



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**FARINHA DE MANDIOCA (*Manihot esculenta*) E TUCUPI: UMA
ABORDAGEM ANALÍTICA UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA NO
INFRAVERMELHO PRÓXIMO (NIRS) E FERRAMENTAS
QUIMIOMÉTRICAS**

**BELÉM – PA/BRASIL
2022**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

DARLY RODRIGUES POMPEU

**FARINHA DE MANDIOCA (*Manihot esculenta*) E TUCUPI: UMA
ABORDAGEM ANALÍTICA UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA NO
INFRAVERMELHO PRÓXIMO (NIRS) E FERRAMENTAS
QUIMIOMÉTRICAS**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pará como um dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

ORIENTADOR: PROFº. DR. ROSINELSON DA SILVA PENA

COORIENTADOR: PROFº. DR. JESUS NAZARENO SILVA DE SOUZA

**BELÉM – PA/BRASIL
2022**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

P788F POMPEU, DARLY RODRIGUES.
Farinha de mandioca (*Manihot esculenta*) e tucupi: uma
abordagem analítica utilizando espectroscopia no infravermelho
próximo (NIRS) e ferramentas quimiométricas / DARLY
RODRIGUES POMPEU. — 2022.
114 f. : il.

Orientador(a): Prof. Dr. Rosinelson da Silva Pena
Coorientador(a): Prof. Dr. Jesus Nazareno Silva de Souza
Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará, Instituto de
Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia
de Alimentos, Belém, 2022.

1. Espectroscopia no infravermelho próximo. 2. Predição.
3. Discriminação. 4. Farinha de mandioca. 5. Tucupi. I. Título.

DARLY RODRIGUES POMPEU

**FARINHA DE MANDIOCA (*Manihot esculenta*) E TUCUPI: UMA
ABORDAGEM ANALÍTICA UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA NO
INFRAVERMELHO PRÓXIMO (NIRS) E FERRAMENTAS
QUIMIOMÉTRICAS**

BANCA EXAMINADORA:

Profº. Dr. Rosinelson da Silva Pena

(PPGCTA/ITEC/UFPA – Orientador)

Profº. Dr. Jesus N. Silva de Souza

(PPGCTA/ITEC/UFPA – Co-orientador)

**Profº. Dr. Neirivaldo Cavalcante da
Silva**

(PPGCTA/ITEC/UFPA – Membro
interno)

Profº. Dr. Renan Campos Chisté

(PPGCTA/ITEC/UFPA – Membro
interno)

Dra. Priscila Domingues Alamar

**Profº. Dr. Heronides Adonias Dantas
Filho**

(PPGQ/ICEN/UFPA – Membro externo)

Profº. Dr. Raul Nunes de Carvalho Jr.
(PPGCTA/FEA/ITEC/UFPA – Suplente interno)

Dedico este trabalho a memória de todas às grandes mentes que escavaram antes nós e nos deixaram suas pás, e às quais, de acordo com nossa visão pós-estruturalista de um plágio generalizado, sem dúvida daríamos o devido e merecido crédito, não fosse por nossa ânsia de autoengrandecimento, que provavelmente é, em si mesma, um legado de nosso histórico evolutivo.

AGRADECIMENTOS

Agradecer é antes de mais nada um ato de reconhecimento e de gratidão pelas pessoas e pelos fatos que ajudaram na construção de nossas trajetórias. Estes reconhecimentos sempre flertam perigosamente com a ingratidão. Então, mesmo correndo o risco de ser ingrato, eu gostaria aqui de desfilar meu ‘rosário de fortuna’ que culminou com este trabalho.

Eu gostaria de agradecer ao Departamento de Defesa dos EUA, a Paul Baran, Vint Cert, Bob Kahn e Tim Berner-Lee que tornaram o sonho da internet possível e que me permitiu acessar a base de dados Scopus e baixar os artigos necessários à redação deste trabalho. Muito obrigado senhores! Seus trabalhos nos tornaram menos ativos fisicamente, mas muito mais produtivos.

A você, ou melhor, à Senhora, Universidade Federal do Pará, que me acolheu ao longo de todos estes anos (graduação, mestrado e agora o doutorado) e que muito pouco pediu em troca. A Sra. não foi ‘a Rita’ da minha vida e tampouco ‘levou os meus planos’, ao contrário, mas foi onde eu deixei ‘os meus vinte anos’. Muito obrigado por ter me abrigado e acolhido, por ter parido algumas de minhas grandes realizações profissionais e interpessoais. Muito obrigado por acontecer e ter feito acontecer muitas pessoas e coisas em minha vida. Sou muitíssimo agradecido a Sra.!

Muitíssimo obrigado a você Universidade do Estado do Pará que permitiu a construção da carreira que estou trilhando, que me mostrou a diferença entre o real e o abstrato e que está ajudando a consolidar o profissional que eu quero me tornar e que continua em fase de construção. Obrigado!

Este trabalho não seria possível se algumas pessoas não tivessem cruzado meu caminho a alguns anos atrás: Hervé Rogez e Yvan Larondelle muito obrigado pelas oportunidades que os vocês me ofertaram. Obrigado Vincent Baeten por ter me apresentado à espectroscopia vibracional e ter plantado em mim a vontade de semear esta semente. Obrigado Senhores!

A todos os docentes do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pará, que sempre contribuíram de maneira

substancial para minha capacitação intelectual. Um muito obrigado especial aos docentes e pesquisadores que ajudaram-me na lapidação deste trabalho: Alessandra Lopes, Maria Joele (que esteve presente em minha primeira apresentação em 2018), Raul Carvalho Jr., Renan Chisté, Davi Brasil, Neirivaldo Silva, Heronides Dantas e Priscila Alamar. Obrigado! Muito obrigado Senhoras, Senhores e Senhorita!

Quando eu decidi recomeçar um doutorado (sim, eu não sou réu primário Senhor@s!) minha maior preocupação era ter um orientador. A apreensão e hesitação volatilizaram-se já na primeira conversa que eu tive com o Prof. Dr. Rosinelson Pena. Obrigado Rosinelson por sua disponibilidade, objetividade, clareza nos ensinamentos e sobretudo por sua forma sempre cordial, bem-humorada e profissional em nossas reuniões de trabalho. Eu espero que nossas parcerias continuem e que desta tese floresçam outras realizações. Prof. Dr. Jesus Souza, obrigado pelas portas abertas e por todas as janelas de oportunidades que tu sempre me apresentaste. Obrigado Chefes!

Aos colegas de laboratório que tornaram nossas horas de trabalho mais aprazíveis: Brenda Brito, Mayara Galvão, Jaqueline Moraes, Ana Paula Campos, Adriano Lucena, Rosane Chaves, Elivaldo Modesto Jr., Gisélia Nascimento, Tatyane da Cruz, Estela Cruz, Fernanda Sousa, Vitória Carvalho, Sara Oliveira e Thalia Ferreira. A todos os colegas do CVACBA e do Laboratório de Engenharia de Alimentos da UFPA. Muito obrigado!

Agradeço a todos os amigos e colegas que perderam um pouco do seu tempo durante suas viagens para coletar algumas amostras de farinha para mim: Heloísa Pantoja Carissa Bichara, Lorena Pedreiro, João Hamilton Pinheiro, Anderson Mathias, Tonye Waughon e Juliana do Carmo.

Obrigado Pai, por ter sempre sido para mim um modelo de perseverança e dedicação, equilíbrio e paciência. Sou muito grato ao Sr.!

Aos meus filhos: Nirvana (meu peixinho de vala, meu periquitinho), ao Léon (mon petit), à Maithé (ma petite peste) e à Noémie (ma petite). Je vous aime mês enfants!

À toi ma Chérie, merci pour te permettre traverser l'Atlantique, venir à un endroit tout à fait inconnu pour toi et remplir ma vie. Je t'aime !

*Vous qui vivez en toute quiétude
Bien au chaud dans vos maisons,
Vous qui trouvez le soir en rentrant
La table mise et des visages amis,
Considérez si c'est un homme
Que celui qui peine dans la boue,
Qui ne connaît pas de repos,
Qui se bat pour un quignon de pain,
Qui meurt pour un oui pour un non.
Considérez si c'est une femme
Que celle qui a perdu son nom et ses cheveux
Et jusqu'à la force de se souvenir,
Les yeux vides et le sein froid
Comme une grenouille en hiver.
N'oubliez pas que cela fut,
Non, ne l'oubliez pas :
Gravez ces mots dans votre cœur.
Pensez-y chez vous, dans la rue,
En vous couchant, en vous levant ;
Répétez-les à vos enfants.
Ou que votre maison s'écroule,
Que la maladie vous accable,
Que vos enfants se détournent de vous.*

Primo Levi

RESUMO

A espectroscopia no infravermelho próximo (*NIRS*) associada à quimiometria tem sido amplamente utilizada como ferramenta analítica para obtenção de respostas rápidas e confiáveis. A farinha de mandioca, dependendo de seu processo de produção pode ser classificada sendo do tipo seca (não fermentada) ou d'água (fermentada). O tucupi é um caldo amarelo, ácido, fortemente aromático e amplamente utilizado na culinária paraense. Esta tese propôs-se a aplicar pela primeira vez a (*NIRS*) associada a quimiometria, aos dois produtos da cadeia produtiva da mandioca de maior destaque regional: a farinha de mandioca e o tucupi. Neste sentido, foram analisadas 106 amostras de farinha de mandioca (49 fermentadas e 57 não fermentadas) e avaliados nove parâmetros físico-químicos. A *NIRS* associada às análises multivariadas (PLS) permitiram de forma rápida e não destrutiva a predição simultânea ($R^2 > 0,727$) dos parâmetros de atividade de água ($RMSEC = RMSEV = 0,05$), teor de umidade ($RMSEC = 0,35\%$; $RMSEV = 0,45\%$) e pH ($RMSEC = 0,16$; $RMSEV = 0,18$) das farinhas avaliadas. Além disso, a *NIRS* associada às análises discriminantes (PCA-LDA) (taxa de acerto: 84,6–96,2%) permitiram uma melhor discriminação das amostras de farinhas fermentadas e não fermentadas do que as análises físico-químicas (taxa de acerto: 80,0–84,6%). Na utilização da *NIRS* e das análises multivariada para predição de parâmetros físico-químicos do tucupi foram avaliadas 65 amostras e investigados 10 parâmetros. Destes, somente os sólidos solúveis totais puderam ser preditos pela técnica analítica associada as análises multivariadas ($R^2 > 0,727$; $RMSEC = 0,184\%$; $RMSECV = 0,411\%$; $RMSEV = 0,338\%$).

Palavras-chaves: Espectroscopia no infravermelho próximo; Quimiometria; Predição; Discriminação; Farinha de mandioca; Tucupi.

ABSTRACT

The near infrared spectroscopy (NIRS) coupled to chemometrics has been used as an alternative tool for quick and reliable solutions. Cassava flour (CF) can be classified as fermented and non-fermented types. *Tucupi* is a yellow broth, acidic, mostly aromatic and widely used in Regional dishes in Para state. This thesis proposed to apply for the first time the NIRS associated with chemometrics to predict quality parameters from CF and *tucupi*, as well as to discriminate fermented and non-fermented CF. One hundred six samples of CF was investigated and nine physicochemical parameters of CF were evaluated. Calibration equations with independent validation were developed to predict all parameters using the partial least square regression method. The performance of models was evaluated by the root mean standard error of calibration (RMSEC) and validation (RMSEV), and R^2 values. The aw (RMSEC = RMSEV = 0.05), moisture content (RMSEC = 0.35%; RMSEV = 0.45%) and pH (RMSEC = 0.16; RMSEV = 0.18) could be predicted ($R^2 > 0.727$) by NIRS coupled to multivariate analysis. NIRS coupled to Principal Component Analysis–Linear Discriminant Analysis (PCA-LDA) was also used to investigate the classification of fermented and unfermented CF. The use of NIRS spectra allows to obtain better performance parameters (training accuracy: 86.3–93.8%; validation accuracy: 84.6–96.2%) to discriminate fermented and unfermented CF than the use of the physicochemical properties (training accuracy: 80%; validation accuracy: 84.6%). NIRS was also used to predict nine quality physicochemical properties of *tucupi*. Sixty-five samples of *tucupi* were used in this study. The performance of models was evaluated by the R^2 , RMSEC, root mean standard error of cross-validation (RMSECV) and RMSEV values. The total soluble solids contents could be predicted ($R^2 > 0.727$; RMSEC = 0.184%; RMSECV = 0.411%; RMSEV = 0.338%) by NIRS coupled to multivariate analysis. NIRS and chemometrics proved to be a powerful tool to predict

quality parameters in CF and tucupi as well as to discriminate fermented and non-fermented CF.

Key-words: Near infrared Spectroscopy; Chemometrics; Prediction; Discrimination; Cassava flour; Tucupi.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Produção de mandioca (*Manihot esculenta*) dos seis maiores produtores mundiais. Fonte FAOSTAT (2021)..... **26** **Excluído:** 25

Figura 2 – Produção de mandioca (*Manihot esculenta*) no Brasil, Região Norte e Estado do Pará, no período de 2010 a 2020. Fonte: IBGE (2020). **27** **Excluído:** 26

Figura 3 – Número de citações para os termos ‘cassava’ ou ‘*Manihot esculenta*’ ou ‘manioc’, no período de 2010 a 2021. Fonte: www.scopus.com (2022)..... **29** **Excluído:** 28

Figura 4 – Produção científica dos cinco principais países que publicaram sobre a *Manihot esculenta* no período de 2010 a 2021. Fonte: www.scopus.com (2022)..... **30** **Excluído:** 29

Figura 5 – Produção nacional de farinha de mandioca no ano de 2017. Fonte: Censo Agropecuário (IBGE, 2017). **31** **Excluído:** 30

Figura 6 – Vibrações de deformações axial e angulares em uma molécula de água. Fonte Adaptado de Skoog et al (1997). **37** **Excluído:** 36

Figura 7 – Efeitos dos principais pré-processamentos nos espectros NIR de folhas de mandioca (*Manihot esculenta*). Fonte: Dados experimentais do autor não publicados. **41** **Excluído:** 40

Figure 8 – Near infrared raw spectra of *Manihot esculenta* flour. **69** **Excluído:** 68

Figure 9 – Predicted values of aw (a), moisture content (b) and pH (c) from *Manihot esculenta* flour using Fourier transform near infrared spectroscopy. **72** **Excluído:** 71

Figure 10 – NIR raw spectra of fermented and unfermented *Manihot esculenta* flour. Arrows indicate the spectral ranges used in the discrimination analysis. **89** **Excluído:** 88

Figure 11 – Scatter plot with the first two principal components (PC - 1 versus PC - 2) of fermented and unfermented *Manihot esculenta* flour samples analyzed using the physicochemical properties (a and b) and raw NIR spectra (c and d). **90** **Excluído:** 89

Figure 12 - Localization of markets where tucupi samples were collected. Font: Adapted from Prefeitura Municipal de Belém (2020).	<u>104</u>	Excluído: 10
Figure 13 – Raw NIR spectral data of tucupi samples	<u>110</u>	Excluído: 10

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Métodos espectroscópicos derivados de radiações eletromagnéticas..... 35

Excluído: 34

Table 2 – Results of the physicochemical parameters of *Manihot esculenta* flour. Results are presented as mean value \pm standard deviation followed by range values (minimum–maximum values). 64

Excluído: 63

Table 3 – Correlation coefficient of Pearson for *Manihot esculenta* flour ($n = 106$ samples)..... 67

Excluído: 66

Table 4 – Characteristics of the database used for the prediction model of the physicochemical parameters of *Manihot esculenta* flour using Fourier transform near infrared spectroscopy..... 70

Excluído: 69

Table 5 – Prediction of the physicochemical parameters of *Manihot esculenta* flour using Fourier transform near infrared spectroscopy and multivariate analysis. 70

Excluído: 69

Table 6 – Results of the physicochemical properties of fermented and unfermented *Manihot esculenta* flour. Results are presented as mean value \pm standard deviation followed by range values (minimum–maximum values). 86

Excluído: 85

Table 7 – Discrimination parameters determined from samples of fermented and unfermented *Manihot esculenta* flour by applying Principal Component Analysis – Linear Discriminant Analysis. 92

Excluído: 91

Table 8 – Results of the quality parameters of tucupi. Results are presented as mean value \pm standard deviation followed by range values (minimum–maximum values).. 107

Excluído: 108

Table 9 - Correlation coefficient of Pearson for quality parameters of tucupi..... 108

Excluído: 108

Table 10 - Prediction of the physicochemical properties of tucupi using Fourier Transform near infrared spectroscopy and multivariate analysis..... 112

Excluído: 112

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	19	Excluído: 18
1. INTRODUÇÃO	19	Excluído: 18
2. OBJETIVOS	24	Excluído: 23
2.1 Objetivo geral	24	Excluído: 23
2.2 Objetivos específicos.....	24	Excluído: 23
CAPÍTULO I: REVISÃO DA LITERATURA	25	Excluído: 24
3. REVISÃO DA LITERATURA	25	Excluído: 24
3.1 Mandioca.....	25	Excluído: 24
3.2 Farinha de mandioca.....	30	Excluído: 29
3.3 Tucupi.....	33	Excluído: 32
3.4 Espectroscopia no infravermelho próximo	35	Excluído: 34
3.5 Quimiometria.....	39	Excluído: 38
3.6 Aplicação da espectroscopia <i>NIR</i> na predição de parâmetros físico-químicos e discriminação da <i>M. esculenta</i>	43	Excluído: 42
4. REFERENCIAS	47	Excluído: 46
CAPÍTULO II: FAST AND NON-DESTRUCTIVE DETERMINATION OF SIMULTANEOUS PHYSICOCHEMICAL PARAMETERS OF <i>MANIHOT ESCULENTA</i> FLOUR USING FT-NIR SPECTROSCOPY AND MULTIVARIATE ANALYSIS	58	Excluído: 57
1. SUMMARY	58	Excluído: 57
2. INTRODUCTION	59	Excluído: 58
3. MATERIAL AND METHODS	61	Excluído: 60

3.1 <i>Manihot esculenta</i> flour.....	<u>61</u>	[Excluído: 60]
3.2 Physicochemical analysis	<u>61</u>	[Excluído: 60]
3.3 Statistical analysis.....	<u>62</u>	[Excluído: 61]
3.4 Spectral acquisitions.....	<u>62</u>	[Excluído: 61]
3.5 Data processing.....	<u>63</u>	[Excluído: 62]
3.6 Multivariate statistical analysis.....	<u>63</u>	[Excluído: 62]
4. RESULTS AND DISCUSSION.....	<u>64</u>	[Excluído: 63]
4.1 Physicochemical determinations	<u>64</u>	[Excluído: 63]
4.2 Spectral data of <i>Manihot esculenta</i> flour.....	<u>68</u>	[Excluído: 67]
4.3 Prediction of physicochemical parameters of <i>Manihot esculenta</i> flour.....	<u>69</u>	[Excluído: 68]
5. CONCLUSIONS.....	<u>73</u>	[Excluído: 72]
6. ACKNOWLEDGEMENTS.....	<u>73</u>	[Excluído: 72]
7. REFERENCES	<u>74</u>	[Excluído: 73]
CAPÍTULO III: DISCRIMINATION OF FERMENTED AND UNFERMENTED MANIHOT ESCULENTA FLOUR USING FT-NIR SPECTROSCOPY AND LINEAR DISCRIMINANT ANALYSIS.....	<u>80</u>	[Excluído: 79]
1. ABSTRACT	<u>80</u>	[Excluído: 79]
2. INTRODUCTION	<u>80</u>	[Excluído: 79]
3. MATERIAL AND METHODS	<u>82</u>	[Excluído: 81]
3.1 Cassava flour.....	<u>82</u>	[Excluído: 81]
3.2 Physicochemical analysis	<u>83</u>	[Excluído: 82]
3.3 Spectral acquisitions.....	<u>83</u>	[Excluído: 82]

3.4 Data processing.....	84	Excluído: 83
3.5 Discriminate analysis	84	Excluído: 83
3.6 Statistical analysis.....	85	Excluído: 84
4. RESULTS AND DISCUSSION.....	85	Excluído: 84
4.1 Physicochemical determinations	85	Excluído: 84
4.2 Spectral data of fermented and unfermented cassava flour.....	88	Excluído: 87
4.3 Discrimination analysis.....	89	Excluído: 88
5. CONCLUSIONS.....	93	Excluído: 92
6. ACKNOWLEDGEMENTS.....	94	Excluído: 93
7. REFERENCES	94	Excluído: 93

CAPÍTULO IV: PREDICTION OF QUALITY PARAMETERS OF TUCUPI USING FT-NIRS AND MULTIVARIATE ANALYSIS.....	101	Excluído: 100
1. ABSTRACT	101	Excluído: 100
2. INTRODUCTION	101	Excluído: 100
3. MATERIALS AND METHODS.....	103	Excluído: 100
3.1 Tucupi acquisition	103	Excluído: 100
3.2 Quality parameters determination	104	Excluído: 100
3.3 Spectral acquisitions.....	105	Excluído: 100
3.4 Multivariate statistical analysis.....	105	Excluído: 100
4. RESULTS AND DISCUSSION.....	106	Excluído: 100
4.1 Quality parameters determination of tucupi	106	Excluído: 100

4.2 Spectral data of tucupi	<u>109</u>	[Excluído: 10]
4.3 Prediction of quality parameters of tucupi	<u>110</u>	[Excluído: 10]
5. CONCLUSIONS.....	<u>113</u>	[Excluído: 11]
6. ACKNOWLEDGEMENTS.....	<u>113</u>	[Excluído: 11]
7. REFERENCES	<u>113</u>	[Excluído: 11]

APRESENTAÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Em 1938 foi publicado um dos primeiros estudos científicos que utilizou a faixa espectral do infravermelho próximo como ferramenta analítica. Neste estudo, Ellis e Bath determinaram a umidade em gelatina (Pasquini, 2003). Pouco mais de 80 anos se passaram e uma verdadeira revolução pode ser percebida para a utilização da espectroscopia no infravermelho próximo (do inglês *Near InfraRed - NIR*) como ferramenta analítica.

Nos últimos 30 anos, o número de publicações utilizando a espectroscopia *NIR* saltou de 320 em 1992 para 5.888 em 2021; da Física e Astronomia à Medicina, da Química à Engenharia, das Artes à Psicologia, das Ciências dos Materiais às Ciências Agrícolas e Biológicas e até mesmo na Bioquímica, Genética e Biologia molecular. São várias as áreas do conhecimento que têm utilizado a espectroscopia *NIR* (Scopus, 2022).

Este fenômeno estendeu-se também ao Brasil, que acompanhou uma crescente trajetória da utilização da espectroscopia *NIR*. Dentro da área de *Agricultural and Biologic Sciences*, o Brasil foi responsável por aproximadamente 1,5% da produção intelectual mundial, em 2002. Em 2021 essa produção saltou para 9,3%, quando o Brasil foi o terceiro maior divulgador científico da espectroscopia *NIR* dentro da referida área (Scopus, 2022). Este *boom* da utilização da espectroscopia *NIR* foi uma consequência de várias vantagens do uso da técnica, em especial a versatilidade e o tempo de resposta.

Em relação a versatilidade, ressalta-se que com apenas um espectro vários parâmetros podem ser quantificados: umidade, proteína, lipídeos, fibras, amido, açúcares; só para citar os macronutrientes. Em relação ao tempo de resposta basta lembrar que uma

simples determinação de umidade pode demandar até 12 h. A quantificação de nitrogênio total, para a determinação de proteínas totais passa por uma etapa de desidratação, remoção da fração lipídica, digestão ácida, destilação e finalmente a titulação. Estas etapas tornam o ensaio analítico ambientalmente desfavorável (por conta da geração de resíduos), demasiadamente longo e, sobretudo, pode agregar fontes de erros, por conta das sucessivas etapas. Enquanto isso, uma medida na região do *NIR* dura apenas alguns segundos.

Todo este avanço, praticidade e versatilidade da espectroscopia *NIR* só pode ser amplamente aproveitado por conta de sua associação com a quimiometria. A quimiometria é uma ciência que surgiu da necessidade de extrair informação química que de outra forma estaria soterrada na avalanche de dados produzidos pelos modernos métodos analíticos. Os dados precisam ser organizados, preparados, submetidos a uma análise exploratória e, dependendo do interesse final do estudo, modelos de classificação e/ou de regressão devem ser aplicados (Ferreira, 2015).

São essas vantagens da espectroscopia *NIR* associada à quimiometria, que esta tese propõe-se a aplicar em dois dos produtos da cadeia produtiva da mandioca (*Manihot esculenta*) mais difundidos no Estado do Pará: a farinha de mandioca e o tucupi.

A mandioca (*M. esculenta*), bem como seus derivados (a farinha de mandioca, o tucupi, a farinha de tapioca, a fécula de mandioca e a maniva), ocupam um lugar de destaque na cultura e na mesa; não só dos brasileiros, mas de outros países em desenvolvimento (CONAB, 2016). O Brasil foi o quinto maior produtor mundial de mandioca em 2019 (FAOSTAT, 2019). O Pará, por sua vez, é o maior produtor nacional de mandioca, sendo responsável por aproximadamente 53,6% da produção da Região Norte e 22,4% da produção nacional. A mandioca é cultivada em todos os Estados

brasileiros e no Estado do Pará a produção é distribuída em todos os 144 municípios (IBGE, 2021).

Na Região Amazônica, o principal produto da mandioca é a farinha de mandioca. Segundo dados do Censo Agropecuário brasileiro, em 2017 foram produzidos 706.752 t de farinha de mandioca (IBGE, 2017). Na ocasião, tal como para a mandioca, o Pará foi o maior produtor da farinha de mandioca, sendo responsável por 61,4% da produção da Região Norte e por 37,4% da produção nacional. O segundo maior produtor foi o Estado do Amazonas, com 22,8% e 13,8% das produções regional e nacional, respectivamente.

O tucupi, por sua vez, é um líquido parcialmente fermentado e fervido, obtido a partir da manipueira extraída da mandioca durante o processo de produção da farinha de mandioca do grupo seca (Da Costa et al., 2019). *A priori*, sua utilização como ingrediente na culinária tinha apenas alcance regional; mas nos últimos anos o resto do Brasil tomou conhecimento da existência e do sabor exótico do produto (Estadão, 2017). Dados oficiais sobre a produção e o consumo do tucupi são escassos.

A espectroscopia *NIR* e os métodos de análise multivariada têm sido utilizados na discriminação de origem geográfica de produtos (Arndt et al., 2020; Nardecchia et al., 2020; Reis et al., 2020; Meng et al., 2017; Nescatelli et al., 2017; Teixeira dos Santos, 2017); autenticação, adulteração e fraude de produtos alimentícios (Moran et al., 2018; Quelal-Vásconez et al., 2019; Quelal-Vásconez et al., 2018; Mabood et al., 2017; Mossoba et al., 2017; Wang et al., 2017); determinação de compostos bioativos, como: compostos fenólicos (Caramês et al., 2017; Han et al., 2017; Toledo-Martin et al., 2017; Inácio et al., 2013; Ferrer-Gallego et al., 2011); curcuminóides (Kasemsumran et al., 2010; Tripathi et al., 2010; Tanaka et al., 2008) e tocoferóis (Cayuela & García, 2017;

Revilla et al., 2017); oxidação de lipídeos em carnes (Ripoll et al., 2018); teor de lipídeos e ácidos graxos intramuscular (Barragán-Hernández et al., 2020); entre outras aplicações.

Apesar de todas estas vantagens da utilização da espectroscopia *NIR*, não foram encontrados relatos publicados na Literatura Científica de sua aplicação a estes dois produtos: a farinha de mandioca e o tucupi. Então, ancorado na versatilidade da espectroscopia *NIR* para analisar diferentes tipos de amostras, no curto tempo de resposta e na possibilidade de quantificar vários parâmetros com uma única leitura, esta tese propõe-se a aplicar pela primeira vez a espectroscopia no infravermelho próximo, associada a quimiometria, a dois produtos de grande destaque no Estado do Pará: a farinha de mandioca e o tucupi.

Os principais resultados deste estudo serão apresentados da seguinte forma:

- i) Capítulo I: Uma abordagem geral do trabalho, composta pela revisão da literatura sobre a mandioca (*M. esculenta*) e seus dois produtos objetos de estudo desta tese (a farinha de mandioca e o tucupi), sobre a espectroscopia *NIR* e os métodos quimiométricos;
- ii) Capítulo II: Apresenta os resultados obtidos para a utilização da espectroscopia *NIR* na predição de parâmetros de qualidade da farinha de mandioca (artigo publicado no *International Journal of Food Science and Technology*);
- iii) Capítulo III: Apresenta um estudo sobre a utilização da espectroscopia *NIR* na discriminação entre a farinha d'água (farinha de mandioca fermentada) e a farinha seca (não fermentada) (manuscrito está sob avaliação na *Molecules*);

- iv) Capítulo IV: Apresenta os resultados obtidos para a utilização da espectroscopia *NIR* na predição de parâmetros físico-químicos e de qualidade do tucupi.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Aplicar a espectroscopia na região do infravermelho próximo em associação com ferramentas quimiométricas, na predição de parâmetros físicos, físico-químicos e de qualidade da farinha de mandioca e o tucupi, bem como na discriminação de farinha fermentada e não fermentada.

2.2 Objetivos específicos

- i) Predizer os principais parâmetros físico-químicos da farinha de mandioca utilizando a espectroscopia *NIR* e ferramentas quimiométricas;
- ii) Discriminar farinhas de mandioca fermentadas e não fermentadas utilizando a espectroscopia *NIR* e ferramentas quimiométricas;
- iii) Predizer os principais parâmetros físico-químicos do tucupi utilizando a espectroscopia *NIR* e ferramentas quimiométricas.

CAPÍTULO I: REVISÃO DA LITERATURA

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Mandioca

A mandioca (*M. esculenta*) é uma planta pertencente à família *Euphorbiaceae*, originária da América do Sul e foi levada até o continente africano pelos portugueses. Atualmente ela está amplamente distribuída nas regiões tropicais e subtropicais da África e da Ásia (Bayoumi et al., 2010). O gênero *Manihot* compreende 98 espécies, entre as quais a *M. esculenta* é a mais distribuída e cultivada em todo o mundo (Nassar et al., 2008).

A mandioca pode ser cultivada durante todo o ano, entre as latitudes 30° ao Norte e ao Sul do globo terrestre (Iyer et al., 2010), em uma grande variedade de altitudes e solos (Tivana et al., 2014; Bayoumi et al., 2010). Entre as vantagens do cultivo da mandioca podem ser citadas: a tolerância a seca, a capacidade de crescer e produzir em solos degradados e com baixa fertilidade, a tolerância ou resistência a um grande número de doenças e pragas e a flexibilidade dos períodos de colheita (Sánchez et al., 2014).

De acordo com a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO, 2015), as raízes tuberosas da mandioca são a quinta fonte de carboidrato dos trópicos. Trata-se de alimento básico para mais de 500 milhões de pessoas, devido ao alto teor de amido. Segundo Nweke et al. (2002), 93% da produção de mandioca é utilizada para o consumo humano. O consumo mundial desta raiz é da ordem de 20 kg *per capita/ano* (FAO, 2015). As raízes tuberosas da mandioca também têm sido utilizadas como matéria-prima para a produção de amido, na alimentação animal, na produção de

bioetanol, dextrinas, xaropes de glicose, frutose e maltose e plástico biodegradável (Li et al., 2017; Parmar et al., 2017; Ceballos et al., 2012).

A Figura 1 apresenta a produção total dos seis maiores produtores de mandioca do mundo no período compreendido entre 2011 e 2020 (FAOSTAT, 2021). Em 2020, o continente africano foi responsável por 64,0% da produção de mandioca, enquanto a Ásia e a América do Sul produziram, respectivamente, 27,0% e 8,3%. O Brasil respondeu por 6,0% da produção mundial de mandioca e por 72,8% da produção na América do Sul.

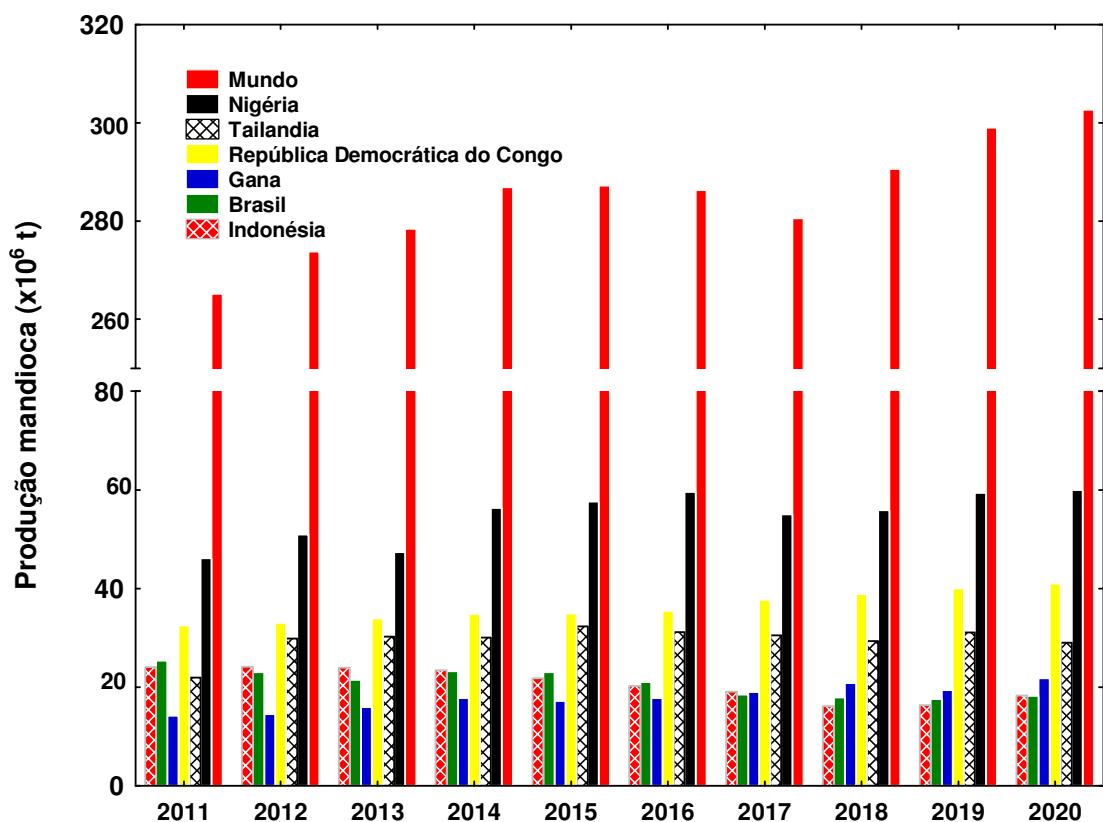


Figura 1 – Produção de mandioca (*Manihot esculenta*) dos seis maiores produtores mundiais. Fonte FAOSTAT (2021).

Na Figura 2 pode ser observada a produção de mandioca no período de 2010 a 2020, no Brasil, na Região Norte e no Estado do Pará. Uma particularidade brasileira é o fato de que 83% da produção da mandioca é gerada por pequenos produtores (FAO, 2015). No período de 2010 a 2019, a Região Norte aumentou sua participação na produção nacional de 28,2 para 38,5%. O Estado do Pará, por sua vez, apresentou dois comportamentos para o período, sendo: um aumento em relação a produção nacional, de 17,7% para 22,4%, e uma diminuição em nível regional, de 60,6% em 2006 para 53,6% em 2019 (IBGE, 2019).

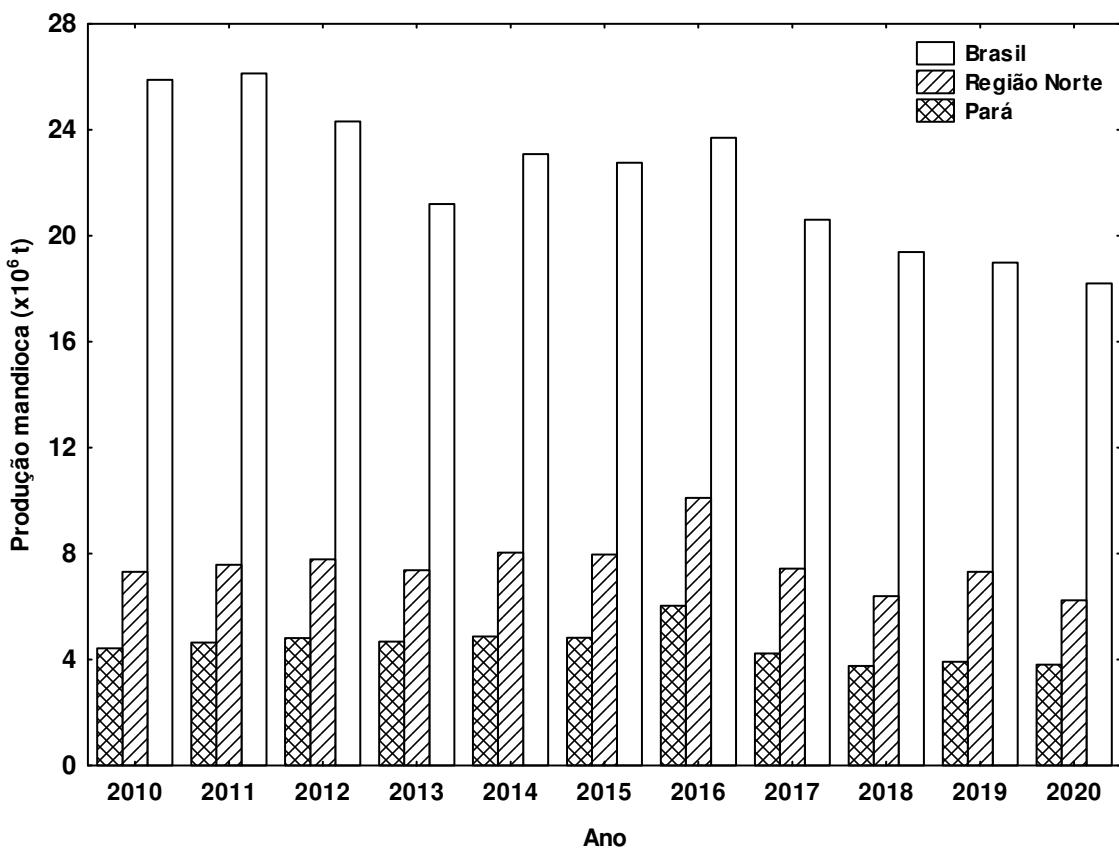


Figura 2 – Produção de mandioca (*Manihot esculenta*) no Brasil, Região Norte e Estado do Pará, no período de 2010 a 2020. Fonte: IBGE (2020).

A mandioca é produzida em todos os 144 municípios do Estado do Pará (IBGE, 2020), tendo sido os cinco maiores produtores do Estado, em 2020, os municípios de Óbidos (542.600 t), Tomé-Açu (509.673 t), Santarém (356.520 t), Cametá (353.305 t) e Acará (299.148 t). Estes municípios foram responsáveis por 54,1% da produção total do Estado (IBGE, 2020).

A mandioca também desperta grande interesse da comunidade científica. Segundo a base de dados *Scopus* (2022), no período de 2011 a 2021, os termos ‘*cassava*’ ou ‘*Manihot esculenta*’ ou ‘*manioc*’ obtiveram 4.957 ocorrências, com uma média de 413 ocorrências anuais (Figura 3). Na Figura 4 são destacados os cinco países com o maior foi responsável por, em média, 7,4% da produção mundial de mandioca (FAOSTAT, 2020). Entretanto, ele foi responsável por 21,6% da produção intelectual mundial sobre a mandioca (*Scopus*, 2022), o que demonstra claramente o lugar de vanguarda do Brasil no estudo da mandioca.

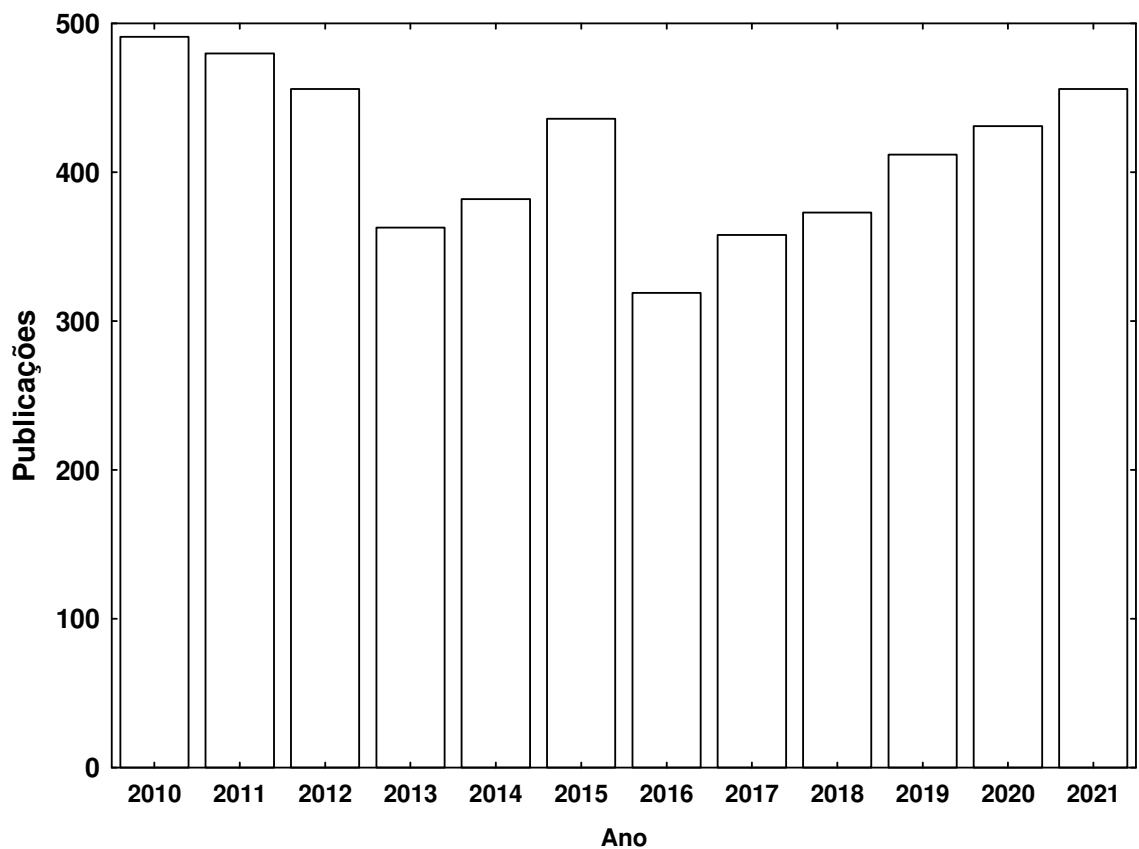


Figura 3 – Número de citações para os termos ‘*cassava*’ ou ‘*Manihot esculenta*’ ou ‘*manioc*’, no período de 2010 a 2021. Fonte: www.scopus.com (2022).

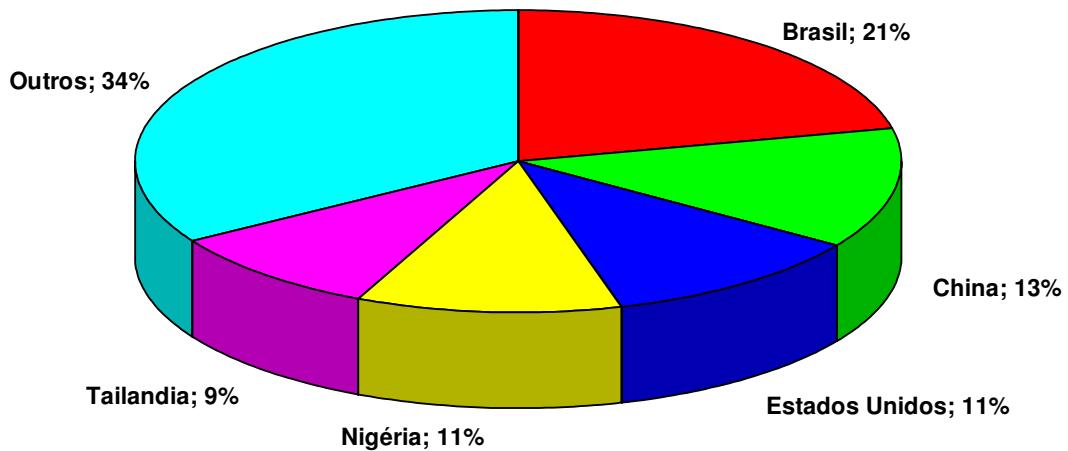


Figura 4 – Produção científica dos cinco principais países que publicaram sobre a *Manihot esculenta* no período de 2010 a 2021. Fonte: www.scopus.com (2022).

3.2 Farinha de mandioca

O principal produto da mandioca é a farinha de mandioca, que de acordo com a Instrução Normativa nº 52/2011 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) é o produto oriundo das raízes do gênero *Manihot*, submetidas a processo tecnológico adequado de fabricação e beneficiamento (BRASIL, 2011). Segundo o Censo Agropecuário de 2017 (IBGE, 2017), o Estado do Pará foi o maior produtor de farinha de mandioca, sendo responsável por 37,3% da produção nacional. A Figura 5 apresenta a produção nacional e os cinco maiores produtores nacionais de farinha de mandioca.

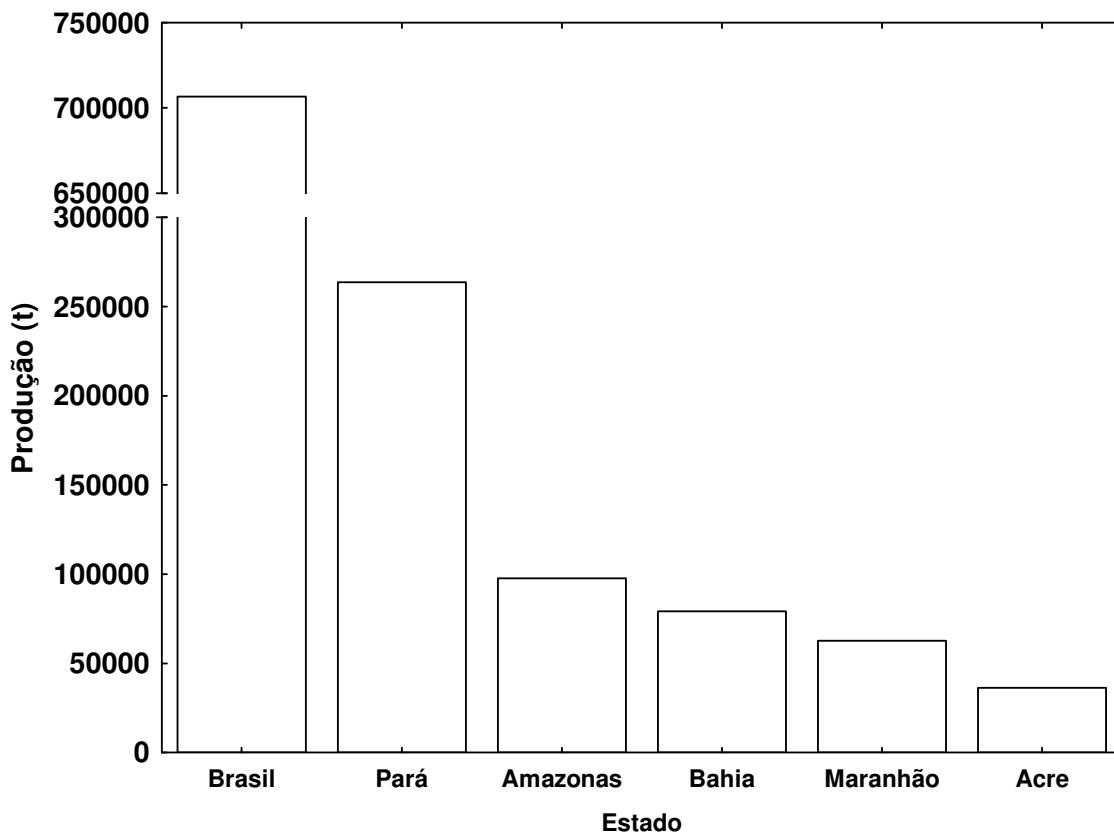


Figura 5 – Produção nacional de farinha de mandioca no ano de 2017. Fonte: Censo Agropecuário (IBGE, 2017).

Ainda de acordo com a Instrução Normativa nº 52/2011 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), a farinha de mandioca pode ser classificada em três grupos distintos, em função do processo tecnológico empregado na fabricação; sendo: farinha seca, farinha d’água e farinha bijusada (BRASIL, 2011).

A farinha seca é o produto obtido das raízes da mandioca sadias, devidamente limpas, descascadas, trituradas, raladas, moídas, prensadas, desmembradas, peneiradas e secas à temperatura adequada; podendo novamente ser peneirada e ainda beneficiada. A diferença entre a farinha seca e a farinha d’água é que a última passa por uma etapa de maceração em água, que tem por objetivo fermentar as raízes da mandioca. A farinha

bijusada, por sua vez, é um produto de baixa densidade que após ser peneirado é laminado à temperatura adequada, para formar predominante flocos irregulares (BRASIL, 2011).

As farinhas secas e d'água podem ainda ser classificadas em função de sua granulometria, em fina, média e grossa. A farinha seca é considerada fina quando 100% do produto passar através de peneira com abertura de malha de 2 mm e até 10% ficar retido em peneira com abertura de malha de 1 mm; grossa quando mais de 10% da farinha ficar retida em peneira com abertura de malha de 2 mm; e média quando a farinha não se enquadrar em nenhuma das classes anteriores. A farinha d'água é considerada fina quando até 10% ficar retido em peneira com abertura de malha de 2 mm; média quando de 10% a 15% ficar retido em peneira com abertura de malha de 2 mm; e grossa quando mais de 15% da farinha ficar retida em peneira com abertura de malha de 2 mm (BRASIL, 2011).

A farinha de mandioca pode apresentar baixa ou alta acidez. Para os grupos seca e bijusada será considerada de acidez baixa a farinha que apresentar valores de até 3,0 mEq NaOH/100 g e de acidez alta quando os valores de acidez forem superiores a este. Por sua vez, a farinha d'água, estes valores serão de até 5,0 mEq NaOH /100 g ou superiores a este, respectivamente (BRASIL, 2011). Adicionalmente, as farinhas de mandioca devem apresentar valores máximos para umidade, cinzas e fibra bruta de, respectivamente, 13%, 1,4% e 4,0% e um mínimo de 80% de amido (BRASIL, 2011).

Ao longo dos anos, estudos relacionados à farinha de mandioca têm reportado a qualidade da farinha do grupo seca (Chisté et al., 2006); as características físico-químicas de farinhas de diferentes proveniências (Dias & Leonel, 2006); a comparação entre os métodos para determinação de amido em farinha de mandioca (Machado et al., 2009); a quantificação de cianeto total nas etapas de processamento das farinhas seca e d'água (Chisté et al., 2010); a influência da fermentação na qualidade da farinha d'água (Chisté

& Cohen, 2011a); o comportamento higroscópico das farinhas secas e d'água (Chisté et al., 2015); as propriedades químicas de farinhas de mandioca de alta qualidade, produzidas a partir de diferentes variedades de mandioca (Samad et al., 2018); a composição, teor de cianeto e distribuição do tamanho de partícula da farinha de mandioca (Chisenga et al., 2019); estudo das características de qualidade da farinha e do biscoito produzidos com mandioca (Lu et al., 2020); o efeito do tamanho da partícula no comportamento higroscópico de farinha de mandioca seca (Araújo & Pena, 2020) e a avaliação da qualidade da farinha e da massa produzida com raízes fermentadas de mandioca (Odey & Lee, 2020). Apesar da maioria destes estudos terem sido conduzidos no Brasil, foram encontrados estudos produzidos na África do Sul, China, Coreia do Sul, Indonésia e Zâmbia (Odey & Lee, 2020; Udoro et al., 2020; Chisenga et al., 2019; Lu et al., 2019; Samad et al., 2018).

3.3 Tucupi

Durante a produção da farinha de mandioca, dois subprodutos podem ser obtidos: o tucupi e a fécula de mandioca. As raízes da mandioca são descascadas, trituradas e prensadas para a remoção da fração líquida. A massa prensada segue para a torrefação e origina a farinha seca (Chisté et al., 2007). O líquido resultante, denominado de manipueira, fica em repouso por 1 ou 2 dias para decantação da fécula de mandioca ('goma'). Após a separação da fécula, o líquido é fermentado parcialmente de forma natural e em seguida fervido dando origem assim ao tucupi (Cassoni & Cereda, 2011; Chisté & Cohen, 2011b; Chisté et al., 2007).

O tucupi é definido pela Instrução Normativa da Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Pará nº 1 de 24 de Junho de 2008, como sendo o produto e/ou subproduto obtido da raiz de mandioca (*Manihot esculenta*) e suas variedades, por processo

tecnológico adequado, com uso predominante na culinária paraense (ADEPARA, 2008). O tucupi é utilizado exclusivamente no preparo de pratos da culinária, em especial na região Norte do Brasil e de forma mais extensiva no Estado do Pará.

Estudos sobre o tucupi na literatura têm abordado suas características físico-químicas (Campos et al., 2019; Chisté et al., 2007) e a influência do processamento em suas características físico-químicas e nos teores de cianeto (Campos et al., 2019; Chisté et al., 2011;), aminas bioativas e perfil de carotenoides (Brito et al., 2019). Além disso, produtos derivados do tucupi têm sido propostos por vários estudos, como: condimento em pó com tucupi (Costa et al., 2018), pasta cremosa de tucupi (Costa et al., 2017), tucupi em pó (Pires & Pena, 2017), maionese adicionada de tucupi (Carmo et al., 2019) e tucupi concentrado (Costa et al., 2019).

Apesar de muito consumido no Estado do Pará, vale citar que estudos reportaram os efeitos citotóxicos do tucupi (Cunha et al., 2016), bem como o seu potencial fator de risco para a erosão dentária (Martins et al., 2016). No primeiro estudo, Cunha et al. (2016) estudaram a citotoxicidade e genotoxicidade de diferentes concentrações de tucupi (1, 2, 4, 8, 16 e 32%) em linfócitos humanos. Apesar dos autores apontarem que a possível causa da citotoxicidade do tucupi seria a presença de derivados cianogênicos no tucupi, estes não foram quantificados. Martins et al. (2016) compararam o efeito erosivo do tucupi e do refrigerante a base de cola. O tucupi e o refrigerante a base de cola apresentaram os mesmos efeitos erosivos. Segundo os autores, a principal causa deste efeito é o baixo pH do tucupi ($3,52 \pm 0,49$) e do refrigerante ($2,46 \pm 0,08$).

3.4 Espectroscopia no infravermelho próximo

Espectroscopia é um termo geral utilizado para o estudo das interações dos diferentes tipos de radiação, com átomos, moléculas ou outras espécies químicas (Dufour, 2009; Skoog et al., 1997). Essa radiação é uma forma de energia que possui em alguns momentos propriedades elétricas e em outros momentos propriedades magnéticas; por isso é descrita como radiação eletromagnética (Dufour, 2009).

A espectroscopia é baseada no fato de que as moléculas absorvem radiação em quantidades discretas de energia, sendo que essa absorção ocorre apenas em determinadas frequências, referentes às características do corpo em estudo. A frequência ou comprimento de onda de uma absorção depende das massas relativas dos átomos, das constantes de força das ligações e da geometria dos átomos (Silverstein et al., 2005; Vollhardt & Schore, 2004). A Tabela 1 apresenta os tipos de espectroscopia, que são utilizados para fins analíticos, baseados na radiação eletromagnética.

A espectroscopia vibracional investiga transições vibracionais e rotacionais de determinadas moléculas, obtendo informações a respeito da estrutura molecular, a partir do número de ondas vibracionais ativas nos espectros infravermelhos, característicos do composto estudado; bem como da natureza das ligações químicas presentes nas moléculas (Sala, 1995).

A energia absorvida pelas moléculas na espectroscopia vibracional provoca um aumento na amplitude de vibração das ligações químicas. Esta vibração é quantizada e, como as moléculas podem sofrer diferentes vibrações, cada tipo de movimento ocorre em uma energia diferente. Por esta razão, através da espectroscopia vibracional é possível reconhecer moléculas, com base na intensidade da frequência da vibração de suas ligações

químicas, a qual depende das massas e das forças de interação entre os átomos de uma molécula (Vollhardt & Schore, 2004).

Tabela 1 – Métodos espectroscópicos derivados de radiações eletromagnéticas.

Tipo de espectroscopia	Comprimento de onda (nm)	Energia (kcal/mol)	Tipo de transição envolvida
Absorção, emissão, fluorescência e difração de raio-X	0,5 – 10	$\sim 10^4$	Mudança de energia dos elétrons das camadas internas de átomos e moléculas
Absorção na região do ultravioleta distante	10 – 180		Emissão eletrônica do orbital de valência
Absorção, emissão e fluorescência na região do ultravioleta próximo	180 – 350	$\sim 10^2$	Transição eletrônica
Absorção, emissão e fluorescência na região do visível	350 – 780	~ 10	Transição eletrônica
Absorção na região do infravermelho próximo	780 – 2.500		Vibração molecular
Absorção na região do infravermelho médio	2.500 – 25.000	$\sim 1 - 10^{-2}$	Vibração molecular
Absorção na região do infravermelho distante	25.000 – 10^5		Rotação molecular
Absorção na região de micro-ondas	$10^5 - 10^7$	$\sim 10^{-2} - 10^{-4}$	Rotação molecular

Adaptado de Dufour (2009), Ghosh & Jayas (2009) e Skoog et al. (1997).

De acordo com a Tabela 1, a região do infravermelho pode ser dividida em infravermelho próximo (*NIR*), infravermelho médio (do inglês *Mid InfraRed – MIR*) e infravermelho distante (do inglês *Far InfraRed – FIR*). Entre estas, as regiões *NIR* e *MIR* são as mais utilizadas para determinar parâmetros qualitativos e quantitativos na área de análises de alimentos (Ghosh & Jayas, 2009).

A região do *NIR* (região espectral: 780–2.500 nm) é uma região do espectro de radiação eletromagnético que exibe absorção de bandas espectrais relacionadas com as

vibrações moleculares. Por se tratar apenas de vibrações, a variação de energia envolvida é relativamente baixa (Tabela 1) (Dufour, 2009; Lin et al., 2009; Ciurczak, 2006; Kenkel, 2003). As vibrações moleculares geram as ‘impressões digitais’ que cada substância ou molécula emite quando interage com a luz (Skoog et al., 1997).

Uma vibração de deformação angular corresponde às variações ritmadas de ligações que tem um átomo em comum ou o movimento de um grupo de átomos em relação aos demais átomos da molécula, sem que as posições relativas dos átomos do grupo se alterem. Já nas deformações axiais há um movimento rítmico ao longo do eixo da ligação, que faz com que a distância interatômica aumente e diminua alternadamente (Silverstein et al., 2005; Dyer, 1969). Representações de como estas vibrações ocorrem, para a molécula de água, são apresentadas na Figura 6.

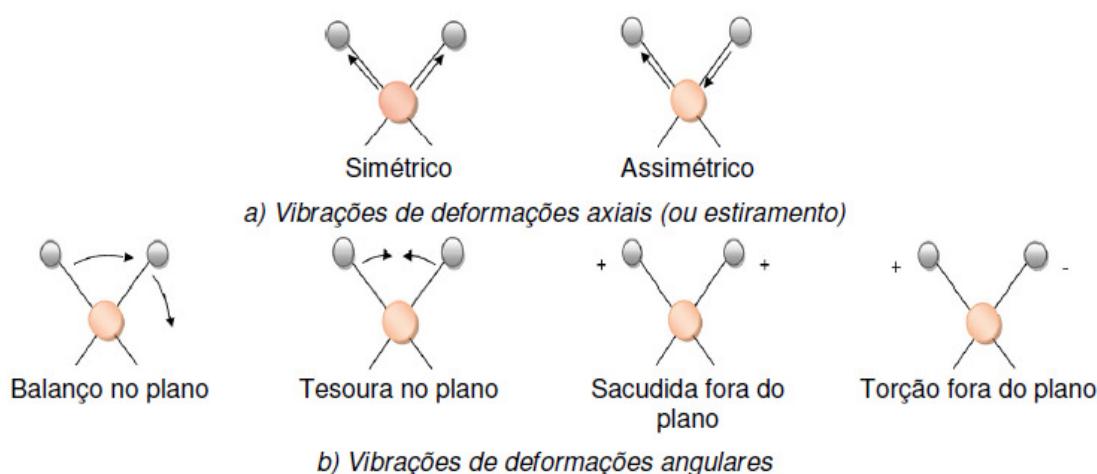


Figura 6 – Vibrações de deformações axial e angulares em uma molécula de água. Fonte Adaptado de Skoog et al. (1997).

A matéria orgânica contida nos tecidos biológicos apresenta diferentes bandas espectrais características na região do *NIR*. Essas bandas nada mais são do que o resultado de absorções relativamente fortes, onde parte da energia é convertida em vibrações, pelos

diferentes grupos funcionais presentes, tais como: C – H, N – H, O – H e S – H (Roggo et al., 2007). A região do *NIR* é a primeira região espectral que exibe bandas de absorção relacionadas à vibração molecular. Esta região é caracterizada pela presença de bandas harmônicas de estiramento e de combinação e é amplamente empregada para predição de composição de produtos alimentícios (Dufour, 2009).

As principais vantagens da utilização da espectroscopia *NIR* são (Moros et al., 2010; Luypaert et al., 2007; Joubert et al., 2006):

- i) O aspecto não destrutivo e não invasivo da técnica analítica, o que permite a reutilização da amostra após a análise;
- ii) As amostras podem ser analisadas com pequena ou nenhuma preparação, o que previne possíveis fontes de erros;
- iii) As amostras podem ser analisadas em todos os estados físicos;
- iv) Geralmente não são utilizados reagentes e/ou solventes tóxicos ou perigosos ao manipulador e ao meio ambiente;
- v) Pode ser considerada uma técnica de baixo custo, que produz resultados rápidos, oferecendo respostas em tempo real e permitindo um maior número de amostras analisadas por unidade de tempo;
- vi) Permite a análise de múltiplos componentes em uma mesma amostra, com apenas uma leitura quando associada a ferramentas quimiométricas;
- vii) Representa uma eficiente ferramenta analítica para monitoramento e controle de processos na indústria de alimentos;

viii) Pode apresentar informações sobre a distribuição espacial de um componente de uma amostra.

Em matrizes complexas, como no caso de alimentos, matérias-primas alimentícias, produtos agrícolas e materiais orgânicas, em geral, há uma grande diversidade de compostos (água, proteínas, açúcares, lipídios, vitaminas, minerais e compostos secundários). Nestes casos é importante ressaltar que pode haver superposição de bandas, o que dificulta a elucidação e a interpretação dos dados espectrais *NIR* (Roggo et al., 2007). Para contornar este problema são utilizadas ferramentas quimiométricas, as quais permitem relacionar sinais estruturais característicos de uma molécula e/ou substância com parâmetros quantitativos.

3.5 Quimiometria

Segundo a União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC), quimiometria é a aplicação da estatística na análise de dados químicos (química orgânica, química analítica ou química medicinal), bem como no planejamento de experimentos químicos e simulação (Hibbert, 2016). A quimiometria é um ramo da química que utiliza métodos estatísticos e matemáticos, bem como a lógica matemática, para (Massart et al., 2003):

- i) Planejar e otimizar procedimentos experimentais;
- ii) Extrair o máximo da informação química relevante, através da análise dos dados;
- iii) Obter conhecimentos sobre sistemas químicos.

Na espectroscopia *NIR*, a quimiometria é utilizada para (Ferreira, 2015):

- a) Pré-tratamento de dados espectroscópicos;
- b) Reconhecimento de padrões não supervisionados;
- c) Aplicação de métodos de regressão multivariada;
- d) Discriminação e/ou classificação pelo reconhecimento de padrões supervisionados, para a construção de modelos qualitativos e ou de classificação.

O objetivo dos pré-processamentos é reduzir as variações indesejáveis que não foram removidas durante a aquisição dos dados e que não serão eliminadas naturalmente durante a análise, mas que podem influenciar os resultados finais (Ferreira, 2015). Além disso, eles servem para remover informações não relevantes para as técnicas de regressão (Nicolaï et al., 2007). Vale ressaltar que todo pré-processamento deve ser realizado com cuidado e critério, para não distorcer, comprometer ou até mesmo inutilizar os resultados das análises (Ferreira, 2015).

Entre os principais pré-processamentos utilizados em *NIR* pode-se citar a correção da linha de base (*baseline*), o alisamento (*smoothing*), a normalização, a correção multiplicativa de espalhamento (*MSC*), a padronização normal de sinal (*SNV*) e as derivações (primeira e segunda derivadas em especial) (Ferreira, 2015; Nicolaï et al., 2007). Na Figura 6 podem ser observados os efeitos dos principais pré-processamentos nos espectros *NIR* de folhas de mandioca.

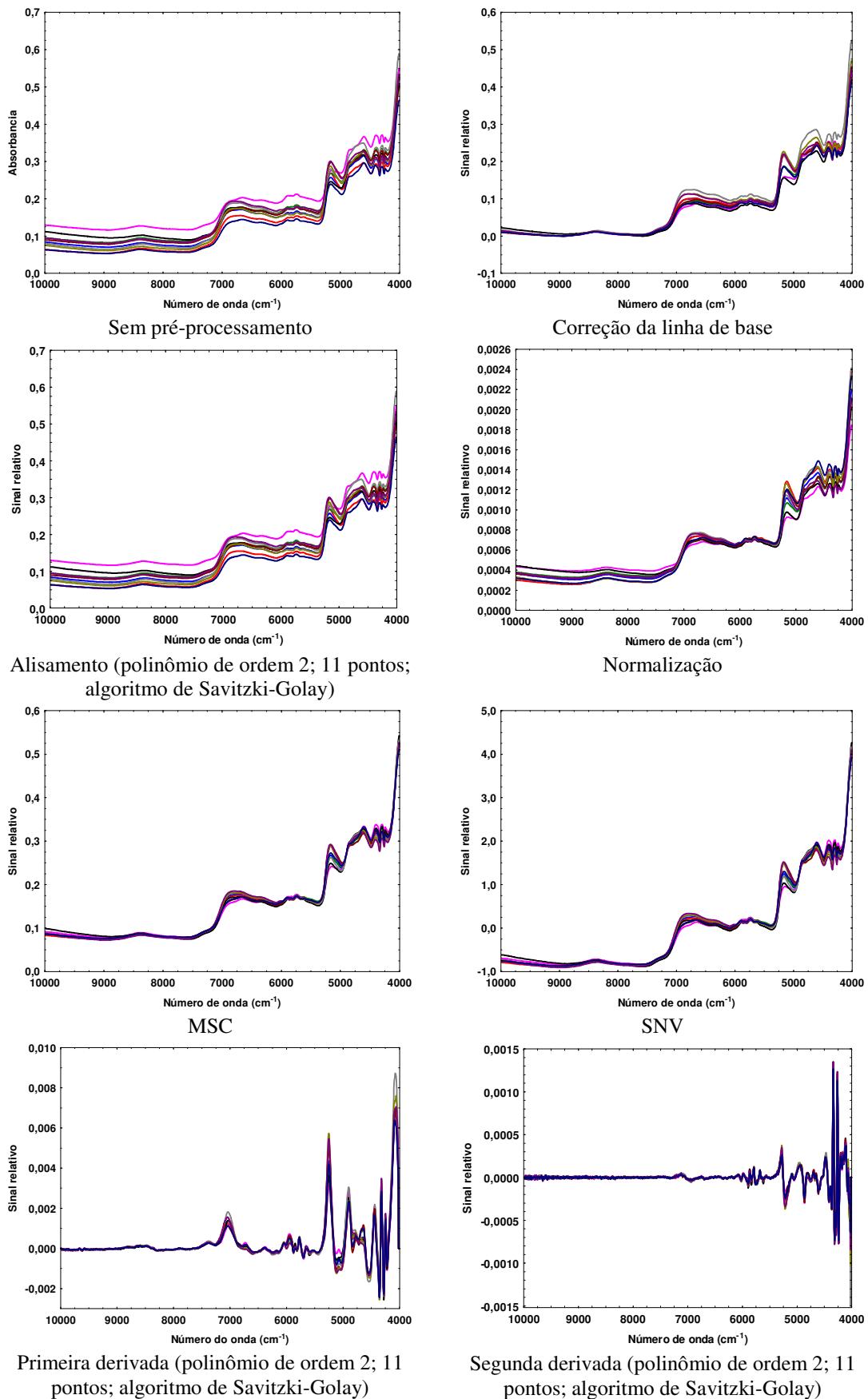


Figura 7 – Efeitos dos principais pré-processamentos nos espectros NIR de folhas de mandioca (*Manihot esculenta*). Fonte: Dados experimentais do autor não publicados.

O reconhecimento de padrões pela análise exploratória de dados, também chamado de método não supervisionado de reconhecimento de padrões, serve para:

- i) Reduzir o número de variáveis que descrevem uma amostra e/ou fenômeno;
- ii) Detectar similaridades entre objetos e/ou amostras com objetivo de criar grupos.

Entre os métodos mais utilizados, tem-se a Análise de Componente Principal (PCA) e a Análise de Agrupamento Hierárquico (HCA), respectivamente (Ferreira, 2015; Ballabio & Todeschini, 2009).

Uma vez que os dados foram pré-tratados e a análise exploratória foi realizada passa-se então, geralmente aos métodos de regressão. Estes podem ser lineares ou multivariados. Os métodos de regressão linear simples são amplamente utilizados para tentar estabelecer um modelo matemático empírico, que relate um sinal analítico com a concentração de um analito alvo. Na maioria dos casos, essas relações empíricas são baseadas na lei de Lambert-Beer (Romía & Bernàdez, 2009). Entretanto, por se tratar de um modelo univariado, a sua aplicação acaba sendo limitada, sobretudo quando há a presença de interferentes. Para contornar esse problema são utilizados métodos de regressão multivariada, nos quais a concentração de um analito pode ser expressa em função de várias variáveis (Ferreira, 2015; Romía & Bernàdez, 2009; Charnet et al., 2008).

Os métodos de regressão multivariada mais utilizados são (Ferreira, 2015; Romía & Bernàdez, 2009):

- i) Regressão por mínimos quadrados (*Least Square Regression*);

- ii) Regressão por mínimos quadrados inversos (ILS – *Inverse Least Square Regression*);
- iii) Regressão por componente principal (PCR – *Principal Component Analysis Regression*);
- iv) Regressão por mínimos quadrados parciais (PLS – *Partial Least Square Regression*).

Por fim, os métodos quimiométricos permitem também a criação de modelos de classificação, que são capazes de reconhecer membros de uma determinada classe, baseados em um conjunto de dados. Estes modelos de classificação são também denominados de métodos supervisionados de reconhecimento de padrões. Os métodos de classificação mais utilizados na espectroscopia *NIR* são (Ferreira, 2015; Ballabio & Todeschini, 2009):

- i) Análise discriminante linear (LDA – *Linear Discriminant Analysis*);
- ii) Método do *k*-enésimo vizinho mais próximo (KNN – *K-Nearest Neighbour*);
- iii) Modelagem independente flexível por analogia de classes (SIMCA – *Soft Independent Modeling of Class Analogy*);
- iv) Análise discriminante pelo método dos mínimos quadrados parciais (*PLS-DA* – *Partial Least Square Discriminant Analysis*).

3.6 Aplicação da espectroscopia *NIR* na predição de parâmetros físico-químicos e discriminação da *M. esculenta*

Trabalhos com a aplicação da espectroscopia *NIR* à mandioca e produtos derivados da mandioca são escassos na literatura científica. Em uma busca realizada na

base de dados *Scopus* (www.scopus.com), em Fevereiro de 2022, foram encontradas apenas 10 publicações. Isto demonstra, que há um grande espaço para crescimento da aplicação da espectroscopia *NIR*, tanto para a mandioca, quanto para os seus produtos.

Carmo et al. (2020) utilizaram a espectroscopia *NIR* para classificar clones de mandioca com amido ceroso, um amido livre de amilose. Porém, os autores propuseram um método que analisou as folhas e não as raízes da mandioca. Foram analisadas 342 amostras (162 com amido ceroso e 180 sem amido ceroso) e testadas cinco técnicas diferentes de classificação. Os resultados demonstraram que os clones de mandioca foram corretamente classificados em até 93%. Os autores concluíram que a espectroscopia *NIR* é uma boa estratégia para classificação de mandioca com amido ceroso.

Freitas et al. (2020) utilizaram a espectroscopia *NIR* como uma alternativa viável para detecção da doença do couro-de-sapo na mandioca (*Cassava Frog Skin Disease - CFSD*). A CFSD é associada a um vírus e/ou fitoplasma e causa redução do rendimento e do teor de amido das raízes tuberosas. A principal técnica utilizada para identificação de seus causadores é a reação em cadeia de polimerase (PCR). Amostras de folhas de *M. esculenta* infectadas (118) e sadias (120) foram analisadas e seis métodos de classificação foram utilizados para discriminar folhas sadias de folhas infectadas. A precisão da discriminação das amostras chegou a 99,1% e mostrou que a espectroscopia *NIR* pode ser uma alternativa rápida e precisa na identificação de amostras de *M. esculenta* com CFSD.

Maraphum et al. (2020) utilizaram um espectro portátil na região parcial do visível e do *NIR* (600 – 1000 nm) para quantificar o amido em raízes de mandioca fresca. Foi avaliado também a influência do local da medida espectroscópica na raiz (parte superior, meio e parte inferior) sobre o teor de amido. De acordo com os autores, um espectro

portátil é adequado para determinar o amido em raízes de mandioca no campo, apesar dos resultados de predição não terem sido tão animadores (coeficiente de determinação para predição: $R^2 = 0,62$). Não foi verificada nenhuma diferença na performance dos modelos propostos, para as leituras feitas nas diferentes partes da raiz.

Vilpoux et al. (2020) utilizaram a espectroscopia *NIR* para discriminar amostras de mandioca nativas ricas em amido. Para tornar o modelo de classificação mais robusto, 10 amostras de mandioca comercial rica em amido foram adicionadas na amostragem; sendo avaliadas 132 amostras. Infelizmente, não foi possível classificar as mandiocas nativas pela aplicação dessa técnica espectroscópica.

Jaramillo et al. (2018) compararam a determinação de carotenoides totais e de *all-trans*- β -caroteno, em mandioca biofortificada, utilizando um sistema HPLC e dois espetrômetros *NIR*; um de bancada e outro portátil. Apesar dos bons resultados em termos de R^2 ($R^2 \geq 0,93$), os autores recomendaram cautela com a utilização do equipamento portátil, na obtenção dos espectros *NIR*, para a quantificação de carotenoides na mandioca. Por outro lado, de acordo com os resultados da pesquisa, o espetrômetro *NIR* de bancada é uma excelente opção para estimar a concentração de carotenoides na mandioca.

Fu et al. (2017) utilizaram *NIRS* e ferramentas quimiométricas para identificar amostras adulteradas com ácido málico, bem como para quantificar a acidez em amido de *M. esculenta*. Para tal, 165 amostras de amido de mandioca, adicionados de diferentes concentrações de ácido maleico (0,1–20,0%; m/m), foram analisadas. Os autores conseguiram identificar até ~95% das amostras adulteradas e quantificar concentrações de ácido málico acima de 0,6%.

Ikeogu et al. (2017) utilizaram um espectro portátil na região do visível e *NIR* (*VIS/NIR*) para quantificar matéria seca e carotenoides (carotenoides totais e *all-trans*-β-caroteno) em raízes de mandioca. Foram analisadas 546 amostras para matéria seca, 352 para o teor de carotenoides totais e 173 para o teor de β-caroteno *trans* totais. Os resultados indicaram que a *VIS/NIRS* pode ser utilizada para determinar os constituintes analisados nas raízes de mandioca (coeficiente de determinação: $R^2 > 0,96$ (calibração); $R^2 > 0,90$ (validação); $R^2 > 0,80$ (predição)).

Sánchez et al. (2014) utilizaram a *NIRS* para determinar carotenoides, matéria seca e cianeto em raízes de mandioca. Como análise de referência para carotenoides foi utilizada a espectrofotometria, para a quantificação de carotenoides totais, e HPLC para quantificar carotenoides *all-trans*-β-caroteno e β-caroteno totais (todas as formas de β-caroteno). No estudo foram analisadas 3.418 amostras de mandioca entre os anos de 2009–2012. As análises *NIR* foram feitas em modo de reflectância, na faixa espectral de 400–2.500 nm. As amostras de mandioca apresentaram bandas de absorção nos comprimentos de onda 450, 528, 960, 1.156, 1.412, 1.450, 1.900, 1.932 e 2.284 nm. Os resultados obtidos demonstraram que a técnica *NIR* pode ser utilizada na predição das propriedades estudadas, com coeficiente de determinação para calibração: $R^2 > 0,86$ e coeficiente de determinação para validação: $R^2 > 0,83$.

Lebot et al. (2013) e Lebot et al. (2009) usaram a *NIRS* para determinar nitrogênio total, resíduo mineral fixo, açúcares totais, amido e celulose, em 112 amostras de raízes e 62 amostras de tubérculos. Nas duas pesquisas as leituras foram realizadas no modo de refletância difusa, com a faixa espectrométrica entre 350 e 2.500 nm. No estudo de Lebot et al. (2013), os dados foram utilizados para predição de parâmetros em raízes e tubérculos, em geral, porém não foi realizada nenhuma predição, particularmente para a

mandioca. No estudo de Lebot et al. (2009), por sua vez, houve a predição de propriedades para a mandioca e, apesar do reduzido número de amostras analisadas (62 amostras), os autores conseguiram predizer todas as propriedades analisadas, com coeficiente de determinação para calibração: $R^2 > 0,70$ e coeficiente de determinação para validação: $R^2 > 0,77$ (exceto para a celulose).

4. REFERENCIAS

ADEPARA, Instrução Normativa da Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Pará nº 1 de 24 de Junho de 2008.

Araújo, A.L.; Pena, R.S. Effect of particle size and temperature on the hygroscopic behaviour of cassava flour from dry group and storage time estimation. **CYTA - Journal of Food**, 18, 178-176, 2020.

Arndt, M.; Rurik, M.; Drees, A.; Bigdowski, K.; Kohlbacher, O., Fischer, M. Comparison of different sample preparation techniques for NIR screening and their influence on the geographical origin determination of almonds (*Prunus dulcis* MILL.). **Food Control**, 115, 107302, 2020.

Ballabio, D.; Todeschini, R. Multivariate Classification for Qualitative Analysis in Sun, D.-W. **Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control**. Dublin: Elsevier Science B.V, 2009.

Barragán-Hernández, W.; Mahecha-Ledesma, L.; Burgos-Paz, W.; Olivera-Angel, M.; Angulo-Arizala, J. Using near-infrared spectroscopy to determine intramuscular fat and fatty acids of beef applying different prediction approaches. **Journal of Animal Science**, 98 (11), skaa342, 2020.

Bayoumi, S.A.L.; Rowan, M.G.; Beeching, J.R.; Blagbrough, I.S. Constituents and secondary metabolite natural products in fresh and deteriorated cassava roots. **Phytochemistry**, 71, 598–604, 2010.

BRASIL, Instrução Normativa do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento nº 52 de 07 de Novembro de 2011.

Brito, B.N.C.; Chisté, R.C.; Lopes, A.S.; Glória, M.B.A.; Pena, R.S. Influence of spontaneous fermentation of manipueira on bioactive amine and carotenoid profiles during tucupi production. **Food Research International**, 120, 209–216, 2019.

Campos, A.P.R.; Mattietto, R.A.; Carvalho, A.V. Optimization of parameters technological to process tucupi and study of product stability. **Food Science and Technology**, 39 (2), 365-371, 2019.

Caramês, E.T.S.; Alamar, P.D.; Poppi, R.J.; Pallone, J.A.L. Rapid assessment of total phenolic and anthocyanin contents in grape juice using infrared spectroscopy and multivariate calibration. **Food Analytical Methods**, 10(5), 1609-1615, 2017.

Carmo, C.D.; Sousa, M.B.; Pereira, J.S.; Ceballos, H.; Oliveira, E.J. Identification of waxy cassava genotypes using fourier-transform near-infrared spectroscopy. **Crop Science**, 60, 883–895, 2020.

Carmo, J.R.; Costa, T.S.; Pena, R.S. Tucupi-added mayonnaise: Characterization, sensorial evaluation, and rheological behavior. **CyTA - Journal of Food**, 17 (1), 479-487, 2019.

Cassoni, V.; Cereda, M.P. Avaliação do processo de fermentação acética da manipueira. **Revista Energia na Agricultura**, 26 (4), 101-113, 2011.

Cayuela, J.A.; García, J.F. Sorting olive oil based on alpha-tocopherol and total tocopherol content using near-infra-red spectroscopy (NIRS) analysis. **Journal of Food Engineering**, 202, 79-88, 2017.

Ceballos, H.; Hershey, C.; Becerra-López-Lavalle, L.A. New approaches to cassava breeding. **Plant Breeding Reviews**, 36, 427–504, 2012.

Charnet, R.; Freire, C.A.L.; Charnet, E.M.R.; Bonvino, H. **Análise de modelos de regressão linear: com aplicações 2 ed.** Campinas – SP: Editora da Unicamp, 2008.

Chisenga, S.M.; Workneh, T.S.; Bultosa, G.; Laing, M. Proximate composition, cyanide contents, and particle size distribution of cassava flour from cassava varieties in Zambia. **AIMS Agriculture and Food**, 4, 869-891, 2019.

Chisté, R.C.; Cardoso, J.M.; Silva, D.A.; Pena, R. Hygroscopic behaviour of cassava flour from dry and water groups. **Ciência Rural**, 45, 1515–1521, 2015.

Chisté, R.C.; Cohen, K.D.O.; Mathias, E.D.A.; Ramoa, A.G.A. Qualidade da farinha de mandioca do grupo seca. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, 26, 861-864, 2006.

Chisté, R.C.; Cohen, K.O. Influência da fermentação na qualidade da farinha de mandioca do grupo d'água. **Acta Amazonica**, 41, 279-284, 2011a.

Chisté, R.C.; Cohen, K.O. Teor de cianeto total e livre nas etapas de processamento do tucupi. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, 70(1), 41–46, 2011b.

Chisté, R.C.; Cohen, K.O.; Mathias, E.A.; Oliveira, S.S. Quantificação de cianeto total nas etapas de processamento das farinhas de mandioca dos grupos seca e d'água. **Acta Amazonica**, 40(1), 221 - 226, 2010.

Chisté, R.C.; Cohen, K.O.; Oliveira, S.S. Estudo das propriedades físico-químicas do tucupi. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 27(3), 437–440, 2007.

Ciurczak, E. W. Anomalies in Near-Infrared Spectroscopy. **Handbook of Vibrational Spectroscopy**, 2006.

CONAB, 2016. Companhia Nacional de Abastecimento. <http://www.conab.gov.br/>. Consultado em Janeiro de 2017.

Costa, T.S.; Carmo, J.R.; Braga, A.C.C.; Pena, R.S. Tucupi creamy paste: development, sensory evaluation and rheological characterization. **Food Science and Technology**, 37(1), 115-124, 2017.

Costa, T.S.; Carmo, J.R.; Pena, R.S. Powdered tucupi condiment: sensory and hygroscopic evaluation. *Food Science and Technology*, 38(1), 33-40, 2018.

Costa, T.S.; Rodrigues, A.M.C.; Pena, R.S. Rheological behavior of concentrated tucupi. **Food Science and Technology**, 39(3), 684-690, 2019.

Cunha, L.A.; Mota, T.C.; Cardoso, P.C.S.; Alcântara, D.D.F.Á.; Burbano, R.M.R.; Guimarães, A.C.; Khayat, A.S.; Rocha, C.A.M.; Bahia, M.O. In vitro assessment of the genotoxic and cytotoxic effects of boiled juice (tucupi) from *Manihot esculenta* Crantz roots. **Genetics and Molecular Research**, 15 (4): gmr.15048825, 2016.

Da Costa, R.D.S.; da Cruz Rodrigues, A.M.; Borges Laurindo, J.; da Silva, L.H.M. Development of dehydrated products from peach palm–tucupi blends with edible film characteristics using refractive window. **Journal of Food Science and Technology**, 56(2), 560-570, 2019.

Dias, L.T.; Leonel, M. Caracterização físico-química de farinhas de mandioca de diferentes localidades do Brasil. **Ciência e Agrotecnologia**, 30, 692-700, 2006.

Dufour, E. Principles of infrared spectroscopy In: Sun, D-W (Ed). **Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control**. Mariland: Academic Press, NY, 2009.

Dyer, J.R. **Aplicações da espectroscopia de absorção aos compostos orgânicos**. São Paulo - SP: Edgard Blücher, 1969.

ESTADÃO, 2017. <https://paladar.estadao.com.br/noticias/comida,tudo-sobre-tucupi-o-que-e-como-e-feito-como-usar-na-cozinha,70001744844>. Consultado em Janeiro 2021.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Food Outlook Biannual report on global food markets. 2015.

FAOSTAT, 2021. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://faostat.fao.org/>. Consultado em Fevereiro de 2022.

Ferreira, M.M.C. **Quimiometria – Conceitos, Métodos e Aplicações**. Campinas – SP: Editora da Unicamp, 2015.

Ferrer-Gallego, R.; Hernández-Hierro, J.M.; Rivas-Gonzalo, J.C.; Escribano-Bailón, T. Determination of phenolic compounds of grape skins during ripening by NIR spectroscopy. **LWT - Food Science and Technology**, 44 (4), 847-853, 2011.

Freitas, E.L.; Brito, A.C.; de Oliveira, S.A.S.; de Oliveira, E.J. Early diagnosis of cassava frog skin disease in powdered tissue samples using near-infrared spectroscopy. **European Journal of Plant Pathology**, 156 (2), 547-558, 2020.

Fu, H.-Y.; Li, H.-D.; Xu, L.; Yin, Q.-B.; Yang, T.-M.; Ni, C.; Cai, C.B.; Yang, J.; She, Y.-B. Detection of unexpected frauds: Screening and quantification of maleic acid in cassava starch by Fourier transform near-infrared spectroscopy. **Food Chemistry**, 227, 322–328, 2017.

Ghosh, P.K.; Jayas, D.S. Use of spectroscopic data for automation in food processing industry. **Sensing and Instrumentation for Food Quality and Safety**, 3, 3–11, 2009.

Han, Z.; Cai, S.; Zhang, X.; Qian, Q.; Huang, Y.; Dai, F.; Zhang, G. Development of predictive models for total phenolics and free p-coumaric acid contents in barley grain by near-infrared spectroscopy. **Food Chemistry**, 227, 342-348, 2017.

Hibbert, D.B. Vocabulary of concepts and terms in chemometrics (IUPAC Recommendations 2016). **Pure and Applied Chemistry**, 88(4), 407–443, 2016.

IBGE, 2021. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. <http://www.ibge.gov.br/>. Produção Agrícola Municipal. Consultado em Fevereiro de 2022.

IBGE, 2017. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. <http://www.ibge.gov.br/>. Censo Agropecuário. Consultado em Fevereiro de 2022.

Ikeogu, U.N.; Davrieux, F.; Dufour, D.; Ceballos, H.; Egesi1, C.N.; Jannink, J.-L. Rapid analyses of dry matter content and carotenoids in fresh cassava roots using a portable visible and near infrared spectrometer (Vis/NIRS). **PLoS ONE**, 12(12), e0188918, 2017.

Inácio, M.R.C.; Lima, K.M.G.; Lopes, V.G.; Pessoa, J.D.C.; Teixeira, G.H.A. Total anthocyanin content determination in intact açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) and palmiteiro-juçara (*Euterpe edulis* Mart.) fruit using near infrared spectroscopy (NIR) and multivariate calibration. **Food Chemistry**, 136, 1160–1164, 2013.

Iyer, S.; Mattinson, D.S.; Fellman, J.K. Study of the early events leading to cassava root postharvest deterioration. **Tropical Plant Biology**, 3, 151–165, 2010.

Jaramillo, A.M.; Londoño, L.F.; Orozco, J.C.; Patiño, G.; Belalcazar, J.; Davrieux, F.; Talsma, E.F. A comparison study of five different methods to measure carotenoids in biofortified yellow cassava (*Manihot esculenta*). **PLoS ONE**, 13(12), e0209702, 2018.

Joubert, E.; Manley, M.; Botha, M. Use of NIRS for quantification of mangiferin and hesperidin contents of dried green honeybush (*Cyclopia genistoides*) plant material. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 54, 5279-5283, 2006.

Kasemsumran, S.; Keeratinijakal, V.; Thanapase, W.; Ozaki, Y. Near infrared quantitative analysis of total curcuminoids in rhizomes of Curcuma longa by moving window partial least squares regression. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, 18, 263-269, 2010.

Kenkel, J. **Analytical Chemistry for Technicians**. 3rd Edition. Boca Raton: Lewis Press, FL, 2003.

Lebot, V.; Champagne, A.; Malapa, R.; Shiley, D. NIR determination of major constituents in tropical root and tuber crop flours. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 57, 10539–10547, 2009.

Lebot, V.; Malapa, R.; Jung, M. Use of NIRS for the rapid prediction of total N, minerals, sugars and starch in tropical root and tuber crops. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, 41 (3), 144–153, 2013.

Li, S.; Cui, Y.; Zhou, Y.; Luo, Z.; Liu, J.; Zhao, M. The industrial applications of cassava: currentstatus, opportunities and prospects. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 97, 2282–2290, 2017.

Lin M.; Rasco, B.A.; Cavinato, A.G.; Al-Holy, M. Infrared (IR) Spectroscopy—Near-Infrared Spectroscopy and Mid-Infrared Spectroscopy In: Sun, D-W (Ed). **Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control**. Mariland: Academic Press, NY, 2009.

Lu, H.; Guo, L.; Zhang, L.; Xie, C.; Li, W.; Gu, B.; Li, K. Study on quality characteristics of cassava flour and cassava flour short biscuits. **Food Science and Nutrition**, 8, 521-533, 2020.

Luypaert, J.; Massart, D.L.; Vander Heyden, Y. Near-infrared spectroscopy applications in pharmaceutical analysis. **Talanta**, 72, 865-883, 2007.

Mabood, F.; Jabeen, F.; Ahmed, M.; Hussain, J.; Al Mashaykhi, S.A.A.; Al Rubaiey, Z.M.A.; Farooq, S.; Boqué, R.; Ali, L.; Hussain, Z.; Al-Harrasi, A.; Khan, A.L.; Naureen, Z.; Idrees, M.; Manzoor, S. Development of new NIR-spectroscopy method combined with multivariate analysis for detection of adulteration in camel milk with goat milk. **Food Chemistry**, 221, 746-750, 2017.

Machado, F.L.C.; Campos, G.; Souza, M.T.G. Comparação entre os métodos de Lane-Eynon e polarimétrico para determinação de amido em farinha de mandioca. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, 68(1), 155-9, 2009.

Maraphum, K.; Saengprachatanarug, K.; Wongpicheta, S.; Phuphaphud, A.; Posom, J. In-field measurement of starch content of cassava tubers using handheld visnear infrared spectroscopy implemented for breeding programmes. **Computers and Electronics in Agriculture**, 175, 105607, 2020.

Martins, L.M.; Francisconi-dos-Rios, L.F.; Meira, G.F.; Bertocco, V.P.L.; Silva, L.M.; Rebelo, M.A.B. Amazonian delicacy tucupi is as erosive as a cola-based soft drink. **Archives of Oral Biology**, 61, 84–88, 2016.

Massart, D.L.; Vandeginste, B.G.M.; Deming, S.N.; Michotte, Y.; Kaufman, L. **Chemometrics: a textbook**. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Science B.V, 2003.

Meng, W.; Xu, X.; Cheng, K.-K.; Xu, J.; Shen, G.; Wu, Z.; Dong, J. Geographical origin discrimination of Oolong tea (TieGuanYin, *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) using proton nuclear magnetic resonance spectroscopy and near-infrared spectroscopy. **Food Analytical Methods**, 10 (11), 3508-3522, 2017.

Moran, L.; Andres, S.; Allen, P.; Moloney, A.P. Visible and near infrared spectroscopy as an authentication tool: Preliminary investigation of the prediction of the ageing time of beef steaks. **Meat Science**, 142, 52-58, 2018.

Moros, J.; Garrigues, S.; Guardia, M. Vibrational spectroscopy provides a green tool for multi-component analysis. **Trends in Analytical Chemistry**, 29 (7), 578-591, 2010.

Mossoba, M.M.; Azizian, H.; Fardin-Kia, A.R.; Karunathilaka, S.R.; Kramer, J.K.G. First application of newly developed FT-NIR spectroscopic methodology to predict authenticity of extra virgin olive oil retail products in the USA. **Lipids**, 52(5), 443-455, 2017.

Nardecchia, A.; Presutto, R.; Bucci, R.; Marini, F.; Biancolillo, A. Authentication of the geographical origin of “Vallerano” chestnut by near infrared spectroscopy coupled with chemometrics. **Food Analytical Methods**, 13, 1782–1790, 2020.

Nassar, N.M.A.; Hashimoto, D.Y.C.; Fernandes, S.D.C. Wild *Manihot* species: botanical aspects, geographic distribution and economic value. **Genetic and Molecular Research**, 7, 16–28, 2008.

Nescatelli, R.; Carradori, S.; Marini, F.; Caponigro, V.; Bucci, R.; De Monte, C.; Mollica, A.; Mannina, L.; Ceruso, M.; Supuran, C.T.; Secci, D. Geographical characterization by MAE-HPLC and NIR methodologies and carbonic anhydrase inhibition of Saffron components. **Food Chemistry**, 221, 855-863, 2017.

Nicolaï, B.M.; Beullens, K.; Bobelyn, E.; Peirs, A.; Sayes, W.; Theron, K.I.; Lammertyna, J. Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: A review. **Postharvest Biology and Technology**, 46, 99–118, 2007.

Nweke, F. I.; Spencer, D.S.C.; Lynam, J.K. The cassava transformation: Africa’s best-kept secret. East Lansing: Michigan State University Press, 2002.

Odey, G.N.; Lee, W.Y. Evaluation of the quality characteristics of flour and pasta from fermented cassava roots. **International Journal of Food Science and Technology**, 55, 813-822, 2020.

Parmar, A.; Sturm, B.; Hensel, O. Crops that feed the world: Production and improvement of cassava for food, feed, and industrial uses. **Food Security**, 9 (5), 907–927, 2017.

Pasquini, C. Near infrared spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications. **Journal of Brazilian Chemical Society**, 14 (2), 198-219, 2003.

Pires, F.C.S.; Pena, R.S. Optimization of spray drying process parameters for tucupi powder using the response surface methodology. **Journal of Food Science and Technology**, 54(11), 3459–3472, 2017.

Quelal-Vásconez, M.A.; Lerma-García, M.J.; Pérez-Esteve, E.; Arnau-Bonachera, A.; Barat, J.M.; Talens, P. Fast detection of cocoa shell in cocoa powders by near infrared spectroscopy and multivariate analysis. **Food Control**, 99, 68-72, 2019.

Quelal-Vásconez, M.A.; Pérez-Esteve, É.; Arnau-Bonachera, A.; Barat, J.M.; Talens, P. Rapid fraud detection of cocoa powder with carob flour using near infrared spectroscopy, **Food Control**, 92, 183-189, 2018.

Reis, S.F.; Teixeira, T.; Pinto, J.; Oliveira, V.; Lopes, P.; Cabral, M.; Mateus, N.; Guedes, P.; Pinho, P.G.; Pereira, H.; Freitas, V. Variation in the phenolic composition of cork stoppers from different geographical origins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 68, 14970–14977, 2020.

Revilla, I.; Escuredo, O.; González-Martín, M.I.; Palacios, C. Fatty acids and fat-soluble vitamins in ewe's milk predicted by near infrared reflectance spectroscopy. Determination of seasonality. **Food Chemistry**, 214, 468-477, 2017.

Roggo, Y.; Chalus, P.; Maurer, L.; Lema-Martinez, C.; Edmond, A.; Jent, N. A. Review of near infrared spectroscopy and chemometrics in pharmaceutical technologies. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 44, 683–700, 2007.

Ripoll, G.; Lobón, S.; Joy, M. Use of visible and near infrared reflectance spectra to predict lipid peroxidation of light lamb meat and discriminate dam's feeding systems. **Meat Science**, 143, 24–29, 2018.

Romía, M.B.; Bernàrdez, M.A. Multivariate Calibration for Quantitative Analysis in Sun, D.-W. **Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control**. Dublin: Elsevier Science B.V, 2009.

Sala, O. **Fundamentos da espectroscopia Raman e no Infravermelho**. São Paulo: Editora Unesp, 1995.

Samad, S.; Rasulu, H.; Hasbullah & Hasan, S. Chemical properties of high-quality cassava flour (HQCF) from several varieties of cassava. **Pakistan Journal of Nutrition**, 17, 615-621, 2018.

Sánchez, T.; Ceballos, H.; Dufour, D.; Ortiz, D.; Morante, N.; Calle, F.; Zum Felde, T.; Domínguez, M.; Davrieux, F. Prediction of carotenoids, cyanide and dry matter contents in fresh cassava root using NIRS and Hunter color techniques. **Food Chemistry**, 151, 444–451, 2014.

SCOPUS, 2022. <http://www.scopus.com/>. Consultado em Fevereiro de 2022.

Silverstein, R.M.; Webster, F.X.; Kiemle, D.J. **Spectrometric identification of organic compounds**. 7 ed. Danvers – MA: Jonh Wiley & Sons, Inc. 2005.

Skoog, D.A.; West, D.M.; Holler, F.J. **Chimie analytique**. Bruxelles: De Boeck & Larcier s.a., 1997.

Tanaka, K.; Kuba, Y.; Sasaki, T.; Hiwatashi, F.; Komatsu, K. Quantification of curcuminoids in curcuma rhizome by near infrared spectroscopic analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 56, 8787-8792, 2008.

Teixeira dos Santos, C.A.; Páscoa, R.N.M.J.; Saraguça, M.C.; Porto, P.A.L.S.; Cerdeira, A.L.; González-Sáiz, J.M.; Pizarro, C.; Lopes, J.A. Merging vibrational spectroscopic data for wine classification according to the geographic origin. **Food Research International**, 102, 504-510, 2017.

Tivana, L.D.; Francisco, J.C.; Zelder, F.; Bergenståhl, B.; Dejmek, P. Straightforward rapid spectrophotometric quantification of total cyanogenic glycosides in fresh and processed cassava products. **Food Chemistry**, 158, 20–27, 2014.

Toledo-Martin, E.M.; Font, R.; Obregón-Cano, S.; De Haro-Bailón, A.; Villatoro-Pulido, M.; Del Río-Celestino, M. Rapid and cost-effective quantification of glucosinolates and total phenolic content in rocket leaves by visible/near-infrared spectroscopy. **Molecules**, 22(5), 851, 2017.

Tripathi, S.; Patel, K.G.; Bafna, A.M. Nondestructive determination of curcuminoids from turmeric powder using FT-NIR. **Journal of Food Science and Technology**, 47(6), 678–681, 2010.

Vilpoux, O.F.; Sharbel, T.F.; Posso-Terranova, A.; Hoogerheide, E.S.S.; Cereda, M.P. Use of infrared analysis to identify genetic resources from isolated producers in Brazil as a tool to improve cassava competitiveness in the starch market. **International Journal of Food Science and Technology**, 1-8, 2020.

Vollhardt, K.P.C.; Schore, N E. **Química orgânica. Estrutura e função.** Porto Alegre. Bookman, 2004.

Wang, L.; Sun, D.-W.; Pu, H.; Cheng, J.-H. Quality analysis, classification, and authentication of liquid foods by near-infrared spectroscopy: A review of recent research developments. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 57(7), 1524-1538, 2017.

**CAPÍTULO II: FAST AND NON-DESTRUCTIVE DETERMINATION OF
SIMULTANEOUS PHYSICOCHEMICAL PARAMETERS OF *Manihot esculenta*
FLOUR USING FT-NIR SPECTROSCOPY AND MULTIVARIATE ANALYSIS**

Article published in the *International Journal of Food Science and Technology*, 56 (8), 3826-3833, 2021. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14998>

1. SUMMARY

Manihot esculenta flour (MEF) is the main energetic source for a major part of the population in the Amazonian Region. In this study, near infrared spectroscopy (NIRS) was used, for the first time, to predict physicochemical parameters of MEF. The water activity (a_w), ash content, bulk density, moisture content, pH, geometric mean diameter (GMD) and colour parameters of L^* , C_{ab}^* and h_{ab} were determined for 106 samples of MEF. Calibration equations with independent validation were developed to predict all parameters using the partial least square regression method. The performance of models was evaluated by the root mean standard error of calibration ($RMSEC$) and validation ($RMSEV$), and R^2 values. The a_w ($RMSEC = RMSEV = 0.05$), moisture content ($RMSEC = 0.35\%$; $RMSEV = 0.45\%$) and pH ($RMSEC = 0.16$; $RMSEV = 0.18$) could be predicted ($R^2 > 0.727$) by NIRS coupled to multivariate analysis. NIRS and multivariate analysis proved to be a powerful tool to predict multiple physicochemical parameters of MEF.

Keywords: *Cassava* flour; Near Infrared Spectroscopy; Prediction; Chemometrics; Amazonian Region.

2. INTRODUCTION

The genus *Manihot* comprises 98 species, and among them, *M. esculenta* (also called manioc or cassava) is originally from South America and it is the most distributed and cultivated worldwide (Nassar *et al.*, 2008). Nowadays, it is widely distributed in the tropical and subtropical regions of Africa and Asia (Bayoumi *et al.*, 2010). The *M. esculenta* can be cultivated throughout the year, between 30° south and north latitude (Iyer *et al.*, 2010) in a wide range of altitudes and different soils (Bayoumi *et al.*, 2010; Tivana *et al.*, 2014). The main advantages of *M. esculenta* cultivation are its tolerance to drought, capacity to grow in low-fertility and degraded soils, tolerance or resistance for many diseases and pests, and flexibility of harvest periods (Sánchez *et al.*, 2014).

Manihot esculenta is the fifth most important crop in the world after maize, rice, wheat, and potato, concerning production and caloric intake (Parmar *et al.*, 2017; FAOSTAT, 2019). In 2018, 2.78×10^8 t were produced in the world. The greatest producer of *M. esculenta* is Nigeria (5.95×10^7 t), followed by Thailand (3.17×10^7 t), Congo (3.0×10^7 t), Ghana (2.08×10^7 t) and Brazil (1.76×10^7 t). In 2018, these five countries were responsible for 46% of its world production. Brazil accounted for 6.4% of *M. esculenta* world production and it is the highest producer in South America (around 70%) (FAOSTAT, 2019). Around 83% of this production is dominated by family farms. In the Brazilian Amazonian region, especially in Pará State, *M. esculenta* roots are the main energetic source for a significant portion of the population (Chisté *et al.*, 2015). In this region, *M. esculenta* is consumed mainly in its processed form as *M. esculenta* flour (MEF) (Chisté and de Oliveira Cohen, 2011).

The MEF were investigated especially in terms of approximate composition, and the physicochemical parameters already determined in other studies were water activity

(a_w), ash content, bulk density, moisture content, pH, total starch, total sugar and colour parameters of L^* and C^*_{ab} (Chisté *et al.*, 2006, 2015; Dias and Leonel, 2006; Charoenkul *et al.*, 2011; Chisté and de Oliveira Cohen, 2011; Eleazu and Eleazu, 2012; Eleazu *et al.*, 2014; Alamu *et al.*, 2017; Samad *et al.*, 2018; Chisenga *et al.*, 2019; Araújo and Pena, 2020). The particle size distribution was investigated by Araújo and Pena (2020) and Dias & Leonel (2006). However, they did not determine the particle sizes of MEF. Importantly, the majority of these studies used a limited number of samples (around 10–15 samples).

Near infrared spectroscopy (NIRS) exhibits absorption bands related to molecule vibrations (Kenkel, 2003; Ciurczak, 2006; Dufour, 2009; Lin *et al.*, 2009). Organic matter present in samples has different spectral fingerprints in the NIR region as a result of the relatively strong absorptions due to overtones and combination of vibration modes related to several functional groups, such as C–H, N–H and O–H (Roggo *et al.*, 2007). The main advantages of NIRS, concomitantly with multivariate analysis, over classical physicochemical analyses, are: the non-destructive and non-invasive aspect of the analysis, samples can be analysed with little or none sample preparation, not harmful technique for the environment, it can be considered as a low-cost method that produces fast results providing practical real-time answers and allowing more samples to be analysed per unit of time, and it enables simultaneous analysis of multiple components in a single measurement (Luypaert *et al.*, 2007; Moros *et al.*, 2010).

The NIRS coupled to multivariate analysis were already used to determine ash, carotenoids, cellulose, cyanide, dry matter, starch, total sugars and total nitrogen contents in *M. esculenta* roots (Lebot *et al.*, 2009, 2013; Sánchez *et al.*, 2014). However, as far as we know, the application of NIRS to determine the physicochemical parameters of MEF was not yet reported in the literature.

Then, this study proposes, for the first time, to determine the physicochemical parameters of a relative great number of MEF samples (106 samples). Moisture content, pH and ash content, as they are identity and quality parameters for MEF; bulk density, geometric mean diameter and colour parameters, as they are parameters used in product classification; and water activity, as a highly relevant property in the quality control of dry products were the properties evaluated. Furthermore, possible correlations among the physicochemical parameters of MEF was evaluated, as well as the use of Fourier transform near-infrared spectroscopy (FT-NIR) and multivariate analysis to predict rapidly and non-destructively the physicochemical parameters of MEF.

3. MATERIAL AND METHODS

3.1 *Manihot esculenta* flour

One hundred and six (106) samples of MEF (fermented and unfermented MEF) were purchased in local markets from four States of Brazil: Acre (Cruzeiro do Sul), Amazonas (Manaus), Ceará (Fortaleza) and Pará (Belém, Cametá, Marabá, Redenção, Santarém and Tucuruí). For each sample, around 300–600 g of MEF were collected. One part of these samples (100–150 g) were ground into a homogeneous powder and sieved with a mesh of 150 µm. The ground and sieved MEF samples were used for the determination of colour parameters and spectral data. The second part of samples and the ground and sieved MEF were vacuum packed and stored at room temperature (25 ± 2 °C) until physicochemical analyses and spectra acquisition.

3.2 Physicochemical analysis

The methods of the Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1997) were used to determine the ash content (923.03) (%), moisture content (925.10) (%) and pH

(981.12). The water activity (a_w) was determined by direct measurement in a thermo hygrometer (AquaLab 4TEV Decagon, Pullman, WA). The geometric mean diameter (GMD) was calculated using the ASAE method S319.4 (ANSI/ASAE S319.4 FEB2008 (R2012), 2013). Samples were sieved using a vibrating shaker composed of 20 Tyler screens (WS Tyler, USA) from 4 to 170 mesh, during 10 min, at full speed. The bulk density (g/mL) was determined by weighing the mass of a known volume of MEF. The colour parameters were measured using a portable colorimeter (CR-400, Konica Minolta Sensing, Japan) (diffuse illumination: 10°; viewing geometry (specular component included) and light source D65). The values obtained in the CIELAB system were L^* (lightness), the chromatic coordinates a^* (red–green component) and b^* (yellow–blue component). To facilitate the colour interpretation, the L^* , C^*_{ab} and h_{ab} parameters were used in this study (Sant'Anna *et al.*, 2013). All samples were analysed in triplicate.

3.3 Statistical analysis

The results of physicochemical determinations were expressed as mean value \pm standard deviation (mean \pm SD). Analysis of variance (ANOVA), significance (Tukey's test) and correlation (Pearson's test) tests were carried out using STATISTICA 13.5 (TIBCO Software Inc., 2018) for Windows. The variables with a confidence level higher than 95% ($p < 0.05$) were considered as significant.

3.4 Spectral acquisitions

The ground and sieved MEF samples were scanned with a FT-NIR spectrophotometer (Thermo Scientific, Nicolet Antaris II MDS) in diffuse reflectance mode using a fibre optic probe (Thermo Scientific SabIR™ Fiber Optic Probe). All FT-NIR data were collected with the Thermo Scientific RESULT™ software. The spectral range collected

was at 10.000–4.000 cm⁻¹ with resolution at 8 cm⁻¹. Each spectrum corresponds to the average of 64 scans. The analysis was carried out at 23±2 °C, repeated five times in different points of sample and the mean spectra was used.

3.5 Data processing

FT-NIR spectral data were analysed using the software The Unscrambler X (Camo, Trondheim, Norway). The spectral range used for the multivariate analysis was 9.500–4.500 cm⁻¹. Different pre-treatments, as well as the combination among them, were applied to the NIRS spectra: Baseline, Baseline and First Derivative, Baseline and Second Derivative, Detrend, Detrend and First Derivative, Detrend and Second Derivative, First Derivative, First and Second Derivatives, Multiplicative Scatter Correction (MSC), MSC and First Derivative, MSC and Second Derivative, Smoothing, Smoothing and First Derivative, Smoothing and Second Derivative, Standard Normal Variate (SNV), SNV and First Derivative and SNV and Second Derivative. The First and Second Derivatives and Smoothing pre-treatments were carried out using the algorithm of Savitzky–Golay (11 points and second-order filtering). Spectral pre-treatments techniques are used to remove any irrelevant information that cannot be handled properly by the regression techniques and to overcome problems associated with radiation scattering (Moros *et al.*, 2010).

3.6 Multivariate statistical analysis

The partial least square (PLS) regression method was applied to correlate the physicochemical parameters measured with the NIRS spectra, with and without pre-treatment. The performance of the calibration models was validated by means of independent validation and the samples were separated into two sets: calibration and

validation sets. For the validation set ($n = 26$), each fourth sample was selected from a list of descending reference values. The remaining three-fourth of the sample set, including the lowest and highest values, comprised the calibration set ($n = 80$) (Joubert *et al.*, 2006). The statistical parameters used to evaluate model performances include the root mean of standard error of calibration ($RMSEC$), the determination coefficient for calibration (R^2_{CAL}), the root mean standard error of validation ($RMSEV$) and the determination coefficient for validation (R^2_{VAL}). The RPD (ratio of prediction to deviation) value, corresponding to the ratio of the SD (standard deviation) of prediction set to the $RMSEV$, was also calculated.

4. RESULTS AND DISCUSSION

4.1 Physicochemical determinations

Table 2 presents the results of the physicochemical determinations (a_w , ash content, bulk density, moisture content, pH, geometric mean diameter and the colour parameters of L^* , C_{ab}^* and h_{ab}) of the MEF investigated in this study.

Table 2 – Results of the physicochemical parameters of *Manihot esculenta* flour. Results are presented as mean value \pm standard deviation followed by range values (minimum–maximum values).

Parameter	<i>Manihot esculenta</i> flour
a_w	0.415 \pm 0.111 (0.210–0.734)
Ash content (%)	0.749 \pm 0.259 (0.198–1.473)
Bulk density (g/mL)	0.659 \pm 0.081 (0.370–0.832)
Moisture content (%)	9.75 \pm 0.99 (7.24–13.64)
pH	4.71 \pm 0.44 (3.93–6.66)
GMD (μm)	1,074.0 \pm 481.1 (336.3–2,593.3)
L^*	85.93 \pm 3.25 (75.93–92.49)
C_{ab}^*	28.05 \pm 12.87 (13.13–62.04)
h_{ab}	91.21 \pm 3.96 (80.72–101.85)

a_w : water activity; GMD: geometric mean diameter; L^* : Colour parameters of luminosity;

C_{ab}^* : Colour parameters of chroma; h_{ab} : Colour parameters of hue angle.

The MEF presented low a_w values due to the high temperature (> 150 °C) and time (> 15 min) during the roasting process. Food products with a_w values below 0.600 are considered microbiologically stable, and the values found in our study are in accordance with data reported in the literature for MEF (0.31 – 0.61) (Chisté *et al.*, 2015; Chisté *et al.*, 2006).

Ash contents are indicators of mineral contents (Marshall, 2010) and it is used as a quality parameter of flour by food industries (Chisenga *et al.*, 2019). In our study, the ash contents were in accordance with the values reported for MEF from Brazil (0.48 – 1.12%) (Araújo and Pena, 2020; Chisté *et al.*, 2015; Chisté *et al.*, 2006; and Dias and Leonel, 2006) and Nigeria (0.77 – 1.43%) (Alamu *et al.*, 2017); however, they were lower than those found for MEF from Zambia (1.16 – 1.78%) (Chisenga *et al.*, 2019) and Thailand (1.50 – 2.34%) (Charoenkul *et al.*, 2011). These differences could be explained due to the different *M. esculenta* varieties used in MEF production.

The bulk density of flour is the density measured without the influence of any compression. It is an important physical property of pre-processed flour because it plays a meaningful role in storage, transportation and marketing (Barbosa-Cánovas and Yan, 2019). Eleazu *et al.* (2014) found values of bulk density in the same range that the ones found in our study (0.59 – 0.68 g/mL).

The moisture content is by far the most investigated physicochemical parameter in MEF studies. Despite the fact that moisture content is largely investigated in samples of MEF, it was difficult to directly compare our results with those obtained by other studies due differences in the methodologies. Most of authors used 105 °C (Chisenga *et al.*, 2019; Chisté *et al.*, 2006; Dias and Leonel, 2006) or did not specify the AOAC methodology used (Araújo and Pena, 2020; Chisté *et al.*, 2015; Chisté and de Oliveira

Cohen, 2011; Eleazu and Eleazu, 2012; Eleazu *et al.*, 2014; Samad *et al.*, 2018). In this study, the temperature used for the determination of moisture contents was 130 °C as suggested by AOAC methodology for flour (AOAC, 1997).

The pH of a flour suspension can affect some functional properties, such as solubility, emulsifying activity and foaming properties (Eleazu *et al.*, 2014). Our results were in accordance with Eleazu *et al.* (2014) (4.75 – 5.23) and Dias and Leonel (2006) (4.16 – 6.10).

Dias and Leonel (2006) have previously reported that, in general, fermented MEF presents higher granulometry than unfermented MEF. However, their study did not present the particle sizes values. As far as we know, this is the first study focusing on the determination of the GMD of MEF.

The colour parameters measured for MEF were L^* , C_{ab}^* and h_{ab} . Dias and Leonel (2006) reported average L^* values (78.43 – 93.00) in the same range that the values obtained in this study. Importantly, Dias and Leonel (2006) investigated a small number of samples (40 samples in total). The colour parameter C_{ab}^* could not be compared with the results obtained by Chisenga *et al.* (2019) since these authors used the Hunter Lab Colour space. All samples presented a yellowish coloration ($h_{ab} \approx 90^\circ$) due to the presence of carotenoids in cassava roots (Sant'Anna *et al.*, 2013). In some cases, this yellowish colour is improved with the addition of synthetic dyes (de OLIVEIRA *et al.*, 2019).

The variations observed in the major part of the evaluated parameters are acceptable. It depends on the degree of root maturation, sun exposure time and other climatic conditions, agricultural practices, age of plant, temperature, different growth

periods, geographic locations, genetic diversity and many other factors (Fasuyi and Aletor, 2005). Furthermore, most part of MEF producers did not use a standardization in MEF production.

To identify the physicochemical parameters that could eventually be correlated among themselves, the Pearson correlation test was applied. The values of the correlation coefficient of Pearson (r) were presented in Table 3. The physicochemical parameters that presented a positive correlation ($p < 0.05$) were: a_w and ash content, a_w and bulk density, a_w and moisture content, ash and moisture contents, ash content and pH, L^* and h_{ab} and C_{ab}^* and h_{ab} . On the other hand, negative correlations were observed for ash content and L^* , bulk density and GMD, GMD and L^* and L^* and C_{ab}^* . The correlation between a_w and moisture content presented the highest value of r ($r = 0.878$), which was expected because low values of a_w are usually reported at low values of moisture contents. Another correlation worth of mentioning is GMD and bulk density: high values of GMD are normally associated with low values of bulk density (Gliński *et al.*, 2011).

Table 3 – Correlation coefficient of Pearson for *Manihot esculenta* flour ($n = 106$ samples).

	a_w	Ash	Bulk Density	Moisture	pH	GMD	L^*	C_{ab}^*
a_w	-	-	-	-	-	-	-	-
Ash	0.205*	-	-	-	-	-	-	-
Bulk Density	0.202*	0.114 ^{NS}	-	-	-	-	-	-
Moisture	0.878*	0.222*	0.082	-	-	-	-	-
pH	-0.037	0.299*	-0.016	0.048	-	-	-	-
GMD	0.043	0.028	-0.302*	0.073	-0.127	-	-	-
L^*	-0.125	-0.240*	0.114	-0.152	-0.018	-0.420*	-	-
C_{ab}^*	-0.045	-0.054	0.036	-0.127	-0.153	0.060	-0.259*	-
h_{ab}^*	-0.183	-0.099	-0.017	-0.176	0.022	-0.048	0.239*	0.618*

a_w : water activity; GMD: geometric mean diameter; L^* : Colour parameters of luminosity; C_{ab}^* : Colour parameters of chroma; h_{ab} : Colour parameters of hue angle; *Pearson's correlation coefficient significant at $p < 0.05$.

4.2 Spectral data of *Manihot esculenta* flour

Figure 8 presents the average NIR spectrum obtained for the MEF investigated in this study. Absorption bands were observed in the regions around 4,100–4,400 cm⁻¹ (combination C-H stretch/C-C stretch and C-O-C stretch, combination C-H stretch/C-C stretch, C-H bend 2nd overtone, combination C-H stretch/CH₂ deformation, combination O-H/C-C stretch); 4,680 cm⁻¹ (combination C-H stretch/C=O stretch and C-H deformation); 4,900 cm⁻¹ (2nd overtone of primary amide); 5,100–5,260 cm⁻¹ (O-H stretch and O-H deformation, associated with water); 5,460–6,160 cm⁻¹ (aromatic C-H stretch 1st overtone); 6,670 cm⁻¹, 7,050 cm⁻¹ and 7,440 cm⁻¹ (O-H stretch 1st overtone) and 8,460–8,670 cm⁻¹ (C-H stretch 2nd overtone) (Workman Jr. and Weyer, 2012).

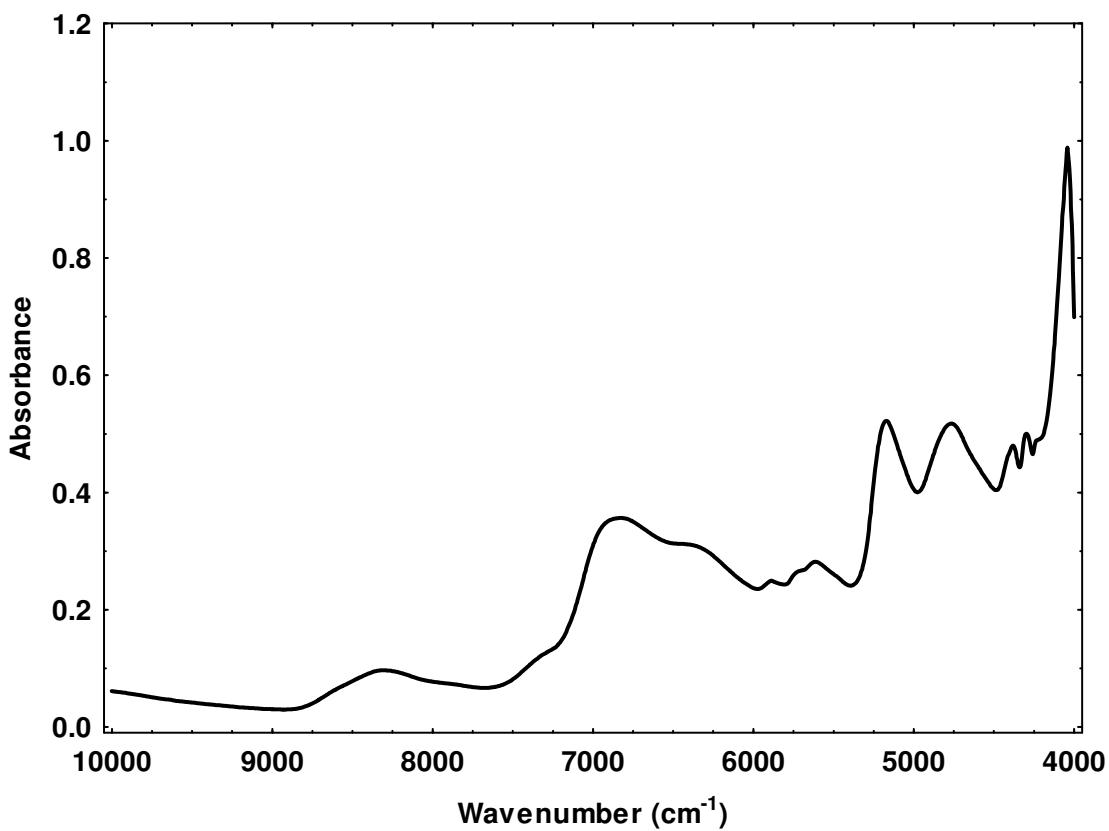


Figure 8 – Near infrared raw spectra of *Manihot esculenta* flour.

4.3 Prediction of physicochemical parameters of *Manihot esculenta* flour

To correlate the physicochemical parameters of MEF with NIR spectra, the database was divided in calibration and validation sets. Table 4 presents the number of samples, average, standard deviation and range values for the calibration and validation sets. It is possible to observe that a_w (~3.5 fold), ash content (~7.4 fold), GMD (~7.7 fold) and C_{ab}^* (~4.7 fold) presented the greatest variabilities for the MEF investigated. On the other hand, the lowest variations in the physicochemical parameters of MEF were observed for bulk density (~2.2 fold), moisture content (~1.9 fold), pH (~1.7 fold), L^* (~1.2 fold) and h_{ab} (~1.3 fold) values. According to Blanco Romía and Alcalà Bernàrdez

(2009), the calibration set should ideally encompass all possible sources of variability in the samples to be subsequently predicted.

Table 4 – Characteristics of the database used for the prediction model of the physicochemical parameters of *Manihot esculenta* flour using Fourier transform near infrared spectroscopy.

Parameter	Calibration set				Validation set			
	n	Average	Standard deviation	Range	n	Average	Standard deviation	Range
<i>aw</i>	80	0.417	0.113	0.210–0.734	26	0.411	0.104	0.218–0.603
Ash content (%)	80	0.751	0.263	0.198–1.473	26	0.741	0.240	0.388–1.370
Bulk density (g/mL)	80	0.659	0.082	0.370–0.832	26	0.658	0.077	0.389–0.782
Moisture content (%)	80	9.76	1.02	7.24–13.64	26	9.72	0.88	8.00–11.81
pH	80	4.72	0.46	3.93–6.66	26	4.69	0.39	4.03–5.74
GMD (μm)	80	1079.7	490.6	336.3–2593.3	26	1056.6	440.2	497.0–2148.7
<i>L</i> *	80	85.99	3.21	75.93–92.49	26	85.75	3.30	76.08–91.54
<i>C_{ab}</i> *	80	28.23	12.99	13.13–62.04	26	27.48	12.25	13.79–56.04
<i>h_{ab}</i>	80	91.28	4.01	80.72–101.85	26	91.02	3.72	84.06–99.35

n: Number of samples; *aw*: water activity; GMD: geometric mean diameter; *L**: Colour parameters of luminosity; *C_{ab}**: Colour parameters of chroma; *h_{ab}*: Colour parameters of hue angle.

Table 5 presents the values of *R*², RMSEC and RMSEP, relative to the calibration and validation performance parameters, as well as the RPD values and the number of factors used in each model developed to predict the physicochemical parameters of MEF. The results were presented for calibration and validation data without pre-treatment and with the pre-treatment that obtained the best performance.

The *R*² values ranged from 0.002 (*C_{ab}** without pre-treatment) to 0.884 (moisture content with MSC and first derivative pre-treatment) for the calibration set and from 0.119 (*C_{ab}** with baseline and second derivative pre-treatment) to 0.821 (GMD without pre-treatment). An unusual result was observed for the *R*² values relative to ash content, GMD and for the *L** and *h_{ab}*. Normally, *R*² values for validation are lower than *R*² values

for calibration sets. However, for these parameters, it was observed the contrary that could be due to the use of independents samples in the validation set.

Table 5 – Prediction of the physicochemical parameters of *Manihot esculenta* flour using Fourier transform near infrared spectroscopy and multivariate analysis.

Parameter	Pretreatment	Calibration		Validation		RPD	PLS factors
		R ²	RMSEC	R ²	RMSEV		
<i>aw</i>	Raw spectra	0.776	0.05	0.663	0.06	1.67	8
	First derivative	0.825	0.05	0.727	0.05	1.90	7
Ash content (%)	Raw spectra	0.521	0.18	0.546	0.16	1.57	6
	Detrend	0.686	0.15	0.588	0.15	1.65	10
Bulk density (g/mL)	Raw spectra	0.557	0.05	0.430	0.06	1.57	7
	MSC	0.548	0.05	0.435	0.06	1.31	6
Moisture content (%)	Raw spectra	0.867	0.37	0.641	0.53	1.59	10
	MSC and First derivative	0.884	0.35	0.739	0.45	1.92	6
pH	Raw spectra	0.381	0.36	0.275	0.33	1.08	7
	Detrend and First derivative	0.879	0.16	0.777	0.18	2.08	10
GMD (μm)	Raw spectra	0.474	356.0	0.821	186.7	2.42	4
	MSC and First derivative	0.604	308.7	0.760	216.1	2.14	6
<i>L</i> *	Raw spectra	0.370	2.54	0.396	2.57	1.04	6
	First and second derivatives	0.838	1.29	0.127	3.09	1.05	7
<i>C_{ab}</i> *	Raw spectra	0.002	12.97	-	12.39	0.90	1
	Baseline and second derivative	0.783	6.04	0.119	11.52	1.05	7
<i>h_{ab}</i>	Raw spectra	0.033	3.94	0.133	3.47	1.13	1
	SNV	0.336	3.27	0.346	3.01	1.21	6

aw: water activity; GMD: geometric mean diameter; *L**: Colour parameters of luminosity; *C_{ab}**: Colour parameters of chroma; *h_{ab}*: Colour parameters of hue angle; R²: coefficient of multiple determination; RMSEC: root mean standard error of calibration; RMSEV: root mean standard error of validation; RPD: ratio of prediction to deviation; PLS: Partial Least Square; MSC: multiplicative scatter correction; SNV: Standard Normal Variate.

The pre-treatments applied to the spectral data improved the values of R² for calibration (except for bulk density) and prediction (except for GMD and *L**). Moreover, a general improvement was observed for RMSEC, RMSEV and RPD values when pre-treatments were applied. For the RMSEC, just *aw* and bulk density did not

present any variation when pre-treatments was applied. For the *RMSEP* and *RPD*, the values observed for GMD and L^* were better without pre-treatment. In accordance with Nicolaï *et al.* (2007), almost all physicochemical parameters investigated in this study could be discriminated at low or high concentration and/or quantified by FT-NIR means. The best results were observed for a_w , moisture content, pH and GMD, while the worst results were observed to colour parameters, bulk density and ash content. Figure 9 presents the predicted a_w , moisture content and pH with those obtained by the reference method.

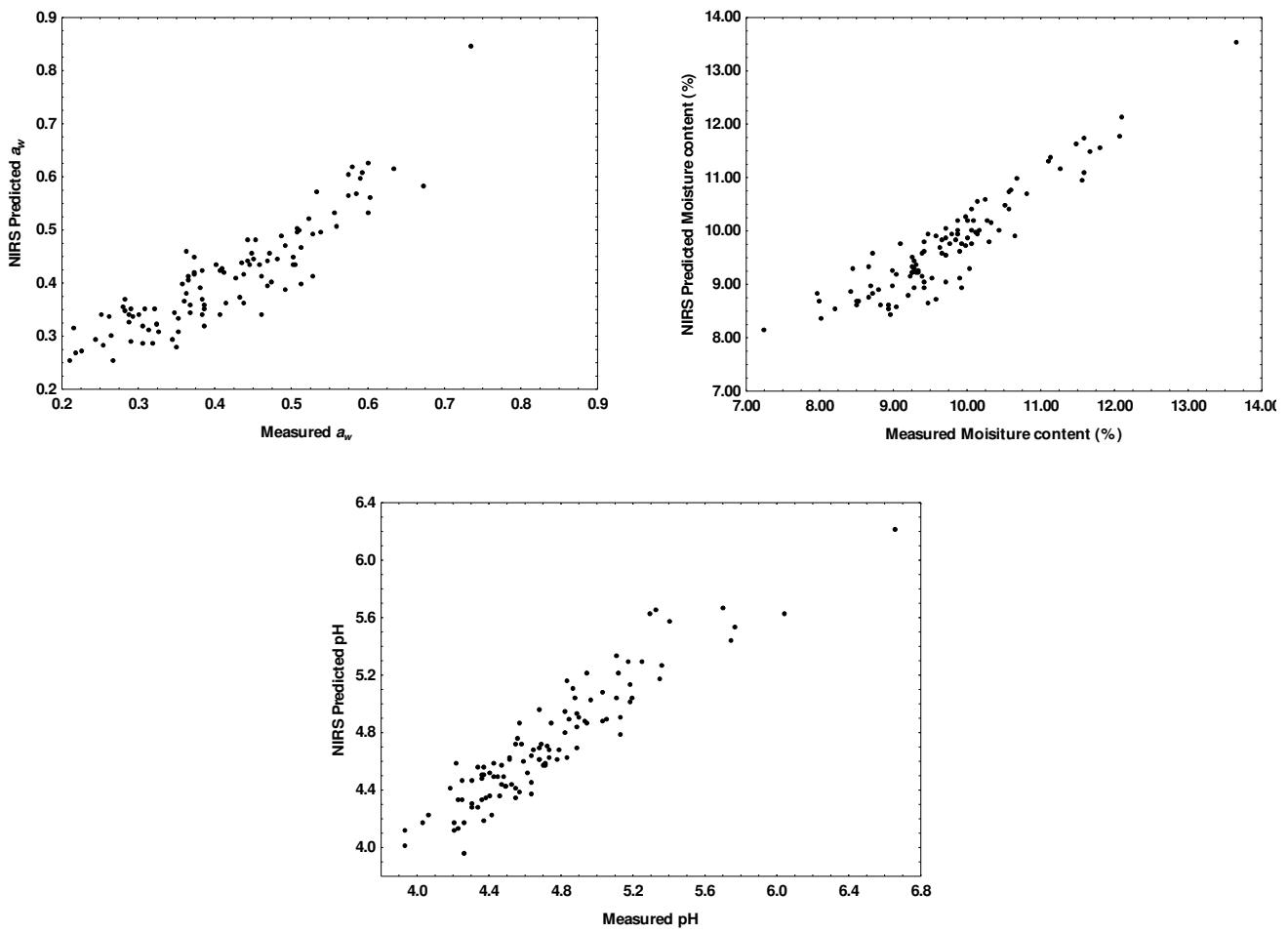


Figure 9 – Predicted values of a_w (a), moisture content (b) and pH (c) from *Manihot esculenta* flour using Fourier transform near infrared spectroscopy.

According to the literature, NIRS were already used to predict ashes in *M. esculenta* roots, and the results were better than those found in our study ($R^2_{CAL} = 0.85$; $R^2_{PRED} = 0.90$; $RPD = 2.00$) (Lebot *et al.*, 2009). However, to the best of our knowledge, this is the first study that used NIRS to predict these multiple physicochemical parameters of MEF.

5. CONCLUSIONS

For the first time, the use of FT-NIR and multivariate analysis were applied to predict nine physicochemical parameters of *M. esculenta* flour. Positive (a_w with ash content, bulk density and moisture content; ash content with moisture content and pH; h_{ab} with L^* and C^*_{ab}) and negative (L^* with ash content, GMD and C^*_{ab} ; bulk density with GMD) correlations were observed. Prediction models using NIRS coupled to multivariate analysis could be developed for a_w , moisture content and pH, while they were not feasible for colour parameters, bulk density and ash content. The NIRS Data available on request from the authors coupled to multivariate analysis proved be a rapid, inexpensive, and reliable analytical method in the industry of *Manihot esculenta* flour.

6. ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to the *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico* (CNPq) (Project: 407764/2013-5) for the financial support received to carry out this work. The authors would also like to thank Prof. Hervé Rogez for the use of CVACBA laboratories and Prof. Christelle Herman by the suggestions and corrections in this manuscript.

7. REFERENCES

- Alamu, E.O., Maziya-Dixon, B. & Dixon, A.G. (2017). Evaluation of proximate composition and pasting properties of high quality cassava flour (HQCF) from cassava genotypes (*Manihot esculenta* Crantz) of β -carotene-enriched roots. *LWT - Food Science and Technology*, **86**, 501-506.
- ANSI/ASAE S319.4 FEB2008 (R2012). (2013). Method of Determining and Expressing Fineness of Feed Materials by Sieving. *American Society of Agricultural Engineers Standards*.
- AOAC. (1997). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists (method 945.46). In: *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*.
- Araújo, A.L. & Pena, R.S. (2020). Effect of particle size and temperature on the hygroscopic behaviour of cassava flour from dry group and storage time estimation. *CYTA - Journal of Food*, **18**, 178-176.
- Assouline, S. (2011). Bulk density of Soils and Impact on Their Hydraulic Proprieties. In: *Encyclopedia of Agrophysics* (Edited by Glinski, J.; Horabik, J.; Lipiec, J.). Pp 95-100. Dordrecht, The Netherlands: Springer.
- Barbosa-Cánovas, G.V., Ortega-Rivas, É., Juliano, P. & Yan, H. (2005). Bulk density. Food Powders: Physical Properties, Processing and Functionality. Pp. 55-90. Boston, MA: Springer.
- Bayoumi, S.A.L., Rowan, M.G., Beeching, J.R. & Blagbrough, I.S. (2010). Constituents and secondary metabolite natural products in fresh and deteriorated cassava roots.

Phytochemistry, **71**, 598-604.

Blanco Romía, M. & Alcalà Bernàrdez, M. (2009). Multivariate Calibration for Quantitative Analysis. In: *Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control* (Edited by Da-Wen Sun). Pp. 51-82. Burlington, USA: Academic Press.

Charoenkul, N., Uttapap, D., Pathipanawat, W. & Takeda, Y. (2011). Physicochemical characteristics of starches and flours from cassava varieties having different cooked root textures. *LWT - Food Science and Technology*, **44**, 1774-1781.

Chisenga, S.M., Workneh, T.S., Bultosa, G. & Laing, M. (2019). Proximate composition, cyanide contents, and particle size distribution of cassava flour from cassava varieties in Zambia. *AIMS Agriculture and Food*, **4**, 869-891.

Chisté, R.C. & Cohen, K.O. (2011). Influence of fermentation on the quality of fermented cassava flour. *Acta Amazonica*, **41**, 279-284.

Chisté, R.C., Cardoso, J.M., Silva, D.A., Pena, R.S., Chisté, R.C., Cardoso, J.M., Silva, D.A. & Pena, R.S. (2015). Hygroscopic behaviour of cassava flour from dry and water groups. *Ciência Rural*, **45**, 1515–1521.

Chisté, R.C., Cohen, K.O., Mathias, E.A. & Ramoa Jr., A.G.A. (2006). Quality of cassava flour from a dry group. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*, **26**, 861-864.

Ciurczak, E.W. (2006). Near-infrared spectroscopy. In: *Comprehensive Analytical Chemistry* (Edited by S. Ahuja, N. Jespersen). Pp. 157-176.

Dias, L.T. & Leonel, M. (2006). Phisico-chemical characteristics of cassava flours from different regions of Brazil. *Ciência e Agrotecnologia*, **30**, 692-700.

Dufour, É. (2009). Principles of Infrared Spectroscopy. In: *Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control* (Edited by Da-Wen Sun). Pp. 1-27. Burlington, USA: Academic Press.

Eleazu, C.O. & Eleazu, K.C. (2012). Determination of the Proximate Composition, Total Carotenoid, Reducing Sugars and Residual Cyanide Levels of Flours of 6 New Yellow and White Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Varieties. *American Journal of Food Technology*, **7**, 642-649.

Eleazu, O.C., Eleazu, K.C. & Kolawole, S. (2014). Use of indigenous technology for the production of high quality cassava flour with similar food qualities as wheat flour. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*, **13**, 249-256.

FAOSTAT. (2019). *Statistics of the Food and Agriculture Organization of the United Nations. Food and Agriculture Organization of the United Nations.* <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Acessed 29/01/2021.

Fasuyyl, A.O. & Aletor, V.A. (2005). Varietal composition and Functional Properties of Cassava (*Manihot esculenta*, Crantz) Leaf Meal and Leaf Protein Concentrates. *Pakistan Journal of Nutrition*, **4**, 43-49.

Iyer, S., Mattinson, D.S. & Fellman, J.K. (2010). Study of the early events leading to cassava root postharvest deterioration. *Tropical Plant Biology*, **3**, 151-165.

Joubert, E., Manley, M. & Botha, M. (2006). Use of NIRS for quantification of mangiferin and hesperidin contents of dried green honeybush (*Cyclopia genistoides*) plant material. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**, 5279-5283.

Kenkel, J. (2003). *Analytical Chemistry for Technicians Third Edition. FEBS Letters*.

Boca Raton, USA: Lewis Press.

Lebot, V., Champagne, A., Malapa, R. & Shiley, D. (2009). NIR determination of major constituents in tropical root and tuber crop flours. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **57**, 10539-10547.

Lebot, V., Malapa, R. & Jung, M. (2013). Use of NIRS for the rapid prediction of total N, minerals, sugars and starch in tropical root and tuber crops. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, **41**, 144-153.

Lin, M., Rasco, B.A., Cavinato, A.G. & Al-Holy, M. (2009). Infrared (IR) Spectroscopy-Near-Infrared Spectroscopy and Mid-Infrared Spectroscopy. In: *Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control* (Edited by Da-Wen Sun). Pp. 119-143. Burlington, USA: Academic Press.

Luypaert, J., Massart, D.L. & Heyden, Y. Vander. (2007). Near-infrared spectroscopy applications in pharmaceutical analysis. *Talanta*, **72**, 865-883.

Marshall, M.R. (2010). Ash analysis. In: *Food Analysis* (Edited by Nielsen, S.S.). Pp 105-115. Boston, MA: Springer.

Moros, J., Garrigues, S. & Guardia, M. (2010). Vibrational spectroscopy provides a green tool for multi-component analysis. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, **29**, 578-591.

Nassar, N.M.A., Hashimoto, D.Y.C. & Fernandes, S.D.C. (2008). Wild Manihot species: Botanical aspects, geographic distribution and economic value. *Genetics and Molecular Research*, **7**, 16-28.

Nicolaï, B.M., Beullens, K., Bobelyn, E., Peirs, A., Saeys, W., Theron, K.I. & Lammertyn, J. (2007). Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: A review. *Postharvest Biology and Technology*, **46**, 99-118.

Oliveira, O.S., Brito, V.H.S. & Cereda, M.P. (2019). Establishing a standard for handmade Brazilian cassava flour from Baixada Cuiabana (Mato Grosso, Brazil) to support its processing and sale. *Food Science and Technology*, **39**, 559-566.

Parmar, A., Sturm, B. & Hensel, O. (2017). Crops that feed the world: Production and improvement of cassava for food, feed, and industrial uses. *Food Security*, **9**, 907-927.

Roggo, Y., Chalus, P., Maurer, L., Lema-Martinez, C., Edmond, A. & Jent, N. (2007). A review of near infrared spectroscopy and chemometrics in pharmaceutical technologies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **44**, 683-700.

Samad, S., Rasulu, H., Hasbullah & Hasan, S. (2018). Chemical properties of high-quality cassava flour (HQCF) from several varieties of cassava. *Pakistan Journal of Nutrition*, **17**, 615-621.

Sánchez, T., Ceballos, H., Dufour, D., Ortiz, D., Morante, N., Calle, F., Felde, T., Zum, Domínguez, M. & Davrieux, F. (2014). Prediction of carotenoids, cyanide and dry matter contents in fresh cassava root using NIRS and Hunter color techniques. *Food Chemistry*, **151**, 444-451.

Sant'Anna, V., Gurak, P.D., Ferreira Marczak, L.D. & Tessaro, I.C. (2013). Tracking bioactive compounds with colour changes in foods - A review. *Dyes and Pigments*,

98, 601-608.

Tivana, L.D., Cruz Francisco, J., Zelder, F., Bergenståhl, B. & Dejmek, P. (2014).

Straightforward rapid spectrophotometric quantification of total cyanogenic glycosides in fresh and processed cassava products. *Food Chemistry*, **158**, 20-27.

Workman Jr., J. & Weyer, L. (2012). *Practical Guide and Spectral Atlas for Interpretive Near-Infrared Spectroscopy*. Florida, USA: CRC Press.

CAPÍTULO III: DISCRIMINATION OF FERMENTED AND UNFERMENTED

***Manihot esculenta* FLOUR USING FT-NIR SPECTROSCOPY AND LINEAR DISCRIMINANT ANALYSIS**

Manuscript submitted to Molecules

1. ABSTRACT

In the Brazilian Amazonian region, *Manihot esculenta* roots are consumed majority in a processed form as *M. esculenta* flour or simply *cassava* flour (CF). CF can be classified in fermented or unfermented CF. In this study, the feasibility of Fourier Transform Near Infrared Spectroscopy (FT-NIRS) coupled to Principal Component Analysis–Linear Discriminant Analysis (PCA-LDA) was used to investigate for the first time the classification of fermented and unfermented CF. One hundred six samples of fermented ($n = 49$) and unfermented ($n = 57$) CF were analyzed. CF samples were randomly separated in training (75% of samples) and validation (25% of samples) sets. The results of nine physicochemical properties and NIR spectra ranges obtained for the CF were tested separately to verify the best results for their discriminations. The use of NIR spectra allows to obtain better performance parameters (training accuracy: 86.3–93.8%; validation accuracy: 84.6–96.2%) to discriminate fermented and unfermented CF than the use of the physicochemical properties (training accuracy: 80%; validation accuracy: 84.6%).

Keywords: *Cassava* flour; Fourier Transform – Near Infrared Spectroscopy; Classification; Chemometric Analysis; Amazonian Region.

2. INTRODUCTION

Manihot esculenta Crantz is the fifth most important crop in the world concerning production. In 2018, the world production of this culture was 2.78×10^8 t. Brazil is the fifth highest producer of *M. esculenta* in the world (1.76×10^7 t) and it is the first in South America. In 2018, Brazil was responsible for around 6.4% and 70% of world and South America production, respectively (FAO 2015; FAOSTAT 2018). At regional level, the North Region of Brazil produced 35.2% of Brazilian *M. esculenta* production. In this Region the highlight is the Pará State, the greatest Brazilian producer of *M. esculenta* (3.71×10^6 t) (IBGE 2019).

In the Brazilian Amazonian region, especially in Pará State, *M. esculenta* roots are consumed majority in a processed form as *M. esculenta* flour or simply *cassava* flour (CF) (Chisté et al. 2015). CF is the main energetic source for a significant portion of the population, in this region. The CF can be classified in two groups: fermented CF group and unfermented CF group. To produce the fermented CF, a fermentation step of *M. esculenta* roots is performed. This step provides a peculiar acid taste to the fermented CF that is reported as its main attractive (Chisté and Cohen 2011).

Near infrared spectroscopy (NIRS) coupled to Principal Component Analysis-Linear Discriminant Analysis (PCA-LDA) has been used to discriminate paprika powder (Monago-Maraña et al. 2021); to classify intact soybean (Leite et al. 2020); to discriminate commercial durum wheat (De Girolamo et al. 2020); to discriminate the origin of sesame oils (Liu et al. 2019); to differentiate durum wheat samples highly contaminated with ochratoxin A from low contaminated ones (De Girolamo et al. 2019); to discriminate normal and mildewed chestnuts (Hu et al. 2017); to discriminate nectarines (Cortés et al. 2017); and to discriminate the origin of different wheat samples (Wadood et al. 2019; Zhao et al. 2013).

The NIRS was already used to determine physicochemical properties in *M. esculenta* roots (Lebot et al. 2013; Lebot et al. 2009; Sánchez et al. 2014) and *M. esculenta* flour (Pompeu et al. 2021). However, as far as we know, there are no published studies using NIRS and PCA-LDA to discriminate CF. Therefore, this study proposes, for the first time, the use of the Fourier Transform NIRS and supervised chemometric analysis by PCA-LDA to discriminate the fermented and unfermented CF. For this purpose, different NIR spectral ranges ($10,000\text{--}4,000\text{ cm}^{-1}$; $10,000\text{--}8,000\text{ cm}^{-1}$; $8,000\text{--}6,500\text{ cm}^{-1}$; $6,500\text{--}5,000\text{ cm}^{-1}$; $5,000\text{--}4,000\text{ cm}^{-1}$) and different pre-treatments to NIR spectral data were employed. Furthermore, the performance parameters of classification obtained using results from physicochemical analysis were compared to those obtained from spectral data.

3. MATERIAL AND METHODS

3.1 Cassava flour

One hundred and six (106) samples of CF – forty-nine (49) samples of fermented CF and fifty-seven (57) samples of unfermented CF – were purchased in local markets from four states of Brazil: Acre (Cruzeiro do Sul), Amazonas (Manaus), Ceará (Fortaleza) and Pará (Belém, Cametá, Marabá, Redenção, Santarém and Tucuruí). For each sample, 300 to 600 g of CF were collected. One part of these samples (100–150 g) were ground into a homogeneous powder. This powder was sieved with a mesh of 150 µm. The ground and sieved CF were used for the determination of chromatic parameters and spectral data. The second part of samples and the ground and sieved CF were vacuum packed and stored at room temperature ($25\text{--}27\text{ }^{\circ}\text{C}$) until the realization of the physicochemical determinations and spectra acquisition.

3.2 Physicochemical analysis

The methods of the Association of Official Analytical Chemists (AOAC 1997) were employed to determine the ash content (923.03) (%), moisture content (925.10) (%) and pH (981.12) of fermented and unfermented CF samples. The water activity (a_w) was determined by direct measurement in a thermo hygrometer (AquaLab 4TEV Decagon, Pullman, WA). The geometric mean diameter (GMD) was calculated using the ASAE method S319.4 (ANSI/ASAE S319.4 FEB2008 (R2012) 2013). For this, samples were sieved using a vibrating shaker composed of 20 Tyler screens (WS Tyler, USA) from 4 to 170 mesh, during 10 min, at full speed. The bulk density (g/mL) was determined by weighting the mass of a known volume of CF. The chromatic parameters were measured using a colorimeter (CR-400, Konica Minolta Sensing, Japan) (diffuse illumination: 10°; viewing geometry (specular component included) and light source D65). The values obtained in the CIELAB system were L^* (lightness), the chromatic coordinates a^* (red–green component) and b^* (yellow–blue component). To facilitate the color interpretation the L^* , C_{ab}^* (chroma) and h_{ab} (hue angle) system was used in this study (Sant'Anna et al. 2013). All samples were analyzed in triplicate.

3.3 Spectral acquisitions

The ground and sieved CF were scanned with a Fourier Transform near infrared (FT-NIR) spectrometer (Thermo Scientific, Nicolet Antaris II MDS) in diffuse reflectance mode using a fiber optic probe (Thermo Scientific SabIR™ Fiber Optic Probe). All FT-NIR data were collected with the Thermo Scientific RESULT™ software. The spectral range collected was 10,000–4,000 cm^{-1} with a resolution of at 8 cm^{-1} . Each spectrum corresponds to the average of 64 scans. The analysis was repeated five times for each sample and it was used the mean spectra. The measurements were carried out at 23 ± 2 °C.

3.4 Data processing

The mean of NIR spectra obtained for each sample was used for data analysis. NIR spectral data were analyzed using the software Unscrambler XI (Camo, Trondheim, Norway). Five spectral ranges were tested for the classification analysis: 10,000–4,000 cm⁻¹; 10,000–8,000 cm⁻¹; 8,000–6,500 cm⁻¹; 6,500–5,000 cm⁻¹; and 5,000–4,000 cm⁻¹. Different pretreatments, as well as the combination between them, were applied to the NIR spectra as follow: Baseline, Baseline and First Derivative, Baseline and Second Derivative, Detrend, Detrend and First Derivative, Detrend and Second Derivative, First Derivative, First and Second Derivatives, Multiplicative Scatter Correction (MSC), MSC and First Derivative, MSC and Second Derivative, Normalization, Normalization and First Derivative, Normalization and Second Derivative, Second Derivative, Smoothing, Smoothing and First Derivative, Smoothing and Second Derivative, Standard Normal Variate (SNV), SNV and First Derivative, and SNV and Second Derivative. The First and Second Derivatives and Smoothing pretreatments were performed using the algorithm of Savitzky–Golay (11 points and second-order filtering).

3.5 Discriminate analysis

The exploratory analysis of the raw and pretreated NIR spectra of fermented and unfermented CF was performed through the PCA. The PCA was used to explore data and to recognize potential clustering (similarities and differences) of the CF samples. Then, supervised classification technique was applied to build a robust model to predict future unknown samples. The discriminant classification was realized using the PCA–LDA and the three first principal components (PC) of the PCA. The linear, quadratic and Mahalanobis methods were tested. The samples were randomly separated into two sets:

the training and the validation sets. The training set comprised three-fourth of the sample ($n = 80$). The remaining one-fourth of the sample set ($n = 26$) were used for the validation of the classification models. Two strategies were used in the classification step: i) the results obtained from the physicochemical properties of fermented and unfermented CF and ii) the NIR spectral data. The performance of the discrimination was expressed in terms of sensitivity and accuracy. The sensitivity describes the model's ability for correctly classify samples of the class. The accuracy is defined as the fraction of correctly classified samples with respect to the entire set (De Girolamo et al. 2020). In order to compare more objectively the performance of the discrimination between different pretreatments and spectra NIR ranges the overall accuracy was determined. The overall accuracy was determined using the fraction of samples correctly classified in the training and validation sets. All the classification indices were derived from the confusion matrices.

3.6 Statistical analysis

The results of physicochemical determinations were expressed as mean value \pm standard deviation (mean \pm SD). Analysis of variance (ANOVA), significance (Tukey's test) and correlation (Pearson's test) tests were realized using the STATISTICA 13.5 (TIBCO Software Inc., 2018) for Windows. The properties with a confidence level higher than 95% ($p \leq 0.05$) were considered as significant.

4. RESULTS AND DISCUSSION

4.1 Physicochemical determinations

Table 6 presents the results of the physicochemical properties (a_w , ash content, bulk density, moisture content, geometric mean diameter (GMD), pH and the chromatic

parameters L^* , C_{ab}^* and h_{ab}) of the fermented and unfermented CF investigated in this study.

Table 6 – Results of the physicochemical properties of fermented and unfermented *Manihot esculenta* flour. Results are presented as mean value \pm standard deviation followed by range values (minimum–maximum values).

Physicochemical properties	<i>Cassava flour</i>	
	Fermented (<i>n</i> = 49)	Unfermented (<i>n</i> = 57)
a_w	0.419 \pm 0.124 ^a (0.218–0.734)	0.412 \pm 0.100 ^a (0.210–0.673)
Ash content (%)	0.740 \pm 0.264 ^a (0.198–1.384)	0.757 \pm 0.256 ^a (0.388–1.473)
Bulk density (g/mL)	0.654 \pm 0.081 ^a (0.370–0.794)	0.664 \pm 0.081 ^a (0.380–0.832)
GMD (mm)	1.381 \pm 0.421 ^a (0.682–2.593)	0.810 \pm 0.359 ^b (0.336–2.248)
Moisture content (%)	9.77 \pm 1.08 ^a (8.00–13.64)	9.73 \pm 0.92 ^a (7.24–12.10)
pH	4.62 \pm 0.44 ^b (3.93–6.04)	4.79 \pm 0.44 ^a (4.23–6.66)
L^*	84.44 \pm 3.24 ^b (75.93–92.49)	87.24 \pm 2.65 ^a (80.21–92.15)
C_{ab}^*	28.12 \pm 9.04 ^a (15.78–54.62)	27.99 \pm 15.56 ^a (13.13–62.04)
h_{ab}	90.15 \pm 3.41 ^b (84.06–99.40)	92.15 \pm 4.19 ^a (80.72–101.85)

a_w : water activity; GMD: geometric mean diameter; L^* : chromatic parameters of luminosity; C_{ab}^* : chromatic parameters of chroma; h_{ab} : chromatic parameters of hue angle. Mean values with the same letters in each line did not statistically differ by Tukey's test ($p > 0.05$).

The a_w values obtained for the fermented and unfermented CF did not present statistical difference ($p > 0.05$). In our study, the a_w values were in accordance with data reported in the literature for CF (0.31 – 0.61) (Chisté et al., 2015; Chisté et al., 2006). The values of the ash content for fermented and unfermented CF were also statistically equal ($p > 0.05$). The values were in accordance with the values previously reported in studies using samples of CF from Brazil (0.48 – 1.12%) (Araújo and Pena 2020; Chisté et al. 2015; Chisté et al. 2006; and Dias and Leonel 2006) and Nigeria (0.77 – 1.43%) (Alamu et al. 2017). However, they were lower than those found for CF from Zambia (1.16 – 1.78%) (Chisenga et al. 2019) and Thailand (1.50 – 2.34%) (Charoenkul et al. 2019).

2011). These differences could be due to the *M. esculenta* varieties used in CF production.

No statistic difference was also observed for the bulk density of fermented and unfermented CF ($p > 0.05$). Eleazu et al. (2014) found values of the bulk density in the same range of the one found in our study (0.59 – 0.68 g/mL). For the GMD, it was observed that the values for the fermented CF were higher than unfermented CF ($p \leq 0.05$). The values of moisture content for fermented and unfermented CF were also statistically equal ($p > 0.05$). Although moisture content is largely investigated in samples of CF (Araújo and Pena 2020; Chisenga et al. 2019; Chisté et al. 2006, 2015; Chisté and Cohen 2011; Eleazu and Eleazu 2012; O. C. Eleazu et al. 2014; Samad et al. 2018), it is difficult to directly compare our results with those obtained by other studies due to the methodology used. The fermented CF presented values of pH lower than the unfermented CF ($p \leq 0.05$); however, the pH values obtained were in accordance with Eleazu et al. (2014) (4.75 – 5.23) and Dias and Leonel (2006) (4.16 – 6.10).

The L^* color parameter presented higher values for the unfermented CF than for the fermented CF ($p \leq 0.05$). Dias and Lionel (2006) reported average L^* values (78.43 – 93.00) in the same range obtained in this study. However, these authors investigated a small number of samples (respectively three and eleven samples of fermented and unfermented CF; fourteen samples in total) and the analysed samples were not ground and/or sieved. For the color parameter C_{ab}^* , no statistic difference was observed for the fermented and unfermented CF ($p > 0.05$). On the other hand, the h_{ab} values showed that the coloring of the two CF types are statistically different ($p \leq 0.05$). However, all samples presented a yellowish coloration ($h_{ab} \approx 90^\circ$) (Sant'Anna et al. 2013). This coloration is possibly due to the presence of carotenoids, especially β -carotene, in the composition of cassava roots.

4.2 Spectral data of fermented and unfermented cassava flour

Figure 10 shows raw NIR spectra obtained for the CF investigated in this study. The obtained NIR spectra of fermented and unfermented CF presented typical shape of some flour rich in carbohydrates (Caramês et al. 2020; Sampaio et al. 2018; Silva et al. 2021; Tian et al. 2020). Nine main relevant spectral bands were observed on the NIR spectra of CF. The absorption bands were around $8,300\text{ cm}^{-1}$ (C-H stretch 2nd overtone probably due to starch); $6,850\text{ cm}^{-1}$ (O-H stretch 1st overtone due to water and starch); $6,320\text{ cm}^{-1}$ (N-H 1st overtone probably due to amino acids and proteins); $5,620\text{ cm}^{-1}$ (C-H 1st overtone possibly due to starch and sugar); $5,170\text{ cm}^{-1}$ (O-H stretch and O-H deformation, associated with water OH group present in starch and sugar); $4,760\text{ cm}^{-1}$ (O-H deformation associated to starch); $4,390\text{ cm}^{-1}$ (N-H stretching vibration possibly due to proteins); $4,300\text{ cm}^{-1}$ (C-H stretching and deformation related to starch); and finally 4050 cm^{-1} (C-H and C-C stretching related to starch) (Workman Jr. and Weyer 2012).

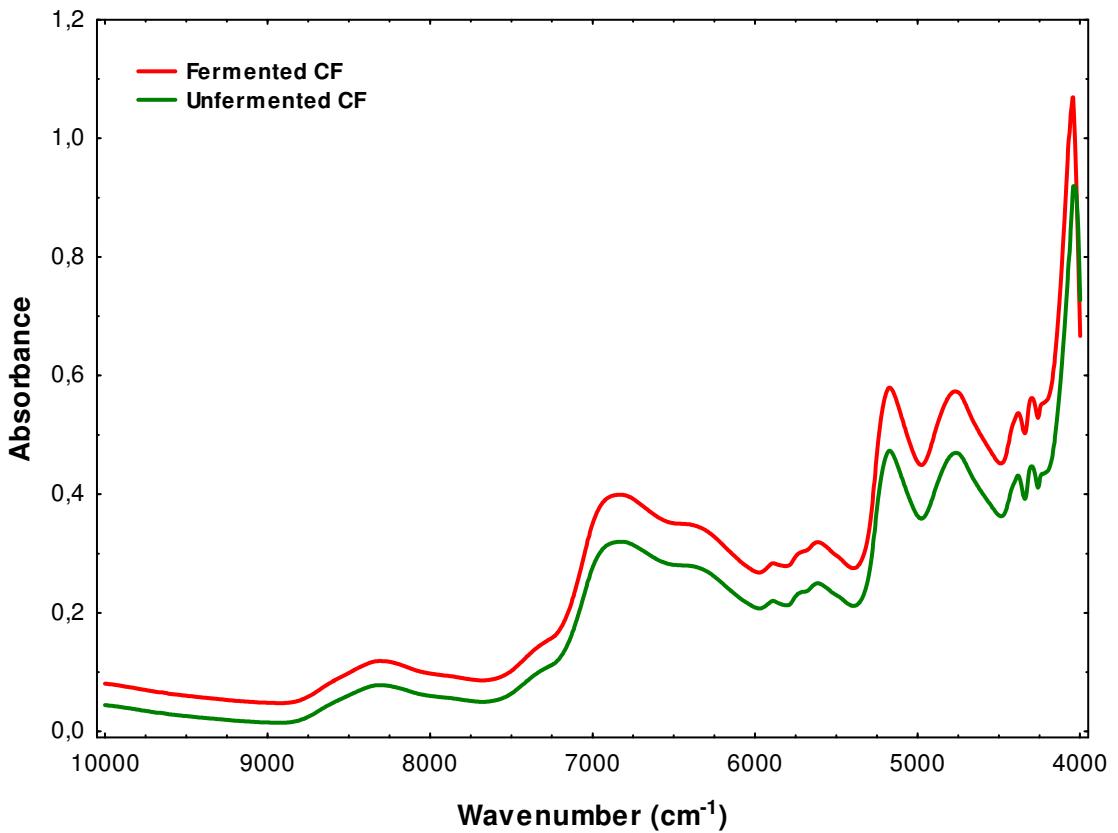
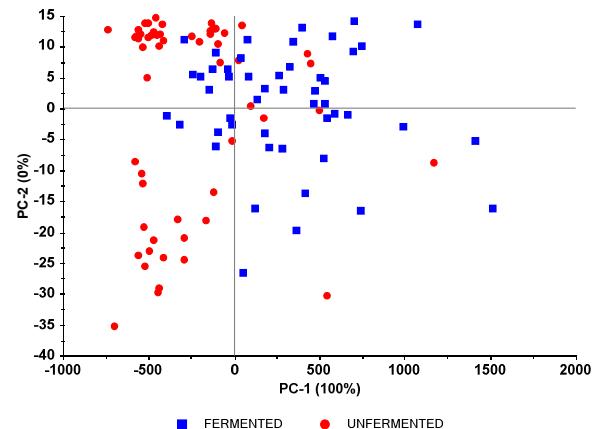


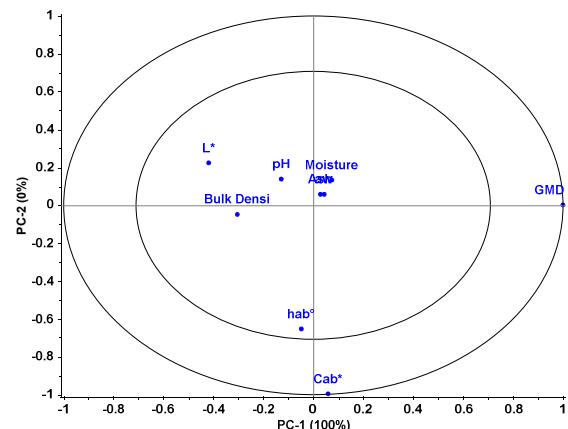
Figure 10 – NIR raw spectra of fermented and unfermented *Manihot esculenta* flour.

4.3 Discrimination analysis

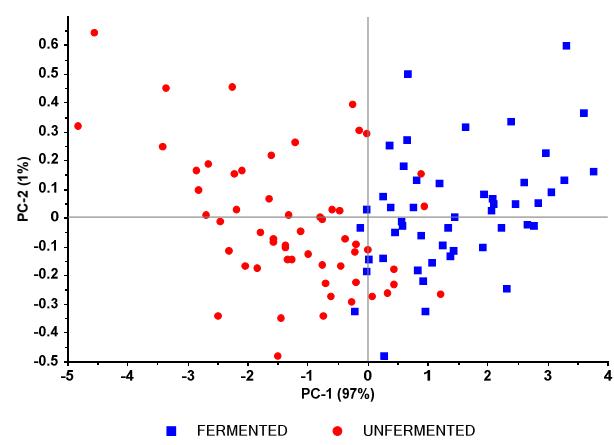
For the discrimination analysis of fermented and unfermented CF, the following strategies were used: i) the results obtained from the physicochemical properties of both the CF and ii) the NIR spectral data (raw and pretreated NIR spectra). Figure 11a shows the first two principal components (PC - 1 and PC - 2) of PCA for the physicochemical properties. By plotting the PC - 1 (100% of total variance explained) versus PC - 2, a partial clustering of samples was figured out between fermented (right side) and unfermented (left side) CF. Figure 11b shows the importance of GMD and the color parameters C_{ab}^* and h_{ab} in the separation of the clusters.



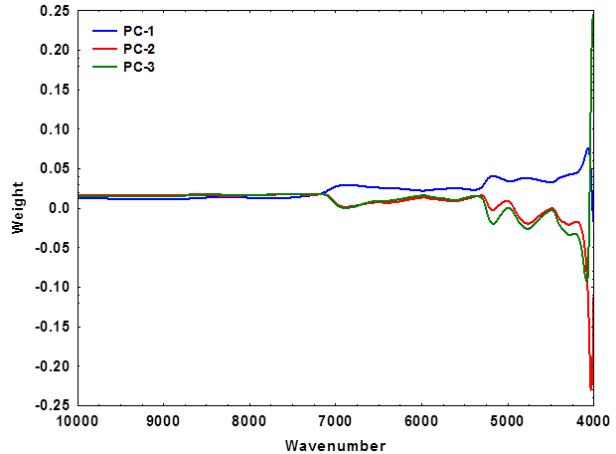
(a)



(b)



(c)



(d)

Figure 11 – Scatter plot with the first two principal components (PC - 1 versus PC - 2)

of fermented and unfermented *Manihot esculenta* flour samples analyzed using the

physicochemical properties (a and b) and raw NIR spectra (c and d).

The PCA using the raw NIR spectra ($10,000\text{--}4,000\text{ cm}^{-1}$) is shown in Figures 11c and 11d. In the Figure 11c it is possible to observe that the PC - 1 explained 97% of total variance explained while PC - 2 explained 1% of total variance explained. In this case, the formation of cluster is more important than in the Figure 11a, which clearly shows that NIR spectra is more appropriate to separate fermented and unfermented CF than the

physicochemical properties. Figure 11d shows the most important NIR regions responsible for this separation.

Table 7 shows the performance parameters of discrimination that were measured in terms of sensitivity, accuracy (in training and validation sets) and overall accuracy. The use of NIR spectra improved the number of samples correctly classified compared to the physicochemical properties for all spectra ranges used. The best performance parameters of classification were obtained using the NIR spectral range of 6,500–5,000 cm⁻¹ with the spectral data pretreated with Normalization and First derivative. The pretreatments employed improved the performance parameter of the 10,000–4,000, 8,000–6,500 and 6,500–5,000 cm⁻¹ spectra range while no changes were observed for the 10,000–8,000 and 5,000–4,000 cm⁻¹ spectral ranges. The sensitivity in training set for the fermented and unfermented CF were equal (~90%) when NIR data were used. However, in the validation set sensitivity for the unfermented CF (100%) were higher than those found for fermented CF (~90%). The accuracy in validation set (~95%) was slightly higher than in training set (~90%) when NIR spectra were used.

- 1 Table 7 – Discrimination parameters determined from samples of fermented and unfermented *Manihot esculenta* flour by applying Principal
 2 Component Analysis – Linear Discriminant Analysis.

Data used in the discrimination	Spectral range	Model	Discrimination performance						Overall accuracy	
			Training			Validation				
			Sensitivity		Accuracy	Sensitivity		Accuracy		
			Fermented	Unfermented		Fermented	Unfermented			
Physicochemical properties	-	-	85.3%	77.8%	80.0%	73.3%	100.0%	84.6%	81.1%	
Raw spectra	10,000-4,000 cm ⁻¹	Quadratic	91.2%	89.1%	90.0%	86.7%	100.0%	92.3%	90.6%	
Normalization	10,000-4,000 cm ⁻¹	Quadratic	88.2%	93.5%	91.3%	100.0%	100.0%	100.0%	93.4%	
Raw spectra	10,000-8,000 cm ⁻¹	*Mahalanobis/Quadratic	88.2%	89.1%	88.8%	93.3%	100.0%	96.2%	90.6%	
Smoothing	10,000-8,000 cm ⁻¹	Quadratic	88.2%	89.1%	88.8%	93.3%	100.0%	96.2%	90.6%	
Raw spectra	8,000-6,500 cm ⁻¹	Mahalanobis	85.3%	91.3%	88.8%	80.0%	100.0%	88.5%	88.7%	
Normalization and First derivative	8,000-6,500 cm ⁻¹	*Mahalanobis/Quadratic	88.2%	95.7%	92.5%	73.3%	100.0%	84.6%	90.6%	
Raw spectra	6,500-5,000 cm ⁻¹	Linear	91.2%	82.6%	86.3%	93.3%	100.0%	96.2%	88.7%	
Normalization and First derivative	6,500-5,000 cm⁻¹	Quadratic	97.1%	91.3%	93.8%	93.3%	100.0%	96.2%	94.3%	
Raw spectra	5,000-4,000 cm ⁻¹	Mahalanobis	91.2%	87.0%	88.8%	93.3%	100.0%	96.2%	90.6%	
Smoothing	5,000-4,000 cm ⁻¹	Mahalanobis	91.2%	87.0%	88.8%	93.3%	100.0%	96.2%	90.6%	

3

*These models presented the same discrimination performance.

Studies using NIRS and LDA have been used for classification of different agro-food products. Monago-Maraña et al. (2021) investigated the discrimination of paprika powder samples belonging to the Protected Designation of Origin (PDO) “Pimentón de La Vera” from paprika powder samples not belonging to the PDO. The accuracy presented by these authors ranged between 82.0 and 88.0%. Leite et al. (2020) studied the classification of intact soybean grains by genotypes; however, the results obtained by authors were not satisfactory to classify the studied grain by genotypes (accuracy: 67.7–76.5%). De Girolamo et al. (2020) investigated the adulteration in durum wheat pasta with accuracy ranging between 85% and 97%. Liu et al. (2019) used NIRS and LDA to discriminate the sesame oils from different Chinese provinces; however, the authors did not present values of performance parameters of discrimination. De Girolamo et al. (2019) used NIRS and LDA to differentiate durum wheat samples highly contaminated with ochratoxin A from low contaminated ones. Authors observed that the used methodology correctly classified 94% of samples. Wadood et al. (2019) and Zhao et al. (2013) discriminated the origin of different wheat samples. The accuracy observed by these authors ranged between 28.6 and 85.7%, and 72.5 and 92.5%, respectively. Hu et al. (2017) discriminated normal and mildewed chestnuts, and they obtained high accuracy values (>96.3%). Cortés et al. (2017) used NIR and LDA to discriminate two varieties of nectarine.

5. CONCLUSIONS

For the first time FT-NIRS coupled to PCA-LDA was used to discriminate fermented and unfermented *M. esculenta* flour, using two different strategies: the physicochemical properties of the product and different NIR spectral ranges. NIR spectral data presented the best performance parameters of discrimination and proved to be a

powerful tool to classify fermented and unfermented *cassava* flour. This technique could be used to prevent adulteration in cassava flour. Moreover, NIRS coupled to PCA-LDA discrimination analysis presents significant advantages over conventional laboratory analysis, such as a simplified procedure, inexpensive, fast, less chemical waste and nondestructive analysis.

6. ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to the *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico* (CNPq) (Project: 407764/2013-5) for the financial support received to carry out this work. The authors would also like to thank Prof. Hervé Rogez for the use of CVACBA laboratories and Prof. Christelle Herman by the suggestions and corrections in this manuscript.

7. REFERENCES

- Alamu, E. O., Maziya-Dixon, B., & Dixon, A. G. (2017). Evaluation of proximate composition and pasting properties of high quality cassava flour (HQCF) from cassava genotypes (*Manihot esculenta* Crantz) of β -carotene-enriched roots. *LWT - Food Science and Technology* 86: 501-506.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.040>
- ANSI/ASAE S319.4 FEB2008 (R2012). (2013). Method of Determining and Expressing Fineness of Feed Materials by Sieving. *American Society of Agricultural Engineers Standards*. [https://doi.org/https://doi.org/10.13031/2013.24485](https://doi.org/10.13031/2013.24485)
- AOAC. (1997). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists (method 945.46). In *Official methods of analysis of the Association of*

Official Analytical Chemists.

Araújo, A. L., & Pena, R. S. (2020). Effect of particle size and temperature on the hygroscopic behaviour of cassava flour from dry group and storage time estimation.

CYTA - Journal of Food 18 (1): 178-186.

<https://doi.org/10.1080/19476337.2020.1717635>

Caramês, E. T. S., Piacentini, K. C., Alves, L. T., Pallone, J. A. L., & Rocha, L. O. (2020).

NIR spectroscopy and chemometric tools to identify high content of deoxynivalenol in barley. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment* 37:1542-1552.

<https://doi.org/10.1080/19440049.2020.1778189>

Charoenkul, N., Uttapap, D., Pathipanawat, W., & Takeda, Y. (2011). Physicochemical characteristics of starches and flours from cassava varieties having different cooked root textures. *LWT - Food Science and Technology* 44(8): 1774-1781.

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.03.009>

Chisenga, S. M., Workneh, T. S., Bultosa, G., & Laing, M. (2019). Proximate composition, cyanide contents, and particle size distribution of cassava flour from cassava varieties in Zambia. *AIMS Agriculture and Food* 4(4): 869-891.

<https://doi.org/10.3934/agrfood.2019.4.869>

Chisté, R. C., Cardoso, J. M., Silva, D. A., & Pena, R. S. (2015). Hygroscopic behaviour of cassava flour from dry and water groups. *Ciência Rural* 45(8): 1515–1521.

<https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20140338>

Chisté, R. C., Cohen, K. O., Mathias, E. A., & Ramoa Jr., A. G. A. (2006). Quality of

cassava flour from a dry group. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos* 26(4): 861-864.

<https://doi.org/10.1590/s0101-20612006000400023>

Chisté, R. C., & Cohen, K. O. (2011). Influence of fermentation on the quality of fermented cassava flour. *Acta Amazonica* 41(2): 279-284.

<https://doi.org/10.1590/S0044-59672011000200013>

Cortés, V., Cubero, S., Aleixos, N., Blasco, J., & Talens, P. (2017). Sweet and nonsweet taste discrimination of nectarines using visible and near-infrared spectroscopy.

Postharvest Biology and Technology 133: 113-120.

<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.07.015>

De Girolamo, A., Arroyo, M. C., Cervellieri, S., Cortese, M., Pascale, M., Logrieco, A. F., & Lippolis, V. (2020). Detection of durum wheat pasta adulteration with common wheat by infrared spectroscopy and chemometrics: A case study. *LWT - Food Science and Technology* 127: 109368. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109368>

De Girolamo, A., von Holst, C., Cortese, M., Cervellieri, S., Pascale, M., Longobardi, F., et al. (2019). Rapid screening of ochratoxin A in wheat by infrared spectroscopy. *Food Chemistry* 282(1): 95-100. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.008>

Dias, L. T., & Leonel, M. (2006). Phisico-chemical characteristics of cassava flours from different regions of Brazil. *Ciência e Agrotecnologia* 30(4): 692-700. <https://doi.org/10.1590/s1413-70542006000400015>

Eleazu, C. O., & Eleazu, K. C. (2012). Determination of the Proximate Composition, Total Carotenoid, Reducing Sugars and Residual Cyanide Levels of Flours of 6 New Yellow and White Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Varieties. *American Journal*

of Food Technology 7(10): 642-649. <https://doi.org/10.3923/ajft.2012.642.649>

Eleazu, O. C., Eleazu, K. C., & Kolawole, S. (2014). Use of indigenous technology for the production of high quality cassava flour with similar food qualities as wheat flour. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria* 13(3): 249-256. <https://doi.org/10.17306/J.AFS.2014.3.3>

FAO. (2015). *Food and Agricultural Organization of the United Nations Statistical Database. FAOSTAT statistics database.*

FAOSTAT. (2018). *Statistics of the Food and Agriculture Organization of the United Nations. Food and Agriculture Organization of the United Nations.*

Hu, J., Ma, X., Liu, L., Wu, Y., & Ouyang, J. (2017). Rapid evaluation of the quality of chestnuts using near-infrared reflectance spectroscopy. *Food Chemistry* 231: 141-147. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.127>

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2019). *Levantamento Sistemático da Produção Agrícola: Maio 2019. Indicadores IBGE.*

Lebot, V., Malapa, R., & Jung, M. (2013). Use of NIRS for the rapid prediction of total N, minerals, sugars and starch in tropical root and tuber crops. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 41(3): 144-153. <https://doi.org/10.1080/01140671.2013.798335>

Lebot, Vincent, Champagne, A., Malapa, R., & Shiley, D. (2009). NIR determination of major constituents in tropical root and tuber crop flours. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57(22): 10539-10547. <https://doi.org/10.1021/jf902675n>

Leite, D. C., Corrêa, A. A. P., Cunha Júnior, L. C., Lima, K. M. G., Morais, C. L. M., Vianna, V. F., et al. (2020). Non-destructive genotypes classification and oil content prediction using near-infrared spectroscopy and chemometric tools in soybean breeding program. *Journal of Food Composition and Analysis* 91: 103536. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103536>

Liu, Y., Xia, Z., Yao, L., Wu, Y., Li, Y., Zeng, S., & Li, H. (2019). Discriminating geographic origin of sesame oils and determining lignans by near-infrared spectroscopy combined with chemometric methods. *Journal of Food Composition and Analysis* 84: 103327. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.103327>

Monago-Maraña, O., Eskildsen, C. E., Galeano-Díaz, T., Muñoz de la Peña, A., & Wold, J. P. (2021). Untargeted classification for paprika powder authentication using visible – Near infrared spectroscopy (VIS-NIRS). *Food Control* 121: 107564. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107564>

Pompeu, D.R., Souza, J.N.S. & Pena, R.S. (2021) Fast and non-destructive determination of simultaneous physicochemical parameters of *Manihot esculenta* flour using FT-NIR spectroscopy and multivariate analysis. *International Journal of Food Science and Technology*, 56, 1-8. doi:10.1111/ijfs.14998

Samad, S., Rasulu, H., Hasbullah, & Hasan, S. (2018). Chemical properties of high-quality cassava flour (HQCF) from several varieties OF cassava. *Pakistan Journal of Nutrition* 17(12): 615-621. <https://doi.org/10.3923/pjn.2018.615.621>

Sampaio, P. S., Soares, A., Castanho, A., Almeida, A. S., Oliveira, J., & Brites, C. (2018). Optimization of rice amylose determination by NIR-spectroscopy using PLS chemometrics algorithms. *Food Chemistry* 242(1): 196-204.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.09.058>

Sánchez, T., Ceballos, H., Dufour, D., Ortiz, D., Morante, N., Calle, F., et al. (2014).

Prediction of carotenoids, cyanide and dry matter contents in fresh cassava root using NIRS and Hunter color techniques. *Food Chemistry* 151(15): 444-451.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.081>

Sant'Anna, V., Gurak, P. D., Ferreira Marczak, L. D., & Tessaro, I. C. (2013). Tracking bioactive compounds with colour changes in foods - A review. *Dyes and Pigments* 98(3): 601-608. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2013.04.011>

Silva, J. G. S., Caramês, E. T. dos S., & Pallone, J. A. L. (2021). Additives and soy detection in powder rice beverage by vibrational spectroscopy as an alternative method for quality and safety control. *LWT - Food Science and Technology* 137: 110331. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110331>

Tian, W., Chen, G., Zhang, G., Wang, D., Tilley, M., & Li, Y. (2020). Rapid determination of total phenolic content of whole wheat flour using near-infrared spectroscopy and chemometrics. *Food Chemistry* 344: 128633. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128633>

TIBCO Software Inc. (2018). Statistica (data analysis software system), version 13. <http://tibco.com>.

Wadood, S. A., Guo, B., Zhang, X., & Wei, Y. (2019). Geographical origin discrimination of wheat kernel and white flour using near-infrared reflectance spectroscopy fingerprinting coupled with chemometrics. *International Journal of Food Science and Technology* 54: 2045-2054. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14105>

Workman Jr., J., & Weyer, L. (2012). *Practical Guide and Spectral Atlas for Interpretive Near-Infrared Spectroscopy*. *Practical Guide and Spectral Atlas for Interpretive Near-Infrared Spectroscopy*. <https://doi.org/10.1201/b11894>

Zhao, H., Guo, B., Wei, Y., & Zhang, B. (2013). Near infrared reflectance spectroscopy for determination of the geographical origin of wheat. *Food Chemistry* 138: 1902-1907. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.037>

CAPÍTULO IV: PREDICTION OF QUALITY PARAMETERS OF TUCUPI USING FT-NIRS AND MULTIVARIATE ANALYSIS

1. ABSTRACT

Tucupi is a by-product obtained from unfermented cassava flour processing. The cassava roots are crushed and pressed and two fractions are obtained (solid and a liquid fractions). The solid fraction is used for flour production. The liquid fraction (manipueira) is spontaneously fermented (1–3 days), boiled and finally *tucupi* is produced. *Tucupi* is widely used in the popular cuisine of the Pará State (Brazil). In this study, near infrared spectroscopy (NIRS) was used, for the first time, to predict quality physicochemical properties (total acidity, total sugar, total starch, pH, density, total soluble solids contents and L^* , C_{ab}^* and h_{ab} colour parameters) of *tucupi*. Sixty-five samples of *tucupi* were used in this study. Calibration equations with independent validation set were developed to predict all parameters using the partial least square regression method. The performance of models was evaluated by the R^2 and root mean standard error of calibration ($RMSEC$), cross-validation ($RMSECV$) and validation ($RMSEP$) values. The total soluble solids contents could be predicted ($R^2 > 0.727$; $RMSEC = 0.184\%$; $RMSECV = 0.411\%$; $RMSEP = 0.338\%$) by NIRS coupled to multivariate analysis. NIRS and multivariate analysis proved to be a powerful tool to predict total soluble solids of *tucupi*.

Keywords: Cassava; *Tucupi*; Near Infrared Spectroscopy; Prediction; Chemometrics; Amazonian Region.

2. INTRODUCTION

Tucupi is a by-product obtained during cassava processing roots to production of non-fermented cassava flour. The cassava roots are crushed and pressed, resulting in

solids fraction for cassava flour production and a liquid fraction called manipueira. This liquid fraction is fermented and boiled for the *tucupi* production (Brito et al., 2019; Campos et al., 2019). *Tucupi* is consumed mainly in the North of Brazil especially in Para State and it is highly appreciated broth and widely used as an ingredient of several Brazilian Amazonian traditional dishes (Brito et al., 2019). *Tucupi* presents a yellowish colour and a strong lactic acid flavour (Martins et al., 2016).

For the last fifteen years studies about *tucupi* have focused on its physicochemical properties (Campos et al., 2016; Chisté et al., 2007), the effect of processing parameters in their physicochemical characteristics (Campos et al., 2019; Chisté & Cohen, 2011), and bioactive amine and carotenoid contents and profiles (Brito et al., 2019). Furthermore, products derivative from *tucupi* have been proposed by different studies. For instance, Costa et al. (2018) elaborated a powdered condiment with *tucupi*; Costa et al. (2017) prepared a *tucupi* creamy paste; Pires & Pena (2017) developed a powder *tucupi* by spray-drying; Carmo et al. (2019) elaborated a *tucupi*-added mayonnaise; and Costa et al. (2019) produced and evaluated the rheological behaviour of concentrated *tucupi*.

The NIR region (spectral range: 780-2,500 nm or 12,820-4,000 cm⁻¹) is the spectral region exhibiting absorption bands related to molecule vibrations that corresponds to an energy change ranging between 10 and 37 kcal mol⁻¹ (Dufour, 2009). Organic matter present in samples has different spectral fingerprints in the NIR region. It is a result of the relatively strong absorptions due to overtones and combination vibration modes related to several functional groups, such as C–H, N–H and O–H (Roggo et al., 2007). In complex matrices, as in the case of food and agricultural products, there is a great diversity of compounds (e.g., water, proteins, sugars, lipids, vitamins, minerals, and secondary metabolites) and then, the NIR spectrum is not straightforward to elucidate. In

this sense, chemometric methods are powerful tools to predict a given property in different samples.

NIR and chemometrics have been employed to prediction: alcohol, total sugar, total acid, and total phenolic compounds contents in wines (Chen et al., 2021); ethanol, total soluble solids, total acidity, and total volatile acid contents in pineapple fruit wine fermentation (Kasemsumran et al., 2022); total sugars, titratable acidity, total soluble solids, pH and ascorbic acid in cashew apple and guava nectar (Caramês et al., 2016); alcohol, pH and total soluble solids in beer (Viejo et al., 2018); moisture, total sugars, titratable acidity, total soluble solids, pH and ascorbic acid in frozen guava and passion fruit pulps (Alamar et al., 2016); total soluble solids content, pH, total acidity, and total ester content in apple wine (Ye et al., 2014); total soluble solid contents and pH in white vinegars (Bao et al., 2014). However, this technique was not employed yet to predict quality properties of *tucupi*.

Therefore, this study has as objective to employ for the first time the Fourier transform near-infrared spectroscopy (FT-NIR) and multivariate analysis to predict rapidly and non-destructively physicochemical properties of *tucupi*.

3. MATERIALS AND METHODS

3.1 *Tucupi* acquisition

Sixty-five samples of *tucupi* (1 – 2 L) were collected in ten different markets from Belém – Pará – Brazil (Figure 12). These samples were transported to the Laboratory of Starchy Sources at *Federal University of Pará*. They were separated in fraction of 250 mL and stored at 4 – 7 °C until realization of analysis.

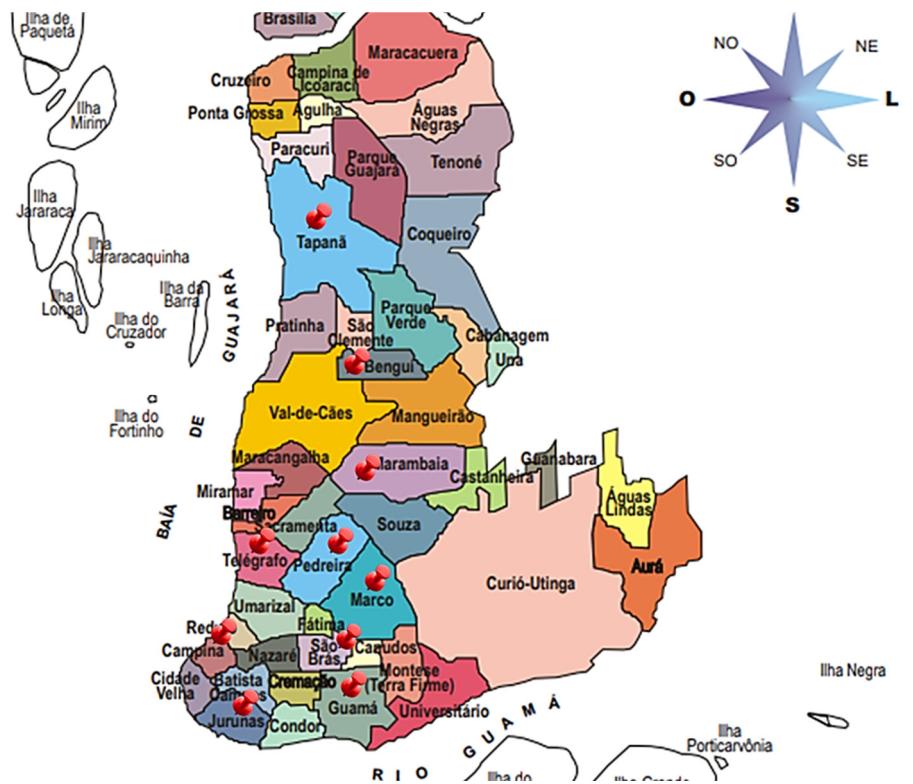


Figure 12 - Localization of markets where *tucupi* samples were collected. Source:

Adapted from Prefeitura Municipal de Belém (2020).

3.2 Quality properties determination

The methods of the Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1997) were used to determine total acidity (942.15), total sugar (920.183b), total starch (996.11) and pH (981.12). The density (g/mL) was determined using a psychrometer. The total soluble solids contents were determined by direct measurement in a digital refractometer and the values were expressed as °Brix. The colour parameters were measured using a portable colorimeter (CR-400, Konica Minolta Sensing, Japan) (diffuse illumination: 10°; viewing geometry (specular component included) and light source D65). The values obtained in the CIELAB system were L^* (lightness), the chromatic coordinates a^* (red–green component) and b^* (yellow–blue component). To facilitate the colour interpretation, the

L^* , C_{ab}^* and h_{ab} parameters were used in this study (Sant'Anna et al., 2013). All samples were analysed in triplicate.

3.3 Spectral acquisitions

The *tucupi* samples were scanned with a FT-NIR spectrophotometer (Thermo Scientific, Nicolet Antaris II MDS) in transfectance mode using a fibre optic probe (Thermo Scientific SabIR™ Fiber Optic Probe). All FT-NIR data were collected with the Thermo Scientific RESULT™ software. The spectral range collected was at 10.000–4.000 cm⁻¹ with resolution at 8 cm⁻¹. Each spectrum corresponds to the average of 64 scans. The analysis was carried out at 23±2 °C, repeated five times, and the mean spectra was used. FT-NIR spectral data were analysed using the software The Unscrambler X (Camo, Trondheim, Norway).

3.4 Multivariate statistical analysis

The partial least square (PLS) regression method was used to correlate the physicochemical properties measured with the raw NIRS spectra. Five spectral ranges were tested for the prediction analysis: 10,000–5,350 cm⁻¹; 10,000–7,500 cm⁻¹; 7,500–5,350 cm⁻¹; 5,100–4,000 cm⁻¹; and 10,000–5,350 cm⁻¹ & 5,100–4,000 cm⁻¹. The spectral range of 5,350 – 5,100 cm⁻¹ were not used to build the calibration models due to absorbance saturation behaviour. The samples that were considered as outliers were identified and removed when necessary by Hotelling's T^2 versus F residual plot (confidence level of 95%). The performance of the calibration models was validated by means of independent validation. The samples were randomly separated into two sets: calibration (42 samples) and validation (23 samples) sets. The statistical parameters used to evaluate model performances include the root mean of standard error of calibration

($RMSEC$), the determination coefficient for calibration (R^2_{CAL}), the root mean standard error of cross-validation ($RMSECV$) and the determination coefficient for cross-validation (R^2_{CVAL}), the root mean of standard error of prediction ($RMSEP$) and the determination coefficient for prediction (R^2_{PRED}).

4. RESULTS AND DISCUSSION

4.1 Quality properties determination of *tucupi*

Table 8 shows the results of the quality properties (total titratable acidity, total sugar, total starch, density, pH, total soluble solids, and colour parameters of L^* , h_{ab} and C^*) for sixty-five samples of *tucupi* investigated in this study.

Table 8 – Results of the quality physicochemical properties of *tucupi*.

Quality parameters	Values	
	Mean±SD	Range
Total acidity (g/100 mL of lactic acid)	0.64±0.23	0.25 – 1.26
Total sugar (g/100g)	0.42±0.44	0.04 – 2.25
Total starch (g/100g)	1.44±0.83	0.27 – 4.31
Density (g/mL)	0.924±0.007	0.908 – 0.938
pH	3.80±0.30	3.13 – 4.36
Total soluble solids (°Brix)	3.81±0.76	2.60 – 6.53
<i>L</i> *	48.84±6.70	37.64 – 68.75
<i>h_{ab}</i>	100.68±5.27	85.54 – 116.31
<i>C</i> *	32.42±14.65	8.85 – 74.78

Results are presented as mean value ± standard deviation followed by range values (minimum–maximum values). *L**: Colour parameters of luminosity; *C**: Colour parameters of chroma; *h_{ab}*: Colour parameters of hue angle

The high acidity of *tucupi* is due to lactic acid produced during spontaneous fermentation of *manipueira* in product processing step. These acids present in *tucupi* cause low values of pH. The values of total titratable acidity and pH found in this study were similar to those obtained by Brito et al. (2019), Campos et al. (2019; 2017) and Chisté et al. (2007). The total sugar in *tucupi* are residual sugars not consumed during fermentation step or eventually added by *tucupi* sellers to mask high acidity levels. The results found in this study are in accordance with Brito et al. (2019). In pressing step of cassava flour production residual starch are carried out with the liquid portion (*manipueira*). Part of the residual starch are hydrolysed during boiling step of *tucupi* production and another part can be found in *tucupi*. Our results to total starch are in agreement with Brito et al. (2019). Total soluble solids content in *tucupi* is due to residual total sugars and others minor soluble substances, especially organic acids (Campos et al., 2017; Chisté & Cohen, 2011). The results founded in this study are in accordance with these found by Brito et al. (2019). The density in samples of *tucupi* was reported for the

first time in this study. This analysis helps to identify *tucupi* samples which water was added. No reference value of density was found in the literature. The luminosity (L^*) of *tucupi* investigated in this study were highest than those found by Brito et al. (2019) (30.37 ± 0.73). The high values of C_{ab}^* suggested high concentration of pigments in the product. As expected, *tucupi* presented yellowish coloration ($h_{ab} \approx 90^\circ$) due to the presence of carotenoids in cassava roots (Sant'Anna et al., 2013).

To identify the physicochemical properties that could eventually be correlated among themselves, the Pearson correlation test was applied. The values of the correlation coefficient of Pearson (r) are presented in Table 9. The physicochemical properties that presented a positive correlation ($p < 0.05$) were: total sugar and pH; total sugar and total soluble solids; total starch and density; total starch and total soluble solids; density and total soluble solids; density and C^* ; pH and h_{ab} ; L^* and C^* . On the other hand, negative correlations were observed for total titratable acidity and pH; total titratable acidity and h_{ab} ; and h_{ab} and C^* . Although some r values were statistically significant ($p < 0.05$), they were lower (0.292–0.697). This fact demonstrates a relatively low correlation between the variables evaluated.

Table 9 – Pearson's correlation coefficient for quality properties of *tucupi*.

	Total titratable acidity	Total sugar	Total starch	Density	pH	Total soluble solids	L^*	h_{ab}
Total titratable acidity								
Total sugar	0,005							
Total starch	0,142	0,051						
Density	0,021	0,079	0,447*					
pH	-0,480*	0,292*	-0,048	0,141				
Total soluble solids	0,216	0,517*	0,478*	0,459*	0,069			
L^*	0,219	-0,142	0,071	0,239	-0,140	-0,122		
h_{ab}	-0,404*	-0,042	0,142	-0,249	0,305*	-0,016	-0,282	

C^*	0,132	-0,009	0,024	0,366*	-0,249	-0,184	0,697*	-0,503*
-------	-------	--------	-------	--------	--------	--------	--------	---------

L^* , h_{ab} ; C^* : Colour parameters of luminosity; hue angle and chroma, respectively;

*Pearson's correlation coefficient significant at $p < 0.05$.

4.2 Spectral data of *tucupi*

Figure 13 shows the raw NIR spectra for the sixty-five samples of *tucupi* investigated in this study. The NIR spectra data presented two maximum absorption bands: around $6,900\text{ cm}^{-1}$ and $5,200\text{ cm}^{-1}$. For the second one a saturation effect was observed. These bands refer to the first overtone of the O–H of water, and to the combination of stretching and deformation of the O–H group in water. Their higher intensity in the spectra is related to the huge amount of water present in *tucupi*. Absorption bands around $4,800\text{--}5,000\text{ cm}^{-1}$ and $4,300\text{ cm}^{-1}$ involving N–H combination and C–H stretching and deformation, respectively (Dufour, 2009).

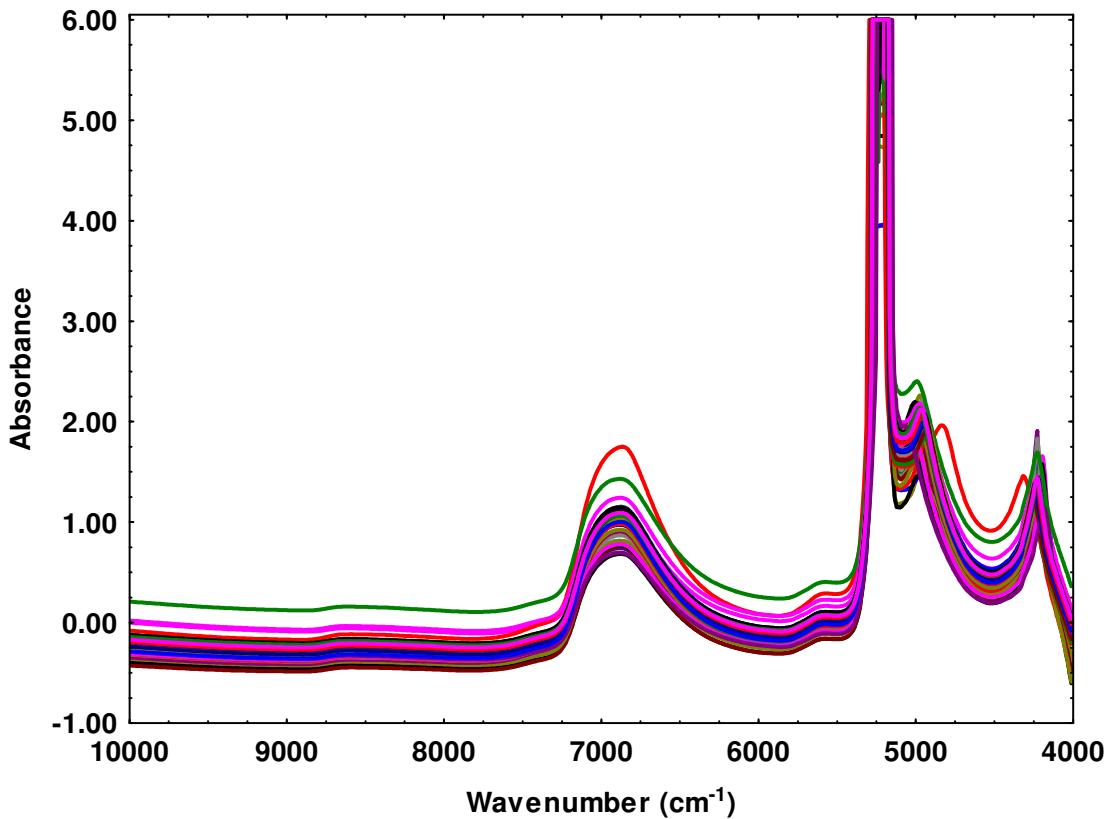


Figure 13 – Raw NIR spectral data of *tucupi* samples.

4.3 Prediction of quality properties of *tucupi*

Table 10 presents the best performance parameters for the prediction of physicochemical properties of *tucupi* using different NIR spectral ranges and pre-treatments. These performance properties were estimated in terms of R^2 , RMSEC, RMSECV and RMSEP.

In this study, NIR and chemometrics were applied for the first time to predict total titratable acidity, total sugar, total starch, density, pH, total soluble solids and colour parameters of L^* , h_{ab} and C^* in *tucupi*. Unfortunately, in accordance with Table 10 just total soluble solids content presented relevant results. This property was widely evaluated in fruit wines (Kasemsumran et al., 2022; Ye et al., 2014), fruit nectars (Caramês et al.,

2017), beer (Viejo et al., 2018), fruit pulps (Alamar et al., 2016) and vinegars (Bao et al., 2014).

The values obtained for these statistical parameters were coherent with previous papers that developed calibration models for prediction of total soluble solids content in pineapple fruit wine fermentation (Kasemsumran et al., 2022), cashew apple and guava nectar (Caramês et al., 2016), beer (Viejo et al., 2018), frozen guava and yellow passion fruit pulps (Alamar et al., 2016) and vinegars (Bao et al., 2014).

Table 10 - Prediction of the physicochemical properties of *tucupi* using Fourier transform near infrared spectroscopy and multivariate analysis.

Physicochemical parameter	Spectral range (cm ⁻¹)	Pre-treatment	Calibration					Validation		
			n	R ²	RMSEC	R ² _{CV}	RMSECV	n	R ²	RMSEP
Total titratable acidity	7,500–5,350	Normalization and First derivative	38	0.750	0.104	0.428	0.161	18	0.448	0.187
Total sugar	7,500–5,350	Normalization and First derivative	33	0.159	0.451	0.033	0.499	18		
Total starch	10,000–5,350	First derivative	31	0.995	0.057	0.556	0.534	14	0.093	0.543
Density	7,500–5,350	Baseline and First derivative	42	0.787	0.003	0.368	0.006	20	-	0.010
pH	10,000–7,500	Baseline and Second derivative	39	0.756	0.144	0.310	0.249	26	0.136	0.280
Total soluble solids	10,000–5,350	First derivative	41	0.945	0.184	0.770	0.411	21	0.769	0.338
L*	10,000–5,350	MSC	36	0.352	5.40	0.340	6.19	18	0.358	5.82
h _{ab}	10,000–5,350	MSC and First derivative	38	0.189	14.05	0.188	13.88	19	0.024	12.05
C*	10,000–7,500	Smoothing and First derivative	41	0.936	1.48	0.537	3.77	23	-	7.09

L*, h_{ab}; C*: Colour parameters of luminosity; hue angle and chroma, respectively.

5. CONCLUSIONS

For the first time, the use of FT-NIR and multivariate analysis were applied to predict physicochemical properties of *tucupi*. Prediction models using NIRS coupled to multivariate analysis was just possible to total soluble solids content. The NIRS data available on request from the authors coupled to multivariate analysis proved be a rapid, inexpensive, and reliable analytical method to predict total soluble solids content of *tucupi*.

6. ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to the *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico* (CNPq) (Project: 407764/2013-5) for the financial support received to carry out this work. The authors would also like to thank Prof. Hervé Rogez for the use of CVACBA laboratories.

7. REFERENCES

- Alamar, P.D., Caramês, E.T.S., Poppi, R.J., Pallone, J.A.L. Quality evaluation of frozen guava and yellow passion fruit pulps by NIR spectroscopy and chemometrics. **Food Research International**, 85, 209–214, 2016.
- AOAC. (1997). Official methods of analysis of the **Association of Official Analytical Chemists** (method 945.46). In: *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*.
- Bao, Y.; Liu, F.; Kong, W.; Sun, D-W.; He, Y.; Qiu, Z. Measurement of soluble solid contents and ph of white vinegars using vis/nir spectroscopy and least squares support vector machine. **Food and Bioprocess Technology**, 7, 54–61, 2014.

Brito, B.N.C.; Chisté, R.C.; Lopes, A.S.; Glória, M.B.A.; Pena, R.S. Influence of spontaneous fermentation of manipueira on bioactive amine and carotenoid profiles during tucupi production. **Food Research International**, 120, 209–216, 2019.

Campos, A.P.R.; Carmo, J.R.; Carvalho, A.V.; Mattietto, R.A. Avaliação das características físico-químicas e microbiológicas de tucupi comercial. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento/Embrapa Amazônia Oriental**, 112, 1-25, 2016.

Campos, A.P.R.; Carmo, J.R.; Mattietto, R.A.; Carvalho, A.V. Caracterização físico-química do tucupi durante as etapas de processamento. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento/Embrapa Amazônia Oriental**, 114, 1-20, 2017.

Campos, A.P.R.; Mattietto, R.A.; Carvalho, A.V. Optimization of parameters technological to process tucupi and study of product stability. **Food Science and Technology**, 39 (2), 365-371, 2019.

Caramês, E.T.S.; Alamar, P.D.; Poppi, R.J.; Pallone, J.A.L. Quality control of cashew apple and guava nectar by near infrared spectroscopy. **Journal of Food Composition and Analysis**, 56, 41-46, 2016.

Caramês, E.T.S.; Alamar, P.D.; Poppi, R.J.; Pallone, J.A.L. Rapid assessment of total phenolic and anthocyanin contents in grape juice using infrared spectroscopy and multivariate calibration. **Food Analytical Methods**, 10(5), 1609-1615, 2017.

Carmo, J.R.; Costa, T.S.; Pena, R.S. Tucupi-added mayonnaise: Characterization, sensorial evaluation, and rheological behavior. **CyTA - Journal of Food**, 17 (1), 479-487, 2019.

Chen, J.; Liao, S.; Yao, L.; Pan, T. Rapid and simultaneous analysis of multiple wine quality indicators through near-infrared spectroscopy with twice optimization for wavelength model. **Frontiers of Optoelectronics**, 14(3), 329–340, 2021.

Chisté, R.C.; Cohen, K.O. Teor de cianeto total e livre nas etapas de processamento do tucupi. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, 70(1), 41–46, 2011.

Chisté, R.C.; Cohen, K.O.; Oliveira, S.S. Estudo das propriedades físico-químicas do tucupi. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 27(3), 437–440, 2007.

Costa, T.S.; Carmo, J.R.; Braga, A.C.C.; Pena, R.S. Tucupi creamy paste: development, sensory evaluation and rheological characterization. **Food Science and Technology**, 37(1), 115-124, 2017.

Costa, T.S.; Carmo, J.R.; Pena, R.S. Powdered tucupi condiment: sensory and hygroscopic evaluation. **Food Science and Technology**, 38(1), 33-40, 2018.

Costa, T.S.; Rodrigues, A.M.C.; Pena, R.S. Rheological behavior of concentrated tucupi. **Food Science and Technology**, 39(3), 684-690, 2019.

Dufour, E. Principles of infrared spectroscopy In: Sun, D-W (Ed). **Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control**. Mariland: Academic Press, NY, 2009.

Kasemsumran, S.; Boondaeng, A.; Ngowsuwan, K.; Jungtheerapanich, S.; Apiwatanapiwat, W.; Janchai, P.; Meelaksana, J.; Vaithanomsat, P. Simultaneous monitoring of the evolution of chemical parameters in the fermentation process of pineapple fruit wine using the liquid probe for near-infrared coupled with chemometrics. **Foods**, 2022, 11(3), 377.

Martins, L.M.; Francisconi-dos-Rios, L.F.; Meira, G.F.; Bertocco, V.P.L.; Silva, L.M.; Rebelo, M.A.B. Amazonian delicacy tucupi is as erosive as a cola-based soft drink. **Archives of Oral Biology**, 61, 84–88, 2016.

Pires, F.C.S.; Pena, R.S. Optimization of spray drying process parameters for tucupi powder using the response surface methodology. **Journal of Food Science and Technology**, 54(11), 3459–3472, 2017.

Roggo, Y.; Chalus, P.; Maurer, L.; Lema-Martinez, C.; Edmond, A.; Jent, N. A. Review of near infrared spectroscopy and chemometrics in pharmaceutical technologies. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 44, 683–700, 2007.

Sant'Anna, V., Gurak, P. D., Ferreira Marczak, L. D., & Tessaro, I. C. (2013). Tracking bioactive compounds with colour changes in foods - A review. **Dyes and Pigments**, 98(3): 601-608.

Viejo, C.G.; Fuentes, S.; Torrico, D.; Howell, K.; Dunshea, F.R. Assessment of beer quality based on foamability and chemical composition using computer vision algorithms, near infrared spectroscopy and machine learning algorithms. **Journal of Science and Food Agriculture**, 98, 618–627, 2018.

Ye, M.; Yue, T.; Yuan, Y.; Li, Z. Application of FT-NIR spectroscopy to apple wine for rapid simultaneous determination of soluble solids content, ph, total acidity, and total ester content. **Food and Bioprocess Technology**, 7, 3055–3062, 2014.