

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 13/02/2021.

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita
Filho”

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

**Aplicação de métodos analíticos não
destrutivos na melhoria do processo de
controle de qualidade de noz macadâmia**

Lívia Cirino de Carvalho

Tese apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Alimentos e
Nutrição da Faculdade de Ciências
Farmacêuticas, da Universidade
Estadual Paulista “Júlio de Mesquita
Filho”.

Área de concentração: Ciência dos
Alimentos

Orientador: Prof. Dr. Gustavo
Henrique de A. Teixeira

Coorientador: Prof. Dr. Marcos
David Ferreira

Araraquara

2019

Aplicação de métodos analíticos não destrutivos na melhoria do processo de controle de qualidade de noz macadâmia

Lívia Cirino de Carvalho

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

Área de concentração: Ciência dos Alimentos

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Henrique de A. Teixeira

Coorientador: Prof. Dr. Marcos David Ferreira

Araraquara

2019

Ficha Catalográfica

Elaborada Por Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação Faculdade de Ciências
Farmacêuticas
UNESP – Campus de Araraquara

C331a Carvalho, Livia Cirino de.
Aplicação de métodos analíticos não destrutivos na melhoria do processo de controle de qualidade de noz macadâmia / Livia Cirino de Carvalho. – Araraquara, 2019.
42 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição. Área de concentração em Ciências de Alimentos.

Orientador: Gustavo Henrique de Almeida Teixeira.
Coorientador: Marcos David Ferreira.

1. *Macadamia integrifolia*. 2. NIRS. 3. PLS-DA. 4. GA-LDA. 5. PLSR. 6. NMR.

I. Teixeira, Gustavo Henrique de Almeida, orient. II. Ferreira, Marcos David, coorient.

CAPES: 33004030055P6



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Aplicação de métodos analíticos não destrutivos na melhoria do processo de controle de qualidade de noz macadâmia


AUTORA: LIVIA CIRINO DE CARVALHO

ORIENTADOR: GUSTAVO HENRIQUE DE ALMEIDA TEIXEIRA

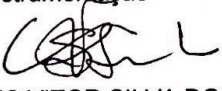
COORIENTADOR: MARCOS DAVID FERREIRA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em ALIMENTOS E NUTRIÇÃO, área: Ciência dos Alimentos pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. GUSTAVO HENRIQUE DE ALMEIDA TEIXEIRA
Departamento de Produção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias -UNESP - Jaboticabal


Profa. Dra. LUCIANA MANOEL DE OLIVEIRA
Departamento de Agroindústria / Instituto Federal de São Paulo- Avaré


Dr. JOSÉ DALTON CRUZ PESSOA
Embrapa/ Instrumentação


Prof. Dr. LUIS VITOR SILVA DO SACRAMENTO
Departamento de Princípios Ativos Naturais e Toxicologia / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara


Prof. Dr. LUIS CARLOS CUNHA JÚNIOR
Departamento de Agronomia / Escola de Agronomia - Universidade Federal de Goiás

Araraquara, 13 de fevereiro de 2019

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo consentimento da bolsa de estudo Regular, as quais viabilizaram minha formação como pesquisadora e aprimoramento profissional no exterior.

Ao meu orientador Prof. Dr. Gustavo Henrique de Almeida pela dedicação, orientação, comprometimento e paciência, os quais contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos docentes e funcionários do Departamento de Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP, Araraquara, SP, pelo ensino e dedicação.

À Faculdade de Ciências Agrárias – UNESP/ Jaboticabal pelo apoio e pela estrutura cedida durante o desenvolvimento do trabalho.

Aos colegas da pós-graduação, pela ajuda e apoio na execução de várias etapas do projeto.

A QueenNut e Macadâmia Fazendinha por ceder amostras para o desenvolvimento da pesquisa.

Resumo

Objetivo: Desenvolver métodos analíticos com uso da espectroscopia do infravermelho próximo (NIRS) e ressonância magnética nuclear (NMR) para a melhoria do processo de controle de qualidade de nozes macadâmia (*Macadamia integrifolia* Maiden & Betche). **Métodos:** Foram coletadas nozes de macadâmia intactas de várias cultivares (HAES 246, 'IAC 4-20', 'IAC 2-23', 'IAC 5-10', 'IAC 8-17', HAES 344, HAES 660, IAC 4-12 B e IAC Campinas B) e amêndoas sem defeitos e que apresentavam diferentes defeitos, ou seja, amêndoas imaturas; amêndoas danos causados por picada de insetos, amêndoas mofadas e amêndoas descoloridas. Além disso, foi analisado o efeito de diferentes temperaturas de secagem quanto os parâmetros de oxidação, índice de peróxido (IP) e de acidez (IA). Os espectros NIR foram coletados na superfície das nozes intactas e também das amêndoas (NIRS e NMR-TD) e estes foram utilizados para a construção dos modelos de classificação e predição utilizando análise discriminante linear por componente principal (PCA-LDA), algoritmo genético com análise discriminante linear (GA-LDA) e regressão por mínimos quadrados parciais (PLSR). **Resultados:** Em relação a classificação das cultivares, os modelos desenvolvidos com GA-LDA resultaram em acurácia de 71,57% com os espectros pré-processados com suavização de Savitzky-Golay. Não foi observado efeito do processo de secagem no IP e IA. Os melhores resultados de predição do IP ($R^2_c=0,57$ e $SEP=0,55 \text{ meq}\cdot\text{kg}^{-1}$) e IA ($SEP=0.14\%$, $R^2_c=0.29$) foram obtidos empregando PLSR. Em relação aos defeitos, foi possível obter uma acurácia e especificidade de 97,8% e 100% utilizando GA-LDA, respectivamente para os espectros NIR. O melhor modelo RMN de classificação foi obtido utilizando PCA-LDA, 84,7% de

acurácia para o grupo de treinamento e 83.3% para o grupo de validação.

Conclusão: A NIRS e RMN-TD podem ser utilizada no processo de controle de qualidade de nozes e amêndoas de macadâmia com potencial benefício para as indústrias processadoras.

Palavras-chaves: *Macadamia integrifolia*; NIRS; PLS-DA; GA-LDA; PLSR, NMR.

Abstract:

Objective: To develop analytical methods with the use of near infrared spectroscopy (NIRS) and nuclear magnetic resonance (NMR) to improve the quality control process of macadamia nuts (*Macadamia integrifolia* Maiden & Betche). **Methods:** Intact macadamia nuts were collected from several cultivars (HAES 246, 'IAC 4-20', 'IAC 2-23', 'IAC 5-10', 'IAC 8-17', HAES 344, HAES 660, IAC 4-12 B, and IAC Campinas B) and kernels that had different defects, as such: nuts without defects; immature kernels; damages caused by insect, mold kernels, and discolored kernels. In addition, the effect of different types of drying on the oxidation parameters, peroxide value (PV) and acidity index (AI) were analyzed. The NIR spectra were collected on the surface of intact nuts and kernels (NIR and NMR-TD), and the spectra were used to develop the classification and prediction models using linear discriminant analysis by principal component analysis (PCA-LDA), genetic algorithm with linear discriminant analysis (GA-LDA), and partial least squares regression (PLSR). **Results:** In relation to cultivar classification, the models developed with GA-LDA resulted in an accuracy of 71,57% with Savitzky-Golay smoothing pre-processed spectra. No effect of the drying process was observed on IP and AI. The best PV prediction results ($R^2_c = 0.57$ and $SEP = 0.55 \text{ meq.kg}^{-1}$) and AI ($SEP = 0.14 \%$, $R^2_c = 0.29$) were obtained employing PLSR. Regarding kernel defects, it was possible to obtain an accuracy and specificity of 97.8% and 100% using GA-LDA, respectively. The best NMR classification models using PCA-LDA, achieving 85.7 % accuracy for the training set and 83.3 % for the validation set. **Conclusion:** NIRS and NMR-TD can be used in the quality control process

of macadamia nuts and kernels with potential benefits for the processing industries.

Keywords: *Macadamia integrifolia*; NIRS; PLS-DA; GA-LDA; PLSR; NMR.

Sumário

Introdução expandida	11
Considerações finais	27
Referências bibliográficas	28

INTRODUÇÃO EXPANDIDA

A noqueira macadâmia é uma espécie arbórea originária da Austrália. Esta pertence à família Proteaceae, sendo que nessa família foram descritas 10 espécies, porém apenas duas produzem frutos comestíveis, ou seja, a *Macadamia integrifolia* e a *Macadamia tetraphylla*, além de seus híbridos (1). O cultivo da macadâmia é considerado um investimento de longo prazo, pois as árvores iniciam a produção dos primeiros frutos quatro anos após o plantio e atingem sua maturidade produtiva aos 12 anos, podendo continuar produzindo por mais de 100 anos (2).

Apesar de ter sido utilizada pelos aborígenes australianos por milhares de anos, o cultivo comercial da macadâmia iniciou-se no Havaí, Estados Unidos da América (EUA), com a espécie *M. integrifolia* (3). Do cultivo inicial no Havaí, EUA e, em função da qualidade da noz macadâmia, diversos países iniciaram plantios de noqueira macadâmia, entre os quais se destacam a África do Sul, Austrália, China, Quênia, Guatemala, EUA e Brasil (4). No Brasil existe aproximadamente 6.500 hectares plantados com macadâmia, sendo os plantios distribuídos nos estados de São Paulo (46 %), Espírito Santo (15 %), Minas Gerais (13 %), Bahia (8 %), Rio de Janeiro (8 %), Mato Grosso (8 %) e Paraná (2 %) (4).

O sucesso da indústria da macadâmia se deve, em grande parte, à seleção de cultivares para a produção de nozes de alta qualidade oriundas de programas de melhoramento que tem por objetivo desenvolver cultivares de alto rendimento, que sejam adaptadas à locais específicos e que produzam amêndoas de ótima qualidade (5). Somente no Havaí, mais de 100.000 mudas da *M. integrifolia* (Maiden & Betche) foram selecionados para produzir as cultivares da série HAES (Hawaii Agricultural Experiment

Station) que constituem toda a produção do Havaí, sendo também cultivados amplamente ao redor do mundo (5).

No Brasil, os trabalhos de melhoramento genético com a noqueira macadâmia iniciaram-se no Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) em 1974, o que resultou no lançamento de algumas seleções para plantios comerciais (6, 7), entretanto, 80 % dos pomares são constituídos por variedades estrangeiras (6). As cultivares de nozes macadâmia podem apresentar diferenças em diversos parâmetros de qualidade, como em relação ao teor de óleo e concentração de açúcares (3). Este conhecimento poderia auxiliar na escolha de cultivares com qualidade de amêndoa superior ou durante a seleção de progenitores para programas de melhoramento genético (8).

Padrões de qualidade

A qualidade das nozes macadâmia pode ser avaliada por meio de vários atributos e/ou parâmetros, ou seja, durante o processamento e comercialização, durante o consumo e de acordo com a legislação vigente em cada país, sendo que cada país define e avalia a qualidade de uma perspectiva diferente (5).

O'Hare et al. (9) descreveram a qualidade das nozes sob a perspectiva do comprador/consumidor e estes destacaram como características fundamentais o sabor característico delicado, a textura crocante e o frescor. Nogueira (10) citou que a qualidade dos frutos de macadâmia está associada às condições climáticas favoráveis, cuidados de planejamento e manejo, variedades implantadas, controle de pragas, nutrição das plantas, colheita e pós-colheita, sendo fatores decisivos para o

bom desenvolvimento da cultura. Na Austrália, O'Hare et al (9) relataram informações sobre o manejo do pomar, manejo pré e pós-colheita e estes citaram os principais defeitos que ocorrem nas nozes macadâmia como sendo a imaturidade fisiológica, nozes pequenas, rachaduras na casca que possibilitam a ocorrência da contaminação biológica e química, oxidação dos lipídeos, produzindo odor e sabor desagradáveis, lesões de superfície nas amêndoas e umidade elevada.

Com o intuito de padronizar os defeitos de qualidade encontrados nas nozes macadâmia destinadas à exportação, órgãos como o Departamento de Agricultura do Haváí nos EUA estipularam tolerâncias para os defeitos encontrados nas amêndoas de macadâmia, permitindo 5 % de defeitos totais, sendo 1 % de sujidades, mofo, deterioração, danos graves, 0,5 % de material estranho solto, 0,1 % de odores ou sabores desagradáveis, 0,1 % de infestação de insetos (não vivos), 0,1 % matérias estranhas soltas e nenhum inseto vivo (11). A indústria de macadâmia da Austrália também estabeleceu seus padrões de qualidade, determinando que as amêndoas de macadâmia devem ter ausência de sujidades, materiais, buracos ou furos, e qualquer outro tipo de danos causados por roedores e bolores superficiais (10) (Tabela 1).

Tabela 1. Parâmetros de qualidade de amêndoas de macadâmia utilizados na Austrália (SAMAC) e no estado do Havaí, Estados Unidos da America (EUA).

Parâmetro	SAMAC (2010)	State of Hawaii (1986)
Umidade (%)	2,0	1,5%
Índice de Peróxido (meq·kg ⁻¹)	3,5	-
Índice de Acidez (%)	0,5	-
Coloração da amêndoa	Uniforme e coloração creme	Sem descoloração
Aparência da amêndoa	Sem óleo na superfície	Limpa
Defeitos totais* (%)	>1,5	5
Material estranho	Livre	Livre

*Danos causados por insetos; amêndoas mofadas; amêndoas descoloridas; amêndoas imaturas; sabor e odores estranhos.

De acordo com Yahia (12) a aparência também é importante na comercialização da noz macadâmia, sendo o odor, sabor e a textura fatores críticos, pois amêndoas que apresentam rancidez, sabor e odor degradável são rejeitadas. A textura é avaliada a partir do teor de umidade das amêndoas, sendo um fator que depende da secagem e do armazenamento.

No Brasil não existe legislação específica para a noz macadâmia, existindo, apenas a Portaria Nº 644, de 11 de setembro de 1975 (13), e a Instrução Normativa Nº 2, de 6 de fevereiro de 2017 (14), do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e a Portaria Nº 846, de 08 de novembro de 1976 do MAPA (15) que tratam dos Padrões de Qualidade e

Identidade (PQI) das amêndoas de castanha de caju (*Anacardium occidentale* L.) e castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa* Bonpl.), respectivamente.

Com relação às amêndoas de castanha de caju, os defeitos são divididos em defeitos graves e defeitos leves, sendo considerados defeitos graves amêndoas mofadas, ardidadas, rançosas e com danos por insetos, por outro lado, manchas, danos superficiais e película aderente são considerados defeitos leves (14). Sendo tolerados 2% de defeitos graves e 14% de defeitos leves. Todavia, a legislação brasileira não especifica a tolerância do índice de peróxido (IP) e acidez (IA) em amêndoas, apenas para óleos vegetais, estabelecendo o limite de 0,6 mg KOH.g⁻¹ (óleo refinado) e 4,0 mg KOH.g⁻¹ (óleo prensado a frio e não refinado) para o IA e 10 meq.kg⁻¹ (óleo refinado) e 15 meq.kg⁻¹ (óleo prensado a frio e não refinado) para o IP (16).

Processamento das nozes macadâmia

A qualidade das nozes macadâmia pode ser influenciada tanto por fatores intrínsecos como extrínsecos, sendo esses as etapas do processamento e as condições climáticas e ambientais (17).

Com relação às etapas do processamento (Figura 1) a secagem é a principal técnica de conservação das nozes macadâmia, pois remove a água disponível necessária para o crescimento microbiano, atividade enzimática e reações oxidativas (3).

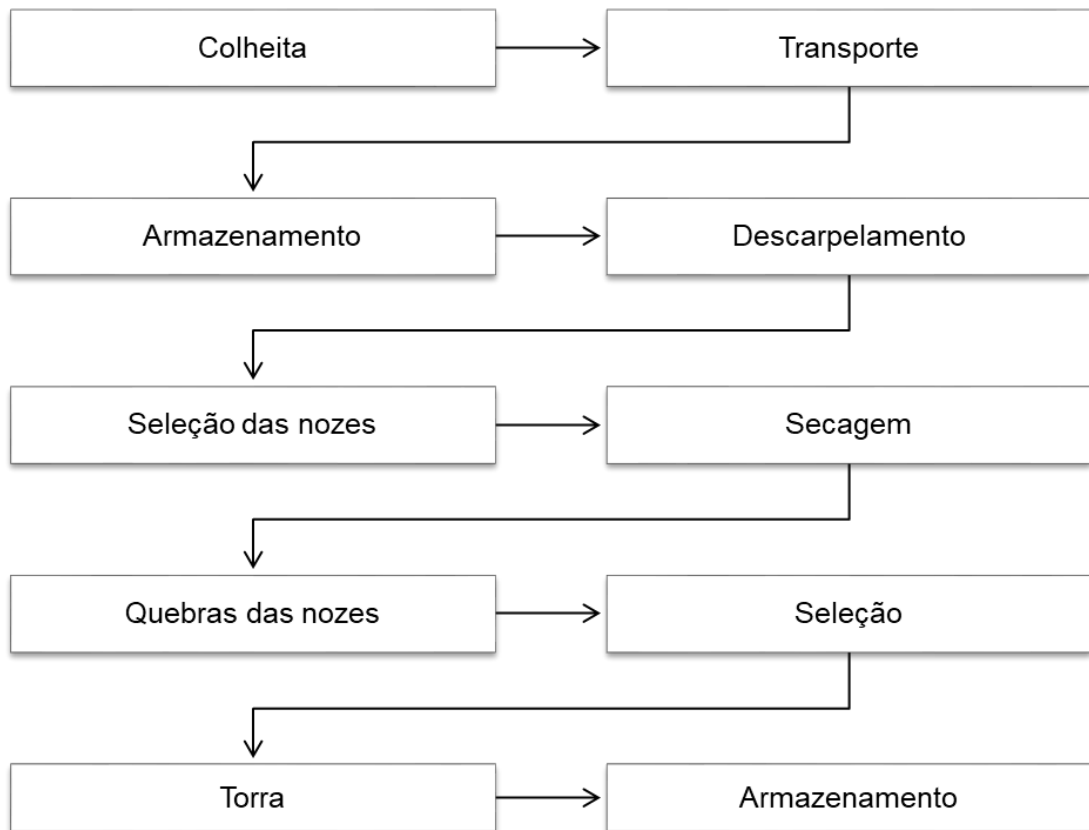


Figura 1. Fluxograma das etapas do processamento de nozes macadâmia.

Fonte: Wall (3).

O'Hare et al. (9), recomendam que o excesso de água livre deve ser removido da superfície das nozes, podendo-se utilizar ventiladores e assim diminuir o tempo de secagem, que não deve ultrapassar 14 dias, para evitar deterioração da qualidade, como o aumento de mofo, ranço, sabores e odores desagradáveis e redução da vida de prateleira. Se o aquecimento for utilizado durante a secagem, as temperaturas empregadas não devem ultrapassar 30°C, pois temperaturas excessivas podem causar escurecimento e descoloração nas amêndoas (3).

No Brasil, o método tradicionalmente empregado para a secagem das nozes macadâmia apresenta algumas desvantagens, como exigir um

período total muito longo, podendo se estender por mais de um mês, o que resulta em uma lenta redução do teor de umidade, com conseqüente perda de crocância, vida de prateleira e quanto maior for a exposição ao oxigênio durante a secagem, menor será a estabilidade oxidativa do óleo presente nas amêndoas, assim há oxidação dos óleos e gorduras e produção de reações de rancidez (1, 17).

Reações de oxidação

As amêndoas das nozes macadâmia são bastante susceptíveis a oxidação devido ao seu alto teor de lipídeos, o que pode resultar na produção de sabores e odores desagradáveis e, conseqüentemente, na perda de qualidade do produto (18, 19). O tempo que os lipídeos permanecem inalterados, ou seja, a estabilidade oxidativa, diminui com o aumento da umidade e da temperatura (20), isto explica a importância da secagem na qualidade das amêndoas de macadâmia.

A oxidação pode ocorrer por diferentes vias, seja por ação do meio, de agentes catalisadores como a fotoxidação, por atividade enzimática por meio da ação da lipoxigenase, por reações hidrolíticas, sendo esta ligada a atividade de água presente nos substratos, ou ainda por ação do oxigênio, denominada auto oxidação (18).

O processo de auto oxidação ocorre em três etapas (18, 21) (Figura 2).

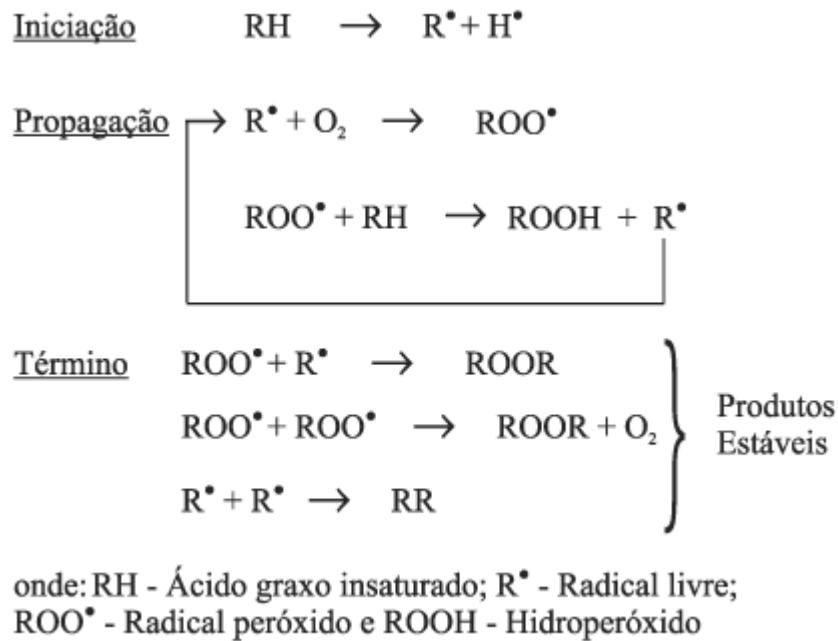


Figura 2. Esquema geral oxidação lipídica. Fonte: Ramalho & Jorge (2006).

- Iniciação – nesta etapa ocorre a formação dos radicais livres dos ácidos graxos devido à retirada de um hidrogênio do grupo metileno de um ácido graxo insaturado. Nesta etapa não há alteração no aroma e sabor dos alimentos.
- Propagação – os radicais livres que são prontamente susceptíveis ao ataque do oxigênio atmosférico, são convertidos em outros radicais, aparecendo os produtos primários de oxidação (peróxidos e hidroperóxidos) cuja estrutura depende da natureza dos ácidos graxos presentes. Os radicais livres formados atuam como propagadores da reação, resultando em um processo autocatalítico.
 - Término – esta etapa ocorre quando dois radicais livres interagem entre si, com a formação de produtos estáveis (produtos

secundários de oxidação), nesta etapa o alimento apresenta alterações de aroma, sabor, cor e consistência.

Por outro lado, a rancidez hidrolítica ou lipólise ocorre nas ligações ésteres dos lipídeos, devido a estresse térmico ou ação química, liberando para o meio ácidos graxos livres, que podem desenvolver no produto sabor e aromas indesejáveis (21).

As técnicas analíticas mais empregadas para se determinar o grau de oxidação de óleos e gorduras são o índice de peróxido (IP) e o índice de acidez (IA). O IP está relacionado com a formação de peróxidos em lipídeos insaturados, originados a partir da quebra das duplas ligações. Como resultado desta reação ocorre a geração de produtos voláteis de cadeia curta, responsáveis pelo odor rançoso. O IA está relacionado com a acidificação dos lipídeos devido a reações enzimáticas (lipases), gerando ácidos graxos livres que podem ter sabor desagradáveis (22). Entretanto, as técnicas utilizadas para a determinação do IP e IA são demoradas, exigindo quantificação precisa da amostra, dissolução em solventes e titulação com soluções padronizadas (23).

Desta forma, métodos não destrutivos como a espectroscopia do infravermelho próximo (NIRS) e ressonância magnética nuclear (NMR), por serem rápidos e não destrutivos, vêm sendo cada vez mais utilizados em análises químicas e em processos industriais (24, 25). Além disso, como o mercado da cultura da macadâmia tem se tornado cada vez mais competitivo e exigente com a qualidade do produto, procedimentos devem ser estabelecidos de maneira a garantir maior representatividade das

amostras colhidas, para que os parâmetros de qualidade estabelecidos pelos padrões nacionais e internacionais sejam assegurados.

Espectroscopia do infravermelho próximo (NIRS)

A NIRS tem sido amplamente empregada para a avaliação da qualidade de diversos produtos alimentícios, uma vez que é uma técnica não destrutiva, rápida, segura de operação, relativamente barata e proporciona automação dos processos de controle de qualidade nos produtos da agroindústria (26). Esta técnica possui diversas aplicações na indústria alimentícia, isto porque o espectro NIR de um material orgânico pode fornecer uma assinatura global (fingerprint) da sua composição que, juntamente com a aplicação de técnicas quimiométricas, pode ser utilizada para elucidar determinadas características composicionais na matriz dos alimentos que não são facilmente detectadas por análises químicas convencionais. Além disso, a NIRS tem sido utilizada para prever a composição química das várias matrizes orgânicas, tais como forragem, cereais, carnes e produtos à base de carne, bebidas, frutos, e uma gama diversificada de materiais de plantas com alta precisão (25).

A NIRS vem sendo utilizada visando a predição de diversos parâmetros em diferentes nozes e óleos. Resultados satisfatórios foram os relatados por Moschetti et al (2014) com a associação da NIRS e Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise Linear Discriminante (LDA) para a classificação de castanheira portuguesa (*Castanea sativa* Miller) com danos causados por insetos. Nunes (2014) também descreveu a potencialidade da NIRS e da Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (Partial Least Squares Regression - PLSR), LDA e Modelagem de Classes por

Componentes Principais (Soft Independent Modeling Class Analogy - SIMCA), para caracterizar amostras de óleos e gorduras comestíveis de origem animal e vegetal durante o processamento, na inspeção e controle de qualidade.

Pré-processamento dos espectros NIR

Muitas vezes é necessário realizar uma etapa de pré-processamento dos espectros NIR para remover informações físicas e/ou instrumentais resultantes de pequenas vibrações, granulometria, correntes de ar, movimentos aleatórios das moléculas, umidade presente na amostra, que não estão relacionadas à informação química de interesse da amostra (29). Alguns dos pré-processamentos mais frequentemente utilizados aos espectros NIR incluem os que visam minimizar a interferência relativa ao espalhamento de luz, como a correção do espalhamento multiplicativo de sinal (MSC) e a variação normal padrão (SNV) (30). Além destes, a primeira e segunda derivada de Savitsky-Golay (31), são empregadas com o objetivo de corrigir os deslocamentos da linha de base e acentuar picos que possam conter alguma informação importante, possibilitando maior detalhamento e desenvolvimento de estudos qualitativos e quantitativos dos espectros NIR (32).

Modelagem

Após o pré-processamento dos espectros NIR, as informações existentes nos mesmos são obtidas com o uso de diferentes técnicas quimiométricas. A análise de discriminante linear por componente principal (PCA-LDA) baseia-se em uma redução de análise de componente principal

(PCA) seguida de uma análise discriminante linear (LDA). A análise linear discriminante é uma técnica de reconhecimento de padrão supervisionado (33) e é utilizado para extrair informação e detectar tendências nos dados, baseados nas medidas multivariadas das amostras. Nas técnicas supervisionadas é necessário que exista alguma informação inicial sobre a identidade das amostras para a formação das classes e o objetivo é desenvolver um modelo baseado nas informações contidas nas amostras (34). O objetivo da LDA é determinar os melhores parâmetros de ajuste para a classificação das amostras por um modelo desenvolvido. O modelo pode, em seguida, ser utilizado para classificar amostras desconhecidas (33).

A regressão por mínimos quadrados parciais (PLSR) é uma técnica de análise multivariada de dados que combina as características de análise de componentes principais e regressão linear múltipla (35). O seu objetivo é encontrar uma relação entre a matriz (**X**) contendo os espectros das amostras e o vetor que armazena as respectivas concentrações (**Y**). O resultado é uma equação semelhante à:

$$y = Xb + e$$

Onde **b** é o vetor de regressão e “**e**” é o vetor que representa os erros do modelo. Por meio de combinações lineares dos dados espectroscópicos (matriz **X**) e dos dados de referência (matriz **Y**), se obtém o número de variáveis latentes necessárias para correlacionar os espectros e as concentrações. O número de variáveis latentes utilizados na construção do modelo de calibração deve ser o que proporcione o menor erro possível de previsão (RMSEC), ou seja, que as diferenças entre os valores de referência e os valores previstos sejam os menores (36, 37).

Determinado o número de variáveis latentes, o modelo de regressão pode ser construído e deve ser validado empregando amostras que não participaram da calibração (validação externa), deve-se conhecer os valores da propriedade de interesse, para avaliar a real capacidade de previsão do modelo. Calcula-se nesta etapa o erro de validação (RMSECV) (37). Este método 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 (33).

O algoritmo genético (GA) é outra análise quimiométrica muito empregada atualmente para construção de modelos de classificação (38) e foi estruturado de forma que as informações referentes a um determinado sistema pudessem ser codificadas de maneira análoga aos cromossomos biológicos, se assemelhando ao processo evolutivo natural (39).

Costa Júnior & Poppi (39) ressaltam que o bom desempenho do algoritmo depende da otimização de parâmetros como: probabilidade de mutação, probabilidade de cruzamento, tamanho da população inicial, e número de gerações.

O algoritmo genético com análise discriminante linear (GA-LDA) usa um algoritmo genético (GA) como técnica de seleção de variáveis seguida de uma análise linear discriminante (LDA). GA reduz os dados originais em algumas variáveis de acordo com um processo evolutivo (40), selecionando variáveis com baixa colinearidade e poder de discriminação adequado (41) ou com o menor risco de classificação errada de G (42). Com isso, há remoção dos ruídos e não linearidade, em comparação com o uso do espectro completo (41).

Espectroscopia de ressonância magnética do domínio do tempo (RMN – TD)

Em paralelo, a espectroscopia de ressonância magnética do domínio do tempo ou de baixo campo (Time Domain Nuclear Magnetic Resonance - RMN–TD), vem ganhando grande aceitação no campo da ciências e tecnologia de alimentos, como um método alternativo e inovador com vantagens importantes, tais como: rapidez atingindo tempos inferiores a 1 s por medida instrumental e apresenta ser uma técnica não-invasiva o que permite medidas que não alteram a integridade química e física do alimento e com boas repetibilidade e reprodutibilidade. A RMN-TD combinada com técnicas quimiométricas apresentam ampla aplicação na avaliação da qualidade de produtos da indústria alimentícia desde a determinação dos teores de umidade e de gordura, sólidos solúveis totais e questões de adulteração (43).

Pereira et al. (44) classificaram ameixas frescas intactas em função da doçura por RMN-TD combinada a análises quimiométricas, demonstrando a capacidade do método em aplicações comerciais para classificação e análise do conteúdo de açúcar de ameixas. A técnica RMN–TD também pode ser aplicada de embalagens fechadas, como demonstrado por Pereira et al. (25) que determinaram a gordura de amostras de maioneses e molho de salada embalados, evidenciando a eficácia da técnica na determinação de gordura, podendo ser aplicada no controle de qualidade de alimentos ricos em gorduras, como as amêndoas de macadâmia.

NIRS em controle de qualidade de nozes de macadâmia

Para a avaliação da qualidade de nozes de macadâmia, Guthrie et al. (45) avaliaram o teor de óleo e de umidade de amêndoas de macadâmia utilizando a espectroscopia NIR e a regressão por mínimos quadrados parciais modificada (MPLS), sendo relatado um coeficiente de determinação (R_v^2) de 0,98, erro quadrado médio de validação cruzada (RMSEcv) de 2,4 % para o teor de óleo e um R_v^2 de 0,79 e RMSEcv de 0,11 % para o teor de umidade, demonstrando a aplicabilidade desta técnica na avaliação de qualidade de nozes de macadâmia.

Canneddu et al. (46) desenvolveram modelos de predição para o IP e IA utilizando PLSR, além de modelos de classificação para os defeitos de amêndoas de macadâmia usando FT-NIR. Para a predição do IP, o melhor modelo resultou em um coeficiente de determinação de predição (R_p^2) de 0,72 e erro padrão de previsão (SEP) de 3,45 meq.kg⁻¹ e para a predição do IA foi observado um $R_p^2= 0,80$, SEP= 0,14%. Em relação aos modelos de classificação dos defeitos das amêndoas de macadâmia, estes autores relataram uma acurácia de 93,2 % utilizando PCA-LDA.

Apesar da NIRS ter sido usada visando a determinação do teor de óleo (45), IP, IA e defeitos de amêndoas macadâmia (46), muitos outros aspectos importantes no processo de controle de qualidade de amêndoas macadâmia ainda não foram estudados. Desta forma, o objetivo geral deste trabalho foi desenvolver métodos analíticos com FT-NIR e RMN-TD para a melhoria do processo de controle de qualidade de nozes macadâmia. Por objetivos específicos: *i.* avaliar os parâmetros de qualidade estabelecidos pelos padrões internacionais por meio da NIRS nos procedimentos de pós-colheita comumente adotados pelos produtores; *ii.* desenvolver modelos de

classificação de diferentes cultivares de nozes de macadâmia; *iii.* desenvolver modelos de classificação para os principais defeitos encontrados em amêndoas de por meio da espectroscopia do infravermelho próximo (NIRS) e ressonância magnética nuclear no domínio do tempo (RMN – TD).

Considerações finais

Os resultados do presente estudo reforçam o potencial da espectroscopia do infravermelho próximo (NIRS) e ressonância magnética nuclear (NMR) para o controle de qualidade dos alimentos, em especial das nozes macadâmia.

As técnicas de reconhecimento de padrões supervisionados (PCA-LDA e GA-LDA) foram eficazes na classificação de cultivares de macadâmia utilizando nozes intactas, sendo possível classificar corretamente 71,57 % das nozes em função das cultivares. Da mesma forma, nozes sem defeitos foram adequadamente discriminadas das com defeitos (imaturas, com danos causados por insetos, fungos e descoloridas) com valores de acurácia de 97,8 % e de 100 % de especificidade. Por outro lado, a predição obtida dos índices de peróxido (IP) e acidez (IA) foram satisfatórias, demonstrando a aplicabilidade da técnica para avaliar a estabilidade oxidativa de nozes macadâmia.

Dessa forma, esperamos que esse estudo possa contribuir com pesquisadores e profissionais da área, uma vez que buscamos apresentar fundamentos práticos para a utilização da espectroscopia do infravermelho próximo (NIRS) e ressonância magnética nuclear (NMR) como técnicas não destrutivas para o controle de qualidade de nozes macadâmia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cavaletto CG. Macadamia nuts. In H.T.Jr. Chang (Ed.), Handbook of tropical foods, New York: Marcel Dekker Inc.1983. p.361-397.
2. Wood LG, Garg ML. Macadamia nuts (*Macadamia integrifolia* and *tetraphylla*) and their use in hypercholesterolemic subjects In: Preedy, V.R., Watson, R.R., Patel, V.B. (ed.). Nuts & seeds in health and disease prevention. Academic Press, London, UK, 2011.p.717-725
3. Wall MM. Improving the quality and safety of macadamia nuts. In L.J., Harris (Ed.), Improving the quality and safety of nuts). Cambridge: Woodhead Publishing Series in Food Sciences, Technology and Nutrition: number 250. .2013. pp. 274-296
4. Piza PLBT, Moriya, L. M. Cultivo da macadâmia no Brasil. Rev. Bras. Frutic. 2014. 36 (1): 39-45.
5. Cavaletto, C.G. (1981). Quality evaluation of macadamia nuts. In G. Charalambous., & G. Inglett(Eds.), Quality of foods and beverages: chemistry and technology, vol. 2 (pp. 71–82). New York: Academic Press.
6. Sobierajski, G.R., Jungmann, L., Souza, A.P., Garcia, A.F.F., 2008. Desenvolvimento de marcadores microssatélites para *Macadamia integrifolia* a partir de bibliotecas enriquecidas. In: 54º Congresso Brasileiro de Genética. Anais. Salvador: SBG. 1 CD-ROM. 20p.
7. Perdoná, M.J.; Martins, A.N.; Suguino, E.; Soratto, R.P. Crescimento e produtividade de noqueira-macadâmia em consórcio com cafeeiro arábica irrigado. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.47, n.11, p. 1613-1620, 2012

8. Entelmann F, Scarpate Filho JÁ, Pio R, Silva SR, Souza FBM;. Produção e atributos de qualidade de cultivares de macadâmia no sudoeste do estado de São Paulo. Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal , v. 36, n. 1, p. 192-198, Mar. 2014 .
9. O'Hare P, Hidden DV, Burton D, Salmon T. Australia macadamia industry code of sound orchard practices. Lismore: Australian macadamia society, 2004.
10. Nogueira NR. O agronegócio da macadâmia: uma breve análise dos aspectos de produção, econômico e social. Interface tecnológica.2008. 5(1).
11. State of Hawaii. Standards for roasted macadamia nuts. In State of Hawaii (Ed.), Hawaii administrative rules, title 4, chapter 44, standards for processed products (pp. SS 4-44-13). Honolulu:Hawaii Department of Agriculture, 1983.
12. Wallace, H.M., & Walton, D.A. (2011). Macadamia (*Macadamia integrifolia*, *Macadamia tetraphylla* and hybrids). In E.M. Yahia (Ed.), Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits, vol. 3 (pp.450-473). Cambridge: Woodhead Publishing Series in Food Sciences, Technology and Nutrition: number 208
13. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 644, de 11 de setembro de 1975. Aprova as especificações anexas para padronização, classificação e comercialização da amêndoa e castanha de caju. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 4nov. 1975, seção I, p. 3977.
14. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 2, de 6 de fevereiro de 2017. Aprova o Regulamento técnico da

amêndoa de castanha de caju. Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 17 de fevereiro de 2017.

15. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 846, de 08 de novembro de 1967. Aprovar as especificações em anexo para a padronização, classificação e comercialização interna da Castanha do Brasil. Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 19 de novembro de 1967.

16. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 270, de 22 de setembro de 2005. Aprova o Regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal. Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 23 de setembro de 2005.

17. Borompichaichartkul C, Luengsode K, Chinprahast N & Devahastin S (2009) Improving quality of macadamia nut (*Macadamia integrifolia*) through the use of hybrid drying process. *Journal of Food Engineering*, 93:348-353

18. Ramalho, V. C.; Jorge, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. *Química Nova*, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

19. Silva FA, Gonçalves LAG, Damiani C, Gonçalves MAB, Soares Júnior MS, Marsaioli Júnior A. (2011). Estabilidade oxidativa de amêndoas de noz macadâmia secas por micro-ondas com ar quente. *Pesq. Agropec. Trop.* 41:2, 286-292. Doi: 10.1590/S0101-20612007000300020.

20. Colzato M, Forato LA, Colnago LA, Assis OBG. (2008). Análise Comparativa dos Espectros de ¹H RMN de Óleos Comestíveis Oxidados. Comunicado Técnico. ISSN 1517-4786.

21. Ribeiro EP, Seravalli EAG. *Química de alimentos*. São Paulo: Edgard Blücher, Instituto Mauá de Tecnologia, 2004. 184 p

- 22.** Wolf JP. Analysis and Determination of Lipids, In: Analysis of Food Constituents Wiley – VCH Inc., Canada, 1997, pp. 175-220.
- 23.** Cozzolino D, Murray I, Chree A, Scaife JR. Multivariate determination of free fatty acids and moisture in fish oils by partial least-squares regression and near-infrared spectroscopy. *LWT*, 2005, 38, 821-828.
- 24.** Nicolai BM, Beullens K, Bobelyn E, Peirs A, Saeys W, Theron KI. Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: A review. *Postharvest Biology and Technology*. 2007.46: 99-118.
- 25.** Pereira, F.M.V., Rebellato, A.P., Pallone, J.A.L., Colnago, L.A. Through-package fat determination in commercial samples of mayonnaise and salad dressing using time-domain nuclearmagnetic resonance spectroscopy and chemometrics. *Food Control*, v. 48, p. 62-66, 2015
- 26.** Pasquini, C., 2003. Near Infrared Spectroscopy: Fundamentals, Practical Aspects and Analytical Applications. *Journal of Brazilian Chemistry Society*. 14 (2), 198-219.
- 27.** Moscetti R, Monarca D, Cecchini M, Massantini R, Haff RP, Saranwong S. NIR spectroscopy is suitable to detect insect infested chestnuts. *Acta horticulturae*. 2014, 1043: 153-159.
- 28.** Nunes CA. Vibrational spectroscopy and chemometrics to assess authenticity, adulteration and intrinsic quality parameters of edible oils and fats. *Food Research International*. 2014. 60: 255-261
- 29.** Cozzolino, D.; Cynkar, W.; Shah, N.; & Smith, P.A. (2011) Can spectroscopy geographically classify Sauvignon blanc wines from Australia and New Zealand? *Food Chemistry*, 126, 673-678.

- 30.** Martens H, Naes T. *Multivariate Calibration*. New York: John Wiley & Sons, 1996, 419p.
- 31.** McClure WF. Near - Infrared Spectroscopy, publ. in *spectroscopic Techniques for Food Analysis*, Ed by Wilson, R.H., VCH Publishers Inc. 1994.
- 32.** Susi H, Byler DM. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1983. 115: 391-397, 1983.
- 33.** Naes T, Isaksson T, Fearn T, Davies T. *A user-friendly guide to Multivariate Calibration and Classification*, Chichester - UK, NIR Publications, 2002.
- 34.** Brereton RG. *Applied chemometrics for scientists*. Inglaterra, Wiley, 2007.
- 35.** Shetty N., Gislum R. Quantification of fructan concentration in grasses using NIR spectroscopy and PLSR. *Field Crops Research*. 2011;120(1):31–37
- 36.** Morgano M, Faria CG, Ferrão MF, Bragagnolo N, Ferreira MMC . Determinação de proteína em café cru por espectroscopia NIR e regressão PLS. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 2005. 25(1): p. 25-31.
- 37.** Souza AM, Breitkeitz MC, Filgueiras PR, Rohwedder JJR, Poppi RJ. Experimento didático de quimiometria para calibração multivariada na determinação de paracetamol em comprimidos comerciais utilizando espectroscopia no infravermelho próximo: um tutorial, parte II. *Quim. Nova*. 2013. 36(7): 1057-1065.
- 38.** Carvalho, L.C., Morais, C., Lima, K., Leite, G.W.P., Oliveira, G.S., Casagrande, I.P., Santos Neto, J.P., & Teixeira, G.H.A. (2017). Using Intact

Nuts and Near Infrared Spectroscopy to Classify Macadamia Cultivars. *Food Analytical Methods*.

39. Costa Filho P, Poppi RJ. Algoritmo genético em química. *Química nova*. 1999. 22(3).

40. Mccall J. Genetic algorithms for modelling and optimization. *Journal of Computational and Applied Mathematics – Special Issue: Mathematics applied to immunology*.2005. 184 (1): 205-222.

41. Costa CR, Cunha Jr LC, Morgenstern TB, Teixeira GHA, Lima KMG. Classification of jaboticaba fruit at three maturity stages using NIRS and LDA. *Analytical Methods*.2016. 8(11).

42. Baia, T.C., Gama, R.A., Lima, L.A.S., Lima, K.M.G., 2016. FTIR microspectroscopy coupled with variable selection methods for the identification of flunitrazepam in necrophagous flies. *Anal. Methods*. 8, 968-972.

43. Ribeiro, R.O.R., Marsico, E.T., Carneiro C.S., Monteiro, M.L.G., Junior Conte, C., Jesus, E.F.O. Detection of honey adulteration of high fructose corn syrup by Low Field Nuclear Magnetic Resonance (LF 1H NMR). *Journal of Food Engineering*. v. 135, p. 39–43, 2014.

44. Pereira, F.M.V., Carvalho, A.S., Cabeça, L.F., Colnago, L.A. Classification of intact fresh plums according to sweetness using time-domain nuclear magnetic resonance and chemometrics. *Microchemical Journal*, v. 108, p. 14–17, 2013.

45. Guthrie J, Greensill C, Bowden R, Walsh K. Assessment of quality defects in macadamia kernels using NIR spectroscopy. *Australian Journal of Agricultural Research*.2004. 55: 471-476.

46. Canneddu G., Júnior L.C., Teixeira G.H.A., 2016. Quality Evaluation of Shelled and Unshelled Macadamia Nuts by Means of Near-Infrared Spectroscopy (NIR). *Journal of Food Sci.* 81(7), 1613-1621.