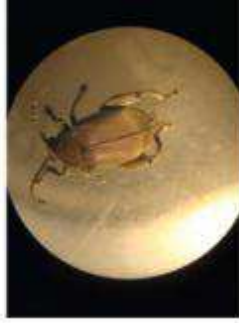


Lorem ipsum dolor sit amet, consectetur adipiscing elit. Integer ut turpis at augue molestie fringilla eu vel lectus. Aenean id urna est, vitae elementum libero. Nulla tristique diam ut dolor commodo cursus bibendum massa dictum. Integer a lacus eu nulla ornare blandit. Curabitur id quam velit. Sed sapien justo, posuere id ornare non, auctor eget purus. Nunc tincidunt mi est. Proin cursus quam non quam lobortis ac tristique nunc elementum. Aliquam quam neque, pellentesque id accumsan a, suscipit a eros. Mauris elementum gravida nisl et placerat. Morbi malesuada ante ut eros dapibus venenatis.

TECNOLOGIAS PARA INOVAÇÃO NAS CADEIAS EUTERPE



José Dalton Cruz Pessoa
Gustavo Henrique de Almeida Teixeira
Editores

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Instrumentação
Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento

TECNOLOGIAS PARA INOVAÇÃO NAS CADEIAS EUTERPE

Editores

José Dalton Cruz Pessoa

Gustavo Henrique de Almeida Teixeira

Embrapa
Brasília, DF
2012

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Instrumentação

Rua XV de Novembro, 1452

Caixa Postal 741

CEP 13560-970 - São Carlos-SP

Fone: (16) 2107 2800

Fax: (16) 2107 2902

www.cnpdia.embrapa.br

E-mail: sac@cnpdia.embrapa.br

Unidade responsável pelo conteúdo e edição

Embrapa Instrumentação

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: *João de Mendonça Naimé*

Membros: *Débora Marcondes Bastos Pereira Milori, Washington Luiz de Barros Melo, Sandra Protter*

Gouvea, Valéria de Fátima Cardoso.

Membro Suplente: *Paulo Sérgio de Paula Herrmann Junior*

Revisor editorial: *Valéria de Fátima Cardoso*

Normalização bibliográfica: *Valéria de Fátima Cardoso*

Tratamento de ilustrações: *Gráfica Suprema*

Capa: *José Dalton Cruz Pessoa*

Editoração eletrônica: *Gráfica Suprema*

1ª edição

1ª impressão (2012): 300 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na publicação (CIP)

Embrapa Instrumentação

T255 Tecnologias para inovação nas cadeias eutérpe / José Dalton Cruz Pessoa, Gustavo Henrique de Almeida

Teixeira editores. -- Brasília, DF : Embrapa, 2012.

343 p. ; 16 cm x 23 cm.

ISBN: 978-85-7035-089-3

1. Açaí. 2. Tecnologia de alimento. 3. Processamento. I. Pessoa, José Dalton Cruz. II. Teixeira, Gustavo Henrique de Almeida. III. Embrapa Instrumentação.

CDD 21 ED. 634.9745

664.8046

© Embrapa 2012

AUTORES

Ádina Lima de Santana

Engenharia de alimentos, graduação
Mestranda em Engenharia Química pela UFPA
adina_santana@hotmail.com

Alan Ribeiro dos Reis

Engenharia mecânica, mestrado
Docente do Centro Universitário Herminio Ometto de Araras, Araras - SP
alan_sz5@yahoo.com.br

Alessandra Ferraiolo Nogueira Domingues

Engenharia química, doutorado
Pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental, Belém - PA
ferraiolo@cpatu.embrapa.br

André Colson Schwob

Engenharia mecânica, bacharelado
Sócio diretor da NUfruits do Brasil, Belém - PA
andre.schwob@gmail.com

Antônio Cordeiro de Santana

Engenharia agrônômica, doutorado
Professor Associado IV da Universidade Federal Rural da Amazônia
acsantana@superig.com.br

Carlos Triveño Rios

Engenharia metalúrgica, doutorado
Professor Adjunto da Universidade Federal do ABC, Santo André - SP
carlos.triveno@ufabc.edu.br

Cristiane Sanchez Farinas

Engenharia química, doutorado
Pesquisador da Embrapa Instrumentação, São Carlos - SP
cristiane@cnpdia.embrapa.br

4. TECNOLOGIA NIRS PARA ANÁLISE DOS FRUTOS DE AÇAIZEIRO E JUÇARA

Gustavo Henrique de Almeida Teixeira

José Dalton Cruz Pessoa

Valquiria Garcia Lopes

Kássio Michell Gomes de Lima

INTRODUÇÃO

A crescente conscientização do conceito de qualidade, particularmente no setor de alimentação e saúde, tem impulsionado fortemente as atividades de pesquisa focalizando a geração de definições de qualidade, a preservação da mesma durante a comercialização e, também, à possibilidade de integração de parâmetros de avaliação de qualidade aos processos de produção (BUTZ et al., 2005).

Os métodos de referência, na etapa de pós-colheita dos frutos de açaizeiro e palmitieiro-juçara, para análise de parâmetros físico-químicos, tais como, teor de sólidos solúveis, acidez titulável, potencial hidrogeniônico, teor de açúcares totais e pigmentos (antocianinas e clorofila), são geralmente de natureza destrutiva, laboriosos, necessitam de longos períodos de análise, produzem diversos resíduos químicos e algumas vezes envolvem procedimentos muito especializados (MORGANO et al., 2005), muito embora, deve-se salientar que os métodos de referência são aceitos pelos principais órgãos reguladores, devido à exatidão e precisão de suas determinações. Porém, novas alternativas analíticas para análise de frutos são necessárias para, entre outros, diagnosticarem atributos físico-químicos de forma a garantir estatisticamente as mesmas figuras de mérito calculadas pelos métodos de referência, como a exatidão e precisão de resultados.

Entre novas alternativas analíticas, podemos destacar a espectroscopia de infravermelho próximo, ou “Near Infrared Spectroscopy” (NIR), juntamente com as ferramentas quimiométricas de análise. Nicolai e colaboradores (NICOLAI et al., 2007) revisaram a utilização da união de técnicas para predições rápidas de alguns parâmetros nutricionalmente relevantes em diversos frutos. Na mesma linha de trabalho, tais técnicas foram aplicadas na determinação da composição química de forragens (ALOMAR et al., 1999; FONTANELI et al., 2004), de café, de cana-de-açúcar (VALDERRAMA et al., 2007), no controle de qualidade de medicamentos (SIMON DE SOUZA; FERRÃO, 2006). Em muitos países, em particular na Itália, a espectroscopia NIR é bastante utilizada para a seleção de frutos íntegros, principalmente com base no conteúdo de sólidos solúveis (AGATI; CEROVIC, 2005; WALSH, 2005).

A ESPECTROSCÓPIA DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO

A radiação na região do infravermelho próximo (NIR) foi descoberta por Sir Frederick William Herschel, em 1800. Herschel estava fazendo um experimento para descobrir qual é a contribuição individual das cores provenientes da decomposição da luz branca no aumento da temperatura. Ao contrário do senso comum, ele continuou observando o que acontecia com a temperatura colocando o termômetro além do espectro visível. Surpreendentemente, verificou que a temperatura aumentava. Herschel utilizava em seus experimentos termômetros de bulbo preto e prismas de vidro, que são transparentes à radiação NIR de menor comprimento de onda, e publicou suas descobertas se referenciando a região dos raios caloríficos (HERSHEL, 1800a; HERSHEL, 1800b). Esta região foi denominada mais tarde de infravermelho, usando o prefixo grego infra que significa abaixo.

Embora Herschel tenha descoberto a radiação no infravermelho próximo em 1800, muitos espectroscopistas da primeira metade do século XX ignoravam esta região para algum interesse analítico. As aplicações mais recentes da espectroscopia NIR foram relatadas por volta dos anos de 1950 e tornaram-se ainda mais evidentes quando o grupo dirigido por Karl Norris, em 1970, aplicou-a na área da agricultura. O desenvolvimento da instrumentação, da eletrônica, dos componentes ópticos e o advento dos computadores capazes de processamento e armazenamento de dados foram fatores que facilitaram a expansão desta técnica em diversas áreas (BLANCO; VILLAROYA, 2002).

A literatura reflete as mudanças no potencial da espectroscopia NIR. Desse modo, Wetzel, em 1923, afirmou “O adormecido entre as técnicas espectroscópicas”, relatando seu elevado potencial, mas com pouca utilização (WETZEL, 1983). McClure, em 1994, publicou um artigo intitulado “O gigante retorna com força”, devido ao alto número de aplicações em diferentes campos (McCLURE, 1994).

A espectroscopia NIR tem sido uma importante ferramenta analítica que pode ser aplicada em muitas áreas, tais como a agricultura (CONFALONIERI et al., 2001), indústria alimentícia (BARTHUS; POPPI, 2001), farmacêutica (SCAFI; PASQUINI, 2001), petrolífera (TIPPARAT et al., 2001) entre outras. Embora a complexidade do espectro NIR não possa contribuir tanto para a elucidação estrutural, como acontece com o infravermelho médio, a espectroscopia NIR apresenta uma série de vantagens, altamente atraentes, dos quais é possível destacar:

- a possibilidade de ensaio sem preparação de amostra;
- a rapidez para a obtenção dos espectros, cálculos e apresentação dos resultados;
- o fato de ser um método não-destrutivo, permitindo o uso posterior da amostra para outros ensaios;
- o fato de ser uma técnica não invasiva, porém com alta penetração do feixe de radiação (cerca de 1 a 3 mm);
- a quase universalidade das aplicações, considerando que pode ser aplicada a qualquer molécula que possua ligações C-H, N-H, S-H ou O-H;
- a possibilidade de determinações simultâneas empregando ferramentas de calibração multivariada;
- a possibilidade do desenvolvimento de aplicações em linha (analisadores de processo);

Como toda técnica analítica, a espectroscopia NIR apresenta limitações nas suas aplicações, tais como:

- a técnica não é muito sensível;
- as medidas no NIR são pouco seletivas; então, é necessário o uso de técnicas quimiométricas para extrair a informação relevante;
- a água apresenta bandas de absorção de sobretom e combinação O-H, que são bastante intensas, cobrindo quase toda a região do NIR. Essas bandas são mais intensas que as bandas de absorção C-H dos compostos orgânicos, prejudicando a determinação direta dessas espécies em água.

PRINCÍPIOS DA ESPECTROSCÓPIA NIR

A radiação NIR absorvida por uma molécula faz seus átomos vibrarem com maior amplitude, de maneira similar a um oscilador diatômico. O espectro NIR contém informações relacionadas com a diferença entre as forças de ligações químicas, espécies químicas presentes, eletronegatividade e a presença de ligação de hidrogênio. A luz pode interagir com a amostra por meio de reflexão, refração, absorção, espalhamento, difração e transmissão. A perda no sinal pode ocorrer por reflectância difusa especular, espalhamento interno e completa absorção.

O conceito básico da espectroscopia vibracional se baseia no comportamento de uma molécula diatômica semelhante a um oscilador harmônico. Para um oscilador harmônico ideal, a energia potencial E seria descrita por uma equação quadrática simples:

$$E = \frac{1}{2} k (r - r_e)^2 = \frac{1}{2} k x^2 \quad (1)$$

Onde k é a constante de força da ligação, r é a distância internuclear, r_e é a distância internuclear de equilíbrio e $x = (r - r_e)$ é a coordenada de deslocamento. Na Figura 1 pode ser observada a forma como a energia potencial de um oscilador harmônico varia com a amplitude da vibração.

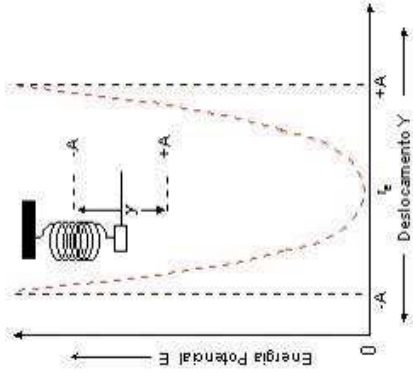


Figura 1. Função de Potenciais Harmônicos para um oscilador diatômico. A é a amplitude máxima do oscilador.

A energia potencial assume a forma de uma parábola e tem um comportamento simétrico em torno da distância internuclear de equilíbrio, r_e . A frequência de vibração de um oscilador harmônico depende da força da ligação e das massas dos átomos que estão ligados. A energia total da ligação é proporcional à frequência de vibração. O modelo de um simples oscilador harmônico é baseado na Lei de Hooke, onde a frequência vibracional (ν) é definida como:

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad (2)$$

onde μ é a massa reduzida ($\mu = m_1 m_2 / (m_1 + m_2)$).

O tratamento da mecânica quântica sobre o modelo simples do oscilador harmônico mostra que o nível de energia vibracional entre dois átomos de uma molécula é quantizado. Estes níveis de energia são dados por:

$$E_{\text{vib}} = h\nu \left(v + \frac{1}{2} \right) \quad (3)$$

onde h é a constante de Planck, ν é a frequência vibracional clássica e v é o número quântico vibracional.

A absorção (ou emissão) de radiação NIR por um sistema é devida à variação periódica do seu momento dipolo elétrico (μ), sendo a frequência da radiação absorvida (ou emitida) idêntica à da oscilação do dipolo. O momento de dipolo pode ser expresso pela expressão:

$$\mu = \mu_0 \left(\frac{d\mu}{dx} \right) e^x \quad (4)$$

onde μ_0 é o vetor do momento de dipolo à distância internuclear de equilíbrio e a derivada é considerada em relação à posição de equilíbrio. A absorção no infravermelho implica

$$\left(\frac{d\mu}{dx} \right) e \neq 0$$

peelo menos para uma das componentes μ_x , μ_y , ou μ_z .

Quando uma molécula absorve a radiação infravermelha, alguns de seus átomos vibram de acordo com o modo de vibração. A transição só será permitida para um momento de transição de dipolo diferente de zero. Isto só ocorre se a vibração for acompanhada de uma variação no momento de dipolo, o que implica que entre as moléculas diatômicas, apenas as que são heteronucleares é que poderão exibir um espectro de transição no infravermelho. Na mecânica quântica, quando se utiliza o modelo do oscilador harmônico, há uma restrição segundo a qual o número quântico vibracional só poderá variar de uma unidade. Assim, as transições entre mais de um nível de energia são proibidas pela mecânica quântica para um oscilador harmônico. Portanto, as transições só serão permitidas se, e somente se:

$$\left(\frac{d\mu}{dx} \right) e \neq 0 \quad \text{e} \quad \Delta v = \pm 1 \quad (5)$$

À temperatura ambiente, existem mais moléculas no nível vibracional fundamental $v = 0$, e conseqüentemente a transição permitida $v = 0 \rightarrow v = 1$, denominada transição fundamental ou 1º harmônico, domina o espectro de absorção do infravermelho. Se os níveis energéticos vibracionais se comportassem como previsto para um oscilador harmônico, estes seriam igualmente espaçados. Na prática, os níveis de energia quantizados não são igualmente espaçados, porque as moléculas desviam da idealidade comportando-se como um oscilador anarmônico.

Diferente do oscilador harmônico, os níveis de energia no oscilador anarmônico não são igualmente espaçados e é prevista uma energia de dissociação (os dois átomos estão a uma distância tão grande que a ligação não existe mais) que é descrita pela equação de Morse.

$$E = D_e (1 - e^{-a(r-r_e)})^2 \quad (6)$$

Onde a é uma constante molecular, D_e é a energia de dissociação, r_e é a distância interatômica

de equilíbrio e r é a distância interatômica num dado instante.

Na Figura 2 pode-se observar a forma do potencial anarmônico para um sistema diatômico.

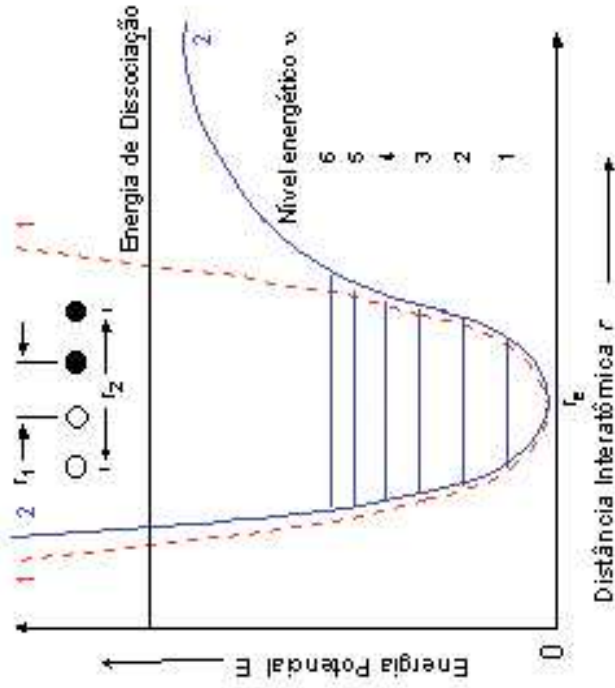


Figura 2. Função de Potenciais Harmônicos (---) e Anarmônicos (—) para um oscilador diatômico.

Evidências experimentais mostram que as moléculas se comportam como osciladores anarmônicos. Primeiro, porque as bandas de transição denominadas “Hot Bands” ou Bandas Quentes, que são as transições originárias de níveis vibracionais excitados ($v \neq 0$) $v=1 \rightarrow v=2$, $v=2 \rightarrow v=3$,...) não possuem a mesma frequência da banda fundamental. Isto se deve ao fato de que os níveis de energia vibracionais não são igualmente espaçados. As bandas de transição denominadas bandas quentes apresentam intensidade muito menor que a fundamental, pois a população dos níveis diminui com o aumento do número quântico. O aumento da temperatura provoca um aumento na quantidade de moléculas no estado vibracional excitado. Para o modelo de oscilador harmônico, as bandas quentes têm o mesmo número de onda que a transição fundamental.

A segunda evidência experimental é que as transições denominadas sobretons correspondentes às transições entre níveis energéticos que diferem de duas ou três unidades para o nível quântico vibracional como $v=0 \rightarrow v=2, 3, 4, \dots$ são permitidas (Figura 3). O comportamento anarmônico conduz a desvios de duas espécies. Em números quânticos altos, ΔE se torna menor, e a regra de seleção não é seguida rigorosamente; como resultado, transições de $\Delta v = \pm 2$ ou ± 3 são observadas. Tais transições são as responsáveis pelo aparecimento de linhas harmônicas (não fundamentais) em frequências duas ou três vezes a da linha fundamental; a intensidade de absorção dessas linhas harmônicas é frequentemente pequena e os picos podem não ser observados.

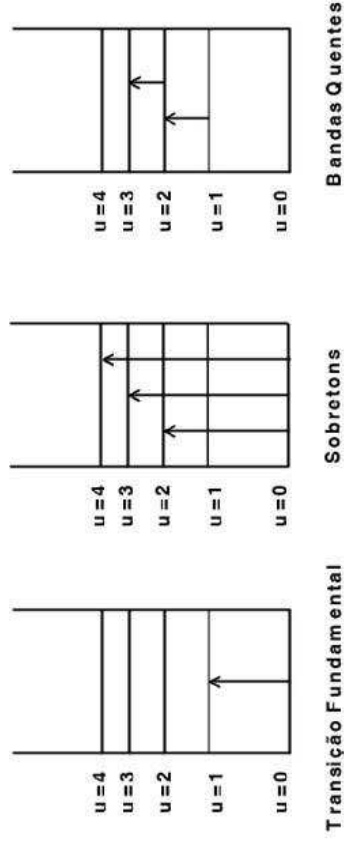


Figura 3. Transições entre níveis vibracionais.

Sendo assim, no modelo anarmônico, a energia dos níveis vibracionais pode ser calculada através da equação a seguir:

$$E = h\nu \left(v + \frac{1}{2} \right) - \chi_m h\nu \left(v + \frac{1}{2} \right)^2 \quad (7)$$

onde χ_m = Constante de anarmonicidade.

A constante de anarmonicidade, em geral, é maior para vibrações que envolvem átomos leves, onde a amplitude de vibração é maior e é menor para vibrações que envolvem átomos pesados. Há também a chamada anarmonicidade elétrica, que é responsável pelo surgimento, no espectro de infravermelho, de bandas de sobretons ou harmônicas (“overtones”) correspondentes às transições entre níveis energéticos que diferem de duas ou três unidades para o nível quântico vibracional ($\Delta v = +2, +3, \dots$).

$$\mu = \mu_0 + \left(\frac{d\mu}{dx}\right)_e x + \frac{1}{2!} \left(\frac{d^2\mu}{dx^2}\right)_e x^2 + \frac{1}{3!} \left(\frac{d^3\mu}{dx^3}\right)_e x^3 + \dots \quad (8)$$

Para o surgimento do primeiro sobretom é suficiente se considerar apenas até o termo quadrático. Para o segundo sobretom é necessário considerar o termo cúbico. Para sobretoms de ordem superior, será necessária a consideração de derivadas de maior ordem no desenvolvimento da série.

Os espectros vibracionais são ainda mais complicados pelo fato de que duas vibrações diferentes em uma molécula podem interagir para dar picos de absorção com frequências que são aproximadamente as somas ou as diferenças das duas frequências fundamentais. Este fenômeno gera as bandas de combinação, originadas quando um fóton excita simultaneamente dois modos vibracionais. Isso quando um quantum de energia é absorvido por dois modos de vibração em vez de um.

CARACTERÍSTICAS E INSTRUMENTAÇÃO NIR

Os métodos analíticos resultantes do uso da espectroscopia NIR têm como características principais: sua rapidez (um minuto ou menos por amostra), natureza não destrutiva, não invasiva, apresentam alta penetração da radiação, são adequados para uso "in-line", têm aplicações quase universais (qualquer molécula contendo ligações C-H, N-H, O-H ou S-H) e requerem o mínimo de preparação das amostras. Esta combinação de características, aliadas ao controle instrumental e tratamento dos dados, torna possível formular o termo tecnologia do infravermelho próximo (WILLIAMS; NORRIS, 2001).

Na espectroscopia NIR, a amostra é irradiada e, após a interação radiação/matéria, esta radiação pode ser refletida, absorvida ou transmitida. Enquanto a radiação interage com a amostra, observam-se mudanças espectrais devidas a essas interações. Como resultado, existem três modos, normalmente baseados em propriedades ópticas, de medir o produto da interação da radiação NIR com a amostra: transmitância, reflectância difusa e transfectância. A transmitância (Figura 4a) é usualmente empregada para materiais transparentes. A reflectância difusa (Figura 4b) e a transfectância (Figura 4c) são utilizadas para líquidos, sólidos ou semissólidos, dependendo das características de absorção e espalhamento das amostras. Quando a energia NIR passa por uma amostra, a energia que atravessa a amostra é medida como transmitância com respeito ao comprimento de onda. Esta não é a energia absorvida pela amostra, mas sim a diferença entre o total de energia que passa pela amostra e a energia absorvida pela amostra (Figura 4a). Quando a luz NIR é direcionada à superfície de uma amostra sólida, pode haver dois tipos de energia refletida. Uma é a reflexão especular, que não é absorvida pela amostra, apresentando somente a porção refletida pela superfície da mesma. A outra é a reflexão difusa, que é a energia que penetra a superfície da amostra e retorna após ser refletida na porção interior da mesma (Figura 4b). Uma terceira possibilidade, a radiação incidente pode gerar dois tipos de comportamentos simultaneamente, um relacionado à transmissão e outro à reflectância. Nesse caso, conforme mostrado na Figura 4c, esse modo se denomina como transfectância.

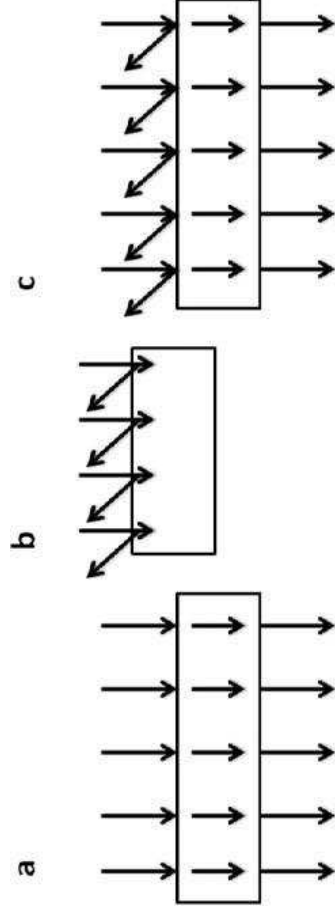


Figura 4. Transmitância (a), reflectância difusa (b) e transfectância (c).

A maioria dos instrumentos que operam na região do NIR consiste de uma fonte de luz (usualmente lâmpadas de halôgênio tungstênio), acessório para posicionamento da amostra, monocromador, detector e componentes ópticos como lentes, colimadores, "beam splitters", esferas integradoras e fibras ópticas, sendo os mesmos convenientemente classificados de acordo com o tipo de monocromador. Basicamente, três tipos de espectrofotômetros estão disponíveis no mercado para esta região, a saber: espectrofotômetros dispersivos, espectrofotômetros com transformada de Fourier e espectrofotômetros com arranjos de diodo (PASQUINI, 2003).

MÉTODOS DE ANÁLISE MULTIVARIADA

A QUIMIOMETRIA

A quimiometria pode ser definida como a pesquisa e utilização de métodos matemáticos e estatísticos para o tratamento de dados químicos de forma a extrair uma maior quantidade de informações e melhores resultados analíticos. Os métodos utilizados na quimiometria, a princípio, foram desenvolvidos em outras disciplinas que, com a aplicação e pesquisas voltadas para o tratamento de dados químicos, acabaram dando origem a uma nova área dentro da química analítica. Isso se deu após a segunda metade dos anos 60, com o surgimento de métodos instrumentais computadorizados para a análise química que promoveu a geração de uma grande quantidade de dados. Até este período, os químicos baseavam suas decisões em uma pequena quantidade de dados que, na maioria das vezes, eram obtidos de forma lenta e dispendiosa. A partir dos anos 60, com a grande quantidade de dados de obtenção rápida e com menor esforço, foi preciso analisar todos esses dados, de modo a extrair maior quantidade de informações relevantes. Foi então que teve início a pesquisa e utilização dos métodos matemáticos e estatísticos que acabaram resultando

nessa nova área conhecida como quimiometria (OTTO, 1999).

Com o crescimento da quimiometria, foram desenvolvidas novas ferramentas para tratamento de dados, ensejando a descoberta de aplicações distintas conforme o objetivo do estudo como, por exemplo, a otimização de processos, a classificação de dados, as determinações quantitativas, entre outros. Assim, a quimiometria foi dividida em diversas frentes de pesquisa e aplicação:

- Processamento de sinais analíticos
- Planejamento e otimização de experimentos
- Reconhecimento de padrões e classificação de dados
- Calibração multivariada
- Métodos de inteligência artificial.

Dentro dessa divisão, a principal linha de pesquisa da quimiometria aplicada à química analítica tem sido a construção de modelos de regressão a partir de dados de primeira ordem, ou seja, dados que podem ser representados através de um vetor para cada amostra, sendo a construção desses modelos denominada de calibração multivariada (BRERETON, 2000).

ANÁLISE POR COMPONENTES PRINCIPAIS - PCA

A análise por Análise de Componentes Principais, "Principal Component Analysis" (PCA), mostrada na Figura 5, consiste de um método matemático de tratamento de dados baseados em álgebra linear (BRERETON, 2000).

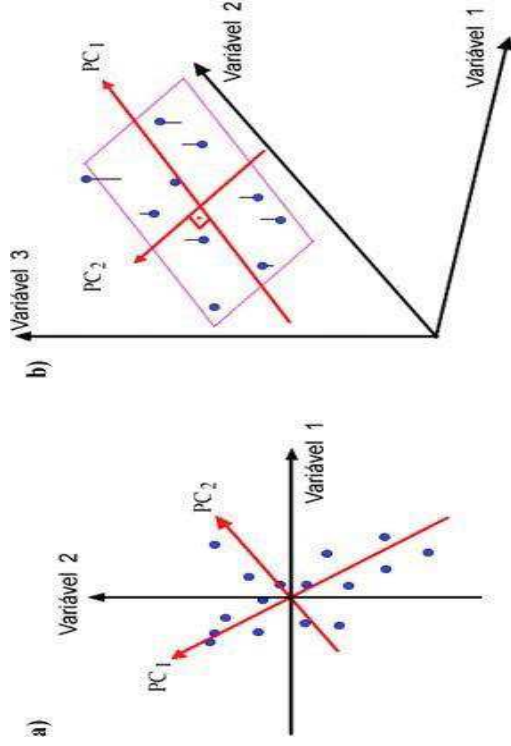


Figura 5. Primeira componente principal (PC1) e segunda componente principal (PC2) num espaço multidimensional.

O método é utilizado para transformação de dados complexos, com a finalidade de extrair informações relevantes do conjunto de dados e torná-las de fácil interpretação. Um novo conjunto de variáveis é construído a partir da combinação linear das variáveis originais, criando assim novos eixos no espaço multidimensional que são ortogonais entre si e construídos em ordem decrescente da quantidade de variância que descrevem. O PCA tenta agrupar variáveis que estão altamente correlacionadas numa nova variável chamada de componente principal (PC), criando um conjunto que contém apenas as informações importantes e descartando informações redundantes, diminuindo o número de dimensões exigidas. Assim, cada amostra acaba sendo representada por um ponto no espaço de dimensão M do qual é possível a extração de informações das amostras e de agrupamento de amostras que apresentem características semelhantes.

CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA

A calibração pode ser definida como uma série de operações matemáticas que estabelecem, sob condições específicas, uma relação entre medidas instrumentais e valores para uma propriedade de interesse correspondente (QUALITY... 1998). Um modelo de calibração, na verdade, é uma função matemática que relaciona dois grupos de variáveis, uma delas denominada dependente (Y) e outra denominada independente (X):

$$Y=f(X) = Xb \quad (9)$$

Esta etapa representa a calibração e, por isso, o conjunto de dados empregado para essa finalidade é chamado de conjunto de calibração. Os parâmetros do modelo são denominados de coeficientes de regressão (b) determinados matematicamente a partir dos dados experimentais. O passo seguinte à calibração é a validação. Nesta etapa, as variáveis independentes obtidas, para outro conjunto de amostras, são utilizadas em conjunto com o coeficiente de regressão, para calcular os valores previstos para a variável dependente. No conjunto de validação, utilizam-se amostras cujas variáveis dependentes sejam conhecidas para que seja possível estabelecer uma comparação entre os valores previstos pelo modelo e os valores conhecidos previamente através de uma metodologia padrão, o que permitirá a avaliação sobre o desempenho do modelo de calibração proposto.

Entre os métodos quimiométricos, os que mais se aplicam à Química Analítica são os de calibração multivariada. A calibração multivariada pode ser definida como a construção de modelos matemáticos para relacionar dados de saída de um instrumento (medidas instrumentais multivariadas) às concentrações dos analitos ou a outras propriedades das amostras. O processo de calibração multivariada é constituído basicamente de três fases: a calibração, a validação e a previsão. Na fase de calibração, são construídos os modelos matemáticos, e na fase de validação estes modelos são avaliados através de ferramentas estatísticas de diagnóstico. Na fase de previsão, os modelos matemáticos validados são aplicados para prever as concentrações ou propriedades de amostras desconhecidas. Na Figura 6, pode-se observar como uma matriz de dados pode ser construída a partir de um vetor de respostas instrumental.

MÉTODOS DE REGRESSÃO

REGRESSÃO LINEAR MÚLTIPLA

Na construção de um modelo de Regressão Linear Múltipla, "Multiple Linear Regression" (MLR) cada variável dependente, isto é, cada vetor Y_{cal} da matriz Y_{cal} é expresso como uma combinação linear das variáveis independentes da matriz X_{cal} , e um vetor b_{MLR} , que contém os coeficientes de regressão e é dado pela seguinte equação:

$$Y_{cal} = X_{cal} b_{MLR} + e \quad (10)$$

O vetor b_{MLR} dos coeficientes lineares é estimado, na etapa de calibração, utilizando o critério dos "Mínimos Quadrados" que minimiza o vetor dos resíduos ($e = Y_{cal} - X_{cal} b_{MLR}$) e é calculado por:

$$b_{MLR} = (X_{cal}^T X_{cal})^{-1} X_{cal}^T Y_{cal} \quad (11)$$

onde: os índices sobrescritos ⁻¹ e ^T representam a inversão e transposição de uma matriz ou vetor, respectivamente. Uma estimativa para a previsão do valor da concentração ou do parâmetro de interesse em uma amostra desconhecida pode ser obtida por:

$$Y_{desc} = X_{desc} b_{MLR} + e \quad (12)$$

A regressão linear múltipla apresenta alguns problemas que limitam sua aplicação. Um destes problemas é que o número de amostras deve ser igual ou superior ao número de variáveis, uma vez que o modelo consiste na resolução de um sistema de equações lineares simultâneas, essa condição necessita ser satisfeita caso contrário o sistema torna-se indeterminado. O outro problema do MLR é que a matriz $(X_{cal}^T X_{cal})$ pode não apresentar inversa devido à alta correlação entre as variáveis.

REGRESSÃO POR MÍNIMOS QUADRADOS PARCIAIS - PLS

A regressão por mínimos quadrados parciais, "Partial Least Squares" (PLS), é considerada o método de regressão mais utilizado para a construção de modelos de calibração multivariada a partir de dados de primeira ordem. Este método, assim como o PCR, não requer um conhecimento exato de todos os componentes presentes nas amostras, podendo realizar a previsão de amostras mesmo na presença de interferentes, desde que estes também estejam presentes por ocasião da construção do modelo (vantagem de primeira ordem). Para o método de regressão PLS, a decomposição das matrizes X e y , realizada pelo PCA, é feita de forma simultânea, de modo que cada PC do modelo sofre uma pequena modificação para buscar a máxima covariância entre X e y e passa a receber a terminologia de Variável Latente (VL) (OTTO, 1999).

O modelo PLS é obtido através de um processo iterativo, no qual se otimiza ao mesmo tempo a projeção das amostras sobre os loadings para a determinação dos scores e o ajuste por uma função linear dos scores da matriz X aos scores da matriz Y , de modo a minimizar

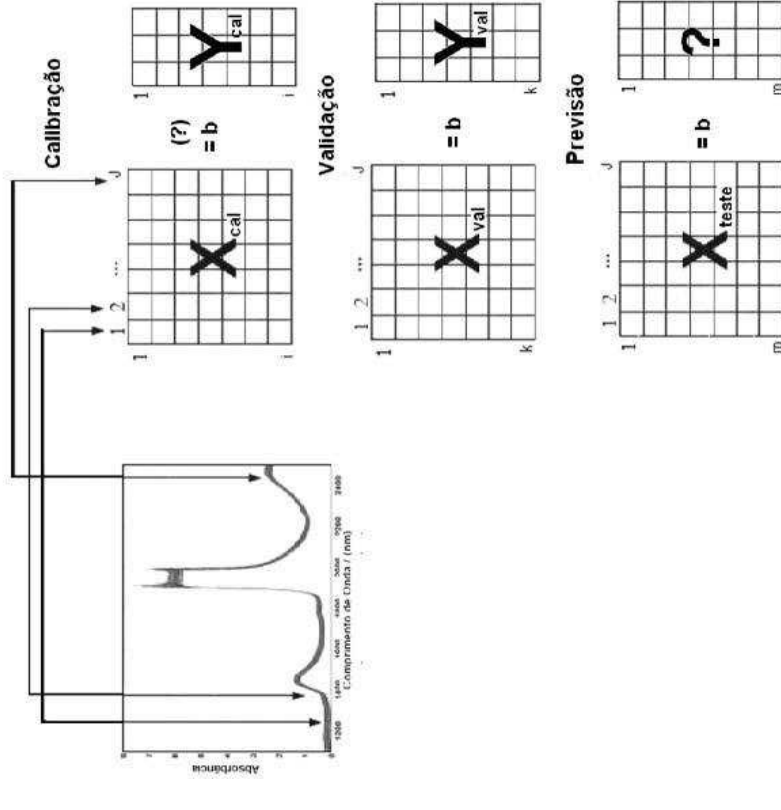


Figura 6. Organização dos dados na calibração multivariada.

Uma diversidade de métodos de regressão vem sendo utilizada em química analítica para a construção de modelos de calibração multivariada. Dentre esses, os mais empregados têm sido a regressão linear múltipla (MLR) e regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) (OTTO, 1999), que são métodos para ajuste linear entre as variáveis. Tem-se verificado que a maioria dos métodos de calibração multivariada empregados em espectroscopia utiliza ajuste linear entre as variáveis, uma vez que este representa o modelo de mais fácil elaboração e interpretação.

os desvios. Essa otimização simultânea ocasiona pequenas distorções nas direções dos loadings, de modo que, rigorosamente eles perdem a ortogonalidade, levando a pequenas redundâncias de informação. No entanto, são essas pequenas redundâncias que otimizam a relação linear entre os scores e estas distorções da ortogonalidade entre os PC no PLS fazem com que os mesmos não sejam mais componentes principais (que são ortogonais) e sim variáveis latentes. A regressão por mínimos quadrados parciais estende o conceito do modelo inverso (propriedade como função da resposta instrumental), trocando as variáveis originais por um subconjunto truncado das variáveis latentes dos dados originais.

APLICAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA NIR EM PRODUTOS AGRÍCOLAS: PÓS-COLHEITA DE FRUTAS

A espectroscopia NIR foi utilizada pela primeira vez em produtos agrícolas por Karl Norris no final da década de 60. Em 1965, Norris e colaboradores aplicaram esta técnica pela primeira vez para avaliar o teor de umidade em grãos (NORRIS; HART, 1965). A partir de então, ela vem sendo utilizada para análises rápidas de determinação do teor de umidade, proteína e lipídeos de uma variedade de produtos agrícolas e alimentícios (DAVIES; GRAND, 1987). As aplicações mais antigas em produtos hortícolas focalizaram a determinação do teor de matéria-seca em cebola (BIRTH et al., 1985), sólidos solúveis em maçã (BELLON-MAUREL, 1992) e umidade em champignon (ROY et al., 1993), contudo muitas outras aplicações têm surgido recentemente.

Como a propagação da radiação NIR nos tecidos de frutos e hortaliças é afetada pela sua microestrutura, logo foi descoberto que a espectroscopia NIR poderia ser também utilizada para determinar atributos relacionados à microestrutura destes tecidos. Estas determinações incluem a textura em maçã (LAMMERTYN et al., 1998), danos internos em kiwi (CLARK et al., 2003a) e abacate (CLARK et al., 2003b) e até atributos sensoriais em maçã (MEHINAGIC et al., 2004).

Recentemente Nicolai e colaboradores (NICOLAI et al., 2007) publicaram uma revisão sobre a aplicação da espectroscopia NIR como método não destrutivo para a determinação da qualidade de frutas e hortaliças. Nessa revisão, os autores relataram, somente para a determinação de sólidos solúveis, um total de 52 artigos. Grande parte dos mesmos foi conduzido com maçãs, todavia, pode-se encontrar trabalhos com goiaba (HSIEH; LEE, 2005), manga (SCHMILOVITCH et al., 2000), mamão papaia (SLAUGHTER et al., 1999) e abacaxi (GUTHRIE; WALSH, 1997).

Para sólidos solúveis, o valor típico encontrado para o erro quadrático medido do conjunto de previsão (Root Mean Square Error Prediction - RMSEP) fica ao redor de 0,5%, mas em poucas aplicações onde diferentes pomares e estações do ano foram utilizados para calcular o RMSEP, este valor é consideravelmente maior (1,0 a 1,5%), o que demonstra que grande parte dos valores do erro apresentados nas publicações são subestimações do que se pode esperar em aplicações práticas (NICOLAI et al., 2007).

Para outras aplicações com frutas e hortaliças, a espectroscopia NIR apresenta algumas limitações. Enquanto para a predição de matéria-seca bons modelos podem ser obtidos, para a predição de acidez isto se torna mais difícil. A concentração de ácidos na maioria das frutas e hortaliças é geralmente menor que o de açúcares que, por sua vez, são provavelmente muito menores para que possam afetar significativamente o espectro NIR. As bandas de absorção da água dominam o espectro obtido com frutas e hortaliças e é improvável que

pequenos constituintes possam ser bem determinados. Contudo, quando a concentração de tais constituintes está correlacionada a açúcares, por exemplo, os resultados de calibração podem ser adequados, mas o método é indireto e a robustez deste método se torna uma questão importante quando aplicado em diferentes lotes (NICOLAI et al., 2007).

Segundo Nicolai e colaboradores, a indústria tem liderado o desenvolvimento de sistemas “on-line”, sendo que o primeiro sistema de classificação com sensor NIR com modo de reflectância foi utilizado pela Mitsui Minig Co. Ltda, em 1989, no Japão, para selecionar pêssegos com base no teor de sólidos solúveis (KAWANO, 1998). Ainda segundo estes autores, após este evento, outras empresas seguiram esta tendência e muitas linhas de classificação são hoje equipadas e comercializadas com sensores NIR.

QUALIDADE PÓS-COLHEITA

Segundo Chitarra e colaboradores (CHITARRA et al., 2005), a qualidade não é um atributo único bem definido, e sim um conjunto de muitas propriedades ou características peculiares de cada produto hortícola. Estas englobam propriedades sensoriais, valor nutritivo e multifuncional decorrentes dos componentes químicos, propriedades mecânicas, bem como a ausência ou a presença de defeitos do produto. Desse modo, a qualidade pode ser definida como o “conjunto de características que diferenciam componentes individuais de um mesmo produto e que têm significância na determinação do grau de aceitação desse produto pelo consumidor” (CHITARRA et al., 2005).

Atributos de qualidade

De maneira geral, os atributos de qualidade de um produto hortícola podem ser agrupados em categorias (Tabela 1), salientando que os mesmos devem ser considerados em conjunto, visando atender a necessidade do consumidor, como também à proteção da saúde pública e legislação.

Tabela 1. Atributos de qualidade para frutas e hortaliças.

Atributos	Componentes
Sensoriais	
Aparência	· Tamanho; dimensões, peso, volume. · Forma: diâmetro longitudinal x transversal, uniformidade. · Cor: intensidade, uniformidade. · Brilho: lustre, aparência externa.
Textura	· Defeitos: externos e internos (morfológicos, físicos; mecânicos, fisiológicos, patológicos, entomológicos). · Firmeza, dureza, maciez, fragilidade, succulência, granulolidade, resistência e fibrosidade.
“Flavor” (sabor e aroma)	· Doçura, acidez, adstringência, amargor, aroma (voláteis), sabores e odores estranhos. · Relação entre casca: polpa; canoco. · Volume de suco, número de sementes (laranja). · Índice tecnológico (suco: sólidos solúveis).
Valor nutritivo	· Carboidratos, proteínas, lipídeos, vitaminas, minerais etc.
Segurança	· Substâncias tóxicas naturais, contaminantes (resíduos, metais), microtoxinas, microrganismos patogênicos ao homem.

Fonte: Chitarra e Chitarra (2005).

Sensoriais

A aparência é o fator de qualidade de maior importância na comercialização de produtos hortícolas, sendo avaliada por diferentes atributos, ou seja: frescor, tamanho, forma, cor, higiene, maturidade e ausência de defeitos (Figura 7a).

Durante a colheita dos frutos de açaizeiro e juçara, a principal causa de defeitos são os danos mecânicos (amassamentos, abrasões, ferimentos etc.) decorrentes do manuseio incorreto, principalmente durante a debulha. Esta operação consiste na liberação dos frutos dos cachos e provoca o rompimento da epiderme dos frutos, o que pode levar a contaminações por microrganismos, levando a deterioração do produto (Figura 7b).



Foto: Gustavo Henrique de Almeida Teixeira.

Figura 7. Colheita (A), debulha (B) e qualidade (C) de frutos de açaizeiro (Euterpe oleracea Mart.).

Enquanto para a produção de polpa de açaí já existe um Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ), Instrução Normativa nº 12, de 10 de setembro de 1999 (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento), não existe ainda nenhuma regulamentação oficial a respeito dos frutos íntegros. Todavia, nesta Instrução Normativa ficou estabelecido que:

A polpa de açaí e o açaí devem ser obtidos de frutas frescas, sãs, maduras, atendendo às respectivas especificações, desprovidas de terra, sujidade, parasitas e microrganismos que possam tornar o produto impróprio para o consumo (BRASIL, 2000).

Com relação à aparência, Vasconcelos e colaboradores (VASCONCELOS et al., 2005) relataram que, após a colheita, os frutos de açaizeiro são classificados em:

- Vitrin: os frutos apresentam grande parte da casca (epicarpo) com coloração roxo-escura e o restante verde-escura, não estando em condições de colheita;
- Paró ou Parau: os frutos apresentam a coloração roxo-escura intensa, com brilho na superfície da casca, mas ainda não no ponto ideal de colheita;
- Tuíra: os frutos apresentam a casca com a tonalidade roxo-escura intensa, mas recoberta por uma camada de pó com a tonalidade branco-acinzentada, que caracteriza estádio adequado para a colheita dos frutos.

Os mesmos autores (VASCONCELOS et al., 2005) propuseram ainda que, durante a debulha, os frutos devam ser selecionados visando à eliminação dos atacados por insetos, doenças ou animais e daqueles contaminados por material fecal de aves.

Rendimento

Os frutos de açaizeiro e palmitieiro-juçara são globosos, do tipo baga com diâmetro que varia de 1 a 2 cm. Possuem superfície lisa, de cor vinho púrpura com aspecto fosco quando atinge seu período de maturação. O mesocarpo do açaí tem aproximadamente 1 mm de espessura e no restante da parte interna predomina um caroço endurecido, pesando de 2,6 a 3,0 g (PAULA, 1975). Portanto, a proporção de polpa representa apenas de 5 a 15% do volume do fruto, com esta porcentagem fluando segundo a variedade e o grau de maturidade do fruto.

Valor nutritivo

Valor nutricional

Os frutos do açaizeiro e palmitieiro-juçara podem ser considerados alimentos de alto valor calórico, devido ao elevado percentual de lipídeos, e nutricional, pois são ricos em proteínas e minerais (Tabela 2).

Tabela 2. Composição química, com base na matéria-seca, e valor nutricional de frutos de açaizeiro e juçara.

Composição	Juçara <i>Euterpe edulis</i> Mart.	Açaizeiro <i>Euterpe oleracea</i> Mart.
pH	4,7	4,8
Proteínas	67,2 g/kg	77,6 g/kg
Lipídios Totais	137,8 g/kg	130,9 g/kg
Açúcares Totais	12,1 g/kg	10,2 g/kg
Energia	155,74 kcal/100g	152,9 kcal/100g
Fósforo	0,8 g/kg	1,4 g/kg
Potássio	12,1 g/kg	7,4 g/kg
Cálcio	4,3 g/kg	4,8 g/kg
Magnésio	1,5 g/kg	1,4 g/kg
Ferro	559,6 mg/kg	328,5 mg/kg
Cobre	14 mg/kg	20,4 mg/kg
Zinco	12,2 g/kg	10,1 mg/kg

Fonte: Silva et al. (2004).

Valor funcional

Esses frutos, especialmente o açaí, têm despertado muito interesse devido ao alto teor de compostos e capacidade antioxidante (SILVA et al., 2004; GALLORI et al., 2004; COISSON et al., 2005), cujo consumo tem implicações relacionadas à saúde. Efeitos benéficos dos polifenóis vegetais à saúde têm sido reconhecidos por sua habilidade de inibir as reações oxidativas (ROGINSKY; LISSI, 2005). Dentre os compostos fenólicos, as antocianinas têm apresentado propriedades funcionais excelentes e elevada capacidade antioxidante (SCHAUSS et al., 2006; PACHECO-PALENCIA et al., 2007). Segundo Chitarra e colaboradores (CHITARRA e CHITARRA, 2005), as antocianinas são glicosídeos solúveis em água e encontram-se principalmente nos vactolos das células de frutos e de algumas hortaliças, conferindo forte coloração azul, vermelho, púrpura ou laranja depende da sua estrutura fenilpropanóide e da presença de grupos hidroxílicos (-OH), metoxílicos (-OCH₃), açúcares e açúcares acetilados, os quais têm efeito marcante na intensidade e na estabilidade da cor. A coloração dos frutos de açaizeiro e palmito-juçara é devida à presença de antocianina (IADEROZA et al., 1992; LICHTENTHALER et al., 2005; POZO-INSFRAN et al., 2004), sendo o palmito-juçara considerado mais rico em antocianina total (1.347 mg 100 g⁻¹) que o açaizeiro (336 mg 100 g⁻¹).

Nos frutos de palmito-juçara, foram observados teores de antocianina total de 2,956 mg 100 g⁻¹, sendo a cianidina-3-glicosídeo e a cianidina-3-rutinosídeo identificadas como as mais abundantes. Todavia, outros compostos de menor importância também foram relatados: cianidina-3-sambubiosídeo, pelargonidina-3-glicosídeo, cianidina-3-raminosídeo e perlagonidina-3-rutinosídeo (BRITO et al., 2007). Os frutos de açaizeiro foram mais estudados e cinco antocianinas foram identificadas como predominantes nestes frutos, sendo a cianidina-3-glicosídeo e a cianidina-3-rutinosídeo as mais abundantes (SCHAUSS et al., 2006), o que está de acordo com outros trabalhos realizados previamente (GALLORI et al., 2004; IADEROZA et al., 1992; LICHTENTHALER et al., 2005). As outras três, de menor participação, foram a feonidina-3-glicosídeo, cianidina-3-sambubiosídeo e a feonidina-3-rutinosídeo, sendo as duas últimas identificadas pela primeira vez. Por outro lado, Bobbio e colaboradores (BOBBIO et al., 2000) encontraram a cianidina-3-arabinosídeo e cianidina-3-arabinosilarabinosídeo como sendo as antocianinas predominantes no açaí, enquanto que no trabalho de Pozo-Insfran e colaboradores (POZO-INSFRAN et al., 2004) somente a cianidina-3-glicosídeo foi considerada como de importante participação, e a pelargonidina-3-glicosídeo de menor importância.

Além das antocianinas, outros compostos fenólicos identificados como pró-antocianinas foram encontrados em frutos de açaizeiro (LICHTENTHALER et al., 2005). Segundo Schauss e colaboradores (SCHAUSS et al., 2006), frutos liofilizados contêm monômeros (epicatequina e catequina) e os tipos B de pró-antocianinas formam dímeros e polímeros, sendo estes últimos os mais abundantes. Pacheco e colaboradores (PACHECO-PALENCIA et al., 2007), também identificaram (-)-epicatequina e (+)-catequina em polpa congelada de açaí, além de quatro derivados de flavan-3-ol como sendo pró-antocianinas e/ou polímeros de alto peso molecular. Esses autores ainda identificaram outros compostos fenólicos como os ácidos protocatecúlico, p-hidroxibenzóico, p-cumárico, ferúlico e vanílico em concentrações variando de 1,06

a 2,97 mg L⁻¹.

Schauss e colaboradores identificaram outro composto fenólico de grande interesse, o resveratrol, que é encontrado principalmente na epiderme de uvas e apresenta propriedades quimiopreventivas contra o câncer (ULRICH et al., 2005). Frutos liofilizados contêm trans-resveratrol, todavia, em concentrações de somente 1,1 µg g⁻¹, o que é provavelmente muito pouco para expressar algum efeito preventivo, embora permaneça como sendo uma questão a ser abordada em profundidade.

Nos vários trabalhos realizados para caracterizar as antocianinas destes frutos, foram utilizadas técnicas cromatográficas (GALLORI et al., 2004; SCHAUSS et al., 2006; PACHECO-PALENCIA et al., 2007; IADEROZA et al., 1992; LICHTENTHALER et al., 2005; POZO-INSFRAN et al., 2004) e espectrofotométricas (BOBBIO et al., 2000), todas elas destrutivas e relativamente demoradas, o que dificulta a determinação da qualidade inicial da matéria-prima em função do teor destes compostos no momento da recepção. Entretanto, Merzlyak e colaboradores (MEZLYAK; GITELSON, 1995) relataram que, para uma ampla diversidade de espécies vegetais, a reflectância, dentro de certa banda espectral, é altamente correlacionada à concentração de vários pigmentos. Isto torna o uso da espectroscopia NIR um método analítico potencialmente aplicável para a determinação dos teores de antocianinas em frutos de açaizeiro e palmito-juçara.

A estimativa do conteúdo de pigmentos em frutos é bastante dificultada, pois, durante a senescência, os tecidos vegetais sofrem notáveis mudanças de coloração como resultado das modificações nos conteúdos e proporções dos pigmentos (TUCKER et al., 1993; WILLS et al., 1998). Isto faz com que as aplicações de reflexões espectrofotométricas não destrutivas para a estimativa do estado fisiológico das plantas e monitoramento de eventos induzidos pela senescência em vegetais sejam muito atrativos.

Várias tentativas foram realizadas na busca de desenvolver métodos ópticos para avaliar o estágio de maturação e qualidade de frutos (NICOLAI et al., 2007). Em muitos casos, mas não em todos, as mudanças na coloração de tecidos vegetais senescentes estão relacionadas à degradação preferencial da clorofila em relação aos carotenóides, o que resulta em amarelamento e eventualmente no desenvolvimento de coloração amarelo brilhante (CHITARRA et al., 2005; TUCKER, 1993; WILLS et al., 1998). Portanto, uma estimativa da proporção entre pigmentos poderia servir como um marcador da senescência. Embora os tecidos vegetais exibam complicadas propriedades ópticas (OSBORNE; RAVEN, 1968; VOGELMANN, 1993; RICHTER; FUKSHANSKY, 1996). Estimativas não destrutivas de clorofila têm sido mostradas como sendo possíveis, usando a reflectância na região do verde (550 nm) e do vermelho (700 nm) do espectro visível (GITELSON; MERZLYAK, 1994). Na região do azul, carotenóides e clorofilas exibem fortes e sobrepostas absorções que tornam difícil a separação que cada um contribui para a reflectância, até mesmo nos estádios finais da senescência foliar ou do fruto (GITELSON; MERZLYAK, 1996).

Quanto às antocianinas, pigmentos de maior interesse no açaí e palmito-juçara, Nazarov e colaboradores (NAZAROV et al., 2005) encontraram um erro padrão de predição (SEP) deste pigmento da ordem de 0,82 em uvas viníferas, com um coeficiente de determinação variando de 0,70 a 0,82. Estes resultados mostram ser possível a utilização de métodos não invasivos e/ou destrutivos para a avaliação da qualidade de

frutos íntegros como base nos teores de antocianina que, sem dúvida, são de extrema importância para a industrialização dos frutos de açaizeiro e palmito-juçara, não só por serem responsáveis por sua coloração atrativa, mas também pelas características funcionais que possuem.

Segurança

A segurança alimentar está diretamente relacionada à inocuidade no uso do alimento e também à garantia de que todas as pessoas devem ter acesso físico e econômico a alimentos nutritivos, seguros e em quantidade suficiente (CHITARRA et al., 2005).

Quanto à inocuidade, recentes casos de contaminação de frutos de açaizeiro pelo barbeiro (Triatoma infestans), causador da doença de Chagas, foram noticiados pelo jornal Folha de São Paulo (SUÇO de açaí..., 2007), evidenciando a necessidade de se melhorar as práticas atualmente adotadas durante o manuseio dos frutos. Segundo Vasconcelos e colaboradores (VASCONCELOS; ALVES, 2005) é prudente a não permanência na área, quando da debulha dos frutos, de animais domésticos, como precaução à contaminação cruzada dos frutos. Do mesmo modo, os locais de armazenamento, antes do transporte dos frutos para os locais de processamento, devem ser exclusivos para estocagem dos frutos, sendo vetada a ambiência com outros alimentos, materiais de limpeza, combustíveis, lubrificantes, peças de motores, defensivos agrícolas ou qualquer outro material que possa provocar a contaminação do produto.

APLICAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA NIR EM FRUTOS DE AÇAIZEIRO E PALMITO-JUÇARA

A espectroscopia NIR foi utilizada, juntamente com ferramentas de calibração multivariadas, visando o desenvolvimento de uma metodologia e/ou modelo para a determinação de antocianina total em frutos íntegros de açaizeiro e palmito-juçara. Para isso, foram coletados 139 frutos íntegros pertencentes a sete genótipos de palmito-juçara cultivados no Viveiro Experimental de Plantas Ornamentais e Florestais da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) da Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de Jaboticabal, SP, e sete genótipos de açaizeiro do Banco de Germoplasma do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), localizado no município de Ubatuba, SP. O código A e J foram estabelecidos para os genótipos do Açaí e Juçara, respectivamente. Para cada genótipo (Açaí e Juçara) foram coletados 10 frutos, totalizando 139 frutos.

MÉTODO DE REFERÊNCIA: ANTOCIANINAS TOTAIS

O teor de antocianina total, expresso como cianidina-3-glicosídeo (% m/m), nos 139 frutos apresentou uma faixa bem ampla de valores, variando de 0,15 a 8,20%. Todavia, os valores médios observados foram de 1,05 e 3,94% nos frutos de açaizeiro e palmito-juçara, respectivamente. Os frutos de palmito-juçara apresentaram, em média, cerca de três vezes mais antocianina que os de açaizeiro. Na Tabela 3, é possível observar os valores de antocianinas para os frutos analisados.

Tabela 3. Dados dos teores de antocianina total (cianidina-3-glicosídeo) (% m/m) dos frutos das diferentes entradas de açaizeiro (Euterpe oleracea Mart.) e palmito-juçara (Euterpe edulis Mart.) oriundos do Estado de São Paulo.

Genótipos	Amostras de calibração		
	Número de amostras	Faixa (%)	Média ± dp* (%)
Açaizeiro (Euterpe oleracea Mart.)	69	2,59 – 0,15	1,05 ± 0,63
Planta 1: Ubatuba	10	1,70 – 0,22	0,75 ± 0,45
Planta 2: Ubatuba	10	0,82 – 0,15	0,50 ± 0,24
Planta 3: Ubatuba	9	2,59 – 0,46	1,46 ± 0,73
Planta 4: Ubatuba	10	2,31 – 0,51	1,67 ± 0,60
Planta 5: Ubatuba	10	1,96 – 0,70	1,41 ± 0,42
Planta 6: Jaboticabal	10	0,79 – 0,19	0,50 ± 0,18
Planta 7: Jaboticabal	10	1,87 – 0,63	1,08 ± 0,46
Palmito-juçara (Euterpe edulis Mart.)	70	8,20 – 0,59	3,94 ± 1,87
Planta 1: Jaboticabal	10	4,62 – 0,59	2,05 ± 1,21
Planta 2: Jaboticabal	10	5,36 – 2,97	4,20 ± 0,78
Planta 3: Jaboticabal	10	6,85 – 4,69	5,57 ± 0,89
Planta 4: Jaboticabal	10	7,90 – 2,95	4,44 ± 1,44
Planta 5: Jaboticabal	10	1,76 – 0,70	1,33 ± 0,33
Planta 6: Jaboticabal	10	6,36 – 2,18	4,54 ± 1,18
Planta 7: Jaboticabal	10	8,20 – 3,34	5,11 ± 1,51

* desvio padrão.

INSTRUMENTAÇÃO

Os espectros NIR (média de 50 varreduras, resolução espectral de 8 cm⁻¹, faixa de 700 – 2500 nm), sem tratamento químico prévio, de 139 frutos de açaizeiro e palmito-juçara íntegros, em triplicata, foram obtidos através de um espectrofotômetro FT-NIR Spectrum 100 N (PerkinElmer, Shelton, Estados Unidos) utilizando um acessório de reflectância difusa.

MODELOS QUIMIOMÉTRICOS

Foi realizada uma análise de agrupamentos hierárquicos e análise por componentes principais (PCA), utilizando-se os espectros NIR dos 139 frutos íntegros. Para a construção de modelos multivariados (PLS), foram utilizados os seguintes pré-tratamentos: suavização Savitzky-Golay (janelas 3 e 5 pontos), correção por espalhamento multiplicativo de luz (MSC) e 1ª e 2ª derivadas Savitzky – Golay. Os modelos multivariados (PLS), etapa de pré-tratamento, algoritmos para seleção de variáveis (iPLS, AG, APS) foram utilizados empregando-se o MatLab 6.5 usando o pacote PLS-Toolbox.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 8, podem ser observados os espectros de reflectância difusa na região do infravermelho próximo (NIR) de 70 frutos de açaizeiro e 69 de palmiteiro-juçara, totalizando 139 espectros NIR, em triplicata. Pode-se observar a partir dos espectros originais que existem elevadas sobreposições entre as amostras, não havendo a possibilidade de qualquer tipo de identificação prévia dos principais constituintes das amostras, sejam químicos ou físicos, ou de características semelhantes entre os mesmos. Além disso, os espectros se apresentam ainda com alguns ruídos instrumentais e erros no espalhamento de luz, que provocam o deslocamento da linha base nos espectros e, ainda, espalhamentos multiplicativos. É possível a atribuição de algumas bandas de combinação e sobretons evidenciadas nos espectros originais. Dentre elas, podem ser citadas: bandas entre 1450 – 1460 nm atribuída a estiramentos de N-H (amidas) referente ao primeiro sobreton; bandas de molécula de água em 1450 e 1900 nm; bandas entre 1600 – 1800 nm atribuída a estiramentos C-H referente ao primeiro sobreton; bandas entre 1910 – 1980 nm atribuída a C=O (amidas) referente ao segundo sobreton; bandas na região de combinação entre 2110 a 2205 nm e 2250 a 2260 nm referentes a N-H (aminas) e O-H (água) referente a uma combinação de vibrações.

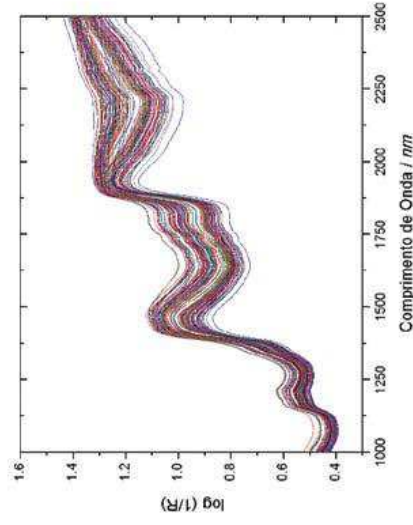


Figura 8. Um total de 139 espectros originais de reflectância difusa na região do infravermelho próximo (NIR) dos frutos de açaizeiro e palmiteiro-juçara.

Com base nestas observações, faz-se necessária a aplicação de pré-tratamentos matemáticos nos espectros originais de modo a facilitar a interpretação das propriedades relacionadas aos sinais analíticos, antes da construção do modelo multivariado. A correção de espalhamento multiplicativo de luz, “Multiplicative Scattering Correction” (MSC), foi realizada sobre os

espectros devido às dispersões de luz em todas as direções, ocasionadas por granulação e geometria das partículas na amostra, provocando alterações na relação entre a intensidade das medidas de reflectância e a concentração das espécies em análise. Esta etapa facilita a construção de modelos mais precisos e robustos, com boa habilidade de previsão. Além disso, realizou-se sobre os espectros corrigidos pelo MSC o cálculo da primeira e segunda derivada utilizando o algoritmo Savitzky-Golay, visando-se, principalmente, a correção da linha de base.

Após a realização dos pré-tratamentos nos espectros NIR, foram obtidos novos espectros corrigidos, conforme mostrados na Figura 9. Como pode ser observado nesta figura, os elevados desvios de linha base foram corrigidos permitindo-se inicializar a construção de modelos multivariados.

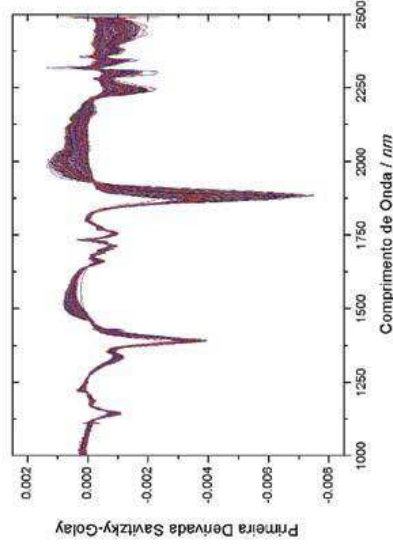


Figura 9. Espectros NIR dos frutos de açaizeiro e palmiteiro-juçara após a correção MSC e 1ª derivada Savitzky-Golay (janela de 7 pontos).

ANÁLISE EXPLORATÓRIA DE DADOS

ANÁLISE DE AGRUPAMENTO: VARIABILIDADE GENÉTICA DAS POPULAÇÕES

Após a etapa de pré-tratamento nos espectros NIR das 139 amostras dos frutos intactos, foi aplicada a Análise por Agrupamentos Hierárquicos. Este método consiste em um procedimento de agrupamento hierárquico no qual a medida de similaridade usada para juntar agrupamentos é calculada como a soma de quadrados entre os dois agrupamentos

feitos sobre todas as variáveis. Para isso, é construída uma matriz de agrupamentos a partir do cálculo da distância Euclidiana, e a partir das matrizes geradas são gerados dendrogramas, utilizando o algoritmo de Wards. O método de Wards tende a resultar em agrupamentos de tamanhos aproximadamente iguais devido a sua minimização de variação interna. Em cada estágio, combinam-se os dois agrupamentos que apresentarem menor aumento na soma global de quadrados dentro dos agrupamentos (HAIR et al., 2005).

Para a construção dos agrupamentos, foram aplicados dois tipos de tratamentos nos espectros NIR: MSC e 1ª derivada. Foi formado um total de seis agrupamentos quando se aplicou o método MSC, conforme mostrado na Figura 10A. Aplicando-se a 1ª derivada nos espectros, foi observado, conforme mostrado na Figura 10B, um total de quatro grupos. Com base nos valores de antocianinas dos dois tipos de frutos investigados, a formação de agrupamentos entre as amostras foi em função do maior teor de antocianina total nos frutos do palmititeiro-juçara.

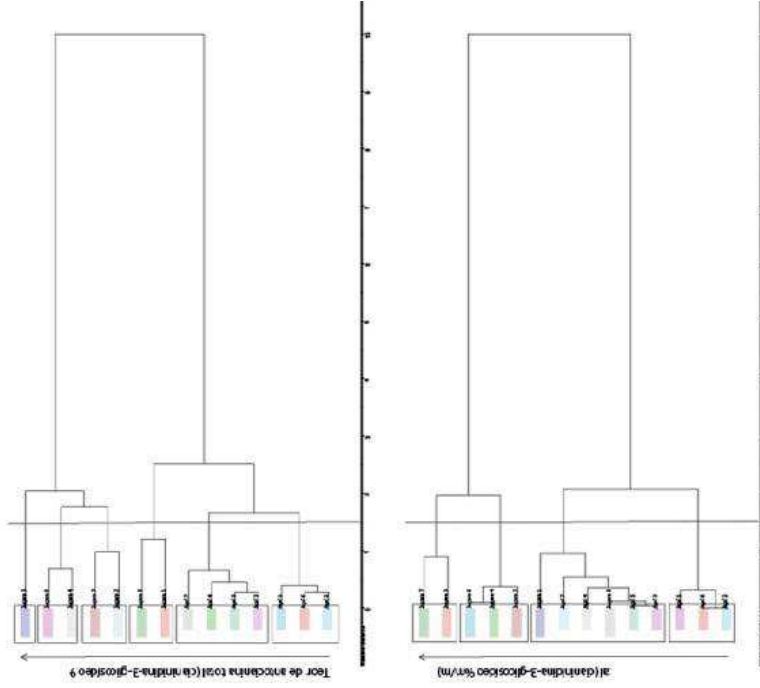


Figura 10. Dendrogramas baseados nos espectros de reflectância difusa na região do infravermelho próximo (NIR) dos frutos de sete genótipos de açaí e palmititeiro-juçara. (A) espectros NIR com a correção multiplicativa de espalhamento de luz (MSC) e (B) com a transformação derivada primeira de Savitzky-Golay em Teixeira et al. (2011a).

ANÁLISE POR COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA)

Este tipo de análise foi empregado para separação ou classificação dos frutos analisados, de acordo com suas características similares. O principal objetivo é retirar o máximo de informação dos dados, convertendo-as em gráficos que mostram a relação entre as amostras e variáveis, transformando um conjunto de dados complexos, com muitas dimensões, em um conjunto mais simples, com menos dimensões e sem colinearidade. Sendo assim, realizou-se a PCA nos 139 espectros NIR dos frutos após os seguintes pré-tratamentos: MSC e 1ª derivada Savitzky-Golay. Na Figura 11 pode ser observado o gráfico dos escores da PCA em duas dimensões, informando que PC1 explica 88% de toda a variância dos dados e PC2 explica 8%, totalizando 96% de toda a informação disponível.

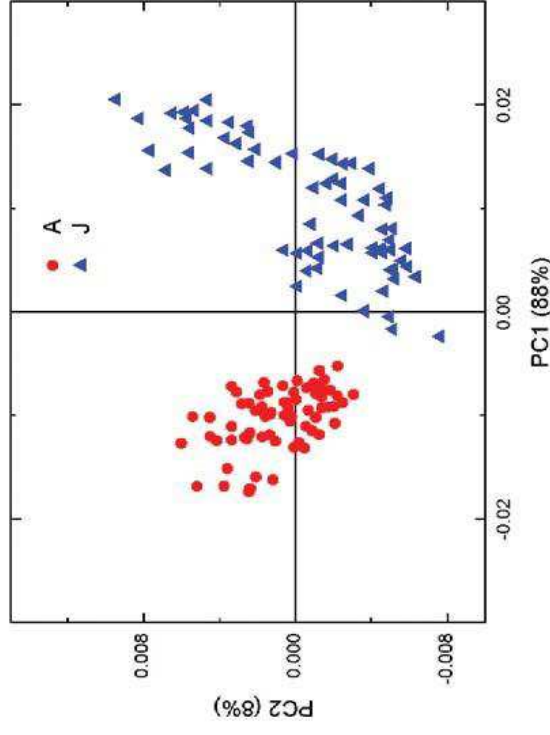


Figura 11. PCA de 139 frutos dos genótipos açaí e palmititeiro-juçara em Teixeira et al. (2011b).

Com base na Figura 11, percebe-se que existem claras diferenças entre as amostras do fruto do açaí e do palmititeiro-juçara. A grande diferença entre os genótipos está relacionada a vários aspectos, destacando: o maior teor de antocianina total dos frutos de juçara (Tabela 3); a maior luminosidade (L^*) nos frutos de açaí (31,90±1,52) em relação aos de palmititeiro-juçara (26,39±1,01), possivelmente em função da maior presença de ceras na epiderme daqueles frutos; e, também, à maturidade dos frutos, uma vez que o amadurecimento dos mesmos no cacho é heterogêneo (LIN, 1988). Outro aspecto importante, principalmente nos frutos de açaí, é que os frutos mais maduros que permanecem nos cachos secam

e continuam aderidos aos mesmos. Os frutos de palmitreiro-juçara, ao contrário, caem ao atingir estádios mais avançados de senescência.

Contudo, quando se aplicou o PCA para cada genótipo separadamente, percebeu-se que para o açaí houve praticamente a formação de um grande grupo de amostras, muito provavelmente pelas semelhanças entre as composições dos valores de antocianinas medidos e demais parâmetros de qualidade. Apesar de origens diferentes, A6 e A7 foram colhidos em Jaboticabal, SP, e os demais em Ubatuba, SP (Figura 12A).

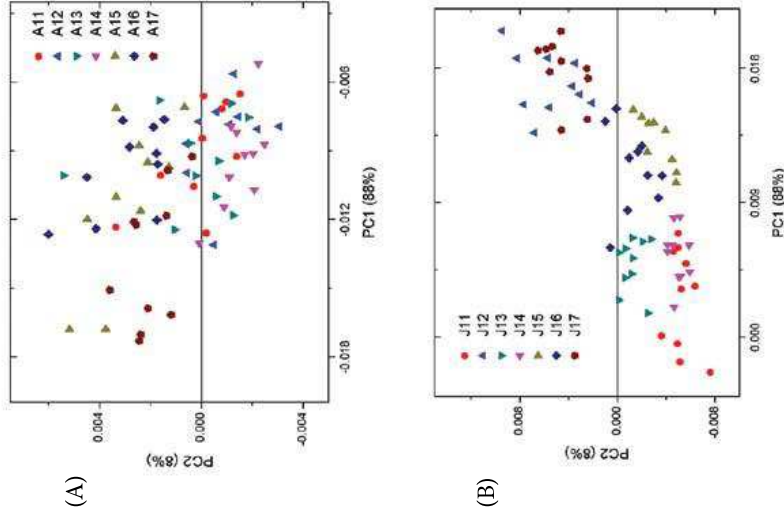


Figura 12. (A) escores da PC1 e PC2 referentes ao genótipo do açaí; (B) escores da PC1 e PC2 referentes ao genótipo do palmitreiro-juçara em Teixeira et al. (2011b).

Por outro lado, os frutos de palmitreiro-juçara formaram vários grupos que não se relacionaram ao teor de antocianina total apresentado tanto na Tabela 3 quanto na análise de agrupamento (Figura 10). Apesar de todos os frutos terem sido colhidos em Jaboticabal, SP, eles estavam em condições diferentes, ou seja, a pleno sol (J5, J6 e J7) e à sombra (J1, J2, J3 e J4), desta forma o amadurecimento heterogêneo dos mesmos no cacho (LIN, 1988) pode ter influenciado a formação dos grupos.

REGRESSÃO POR MÍNIMOS QUADRADOS PARCIAIS (PLS)

Para os resultados do teor de antocianinas totais, realizado com três replicatas para cada um dos 139 frutos, utilizou-se o valor médio de cada resultado para compor o vetor y de valores de referência. A matriz X foi composta pelas absorbâncias para cada amostra (espectro NIR), onde cada linha da matriz é representada por uma amostra diferente e as colunas representam as respectivas absorbâncias para a amostra em questão. A regressão dos mínimos quadrados parciais, para construção do modelo, retira informações do conjunto de dados da matriz espectral (matriz X) para correlacioná-las com as informações retiradas do conjunto de dados de referência (vetor y). Por meio de combinações lineares dos dados espectroscópicos (da matriz X) e dos dados de referência (vetor y), se obtém o número de variáveis latentes necessárias para correlacionar os espectros e as concentrações. A separação das amostras entre os conjuntos de calibração e validação realizados pelo algoritmo de Kennard-Stone resultou em um total de 100 amostras para o conjunto de calibração e 39 amostras para o conjunto de validação.

É usado para construção do modelo de calibração um número de variáveis latentes que proporcione o menor erro possível de previsão, ou seja, que as diferenças entre os valores de referência e os valores previstos sejam os menores. Para se determinar o número de variáveis latentes utilizadas no modelo, foi feita uma validação cruzada (validação interna) no conjunto de calibração: uma amostra do conjunto de calibração é excluída, o modelo é construído e então estimado o seu teor de antocianina total (AT). Esse processo é repetido até que todas as amostras sejam previstas para 1, 2 ou mais variáveis latentes. A habilidade do modelo de calibração para estimar (ou prever) o teor de antocianina total baseado nos dados dos espectros NIR gerados foi avaliada usando os erros de previsão e os coeficientes de correlação entre os valores dos teores de AT estimados pelo modelo utilizando espectros NIR e os valores do método de referência das amostras do conjunto de calibração. Para avaliar o desempenho dos modelos de calibração, foram calculados os erros de validação cruzada RMSEC (root mean square error of cross-validation - RMSEC) e de predição RMSEP (root mean square error of prediction - RMSEP).

Para os modelos de regressão empregando o método dos mínimos quadrados parciais (PLS), o número de variáveis latentes foi definido através de validação cruzada empregando amostras aleatoriamente retiradas do conjunto de calibração, sendo utilizados 20 segmentos com seis amostras cada, com o teste de incerteza e número ótimo de fatores. Foi utilizado também o coeficiente de determinação (R^2), pois este valor, essencialmente, representa a proporção da variância explicada pela variável de resposta no grupo de calibração (R_c^2) e predição (R_v^2).

Com o objetivo de avaliar o desempenho das técnicas de pré-processamento nos modelos obtidos, foram executadas as combinações possíveis entre as técnicas adotadas e os modelos

com o uso de regressão de mínimos quadrados parciais (PLS), sendo avaliados pelas raízes quadradas dos erros padrões médios para o conjunto de calibração (RMSEC), predição (RMSEP) e coeficiente de determinação (R^2). Os modelos obtidos foram comparados utilizando os espectros NIR dos dados originais sem pré-processamento (SP), com correção multiplicativa de espalhamento de luz (MSC), transformação com a derivada primeira de Savitsky-Golay (DP) e com correção MSC e transformação com a derivada primeira de Savitsky-Golay (MSC + DP). Os resultados encontrados estão sumarizados na Tabela 4.

Tabela 4. Resultado do pré-processamento dos espectros de reflectância na região do infravermelho próximo (NIR) de frutos íntegros de açaízeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) e palmititeiro-juçara (*Euterpe edulis* Mart.), oriundos do Estado de São Paulo, nos modelos obtidos com o uso da regressão de mínimos quadrados parciais (PLS).

Modelos	V.L*	RMSEC (%m/m)**	RMSEP (%m/m)***	Rc	Rp
Filtro 5p.	6	1,1863	0,9509	0,8145	0,7524
Filtro- 1ªDer ³ . 5p. MSC ²	4	0,97074	0,8521	0,8840	0,8336
1ªDer. 5p. MSC	6	0,11613	0,7348	0,9984	0,8836
1ªDer. 7p. MSC	4	0,81016	0,9383	0,9203	0,8033

*variáveis latentes; **raiz quadrada do erro padrão médio do conjunto de calibração; ***raiz quadrada do erro padrão médio do conjunto de predição; ¹sem transformação, ²correção multiplicativa de espalhamento de luz, e ³derivada primeira de Savitsky-Golay.

Primeiramente, foi construído um modelo com filtro (suavização) em janela de 5 pontos, contendo os frutos de açaízeiro e palmititeiro-juçara, todavia, apesar de este modelo segregar claramente as amostras de cada genótipo, o RMSEC de 1,1863 (%) obtido com os espectros NIR não foi adequado para determinar o teor de antocianina total nos frutos de açaí. O pré-processamento utilizando a correção multiplicativa de espalhamento de luz (MSC) melhorou o desempenho do modelo inicial, porém houve uma redução no número de variáveis latentes de seis para quatro do modelo inicial e do modelo 1ª Derivada em janela de 7 pontos e MSC, respectivamente (Tabela 4). A transformação com a derivada primeira de Savitsky-Golay (DP) também melhorou a robustez do modelo e permitiu que o número de variáveis latentes fosse reduzido para quatro no modelo mais simples encontrado com as técnicas de pré-processamento utilizadas (Tabela 4). O número de variáveis latentes voltou a aumentar com o uso da correção MSC e transformação com a derivada primeira de Savitsky-Golay (MSC + DP), contudo o RMSEC de 0,11613 (%) e coeficiente de determinação (R^2) de 0,9984 apresentaram uma melhora substancial (Tabela 4). Apesar da melhora no desempenho do modelo inicial, este ainda não se adequava aos frutos de açaízeiro. Desta forma, foram desenvolvidos modelos individuais para cada genótipo. A transformação derivada primeira de Savitsky-Golay (DP) melhorou a robustez do

modelo (RMSEC de 0,11613%), mantendo o número de variáveis latentes em relação ao primeiro modelo. Ao se utilizar a correção MSC e a transformação com derivada primeira de Savitsky-Golay (MSC + PD), houve uma redução do número de variáveis latentes, para os modelos Filtro, 1ª Derivada em janela de 5 pontos e MSC e 1ª Derivada em janela de 7 pontos e MSC, sendo observadas quatro variáveis latentes, havendo melhoras nos valores de RMSEC (0,97074; 0,81016 respectivamente) e do Rp (0,8336; 0,803, respectivamente). Os métodos de pré-processamento melhoraram consideravelmente os modelos obtidos com os espectros NIR dos frutos de palmititeiro-juçara (Tabela 4). A correção MSC melhorou o desempenho dos demais modelos em relação ao primeiro modelo baseado no RMSEC que diminuiu de 1,1863 para 0,81016 (%) e aumentou o Rp de 0,7524 para 0,8033, porém o número de variáveis latentes diminuiu de seis para quatro (Tabela 4). A transformação derivada primeira de Savitsky-Golay (DP) melhora a robustez dos modelos (RMSEC), quando comparada ao primeiro modelo. Foi realizada a validação interna por validação cruzada e os gráficos de correlação entre os valores de referência e os valores preditos pelo modelo PLS, para a quantificação de antocianina total em frutos íntegros de açaízeiro e palmititeiro-juçara, podem ser vistos na Figura 13.

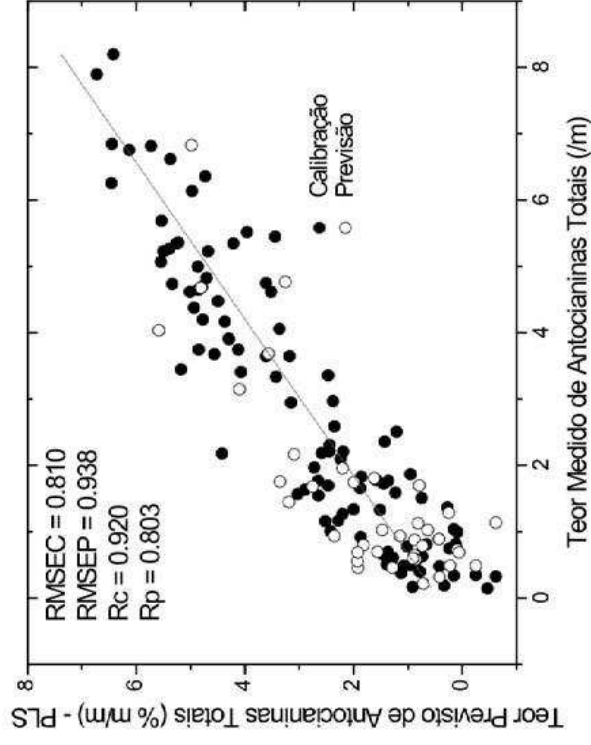


Figura 13. Valores calculados (círculos pretos) e preditos (círculos brancos) dos teores de antocianina total (cianidina-3-glicosídeo %m/m) de frutos de açaízeiro e palmititeiro-juçara baseados em espectros de reflectância difusa na região do infravermelho próximo (NIR). Espectros NIR transformados à derivada primeira de Savitsky-Golay.

Os resultados da predição do modelo inicial para o teor de AT para as amostras da validação interna comparados aos valores do teor de AT do método de referência podem ser observados na Figura 13. Com as técnicas de pré-processamento, correção MSC e transformação com a derivada primeira de Savitsky-Golay, o Rp observado foi de 0,803 e o RMSEP de 0,938. O modelo PLS desenvolvido com os frutos de açaizeiro apresentou resultados de predição baseados nas amostras de validação interna para o teor de AT bastante semelhantes independentemente das técnicas de pré-processamento utilizadas. O valor de RMSEP mais alto (0,9383%) foi observado no modelo com correção MSC e transformação com a derivada primeira de Savitsky-Golay em janela de 7 pontos, e os mais baixos (0,7348%) com o modelo de correção MSC e o modelo com a derivada primeira de Savitsky-Golay em janela de 5 pontos. A tarefa de comparar os modelos é extremamente tediosa, pois muitos modelos apresentam bons RMSEP, RMISEP, e Rp, mas valores ruins para outros parâmetros, dificultando a escolha dos melhores modelos (MELLO, 1988). Baseado principalmente nos valores de RMSEP e Rp, os melhores modelos PLS foram desenvolvidos com o uso dos espectros NIR com correção MSC e transformação com a derivada primeira de Savitsky-Golay, pois apresentaram menores valores de RMSEP e maiores coeficientes de correlação, em especial para o modelo 1ª Derivada em janela de 5 pontos e MSC, que pode ter sido influenciado pelo efeito das técnicas de pré-processamento nos espectros NIR dos frutos de palmititeiro-juçara.

Não foi realizada a validação externa dos modelos, pois a estes ainda serão inseridos os espectros NIR relativos aos demais experimentos previstos no projeto. Estes irão acrescentar informações no tocante à época de colheita, estágio de maturação e locais de produção, sendo estas informações de grande importância para melhorar a acurácia e robustez dos modelos. Do mesmo modo, a validação externa foi prevista para ser feita no último experimento com amostras de frutos oriundos do Estado do Pará, sendo esta imprescindível para a validação final dos modelos, segundo as recomendações da American Society for Testing Materials (ASTM).

FUTURO E CONCLUSÕES

A viabilidade da espectroscopia NIR em medir atributos de qualidade de frutas e hortaliças foi demonstrada para vários produtos. A alta velocidade de aquisição dos modernos espectrofotômetros NIR com arranjo de diodo que comumente tem um tempo de integração abaixo de 100 milissegundos (ms) em combinação com técnicas multivariadas poderosas, tais como a PLS, tem finalmente permitido as classificadoras on-line utilizarem atributos de qualidade, ao invés de aparência externa.

Todavia, a chance de sucesso na implementação desta tecnologia depende de vários fatores, tais como: acurácia dos modelos baseados em grandes bases de dados que incluam diferentes pomares, condições climáticas, estações do ano, condições operacionais, roduz (técnicas adequadas de pré-processamento).

Teixeira e colaboradores (TEIXEIRA et al., 2011a; 2011b; 2011c) demonstraram a viabilidade de se utilizar a espectroscopia NIR para classificar frutos de açaizeiro e palmititeiro-juçara quanto ao teor de antocianina. Porém, o fator mais importante para o sucesso de um sistema on-line de classificação de frutos e hortaliças é a sua capacidade de agregar valor ao produto. Somente quando os consumidores forem capazes de pagar valores maiores aos produtos em função, por exemplo, do teor de antocianina, é que as casas de embalagens e/ou indústrias terão a intenção de adquirir linhas de classificação com sensores NIR, e assim mudarem seus sistemas de controle de qualidade, que atualmente são quase que exclusivamente baseados na aparência externa.

Referências

- AGATI, G.; CEROVIC, Z. G. Non-destructive monitoring of fruit anthocyanins of chlorophyll fluorescence spectroscopy. In: INFORMATION AND TECHNOLOGY FOR SUSTAINABLE FRUIT AND VEGETABLE PRODUCTIONS – FRUTIC, 5, 2005, Montpellier. **Anais...** [s. l.: s. n.], 2005. 1 CD-ROM.
- ALOMAR, D.; MONTERO, R.; FUCHSLOCHER, R. Effect of freezing and grinding method on near-infrared reflectance (NIR) spectra variation and chemical composition of fresh silage. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 78, n. 1-2, p. 57-63, 1999.
- BARTHUS, R. C.; POPPI, R. J. Determination of the total unsaturation in vegetable oils by Fourier transform Raman spectroscopy and multivariate calibration. **Vibr. Spectrosc.**, [S. l.], v. 26, p. 99-105, 2001.
- BELLON=MAUREL, V. **Application de la spectroscopie proche infrarouge au controle en ligne de la qualite des fruits et legumes**. 1992. These (Doctorat) - l'Institut National Polytechnique de Toulouse, 1992.
- BIRTH, G. S.; DULL, G. G.; RENFROE, W. T.; KAYS, S. J. **Journal American Society for Horticultural Science**, [S. l.], v. 110, p. 297, 1985.
- BLANCO, M.; VILLARROYA, I. NIR spectroscopy a rapid response analytical tool. **Trends in Analytical Chemistry**, Amsterdam, v. 21, n. 4, p. 240-250, 2002.
- BOBBIO, F. O.; DRUZIAN, J. I.; ABRÃO, P. A.; BOBBIO, P. A.; FADELLI, S. Identificação e quantificação das antocianinas do fruto do açaizeiro (*Euterpe oleracea*) Mart **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 3, p. 388-390, 2000.
- BRASIL. Instrução normativa nº 1, de 7 de janeiro de 2000. Estabelece o regulamento técnico para a fixação dos padrões de identidade e qualidade para a polpa de fruta. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 jan. 2000. Seção 1, n. 6, p. 54-58.
- BRETON, R. G. Introduction to Multivariate Calibration in Analytical Chemistry. **Analyst**, London, v. 125, p. 2125-2154, 2000.
- BRITO, E. S.; ARAÚJO, M. C. P.; ALVES, R. E.; CARKEET, C.; CLEVIDENCE, B. A. Anthocyanins Present in Selected Tropical Fruits: Acerola, Jambolão, Jussara, and Guajiru. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 55, n. 23, p. 9389-9394, 2007.
- BUTZ, P.; HOFMANN, C.; TAUSCHER, B. **J. Food. Sci.**, v. 70, p. 131, 2005.
- CLARK, C. L.; MCGLONE, V. A.; JORDAN, R. B. Detection of Brownheart in 'Braeburn' apple by transmission NIR spectroscopy. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 28, n. 1, p. 87-96, 2003a
- CLARK, C. L.; MCGLONE, V. A.; REQUEJO, C.; WHITE, A.; WOOLF, A. B.

- Postharvest Biology and Technology.** Amsterdam, v. 29, p. 300, 2003b.
- COISSON, J. D.; TRAVAGLIA, F.; PIANA, G.; CAPASSO, M.; ARLORIO, M. *Euterpe oleracea* juice as a functional pigment for yogurt. **Food Research International**, Barking, v. 38, n. 8-9, p. 893-897, 2005.
- CONFALONIERI, M.; FORNASIER, F.; URSINO, A.; BOCCARDI, F.; PINTUS, B.; ODOARDI, M. The Potential of Near-Infrared Reflectance Spectroscopy as a Tool for the Chemical Characterisation of Agricultural Soils. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, Sussex, v. 9, n. 2, p. 123-131, 2001.
- DAVIES, A. M.; GRAND, A. Review: Near infra-red analysis of food. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 22, n. 3, p. 191-207, 1987.
- FONTANELLI, R. S.; SCHEFFER-BASSO, S. M.; DURR, J. W.; APPELT, J. V.; BORTOLINI, F.; HAUBERT, F. A. Predição da composição química de bermudas (*Cynodon* spp.) pela espectroscopia de reflectância no infravermelho proximal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 4, p. 838-842, 2004.
- GALLORI, S.; BILIA, A. R.; BERGONZI, M. C.; BARBONSA, W. L. R.; VINCIERI, F. F. Polyphenolic Constituents of Fruit Pulp of *Euterpe oleracea* Mart. (Açai palm). **Chromatographia**, New York, v. 59, n. 11-12, p. 739-743, 2004.
- GITELSON, A. A.; MERZLYAK, M. N. Signature Analysis of Leaf Reflectance Spectra: Algorithm Development for Remote Sensing of Chlorophyll. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 148, n. 3-4, p. 494, 500, 1996.
- GUTHRIE, J. A.; WALSH, K. B. Avaliação não-invasiva de abacaxi e qualidade dos frutos de manga utilizando infravermelho próximo espectroscopia. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Melbourne, v. 37, n. 3, p. 253-263, 1997.
- HAIR, J. F.; ANDERSON, R. E.; TATHAM, R. L.; BLACK, W. C. **Análise multivariada de dados**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2005. p. 23-29.
- HERSHEL, W. **Phill Trans. Roy. Soc. London**, Part II, 255, 1800a.
- HERSHEL, W. **Phill Trans. Roy. Soc. London**, Part II, 284, 1800b.
- HSIEH, C.; LEE, Y. **Trans. ASAE**, St Joseph, v. 21, p. 1039, 2005.
- IADEROZA, M.; BALDINI, I. S. D.; BOVI, M. L. A. Anthocyanins from Fruits of Açai (*Euterpe oleracea*, Mart.). **Tropical Science**, London, v. 32, p. 41-46, 1992.
- KAWANO, S. **Journal of the Japanese society for horticultural Science**, Tokyo, v. 67, n. 2, p. 176-179, 1998.
- LAMMERTYN, J.; NICOLAI, B.; OOMS, K.; DE SMEDT, V.; DE BAERDEMAEKER, J. **Trans. Asae**, St Joseph, v. 41, p. 1089, 1998.
- LICHTENTHALER, R.; RODRIGUES, R. B.; MAIA, J. G. S.; PAPAGIANNOPOULOS, M.; FABRICIUS, H.; MARX, F. **International journal of food Science and nutrition**, v. 56, p. 53, 2005.
- LIN, S. S. **Revista brasileira de sementes**, Barsilia, DF, v. 8, p. 57, 1988.
- MCCLURE, W. F. Near-Infrared spectroscopy the giant is running strong. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 66, n. 1, p. 43A-53A, 1994.
- MEHNAGIC, E.; ROYER, G.; SYMONEAUX, R.; BERTRAND, D.; JOURJON, F. Prediction of the sensory quality of apples by physical measurements. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 34, n. 3, p. 257-269, 2004.
- MELLO, C. A. **Redes neurais e técnicas de pré-processamento de sinais em espectroscopia de reflectância no infravermelho próximo**. 1988. 147 f. Tese (Doutorado) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1988.
- MEZLYAK, M. N.; GITELSON, A. A. Why and What for the Leaves Are Yellow in Autumn? On the Interpretation of Optical Spectra of Senescing Leaves (Acerplatanoides L.). **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 145, n. 3, p. 315-320, 1995.
- MORGANO, M. A.; FARIA, C. G.; FERRÃO, M. F.; BRAGAGNOLO, N.; FERREIRA, M. C. Determinação de proteína em café cru por espectroscopia NIR e regressão PLS. Determination of protein in raw coffee by NIR spectroscopy and regression PLS. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, p. 25-31, 2005.
- NAZAROV, I.; WAMPLE, R. L.; KAYE, O.; SANTOS, A. O.; GOULART, K. Near infrared laboratory on shoulder portable NIR solution. In: INFORMATION AND TECHNOLOGY FOR SUSTAINABLE FRUIT AND VEGETABLE PRODUCTIONS - FRUTIC, 5, 2005, Montpellier. **Anais...** [S. l.: s. n.], 2005. 1 CD-ROM.
- NICOLAI, B. M.; BEULLENS, K.; BOBELYN, E.; PEIRS, A.; SAEYS, W.; THERON, K. I.; LAMMERTYN, J. Non-destructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: a review. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 46, n. 2, p. 99-200, 2007.
- NORRIS, K. H.; HART, J. R. In: WEXLER, A. (Ed.) **Principles and methods of measuring moisture in liquids and solids**. Nova York: Reinhold, 1965. P. 19-25.
- OSBORNE, B. A.; RAVEN, J. A. **Biology review**. [S. l.], v. 61, p. 1, 1968.
- OTTO, M. **Chemometrics**. Weinheim: Wiley, 1999.
- PACHECO-PALENCIA, L. A.; HAWKEN, P.; TALCOTT, S. T. Phytochemical, antioxidant and pigment stability of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) as affected by clarification, ascorbic acid fortification and storage. **Food Research International**, Barking, v. 40, n. 5, p. 620-628, 2007.
- PASQUINI, C. Near infrared spectroscopy. **Journal of Brazilian chemistry society**, [S. l.], v. 14, n. 2, p. 198-219, 2003.
- PAULA, J. E. de. Anatomia de *Euterpe oleracea* Mart. (Palmea da Amazônia). **Acta Amazonica**, Manaus, v. 5, n. 3, p. 265-278, 1975.
- POZO-INSFRAN, D.; BRENES, C. H.; TALCOTT, S. T. Phytochemical Composition and Pigment Stability of Açai (*Euterpe oleracea* Mart.). **Journal of Agricultural and Food**

Chemistry, Easton, v. 52, n. 6, p. 1539-1545, 2004.

QUALITY for research and development and nonroutine analysis. 1st ed. [S. l.]: EURACHEM/CITAC, 1998. Work group.

RICHTER, T.; FUKSHANSKY, L. Optics of a Bifacial Leaf: 1. A Novel Combined Procedure for Deriving the Optical Parameters. **Photochemistry and Photobiology**, Oxford, v. 63, n. 4, p. 507-516, 1996.

ROGINSKY, V.; LISSI, E. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. **Food Chemistry**, London, v. 92, n. 2, p. 235-254, 2005.

ROY, S.; ANANTHESWARAN, R.; SHENK, J.; WESTERHAUS, M.O. BEELMAN, R. Determination of moisture content of mushrooms by Vis—NIR spectroscopy. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 63, n. 3, p. 355-360, 1993.

SCAFI, S. H. F.; PASQUINI, C. Identification of counterfeit drugs using near-infrared spectroscopy. **Analyst**, London, v. 126, n. 12, p. 2218-2224, 2001.

SCHAUSS, A. G.; WU, X.; PRIOR, R. L.; OU, B.; HUANG, D.; OWENS, J.; AGARWAL, A.; JENSEN, G. S.; HART, A. N.; SHANBROM, E. Antioxidant Capacity and Other Bioactivities of the Freeze-Dried Amazonian Palm Berry, *Euterpe oleracea* Mart. (Acai). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 54, n. 22, p. 8604-8610, 2006.

SCHMILOVITCH, Z.; MIZRACH, A.; HOFFMAN, A.; EGOZI, H.; FUCHS, Y. Determination of mango physiological indices by near-infrared spectrometry. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 19, n. 3, p. 245-252, 2000.

SILVA, M. G. C. P. C.; BARRETO, W. S.; SERODIO, M. H. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 18., 2004, Florianópolis. **Anais...** [S. l.]: SBF, 2004, 1 CD-ROM.

SIMON DE SOUZA, J. FERRÃO, M. F. Aplicações da espectroscopia no infravermelho no controle de qualidade de medicamentos contendo diclofenaco de potássio. Parte I: dosagem por regressão multivariada. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 42, n. 3, p. 437-445, 2006.

SLAUGHTER, D. C.; CAVALETTO, C. G.; GAUTZ, L. D.; PAULL, R. E. Non-destructive determination of soluble solids in papayas using near infrared spectroscopy. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, Sussex, v. 7, n. 4, p. 223-228, 1999.

SUCO de açaí contamina 25 pessoas com doença de chagas no AM. Folha de São Paulo, São Paulo, 05 maio 2007. Cotidiano. Disponível em: <<http://www1.folha.uol.com.br/folha/cotidiano/ult95ul135029.shtml>>. Acesso em: 02 jun. 2007.

TEIXEIRA, G. H. A.; KASSIO, M. G. L. PESSOA, D. C.; LOPES, V. G. Determinação de antocianina total em frutos integros de açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) e de palmititeiro-juçara (*Euterpe edulis* Mart.) por meio da... In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PÓS-COLHEITA, 3, 2011, Nova Friburgo. 2011b.

TEIXEIRA, G. H. A.; PESSOA, J. D. C.; LOPES, V. G.; MODOLO, V.; PIVETTA,

K. F. L. *Differences in total anthocyanin content of açaí (Euterpe oleracea Mart.) and juçara (Euterpe edulis Mart.) fruits by cluster analysis*. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PHARMACEUTICAL SCIENCES, 8., 2011, Ribeirão Preto. **New trends in pharmaceutical sciences**: proceedings. Ribeirão Preto: Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, USP, 2011a. 1 CD-ROM.

TEIXEIRA, G. H. A.; PESSOA, J. D. C.; PASQUINI, C.; LOPES, V. G. Nondestructive determination of total anthocyanin in Brazilian palm fruits (açaí *Euterpe oleracea* Mart. and juçara *Euterpe edulis* Mart.) by means of NIR spectroscopy. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON NEAR INFRARED SPECTROSCOPY, 15, 2011, Cape Town. [S. l.]: s. n., 2011c.

TIPPARAT, P.; LAPANANTNOPPAKUM, S.; JAKMUNEE, J.; GRUDDPAN, K. Determination of ethanol in liquor by near-infrared spectrophotometry with flow injection. **Talanta**, London, v. 53, n. 6, p. 1199-1204, 2001.

TUCKER, G. A. Introduction. In: SEYMOUR, G. B.; TAYLOR, J. E.; TUCKER, G. A. **Biochemistry of fruit ripening**. Cambridge: Chapman e Hall, 1993. p. 2.

ULRICH, S.; WOLTER, F.; STEIN, J. M. Molecular mechanisms of the chemopreventive effects of resveratrol and its analogs in carcinogenesis. **Molecular Nutrition and Food Research**, Weinheim, v. 49, n. 5, p. 452-461, 2005.

VALDERRAMA, P.; BRAGA, J. W. B.; POPPI, R. J. Validation of multivariate calibration models in the determination of sugar cane quality parameters by near infrared spectroscopy. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 18, n. 2, p. 259-266, 2007.

VASCONCELOS, M. A. M. et al. **Açaí**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2005.

VOGELMANN, T. C. Plant Tissue Optics. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 44, p. 231-251, 1993.

WALSH, K. B. Commercial adoption of technologies for fruit grading, with emphasis on NIRS. In: INFORMATION AND TECHNOLOGY FOR SUSTAINABLE FRUIT AND VEGETABLE PRODUCTIONS – FRUTIC, 5., 2005, Montpellier. **Anais...** [S. l.]: s. n., 2005. 1 CD-ROM.

WETZEL, D. L. Near-Infrared reflectance analysis. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 55, n. 12, p. 1165A-1176A, 1983.

WILLIAMS, P.; NORRIS, K. **Near-Infrared Technology**. 2nd ed. St. Paul: American Association of Cereal Chemistry, 2001.

WILLS, R.; MCGLASSON, B.; GRAHAM, D.; JOYCE, D. **Postharvest**: an introduction to the physiology & handling of fruit, vegetables & ornamentals. Sydney: UNSW Press, 1998.