

Artigo

Métodos de Análise Exploratória Aplicadas ao Ensino de Espectroscopia na Região do Infravermelho

Schneider, M.; Vacaro, B. B.; Marcelo, M. C. A.; Ferrão, M. F.*

Rev. Virtual Quim., 2018, 10 (2), 229-243. Data de publicação na Web: 26 de março de 2018

<http://rvq.sbq.org.br>

Exploratory Analysis Methods Applied to the Infrared Spectrometry Teaching

Abstract: Since the chemical analysis advancement has required increasingly chemometric applications, teaching materials became important for the infrared spectrometry teaching. In this sense, it is proposed an experimental activity for undergraduate and graduate students, where hierarchical cluster analysis (HCA) and principal component analysis (PCA) are applied in infrared spectra of organic solvents. Four studies were accomplished in a gradual manner, starting with the analysis of the simplest groups to the most complex group. The procedure analysis of the hydrocarbon, alcohols and ketones samples effectively illustrated the concepts of multivariate exploratory analysis, HCA and PCA. In addition, the resulting spectra clearly demonstrated the differences of the organic functions and aromaticity and also the used software proved to be adequate for users with little prior knowledge in this area.

Keywords: Teaching; infrared spectrometry; HCA; PCA; exploratory analysis.

Resumo

Uma vez que o avanço das análises químicas vem exigindo cada vez mais aplicações quimiométricas, materiais didáticos de auxílio aos professores de ensino de espectroscopia molecular são de suma importância. Neste sentido, propõe-se uma atividade experimental para alunos de graduação e pós-graduação, onde aplicam-se análise por agrupamentos hierárquicos (HCA) e análise por componentes principais (PCA) em espectros na região do infravermelho de solventes orgânicos. Foram realizados 4 estudos de forma gradual, iniciando-se com as análises com grupos mais simples a conjunto de análises mais complexos. O procedimento de análise das amostras de hidrocarbonetos, álcoois e cetonas ilustrou de forma efetiva os conceitos da análise exploratória multivariada, HCA e PCA. Além disso, os espectros na região do infravermelho resultantes demonstraram claramente a diferenciação das funções orgânicas e aromaticidade e o software utilizado mostrou-se adequado para usuários com pouco conhecimento prévio nesta área.

Palavras-chave: Ensino; espectroscopia no infravermelho; HCA; PCA; análise exploratória.

* Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Química, Av. Bento Gonçalves 9500, CEP 91501-970, Porto Alegre-RS, Brasil.

✉ marco.ferrao@ufrgs.br

DOI: [10.21577/1984-6835.20180019](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20180019)

Métodos de Análise Exploratória Aplicadas ao Ensino de Espectroscopia na Região do Infravermelho

Manuella Schneider,^a Bernardo Brito Vacaro,^a Marcelo Caetano Alexandre Marcelo,^a Marco Flôres Ferrão^{a,b,*}

^a Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Química, Av. Bento Gonçalves 9500, CEP 91501-970, Porto Alegre-RS, Brasil.

^b Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Bioanálítica (INCT Bioanálítica), CEP 13084-971, Campinas-SP, Brasil.

* marco.ferrao@ufrgs.br

Recebido em 21 de novembro de 2017. Aceito para publicação em 21 de março de 2018

1. Introdução

2. Materiais e métodos

3. Resultados e discussões

3.1. Análise exploratória 1: hidrocarbonetos

3.2. Análise exploratória 2: hidrocarbonetos e álcoois

3.3. Análise exploratória 3: hidrocarbonetos e cetonas

3.4. Análise exploratória 4: hidrocarbonetos, álcoois e cetonas

4. Conclusões

1. Introdução

Atualmente, inserida na grade curricular de programas de graduação e pós graduação em diversas áreas acadêmicas, a quimiometria é uma ferramenta que possibilita a análise estatística de dados químicos, simulações e planejamento de experimentos.¹ Neste sentido, o mercado de trabalho e a pesquisa científica, acompanhados do avanço das análises químicas, formam um contexto onde é importante o conhecimento desta área, quimiometria, no âmbito da formação profissional.

Ainda que algumas propostas tenham sido recentemente publicadas,²⁻⁶ materiais didáticos destinados a cursos introdutórios são escassos comparados à crescente aplicação da quimiometria. Uma vez que os alunos têm pouco contato prévio com a análise exploratória multivariada, seria adequado o uso de dados químicos de cunho geral, focando em uma proposta destinada à concretização do conhecimento em quimiometria.^{7,8}

A análise exploratória multivariada destaca-se no ensino de espectroscopia molecular devido ao seu amplo campo de aplicação, e muitas vezes, apresenta-se indispensável em tratamentos de dados

químicos onde têm-se um grande número de variáveis.⁹⁻¹¹ Neste sentido, a análise por componentes principais (PCA, do inglês *principal component analysis*) e por agrupamento hierárquico (HCA, do inglês *hierarchical cluster analysis*) são os métodos multivariados mais utilizados.¹²⁻¹⁴ Ambos são métodos não supervisionados de reconhecimento de padrões e, portanto, não há a necessidade de conhecimento prévio de identificação das amostras.

A PCA permite a interpretação visual da estrutura dos dados através de novos vetores independentes, denominadas de componentes principais (PC). Neste sentido, o método projeta os dados multivariados em um novo sistema de coordenadas, permitindo observar as diferenças entre as variáveis e possíveis relações entre as amostras.^{15,16} A primeira componente principal (PC1) é a combinação linear de máxima variância dos dados originais. Já a PC2, que é ortogonal à PC1, apresenta a maior variância dos dados originais neste subespaço. Seguindo esta lógica, as componentes subsequentes são ortogonais às anteriores e descrevem a variância restante.^{16,17}

Matematicamente, o procedimento de análise por componentes principais é caracterizado pela decomposição da matriz X em duas matrizes,

$$X = P^T T + E \quad (1)$$

onde P^T é a matriz transposta de pesos, T é a matriz de escores e E , a de resíduos. Os gráficos de escores representam as amostras e estes podem ser explicados através dos pesos, os quais fornecem informações acerca das variáveis.¹⁴

A HCA, por outro lado, conecta as amostras baseando-se na distância direta entre os objetos (ou amostras) em um gráfico denominado dendrograma. O objetivo é reunir os objetos (ou amostras) de forma que os mais similares entre si estejam em um mesmo grupo no formato de uma árvore

hierárquica, representados no dendrograma.¹⁸ Após decidida a medida de distância a ser utilizada, onde a distância Euclidiana e Mahalanobis são as mais comuns, são calculadas as distâncias entre todos os pares de amostras. Sucessivamente, as amostras são agrupadas de forma que cada iteração é construída com base nos grupos já definidos em etapas anteriores até que seja formado um único grande grupo.^{16,18} Outro critério a ser definido é o método de agrupamento, onde os objetos de um grupo podem se ligar a outro segundo a distância média entre eles, pela distância mais próxima ou ainda a mais distante, entre outros métodos.¹⁶

A análise exploratória multivariada possibilita a extração de informações significativas de um grande volume de dados, projetando-os em uma dimensão menor. Neste sentido, esta metodologia é muito útil para tratar os dados de espectros na região do infravermelho e é frequentemente utilizada para tal objetivo.^{19,20} Além disso, este equipamento é de uso frequente nos cursos de graduação do Brasil e de extrema importância para a pesquisa e as indústrias.

Destaca-se a análise de compostos orgânicos por espectroscopia na região do infravermelho, onde é possível observar uma impressão digital para cada composto orgânico, apresentando suas bandas características.⁷ Além disso, solventes orgânicos são facilmente encontrados em laboratórios de ensino, de rápida análise pelo espectrômetro na região do infravermelho. Estes ainda podem auxiliar na compreensão dos conceitos de PCA e HCA, quando utilizados para a construção da matriz de dados, uma vez que as estruturas químicas dos solventes são previamente conhecidas pelos alunos.²¹

Portanto, o objetivo deste trabalho é propor uma atividade experimental para um curso de espectroscopia molecular, com alunos de diversas áreas de formação em programas de graduação e pós-graduação. Este exemplo didático consiste em analisar diferentes solventes orgânicos através da espectroscopia na região do infravermelho e

aplicar algoritmos de análise exploratória multivariada (HCA e PCA) através de programa computacional de uso livre (Chemostat®).

2. Materiais e métodos

Os reagentes disponíveis nos laboratórios de ensino da Universidade Federal do Rio Grande do Sul foram utilizados neste trabalho. Foram selecionados 7 hidrocarbonetos, 7 álcoois e 4 cetonas: tolueno (HIA1), xileno (misturas de isômeros) (HIA2), heptano (HID1), hexano (HID2), ciclooctano (HID3), octano (HID4), ciclohexano (HID5), butanol (ALC1), iso-butanol (ALC2), 2-butanol (ALC3), iso-propanol (ALC4), terc-butanol (ALC5), metanol (ALC6), etanol (ALC7), butanona (CET1), acetona (CET2), ciclohexanona (CET3) e 2-octanona (CET4). Todos os reagentes empregados eram de grau analítico.

Os espectros foram obtidos na região do infravermelho, empregando um espectrômetro Perkin Elmer Spectrum 400 equipado com um acessório de refletância total atenuada com cristal de seleneto de zinco, na faixa de 4000 a 650 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e 16 varreduras.

A análise exploratória multivariada, PCA e HCA, foi realizada no software Chemostat®²¹ e as regiões dos espectros 2310-2280 cm^{-1} (do CO_2) e 4000-3701 cm^{-1} foram excluídas para melhorar resultados. Foram utilizadas a distância euclidiana e o método de agrupamento método do vizinho mais distante (*complete linkage*) para a HCA, e os dados foram posteriormente centrados na média para realizar a PCA.

Quatro estudos sequenciais foram realizados: Análise exploratória I, com

hidrocarbonetos; Análise exploratória II, com hidrocarbonetos e álcoois; Análise exploratória III, com hidrocarbonetos e cetonas; análise exploratória IV, com hidrocarbonetos, álcoois e cetonas.

3. Resultados e discussões

3.1. Análise exploratória 1: Hidrocarbonetos

Inicialmente, os espectros de hidrocarbonetos foram utilizados como dados de entrada na HCA e PCA com o intuito de observar a separação resultante em função dos compostos orgânicos formados apenas por carbono e hidrogênio.

A Figura 1 ilustra os gráficos obtidos na análise exploratória relacionado aos espectros de infravermelho de hidrocarbonetos, sendo em (a) apresentado o dendrograma; em (b) o gráfico de escores da PC1xPC2; e em (c) e (d) os pesos da PC1 e da PC2, respectivamente.

A separação das amostras em três grupos distintos é observada no dendrograma da HCA, Figura 1.a, os acíclicos, cíclicos e aromáticos. Este comportamento corrobora com o visualizado no gráfico de escores da PC1 x PC2 (Figura 1.b), representativo de 84,32% da variância total. Os hidrocarbonetos alicíclicos posicionaram-se com escores negativos na PC1 e PC2, os acíclicos negativos na PC1 e positivos na PC2, enquanto que as duas amostras de aromáticos apresentaram escores positivos na PC1, mas escores com sinais opostos para a PC2.

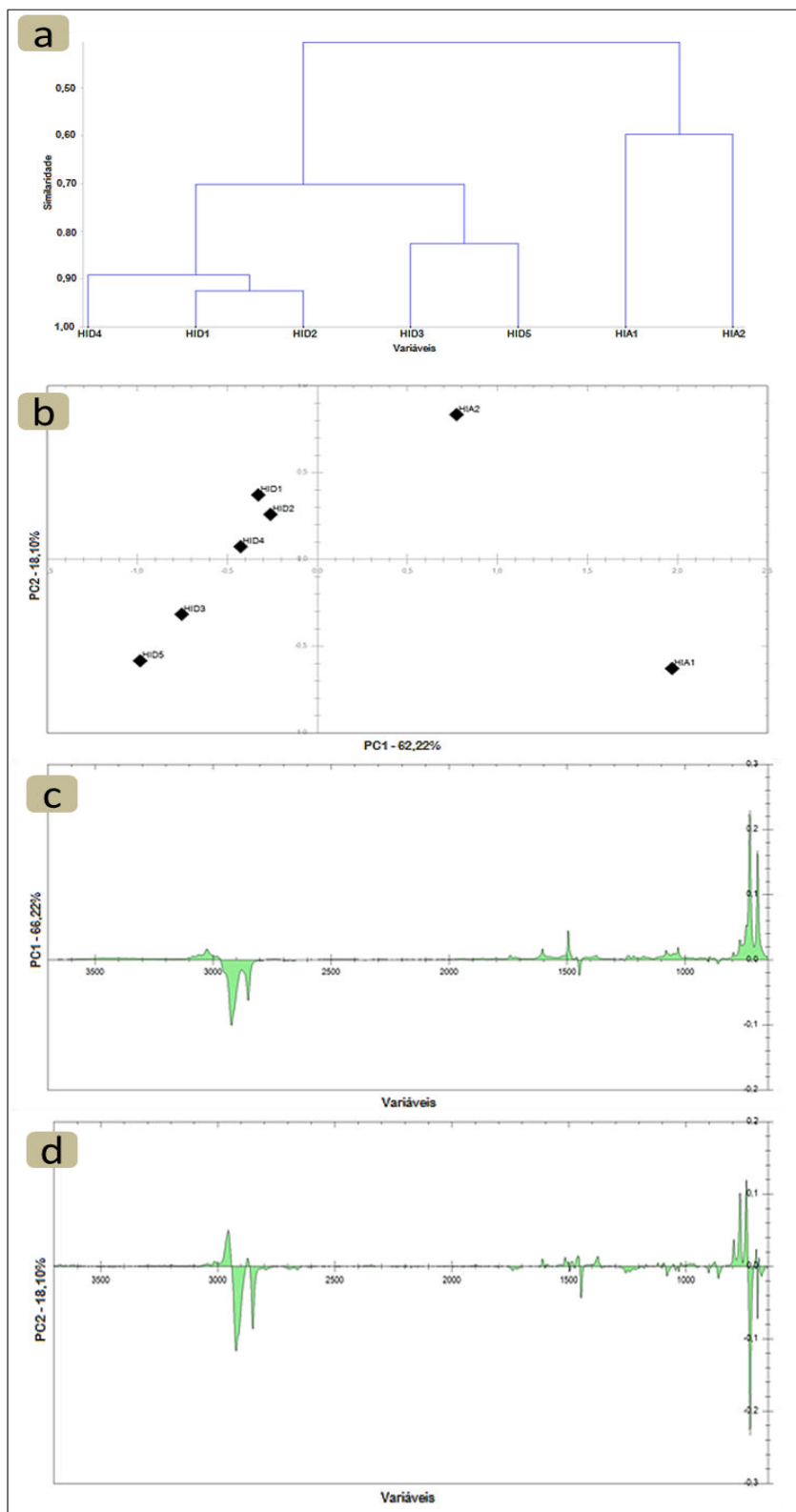


Figura 1. Gráficos resultantes da HCA e PCA dos espectros na região do infravermelho das amostras de hidrocarbonetos, onde (a) dendrograma; (b) escores da PC1xPC2; (c) pesos da PC1 e (d) pesos da PC2

O gráfico de pesos da PC1, conforme Figura 1.c, tem como principais contribuintes as bandas positivas associadas aos compostos aromáticos, apresentando sinais entre 3030-3000 cm^{-1} referentes aos estiramentos dos hidrogênios ligados aos carbonos do anel (C-H), sinais na faixa 1600-1450 cm^{-1} referentes aos estiramentos C=C dos carbonos dos anéis aromáticos e em 900-650 cm^{-1} referentes as deformações angulares fora do plano do anel dos hidrogênios ligados aos carbonos aromáticos. Já os pesos negativos são característicos dos hidrocarbonetos alifáticos, destacando-se os sinais nas regiões de 3000-2850 cm^{-1} e 1470-1370 cm^{-1} referentes aos estiramentos e deformações angulares dos grupos CH_2 e CH_3 . Já no gráfico dos pesos para a PC2, Figura 1.d, destacam-se os sinais com escores positivos em 3000-2950 cm^{-1} e negativos em 2950-2840 cm^{-1} responsáveis pela diferenciação entre os compostos com os sinais de CH_3 e CH_2 , respectivamente. Adicionalmente nas faixas de 810-730 cm^{-1} e 730-650 cm^{-1} distinguem-se, respectivamente, os sinais referentes as deformações angulares fora do plano (=C-H) para aromáticos dissubstituídos (xilenos) com pesos positivos e monossubstituídos (tolueno) com pesos negativos.

3.2. Análise exploratória 2: Hidrocarbonetos e álcoois

Em conjunto com espectros dos hidrocarbonetos, adicionou-se espectros de álcoois a fim de observar o comportamento quando os espectros de diferentes funções orgânicas são analisados simultaneamente. Para melhor entendimento, os hidrocarbonetos aromáticos foram excluídos

da matriz de dados. A Figura 2 apresenta os resultados para os espectros de infravermelho de álcoois e hidrocarbonetos, com exceção dos aromáticos, sendo em (a) apresentado o dendrograma; em (b) o gráfico de escores da PC1xPC2; e em (c) e (d) os pesos da PC1 e da PC2, respectivamente.

Como esperado, o HCA (Figura 2.a) agrupou as amostras em dois grupos principais, hidrocarbonetos e álcoois. O grupo de hidrocarbonetos é constituído de 2 grupos, os cíclicos e os acíclicos enquanto que o grupo de álcoois é dividido em outros 2 grupos, os álcoois primários e outro com os álcoois secundários e terciários.

O gráfico de escores PC1xPC2 (Figura 2.b) representa aproximadamente 70% da variação total. Os álcoois apresentam escores positivos para a PC1, enquanto que os hidrocarbonetos, escores negativos.

Observando os pesos positivos da PC1 na Figura 2.c, destaca-se uma banda larga entre 3600-3100 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação entre oxigênio e hidrogênio da hidroxila (O-H), característica dos álcoois. Já os escores negativos apresentam bandas características de hidrocarbonetos, na faixa 3000-2840 cm^{-1} .

Conforme a Figura 2.d, os pesos da PC2 são os responsáveis pela separação dos álcoois primários, com pesos negativos, dos secundários e terciários, com pesos positivos. A principal região do infravermelho responsável por distinguir os álcoois primários, secundários e terciários ocorre entre 1050 e 1150 cm^{-1} , do estiramento de C-O. Álcoois primários absorvem em menores comprimentos de onda, 1050 cm^{-1} , conforme intensa banda negativa no gráfico de pesos da PC2.

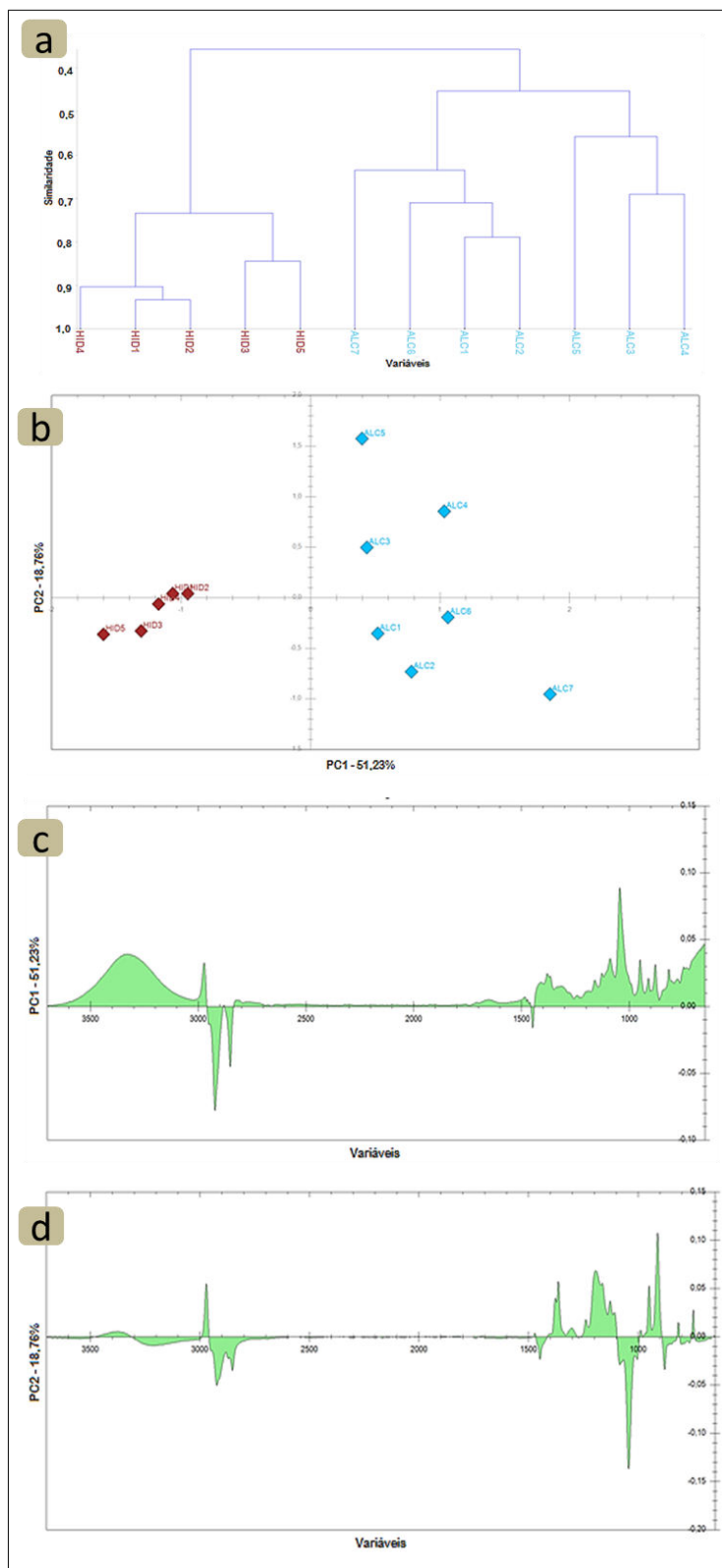


Figura 2. Gráficos resultantes da HCA e PCA dos espectros na região do infravermelho das amostras de hidrocarbonetos e álcoois, onde (a) dendrograma; (b) escores da PC1xPC2; (c) pesos da PC1 e (d) pesos da PC2

3.3 Análise exploratória 3: Hidrocarbonetos e cetonas

Neste outro exemplo didático, utilizou-se os espectros de infravermelho das amostras de hidrocarbonetos e de cetonas com a finalidade de observar a separação das funções orgânicas, assim como a caracterização de aromáticos.

Os gráficos relacionados aos resultados de HCA e PCA para os espectros de infravermelho das amostras de hidrocarbonetos e cetonas estão apresentados na figura 3, onde a) dendrograma; b) escores da PC1xPC2; c) pesos da PC1 e d) pesos da PC2.

O dendrograma (Figura 3.a) ilustrou a separação de três principais grupos: hidrocarbonetos aromáticos, hidrocarbonetos alifáticos e cetonas não aromáticas. No grupo de hidrocarbonetos alifáticos, ainda ocorre a separação dos hidrocarbonetos cíclicos dos acíclicos.

Estes três grupos também foram observados no gráfico de escores da PC1 x PC2 na Figura 3.b, onde representam 73,54% da variância total dos dados. Negativos na PC1 e PC2, localizam-se os hidrocarbonetos aromáticos. Os hidrocarbonetos não aromáticos estão negativos na PC1 e positivos na PC2. Já as cetonas estão positivas na PC1 e predominantemente positivas na PC2.

Para explicar a projeção no novo eixo de coordenadas, é essencial a visualização dos pesos da PC1 e PC2. Conforme a Figura 3.c, o gráfico de pesos da PC1 mostrou a influência

de toda a região de impressão digital das cetonas, principalmente o sinal relacionado ao estiramento do grupo carbonila ($1705-1725\text{ cm}^{-1}$). Já os principais pesos negativos, relacionados ao grupo de 7 hidrocarbonetos, representam os estiramentos C-H tanto de alifáticos ($2975-2865\text{ cm}^{-1}$), quanto de aromáticos ($3080-3010\text{ cm}^{-1}$). No gráfico de pesos da PC2 (Figura 3.d), observa-se os pesos positivos referente ao estiramentos C-H ($2975-2865\text{ cm}^{-1}$) dos não aromáticos, assim como os pesos negativos relacionados aos estiramentos C-H ($3080-3010\text{ cm}^{-1}$) dos aromáticos, além das deformações fora do plano ($800-650\text{ cm}^{-1}$). As cetonas, com escores positivos, apresentaram pesos característicos de carbonilas ($1705-1725\text{ cm}^{-1}$).

3.4. Análise exploratória 4: Hidrocarbonetos, álcoois e cetonas

Com o propósito de analisar resultados mais complexos, os dados espectroscópicos das amostras de hidrocarbonetos, álcoois e cetonas foram analisados em conjunto.

Neste exemplo, foi possível observar as principais diferenças presentes nas amostras de hidrocarbonetos, cetonas e álcoois, como funções químicas, aromaticidade e ramificações.

O dendrograma, gráficos de escores e de pesos resultantes da análise exploratória do conjunto de espectros de infravermelho das amostras de hidrocarbonetos, álcoois e cetonas são apresentados nas Figuras 4, 5 e 6, respectivamente.

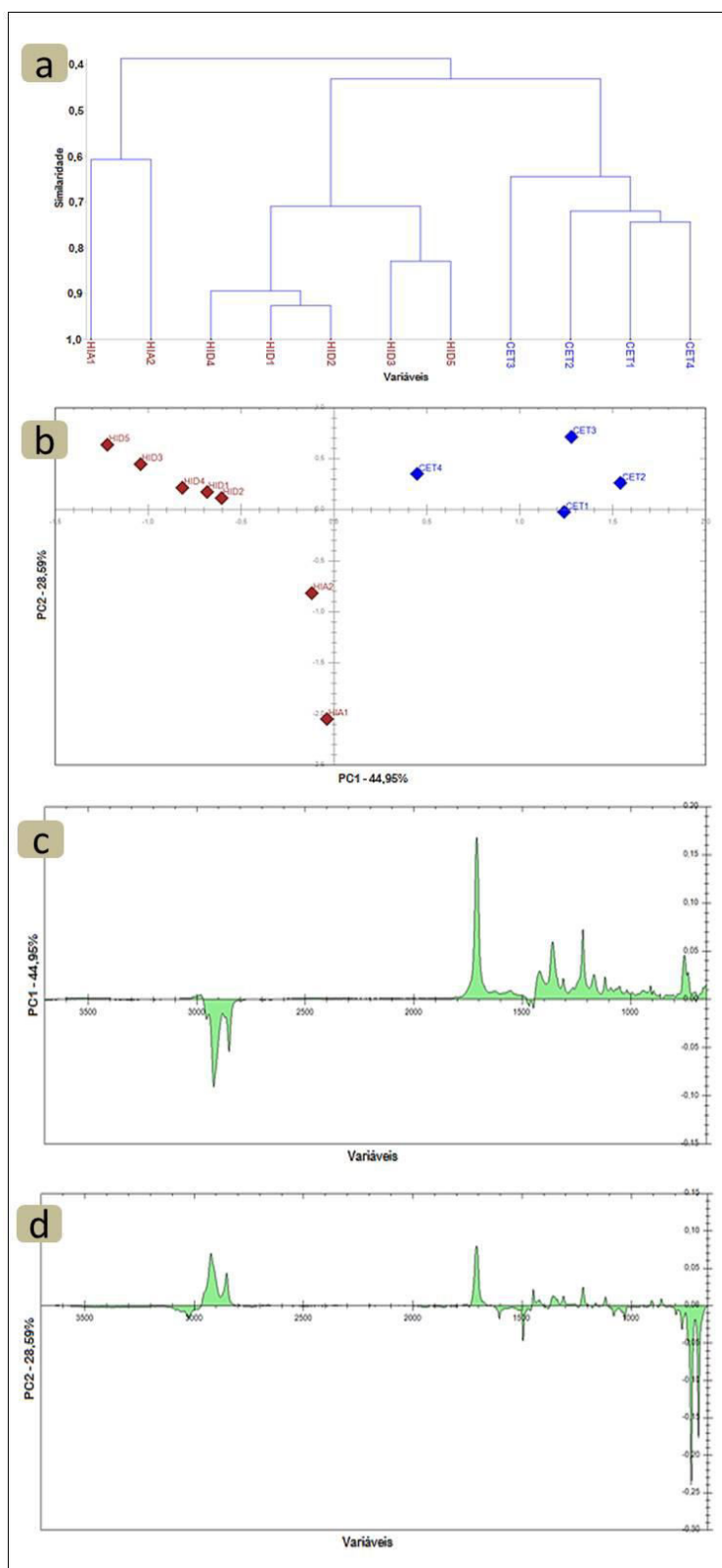


Figura 3. Gráficos resultantes da HCA e PCA dos espectros na região do infravermelho das amostras de hidrocarbonetos e cetonas, onde (a) dendrograma; (b) escores da PC1xPC2; (c) pesos da PC1 e (d) pesos da PC2

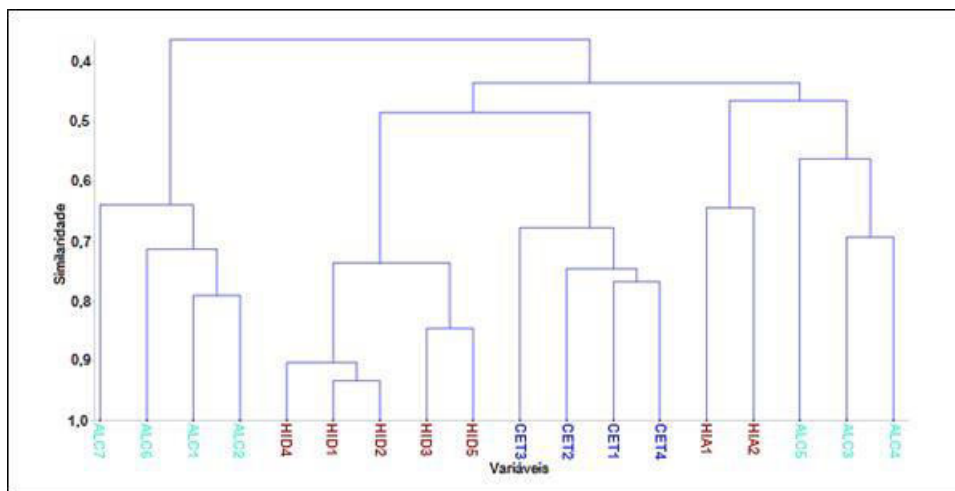


Figura 4. Dendrograma resultante da HCA dos espectros na região do infravermelho das amostras de hidrocarbonetos, álcoois e cetonas

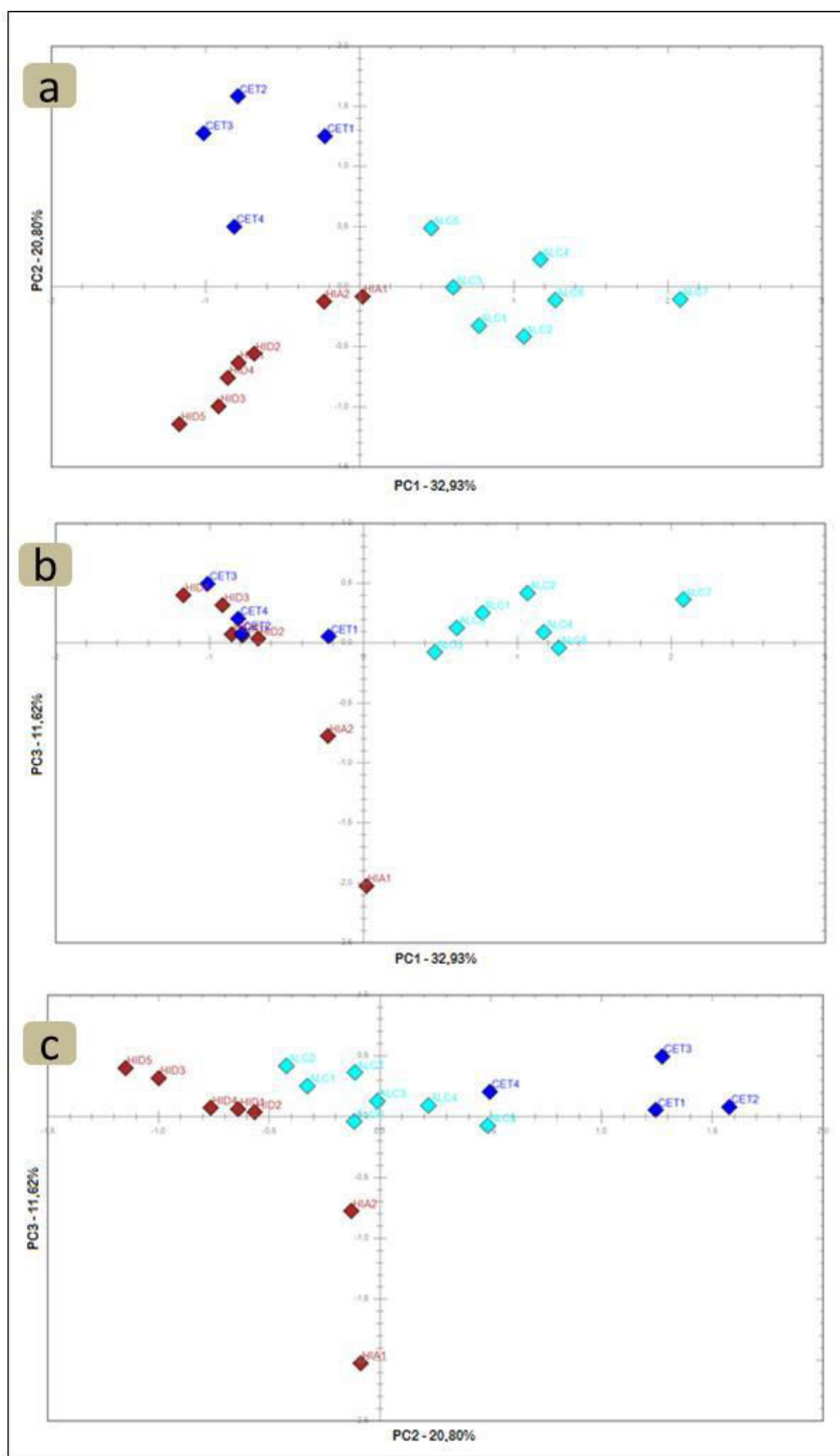


Figura 5. Gráficos de escores resultantes da PCA dos espectros na região do infravermelho das amostras de hidrocarbonetos, álcoois e cetonas, onde a) PC1 x PC2; b) PC1 x PC3 e c) PC2 x PC3

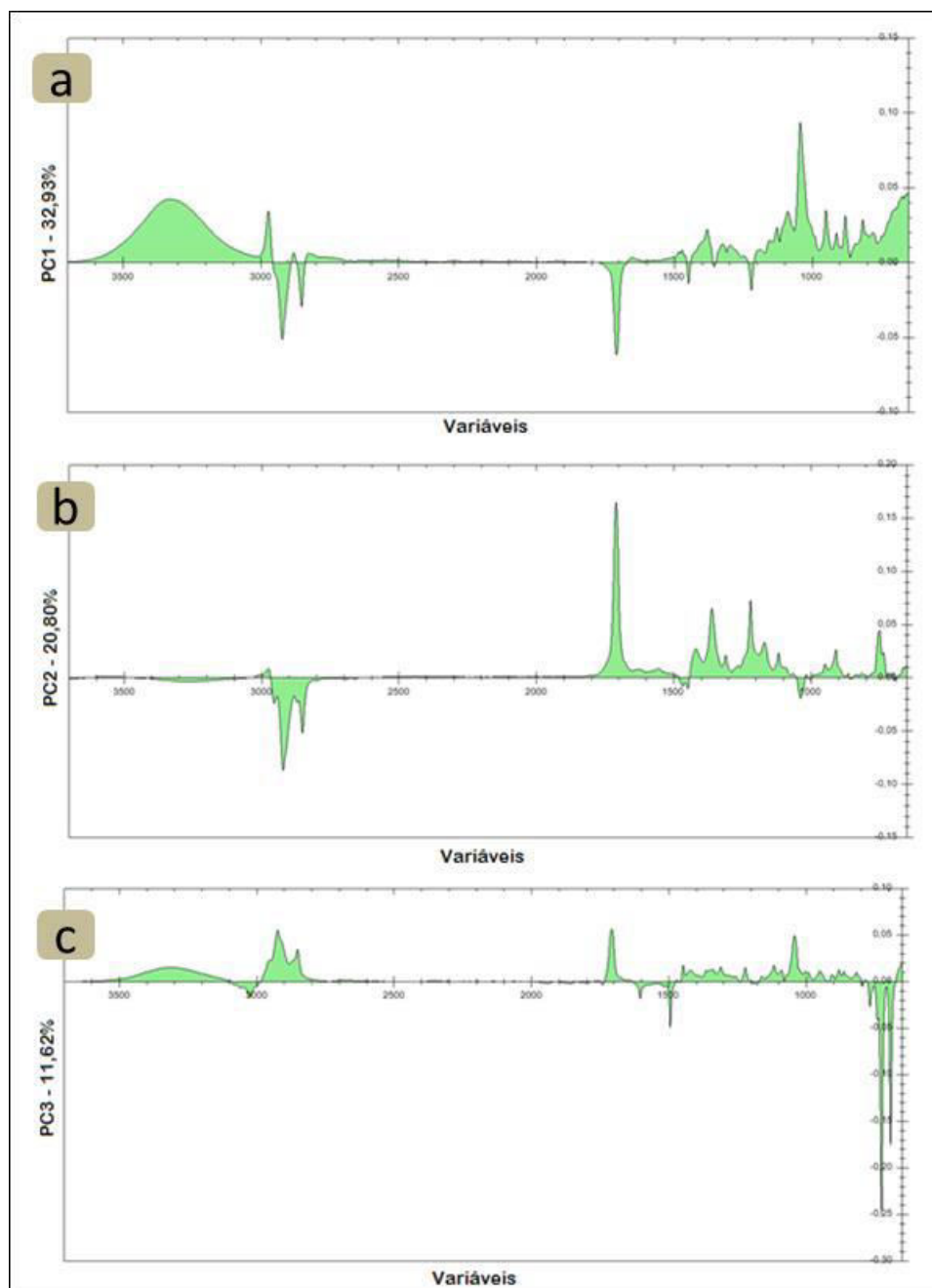


Figura 6. Gráficos de pesos resultantes da PCA dos espectros na região do infravermelho das amostras de hidrocarbonetos, álcoois e cetonas, onde a) PC1; b) PC2 c) PC3

O dendrograma representado na Figura 4 separa as amostras em 4 grupos: um primeiro que agrupa os álcoois primários, um segundo que agrupa os hidrocarbonetos alifáticos, um terceiro contendo as cetonas e um quarto contendo os hidrocarbonetos aromáticos e álcoois secundários e terciários. Da mesma forma que os exemplos didáticos anteriores,

os hidrocarbonetos não aromáticos também foram divididos em cíclicos e acíclicos.

O gráfico de escores da PC1xPC2 (Figura 5.a) descreve 53,73% da variância total e ilustra a separação dos três grupos funcionais. Os álcoois encontram-se positivos na PC1 e ligeiramente divididos nos eixos positivo e negativo da PC2. As cetonas estão negativas na PC1, mas com escores positivos

na PC2 e o terceiro grupo funcional, os hidrocarbonetos, apresentam escores predominantemente negativos na PC1 e negativos para a PC2.

Ao observar os gráficos b e c da Figura 5, é possível salientar o mesmo comportamento das amostras para a PC1 e PC2, contudo a PC3 presente em ambos gráficos no eixo y é caracterizada principalmente pelos escores negativos de hidrocarbonetos aromáticos. As amostras remanescentes localizam-se majoritariamente no eixo positivo da PC3.

O gráfico de pesos da PC1, Figura 6.a, apresenta os pesos positivos referentes aos álcoois em aproximadamente 3300 cm^{-1} referente ao estiramento do grupo O-H. Já os principais pesos no eixo negativo são os do grupo de hidrocarbonetos ($2975\text{-}2865\text{ cm}^{-1}$) e o das cetonas ($1705\text{-}1725\text{ cm}^{-1}$).

Uma vez que a PC2 foi a responsável pela separação das cetonas, com escores positivos, dos hidrocarbonetos, com escores negativos, é possível observar as bandas características deste perfil nos pesos da PC2 (Figura 6.b). Destaca-se os pesos positivos referentes ao grupo carbonila das cetonas ($1705\text{-}1725\text{ cm}^{-1}$) e, nos pesos negativos, a

região de estiramento do C-H ($2975\text{-}2865\text{ cm}^{-1}$) referente ao grupo de hidrocarbonetos. Levemente negativo, visualiza-se o peso negativo do estiramento O-H, em 3300 cm^{-1} .

Os pesos negativos no gráfico da PC3 (Figura 6.c) são referentes às bandas aromáticas dos hidrocarbonetos, destacando-se a região $3080\text{-}3010\text{ cm}^{-1}$ referente aos estiramentos $C_{ar}\text{-H}$ e a região $800\text{-}650\text{ cm}^{-1}$ das deformações fora do plano. Já os pesos positivos são relacionados às funções álcool (3300 cm^{-1}), hidrocarbonetos alifáticos ($2975\text{-}2865\text{ cm}^{-1}$) e cetonas ($1705\text{-}1725\text{ cm}^{-1}$).

Um outro aspecto importante que pode ser extraído da comparação entre os resultados para PCA dos 4 estudos é obtido pela análise da Tabela 1, onde a variância acumulada pelas 2 primeiras componentes principais é dependente do número de espectros utilizados. Quanto maior o número de compostos utilizados, menor é a variância explicada pelas 2 primeiras componentes principais e para os 3 primeiros estudos são acumulados mais de 2/3 do total, enquanto para o estudo 4 esse valor é apenas $\frac{1}{2}$ do total.

Tabela 1. Valores de variância (%V) e variância acumulada (%VA) para as análises por componentes principais dos 4 distintos estudos

	Estudo 1 (7)		Estudo 2 (12)		Estudo 3 (11)		Estudo 4 (18)	
	%V	%VA	%V	%VA	%V	%VA	%V	%VA
PC1	66,22	66,22	51,23	51,23	44,95	44,95	32,93	32,93
PC2	18,10	84,32	18,76	69,99	28,59	73,54	20,80	53,73
PC3	11,20	95,52	10,27	80,26	8,49	82,03	11,62	65,35
PC4	3,60	99,12	6,31	86,57	6,15	88,18	10,12	75,47
PC5	0,58	99,70	4,58	91,15	5,31	93,49	6,06	81,53

4. Conclusões

A análise das amostras de hidrocarbonetos, álcoois e cetonas por espectroscopia na região do infravermelho mostraram claramente a diferenciação das

classes de compostos estudados e aromaticidade, de acordo com os valores tabelados na literatura. Destaca-se que a mesma proposta pode ser adequada para outras classes de compostos que se encontrem disponíveis nos laboratórios da instituição.

Através de conceitos já concretizados pelos alunos relacionados aos solventes orgânicos, o procedimento de análise de forma gradual, de grupos mais simples a conjuntos de análises mais complexos, ilustrou uma forma efetiva de concepção dos conceitos de análise exploratória multivariada, HCA e PCA. Ainda, a linguagem utilizada no texto da presente proposta adequa-se a alunos de diferentes áreas, de graduação e pós-graduação.

Além disso, o manuseio do software utilizado mostrou-se adequado para usuários com pouco conhecimento prévio na área de quimiometria, com interface gráfica autoexplicativa e ainda gratuito.

Portanto, reconheceu-se a importância de materiais auxiliares aos professores de ensino de espectroscopia vibracional, uma vez que ainda são escassos e os avanços das análises químicas vêm exigindo o conhecimento de quimiometria cada vez mais.

Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES, CNPq e ao INCT de Bioanalítica pelo fomento.

Referências Bibliográficas

- ¹ van de Waterbeemd, H.; Carter, R. E.; Grassy, G.; Kubinyi, H.; Martin, Y. C.; Tute, M. S.; Willett, P. Glossary of terms used in computational drug design (IUPAC Recommendations 1997). *Pure and Applied Chemistry* **2009**, *69*, 1137. [CrossRef]
- ² de Queiroz, S. C. d. N.; Ferreira, M. M. C.; Morgano, M. A. Application of exploratory analysis to the differentiation of vegetables. *Brazilian Journal of Food Technology* **1999**, *2*, 73. [Link]
- ³ Besalú, E. From Periodic Properties to a Periodic Table Arrangement. *Journal of Chemical Education* **2013**, *90*, 1009. [CrossRef]
- ⁴ Cazar, R. A. An Exercise on Chemometrics for a Quantitative Analysis Course. *Journal of Chemical Education* **2003**, *80*, 1026. [CrossRef]
- ⁵ De Lorenzi Pezzolo, A. To See the World in a Grain of Sand: Recognizing the Origin of Sand Specimens by Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectroscopy and Multivariate Exploratory Data Analysis. *Journal of Chemical Education* **2011**, *88*, 1304. [CrossRef]
- ⁶ Böck, F. C.; Assmann, D.; Helfer, G. A.; Da Costa, A. B. Uma Proposta Didática no Ensino de Análise Exploratória de Dados com Imagens de MDF (Medium-Density Fiberboard). *Revista Virtual de Química* **2015**, *7*, 2475. [CrossRef]
- ⁷ Souza, A. M.; Poppi, R. J. Experimento didático de quimiometria para análise exploratória de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio e análise de componentes principais: um tutorial, parte I. *Química Nova* **2012**, *35*, 223. [CrossRef]
- ⁸ Guedes, T. L. M.; Soares, M. S. d. L.; Neves, L. S. d.; Lima, K. M. G. d. O tempo de pega em gelatinas comerciais: uma experiência da disciplina de quimiometria para estudantes de graduação em Química. *Química Nova* **2013**, *36*, 480. [CrossRef]
- ⁹ Lambert, D.; Muehlethaler, C.; Esseiva, P.; Massonnet, G. Combining spectroscopic data in the forensic analysis of paint: Application of a multiblock technique as chemometric tool. *Forensic Science International* **2016**, *263*, 39. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁰ Grasel, F. d. S.; Ferrão, M. F.; Wolf, C. R. Development of methodology for identification the nature of the polyphenolic extracts by FTIR associated with multivariate analysis. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **2016**, *153*, 94. [CrossRef] [PubMed]
- ¹¹ Melquiades, F. L.; González-Borrero, P. P.; Dos Santos, F. R.; De Deus, W. E.; Kalwa, M.;

- Quináia, S. P. Método para Caracterização de Textura de Sedimentos Usando Técnicas Espectroscópicas e Análise Multivariada. *Revista Virtual de Química* **2014**, *6*, 1687. [[CrossRef](#)]
- ¹² Moura, M. C. S.; Lopes, A. N. C.; Moita, G. C.; Moita Neto, J. M. Estudo multivariado de solos urbanos da cidade de Teresina. *Química Nova* **2006**, *29*, 429. [[CrossRef](#)]
- ¹³ Vastag, G. G.; Apostolov, S. L.; Matijevi, B. M.; Marinkovi, A. D. Chemometric approach in studying of the retention behavior and lipophilicity of potentially biologically active N-substituted-2-phenylacetamide derivatives. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2014**, *25*, 1948. [[CrossRef](#)]
- ¹⁴ Mitsutake, H.; Gontijo, L. C.; Santana, F. B.; Guimarães, E.; Da Rocha, L. L.; Borges Neto, W. Emprego da Espectrometria de Massas com Ionização por Electrospray e Análises Exploratórias para Classificação de Óleo de Oliva Extra Virgem Adulterado com Óleos Vegetais. *Revista Virtual de Química* **2015**, *7*, 2180. [[CrossRef](#)]
- ¹⁵ Varmuza, K.; Filzmoser, P.; *Introduction to Multivariate Statistical Analysis in Chemometrics*, Taylor & Francis: Boca Raton, 2009.
- ¹⁶ Ferreira, M. M. C., *Quimiometria - Conceitos, Métodos e Aplicações*. Editora da UNICAMP: Campinas, 2015.
- ¹⁷ Barros Neto, B. d.; Scarminio, I. S.; Bruns, R. E. 25 anos de quimiometria no Brasil. *Química Nova* **2006**, *29*, 1401. [[CrossRef](#)]
- ¹⁸ Correia, P. R. M.; Ferreira, M. M. C. Reconhecimento de padrões por métodos não supervisionados: explorando procedimentos quimiométricos para tratamento de dados analíticos. *Química Nova* **2007**, *30*, 481. [[CrossRef](#)]
- ¹⁹ Czarnecki, M. A.; Morisawa, Y.; Futami, Y.; Ozaki, Y. Advances in Molecular Structure and Interaction Studies Using Near-Infrared Spectroscopy. *Chemical Reviews* **2015**, *115*, 9707. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁰ De Oliveira, R. R.; Das Neves, L. S.; De Lima, K. M. G. Experimental Design, Near-Infrared Spectroscopy, and Multivariate Calibration: An Advanced Project in a Chemometrics Course. *Journal of Chemical Education* **2012**, *89*, 1566. [[CrossRef](#)]
- ²¹ Helfer, G. A.; Bock, F.; Marder, L.; Furtado, J. C.; Costa, A. B. d.; Ferrão, M. F. Chemostat, um software gratuito para análise exploratória de dados multivariados. *Química Nova* **2015**, *38*, 575. [[CrossRef](#)]