

Geographical classification of Java Tea (*Orthosiphon stamineus*) from Java Island by FTIR Spectroscopy Combined with Canonical Variate Analysis

Mohamad Rafi^{1,2,*}, Edy Djauhari Purwakusumah^{2,3}, Taopik Ridwan², Baba Barus^{2,4}, Atang Sutandi^{2,4}, Latifah Kosim Darusman^{1,2}

¹Chemistry Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Bogor Institute of Agriculture, Jalan Agatis Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

²Biopharmaca Study Centre, Institute of Research and Community Services, Bogor Institute of Agriculture, Jl Taman Kencana No 3 Kampus IPB Taman Kencana, Bogor 16128

³Biochemistry Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Bogor Institute of Agriculture, Jalan Agatis Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

⁴Department of Soil Science and Land Resources, Faculty of Agriculture, Bogor Institute of Agriculture, Jalan Meranti Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

*corresponding author email: mra@ipb.ac.id

ABSTRACT

FTIR spectroscopy combined with canonical variate analysis was used for differentiation of java tea (*Orthosiphon stamineus*) according to their geographical origin. FTIR spectra of all java tea samples were acquired in the mid infrared region (wavenumber range 4000-400 cm^{-1}). Preprocessing signal of FTIR spectra has been carried out prior to canonical variate analysis by standard normal variate. Combination of FTIR spectra in the region 1800-900 cm^{-1} with canonical variate analysis has the power to differentiate java tea samples in terms of geographical origin. The developed method could be used for identification of geographical origin of java tea based on the samples used in this study.

Keywords: Java tea, Orthosiphon stamineus, FTIR spectroscopy, canonical variate analysis

ABSTRAK

Spektroskopi FTIR dan kombinasinya dengan analisis variat kanonis telah digunakan untuk membedakan kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) berdasarkan asal geografis tumbuhnya. Spektrum FTIR semua sampel kumis kucing dibuat pada kisaran inframerah tengah (bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1}). Prapemrosesan sinyal pada spektrum FTIR yang diperoleh dilakukan sebelum diolah dengan analisis variat kanonis menggunakan variat normal standar. Kombinasi spektrum FTIR pada bilangan gelombang 1800-900 cm^{-1} dan analisis variat kanonis dapat membedakan asal geografis tumbuh kumis kucing. Metode yang dikembangkan ini dapat digunakan untuk tujuan identifikasi asal geografis tumbuh kumis kucing berdasarkan sampel yang digunakan pada studi ini.

Kata kunci: Kumis kucing, Orthosiphon stamineus, spektroskopi FTIR, analisis kanonik variat

Pendahuluan

Kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) tersebar secara luas di Asia Selatan, Tenggara, dan Tiongkok

serta termasuk ke dalam famili Lamiaceae. Daun merupakan bagian tumbuhan yang paling banyak digunakan umumnya dikonsumsi sebagai teh herbal sehingga kumis kucing dikenal pula dengan nama

java tea. Secara tradisional kumis kucing telah banyak digunakan sebagai diuretik, menyembuhkan beragam penyakit seperti diabetes, hepatitis, epilepsi, batu empedu, tonsillitis, kencing nanah, rematik, sakit perut, pembengkakan ginjal dan kandung kemih, edema, influenza, dan gout. Kajian aktivitas farmakologi kumis kucing juga telah banyak dilakukan dan diketahui kumis kucing memiliki aktivitas antioksidan, antiinflamasi, antibakteri, antihipertensif, antihiperlipidemia, antiproliferatif, antipiretik, antitumor, kardioprotektif, diuretik, dan hiperurisemik [1-4]. Untuk studi fitokimia, kumis kucing diketahui kaya akan senyawa flavonoid, fenilpropanoid, dan terpenoid [2, 5, 6].

Telah diketahui secara luas bahwa entitas dan kandungan senyawa bioaktif tumbuhan obat sangat bervariasi yang salah satunya bergantung pada jenis tanah dan iklim pada lokasi tempat tumbuhnya [7]. Variasi ini dapat menyebabkan inkonsistensi dalam hal kualitas dan khasiatnya. Asal geografis tumbuh menjadi penting untuk diketahui karena akan mempengaruhi kadar senyawa bioaktif yang telah menjadi kriteria umum dalam memilih bahan baku obat herbal yang berkualitas sehingga akan menjamin konsistensi khasiatnya. Oleh karena itu diperlukan suatu metode analitis untuk mengetahui menentukan asal geografis tumbuhnya kumis kucing yang memenuhi kriteria sederhana dan akurat.

Untuk menentukan asal geografis tumbuh menggunakan metode analitis yang telah ada sangatlah tidak mudah, hal ini disebabkan metode analitis yang ada saat ini umumnya hanya fokus kepada beberapa senyawa kimia yang dikandung oleh suatu tumbuhan obat. Seperti yang telah disebutkan di atas bahwa senyawa bioaktif yang dikandung kumis kucing cukup banyak dan dimungkinkan hanya ada sedikit perbedaan kadarnya pada tiap lokasi tumbuhnya sehingga dengan hanya menentukan beberapa senyawa saja menjadi tidak tepat. Oleh karena itu diperlukan suatu teknik analisis yang dapat menggambarkan karakteristik keseluruhan senyawa kimia yang dikandungnya. Spektrum sidik jari FTIR yang dihasilkan merupakan informasi data yang sangat kompleks sehingga akan menggambarkan secara menyeluruh karakteristik kimia suatu bahan. Perubahan yang terjadi pada posisi pita dan

intensitasnya dalam spektrum FTIR akan berhubungan dengan perubahan komposisi kimia dalam suatu bahan. Oleh karena itu spektrum FTIR dapat digunakan untuk membedakan tumbuhan berdasarkan tempat tumbuhnya. Selain itu juga FTIR telah digunakan secara luas dan alat untuk kendali mutu dalam industri termasuk industri obat herbal [8].

Spektrum FTIR mengandung data yang kompleks menggambarkan seluruh sinyal senyawa kimia yang terdapat dalam sampel. Perubahan pada posisi dan intensitas suatu pita pada spektrum FTIR akan berasosiasi dengan perubahan komposisi senyawa kimia yang ada dalam sampel. Oleh karena itu, spektrum FTIR dapat digunakan untuk membedakan asal geografis tumbuh spesies yang sama maupun membedakan spesies yang berkerabat dekat walaupun komposisi secara keseluruhan senyawa kimia yang dikandung suatu spesies belum diketahui [8]. Membedakan spektrum FTIR dari suatu spesies yang berbeda lokasi tumbuhnya secara visual akan sangat sulit karena perbedaannya hanya terdapat pada intensitas sinyal yang dihasilkan sehingga diperlukan bantuan kemometrik untuk memudahkan dalam membedakannya [9]. Analisis spektrum FTIR yang dikombinasikan dengan kemometrik telah banyak digunakan dalam klasifikasi suatu spesies berdasarkan asal geografis tumbuhnya [10-16]. Dalam tulisan ini kami berinisiatif untuk mengembangkan suatu metode analisis untuk menentukan asal geografis kumis kucing dari pulau Jawa, Indonesia menggunakan spektroskopi FTIR yang dikombinasikan dengan analisis variatif kanonis (AVK) yang termasuk ke dalam metode pengenalan pola dalam kemometrik.

Metode Penelitian

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan: KBr untuk spektroskopi FTIR (Sigma-Aldrich, St Louis, Amerika Serikat) dan etanol absolut (Merck, Darmstadt, Jerman)

Alat: spektrofotometer FTIR Tensor 37 (Bruker Optik GmbH, Karlsruhe, Jerman) dengan detektor DTGS (deuterated triglycine sulphate)

Preparasi Contoh

Lokasi pengambilan contoh kumis kucing seperti yang tertera pada Tabel 1 dengan bagian tanaman yang diambil yaitu daun. Sampel yang representatif kemudian dipotong kecil lalu dikeringkan dan kemudian dibuat menjadi serbuk dengan ukuran partikel 100 mesh. Terdapat beberapa metode dalam memperoleh spektrum FTIR untuk tujuan identifikasi asal geografis salah satunya yaitu dengan mengekstrak terlebih dahulu sampel menggunakan suatu pelarut organik yang dapat memberikan hasil yang lebih baik dalam menentukan klasifikasi geografis suatu spesies yang sama [17]. Pada penelitian ini sampel diekstrak menggunakan metode maserasi menggunakan etanol sebagai pelarut sesuai dengan metode yang tertera pada Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia Vol 1 untuk spesies kumis kucing (BPOM 2005). Ekstrak etanol yang diperoleh ini yang akan dibuat spektrum FTIR-nya.

Tabel 1. Lokasi pengambilan sampel kumis kucing

No	Kode sampel	Sumber (Kecamatan, Kabupaten, Provinsi)
1	BGR-1	Pamijahan, Bogor, Jawa Barat
2	BGR-2	Pamijahan, Bogor, Jawa Barat
3	BGR-3	Ciomas, Bogor, Jawa Barat
4	CJR-1	Pacet, Cianjur, Jawa Barat
5	CJR-2	Pacet, Cianjur, Jawa Barat
6	CJR-3	Cianjur, Cianjur, Jawa Barat
7	SKB-1	Warungkiara, Sukabumi, Jawa Barat
8	SKB-2	Cikembar, Sukabumi, Jawa Barat
9	SKB-3	Cikembar, Sukabumi, Jawa Barat
10	GRT-1	Cilawu, Garut, Jawa Barat
11	GRT-2	Samarang, Garut, Jawa Barat
12	KRA-1	Karangpandan, Karanganyar, Jawa Tengah
13	KRA-2	Karangpandan, Karanganyar, Jawa Tengah
14	KRA-3	Karangpandan, Karanganyar, Jawa Tengah
15	KRA-4	Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah
16	MLG-1	Pujon, Malang, Jawa Timur
17	MLG-2	Ngantang, Malang, Jawa Timur
18	MLG-3	Turen, Malang, Jawa Timur
19	MLG-4	Pakisaji, Malang, Jawa Timur

Pembuatan Spektrum FTIR

Spektrum FTIR dibuat menggunakan spektrofotometer FTIR Tensor 37 (Bruker Optik GmbH, Karlsruhe, Jerman) dengan detektor DTGS (deuterated triglycine sulphate). Sebanyak 5 mg ekstrak dicampurkan dengan 95 mg KBr yang kemudian dibuat menjadi pelet menggunakan peralatan kempa manual (Shimadzu, Tokyo, Jepang). Pelet tersebut ditempatkan pada wadah sampel untuk direkam spektrum FTIR-nya di daerah inframerah tengah ($4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$) dengan resolusi 4 cm^{-1} dan jumlah payar 32 yang dioperasikan dengan peranti lunak OPUS versi 4.2 (Bruker Optik GmbH, Karlsruhe, Jerman).

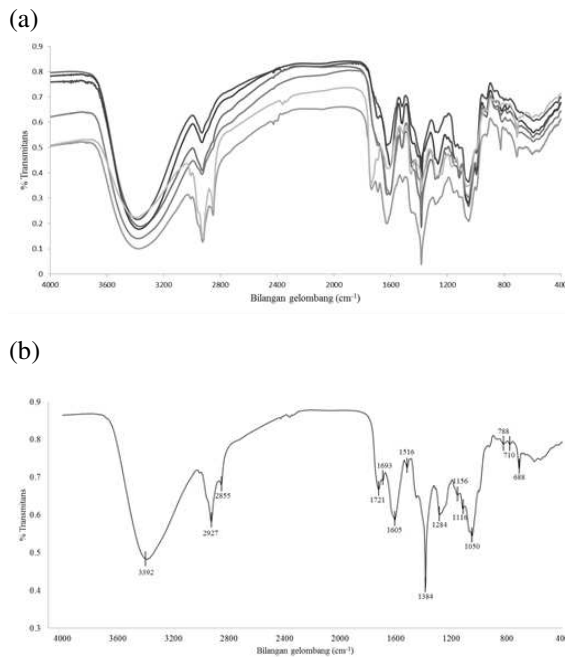
Pemrosesan Sinyal Spektrum FTIR dan Analisis Variat Kanonis

Pelakuan pendahuluan berupa pemrosesan sinyal dilakukan pada setiap spektrum FTIR yang dihasilkan menggunakan metode variat normal standar. Pembuatan model klasifikasi asal geografis kumis kucing dilakukan dengan menggunakan data absorbans pada bilangan gelombang $1800-900 \text{ cm}^{-1}$. AVK digunakan untuk membuat model klasifikasi dengan sebelumnya data absorbans spektrum FTIR direduksi terlebih dahulu menggunakan analisis komponen utama (AKU). Peranti lunak yang digunakan dalam pembuatan model tersebut yaitu XLSTAT versi 2012 (Addinsoft, New York, Amerika Serikat).

Hasil dan Pembahasan

Spektrum FTIR Ekstrak Kumis Kucing

Profil spektrum FTIR ekstrak etanol kumis kucing dari berbagai daerah memberikan pola spektrum yang sangat identik satu sama lainnya hanya berbeda pada nilai absorbans tiap pita mayor maupun minor yang muncul. Hal ini menandakan senyawa kimia yang dikandung sama hanya berbeda pada konsentrasinya (Gambar 1a).



Gambar 1. Spektrum FTIR representatif ekstrak etanol kumis kucing dari 6 lokasi tumbuh (a) dan spektrum FTIR ekstrak etanol kumis kucing dengan kode sample MLG-4 (b)

Spektrum FTIR ekstrak etanol kumis kucing dengan kode sample MLG-4 (Gambar 1b) memiliki beberapa pita serapan yang khas dan pita ini juga muncul dalam spektrum FTIR seluruh sample. Pita serapan pada bilangan gelombang 3392 cm^{-1} yang cukup lebar mengindikasikan vibrasi ulur gugus O-H, vibrasi ulur C-H pada gugus metil, metilena, dan metoksi ditandai dengan munculnya pita serapan di bilangan gelombang 2927 dan 2855 cm^{-1} , dan pita serapan disekitar bilangan gelombang 1721 dan 1693 cm^{-1} menandakan adanya gugus karbonil (C=O). Vibrasi ulur C=C ditandai dengan adanya pita serapan pada bilangan gelombang 1605 cm^{-1} . Serapan yang tajam pada bilangan gelombang 1384 cm^{-1} mengindikasikan keberadaan gugus metil (-CH₃) yang dihasilkan dari vibrasi deformasi simetriknya. Selain itu adanya serapan pada bilangan gelombang 1156, 1116, dan 1050 cm^{-1} menunjukkan keberadaan ikatan C-O dari hasil vibrasi tekuknya. Berdasarkan pita serapan yang muncul tersebut mengindikasikan bahwa sampel kumis kucing yang digunakan diduga kaya akan senyawaan flavonoid dan fenilpropanoid.

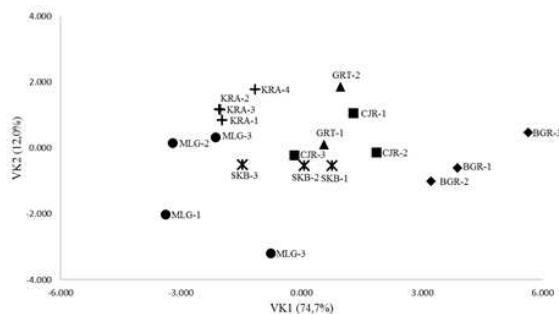
Menentukan asal geografis kumis kucing sangat sulit jika hanya menggunakan spektrum FTIR karena pola spektrum yang sangat identik dari semua sampel yang diteliti. Oleh karena itu diperlukan suatu bantuan metode kemometrik untuk dapat membedakan asal lokasi tumbuhnya seperti yang telah banyak dilakukan oleh peneliti lainnya.

Klasifikasi Asal Geografis Kumis Kucing

Kombinasi spektrum FTIR dengan suatu metode kemometrik saat ini menjadi pilihan yang atraktif untuk tujuan menentukan asal geografis suatu spesies tumbuhan obat. Spektroskopi FTIR dapat menjadi pilihan yang menarik karena dapat memenuhi kriteria tersebut dan juga merupakan teknik analisis yang efisien seperti mudah digunakan, cepat, dan murah [18]. Kemometrik umum digunakan untuk menganalisis data yang sangat banyak seperti spektrum FTIR dengan tujuan memperoleh informasi yang khas dari matriks data dengan mereduksi dimensi datanya dan mencari kesamaan atau ketidaksamaan diantara observasi dan variabel. Dalam studi ini digunakan AVK untuk membuat model klasifikasi asal geografis kumis kucing.

Sebelum digunakan dalam pembuatan model klasifikasi seluruh spektrum ekstrak kumis kucing diberi proses pendahuluan berupa pemrosesan sinyal yang merupakan prosedur standar sebelum dianalisis menggunakan AVK. Metode variat normal standar digunakan dalam pemrosesan sinyal ini karena metode ini dapat menghilangkan variasi slope dan efek hamburan pada spektrum FTIR [19]. AVK yang digunakan dalam pembuatan model klasifikasi asal geografis kumis kucing ini merupakan metode pengenalan pola terawasi yang banyak digunakan dalam membedakan sampel pada beberapa grup. Tujuan AVK yaitu mencari kombinasi linear dari variabel yang memberikan variasi maksimum pada antar grup daripada variasi dalam grup. Variat kanonis (VK) merupakan nama untuk kombinasi linear tersebut. AVK lebih efektif dipakai saat jumlah sampel yang digunakan lebih besar dari jumlah variabelnya [20]. Data absorbans spektrum FTIR yang dipakai berjumlah 467 data sehingga perlu direduksi terlebih dahulu dengan AKU agar model prediksi AVK dapat digunakan.

Reduksi dengan data dengan AKU akan menghasilkan nilai komponen utama (KU) dan dengan menggunakan kriteria Kaiser dipilih jumlah KU yang akan dipakai dalam AVK. Sesuai dengan kriteria Kaiser yang menetapkan bahwa nilai KU yang memberikan nilai eigen lebih besar dari 1 yang akan dipakai sebagai variabel dalam model prediksi AVK yang dibuat. KU dengan nilai eigen lebih besar dari 1 menjelaskan varians yang lebih besar [21]. Model prediksi AVK yang dibuat menggunakan 5 KU awal dengan nilai eigen > 1 sebagai variabel inputnya dengan persentase kumulatif varians totalnya sebesar 97,6%. AVK dengan 5 KU awal menghasilkan dua nilai VK dengan keragaman untuk VK1 sebesar 74,7% dan VK2 sebesar 12,0%. Plot dua nilai VK ini mampu mengelompokkan sampel kumis kucing ke asal geografis tempat tumbuhnya (Gambar 2) yang menandakan bahwa kedua nilai VK mampu membedakan asal geografis sampel kumis kucing yang digunakan.



Gambar 2. Plot AVK sampel kumis kucing dengan 2 VK

Evaluasi kemampuan prediksi dari model prediksi yang dibuat dilakukan dengan metode validasi silang. Dari hasil validasi silang, 89,5% sampel teridentifikasi sesuai dengan asal geografis tumbuhnya dengan 2 sampel kumis kucing yaitu dengan kode sampel CJR2 dan KRA3 yang tidak terkelompokkan sesuai dengan asal geografisnya. Hasil ini menandakan bahwa model prediksi asal geografis tempat tumbuh kumis kucing dari Pulau Jawa memberikan hasil yang cukup baik.

Kesimpulan

Kombinasi spektrum FTIR dengan AVK telah dikembangkan untuk klasifikasi asal geografis kumis

kucing dari pulau Jawa, Indonesia. Metode yang dikembangkan dapat digunakan untuk menentukan asal geografis kumis kucing dengan akurasi yang cukup baik berdasarkan hasil validasi silang yang diperoleh.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia yang telah membiayai penelitian ini.

Daftar Pustaka

- [1] M. K Ahamed Basheer, A Abdul Majid, (2010), *Medicinal potentials of Orthosiphon stamineus Benth*, Web med Central Cancer, 1 (12), doi: 10.9754/journal.wmc.2010.001361
- [2] Omar Z Ameer, Ibrahim M Salman, Mohammad Zaini Asmawi, Zaid O Ibraheem, Mun Fei Yam, (2012), *Orthosiphon stamineus: traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and toxicology*, Journal of medicinal food, 15 (8), 678-690
- [3] Yen Chin Koay, Faheem Amir, (2012), *A Survey of the Chemical Constituents and Biological Activities of Orthosiphon Stamineus*, Science International, 24 (2), 133-138
- [4] Ketut Adnyana, Finna Setiawan, Muhamad Insanu, (2013), *From Ethnopharmacology to Clinical Study of Orthosiphon Stamineus Benth*, International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 5 (3), 66-73
- [5] G. A. Akowuah, Z. Ismail, I. Norhayati, A. Sadikun, (2005), *The effects of different extraction solvents of varying polarities on polyphenols of Orthosiphon stamineus and evaluation of the free radical-scavenging activity*, Food Chemistry, 93 (2), 311-317 <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.09.028>
- [6] G. A. Akowuah, I. Zhari, I. Norhayati, A. Sadikun, S. M. Khamsah, (2004), *Sinenetin, eupatorin, 3'-hydroxy-5, 6, 7, 4'-tetramethoxyflavone and rosmarinic acid contents and antioxidative effect of Orthosiphon stamineus from Malaysia*, Food Chemistry, 87

- (4), 559-566
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.01.008>
- [7] Yi Chen, Ming-Yong Xie, Yan Yan, Shang-Bin Zhu, Shao-Ping Nie, Chang Li, Yuan-Xing Wang, Xiao-Feng Gong, (2008), *Discrimination of Ganoderma lucidum according to geographical origin with near infrared diffuse reflectance spectroscopy and pattern recognition techniques*, *Analytica Chimica Acta*, 618 (2), 121-130
<http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2008.04.055>
- [8] Suqin Sun, Jianbo Chen, Qun Zhou, Guanghua Lu, Kelvin Chan, (2010), *Application of mid-infrared spectroscopy in the quality control of traditional Chinese medicines*, *Planta medica*, 76 (17), 1987-1996 10.1055/s-0030-1250520
- [9] Haidy A. Gad, Sherweit H. El-Ahmady, Mohamed I. Abou-Shoer, Mohamed M. Al-Azizi, (2013), *Application of Chemometrics in Authentication of Herbal Medicines: A Review*, *Phytochemical Analysis*, 24 (1), 1-24 10.1002/pca.2378
- [10] Chew Oon Sim, Mohammad Razak Hamdan, Zhari Ismail, Mohd Noor Ahmad, (2004), *Assessment of Herbal Medicines by Chemometrics-Assisted Interpretation of FTIR Spectra*, in.
- [11] Saravanan Dharmaraj, A. Suhaimi Jamaludin, H. Mohammad Razak, Raman Valliappan, Nor Atinah Ahmad, Gam Lay Harn, Zhari Ismail, (2006), *The classification of Phyllanthus niruri Linn. according to location by infrared spectroscopy*, *Vibrational Spectroscopy*, 41 (1), 68-72
<http://dx.doi.org/10.1016/j.vibspec.2005.12.012>
- [12] Charalabos D. Kanakis, Eleftherios A. Petrakis, Athanasios C. Kimbaris, Christos Pappas, Petros A. Tarantilis, Moschos G. Polissiou, (2012), *Classification of Greek Mentha pulegium L. (Pennyroyal) Samples, According to Geographical Location by Fourier Transform Infrared Spectroscopy*, *Phytochemical Analysis*, 23 (1), 34-43 10.1002/pca.1322
- [13] Lei Zhang, Lei Nie, (2010), *Discrimination of geographical origin and adulteration of radix astragali using fourier transform infrared spectroscopy and chemometric methods*, *Phytochemical Analysis*, 21 (6), 609-615 10.1002/pca.1242
- [14] Michele De Luca, Wafa Terouzi, Giuseppina Ioele, Fouzia Kzaiber, Abdelkhalek Oussama, Filomena Oliverio, Romà Tauler, Gaetano Ragno, (2011), *Derivative FTIR spectroscopy for cluster analysis and classification of morocco olive oils*, *Food Chemistry*, 124 (3), 1113-1118
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.010>
- [15] Qimeng Fan, Chaoyin Chen, Yuping Lin, Chunmei Zhang, Binqiu Liu, Shenglan Zhao, (2013), *Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spectroscopy for discrimination of Rhizoma gastrodiae (Tianma) from different producing areas*, *Journal of Molecular Structure*, 1051 66-71
<http://dx.doi.org/10.1016/j.molstruc.2013.07.039>
- [16] G. Kouvoutsakis, C. Mitsi, P. A. Tarantilis, M. G. Polissiou, C. S. Pappas, (2014), *Geographical differentiation of dried lentil seed (Lens culinaris) samples using Diffuse Reflectance Fourier Transform Infrared Spectroscopy (DRIFTS) and discriminant analysis*, *Food Chemistry*, 145 1011-1014
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.041>
- [17] Hua-Bin Zou, Guo-Sheng Yang, Zheng-Ran Qin, Wen-Qiang Jiang, Ai-Qin Du, Hassan Y. Aboul-Enein, (2005), *Progress in Quality Control of Herbal Medicine with IR Fingerprint Spectra*, *Analytical Letters*, 38 (9), 1457-1475 10.1081/al-200062153
- [18] Andrei A. Bunaciu, Hassan Y. Aboul-Enein, Serban Fleschin, (2011), *Recent Applications of Fourier Transform Infrared Spectrophotometry in Herbal Medicine Analysis*, *Applied Spectroscopy Reviews*, 46 (4), 251-260 10.1080/05704928.2011.565532
- [19] Aderval S. Luna, Arnaldo P. da Silva, Joan Ferré, Ricard Boqué, (2013), *Classification of edible oils and modeling of their physico-*

chemical properties by chemometric methods using mid-IR spectroscopy, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 100 109-114
<http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2012.06.034>

- [20] Marianne Defernez, E. Katherine Kemsley, (1997), *The use and misuse of chemometrics for treating classification problems*, TrAC Trends in Analytical Chemistry, 16 (4), 216-221
[http://dx.doi.org/10.1016/S0165-9936\(97\)00015-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0165-9936(97)00015-0)
- [21] Henry F Kaiser, (1960), *The application of electronic computers to factor analysis*, Educational and psychological measurement,