



ANÁLISE PRELIMINAR DO USO DE ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO NA QUANTIFICAÇÃO DE SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS EM FRUTAS CÍTRICAS

S.Z. Hubinger¹, M.L. Simões¹, M.D. Ferreira¹

(1) Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, 13560-970, São Carlos, SP, silviane.zanni@embrapa.br, marcelo.simoies@embrapa.br, marcos.david@embrapa.br

Resumo: A técnica de espectroscopia por reflexão no infravermelho próximo (sugere-se: NIRS) foi empregada com o método de regressão multivariado por mínimos quadrados parciais (PLS) para a determinação de sólidos solúveis totais (°Brix) em frutas cítricas inteiras (laranja Pera-Rio, Lima ácida Tahiti e lima-da-Pérsia). Foram coletados espectros no infravermelho em três pontos diferentes de 42 amostras dos três espécimes estudados. Os valores de referência para o teor de sólidos solúveis foram obtidos em refratômetro digital. Os dados espectrais foram centrados na média e pré-processados, obtendo-se suas derivadas de primeira ordem. Procedeu-se a análise dos dados em software Pirouette para a construção dos modelos de calibração com o algoritmo de regressão linear (PLS), sendo feita a calibração cruzada do modelo. O modelo obtido para laranjas Pera-Rio apresentou coeficiente de correlação (r) da calibração de 0,837, com erro padrão da calibração (SEC) de 0,747 °Brix, r da validação de 0,683 e erro padrão da validação (SEV) de 0,975 °Brix. O modelo para a lima ácida Tahiti apresentou r da calibração de 0,903, SEC de 0,284 °Brix, r da validação de 0,796 e SEV de 0,392 °Brix. Já o modelo para lima-da-pérsia teve r de calibração de 0,846, SEC de 0,397 °Brix, r de validação de 0,572 e SEV de 0,605 °Brix. Todos os modelos exprimiram resultados promissores, com a necessidade do aprofundamento dos estudos e melhorias na elaboração dos mesmos, sendo que o modelo obtido com as amostras de lima ácida Tahiti foi o mais satisfatório.

Palavras-chave: infravermelho próximo, sólidos solúveis, frutas cítricas, regressão multivariada.

PRELIMINARY ANALYSIS OF THE USE OF NEAR INFRARED SPECTROSCOPY IN THE QUANTIFICATION OF TOTAL SOLUBLE SOLIDS CONTENT IN CITRUS FRUITS

Abstract: Partial Least Square (PLS) multivariate calibration associated to Near Infrared Reflection Spectroscopy (NIRRS) was used to establish methods for determination of total soluble solids content (°Brix) in intact citrus fruits (orange cv. Pera-Rio, 'Tahiti' lime and Palestine lime). Spectras of three different points of the fruits were collected from 42 samples from the three species. The reference values for soluble solid content were determined using a digital refractometer. The spectra were centered in mean and pre-processed for obtaining the first derivative of the data. We proceeded the data analysis using Pirouette software for the construction of calibration models with linear PLS algorithm, and the cross validation of the calibration model. The model obtained for oranges cv. Pera-Rio presented a correlation coefficient (r) for calibration of 0.837, with a standard error of calibration (SEC) of 0.747 °Brix, r validation of 0.683 and standard error of validation (SEV) of 0.975 °Brix. The model for 'Tahiti' lime presented r calibration of 0.903, SEC of 0.284 ° Brix, r validation of 0.796 and SEV of 0.392 ° Brix. Already, the model for Palestine lime obtained r calibration of 0.846, SEC of 0.397 °Brix, r validation 0.572 and SEV of 0.605 °Brix. All models expressed promising results, needing deeper studies and improvements in their construction, and the model obtained with samples of 'Tahiti' lime was the most satisfying.

Keywords: near infrared, soluble solids content, citrus fruits, PLS regression.

1. Introdução

O sabor da fruta é a combinação de várias substâncias e, dentre os diversos componentes da fruta, os sólidos solúveis totais desempenham um papel primordial para a sua qualidade, devido à influência nas propriedades físicas, químicas, biológicas e organolépticas da fruta (COSTA et al, 2004). Os sólidos solúveis são os compostos que se encontram dissolvidos na água que compõe a fruta. Em sua grande parte, são representados pelos açúcares contidos em sucos e polpas vegetais, assim sua medida referencia o teor de açúcar na fruta e é expresso em "°Brix". O teor dos sólidos solúveis nos frutos é muito importante, pois quanto maior for sua presença, menor será a quantidade de açúcar a ser adicionada aos frutos quando processados pela indústria, o que diminui o custo de produção e aumentando a qualidade do produto (ARAÚJO, 2001; SILVA, 2000).

O método mais utilizado na determinação dos sólidos solúveis de diversos tipos de amostras se dá pela medida do índice de refração, que estima a quantidade dos solúveis pela diminuição da velocidade da luz quando esta atravessa a amostra (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). Porém esta determinação exige a extração do

suco ou da polpa da fruta. Um método não destrutivo capaz de determinar a qualidade interna de um fruto poderia auxiliar no acompanhamento das propriedades sem a necessidade de se descartar o fruto, permitindo avanços em estudos relacionados à pós-colheita do vegetal.

A Espectroscopia de Infravermelho Próximo (NIRS) vem se apresentando como uma técnica promissora e rápida na avaliação das características internas para vários frutos (BETEMPS et al., 2011). A espectroscopia explora a interação da radiação eletromagnética, com comprimento de onda na região entre 800 e 2500, nm com a amostra, obtendo-se um espectro com a medida da energia absorvida pelas moléculas (OSBORNE, 2006).

Assim, considerando a necessidade do desenvolvimento de métodos mais recentes para análises do teor de açúcares em frutas íntegras, o presente estudo teve como objetivo analisar a viabilidade e desempenho do uso de NIRS para quantificar o teor de açúcares presentes internamente às frutas cítricas (laranja Pera-Rio, lima ácida Tahiti e lima-da-Pérsia), sem a necessidade de destruição das mesmas.

2. Materiais e Métodos

Neste estudo, foram utilizadas três frutos do gênero *Citrus*: *Citrus sinensis* (Laranja, variedade Pera-Rio), *Citrus latifolia* (Lima ácida, variedade Tahiti) e *Citrus limettioides* (Lima-da-Pérsia). Os frutos foram adquiridos em mercado local, selecionados para ausência de defeitos externos e mantidos a temperatura ambiente (24 °C) e UR superior a 80%, durante o período de análise. Grupos de 42 amostras de cada um das três espécies estudadas foram analisadas por reflectância em espectrômetro de infravermelho próximo comercial, marca Perkin Elmer, modelo Spectrum 100N. Foram tomados 32 espectros, com resolução de 16 cm⁻¹, de três diferentes pontos aleatórios das frutas. Imediatamente após a medição espectroscópica, extraiu-se individualmente o suco dos frutos, e os valores de referência para sólidos solúveis foram obtidos a 25 °C em refratômetro digital de bancada, marca Atago, modelo RX-5000α-Plus.

A partir dos dados obtidos, utilizou-se o software Pirouette para estabelecer modelos de calibração, com validação cruzada (*cross validation*), relacionando os dados espectrais com os valores químicos obtidos pela análise de referência (refratometria), através do uso do modelo de regressão linear PLS (Mínimos Quadrados Parciais). O desempenho dos modelos de calibração foram avaliados pelos erros padrões de calibração e validação (SEC e SEV, respectivamente) e pelo coeficiente de correlação (*r*) entre os valores de referência e as estimativas do modelo (LI et al., 1996). A escolha do número de fatores para compor os modelos foi embasada pela porcentagem da variância dos dados espectrais explicada.

3. Resultados e Discussão

Os espectros obtidos passaram primeiramente por um pré-tratamento matemático. O pré-tratamento escolhido foi a derivada de primeira ordem, com o objetivo de reduzir a influência da variação de espalhamento de luz. Transformações derivadas dos espectros também visam recolher informação adicional do espectro original, evitando interferência de bandas que se sobrepõem quando vários componentes são medidos simultaneamente (HRUSCHKA, 2007). A Figura 1 mostra espectros de laranjas inteiras antes e depois de transformação da primeira derivada. O registro dos espectros originais tem amplas faixas de absorção sobrepostas e a primeira derivada facilita a separação destas bandas.

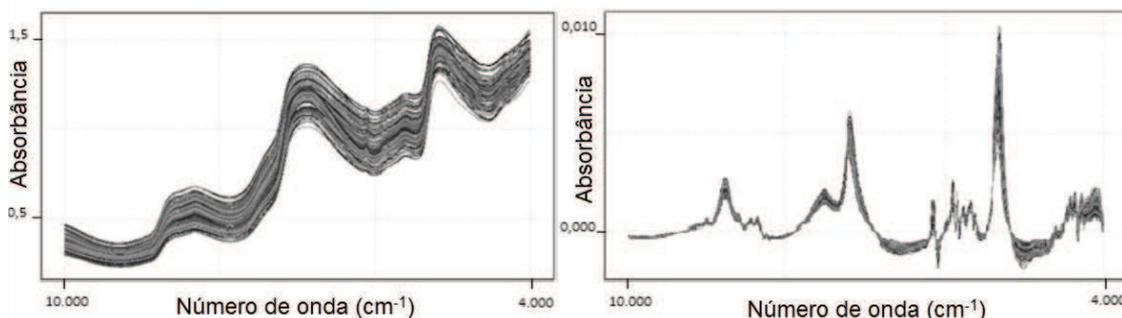


Figura 1. A) Espectros de infravermelho próximo obtidos pela leitura de laranjas variedade Pera-Rio inteiras; B) Espectros das laranjas após sofrerem transformação pela derivada de primeira ordem.

Para a construção do modelo de calibração que relacionou os espectros dos frutos com os resultados obtidos para o teor de sólidos solúveis, utilizou-se o método de regressão multivariado por mínimos quadrados parciais (PLS), método de regressão bilinear capaz de aproximar os dados de entrada multivariada em alguns fatores PLS. Um importante parâmetro do algoritmo PLS é o número de fatores que estão incluídos no modelo de calibração. Utilizando-se poucos fatores, pode-se deixar importante parte da estrutura dos espectros não modelada, enquanto que o uso de muitos fatores evidencia o ruído das medições, produzindo um modelo pouco robusto, que se ajustará somente para as amostras utilizadas na calibração (LI et al., 1996). A Tabela 1 traz os dados mais relevantes obtidos nos modelos.

Tabela 1. Resultados dos modelos PLS para determinação de sólidos solúveis totais em frutas cítricas por espectroscopia de infravermelho próximo.

	Número de fatores	% Variância explicada	r calibração	SEC (°Brix)	r validação	SEV (°Brix)
Laranja Pera-Rio	7	98,6	0,837	0,747	0,683	0,975
Lima ácida Tahiti	7	98,3	0,903	0,284	0,796	0,392
Lima-da-Pérsia	9	98,2	0,846	0,397	0,572	0,605

SEC: Erro padrão da calibração; SEV: Erro padrão da validação; r : coeficiente de correlação.

Os valores de sólidos solúveis totais obtidos para o grupo de amostras de laranjas (var. Pera-Rio) variaram entre 6,35 e 11,99 °Brix. Foram escolhidos sete fatores como o número ideal para compor o modelo de previsão do teor de sólidos solúveis, explicando 98,55% da variância dos dados espectrais. O coeficiente de correlação entre os espectros e as medidas de referência, obtido na calibração (r calibração), foi de 0,837, com erro padrão da calibração (SEC) de 0,747 °Brix. Já na validação cruzada (*cross validation*), o coeficiente de correlação entre os dados (r validação) foi de 0,683 e erro padrão (SEV) de 0,975 °Brix.

Para o grupo de amostras de lima ácida variedade Tahiti, os valores de sólidos solúveis totais variaram entre 7,60 e 9,83 °Brix. Para compor o modelo de regressão linear, foram escolhidos sete fatores, que explicaram 98,25% da variância dos dados espectrais. A calibração apresentou coeficiente de correlação de 0,903 e SEC de 0,284 °Brix. A validação Cruzada apresentou coeficiente de correlação de 0,796 entre os dados e SEV de 0,392 °Brix.

As amostras de lima-da-Pérsia tiveram variação no valor de sólidos solúveis totais entre 6,26 e 9,78 °Brix. Foram escolhidos nove fatores para compor o modelo de regressão linear, explicando 98,16% da variância dos dados espectrais. A calibração apresentou coeficiente de correlação de 0,846 com os valores das medidas por refratometria e SEC de 0,397 °Brix. A validação cruzada apresentou coeficiente de correlação de 0,572 entre os dados e SEV de 0,605 °Brix.

Segundo os dados obtidos, o melhor modelo de determinação de sólidos solúveis totais por NIRS foi o elaborado com amostras de lima ácida Tahiti, apresentando um excelente valor de coeficiente de correlação na calibração ($r > 0,9$) e baixos valores de SEC e SEV, o que diminui o erro da previsão das amostras. O modelo obtido para as amostras de laranja apresentou valor de r calibração favorável (acima de 0,8), porém os valores de SEV e SEC se mostraram muito elevados para o teor dos sólidos solúveis nas frutas. Já o modelo para limas-da-Pérsia, apresentou valor de r da calibração favorável (acima de 0,8), com valores de SEC e SEV não tão altos, porém o r da validação foi muito baixa (0,572). Todos os modelos devem passar por melhoramentos com aumento da população de amostras, diferentes pré-tratamentos dos dados espectrais e validação externa com obtenção dos valores dos erros de predição dos modelos.

4. Conclusões

A espectroscopia de infravermelho próximo combinada com calibração multivariada mostrou-se uma técnica fácil, não destrutiva e rápida para a determinação de sólidos solúveis totais em frutas cítricas. O algoritmo PLS baseado nos dados espectrais permitiu a análise quantitativa de sólidos solúveis nas frutas, produzindo modelos capazes de correlacionar os valores obtidos pelo método de referência com os espectros. O modelo PLS obtido pela análise das amostras de lima ácida Tahiti apresentou os melhores resultados. Os demais modelos exigirão maior aprofundamento nas técnicas de pré-tratamento dos espectros e a avaliação da necessidade de se retirar do modelo faixas espectrais que possam não estar relacionadas à variável em estudo. Assim, esta técnica se mostrou muito promissora e, a partir deste trabalho, pretende-se aumentar a população amostral, para criar modelos mais robustos e que contemplem uma ampla faixa de valores de sólidos solúveis nas amostras.

Agradecimentos

À Fapesp Projeto 2013/23479-0 pelo apoio financeiro.

Referências

- ARAÚJO, J. L. Propriedades termofísicas da polpa do cupuaçu. 2001. 85f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande, 2001.
- BETEMPS, D. L.; FACHINELLO, J. C.; GALARÇA, S. P. Espectroscopia do visível e infravermelho próximos (UV-NIR) na avaliação da qualidade de mangas Tommy Atkins. Revista Brasileira de Fruticultura, v. E, p. 306-313, 2011.
- COSTA, W. S.; SUASSUNA FILHO, J.; MATA, M. E. R. M. C.; QUEIROZ, A. J. Influência da concentração de sólidos solúveis totais no sinal fotoacústico de polpa de manga. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, v. 6, n. 2, p. 141-147, 2004.
- HRUSCHKA, W. R. Spectral Reconstruction. In: Handbook of near-infrared analysis; Burns, D. A., Ciurczak, E. W., Eds.; Marcel Dekker. 3 ed. New York: CRC Press, 2007. 816 p.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4 ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.

LI, W.; GOOVAERTS, P.; MEURENS, M. Análise de Laranja Sucos por Near-IR. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 44, n. 8, p. 2252-2259, 1996.

OSBORNE, B. G. *Near infrared spectroscopy in food analysis*. New York: Wiley, 2006, p.1-14.

SILVA, L. D.; COSTA, R. C.; SUASSUNA FILHO, J.; CARVALHO, L. H. Espectroscopia fotoacústica de alguns polímeros na região do espectro. *Encontro Nacional de Física da Matéria Condensada*, 26., 2003, Caxambu, Resumo... UFMG/ENFMC, 2003. v.1, p. 243.