÊNCIA (Kjeldahl)</b>	<b>PREDITO (NIR)</b>	<b>DESVIO</b>
<b>D3</b>	10,488	10,277	0,490
<b>I1</b>	6,959	7,616	0,476
<b>I21</b>	8,343	7,916	0,442
<b>I25</b>	3,162	7,379	0,504
<b>I3</b>	7,864	7,759	0,551
<b>I7</b>	7,710	8,059	0,995
<b>SOJA 2</b>	10,462	10,010	1,264
<b>SORO 2</b>	4,672	4,447	3,733
<b>SORO 6</b>	6,127	6,429	0,492

**Tabela B.2 - PLS – 1ª Derivada – 21 Pontos**

<b>AMOSTRAS 1ª Derivada - 21 Pontos</b>	<b>REFERÊNCIA (Kjeldahl)</b>	<b>PREDITO (NIR)</b>	<b>DESVIO</b>
<b>D3</b>	10,488	10,242	0,473
<b>I1</b>	6,959	7,590	0,464
<b>I21</b>	8,343	7,990	0,424
<b>I25</b>	3,162	7,391	0,492
<b>I3</b>	7,864	7,715	0,525
<b>I7</b>	7,710	7,904	1,052
<b>SOJA 2</b>	10,462	10,110	1,317
<b>SORO 2</b>	4,672	4,538	3,891
<b>SORO 6</b>	6,127	6,537	0,496

Tabela B.3 - PLS – 2ª Derivada – 15 Pontos

<b>AMOSTRAS 2ª Derivada - 15 Pontos</b>	<b>REFERÊNCIA (Kjeldahl)</b>	<b>PREDITO (NIR)</b>	<b>DESVIO</b>
<b>D3</b>	10,488	10,424	0,712
<b>I1</b>	6,959	8,780	0,662
<b>I21</b>	8,343	6,591	0,722
<b>I25</b>	3,162	7,697	0,745
<b>I3</b>	7,864	9,147	0,816
<b>I7</b>	7,710	8,617	1,008
<b>SOJA 2</b>	10,462	9,259	1,199
<b>SORO 2</b>	4,672	1,901	3,315
<b>SORO 6</b>	6,127	5,494	0,566

Tabela B.4 - PLS – 2ª Derivada – 31 Pontos

<b>AMOSTRAS 2ª Derivada - 31 Pontos</b>	<b>REFERÊNCIA (Kjeldahl)</b>	<b>PREDITO (NIR)</b>	<b>DESVIO</b>
<b>D3</b>	10,488	10,337	0,479
<b>I1</b>	6,959	7,672	0,429
<b>I21</b>	8,343	7,903	0,357
<b>I25</b>	3,162	7,572	0,495
<b>I3</b>	7,864	7,859	0,473
<b>I7</b>	7,710	7,986	0,612
<b>SOJA 2</b>	10,462	9,460	1,113
<b>SORO 2</b>	4,672	4,082	4,572
<b>SORO 6</b>	6,127	6,191	0,444

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)