

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 27/04/2018.

**Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”**

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

**Estudo de métodos analíticos para
determinação da qualidade em laranjas intactas
e suco**

Marilia Bizzani

Araraquara
2016

Estudo de métodos analíticos para determinação da qualidade em laranjas intactas e suco

Marilia Bizzani

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Alimentos e Nutrição
para obtenção do título de Mestre em
Alimentos e Nutrição.

Área de concentração: Ciência dos Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Marcos David Ferreira.

Araraquara
2016

Ficha Catalográfica

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

B625e Bizzani, Marília
Estudo de métodos analíticos para determinação da qualidade em laranjas intactas e suco / Marília Bizzani. - Araraquara, 2016.
91 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição, área de concentração: Ciências dos Alimentos.

Orientador: Marcos David Ferreira.

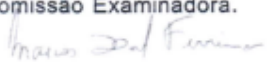
1. Laranja (Análise não destrutiva). 2. Suco (Análise não destrutiva). 3. Qualidade. 4. Análise multivariada. 5. Orange. 6. Juice. 7. Nondestructive analysis. I. Ferreira, Marcos David, orient. II. Título.

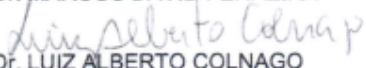
CAPES: 40500005



ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE MARILIA BIZZANI, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS E NUTRIÇÃO, DA FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS.

Aos 27 dias do mês de outubro do ano de 2016, às 14:00 horas, no(a) Anfiteatro da Biblioteca da Faculdade de Ciências Farmacêuticas do Câmpus de Araraquara da UNESP, reuniu-se a Comissão Examinadora da Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: Prof. Dr. MARCOS DAVID FERREIRA - Orientador(a) do(a) Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Instrumentação Agropecuária, Prof. Dr. LUIZ ALBERTO COLNAGO do(a) Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Instrumentação Agropecuária, Profa. Dra. MARTA HELENA FILLET SPOTO do(a) Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição / Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz do Câmpus de Piracicaba da USP, sob a presidência do primeiro, a fim de proceder a arguição pública da DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de MARILIA BIZZANI, intitulada **ESTUDO DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINAÇÃO DA QUALIDADE EM LARANJAS INTACTAS E SUCO**. Após a exposição, a discente foi arguida oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo recebido o conceito final: APROVADA _____. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Comissão Examinadora.


Prof. Dr. MARCOS DAVID FERREIRA


Prof. Dr. LUIZ ALBERTO COLNAGO


Profa. Dra. MARTA HELENA FILLET SPOTO

Dedicatória

Às meus queridos pais, Ernesto e Lourdes pelo incentivo e apoio.

A minha irmã Melissa que sempre torceu pelo meu sucesso.

À meu namorado Douglas pelo apoio incondicional.

Agradecimentos

Ao meu orientador Prof. Dr. Marcos David Ferreira pela oportunidade, ensinamentos e orientação deste trabalho. Obrigada pela paciência e pela confiança.

Ao Prof. Dr. Luiz Alberto Colnago pelos esclarecimentos das dúvidas e sugestões.

Às analistas e técnicos da Embrapa Instrumentação, em especial à Silviane Zanni por toda ajuda durante a pesquisa.

Ao grupo de Pós-colheita da Embrapa Instrumentação pela ajuda na realização das análises: Eliane, Karla, Gabrielle, Luiz Gustavo e Brenda.

Ao doutorando Douglas Flores por toda ajuda desde o planejamento, a execução das análises, sugestões, muito obrigada pelos ensinamentos e pela paciência.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP e ao Programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição pela oportunidade.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP, pelo auxílio financeiro processo nº 2013/23479-0.

À coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela bolsa concedida.

Epígrafe

"As espécies que sobrevivem não são as mais fortes, nem as mais inteligentes, mas sim aquelas que se adaptam melhor às mudanças. "Charles Darwin

Resumo

Objetivo: Avaliar o uso de métodos não invasivos e não destrutivos por ressonância magnética nuclear de baixo campo (RMN-DT) e espectroscopia de infravermelho próximo e médio (NIR) e (MIR) associado à análise multivariada para determinação de parâmetros relacionados à qualidade de laranjas e suco. **Métodos:** Os modelos de validação interna e externa foram construídos com laranjas do cultivar “Valência” colhidas no ano de 2015 e 2016 em duas floradas distintas, quatro estádios de maturação e em quatro colheitas distintas. Foram realizadas análises não destrutivas de RMN, NIR e MIR seguidas das medidas destrutivas de textura, espessura da casca e pectina total para construção de modelos de predição utilizando a laranja intacta. Para predição da massa da fruta, massa da casca, massa de suco foi utilizada a medida de RMN-DT da fruta intacta e para predição da viscosidade, sólidos solúveis, pH do suco foi utilizada a medida por RMN-DT e NIR do suco extraído de cada laranja. Em um último estudo utilizaram-se as medidas de RMN-DT e MIR do suco para quantificação de pectina solúvel em água. Os resultados foram submetidos à análise de componentes principais (PCA) para melhor visualização das características de cada colheita e florada e os modelos foram desenvolvidos utilizando a regressão por mínimos quadrados parciais (PLS). Foi avaliado o desempenho dos modelos com base nos valores do erro padrão da predição (SEP) e coeficiente de Pearson da predição (r). **Resultados:** Os modelos de PLS desenvolvidos por RMN-DT validados para predição foram: espessura da casca $r=0.72$ SEP=0.49cm; pectina total $r=0.76$ SEP=5.76; massa da fruta $r=0.96$ SEP=13.84g; massa da casca $r=0.96$ SEP=7.25g; massa do suco $r=0.92$ SEP=9.75g e pH $r=0.83$ SEP=0.14. Para análise de PLS utilizando os espectros de NIR validou-se os seguintes parâmetros: textura $r=0.92$ SEP=6.22N; pectina total $r=0.7$ SEP=5.04 e para medida do suco o modelo para sólidos solúveis foi validado com $r=0.91$ SEP=0.31. O modelo de PLS para textura foi validado com $r=0.84$ e SEP=9.05N utilizando as medidas de MIR. As predições por PLSR de pectina solúvel em suco de laranja utilizando RMN-DT e MIR obtiveram logo na etapa de calibração baixos coeficientes de correlação de Pearson, ($r=0.48$ e 0.51) e elevado SEC de 7.63mg/L e 7.49mg/L, respectivamente. Desta forma, não pode ser feitas validação externa dos dados. Por outro lado, as diferentes concentrações de pectina cítrica comercial isolada medidas pelos mesmo métodos de RMN-DT e MIR, apresentaram espectros bastante distintos, permitindo distinguir as amostras analisadas. As soluções de pectina cítrica isolada medidas por MIR apresentaram alta correlação ($r=0.97$ e 0.98) entre os espectros e as absorbâncias dos grupos funcionais ácido carboxílico e carbonila, respectivamente. Ainda, conforme a redução da concentração de pectina cítrica isolada foram observados decaimentos de RMN-DT mais longos e vice-versa. **Conclusão:** As metodologias não destrutivas utilizadas no estudo apresentaram grande potencial na avaliação de parâmetros de qualidade tanto em frutas intactas quanto no suco, necessitando assim de maiores estudos para viabilização em grande escala destas novas tecnologias.

Palavras-chave: Análise não destrutiva. Qualidade. Laranja. Suco. Análise multivariada.

Abstract

Objective: Evaluate the use of non invasive and non destructive methods of nuclear magnetic resonance downfield (RMN-DT) spectroscopy and near and mid-infrared (NIR) and (MIR) associated with multivariate analysis for the determination of parameters related to the quality of oranges and juice.

Methods: The internal and external validation of models were built with oranges cultivar "Valencia" harvested in 2015 and 2016 in two separate flowerings four maturity stages and four different crops. non-destructive NMR analyzes were performed, followed NIR and MIR destructive measurements of texture, peel thickness and total pectin to build prediction models using the orange intact. For fruit mass of the prediction weight of the peel, juice mass is used to measure NMR DT intact fruit and prediction of viscosity, soluble solids, pH of the juice was used to measure NMR DT and NIR extracted juice each orange. In the latest study we used the juice measurements of NMR and MIR-DT for quantification of water-soluble pectin. The results were submitted to principal component analysis (PCA) to better display the characteristics of each harvest and flowering and models were developed using regression by partial least squares (PLS). It evaluated the performance of the models based on the values of the standard prediction error (SEP) and Pearson prediction coefficient (r).

Results: The models validated for predicting developed by NMR-PLS were: peel thickness $r = 0.72$ SEP = 0.49cm; total pectin $r = 0.76$ SEP = 5.76; fruit mass $r = 0.96$ SEP = 13.84g; peel mass $r = 0.96$ SEP = 7.25g; juice mass $r = 0.92$ SEP = 9.75g and pH $r = 0.83$ SEP = 0.14. The results of validated NIR-PLS models were: texture $r = 0.92$ SEP = 6.22N; total pectin $r = 0.7$ SEP = 5.04 and to model the juice to measure soluble solids has been validated with $r = 0.91$ SEP = 0.31. The model MIR-PLS for texture was validated with $r = 0.84$ and SEP = 9.05N. Predictions by PLSR of pectin soluble orange juice using NMR-DT and MIR obtained soon the calibration stage low Pearson correlation coefficient ($r = 0.48$ and 0.51) and high SEC of 7.63mg/L and 7.49mg/L, respectively. Thus, it cannot be done outside validation. In the other hand, different concentrations of commercial isolated citrus pectin measured by the same methods DT-NMR and MIR spectra showed very different allowing to distinguish the samples. The citrus pectin solutions isolated measures by MIR showed high correlation ($r = 0.97$ and 0.98) between the spectra and the absorbance of the functional groups carboxylic acid and carbonyl, respectively. Furthermore, as the reduction of the concentration of citrus pectin alone were observed NMR DT decays longer and vice versa.

Conclusion: The non-destructive methods used in the study showed great potential in the evaluation of quality parameters both in intact fruit as in juice, thus requiring more studies to feasibility on a large scale of these new technologies.

Key-words: Nondestructive analysis. Quality. Orange. Juice. Multivariate analysis.

Lista de Abreviaturas e Siglas

ATR - Reflectância total atenuada
°Brix – Unidade do teor de sólidos solúveis
CPMG – sequência de pulsos Carr-Purcel-Meiboom-Gill
FID – Free Induction Decay
MIR - Espectroscopia de infravermelho médio
N - Universo amostral
n Cal – Universo amostral da calibração
n Val – Universo amostral da validação
NIR – Espectroscopia de infravermelho próximo
PCA – Análise de componentes principais
PLS – Regressão por mínimos quadrados parciais
PRESS – Resíduo da previsão
r – Coeficiente de correlação de Pearson
r Cal – Coeficiente de correlação de Pearson para calibração
r Val – Coeficiente de correlação de Pearson para validação
RMN - Ressonância magnética nuclear
SEC – Erro padrão da calibração
SEP – Erro padrão da predição
SEV – Erro padrão da validação
SNV – Variação normal padrão
SST – Sólidos solúveis totais

Lista de Tabelas

Capítulo 1.	Página
Table 1. Physicochemical characterization of oranges according to their flowering and harvest time.	33
Table 2. Partial least squares regression for calibration models using time-domain nuclear magnetic resonance data.	36
Table 3. External validation of the partial least squares regression models based upon time-domain nuclear magnetic resonance data.	36
Table 4. Partial least squares regression for calibration models adjusted to near-infrared data.	37
Table 5. External validation of partial least squares regression models using near-infrared data.	38
Table 6. Partial least squares regression for calibration models using mid-infrared data.	39
Table 7. External validation partial least squares regression models using mid-infrared data.	39
 Capítulo 2.	
Tabela 1. Análises de referência laranjas da cultivar Valência.	55
Tabela 2. Desempenho do conjunto de calibração em modelos de PLS-RMN para parâmetros físico-químicos do suco de laranja.	56
Tabela 3. Desempenho de modelos PLS-RMN em conjunto de validação externa.	56
Tabela 4. Desempenho do conjunto de calibração em modelos de PLS-NIR para parâmetros físico-químicos do suco de laranja.	59
Tabela 5. Desempenho da validação externa dos modelos de PLS-NIR.	59
 Capítulo 3.	
Tabela 1. Desempenho do conjunto de calibração em modelos de PLSR desenvolvidos por RMN-DT e MIR para o conteúdo de pectina solúvel em suco de laranja.	76
Tabela 2. Correlação entre concentrações de pectina cítrica e T_2 .	79
Tabela 3. Relação entre concentração de pectina cítrica comercial e absorbância do Ácido Carboxílico e Carbonila.	81

Lista de Figuras

Capítulo 1.	Página
Figure 1. Scores of principal components 1 (PC 1) and 2 (PC 2), as obtained through principal component analysis based upon the physicochemical data of the first (■) and fourth (○) flowerings.	31
Figure 2. Principal component analysis loadings of the physic and chemical data of the first and fourth flowerings (Figure 1).	32
Figure3. Scores of principal components 1 (PC 1) and 2 (PC 2), as obtained through principal component analysis based upon the physicochemical data of harvests 1 (■), 2 (○), and 3(◇).	32
Figure4. Carr–Purcell–Meiboom–Gill (CPMG) decays of two oranges with different firmness, peel thickness, and total pectin content.	33
Figure 5. Near-infrared spectra of two oranges with different firmness, peel thickness, and total pectin content.	34
Figure 6. Mid-infrared spectra of two orange fruits featuring different firmness.	35
 Capítulo 2.	
Figura 1. Correlação entre pH com os tempos de relaxação T_2 .	58
 Capítulo 3.	
Figura 1. Decaimentos de RMN-DT de sucos de laranja obtidos por CPMG.	74
Figura 2. Espectros de suco de laranja obtidos por infravermelho médio.	75
Figura 3. Decaimentos de RMN-DT de sucos de laranja com valores extremos e médios de pectina solúvel.	77
Figura 4. Perfil espectral obtido por MIR de sucos de laranja com valores extremos e médios de pectina solúvel.	77
Figura 5. Decaimentos RMN-DT para diferentes concentrações de pectina cítrica.	79
Figura 6. Espectro de MIR para diferentes concentrações de pectina cítrica.	80

Sumário

	Página
Introdução	15
Capítulo 1. Non-invasive spectroscopic methods to estimate orange firmness, peel thickness and total pectin content.	24
Abstract	25
Introduction	26
Materials and methods	27
Results and discussion	30
Conclusion	41
References	41
Capítulo 2. Determinação de propriedades físico-químicas de laranja e suco por meio de espectroscopia de RMN-DT e NIR.	46
Resumo	47
Abstract	48
Introdução	49
Material e Métodos	51
Resultados e discussão	54
Conclusão	60
Referências	62
Capítulo 3. Determinação do conteúdo de pectina solúvel em água em suco de laranja por métodos não destrutivos.	66
Resumo	67
Abstract	68
Introdução	69
Material e Métodos	71
Resultados e discussão	74
Conclusão	81
Referências	81
Considerações Finais	87
Referências	89

Introdução

A economia brasileira atualmente apresenta como um de seus principais segmentos a agroindústria, com importância tanto no abastecimento interno quanto no desempenho exportador. A agropecuária obteve um aumento de 23% em sua participação no Produto Interno Bruto no ano de 2015 (PIB) (1). Este crescimento deste setor deve-se principalmente ao desempenho da agricultura (1).

O Brasil está entre os líderes de produção de frutas do mundo, sendo superado apenas por China e Índia (2). Na produção de laranjas é o principal produtor com 17,5 milhões de toneladas em 2013 que respondeu por 42,0% das colheitas totais da fruticultura (1).

Do ponto de vista do mercado, o cenário atual demonstra uma perspectiva animadora de crescimento da demanda por frutas nos mercados interno e externo. Segundo a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (2), estima-se que tanto o consumo mundial per capita de frutas quanto o consumo brasileiro continuará crescendo nos próximos anos a taxas superiores à da economia mundial e doméstica.

Tendo em vista a competitividade do mercado internacional, a qualidade da fruta é um dos principais fatores que determinam o seu valor de comercialização. Neste contexto matérias pécicas são importantes atributos para qualidade da de frutas, pois estão relacionadas à firmeza e rendimento do suco, além de possuírem alto valor comercial ao serem vendidas como subprodutos, pois apresentam diversas aplicações na indústria de alimentos. Em suco de frutas cítricas as pectinas são

importantes atributos para a indústria processadora pois conferem estabilidade ao suco (3).

A pectina é um homo polissacarídeo constituinte da lamela média das paredes celulares de plantas dicotiledôneas, responsável pela resistência mecânica da parede celular. Também encontra-se nas paredes celulares primárias, por isso constitui parte substancial das matérias estruturais dos tecidos brancos, como por exemplo, o parênquima das frutas e raízes carnosas (4).

Abrange o grupo das pectinas, a protopectina, os ácidos pécticos e os ácidos pectínicos (5). Sendo a protopectina insolúvel em água e presente nos vegetais e frutas verdes, conferindo à mesma textura compacta. Em presença de ácidos diluídos, a protopectina pode ser hidrolizada e liberar pectina (4,6). Os ácidos pectínicos são substâncias coloidais, constituídas por ácidos poligalacturônico parcialmente metoxilados ou não e não necessariamente solúveis em água. Enquanto que os ácidos poligalacturônicos são cadeias de ácidos D-galacturônicos, livres de metoxilas, formado em água soluções coloidais (7).

As moléculas de pectina são constituídas de uma cadeia principal linear com cerca de 150-500 unidades de ácido galacturônico (peso molecular 30.000 –100.000 daltons) parcialmente esterificados com grupos metoxílicos, unidos por ligações glicosídicas α - 1,4. Também podem estar presentes na molécula de pectina alguns açúcares neutros como galactose, glicose, ramnose, arabinose e xilose, inseridos na cadeia principal ou ligados como cadeias laterais (7).

Devido à presença de grupos polares, a pectina possui caráter hidrofílico, produzindo assim uma solução viscosa, o que caracteriza a pectina em um coloide por excelência (5). Em função dessa capacidade coloidal, a pectina na indústria de alimentos é amplamente utilizada no preparo de geleias, doces de frutas, produtos de confeitaria e sucos de frutas, entre outros (5).

Algumas alterações bioquímicas e químicas ocorridas na molécula de pectina resultam em alterações na textura da polpa do fruto (8). E também encontram-se relacionadas a outros parâmetros de qualidade em frutas cítricas e no suco, como o peso da fruta, rendimento, viscosidade, e SST do suco.

A taxa de perda de turbidez é um importante para determinação da estabilidade de emulsões, como por exemplo, no suco de laranja. De forma geral, quanto mais baixa a taxa de perda de turbidez, maior é a capacidade da emulsão em manter sua estabilidade e nebulosidade (9). O efeito de diferentes concentrações de hidrocoloides como a pectina sobre a estabilidade física, taxa de perda de turbidez, nebulosidade em bebidas à base de laranja indicando a importância da pectina como um parâmetro de qualidade (10).

Portanto, durante o processamento do suco de laranja processos de inativação de enzimas que degradam pectina bem como, homogeneização e centrifugação do suco tem a finalidade de evitar a degradação da pectina, e evitar a perda de nebulosidade no produto final (11).

A determinação de propriedades de qualidade de laranjas e suco são realizadas atualmente por meio de métodos físico-químicos que são destrutivos e permitem somente a análise de um número representativo de frutos e quantidade de suco. Neste contexto, métodos não destrutivos apresentam uma alternativa para controle de qualidade.

Métodos não invasivos, que não exijam prévia preparação da amostra apresentam uma eficiente alternativa para controle de qualidade de alimentos. Como exemplo a ressonância magnética nuclear de baixo campo (RMN-DT) é capaz identificar danos internos nos frutos com base em mudanças nos valores do tempo de relaxação T_2 (12). Outra metodologia não invasiva que vem sendo aplicada é espectroscopia de infravermelho e Raman com transformada de Fourier para análise de pectinas (13).

A RMN é observada quando certos núcleos atômicos que possuem momento angular ou spin (L) e momento magnético μ , são submetidos à um campo magnético estático, denominado B_0 e à um campo magnético oscilante, denominado de B_1 (14). O B_0 faz com que μ precessionem com uma frequência angular denominada frequência de Larmor (15).

Para a obtenção do sinal de RMN, o campo B_1 , na frequência de Larmor faz com que a magnetização se desloque por um ângulo proporcional à duração do pulso e à intensidade do campo B_1 (15).

Após o pulso, a magnetização volta a precessionar em torno de B_0 e induz o sinal de RMN na bobina da sonda, denominado de decaimento livre da indução, FID (16). Após o pulso, o FID passa por dois processos de relaxação distintos: a relaxação longitudinal (T_1), que está envolvida no

retorno da magnetização ao equilíbrio térmico; e a relaxação transversal (T_2), que está relacionada com o desaparecimento do sinal (17).

O mecanismo de relaxação longitudinal, spin-rede ou T_1 , está relacionado ao retorno da magnetização ao estado de equilíbrio térmico.

O tempo de relaxação transversal, spin-spin ou T_2 está relacionado à perda de coerência da magnetização após o pulso (16). Essa perda de coerência é atribuída às interações diretas entre os momentos magnéticos individuais dos spins em uma amostra. Ela é maior em moléculas com alta mobilidade e decresce com a redução da mobilidade molecular. A sequência usada para medir T_2 , desenvolvida por Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG) consiste de um trem de pulsos de 180° , separados por um tempo 2τ , precedido de um pulso de 90° inicial separado por τ (18). O T_2 é utilizado para medida da qualidade de alimentos por RMN de baixo campo.

A espectroscopia na região do infravermelho é baseada no estudo da interação da radiação eletromagnética com a matéria. Nesta espectroscopia determina-se os níveis de energia entre transições de espécies atômicas e moleculares em nível vibracional e rotacional. Segundo Perkin (2007), no caso da espectroscopia na região do infravermelho a interação se dá por meio dos movimentos relativos dos átomos numa molécula, ou seja, de suas vibrações e rotações.

O espectro do infravermelho é dividido em radiação no infravermelho próximo (NIR), médio (MIR), e distante (FAR), sendo a maioria das aplicações relacionadas à identificação de compostos orgânicos, pois nessa

região ocorrem essencialmente transições fundamentais e existe uma faixa espectral conhecida como região de impressão digital (1200 a 700 cm^{-1}).

Nesta região, as mudanças significativas na distribuição das bandas de absorção são consequências de pequenas diferenças na estrutura e na constituição de uma molécula. Assim, a semelhança estreita entre dois espectros nesta região, bem como nas outras, representa forte evidência da identidade dos compostos que produziram o espectro. Desta forma, é possível analisar medidas de amostras em todos os estados e formas como gases, líquidos, sólidos, sistemas binários e terciários, assim como também amostras semisólidas, pastas, géis e outras, nas regiões do Infravermelho.

NIR avalia os componentes químicos com base em sobretons (*Overtone*) e na combinação de bandas específicas de grupos funcionais (19). E o MIR em particular possui bandas específicas sendo bastante sensível à composição química das amostras (20).

Entretanto, na obtenção de informações qualitativas e quantitativas a partir dos complexos espectros vibracionais, por se tratarem de dados multivariados, é imprescindível a utilização de métodos quimiométricos, assim como na análise de dados de RMN-DT. Estes métodos são desenvolvidos e disponibilizados em programas computacionais, e são responsáveis pela popularização do uso da espectroscopia vibracional, juntamente com os avanços tecnológicos dos instrumentos.

A quimiometria ou análise multivariada relaciona medidas instrumentais à composição química de uma substância e assim deduz o

valor de uma propriedade de interesse por meio de alguma relação matemática.

Análises quantitativas como, por exemplo, titulação, precipitação e reações específicas, são demoradas e muitas vezes pouco precisas, por isso, estão cada vez mais sendo substituídas por técnicas instrumentais, como: Ressonância Magnética Nuclear, Espectroscopia no Infravermelho, Espectroscopia no visível/ultravioleta, Espectroscopia de Massa, Cromatografia, Análise de Injeção em Fluxo, etc., que avaliam a velocidade de análise com uma boa qualidade de resultados. Entretanto, nessas técnicas instrumentais não são obtidas as informações diretas do resultado, mas sim uma grande quantidade de sinais (curvas, picos) que podem ser tratados para uma possível quantificação das várias espécies presentes.

Para facilitar a interpretação de informações extraídas de matrizes complexas, a quimiometria visa tratar dados de caráter multivariado retirando o máximo de informações. Sendo dividida em algumas áreas conforme o objetivo do estudo, como: processamento de sinais analíticos, planejamento e otimização de experimentos, calibração multivariada, seleção de variáveis, reconhecimento de padrões e classificação de dados, monitoramento e modelagem de processos multivariados, dentre outras. Onde a principal linha de pesquisa da quimiometria aplicada à química analítica é percebida na construção de modelos de regressão a partir de dados de primeira ordem, ou seja, dados que podem ser representados por meio de um vetor para cada amostra (21).

Em relação ao infravermelho próximo, a região espectral compreendida no intervalo de 770 a 3000 nm, as ligações C-H, O-H e N-H apresentam comprimentos de onda de absorção característicos. Assim muitas vezes ocorre a sobreposição destas absorções, pois não serem muito fortes (22). Como consequência, há necessidade da aplicação de métodos de calibração multivariada para as determinações quantitativas. Neste mesmo contexto, métodos como, Análise de Componentes Principais (PCA, do inglês “Principal Component Analysis”) e Mínimos Quadrados Parciais (PLS, do inglês “Partial Least Square”), são ferramentas quimiométricas bastante utilizadas, as quais visam separar as informações, reduzindo as dimensões dos dados (23).

Em relação ao PCA, este método explica a variação máxima das variáveis estudadas com base nos componentes principais (PCs), as quais correspondem a um conjunto de variáveis não corrigidas (24–26). Desta forma, armazenando a variação máxima de PCs, este método também reduz a dimensão dos dados originais (27,28).

Por outro lado, o PLS é o método de regressão mais utilizado a partir de dados de primeira ordem para a construção de modelos de calibração multivariada. Na fase de calibração o PLS utiliza as informações espectrais e as informações das concentrações ao mesmo tempo.

Assim como o PCR (PCR, do inglês “Principal Component Regression”) o PLS não necessita do conhecimento exato de todos os componentes constituintes da amostra, permitindo realizar a previsão de

amostras mesmo na presença de interferentes, devendo estes estarem também presentes por ocasião na construção do modelo (29).

Desta forma o objetivo do trabalho foi utilizar as técnicas espectrais de RMN-DT, infravermelho médio e próximo para quantificação de pectina total em laranjas intactas. Assim como utilizar as mesmas metodologias não destrutivas para determinação de parâmetros relacionados ao teor de pectina total da fruta, como textura, espessura da casca, massa da fruta, massa da casca, massa de suco, rendimento, viscosidade, sólidos solúveis e pH. Também foram utilizadas as mesmas metodologias não destrutivas para predição de pectina solúvel em suco de laranja.

Considerações Finais

Os métodos analíticos avaliados por RMN-DT, NIR e MIR aliados à quimiometria demonstraram potencial para avaliação de parâmetros de qualidade em laranjas intactas assim como no suco de laranja.

Utilizando os sinais de RMN-DT obtidos de laranjas intactas associados à análise de PLSR, foi possível prever a espessura da casca, pectina total, massa da fruta, massa da casca, massa de suco e pH. Entretanto, para predição de pectina solúvel em suco de laranja este método não demonstrou-se eficiente. Onde o mau desempenho pode ser atribuído à baixa proporção de pectina solúvel encontrada no suco de laranja ou também à interferência de componentes majoritários no suco.

A análise de PLSR utilizando sinais de infravermelho próximo (NIR) foi capaz de validar parâmetros de qualidade como, textura, pectina total e SST. Neste caso, o menor poder de penetração da luz da análise e a espessura da casca do fruto analisado podem ter dificultado a predição dos demais parâmetros de qualidade analisados.

Para o infravermelho médio (MIR) obteve-se a validação de modelos de PLSR para textura de laranjas intactas. Entretanto, a análise de MIR possui um poder de penetração da luz mais reduzido que o método de NIR, desta forma o modelo validado para predição da textura apresentou o erro mais elevado de predição em comparação aos demais métodos não invasivos utilizados.

Para predição de pectina solúvel em sucos de laranja, os métodos de RMN-DT e MIR não demonstraram sensibilidade suficiente para análise de componentes minoritários. Ainda, acredita-se que componentes majoritários presentes no suco de laranja, como açúcares e ácidos orgânicos, tenham sobreposto a influência da pectina nas variações espectrais. Entretanto, os métodos não destrutivos avaliados apresentaram espectros bastante distintos nas medidas de diferentes concentrações de pectina cítrica comercial isolada, permitindo suas distinções. As absorbâncias dos grupos funcionais do ácido carboxílico e carbonila observadas nos dados espectrais

de MIR apresentaram alta correlação com a concentração de pectina cítrica comercial. Ainda, a redução da concentração de pectina comercial influenciou nos tempos de relaxação transversal, onde concentrações inferiores de pectina apresentaram decaimentos de RMN-DT mais longos e vice-versa.

Contudo, os métodos analíticos utilizados neste estudo apresentam grande potencial na avaliação de parâmetros de qualidade tanto em laranjas intactas como no suco, necessitando, assim, de maiores estudos para viabilização em grande escala destas novas tecnologias.

Referências

1. IBGE. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola [Internet]. Vol. 29, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2015. p. 83. Available from: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/default_publ_completa.shtm
2. FAO. Food and Agriculture Organization of United Nations [Internet]. The Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2016. Available from: <http://faostat.fao.org>
3. Ladaniya MS. Fruit Biochemistry. Citrus fruit Biol Technol Eval. 2008;150, 193–7.
4. Belitz HD, Grosch W. Química de los alimentos. 1988. 91 p.
5. Coelho MT. Pectina: Características e Aplicações em Alimentos. Universidade Federal de Pelotas; 2008.
6. Ros JM, Schols H a., Voragen AGJ. Lemon albedo cell walls contain distinct populations of pectic hairy regions. Carbohydr Polym. 1998;37:159–66.
7. Walstra, P; Van Vliet T. Química de Alimentos de Fennema. In: Química de Alimentos de Fennema. 2010. p. 611–60.
8. De Roeck A, Sila DN, Duvetter T, Van Loey A, Hendrickx M. Effect of high pressure/high temperature processing on cell wall pectic substances in relation to firmness of carrot tissue. Food Chem. 2008;107(3):1225–35.
9. Mirhosseini H, Tan CP, Hamid NSA, Yusof S. Effect of Arabic gum, xanthan gum and orange oil contents on ??-potential, conductivity, stability, size index and pH of orange beverage emulsion. Colloids Surfaces A Physicochem Eng

- Asp. 2008;315(1–3):47–56.
10. Cerdán-Calero M, Izquierdo L, Sentandreu E. Valencia Late orange juice preserved by pulp reduction and high pressure homogenization: Sensory quality and gas chromatography-mass spectrometry analysis of volatiles. LWT - Food Sci Technol [Internet]. Elsevier Ltd; 2013;51(2):476–83. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2012.11.016>
 11. Sentandreu E, Gurrea MADC, Betoret N, Navarro JL. Changes in orange juice characteristics due to homogenization and centrifugation. J Food Eng [Internet]. Elsevier Ltd; 2011;105(2):241–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.02.027>
 12. Cho BK, Chayaprasert W, Stroshine RL. Effects of internal browning and watercore on low field (5.4 MHz) proton magnetic resonance measurements of T2 values of whole apples. Postharvest Biol Technol. 2008;47(1):81–9.
 13. Synytsya A, Čopíková J, Matějka P, Machovič V. Fourier transform Raman and infrared spectroscopy of pectins. Carbohydr Polym. 2003;54(1):97–106.
 14. Atta-ur-Rahman, Choudhary MI, Atia-tul-Wahab. Solving Problems with NMR Spectroscopy [Internet]. Solving Problems with NMR Spectroscopy. 2016. 431-494 p. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124115897000103>
 15. Ribeiro FZ. Avaliação da qualidade de frutas por Ressonância Magnética Nuclear em baixa resolução. Universidade de São Paulo; 2008.
 16. Gil VMS, Geraldes CF de GC. Ressonância magnética nuclear: fundamentos, métodos e aplicações. 1987.
 17. Claridge TDW. High-resolution NMR techniques in organic chemistry.

- Tetrahedron Org Chem Ser ; 1999;19:xiv, 382 .
18. De Andrade FD. Desenvolvimento de sequências de pulso de eco de spin de baixa potência para RMN on-line. Universidade de São Paulo; 2011.
 19. Fischer WB, Eysel HH, Nielsen OF, Bertie JE. Corrections to the Baseline Distortions in the OH-Stretch Region of Aqueous solution. App Spec. 1994;48(1):107–12.
 20. Bellon-Maurel V, McBratney A. Near-infrared (NIR) and mid-infrared (MIR) spectroscopic techniques for assessing the amount of carbon stock in soils - Critical review and research perspectives. Soil Biol Biochem [Internet]. Elsevier Ltd; 2011;43(7):1398–410. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.02.019>
 21. Neto BB, Scarminio IS, Bruns RE. 25 Years of Chemometrics in Brazil. 2006;29(0):1401–6.
 22. Alamar PD, Caramês ETS, Poppi RJ, Pallone JAL. Quality evaluation of frozen guava and yellow passion fruit pulps by NIR spectroscopy and chemometrics. Food Res Int [Internet]. Elsevier Ltd; 2016;85:209–14. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996916301673>
 23. Chen Y. Reference-related component analysis: A new method inheriting the advantages of PLS and PCA for separating interesting information and reducing data dimension. Chemom Intell Lab Syst [Internet]. Elsevier B.V.; 2016;156:196–202. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S016974391630137X>
 24. Divya O, Mishra AK. Combining synchronous fluorescence spectroscopy with

- multivariate methods for the analysis of petrol-kerosene mixtures. *Talanta*. 2007;72(1):43–8.
25. Daszykowski M, Walczak B, Massart DL. A journey into low-dimensional spaces with autoassociative neural networks. *Talanta*. 2003;59(6):1095–105.
 26. Rajalahti T, Kvalheim OM. Multivariate data analysis in pharmaceuticals: A tutorial review. *Int J Pharm* [Internet]. Elsevier B.V.; 2011;417(1–2):280–90. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.02.019>
 27. Jaumot J, Eritja R, Navea S, Gargallo R. Classification of nucleic acids structures by means of the chemometric analysis of circular dichroism spectra. *Anal Chim Acta*. 2009;642(1–2):117–26.
 28. Ribeiro JS, Teófilo RF, Augusto F, Ferreira MMC. Simultaneous optimization of the microextraction of coffee volatiles using response surface methodology and principal component analysis. *Chemom Intell Lab Syst*. 2010;102(1):45–52.
 29. Beebe KR, Pell RJ, Beth M, Wiley SJ. Book reviews. 2001;95–6.