

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

MATEUS HENRIQUE DE SOUZA

**ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO
(NIR) EM ANÁLISES BROMATOLÓGICAS: UMA
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

SÃO CARLOS -SP
2024

MATEUS HENRIQUE DE SOUZA

ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO (NIR) EM ANÁLISES
BROMATOLÓGICAS: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Trabalho de conclusão de curso
apresentado ao Departamento de Química
da Universidade Federal de São Carlos,
para obtenção do título de Bacharel em
Química.

Orientador: Prof. Dr. Renato Lajarim
Carneiro

São Carlos-SP
2024

Henrique de Souza, Mateus

Espectroscopia de infravermelho próximo (NIR) em análises bromatológicas: uma revisão bibliográfica / Mateus Henrique de Souza -- 2024.
34f.

TCC (Graduação) - Universidade Federal de São Carlos, campus São Carlos, São Carlos

Orientador (a): Renato Lajarim Carneiro

Banca Examinadora: Fillipe Vieira Rocha, Elton Fabiano Sitta

Bibliografia

1. Infravermelho próximo. 2. Quimiometria. 3. Análises bromatológicas. I. Henrique de Souza, Mateus. II. Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática (SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Arildo Martins - CRB/8 7180



FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA - DQ/CCET

Rod. Washington Luís km 235 - SP-310, s/n - Bairro Monjolinho, São Carlos/SP, CEP 13565-905

Telefone: (16) 33518206 - <http://www.ufscar.br>

DP-TCC-FA nº 30/2024/DQ/CCET

Graduação: Defesa Pública de Trabalho de Conclusão de Curso

Folha Aprovação (GDP-TCC-FA)

FOLHA DE APROVAÇÃO

MATEUS HENRIQUE DE SOUZA

ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO (NIR) EM ANÁLISES BROMATOLÓGICAS: UMA REVISÃO
BIBLIOGRÁFICA

Trabalho de Conclusão de Curso

Universidade Federal de São Carlos – Campus São Carlos

São Carlos, 06 de setembro de 2024

ASSINATURAS E CIÊNCIAS

Cargo/Função	Nome Completo
Orientador	Prof. Dr. Renato Lajarim Carneiro
Membro da Banca 1	Prof. Dr. Fillipe Vieira Rocha
Membro da Banca 2	Prof. Dr. Elton Fabiano Sitta



Documento assinado eletronicamente por **Ricardo Samuel Schwab, Professor(a)**, em 09/09/2024, às 11:05, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <https://sei.ufscar.br/autenticacao>, informando o código verificador **1574957** e o código CRC **D486A912**.

Referência: Caso responda a este documento, indicar expressamente o Processo nº 23112.001933/2024-38

SEI nº 1574957

Modelo de Documento: Grad: Defesa TCC: Folha Aprovação, versão de 02/Agosto/2019

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos os que me ajudaram nesta caminhada. Aos meus amigos queridos pelos incentivos, apoios e parcerias constantes, à universidade pela grande oportunidade de crescimento pessoal e profissional que tive ao longo desta jornada, aos professores pelos ensinamentos e lições aprendidos. Agradeço particularmente à minha falecida mãe, que não pôde presenciar esta grande conquista, mas sempre me forneceu força e incentivo para prosseguir, mesmo diante das dificuldades e desafios que surgem no caminho. Agradeço imensamente por ser minha força e inspiração.

RESUMO

As espectroscopias são um dos métodos analíticos mais utilizados no mundo, sendo referência para análises bromatológicas, ou seja, aquelas destinadas à determinação da composição química de alimentos, valor nutricional, calorias, propriedades físicas, químicas, toxicológicas entre outras. O objetivo deste trabalho é realizar uma revisão bibliográfica sobre o uso da espectroscopia na região do infravermelho próximo (NIR) nessas análises, evidenciando suas vantagens e desvantagens. A partir dos resultados encontrados nas plataformas *Google Acadêmico* e *Periódicos Capes*, observa-se que o NIR pode ser realizado em forragens, sementes, grãos, vagens e silagens, onde seu resultado evidencia se a amostra está apta ou não para consumo, além de determinar parâmetros como quantidade de proteína bruta, teor de nitrogênio, fibra seca, teor de umidade, cinza total, fibra bruta e gordura bruta. A utilização de quimiometria é fundamental para a quantificação via NIR, visto que os espectros NIR não possuem seletividade, assim métodos de calibração multivariada como regressão por componentes principais (PCR) e regressão por quadrados mínimos parciais (PLS) são fundamentais para a quantificação de substâncias e parâmetros. Para realizar a calibração multivariada, é necessário também que análises de referência sejam utilizadas a fim de realizar a correlação entre os espectros (NIR) e os valores de propriedades encontrados pelo método de referência. Considerando a praticidade, custo e alta frequência analítica da técnica, fica evidente a importância da espectroscopia NIR nas análises bromatológicas.

Palavras-chave: Infravermelho próximo; Quimiometria; Análises bromatológicas.

ABSTRACT

Spectroscopies are among the most widely used analytical methods in the world, serving as a reference for bromatological analyses, i.e., those aimed at determining the chemical composition of food, nutritional value, calories, physical, chemical, toxicological properties, among others. The objective of this work is to conduct a literature review on the use of near-infrared (NIR) spectroscopy in these analyses, highlighting its advantages and disadvantages. Based on the results found on Google Scholar and Capes Journals platforms, it is observed that NIR can be applied to forages, seeds, grains, pods, and silages, where its results indicate whether the sample is fit for consumption or not, in addition to determining parameters such as crude protein content, nitrogen content, dry fiber, moisture content, total ash, crude fiber, and crude fat. The use of chemometrics is essential for quantification via NIR, as NIR spectra lack selectivity, thus multivariate calibration methods such as principal component regression (PCR) and partial least squares regression (PLS) are crucial for the quantification of substances and parameters. To perform multivariate calibration, it is also necessary that reference analyses be used to correlate the spectra (NIR) with the property values found by the reference method. Considering the practicality, cost, and high analytical frequency of the technique, the importance of NIR spectroscopy in bromatological analyses is evident.

Keyword: Near infrared spectroscopy; Chemometrics; Bromatological analysis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação de um destilador Kjeldahl.....	16
Figura 2 - Espectro eletromagnético	19
Figura 3 - Equipamento NIR.....	20
Figura 4 - Esquema de um espectrômetro NIR dispersivo.....	20
Figura 5 - Espectro NIR de grão moído de milho	28
Figura 6 - Valores de referência para as propriedades do grão moído de milho.....	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Trabalhos selecionados que tratam sobre o NIR e seu uso	24
--	----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVO	12
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
3.1	Mercado alimentício no Brasil	13
3.2	Métodos clássicos para análises bromatológicas	14
3.2.1	Método de Kjeldahl	14
3.2.2	Método de Dumas	17
3.3	Espectroscopia no infravermelho próximo	18
3.4	Calibração multivariada	21
4	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	24
5	CONCLUSÃO	30
	REFERÊNCIAS	30

1 INTRODUÇÃO

O uso da espectroscopia é muito enfático quanto se trata de métodos analíticos, principalmente quando há a necessidade de analisar e obter informações relevantes sobre a composição de um determinado material (Melo, 2017).

Seu uso abrange inúmeras áreas, onde a alimentícia mostra-se essencial devido a problemas que podem ocorrer quando alimentos impróprios são consumidos, seja por seres humanos ou animais. Desta maneira, vale destacar que alimentos como o milho representam cerca de 70% das formulações comerciais atuais para a alimentação animal, portanto é relevante que sua composição seja analisada (Fernandes, 2015).

Outra justificativa para que esses alimentos sejam estudados, encontra-se na dieta que deve ser aplicada aos animais, ou seja, é necessário que esta seja equilibrada e de acordo com cada fase de vida do animal, onde a alimentação balanceada evidencia uma redução dos custos de produção de cerca de 20,4% (Rihawi et al., 2010).

Dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) relatam que em 2017 o Brasil possuía 158,6 milhões de hectares de fazendas, logo a área agropecuária do país é grande e necessita que boas pastagens e alimentações sejam oferecidas, visando ainda o consumo dos animais pelo ser humano. Vale mencionar, que mesmo com a grande extensão de hectares disponíveis no Brasil, há momentos de seca ou de grandes chuvas, o que ocasiona dificuldade na alimentação desses animais, logo, é relevante que haja um armazenamento correto e eficaz para a alimentação animal (Pamato et al., 2022).

As análises dessas amostras são denominadas bromatológicas, sendo esta palavra de origem grega, onde broma significa dos alimentos e Logos ciência, logo, é definida como a ciência que estuda os alimentos, como também sua composição química, ação no organismo e valor alimentício (Coelho, 2015). Ainda, tem como objetivo quantificar quais nutrientes estão presentes em determinada amostra de alimento, deste modo seu uso fornece informações relevantes para os produtores de animais acerca da alimentação utilizada, planejamento alimentar e forrageiro (Rech, 2018). As análises bromatológicas não se referem exclusivamente aos alimentos destinados à animais, mas também aos alimentos destinados aos humanos.

Vale mencionar que muitas das técnicas utilizadas encontram-se defasadas, demandam muito tempo de análise e requerem preparação específica (Anjos, 2016).

Segundo Dos Santos *et al.* (2024), a Espectroscopia de Infravermelho Próximo (NIR) pode ser utilizada para a obtenção de informações de composição química das amostras bromatológicas sem que estas sejam destruídas e/ou resíduos sejam produzidos. Além disso, os resultados são apresentados em pouco tempo, permitindo uma alta frequência analítica, o que desperta grande interesse da indústria.

O princípio desta análise está na absorção de radiação na região do infravermelho próximo, variando de 800 a 2.500 nm, é uma técnica multianalítica permitindo que sejam previstos vários parâmetros ao mesmo tempo, e com a mesma precisão (Evangelista; Basiricó; Bernabucci, 2021).

Nota-se que o resultado do método está no fato de que as principais substâncias presentes em uma amostra têm características diferentes de absorção, devido às vibrações das ligações covalentes, permitindo assim que espectros combinados dessas substâncias sejam gerados e interpretados (Dias *et al.*, 2012).

Ainda, de acordo com Pamato *et al.* (2022) a NIR apresenta rapidez e pouco trabalho no preparo das amostras que serão analisadas, logo, o procedimento mostra-se facilitado e eficiente para análises bromatológicas.

Desta maneira, o trabalho tem como objetivo realizar uma revisão bibliográfica nas plataformas Periódicos Capes e *Google Acadêmico* acerca do uso da NIR em análises bromatológicas para alimentos destinados à alimentação animal, salientando a maneira de uso da técnica, suas vantagens, desvantagens e comparações com outras técnicas.

2 OBJETIVO

O objetivo deste trabalho é realizar uma revisão bibliográfica acerca do uso da técnica de Espectroscopia de Infravermelho Próximo nas análises bromatológicas para alimentação animal.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Mercado Alimentício no Brasil

A globalização e o consumo da população são fatores que tem contribuído de forma incisiva para a venda de produtos alimentícios, onde segundo uma reportagem da revista Exame (2024), observa-se que o faturamento da indústria alimentícia passou de 5,1% em 2022 para 7,2% em 2023, chegando ainda a representar 60,9% da produção voltada a agropecuária brasileira.

No Nordeste do país encontra-se uma grande concentração de rebanhos de ovinos e caprinos, representando cerca de 92,7% e 60,6% respectivamente do total destes animais presentes no Brasil, porém manter a nutrição desses animais exige que 75 a 80% do custo efetivo seja gasto na alimentação destes (Melo, 2017).

Além disso, a região citada apresenta períodos de tempo seco, onde a chuva é escassa, o que exige que os alimentos destinados à alimentação do rebanho seja de alta qualidade e mantenha os nutrientes necessários, portanto, justifica-se o uso de técnicas analíticas para que ocorram estudo destes alimentos, visando ainda que o estes animais cheguem saudáveis para o consumo humano (Melo, 2017; Pereira, 2007).

Desta maneira, é relevante que os alimentos sejam analisados, afinal sua vida útil pode ser alterada de acordo com seu armazenamento, efeito do oxigênio nesses materiais e o crescimento de microrganismos indesejados e prejudiciais para a saúde dos animais (Onório; Seixas, 2010).

Outro conceito que vale ser destacado, é a questão de produtos orgânicos e não orgânicos, onde os primeiros tendem a ser mais saudáveis, pois não são colocados em contatos com agrotóxicos e fertilizantes sintéticos, salientando a preocupação dos produtores e dos consumidores com uma alimentação tanto humana quanto animal que seja mais saudável, justificando assim que os produtos alimentícios passem por análises e procedimentos mais rígidos em suas produções (Fernandez *et al.*, 2020).

Além disso, devido à crescente procura da sociedade por determinados alimentos, principalmente os que apresentam alta nos preços, como, por exemplo, o caso de azeites, as técnicas de análises demonstram eficiência em analisar e

identificar se os produtos são ou não falsificados, sendo outro quesito importante quando se trata do mercado alimentício brasileiro (Santos *et al.*, 2020).

A crescente deste mercado traz também as regulamentações e legislações brasileiras, embasadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), sendo estes responsáveis pela garantia de qualidade dos alimentos. Deste modo, a qualidade alimentícia é exacerbada e pede que técnicas analíticas sejam utilizadas para que a composição química dos alimentos seja evidenciada, garantindo que o consumidor final e os animais tenham acesso a uma alimentação adequada e segura (Santos *et al.*, 2020).

3.2 Métodos clássicos para análises bromatológicas

A análise química está ligada à determinação da composição da amostra, desta forma é relevante o entendimento acerca do alimento a ser utilizado na nutrição animal, provendo assim uma alimentação balanceada e com custo-benefício correto. (Ribeiro, 2019).

Uma das análises mais utilizadas para avaliação da qualidade de alimentos é a análise de proteínas, realizada com o intuito de determinar a porção de nitrogênio na amostra, podendo ser realizada pelo método de Dumas ou de Kjeldahl (Ribeiro, 2019).

Vale mencionar que a análise de nitrogênio em amostras bromatológicas é importante considerando-se a quantidade de proteínas presentes no alimento, ou seja, é utilizada para quantificar a proteína presente na amostra. Sendo assim, justifica-se a relevância de analisar as amostras bromatológicas visando entender suas composições (Araújo, 2019).

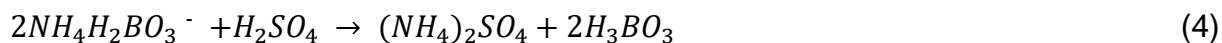
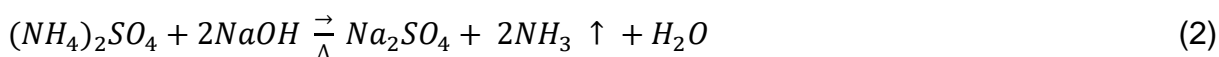
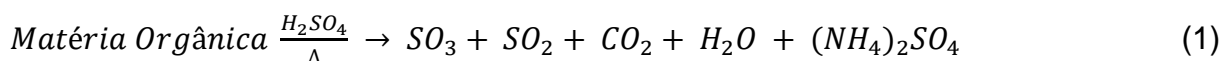
3.2.1 Método de Kjeldahl

Segundo Silva e Queiroz (2009), o método de Kjeldahl foi desenvolvido em 1883 pelo químico dinamarquês Johan Kjeldahl, o que justifica o nome da análise. Sua utilização consiste em três etapas: digestão da amostra em ácido sulfúrico em um bloco digestor; destilação de amônia aumentando o pH com hidróxido de sódio e ácido bórico como receptor da amônia para coletar a amônia destilada; e titulação com ácido

clorídrico para quantificação da amônia encontrada na amostra.

Vale destacar que este método é utilizado até os dias atuais como uma referência nas análises bromatológicas, mesmo com as diversas modificações sofridas ao longo do tempo, visando a melhoria da técnica e seu aperfeiçoamento. Além disso, pode ser utilizada para calibração e validação de outros métodos determinadores de proteínas (Melo *et al.*, 2020).

A seguir, são apresentadas as reações envolvidas no método:



Fonte: Adaptado de Araújo (2019).

As reações apresentadas anteriormente, podem ser divididas em três etapas, sendo estas: digestão, destilação e titulação. Na primeira, proveniente da equação 1, há o aquecimento da amostra com ácido sulfúrico para que o carbono e o hidrogênio sejam oxidados, utilizando também a presença de uma mistura catalisadora de sulfato de cobre com sulfato de potássio, deixando a reação mais veloz e fazendo com que o nitrogênio presente na proteína seja reduzido e transformado no sulfato de amônio (Giovanaz, 2022).

O uso de catalisadores como o sulfato de cobre e o sulfato de potássio apresentam algumas especificidades, como aceleração da oxidação, já evidenciada, redução da quantidade de ácido sulfúrico necessário através do aumento da ebulição deste ácido, logo a digestão é mais eficiente, fazendo com que o nitrogênio orgânico seja convertido em amônia e os compostos orgânicos sejam decompostos devido as altas temperaturas (Giovanaz, 2022).

A escolha de um catalisador, se deu por vários estudos no ano de 1885, sendo os mais eficientes, cobre, mercúrio e selênio, porém opta-se atualmente por

elementos mais seguros, dentre eles uma mistura 2:1 dos sais de sulfato de potássio e sulfato de cobre (Melo *et al.*, 2020).

Para a destilação, segunda etapa, adiciona-se hidróxido de sódio 32% e aquece-se a mistura, logo a amônia é liberada e pode ser separada por este método, como observado na reação 2. Este gás reage então com uma solução de ácido bórico, para que seja formado o borato de amônio, evidenciado na reação 3 (Giovanaz, 2022).

Para terminar, a etapa de titulação, notada na reação 4, evidencia a titulação do borato de amônio, formado anteriormente, com uma solução de ácido sulfúrico padronizada, assim quanto maior a quantidade de ácido utilizada, maior será a quantidade de nitrogênio presente na amostra analisada (Giovanaz, 2022).

Na figura 1 é possível observar a estrutura de um destilador Kjeldahl.

Figura 1 - Representação de um destilador Kjeldahl



Fonte: Alfa Mare (2024).

O método de Kjeldahl demonstra cerca de 98% de eficiência, sendo simples, confiável e de baixo custo, utilizando ainda reagentes que são facilmente encontrados em qualquer laboratório, porém requerem grandes quantidades desses reagentes, o que pode ser um empecilho para alguns experimentos (Ferreira; Monteiro; Silva, 2007).

Visto isso, este é um método relevante para o uso na análise bromatológica, auxiliando nas análises do teor de proteínas de cada alimento e, conseqüentemente,

sendo possível entender como os animais estão se alimentando, além das implicações desta alimentação.

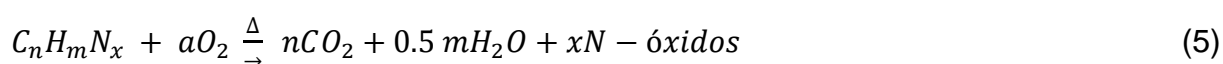
Mesmo com tantas facilidades, esta metodologia apresenta algumas limitações como a demora na digestão da amostra, uso de reagentes com alta periculosidade e grandes volumes de resíduos gerados, o que pode acarretar na busca por outros métodos que façam a mesma função (Ribeiro, 2010).

3.2.2 Método de Dumas

A criação do método Dumas, ocorreu em 1831 pelo químico Jean Baptiste Dumas, sendo a primeira maneira descrita de analisar nitrogênio e proteínas, porém neste período seu uso era limitado devido à falta de materiais e tecnologias da época (Araújo, 2019).

O método Dumas consiste em uma oxidação total da amostra, com a presença de oxigênio e altas temperaturas, facilitando a detecção deste mesmo elemento em sua forma molecular (Ribeiro, 2010).

. Nota-se que a combustão da amostra orgânica, dentro de um sistema fechado e hermético, gera água e óxidos de nitrogênio e carbono, como visto na reação 5. Logo, estes gases passam por uma etapa de redução, onde os óxidos são transformados em nitrogênio molecular (Giovanaz, 2022).



Fonte: Adaptado de Giovanaz (2022).

Segundo Müller (2017), esta metodologia demonstra-se útil para análises totais de nitrogênio em matrizes orgânicas, onde a amostra é queimada por meio de tubos de oxidação e redução para que ocorra a conversão do nitrogênio em molecular, como mencionado anteriormente. Após, um detector de condutividade térmica mede o gás obtido e os resultados são apresentados em miligramas (mg) ou porcentagens.

Algumas desvantagens também podem ser evidenciadas neste método como

algumas divergências nos resultados apresentados, devido à baixa quantidade de amostra utilizada, porém, ainda sim destaca-se e é uma solução quando não se deseja ou não se pode utilizar o método Kjeldahl. (Araújo, 2019).

Quando se compara o método Dumas e o Kjeldahl, observam-se algumas vantagens do primeiro para o segundo, entre elas: automação do processo, rapidez nas análises, utilização de reagentes com menores periculosidades, além de resultados mais precisos e exatos, chamando atenção assim dos profissionais e usuários que necessitam destas análises em seus laboratórios (Ribeiro, 2010).

3.3 Espectroscopia na Região do Infravermelho Próximo

A descoberta da radiação eletromagnética na região do infravermelho próximo (NIR) foi realizada em 1800 por Herschel, sendo a primeira parte do espectro não visível identificada na história, porém seu uso só teve início por volta de um século e meio depois, devido à falta de seletividade dos espectros nessa região (Tibola *et al.*, 2018).

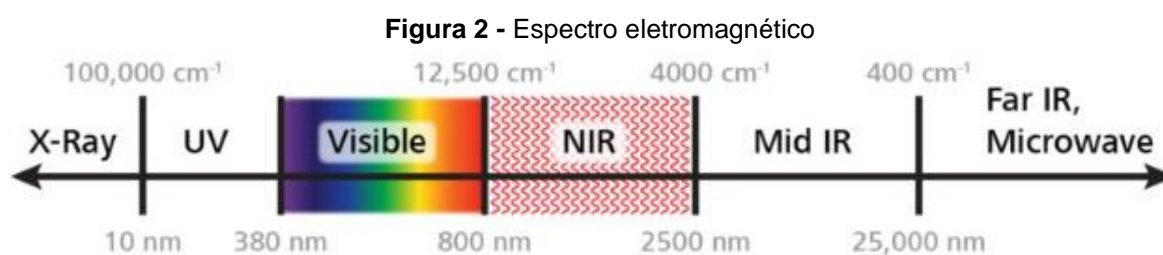
Já em 1930, Thomas Hotteling escreveu o artigo clássico sobre a análise de componentes principais em amostras, denominada Principal Component Analysis (PCA), formulando assim uma abordagem matemática que fosse capaz de abordar e agrupar dados e suas separações, aumentando assim o conhecimento na área (Fernandes, 2015).

Na década de 60 Karl Norris iniciou o uso da técnica para caracterização de produtos agrícolas, neste período ficou evidente que técnicas matemáticas seriam necessárias para o uso do NIR, principalmente para que problemas da falta de seletividade fossem resolvidos. Ainda, este estudo possibilitou a introdução das técnicas quimiométricas de tratamento multivariado de dados e da técnica de regressão por quadrados mínimos parciais em 1984 (Tibola *et al.*, 2018).

O termo espectroscopia remete ao estudo das interações entre as radiações eletromagnéticas com as moléculas, onde as moléculas podem interagir absorvendo diferentes comprimentos de onda para sofrerem transações rotacionais, vibracionais e eletrônicas. Para o NIR, a absorção resulta em transição vibracional, proveniente dos movimentos relativos que os átomos executam em uma molécula, logo, é possível identificar a radiação absorvida por essas ligações (Fernandes, 2015). A transição vibracional observada é resultado de *overtones* ou bandas de combinação de

transições vibracionais fundamentais, já que o NIR é uma radiação mais energética que o infravermelho médio.

Como mencionado, a NIR utiliza a região do espectro eletromagnético, estando na região entre 800 nm a 2500 nm (Figura 2), logo permite a análise de diversos parâmetros ao mesmo tempo, e com uma precisão relevante. Ainda, esta técnica tem consumo de reagentes considerado baixo ou nulo, análises rápidas e pouca manipulação das amostras, sendo, portanto, vantagens quando comparada a outras técnicas (Evangelista; Loredana; Bernabucci, 2021).



Fonte: Metrohm (2024).

O funcionamento do NIR associa-se as ligações covalentes das amostras analisadas, onde estas absorvem energia da radiação e suas vibrações são alteradas. A luz absorvida pode ser medida através da diferença da luz emitida pelo equipamento e a quantidade de luz resultante após esta passar pela amostra. Os grupos funcionais O-H, N-H, C=O são exemplos que apresentam *overtone*s de transições vibracionais na região analisada, sendo relevantes para a análise (Pavia *et al.*, 2010).

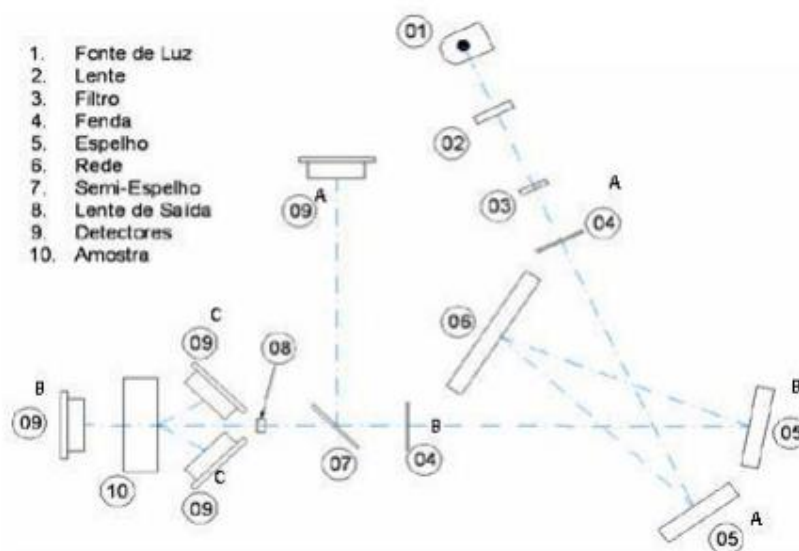
Vale mencionar que as medições realizadas pela espectroscopia no infravermelho próximo podem ser coletadas de três diferentes maneiras: transmitância onde é possível obter informações acerca de todo o volume da amostra que é atravessado pela luz; refletância onde as informações são geradas pelo que é refletido pela amostra em relação à radiação inicial emitida pela fonte; e transflectância, onde são utilizados os dois modos anteriores em acoplamento, sendo utilizada para amostras líquidas (Evangelista; Loredana; Bernabucci, 2021).

Visto isso, a técnica demonstra grande aplicabilidade, desde a área agrícola até à farmacêutica, possibilitando que o usuário obtenha resultados qualitativos e quantitativos das amostras a serem analisadas (Melo, 2017).

Nas Figuras 3 e 4 é possível observar, respectivamente, o equipamento NIR e a ótica de um equipamento dispersivo.

Figura 3 - Equipamento NIR

Fonte: Fermentec News (2021).

Figura 4 – Esquema de um espectrômetro NIR dispersivo

Fonte: Dos Santos (2011).

Além disso, o NIR apresenta algumas vantagens e limitações perante outras técnicas como cromatografia e Kjeldahl. Acerca das vantagens podem ser destacadas a rapidez das análises sem preparo complexo e sem causar destruição da amostra utilizada, análises de múltiplos parâmetros sem a necessidade de ensaios separados, utilização em vários tipos de amostras (sólidas, líquidas e gasosas) e adaptação da técnica para dispositivos portáteis. Já para as limitações têm-se a necessidade de um

modelo de calibração eficiente com referências, sensibilidade a interferentes como tamanho da partícula e resolução limitada, onde seus picos espectrais são mais complexos de separação. Porém, mesmo com algumas desvantagens, o NIR continua sendo muito utilizado e eficiente para as amostras de alimentos, por suas vantagens (Burns; Ciurczak, 2007; Rinnan; Van der Berg; Engelsen, 2009).

3.4 Calibração multivariada

A quimiometria surgiu na década de 70, sendo uma vertente da química analítica com o intuito de extrair informações pertinentes de dados químicos complexos. Atualmente a quimiometria é utilizada na análise de dados buscando otimizar os processos de classificação de dados, monitoramento e modelagem de processos multivariados, logo a calibração multivariada entra neste contexto (Maretto, 2011).

A calibração da NIR exige métodos robustos e precisos, logo são difíceis de serem encontrados e validados, afinal dependem de um número considerável de amostras para que as propriedades e os resultados sejam analisados e validados com precisão. Desta maneira, a grande maioria dessas calibrações baseia-se em termos de linearidade e precisão, facilitando o processo e auxiliando as análises (Evangelista; Loredana; Bernabucci, 2021).

Segundo Fernandes (2015), a calibração para a espectroscopia do infravermelho próximo pode ser definida através de uma sequência de operações onde ocorrem correlações entre as medidas instrumentais e valores de concentração ou propriedades do analito de interesse. Assim na calibração são utilizadas concentrações já conhecidas da amostra, obtidas pelo método de referência, as quais são correlacionadas com os espectros. Na predição, após a calibração, ocorre uma pressuposição das concentrações de novas análises, a partir dos sinais analíticos obtidos pelo equipamento NIR.

Para que a calibração seja validada e reconhecida, tratamentos matemáticos prévios são aplicados visando a remoção de quaisquer fontes indesejáveis de informação que possam ocasionar variações nos resultados. Esses pré-tratamentos são definidos como técnicas que auxiliam na redução, padronização e eliminação dos fatores impactantes de qualquer leitura espectral como: temperatura, distorções espectrais, granulometria, ruídos dos detectores e deslocamentos das linhas de base

e/ou dos comprimentos de onda (Siesler *et al.*, 2002).

Neste sentido, a calibração pode ser realizada em algumas etapas, desde que envolvam aplicabilidade do modelo escolhido, precisão e robustez. Inicialmente, é necessária a criação de um objetivo, onde será determinado o que será medido e analisado, podendo ser a umidade ou a concentração de proteínas da amostra, como também os valores de interesse. Após, uma coleta de amostras que representem todo o conjunto futuro de dados, deve ser realizada, considerada a etapa mais crítica do processo, pois nestes momentos é preciso evidenciar uma variedade de concentrações e propriedades físicas e químicas. Ainda, valores de referência precisos são utilizados na calibração, medidos muitas vezes através do método Kjeldahl, logo esta etapa é essencial para que haja uma correlação entre estes resultados e os espectros do NIR que devem ser obtidos com variações de temperatura e umidade constantes. À vista disso, os dados devem ser pré-processados devido a possíveis interferentes ou variações na dispersão de luz, ou seja, o uso de técnicas como a correlação multiplicativa de sinal (MSC) torna-se crucial para que a construção do modelo a partir de técnicas de regressão multivariada sejam utilizadas. Por fim, a validação do modelo, juntamente com seu ajuste e otimização são realizados, com o intuito que este apresente bons resultados e possa ser implementado e monitorado de forma precisa e eficiente (Blanco; Vilarroya, 2002; Burns; Ciurczak, 2007; Martens; Naes, 1992; Rinnan; Van der Berg; Engelsen, 2009).

O uso da calibração multivariada para a NIR justifica-se perante a dificuldade de apresentação das variáveis seletivas, mesmo quando as amostras são de matrizes menos complexas. Vale mencionar que este aspecto tem como vantagens determinações diretas, mesmo que o sinal analítico não apresente uma boa resolução. Além disso, quando se compara esta calibração com a univariada, as vantagens da primeira estão associadas aos interferentes, sendo possível compensá-los sem excluí-los ou transformá-los, como é necessário na univariada. Esta compensação pode ocorrer pela reação com algum reagente específico capaz de transformar o interferente em um produto inerte, utilizar métodos de filtração ou precipitação para remoção ou separá-lo por cromatografia (Tibola *et al.*, 2018; Valderrama; Braga; Poppi, 2009).

Dois métodos multivariados relevantes são o *Partial Least Squares* (PLS) e o *Soft Independent Modeling of Class Analogy* (SIMCA), sendo o primeiro um método para quantificação e o segundo para classificação.

O PLS ou Regressão por Quadrados Mínimos Parciais foi proposto em 1960 pelo químico Herman Wold, tornando-se o método mais interessante e relevante para a espectroscopia NIR. (Maretto, 2011).

Este método de calibração é capaz de quantificar analitos desejados na presença de interferentes, desde que estes sejam inclusos no conjunto da calibração. A calibração é baseada em variáveis latentes (VLs), que reduzem a dimensionalidade da matriz de calibração otimizando sua correlação com a matriz de valores conhecidos. A validação cruzada é uma ferramenta essencial para avaliar a qualidade do modelo proposto, onde uma amostra ou um conjunto de amostras devem ser retirados da calibração para que sejam previstos pelo modelo construído pelas amostras restantes. Essas amostras voltam ao conjunto de calibração e novas amostras são retiradas, e o procedimento é repetido até que todas as amostras sejam previstas.

O número de VLs ideal é correspondente ao menor erro ou ao momento em que não há queda significativa do valor do erro proveniente da validação cruzada, denominado *Root Mean Square Error Of Cross Validation* (RMSECV), apresentado na Equação X. Na equação 1, do RMSECV, n_c corresponde ao número de amostras de calibração, \hat{y}_i corresponde ao valor previsto pelo modelo e y_i ao valor de referência da i -ésima amostra (Pereira, 2007; Tibola *et al.*, 2018).

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

Equação 1

Fonte: Tibola *et al.* (2018).

O método *Leave-one-out* (LOO) é o mais utilizado na validação cruzada, permitindo que uma amostra seja removida por vez, porém seu uso é mais indicado quando os conjuntos de amostra são pequenos. (Faber; Rajkó, 2007).

Métodos de classificação também podem ser utilizados em calibração multivariada, sendo um dos principais o *Soft Independent Modeling of Class Analogy* (SIMCA), baseado na Análise de Componentes Principais (PCA). O SIMCA permite uma classificação conforme as informações das amostras, a partir de um grau estimado de confiança, logo é possível prever novas amostras e suas classes.

Vale destacar que o SIMCA tem como objetivo criar um espaço determinado e

limitado para cada classe, onde cada amostra será projetada em uma ou mais classes, ou ainda em nenhuma classe, e esse agrupamento é guiado pela similaridade entre as amostras (Wold; Esbensen; Geladi, 1987).

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As análises bromatológicas necessitam ser precisas, visando assim a segurança da alimentação dos animais. O emprego da técnica NIR cresce a cada dia neste campo. Na tabela 1 são apresentados métodos, matrizes, analitos e valores de referência para trabalhos selecionados da literatura.

Tabela 1 - Trabalhos selecionados que tratam sobre o NIR e seu uso

Referência	Analito	Matriz	Análise de Referência	RMSECV (%)
ALVES, Ana Catarina Soares Costa Machado.	Proteína Bruta, Gordura Bruta, Fibra Bruta, Matéria Seca e Cinza Total	Amostras de TMR	Kjeldahl	0,23
DOS SANTOS, Valcicleide Oliveira <i>et al.</i>	Teor de Nitrogênio	Duas cultivares de sorgo (BRS Ponta Negra e BRS 658)	AOAC	5,96
EVANGELISTA, Chiara; BASIRICÒ, Loredana; BERNABUCCI, Umberto.	Proteína Bruta	Amostras de TMR	Kjeldahl	0,87
FERNANDES, Antonio Marcos Ferreira.	Matéria Seca, Teor de nitrogênio, Proteína Bruta	Vagem algaroba e palma forrageira	AOAC	0,85
MELO, Claudia Maria Tomas <i>et al.</i>	Matéria Seca, Teor de nitrogênio	Feijão Guandu e Torta de Algodão	AOAC, Kjeldahl	0,46 e 0,86
OLIVEIRA, Marcelo Alvares; LEITE, Rodrigo Santos; MANDARINO, José Marcos Gontijo.	Teor de proteína, Teor de lipídios, Teor de umidade	Soja	Kjeldahl e Gravimetria	1,22
SIMEONE, Maria Lúcia Ferreira, <i>et al.</i>	Proteína Bruta	Milho	Dumas	0,28

Fonte: Autoria Própria (2024).

Observa-se que os valores de RMSECV encontrados variam de 0,23 a 5,98%, sendo estes valores considerados dentro do esperado (abaixo de 10%). Ainda valores

abaixo de 5% são considerados extremamente bons, a depender da análise, no caso deste trabalho amostras com resultados até 10% são considerados aceitáveis (Tobias, 1999).

A partir dos trabalhos selecionados, nota-se certa recorrência no uso dos métodos Kjeldahl e AOAC para calibração do NIR, evidenciando o interesse e a relevância pelo estudo de proteína total das amostras de interesse.

Deste modo, pode-se evidenciar como os autores ressaltaram os resultados encontrados a partir das amostras e métodos selecionados. Segundo Alves (2023), para que o uso do NIR e seus resultados sejam confiáveis, um número representativo e de alta diversidade de amostras deve ser utilizado, portanto, para este caso, 255 amostras de TMR (dieta totalmente misturada para animais) foram selecionadas para a realização da calibração, com o uso da técnica Kjeldahl. Ainda, métodos quimiométricos foram utilizados com o intuito de eliminar *outliers* e informações irrelevantes, como o método SNV-DT (*Standard normal variate*), onde o espectro NIR é padronizado e centralizado de acordo com uma subtração do valor de absorvância obtido de cada comprimento de onda, menos a absorvância média do espectro total, após uma razão entre o valor obtido e o desvio padrão é realizada para que as médias obtidas apresentem valor zero e uma variância unitária, facilitando a leitura e o entendimento dos resultados obtidos (Pigozzo, 2011).

Vale mencionar, que após as análises realizadas, o trabalho de Alves (2023) identificou que a amostragem e preparação das amostras apresentou ervas úmidas, além de cascas e bolores visíveis, logo salientou-se que a análise por NIR é relevante para o entendimento das composições das amostras e suas intercorrências, juntamente com a análise de proteína total, objetivo do estudo, afinal, quando o animal consome alimentos de má qualidade, doenças podem ocorrer, prejudicando a vida deste animal.

Devido à complexidade dos espectros gerados pelo NIR, é necessário pré tratamento dos dados antes da realização da análise multivariada, utilizando por exemplo correções da linha de base, normalização de valores mínimos e máximos e correção de espalhamento multiplicativo (Anjos, 2016).

O MSC (Correção Multiplicativa de Sinal) foi utilizado no trabalho de Dos Santos *et al.* (2023), além do uso da técnica multivariada PCA. Neste cenário, foi possível observar que as amostras selecionadas de sorgo apresentavam diferentes valores de pH, resultantes da maneira como o cultivo era realizado em cada local, porém a

fermentação foi considerada adequada, mesmo com as diferenças apresentadas, conseqüentemente a silagem de sorgo foi considerada adequada. Ainda, vale mencionar que, para o uso do NIR, é importante que as variações da composição das amostras sejam contempladas na calibração, facilitando o desenvolvimento de um modelo eficiente, como notado no resultado das análises de proteína bruta (PB) variando de 8,04% a 5,70%, estando assim dentro do padrão desejado de 4,5% a 8,2% para o sorgo.

Apesar da água apresentar alta absorção no NIR, o estudo de Evangelista, Basiricò e Bernabucci (2021) traz que a água, mesmo presente em algumas amostras, causa pouca intercorrência na previsão dos constituintes. Ainda, destacam que o uso do NIR auxilia fortemente na avaliação da forragem seca e da presença de nitrogênio total e insolúvel. Nota-se que este trabalho salienta também que a análise NIR foi relevante na silagem de capim não seco, fornecendo seus componentes químicos e os produtos presentes na fermentação, logo esta análise mostra-se relevante para a alimentação balanceada dos animais, evitando que ocorram efeitos adversos, por exemplo, na produção do leite. Destaca-se também que o uso do NIR permitiu que características físicas da ração dos animais pudessem ser estudadas, onde ficou evidente que o nível e o tamanho das partículas de forragem influenciam diretamente na melhoria da atividade mastigatória, na produção da saliva e até mesmo na ruminação, quesitos estes cruciais para os níveis de gordura presentes no leite.

O estudo de Fernandes (2015) fez uso da ferramenta MSC (*Multiple Scatter Correction*) para analisar 279 amostras *in natura* de vagem algaroba e 338 amostras de palma forrageira, avaliando a variabilidade das amostras e a região espectral de maior interesse para que a curva de calibração. A partir da análise, poucas diferenças foram observadas, o que levou os autores à utilização da ferramenta PCA para uma nova observação dos resultados. Assim, foi identificado que as amostras de vagem de algaroba apresentavam pouca diferença entre si, sendo consideradas habilitadas para um agrupamento. Já para o grupo da palma forrageira, as análises evidenciaram mudanças significativas entre as amostras, impossibilitando que estas fossem agrupadas entre si, quesito este associado à diferença de tempo de coleta dessas amostras.

Acerca dos valores de referência, para as análises de vagem algaroba e palma forrageira, o estudo revelou que os resultados estavam passíveis de comparação com a literatura já publicada, com valores de matéria seca, obtida das

amostras, entre 54,51% a 75,93% e uma média de 67,6% na literatura, logo fica perceptível que o método escolhido foi eficiente para a análise das amostras e de seus resultados. Ainda, o uso do NIR neste trabalho demonstrou relevância perante a presença de água nas amostras e do uso da calibração para matéria seca (MS), devido à forte absorvência da água no infravermelho.

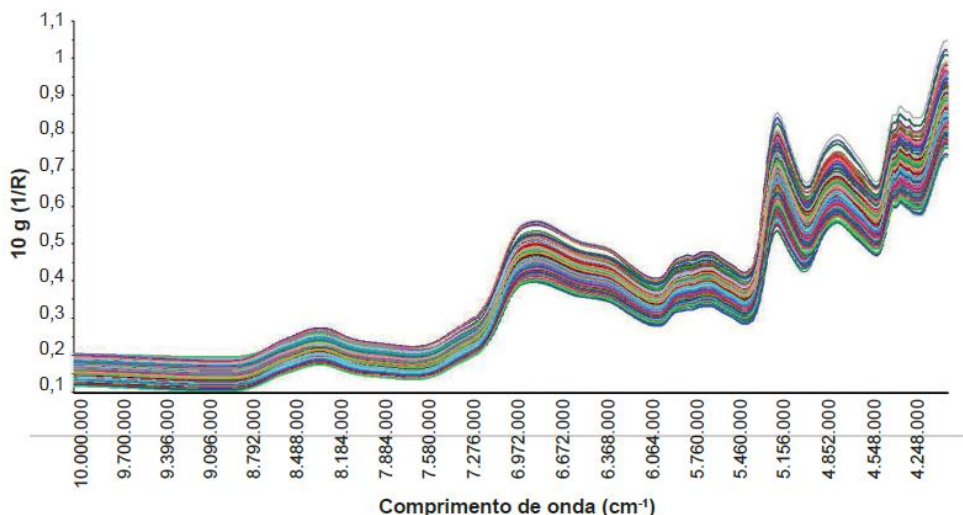
Neste mesmo caminho, Melo (2017) também disserta acerca de análises em NIR, porém de 314 amostras de torta de algodão, sendo estas submetidas à técnica para obtenção dos resultados das características físicas de cada amostra, logo, inicialmente foi possível realizar um agrupamento das amostras através da PCA. Vale mencionar que a composição bromatológica de cada alimento depende dos fatores intrínsecos associados, como o local da plantação, meio em que está inserido e o tratamento utilizado, sendo assim influentes nos resultados e nos valores de máximo e mínimo utilizados no modelo pleiteado. Deste modo, é relevante que cada conjunto de amostra seja analisado perante suas características para que a curva de calibração seja eficiente.

Segundo Onório e Seixas (2010), o NIR também pode ser útil de forma quantitativa, onde as amostras podem ser analisadas com relação aos microrganismos presentes, evitando contaminações tanto dos animais quanto dos consumidores. Nota-se que quando há um microrganismo presente no alimento, o resultado do NIR demonstra-se relevante para a identificação e classificações dessas bactérias.

Grande parte da agricultura brasileira se baseia na produção de grãos, sendo o milho um dos mais produzidos, porém sua composição química necessita ser estudada para que este sirva de alimento tanto para os animais quanto para o ser humano. Sendo assim, sua análise por NIR é relevante, porém nem sempre é tão simples realizar a técnica nos grãos devido à mudança da forma e tamanho que apresentam, dificultando uma análise precisa. Pensando nisso, muitos estudos evidenciam que o grão moído acaba por ser escolhido para o NIR, facilitando o desenvolvimento de modelos de calibração variada, como PLS (quadrado mínimo parcial) e MLR (regressão linear multivariada), com bons resultados para análise de óleo, proteína e carboidratos, a reflectância pode ser utilizada de forma mais concisa. Vale mencionar que a escolha pela calibração depende da representatividade dos dados analisados, a quantidade de amostras, a distribuição uniforme no espaço de concentração utilizado, como também a composição química e física dessas

amostras. O trabalho de Simeone *et al.* (2018) traz alguns espectros NIR dos grãos moídos de milho, apresentados aqui na Figura 2, já na figura 3 observam-se a correlação entre os valores de referência e os valores preditos pelo modelo NIR. Para proteína, extrato etéreo, fibra bruta, cinzas, amido e matéria seca.

Figura 5 - Espectro NIR de grão moído de milho



Fonte: Simeone *et al.* (2018).

Na Figura 5 é possível observar os sinais das ligações de hidrogênio ($4600-4000\text{ cm}^{-1}$) e combinações de ligações carbono-hidrogênio ($4382 - 4063\text{ cm}^{-1}$), característicos de moléculas ricas em açúcar, compostas de amido e fibra bruta, presentes no milho. Já na Figura 6 o teor de proteína varia de 6,7% a 10,0%, representando a faixa de amostragem necessária para que o modelo de calibração multivariada seja válido. Ademais, o estudo de Simeone *et al.* (2018) salienta que a precisão desses métodos com o uso do NIR auxiliou no monitoramento da produção de milho e facilitou as análises.

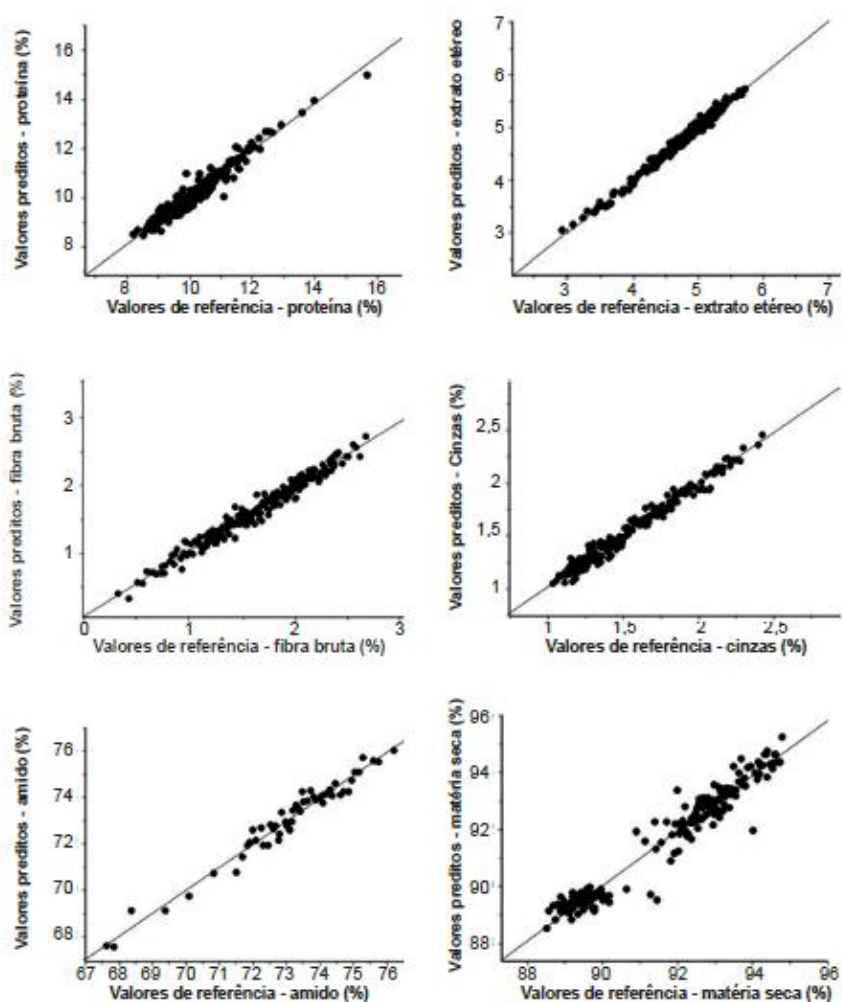
Para os anos de 2011/2012, a safra analisada não apresentou alterações significativas em suas composições, além de estudos realizados por Oliveira, Leite e Mandarino (2018) apresentarem resultados satisfatórios para análises de 12 meses dos grãos de soja sob diferentes modos de cultivo. Identificou-se que, com as condições de armazenamento mantidas em 25 °C e 60 % de umidade relativa, a quantidade de proteína presente na soja pode ser aumentada, enquanto há uma redução do teor de lipídios.

Diante dessas vantagens, o uso do NIR é relevante também para análises de

trigo, onde quanto mais demorada a análise, maior a dificuldade de segregação por qualidade. Perante isso, a técnica mostra-se eficaz na rapidez e na mínima preparação das amostras, além da quantificação dos componentes presentes nos grãos (Tibola *et al.*, 2018).

A análise de nitrogênio total em grãos muitas vezes é realizada através do método de Kjeldhal, porém o NIR tem demonstrado vantagens em seu uso, como a agilidade dos resultados e a não utilização de reagentes químicos, afinal faz a análise de vibrações entre os átomos presentes nas moléculas, como os estiramentos carbono-hidrogênio, oxigênio-hidrogênio e nitrogênio-hidrogênio. O programa da Embrapa Soja tem utilizado o NIR como metodologia na análise de proteínas e lipídios nos grãos de soja, sendo substituído ao método de Kjeldhal.

Figura 6 - Valores de referência para as propriedades do grão moído de milho



Fonte: Simeone *et al.* (2018).

5 CONCLUSÃO

O uso da NIR tem se difundindo na área de análises bromatológicas, visando a melhoria das técnicas e do entendimento da composição da alimentação dos animais.

Neste sentido, fica perceptível que o uso desta técnica perante o método Kjeldhal tem sido eficiente na determinação de proteínas, principalmente quando se observa o tempo de espera e a preparação da amostragem, logo, justifica-se o uso do NIR quando se busca rapidez e eficiência.

Desta maneira, é importante realizar uma calibração eficiente, com um volume considerável e diversificado de amostras, além de buscar pré-tratamentos para que o resultado esperado seja efetivo. Ainda, o uso de métodos quimiométricos como a PCA demonstra ótimo auxílio nos resultados, evidenciando agrupamentos de amostras similares.

Sendo assim, o analista deve entender qual melhor método para suas análises, porém deve também estar atento às novas e mais eficientes técnicas, como o NIR, para que seu trabalho se torne conciso, eficiente e rápido.

REFERÊNCIAS

ALFAMARE. **Destilador de nitrogênio tipo Kjeldahl AMT-4150**. 2024. Disponível em: < <https://alfamare.com.br/produtos/destilador-de-nitrogenio-tipo-kjeldahl-amt-4150/>>. Acesso em 09 ago. 2024.

ALVES, Ana Catarina Soares Costa Machado. **Desenvolvimento de um modelo de calibração MPLS-NIR para um alimento para animal**. 2023. Mestrado (Métodos Avançados e Acreditação em Análise Química) - Universidade do Porto, 2023.

ANJOS, Ofélia. Desenvolvimento de metodologias e análise rápida em alimentos por espectroscopia de infravermelho (NIR, FTIR, RAMAN). **III Ciclo de Conferências: Conselho Técnico-Científico**, p. 33-38, 2016.

ARAÚJO, Matheus Antônio. **Revisão bibliográfica: avaliação do método de Kjeldahl na determinação de nitrogênio e sua aplicação na análise foliar**. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química Industrial) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019.

BLANCO, Marcel; VILLARROYA, Ignasi. NIR spectroscopy: a rapid-response analytical tool. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 21, n. 4, p. 240-250, 2002.

BURNS, Donald A.; CIURCZAK, Emil W. (Ed.). **Handbook of near-infrared analysis**. CRC press, 2007.

COELHO, Isabela Ferreira. **Principais temáticas de nutrição na OPAS (1923 a 1939)**. 2015. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

DIAS, Mariana et al. Avaliação de amostras destinadas a programa interlaboratorial por meio da espectroscopia de reflectância no infravermelho próximo (NIR´s). 2012. **Anais da IV Jornada Científica**, Embrapa São Carlos, 2023.

DOS SANTOS, Valcicleide Oliveira et al. Avaliação da espectroscopia no infravermelho próximo para previsão da composição químico-bromatológica da silagem de sorgo. **Revista Agrária Acadêmica**. v. 6, n. 1, 2023.

DOS SANTOS, Ana Paula. **Espectroscopia de Infravermelho Próximo em análises de solos e plantas**. 2011. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2011.

EVANGELISTA, Chiara; BASIRICÒ, Loredana; BERNABUCCI, Umberto. An overview on the use of near infrared spectroscopy (NIRS) on farms for the management of dairy cows. **Agriculture**, v. 11, n. 4, p. 296, 2021.

EXAME. **Faturamento da indústria de alimentos cresceu 7,2% em 2023, para R\$1,161 trilhão, diz Abia**. 2024. Disponível em: <<https://exame.com/economia/faturamento-da-industria-de-alimentos-cresceu-72-em-2023-para-r-1161-trilhao-diz-abia/>>. Acesso em: 20 abr. de 2024.

FABER, Nicolaas; RAJKÓ, Róbert. How to avoid over-fitting in multivariate calibration—The conventional validation approach and an alternative. **Analytica Chimica Acta**, v. 595, n. 1-2, p. 98-106, 2007.

FERMENTECNEWS. **BUCHI – Tecnologia NIR com detector VISível integrado**. 2021. Disponível em: <<https://fermentecnews.com.br/2021/02/09/buchi-tecnologia-nir-com-detector-visivel-integrado/>>. Acesso em: 09 ago. 2024.

FERNANDEZ, Ana Sophia Tovar et al. Autenticação de orégano (*Origanum vulgare* L.) orgânico utilizando espectroscopia NIR e Quimiometria. **Química Nova**, v. 43, n. 10, p. 1500-1504, 2020.

FERNANDES, Antonio Marcos Ferreira. **Uso da espectroscopia de reflectância do infravermelho próximo (NIRS) para previsão da composição bromatológica de vagens de algaroba e palma forrageira**. 2015. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual Vale do Acaraú, Sobral, 2015.

FERREIRA, Fernanda Nunes; MONTEIRO, Maria Inês Couto; SILVA, Lílian Irene Dias da. Determinação de nitrogênio total em amostras de rocha petrolífera pelo Método Kjeldahl/Indofenol. 2007. In: **Jornada do programa de capacitação interna do CETEM**, 1., 2007.

GIOVANAZ, Samuel. **Validação do método de Dumas para a análise de proteínas em alimentos lácteos**. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Química Industrial) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2022.

MARETTO, Danilo Althmann. **Aplicação de máquinas de vetores de suporte para desenvolvimento de modelos de classificação e calibração multivariada em espectroscopia no infravermelho**. 2011. Tese de Doutorado (Doutorado em Ciências) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

MARTENS, Harald; NÆS, Tormod. **Multivariate calibration**. John Wiley & Sons, 1992.

MELO, Claudia Maria Tomas et al. Estudo da redução de reagentes na determinação de proteínas em alimentos-Método de Kjeldahl. **Revista Inova Ciência & Tecnologia/Innovative Science & Technology Journal**, p. 35-39, 2020.

MELO, John Clay Rodrigues. **Uso da espectroscopia de reflectância do infravermelho próximo (NIRS) para previsão da composição bromatológica da torta de algodão e feijão guandu**. 2017. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual Vale do Acaraú, Sobral, 2017.

METROHM. **Série NIR Parte 2 – NIR vs IR: Qual é a diferença?** 2024. Disponível em: <https://www.metrohm.com/pt_br/discover/blog/2024/nir-vs-ir.html>. Acesso em: 03 set. 2024.

MÜLLER, Jürgen. ¿ Dumas o Kjeldahl para el análisis de referencia. **Barcelona, España**, 2017.

OLIVEIRA, Marcelo Alvares; LEITE, Rodrigo Santos; MANDARINO, José Marcos Gontijo. Avaliação de indicadores de qualidade tecnológica da soja por espectroscopia no Infravermelho Próximo. In: TIBOLA, Cassiane Salete, et al. (Orgs). **Espectroscopia no Infravermelho Próximo para avaliar indicadores de qualidade tecnológica e contaminantes em grãos**. Brasília: Embrapa 2018. cap. 4, p. 63-75.

ONÓRIO, Danieli Ferreira; SEIXAS, Flávio Augusto Vicente. Uso de FT-NIR para a identificação e quantificação de microrganismos em alimentos. **Uningá review**, v. 3, n. 1, p. 3-3, 2010.

PAMATO, Alexandra de Souza Tolentino et al. Drying methods and chemical quality of forages evaluated by near infrared spectroscopy: Métodos de secagem e qualidade bromatológica de forrageiras avaliadas por espectroscopia no infravermelho próximo. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 9, p. 63982-63993, 2022.

PAVIA, Donald L. et al. **Introdução à espectroscopia**. 4ª ed. São Paulo: Cengage Learning, 2010.

PEREIRA, Alessandra Félix da Costa. **Determinação simultânea de acidez, índice de refração e viscosidade em óleos vegetais usando espectrometria NIR**,

calibração multivariada e seleção de variáveis. 2007. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2007.

PIGOZZO, Raphael Jaquier Bossler. **Espectroscopia de infravermelho próximo em madeiras neotropicais: aplicação na identificação e predição de propriedades físicas.** 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

RECH, Ângela Fonseca. Amostragem de alimentos para análise bromatológica. **Agropecuária Catarinense**, v. 31, n. 1, p. 33-36, 2018.

RIBEIRO, Dllano Humberto. **Composição química bromatológica de *Andropogon gayanus* cultivar planaltina predita pelo NIRS e analisada por via úmida.** 2019. 30 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Zootecnia) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019.

RIBEIRO, Paulo Eduardo de Aquino. Implementação de análise de nitrogênio total em solo pelo método de Dumas. **Documentos Embrapa Milho e Sorgo**, 1^o ed. 2010.

RIHAWI, Safouh et al. Fattening performance of lambs of different Awassi genotypes, fed under cost-reducing diets and contrasting housing conditions. **Small Ruminant Research**, v. 94, n. 1-3, p. 38-44, 2010.

RINNAN, Åsmund; VAN DEN BERG, Frans; ENGELSEN, Søren Balling. Review of the most common pre-processing techniques for near-infrared spectra. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 28, n. 10, p. 1201-1222, 2009.

SANTOS, Priscilla C. et al. Determinação da autenticidade de amostras de azeite comerciais apreendidas no estado do espírito santo usando um espectrofotômetro portátil na região do NIR. **Química Nova**, v. 43, p. 891-900, 2020.

SIESLER, Heinz. et al. **Near-infrared spectroscopy: principles, instruments, applications.** John Wiley & Sons, 2008.

SILVA, Dirceu José; QUEIROZ, Augusto César. Análise de Alimentos, métodos químicos e biológicos. 4^a reimp. **Universidade Federal de Viçosa**, 2009.

SIMEONE, Maria Lúcia Ferreira, et al. Uso da espectroscopia no Infravermelho Próximo e calibração multivariada para avaliar a composição química do milho. In: TIBOLA, Cassiane Salete, et al. (Orgs). **Espectroscopia no Infravermelho Próximo para avaliar indicadores de qualidade tecnológica e contaminantes em grãos.** Brasília: Embrapa 2018. cap. 3, p. 51-62.

TIBOLA, Cassiane Salete, et al. **Espectroscopia no Infravermelho Próximo para avaliar indicadores de qualidade tecnológica e contaminantes em grãos.** 1^a ed. Brasília: Embrapa, 2018.

TOBIAS, Randall D. **Chemometrics: a practical guide.** 1999.

VALDERRAMA, Patrícia; BRAGA, Jez WB; POPPI, Ronei J. Estado da arte de figuras de mérito em calibração multivariada. **Química Nova**, v. 32, p. 1278-1287, 2009.

WOLD, Svante; ESBENSEN, Kim; GELADI, Paul. Principal component analysis. **Chemometrics and intelligent laboratory systems**, v. 2, n. 1-3, p. 37-52, 1987.