

USO DE FT- NIR PARA A IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE MICROORGANISMOS EM ALIMENTOS

THE USING FT- NIR FOR IDENTIFICATION AND QUANTIFICATION OF MICROORGANISMS IN FOODS

DANIELI FERREIRA ONÓRIO. Bióloga, graduada na Faculdade Global de Umuarama (FGU), Especialista em Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Universidade Estadual de Maringá (UEM).

FLÁVIO AUGUSTO VICENTE SEIXAS. Biólogo, Mestre em Física e Doutor em Biofísica Molecular pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP). Docente da Universidade Estadual de Maringá (UEM).¹

Endereço Para Correspondência: DANIELI FERREIRA ONÓRIO. Rua Mandaguari, 4981 (Fundos), CEP: 87502-110, Umuarama, Paraná, Brasil. danionorio_bio@hotmail.com

* Artigo apresentado como trabalho de conclusão do curso de Especialização em Ciência e Tecnologia Agroindustrial pela Universidade Estadual de Maringá (UEM), campus regional de Umuarama - PR.

RESUMO

O presente trabalho trata-se de um estudo de natureza bibliográfica que teve como objetivo principal fazer uma revisão sobre as diversas formas de utilização da metodologia do equipamento de Espectroscopia de Infra-Vermelho Próximo (NIR), na agroindústria para a identificação e quantificação de microorganismos em alimentos a análise da literatura demonstrou que o NIR é um equipamento de alta precisão que efetua análise de substâncias orgânicas e inorgânicas, mediante a emissão de radiação eletromagnética. Que por sua vez é empregada para caracterizar as substâncias orgânicas e algumas substâncias inorgânicas em alimentos líquidos e sólidos como as: proteínas, fibras, gorduras, matéria seca, cinzas, umidade e os microorganismos. Nos casos em que o NIR vem sendo utilizado para quantificar e qualificar microorganismos presentes nos alimentos os estudos realizados ao longo dos últimos anos tem demonstrado que o NIR é altamente eficaz não só para a identificação e quantificação de microorganismos presentes em alimentos como também é eficaz para fazer o diagnóstico de diferenciação das espécies dos microorganismos presentes nos alimentos. Sendo que o emprego metodológico do NIR para identificar, quantificar e classificar microorganismos presentes em alimentos é bastante variável. Observa-se a partir do estado da arte reportado que o NIR é um método eficaz para a análise da contaminação de alimentos por microorganismos.

PALAVRAS CHAVE: Microorganismos, Contaminação, Alimentos, NIR, Espectroscopia.

ABSTRACT

The present work it is a bibliographic study that aimed to do a review on the various ways of using the methodology of equipment Spectroscopy Near Infrared (NIR) in agribusiness for the identification and quantification of microorganisms in food literature review showed that the NIR is a high-precision equipment that performs analysis of organic and inorganic substances, through the emission of electromagnetic radiation. That in turn is used to characterize organic substances and some inorganic substances in liquids and solids such as proteins, fiber, fat, dry matter, ash, moisture and microorganisms. Where the NIR has been used to qualify and quantify microorganisms in food studies conducted over the past few years has shown that the NIR is highly effective not only for the identification and quantification of microorganisms present in food as it is also effective for make the diagnosis of differentiation of species of microorganisms in food. Since the use of NIR methodology to identify, quantify and classify microorganisms present in foods is highly variable. It is observed from the state of the art reported that the NIR is an effective method for the analysis of food contamination by microorganisms.

KEYWORDS: Microbial, Contamination, Food, NIR, Spectroscopy.

INTRODUÇÃO

O presente artigo trata-se de um estudo de natureza bibliográfica, que teve como objetivo principal fazer uma revisão sobre as diversas formas de utilização da metodologia do equipamento de Espectroscopia de Infra-Vermelho Próximo (NIR), na agroindústria para a identificação e quantificação de microrganismos em alimentos. Em síntese, Teodoro et al. (2007), descreve que a vida útil dos alimentos perecíveis conservados em atmosfera normal é limitada, principalmente pelo efeito do oxigênio atmosférico e o crescimento de microrganismos aeróbios produtores de alterações em alimentos, que promovem mudanças de odor, sabor, cor e textura, conduzindo à perda de qualidade. Pois, com a crescente demanda de alimentos seguros no mercado agroindustrial, que exige a ausência de determinados microrganismos que são causadores de contaminações microbiológicas em alimentos sendo uma exigência de regulamentos tanto nacionais quanto internacionais.

O NIR é um método que vem sendo aplicado com sucesso no controle de qualidade de diversos produtos agroalimentares, tanto de origem animal quanto de origem vegetal, fornecendo informações analíticas sobre constituintes dos alimentos exigidos pelo Ministério da Agricultura, como os microrganismos, proteínas, gorduras, fibra, matéria seca, cinzas, umidade, e outros não obrigatórios, mas de interesse nutricional como valores energéticos, aminoácidos, digestibilidade dos nutrientes (BORGES et al., 2001).

Para Angelfire (2009), o NIR é um dos métodos mais rápidos para análise química disponível para laboratório para a identificação, qualificação e quantificação das amostras. Segundo Teodoro et al. (2007), os métodos físicos e químicos de análise de produtos alimentícios apresentam sérias desvantagens como o uso de vidrarias específicas, reagentes químicos, equipamentos de alto custo, mão-de-obra altamente capacitada, elevado tempo para obtenção de resultados, pois cada método analisa apenas um constituinte, sendo que as análises quantitativas que eram realizadas na maioria das vezes por "via úmida" como titulação, precipitação e reações específicas, que são demoradas e muitas vezes pouco precisas. A espectroscopia no NIR tem demonstrado ser um método capaz de suprir muitas dessas desvantagens.

As principais vantagens da espectrometria NIR como ferramenta de análise qualitativa e quantitativa são: A técnica não destrutiva e não invasiva; a manipulação de amostra que é mínima, (a possibilidade de realizar medidas tanto no estado líquido como sólido, permite a

minimização da manipulação prévia da amostra e, com isso, aumenta a rapidez das análises); o baixo custo da análise (como não utiliza reagente ou outros tipos de materiais para preparo das amostras, o custo de análise é praticamente nulo); a técnica permite a determinação de vários analitos da amostra sem a necessidade de um procedimento analítico para cada um deles separadamente; a determinação de parâmetros não químicos de uma amostra; a resistência dos materiais utilizados e a ausência de partes móveis no sistema de detecção permitem que esta técnica seja usada no controle de processos em plantas industriais (OSBORN, 1998).

A aceitação dessa técnica vem ganhando importância nas últimas duas décadas em virtude do desenvolvimento de equipamentos mais sensíveis e aplicação de métodos quimiométricos para tratamento dos espectros obtidos, pois a capacidade universal do método de espectroscopia por infravermelho próximo, estão baseados nos algoritmos estatísticos, ou seja, a quimiometria, na qual pode-se estabilizar uma correlação entre os espectros em diferentes propriedades químicas e físicas (TEODORO, 2007).

REFLEXÕES

Antes de se falar especificamente sobre as variações metodológicas do uso da Espectroscopia de NIR, para análise da presença de microrganismos em alimentos, será feita uma breve revisão sobre a espectroscopia, onde se apresenta os aspectos gerais relacionados ao equipamento espectrômetro e seu uso, as considerações gerais sobre o que é quimiometria e infravermelho, a posterior apresentação das formas de utilização do NIR para análises quantitativas e qualitativas de microrganismos presentes em alimentos, tanto sólidos e líquidos, por Teodoro et al. (2007).

Quimiometria

A quimiometria pode ser definida como, a parte da química que utiliza um software com métodos matemáticos e estatísticos para planejar ou selecionar experimentos de forma otimizada e para fornecer o máximo de informação química na análise de dados de natureza multivariada (MASSART et al.,1988). Além, é claro do fato deste equipamento acelerar o processo de obtenção de dados sobre os constituintes dos alimentos bem mais rápido do que os outros métodos de análise tradicional que em sua maioria são bastante vagarosos (ANGELFIRE, 2009).

Espectroscopia

A espectroscopia pode ser definida como sendo o estudo de espectros, podendo ser a designação para toda a técnica de levantamento de dados físico-químicos através da transmissão, absorção ou reflexão da energia radiante incidente em uma amostra. Esta análise espectral é especialmente importante devido ao fato de cada elemento existente na natureza possuir seu próprio espectro distinto. A espectroscopia do NIR constitui umas das técnicas de monitorização e controle de qualidade inprocesso com maior potencial em bioprocessos. Os métodos experimentais em espectroscopia oferecem contribuições notáveis para o estado da arte da física atômica e molecular, da química e da biologia molecular. Muito do nosso atual conhecimento acerca da estrutura da matéria é baseado em investigações espectroscópicas. Informações sobre a estrutura molecular e sobre a interação de moléculas com seus vizinhos podem ser derivados de diversos modos a partir dos espectros de emissão ou absorção gerados quando a radiação interage com os átomos ou moléculas da matéria (ALCÂNTARA, 2002).

Espectroscopia de Absorção

A espectroscopia de absorção, correlaciona a quantidade da energia eletromagnética absorvida pela amostra em função do comprimento de onda da radiação incidente.

Espectros eletrônicos de absorção são a razão pelas quais ocorre o efeito da absorção de radiação ultravioleta e no NIR. Entretanto, para ilustrar o processo da absorção por parte de algumas espécies, pode-se ver o que ocorre com o espectro da luz transmitida através de soluções coloridas. A obtenção do espectro de cores da lâmpada e da luz transmitida pela amostra foi feita difratando-se a luz através de uma grade de difração e fotografando-se o espectro projetado em uma parede branca (ATVARS; MARTELLI, 2002).

Assim, a intensidade da luz transmitida é medida em função do comprimento de onda. O espectro de absorção é obtido por comparação da intensidade da luz transmitida com a intensidade de um feixe de referência que não passa pela célula cheia; retirando-se a célula de amostra da passagem da luz a referência é gravada na unidade de registro antes de se colocar a amostra na célula (ALCÂNTARA, 2002). Um exemplo de Absorção é a lâmpada de mercúrio, a qual tem como principal utilidade permitir a calibração da escala dos comprimentos de onda do instrumento, devido à sua emissão em raias espectrais em comprimentos de onda bem definidos e conhecidos (ATVARS; MARTELLI, 2002).

Espectroscopia de Emissão

A espectroscopia de emissão, analisa por sua vez a quantidade de energia emitida por uma amostra contra o comprimento de onda da radiação absorvida. Consistindo-se fundamentalmente na reemissão de energia previamente absorvida pela amostra, pode-se trabalhar com a lâmpada de mercúrio, pois mede a intensidade de emissão na região do ultravioleta, sendo assim maior, portanto, se a emissão da amostra se concentra nesta região do espectro, sua utilização é muitas vezes necessárias. Normalmente a troca de uma lâmpada por outra ocorre durante a varredura do espectro de modo completamente automático, de modo que o operador muitas vezes não toma conhecimento do fato. Outra lâmpada, menos comum, mas também utilizada como acessório em espectrofotômetros, é a lâmpada de mercúrio. Sua principal utilidade é a de permitir a calibração da escala dos comprimentos de onda do instrumento, devido à sua emissão em raias espectrais, em comprimentos de onda bem definidos e conhecidos (ATVARS; MARTELLI, 2002).

Espectroscopia de Dispersão

A espectroscopia de dispersão ou espalhamento determina a quantidade da energia espalhada (dispersa) em função dos seguintes parâmetros: Comprimento de onda, ângulo de incidência e o ângulo de polarização da radiação incidente (GOUVÊA et al., 2007).

Transflectância e Transmitância

As três diferentes formas de medições da refração total da luz infravermelha, supracitadas, permitem a análise das diferentes naturezas das amostras sólidas, líquidas e pastosas dos alimentos, para medições de reflectância (proporção entre o fluxo de radiação eletromagnética incidente numa superfície) e o fluxo que é refletido (transflectância) e a transmitância (fração da luz incidente com um comprimento de onda específico, que atravessa uma amostra de matéria). O que por sua vez permite os ótimos resultados obtidos nas análises dos alimentos mediante o uso do NIR (PENSALAB, s.d). Esta Transmitância corresponde à fração da luz que incide com um comprimento de onda específica. Possibilitando assim, com que atravesse toda a matéria. No caso da utilização do NIR, a amostra pesquisada é irradiada com um comprimento de onda específico emitido pelo NIR. Este comprimento de onda emitido pelo NIR é variável. Já que é através dele que o equipamento ira classificar os diferentes átomos presentes na amostra pesquisada e faz a análise físico-química dos

alimentos. Tendo-se em vista que cada alimento possui uma capacidade distinta de absorver as ondas eletromagnéticas. Nos casos de amostras de alimentos sólidos, a luz emitida pelo NIR penetrará na amostra e interagirá com a mesma. Parte desta luz será absorvida e a outra parte será refletida. Logo a luz refletida será a luz que carrega todas as informações físico-químicas da amostra pesquisada. Existem diferentes espectroscopias NIR, como a Transmitância (TREVISAN; POPPI, 2006).

Já quando se analisa amostra líquida mediante o uso do NIR, a luz que passa pela amostra e é refletida de volta pelo topo da célula onde a amostra se encontra e a combinação da transmissão da onda eletromagnética com a reflectância. Esta combinação por sua vez é um fenômeno relacionado diretamente com a absorvância ou absorvência da luz, que por sua vez corresponde à capacidade intrínseca que os materiais têm para absorver radiações em frequências específicas (passagem inalterada de radiação pela matéria, ocasionada assim, pela saturação desta energia empregada). Sendo que uma pequena fração de radiação pode passar pelos dois estágios, sendo primeiramente absorvida e depois liberada com se fosse uma transmissão ininterrupta. Através do espectroscópio podemos separar os diferentes comprimentos de onda. Pelo fenômeno ondulatório sabe-se que a luz ao se propagar de um meio para outro, sofrendo um desvio em sua trajetória que varia de acordo com o comprimento de onda (ALCÂNTARA, 2002).

No caso do interferômetro de Michelson, um feixe de luz atravessa um espelho semitransparente. Este feixe de luz faz com que o feixe incidente seja dividido em dois: uma parte da luz atravessa o divisor de feixe até o espelho a direita, é refletido de volta para o espelho semitransparente e então refletido para o detector; a outra parte é refletida pelo espelho semitransparente até o espelho acima, então é novamente refletida passando através do espelho semitransparente até o detector. Quando estes dois componentes são recombinados, existe uma diferença de fase entre eles já que eles percorreram caminhos diferentes, e então eles interferem construtivamente ou destrutivamente dependendo do tamanho da diferença de caminho. Se os dois caminhos percorridos diferirem por um número inteiro de comprimento de onda (incluindo 0) ocorre uma interferência construtiva e um sinal forte no detector. Se eles diferirem por um número inteiro e meio (por exemplo, 0,5, 1,5 e 2,5) ocorre uma interferência destrutiva e um sinal fraco (FÍSICA.FE, 2009).

Quimiometria

A Quimiometria é o nome pelo qual há mais de 20 anos se denomina uma área multidisciplinar do conhecimento cuja definição é: a ciência que relaciona as medidas realizadas num sistema bioquímico com o estado desse sistema, através de métodos matemáticos ou estatísticos e que trata do projeto de experiências para investigar esses sistemas químicos através de um software (LAVINE, 2000; OTTO, 1999).

Infravermelho

As técnicas de espectroscopia do infravermelho tem ganhado avanços e terreno nas aplicações industriais em virtude de sua praticidade e sensibilidade (KALASINSKY, 1999; CHAMBERS; MACKENZIE *apud* MACKENZIE, 1988).

Este notável crescimento da utilização da espectroscopia no infravermelho médio nos últimos anos, e o contínuo desenvolvimento de métodos no infravermelho próximo, deve-se à procura de métodos analíticos rápidos e limpos, neste caso, evitando-se o emprego de reagentes agressivos ou a geração de resíduos danosos ao ambiente (FERRÃO et al., 2004; MORGANO, 2005; HELFER, 2006). Entre estas técnicas destaca-se a espectroscopia Raman no infravermelho próximo, que vem sendo utilizada em amostras biológicas para a quantificação e caracterização de substâncias e monitoração de processos bioquímicos (ENEJDER et al., 2005; DAHU, 2005; LAMBERT; PELLETIER, 2005; NOEL, 2005).

O espectro infravermelho médio de alimentos consiste em agrupar bandas de absorção a partir dos quais os compostos orgânicos podem ser identificados, mas são menos utilizados

para análises quantitativas devido ao baixo sinal e ao alto sinal de ruído dos instrumentos. Já os instrumentos de infravermelho próximo apresentam um baixo sinal de ruídos e interferentes, sendo mais adequado para medir quantitativamente os nutrientes (ATVARS; MARTELLI, 2002).

Sabe-se que os alimentos são compostos principalmente de matéria orgânica e uma menor fração inorgânica. As ligações moleculares mais comuns nos alimentos são entre hidrogênio, carbono, oxigênio, enxofre, fósforo e nitrogênio. A frequência da vibração entre estas moléculas implica em uma determinada absorção de luz na região infravermelha, isto é, na região que se estende além do vermelho no arco-íris - não visível para humanos, uma vez que seu comprimento de onda está acima de 700 nm. Assim o NIR se baseia no fato de que as ligações covalentes das substâncias orgânicas absorvem essa energia, usando-se essa absorção para estimar o número e tipo de ligações moleculares nas amostras. Em outras palavras, o princípio mecânico seria o de iluminar uma amostra com luz de comprimento de onda específico e conhecido da região do infravermelho próximo (ATVARS; MARTELLI, 2002).

A absorção de luz, então é medida por diferenças entre a quantidade de luz emitida pelo NIR e a quantidade de luz refletida pela amostra, relação através da qual pode-se prever a sua composição química, desde que as leituras obtidas possam ser instantâneas, efetivamente comparadas e ajustadas na matriz de um banco de dados armazenados que calibra o *software* de logística do equipamento (BASSI, 2002). Assim quando uma amostra é irradiada, a luz é absorvida seletivamente de acordo com a frequência específica de vibração das moléculas presentes e dá origem a um espectro. Por tanto quando feixe de luz infravermelha é produzido e dividido em dois raios separados conforme pode-se observar na figura 4. Um feixe de luz passa pela amostra, e o outro por uma referência que é normalmente a substância na qual a amostra está dissolvida ou misturada. Ambos os feixes são refletidos de volta ao detector, porém primeiro eles passam por divisor que rapidamente alterna qual dos dois raios entra no detector. Os dois sinais são comparados e então os dados são coletados (BASSI, 2002).

Como os compostos orgânicos também absorvem radiações na região do infravermelho do espectro. A radiação infravermelha não tem energia suficiente para excitar os elétrons e provocar transições eletrônicas, mas ela faz com que os átomos ou grupos de átomos vibrem com maior rapidez e com maior amplitude em torno das ligações covalentes que os unem. Estas vibrações são quantizadas e, quando ocorrem, os compostos absorvem energia em certas regiões do espectro. Nas vibrações, as ligações covalentes comportam-se como se fossem pequenas molas unindo os átomos. Quando os átomos vibram, só podem oscilar com certas frequências, e as ligações sofrem várias deformações. Na figura 6 é possível observarmos da luz infravermelha emitadas pelo equipamento NIR e a sua absorção pelas moléculas orgânicas registradas em números de onda (cm^{-1}) conforme a região de absorção (ALCÂNTARA, 2002).

As espectroscopias NIR em conjugação com diversas técnicas da área da quimiometria, como calibração, regressão e classificação multivariadas, possuem grande potencial e poderão trazer benefícios consideráveis na operação consistente, análise e diagnóstico de muitos processos químicos, farmacêuticos e indústrias agroindustriais (OSBONE et al., 1993).

Aplicações do NIR

A grande vantagem da aplicação da técnica do NIR é que este método analisa a identificação de certos microrganismos, como bactérias e leveduras em alimentos, tanto líquidos quanto sólidos. As análises podem ser qualitativas, as quais identificariam o tipo de microrganismos, ou então, quantitativas, que identificariam a quantidade de microrganismos existentes.

Análises qualitativas de microrganismos

A pesquisa qualitativa é basicamente aquela que busca entender um fenômeno específico em profundidade. Ao invés de estatísticas, regras e outras generalizações, a análise qualitativa trabalha com descrições, comparações e interpretações. Nas últimas décadas diversos estudos científicos que buscavam identificar bactérias e microorganismos presentes nos alimentos utilizando o NIR foram sendo desenvolvidos.

Dentre estes estudo temos o estudo realizado por Matsunaga et al. (1995), no qual buscou-se identificar e diferenciar determinados tipos de bactérias presentes em alimentos. No trabalho em questão os respectivos autores dividiram o estudo em duas etapas. Na primeira etapa os autores buscaram identificar as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* usando espectroscopia NIR. Na segunda etapa buscou-se diferenciar as bactérias *Escherichia coli* (*E. Coli*) e *Staphylococcus aureus* das bactérias *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus aureus meticolina sensíveis*. Os resultados obtidos neste estudo demonstraram que a espectroscopia NIR como um método de diferenciação das bactérias é bastante sensível. Além disso, Matsunaga et al. (1995) concluiu que além deste método identificar as bactérias ele também é bastante eficaz para identificar a concentração bacteriana.

Análises quantitativas de microrganismos

A análise quantitativa resulta em dados estatísticos que se refere ao conjunto de métodos utilizados para a descrição de um fenômeno. Trata-se de uma análise mais objetiva, mais fiel e mais exata, pois necessita ser mais controlada devido aos resultados estatísticos que são empregados neste processo.

De acordo com Rodriguez et al. (2004), que utilizou o NIR para uma rápida detecção e identificação de contaminação bacteriana em líquidos. A complexa composição bioquímica das bactérias com rendimentos vibracionais podem ser utilizadas para a classificação e identificação de microrganismos. Foram identificadas as *Escherichia coli*, *Bacillus amyloliquifaciens*, *Psudeomas arruginosa*, *Bacillus cereus* e *Listeria innocua*, assim, para colher os dados e eliminar as células matriz, que tem um forte sinal através do NIR. As medições foram feitas através de uma reflexão difusa de esfera de integração com a amostra. Componentes principais de análise mostraram a agregação de cepas ricas em informações, na região espectral de 6000-4000 cm⁻¹. O método distinguiu então, os diferentes isolamentos de *Escherichia coli* e a conclusão de identificação entre a relação de um novo isolado e uma das espécies em estudo. Esta metodologia pode permitir a rápida avaliação do potencial de contaminação bacteriana em líquidos com um mínimo de preparo de amostras.

Lin et al. (2004) neste estudo também foi avaliada a viabilidade de ondas visíveis e de curto infravermelho próximo (SW-NIR) e reflexão difusa (600-1100 nm) para quantificar a carga microbiana em carne de frango e de desenvolver uma metodologia rápida para a monitorização do aparecimento de deterioração. Para a realização deste estudo foram utilizados 24 pré-peitos de frango muscular frescos, preparados e armazenadas a 21 graus Celsius (°C) por 24 horas (h). Sendo a viabilidade de ondas visíveis e de SW-NIR utilizado para detectar e quantificar a carga microbiana no peito de frango muscular a intervalos de tempo de 0, 2; 4; 6; 8; 10; 12 e 24 h. Já os espectros foram coletados no modo de reflectância difusa (600-1100 nm). Cada amostra pesquisada foi submetida ao análise dos componentes de análise de componentes principais (PCA) determinada pelo método da propagação placa em 32 °C por 48 h. Análise de PCA, foi feita por mínimos quadrados parciais (PLS), para o desenvolvimento de modelos de previsão. A análise de componentes principais neste estudo deixou uma clara separação das amostras realizadas 8 h ou mais, em comparação com as amostras de 0 h (controle). Mostrou um ótimo modelo por PLS, necessários para oito variáveis latentes de frango de músculos ($r = 0,91$, $SEP = 0,48 \log. UFC g^{-1}$). Foi então,

visível de acordo com Lin et al. (2004) que a viabilidade de ondas visíveis e de SW-NIR combinado com análise de PCA é capaz de perceber a mudança da carga microbiana no músculo uma vez que a análise de PCA do frango aumenta ligeiramente acima de 1 log ciclo. A quantificação precisa das cargas bacteriana em frango muscular pode ser calculada a partir da base de predição método de PLS. Este método permitiria mais expedita para aplicações de controle de qualidade na indústria alimentar.

Conforme os dados expostos anteriormente é possível observarmos que a espectroscopia uma técnica com um potencial considerável para a monitorização de a segurança alimentar e dos alimentos que entram em deterioração, podendo adquirir um instantâneo metabólico e quantificar a carga microbiana de amostras de gêneros alimentícios e que este método permite um melhor controle da qualidade dos alimentos nas indústrias alimentícias.

Portanto com o presente estudo pode-se concluir que o NIR é um método altamente eficaz não só para a quantificação e qualificação de microorganismos presentes em alimentos, como também é um método para classificar as espécies de microorganismos presentes nos alimentos, e o grau de contaminação dos alimentos. Portanto espera-se que o presente estudo incentive a realização de novas pesquisas sobre o uso do NIR como método de quantificação e qualificação de microorganismos presentes nos alimentos. Afim de que tais pesquisas evidenciem de forma mais fidedigna o grau de eficácia do NIR como método de identificação da contaminação de alimentos por microorganismos na agroindústria.

REFERÊNCIAS

1. ALCANTRA, P.J. **Espectroscopia Molecular em 2002**. In: Curso Física Moderna, 2, 2002, Pará. Anais... Pará: Departamento de Física, Universidade Federal do Pará, 2002. p.1-5.
2. ANGELFIRE. **Introdução Teórica Espectroscopia Vibracional (infravermelho)**. s.d. Disponível em: <<http://www.angelfire.com/ab/prvs/infrav.html>>. Acesso em: 14 set. 2009.
3. ATVARS, T.D.Z., MARTELLI, C. **Espectroscopia Eletrônica de Absorção**. Chemkeys, p.1-9, 2002.
4. BASSI, B. M. S. Chemometrics. **Analytical Chemistry**, v.72, n.12, p. 91-98, 2002.
5. BORGES, F. M. O. ET al. Espectroscopia de Reflectância no Infravermelho Próximo NIRS. Revista CFMV, v.24, n.0, p.0, 2001.
6. CHALMES, J. M.; MACKENZIE, M. W. Solid sampling techniques, In: MACKENZIE, M. W. **Advances in applied Fourier transform infrared spectroscopy**. Chichester: John Wiley & Sons. 1988. p. 105-188.
7. DAHU, Q.I. et al. **Quantitative concentration measurements of creatinine dissolved in water and urine using Raman spectroscopy and a liquid core optical fiber**. Journal of Biomedical Optics. v.10, n.3, p. 031110, 2005.
8. ENEJDER, A.M.K. et al. **Raman Spectroscopy for noninvasive glucose measurements**. Journal of Biomedical Optics. v.10, n.3, p. 031114, 2005.
9. FERRÃO, M. F. et al. **Determinação simultânea dos teores de cinza e proteína em farinha de trigo empregando NIRR-PLS e DRIFT-PLS**. Ciênc Tecnol Aliment. v.24, n.0, p. 333-340, 2004.
10. GOUVEA, D. et al. **Efeito da temperatura de calcinação nas propriedades de ossos bovinos para a fabricação de porcelana de ossos**. Cerâmica. v.53, n.328, p. 423-428, 2007.
11. HELFER, G. et al. **Aplicação de métodos de análise multivariada no controle qualitativo de essências alimentícias empregando espectroscopia infravermelho médio**. Ciênc Tecnol Aliment, v.26, n.4, p.779-786, 2006.
12. FÍSICA.FÉ. **Interferômetro de Michelson**. 2009. Disponível em:< <http://fisica.fe.up.pt/luz/michelson.html>>. Acesso em: 18 out. 2009.
13. KALASINSKY, K.S. **Industrial applications of vibrational spectroscopy**. Trend Anal Chern, v. 9, n.3, p.83-89, 1990.
14. LAMBERT, J.L.; PELLETIER, C. C. **Glucose determination in human aqueous humor with Raman spectroscopy**. Journal of Biomedical Optics, v.10, n.3, p. 031114 2005.
15. LAVINE, B.K. **Chemometrics**, Analytical Chemistry. v.72, n.12, p. 91-98, 2000.
16. MASSART, D.L. et al. **Chemometrics: a textbook**. Elsevier: Amsterdam, 1988.
17. MORGANO, M.A. et al. **Determination of protein in raw coffee for NIR spectroscopy and regression PLS**. Ciênc. Tecnol. Aliment. v.25, n.1, p. 25-31, 2005.
18. NOEL, J.C.B. **Remote temperature monitoring in ocular tissue using confocal Raman spectroscopy**. Journal of Biomedical Optics. v.10, n.3, p. 031109, 2005.
19. OSBORNE, B. G. et al. **Practical NIR Spectroscopy**. 2.ed. Longman: 1993.

20. PENSALAB. **NIRFlex N-500 Uma nova geração de Espectrômetros NIR-FT.** s.d. Disponível em: <<http://nirs.net/prod01.htm>>. Acesso em: 14 set. 2009.
21. TEODORO, A. J.; ANDRADE, E.C.; MANO, B. A. **Avaliação da utilização de embalagem em atmosfera modificada sobre a conservação de sardinhas (*Sardinella brasiliensis*).** Revista Ciências e tecnologia em alimentos. v.27, n.1, p. 158-161, 2007.
22. TREVISAN, M.G.; POPPI, R. J. **Química Analítica de Processos.** Revista Quím Nova. v.29, n.5, p.1065-1071, 2006.