

Diferenciação de alfaces orgânicas, hidropônicas e convencionais utilizando espectroscopia de infravermelho próximo

Differentiation of organic, hydroponic and conventional lettuce using near-infrared spectroscopy

Julio Jose Mokarzel Biffi

juliomokarzel@gmail.com

Universidade Tecnológica Federal do Paraná-UTFPR, Campo Mourão, Paraná, Brasil

Ailey Aparecida Coelho Tanamati

aactanamati@utfpr.edu.br

Universidade Tecnológica Federal do Paraná-UTFPR, Campo Mourão, Paraná, Brasil

Paulo Henrique Março

paulohmarço@gmail.com

Universidade Tecnológica Federal do Paraná-UTFPR, Campo Mourão, Paraná, Brasil

RESUMO

A espectroscopia de refletância de infravermelho próximo (NIRS) é sugerido como uma possível alternativa às metodologias comumente utilizadas, por ser uma técnica idealmente capaz de permitir distinções de forma rápida, ambientalmente correta, não destrutiva e não invasiva de amostras. Desta forma, este trabalho propõe uma metodologia para a diferenciação de alfaces e couves cultivadas de forma orgânica e convencional através do NIRS aliado ao método quimiométrico de Análise de Componentes Principais (PCA). No desenvolvimento do estudo na primeira parte foram adquiridas 12 amostras de alfaces convencionais, 6 hidropônicas e 6 orgânicas, analisadas em triplicata. As amostras se apresentaram muito semelhantes entre si, mas as amostras orgânicas sofreram influência significativa das vibrações de moléculas compostas por H_2O , CH , CH_2 , CH_3 , $ArOH$, ROH , RNH_2 , $ArCH$ e $CONHR$, enquanto as demais foram menos influenciadas por essas vibrações moleculares. Na segunda parte do trabalho, foram avaliadas amostras de alface crespa e couve manteiga, as quais foram cultivadas em ambiente doméstico, procurando simular ao máximo o cultivo orgânico. Os resultados dessa amostragem foram comparados aos de amostras dessas hortaliças, cultivadas de forma convencional por produtor local. Os resultados demonstraram que associação do NIR e Análise de Componentes Principais foi possível diferenciar amostras de alface cultivadas de forma orgânica de amostras hidropônicas e convencionais. Estes resultados sugerem que a metodologia proposta pode ser uma ferramenta hábil para a triagem de alfaces orgânicas visto que fraudes quanto ao tipo de cultivo das amostras dificilmente seriam avaliadas de forma eficiente em tempo devido ao caráter perecível dos mesmos.

PALAVRAS-CHAVE: Orgânicos. Análise multivariada. Espectroscopia no infravermelho próximo

ABSTRACT

Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) is suggested as a possible alternative to the commonly used methodologies, as it is ideally capable of allowing fast, environmentally correct, non-destructive and non-invasive specimen distinctions. In this way, this project proposes a methodology for the differentiation of organic and conventional cultivated lettuces and cabbages through the NIRS allied to the principal components analysis (PCA) chemometric method. In the development of the study in the first part, 12 samples of conventional lettuces, 6 hydroponics and 6 organics, were analyzed in triplicate. The samples were very similar to each other, but the organic samples were significantly influenced by the vibrations of molecules composed of H_2O , CH , CH_2 , CH_3 , $ArOH$, ROH , RNH_2 , $ArCH$ and $CONHR$, while the others were less influenced by these molecular vibrations. In the second part of the project, samples of curly lettuce and kale were evaluated, which were cultivated in a domestic environment, trying to simulate the organic crop as much as possible. The results of this sampling were compared to the

Recebido: 31 ago. 2018.

Aprovado: 4 out. 2018.

Direito autoral:

Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.





samples of these vegetables, cultivated in a conventional way by local producer. The results showed that the association of NIR and Principal Components Analysis allowed the differentiation of lettuce samples grown organically from hydroponic and conventional samples. These results suggest that the proposed methodology may be a useful tool for the sorting of organic lettuce, since fraud regarding the type of culture of the samples would hardly be evaluated in an efficient way in time due to the perishable character of the same.

KEYWORDS: Organic. Multivariate analysis. Near-infrared spectroscopy

1. INTRODUÇÃO

As certificadoras de alimentos orgânicos, afim de autenticá-los, realizam procedimentos analíticos tradicionais utilizados no controle de qualidade, porém possuem limitações por exigirem muito trabalho, e tempo de operação, necessitam de mão de obra qualificada e apresentam caráter destrutivo das amostras, além de gerarem resíduos químicos, devido ao uso de solventes orgânicos. Por isso, é interessante o desenvolvimento de métodos eficientes, rápidos e ambientalmente corretos (CACHO et al., 2003).

A possibilidade de quantificar o analito sem a necessidade de separá-lo da matriz é uma grande vantagem da espectroscopia NIR em relação às técnicas de separação, como a cromatografia líquida de alta eficiência, uma vez que o desenvolvimento de métodos analíticos exige pouco ou nenhum tratamento da amostra, minimizando a geração de resíduos. Além disso, o tempo de preparo da amostra normalmente é muito inferior em relação aos métodos cromatográficos e, conseqüentemente, o custo das análises também é reduzido (PASQUINI, 2003; PAULA, 2007; BEVILACQUA, 2013).

A espectroscopia no infravermelho próximo é um tipo de espectroscopia vibracional que emprega radiação eletromagnética na faixa de energia de $2,65.10^{-19}$ a $7,96.10^{-20}$ J, a qual corresponde à faixa de comprimentos de onda de 750 a 2.500 nm (ou números de onda de 13.300 a 4.000 cm^{-1}). Nesta região são detectadas as vibrações de primeiro, segundo e terceiro sobretons (overtones) de bandas fundamentais observadas no infravermelho médio bem como as bandas de combinação. Sobretons são transições múltiplas das transições fundamentais, ou seja, acontecem do nível vibracional fundamental $n = 0$ para os diversos níveis vibracionais $n = 2,3,4,\dots$ (BURNS; CIURCZAK, 2007).

Uma vantagem da espectrofotometria derivativa é a determinação simultânea de dois ou mais componentes em misturas. E uma desvantagem, é a degradação na relação sinal/ruído. Entretanto, em algumas partes das UV-vis e IR-próximo a razão sinal/ruído não é um fator limitante, ou seja, mesmo que este sofra degradação pela diferenciação, métodos de suavização podem ser aplicados para ajudar a melhorar a precisão (KITAMURA; HOZUMI, 1987).

Vários métodos foram propostos para a análise quantitativa de compostos. Mas recentemente, técnicas estatísticas multivariadas, como a análise de quadrados mínimos parciais (PLS, do inglês Partial Least Squares) e de componentes principais (PCA, do inglês Principal Component Analysis), têm sido usadas para determinar as concentrações de compostos químicos (SKOOG, 2010).

2. MÉTODOS

O trabalho foi realizado em duas partes, onde na primeira foram adquiridas, em estabelecimento comercial local 18 amostras de alface cultivadas diferentemente: 6 convencionais, 6 hidropônicas e 6 orgânicas. De cada amostra foram retiradas 3 folhas (amostras) de dentro do pé e 3 de fora (triplicata), onde obteve-se 3 espectros do centro da folha e 3 espectros da região periférica da mesma. A identificação dos espectros foi: convencional 1 a 36; hidropônico 37 a 54; orgânico 55 a 72.

Os espectros das amostras na região do infravermelho próximo foram adquiridos focalizando-se o feixe de radiação do equipamento na parte central das folhas periféricas através de um espectrofotômetro MicroNIR™ 1700 JDSU



com resolução de 6 nm, sendo a calibração do equipamento feita com esfera de refletância 99% a 50 °C. Após a aquisição, os dados foram processados através do software Matlab 2013a R utilizando-se o método quimiométrico de Análise de Componentes Principais do pacote de ferramentas computacionais PLS-Toolbox R, fornecido pela EMBRAPA Solos, do Rio de Janeiro.

Na segunda parte do trabalho foram analisadas amostras de alface e couve cultivadas em ambiente doméstico e expostas ao ambiente, na tentativa de aproximar o do mini cultivo orgânico, no final de fevereiro 2017, onde a temperatura foi de aproximadamente 22 °C. Nesta etapa houve o controle do tipo de semente, solo, água adicionada por aspersão e a intensidade de luz natural. A semeadura, cultivo e transplante das mudas foram feitas de acordo com as instruções nas embalagens das sementes. Após sessenta dias de cultivo as amostras foram colhidas e analisadas por espectroscopia no infravermelho próximo, conforme descrito anteriormente. Paralelamente, foram analisadas cultivares de alface e couve cultivadas no método convencional, as quais foram doadas por um produtor local.

Foram utilizados 6 pés de alface convencional e 6 de orgânico, onde de cada um retirou-se 3 folhas (amostras) das bordas, analisadas em triplicata e identificadas: convencional de 1 a 18; orgânico de 19 a 42.

Para as amostras de couve, foram utilizadas 15 amostras (maços) de couves, sendo 9 convencionais e 6 orgânicas. Os espectros foram adquiridos em triplicata e identificados como: convencional de 1 a 36; orgânico de 37 a 60.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Parte I

Os espectros das amostras de alface analisadas na primeira parte da pesquisa foram organizados na forma de uma matriz contendo 72 linhas e 125 colunas. Os espectros foram processados empregando o algoritmo de correção de espalhamento multiplicativo (MSC – do inglês MultiScatteringCorrection) para o ajuste de linha de base e o algoritmo de SavitskiGolay para o alisamento dos espectros. Após os pré-tratamentos, os dados foram submetidos à Análise de Componentes Principais, onde foram utilizadas 3 PCs para explicar 99,84 da variância total dos dados. O modelo PCA foi construído considerando-se o algoritmo de decomposição em valores singulares (SVD), sendo os dados submetidos a validação cruzada, dividindo-se o conjunto de espectros em intervalos de 10 comprimentos de onda durante o processo de construção do modelo PCA. As amostras se apresentaram em sua maioria como muito semelhantes entre si. A melhor separação das amostras foi visualizada através da contraposição das PC2 e PC3, que carregam 16,07 por cento e 0,50 da variância explicada, respectivamente. O modelo empregado errou na separação de duas amostras hidropônicas, classificando-as como orgânicas.

As bandas de vibração nas regiões de comprimento de onda entre 900 e 980 nm, 1030 a 1350 nm, 1500 a 1550 nm e 1630 a 1660 nm apresentaram sinais responsáveis pela separação das amostras. Portanto, é possível sugerir que as amostras de alface orgânica sofrem influência significativa das vibrações de moléculas compostas por H₂O, CH, CH₂, CH₃, ArOH, ROH, RNH₂, ArCH e CONHR enquanto as demais amostras de alface são menos influenciadas pelas vibrações dessas moléculas (YURI, 2004). Provavelmente, esta diferença deve se dar pela

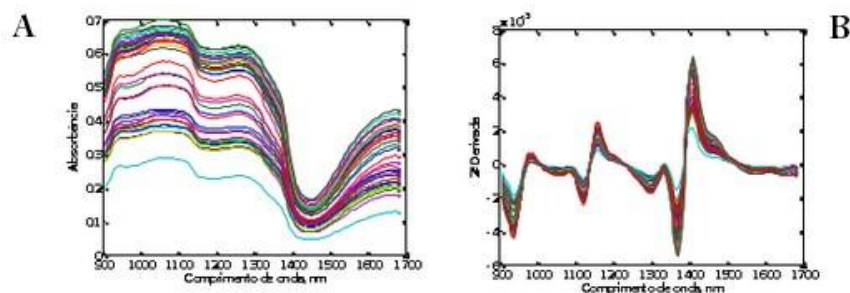
influência que os defensivos agrícolas causam nestas moléculas. Porém, para que se possa afirmar com precisão, seriam necessárias análises cromatográficas confirmatórias.

3.2 Análise Espectral – Parte II

Nesta segunda parte do trabalho, os dados de todas as análises foram organizados em formato de matrizes. A matriz para as amostras de alfaces continha 42 linhas e 125 colunas. Os dados de cada matriz foram centrados na média. Foi realizada também correção da linha de base, utilizando-se segunda derivada seguida de alisamento pelo algoritmo de Savitzky-Golay para avaliar as semelhanças entre as amostras. Para cada matriz foi aplicado o método quimiométrico de Análise de Componentes Principais (PCA) para a análise qualitativa de dados.

Do procedimento padrão de pré-tratamento e interessante observar que o algoritmo de correção de espalhamento multiplicativo (MSC), para o ajuste de linha de base não foi utilizado porque com apenas o algoritmo de Savitzki-Golay, foi possível uma separação efetiva dos espectros (MARÇO, 2009). Para o NIR é sempre necessário a derivada de um espectro já tratado, para juntá-los, e estabelecer zeros coincidentes, ou seja, forçar um zero comum para evidenciar as bandas de maiores vibrações.

Figura 1 - Espectros NIR (A) brutos das amostras de alfaces e (B) após suavização pelo algoritmo.



Fonte: (Março, 2009.)

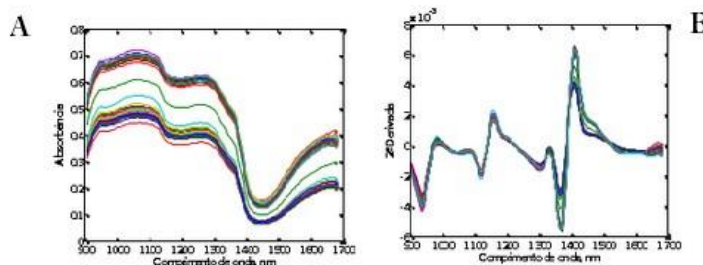
O maior pico de absorção (Figura 1 B) ficou entre as bandas de 1400 - 1500 nm, essas são atribuídas as amostras convencionais. De acordo com a literatura, para produtos agrícolas a região de 1500 a 1530 nm é características de aminas N-H utilizadas para medição de proteínas. E a região de 1460 e 1498 nm de perturbações de N-H (BURNS; CIURCZAK, 2007).

Após os pré-tratamentos, os dados foram submetidos à Análise de Componentes Principais, onde com apenas 2 PCs foram necessários para explicar 82,94% da variância total dos dados. As amostras se apresentaram em sua maioria como muito semelhantes entre si. Porém, a amostra 33, foi descartada por estar levemente deslocada, esta não diferenciou no intervalo de 95% de confiança. No entanto, este comportamento não foi observado para as demais amostras, o que sugere ser possível analisá-las de forma não destrutiva (PASQUINI, 2003).

Os mesmos métodos e procedimentos foram realizados para análise das couves sendo que a matriz continha 60 linhas e 125 colunas. O maior pico de

absorção também ficou entre as bandas de 1400 - 1500 nm, essas são atribuídas às amostras convencionais (Figura 2 B).

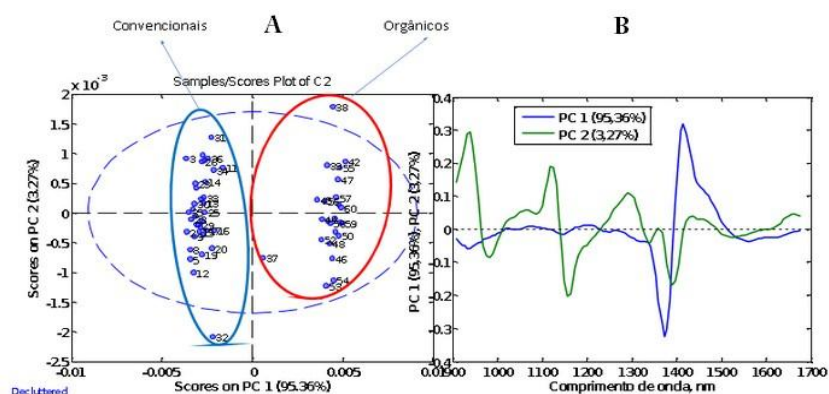
Figura 2 - Espectros NIR (A) brutos das amostras de couves e (B) após suavização pelo algoritmo.



Fonte: (Março, 2009).

Na Figura 3, verifica-se que as amostras de convencionais que sofrem maior influência das variáveis que entre 1400 nm e 1500 nm.

Figura 3 - Escores de PCA (utilizando apenas PC1) dos espectros adquiridos na região do IV próximo para os cultivos de alfaces (A) e os espectros (B) após derivada.



Fonte: (Março, 2009).

4. CONCLUSÃO

Através da associação de espectroscopia de infravermelho próximo e o método quimiométrico de Análise de Componentes Principais foi possível diferenciar amostras de alface cultivadas de forma orgânica de amostras hidropônicas e convencionais. Estes resultados sugerem que a metodologia proposta pode ser uma ferramenta eficiente para a triagem de alfaces orgânicas visto que fraudes quanto ao tipo de cultivo das amostras dificilmente seriam avaliadas de forma eficiente em tempo devido ao caráter precíval destes cultivares.

É fundamental a realização de novos estudos em produção orgânica de alimentos para geração de tecnologias sustentáveis e adaptadas às nossas condições edafoclimáticas, em especial quanto à agricultura familiar, a assentamentos e pequenas propriedades, pois Agricultura Ecológica pode ser uma das alternativas para a questão do Desenvolvimento Rural Sustentável.



REFERÊNCIAS

BEVILACQUA, M. et al. Application of near infrared (NIR) spectroscopy coupled to chemometrics for dried egg-pasta characterization and egg content quantification. **Food chemistry**, Elsevier, v. 140, n. 4, p. 726–734, 2013.

BURNS, D. A.; CIURCZAK, E. W. **Handbook of near-infrared analysis**. [S.l.]: CRC press, 2007.

CACHO, C. et al. Clean-up of triazines in vegetable extracts by molecularly-imprinted solid-phase extraction using a propazine-imprinted polymer. **Analytical and bioanalytical chemistry**, Springer, v. 376, n. 4, p. 491–496, 2003.

KITAMURA, K.; HOZUMI, K. Effect of savitzky—golay smoothing on second-derivative spectra. **Analytica chimica acta**, Elsevier, v. 201, p. 301–304, 1987.

MARÇO, P. H. **Estudo da influência da radiação e pH no comportamento cinético de antocianinas de plantas do gênero hibiscos por métodos quimiométricos**. Tese – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas-SP, 2009.

PASQUINI, C. Near infrared spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, SciELO Brasil, v. 14, n. 2, p. 198–219, 2003.

PAULA, S. A. d. et al. Composição bioquímica e fatores antinutricionais de genótipos de soja. Universidade Federal de Viçosa, 2007.

SKOOG DOUGLAS A., W. D. M. H. F. J. C. S. R. **Fundamentos da química analítica**. [S.l.]: Cengage Learning, 2010.

YURI, J. E. Produção, nutrição e conservação pós colheita da alface tipo americana, cv. Raider, no verão e no inverno, em função da aplicação de nitrogênio e potássio em cobertura. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2004.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha orientadora pela confiança e oportunidade de fazer parte deste projeto, como também a UTFPR-CM e DIRPPG pela disponibilização de uma bolsa PVCIT da Fundação Araucária 2017/2018. Sou



muito grato a todos envolvidos neste trabalho e espero sempre o melhor de todos alunos e professores do PPGTA-CM.