



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ELEM TAMIRYS DOS SANTOS CARAMÊS

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE E POTENCIAL BIOATIVO DE BEBIDAS DE FRUTA:
APLICAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO E QUIMIOMETRIA

EVALUATION OF QUALITY AND POTENTIAL BIOACTIVE OF FRUIT DRINKS:
APPLICATION OF SPECTROSCOPY ON INFRARED AND CHEMOMETRIC

CAMPINAS
2016

ELEM TAMIRYS DOS SANTOS CARAMÊS

AValiação da Qualidade e Potencial Bioativo de Bebidas de Fruta:
Aplicação da Espectroscopia no Infravermelho e Quimiometria.

EVALUATION OF QUALITY AND POTENTIAL BIOACTIVE OF FRUIT DRINKS:
APPLICATION OF SPECTROSCOPY ON INFRARED AND CHEMOMETRIC

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestra em Ciência de Alimentos.

Dissertation presented to the Faculty of Food Engineering of the University of Campinas in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master in Food Science.

ORIENTADORA: Juliana de Azevedo Lima Pallone

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À
VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO
DEFENDIDA PELA ELEM TAMIRYS DOS
SANTOS CARAMÊS E ORIENTADA
PELA PROF^a JULIANA AZEVEDO LIMA
PALLONE.

CAMPINAS, 2016

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): CNPq, 145658/2014-7; FAPESP, 2015/15848-0

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos
Márcia Regina Garbelini Sevillano - CRB 8/3647

C176a Caramês, Elem Tamirys dos Santos, 1992-
Avaliação da qualidade e potencial bioativo de bebidas de fruta : aplicação da espectroscopia no infravermelho e quimiometria. / Elem Tamirys dos Santos Caramês. – Campinas, SP : [s.n.], 2016.

Orientador: Juliana Azevedo Lima Pallone.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Frutas. 2. Infravermelho. 3. Quimiometria. 4. PLS. I. Pallone, Juliana Azevedo Lima, 1977-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Evaluation of quality and potential bioactive of fruit drinks : application of spectroscopy on infrared and chemometric.

Palavras-chave em inglês:

Fruits
Infrared
Chemometric
PLS

Área de concentração: Ciência de Alimentos

Titulação: Mestra em Ciência de Alimentos

Banca examinadora:

Juliana Azevedo Lima Pallone [Orientador]
Alessandra Borin-Nogueira
Daniela Souza Ferreira

Data de defesa: 12-08-2016

Programa de Pós-Graduação: Ciência de Alimentos

Banca Examinadora

Prof^a. Dr^a. Juliana Azevedo Lima Pallone
(Orientadora) Faculdade de Engenharia de Alimentos/FEA/Unicamp

Dra. Daniela Souza Ferreira
(Membro Titular) Pesquisadora/Campinas

Profa. Dra. Alessandra Borin Nogueira
(Membro Titular) Faculdade de Química/PUCCAMP

Prof. Dr. Douglas Fernandes Barbin
(Membro Suplente) Faculdade de Engenharia de Alimentos/FEA/Unicamp

Prof. Dr. Ronei Jesus Poppi
(Membro Suplente) Faculdade de Química/ IQ/Unicamp

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no processo de vida acadêmica do aluno.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, toda honra e toda glória seja dada a Ele.

Agradeço aos meus pais, Silvana e Cardoso, por terem sido meus grandes incentivadores e exemplos de vida. E ao meu irmão João por ser motivo de alegria e risadas em todos os momentos.

Agradeço a Priscila por ser minha companhia e amiga durante anos e principalmente no decorrer desse trabalho.

Agradeço a Prof^ª Juliana Pallone pelo carinho, dedicação e atenção despendidas nesses anos de orientação.

Agradeço aos membros da banca, professores Alessandra Borin-Nogueira, Daniela Souza, Doubilas Barbin e Ronei Poppi, pelas contribuições ao trabalho.

Agradeço aos colegas do laboratório de análise de alimentos (Joyce, Eduardo, Kleidson e Ana Paula) pelas tardes de companhia, ajuda e momentos de descontração.

Agradeço a Faculdade de Engenharia de Alimentos e ao Programa de Pós Graduação em Ciência de Alimentos pela oportunidade de realizar este trabalho.

Agradeço ao CNPq pela bolsa concedida.

RESUMO GERAL

O Brasil é o terceiro maior produtor de frutas no mundo. Dentre as frutas produzidas no território nacional, o caju (2 milhões toneladas/ano), goiaba (345 mil toneladas/ano) e uva (1,4 milhões de toneladas/ano), merecem destaque pela grande produção e variedade de produtos gerados a partir deles (sucos, néctares, polpas, doces, refrigerantes, etc). O setor de bebidas, sucos e néctares, tem sido responsável pela movimentação de US\$ 1,9 bilhão com a venda de 476 milhões de litros/ano, essa fatia do mercado tem sido impulsionada pela busca do consumidor por produtos mais saudáveis. Néctares de caju e goiaba, se destacam pelo alto teor de vitamina C encontrado nas frutas (em média 230mg/100g e 600mg/100g, respectivamente) e suco de uva apresenta significativa quantidade de compostos fenólicos, especialmente antocianinas. Ácido ascórbico, compostos fenólicos, incluindo antocianinas, são compostos termolábeis e sujeitos a degradação oxidativa, especialmente em meio aquoso, como em bebidas. Para garantir a qualidade de néctares a legislação brasileira definiu parâmetros de acidez (ACT) e açúcares totais (AT), sólidos solúveis (SS), pH e ácido ascórbico (AA) que são comumente realizados por análises tradicionais (como HPLC, titulação) que envolvem o uso de substâncias tóxicas, perigo ao analista e ambiente, necessidade de equipamento específico. Cenário similar é encontrado para analisar concentração total de fenólicos (TF) e antocianinas (TA) em suco integral de uva, com o agravante que as análises, em geral, são demoradas e, por isso, prejudicam a estabilidade de compostos bioativos durante a análise. Como alternativa a esses problemas, esse trabalho se propôs a utilizar a análise espectroscópica NIR e/ou MIR juntamente com a quimiometria como alternativa para analisar néctares de caju e goiaba (ACT, AT, SS, pH e AA) e suco de uva (TF e TA), em substituição às análises tradicionais. Os espectros obtidos por transfectância foram pré-processados para redução de efeitos multiplicativos (MSC/SNV), melhora da razão sinal/ruído (alisamento usando Savitzky-Golay), correção de linha de base (derivada por Savitzky-Golay) e centrados na média. Dentre os modelos de calibração PLS construídos para as análises em néctares apresentaram destaque o modelo de AA em néctar de caju (RMSEP=4,8 mg/100g e RMSEC=4,6 mg/100g) e de AT em néctar de goiaba (RMSEP=0,315% e RMSEC=0,297%), os demais modelos apresentaram bons valores de R^2 ($>0,7$) além de valores baixos de RMSEP e RMSEC. Modelos de calibração utilizando NIR e MIR construídos para determinar TA e TF em suco de uva apresentaram performance similar. Modelos de MIR e NIR para previsão de TA tiveram baixos valores de RMSEP (4,22mg/100mL e 4,44mg/100mL, respectivamente) e para a previsão de TF, MIR apresentou um RMSEP ligeiramente menor do que o apresentado pelo NIR (2,12EqAGmg/mL e 3,71EqAGmg/mL, respectivamente). Os valores de RMSEP encontrados para todos os

modelos construídos nesse trabalho mostram que análises espectroscópicas, NIR e MIR, podem atuar em substituição a análises tradicionais durante o controle de qualidade de néctares de caju e goiaba e compostos bioativos em suco de uva, com as vantagens de serem quimicamente verde, rápidas e eficientes, não necessitam de preparo de amostra, evitando erros por instabilidade dos compostos avaliados.

ABSTRACT

Brazil is the third largest producer of fruits in the world. Among the fruits produced in the national territory, cashew apple (2 million tons / year), guava (345,000 tons / year) and grapes (1.4 million tons / year), are noteworthy for the great production and variety of products generated from them (juices, nectars, squashes, jams, soft drinks, etc.). The beverage industry, juices and nectars, has been responsible for the movement of US \$ 1.9 billion from the sale of 476 million liters/ year, this share of the market has been driven by consumers looking for healthier products. Nectars of cashew apple and guava, present high content of vitamin C found in fruits (average 230 mg/100g and 600 mg/100g, respectively) and grape juice has a significant amount of phenolic compounds, especially anthocyanins. Ascorbic acid, phenolic compounds, including anthocyanins are labile compounds and subject to oxidative degradation, especially in aqueous media, such as drinks. To ensure the quality of nectars Brazilian legislation defined acidity parameters (TA) and total sugars (TS), soluble solids (SS), pH and ascorbic acid (AA) that are commonly performed by traditional analyzes involving the use of toxic substances, danger to the analyst and the environment, and the need for specific equipment. Similar scenario is found to analyze concentration of total phenolics content (TPC) and anthocyanins content (TAC) of grape juice, with the aggravation that these analyzes, in general, are time consuming and therefore impair the stability of the bioactive compounds during the process. As an alternative to these problems, this work proposes to use the spectroscopic analysis NIR and/or MIR along with chemometrics as an alternative to analyze nectars cashew and guava (ACT, AT, SS, pH and AA) and grape juice (TF and TA), to replace the traditional analysis. The spectra obtained by transfectance were preprocessed to reduce multiplicative effects (MSC/SNV), to improve signal/noise ratio (smoothing using Savitzky-Golay), baseline correction (derived by Savitzky-Golay) and mean centered. Among the PLS calibration models constructed for the analyzes in nectars stood out the AA model for cashew's nectar (RMSEP= 4.8 mg/100g and RMSEC= 4.6 mg/100g) and AT for guava's nectar (RMSEP = 0.315% and RMSEC = 0.297%), the other models presented good values of R^2 (> 0.7) in addition to low values of RMSEP and RMSEC. Calibration models using NIR and MIR constructed to determine TA and TF in grape juice showed similar performance. MIR and NIR models for TA forecast RMSEP had low values (4,22mg / 100mL and 4,44mg / 100 mL, respectively) and for predicting TF, MIR presented a slightly smaller RMSEP than presented by NIR (2.12 EqAGmg/ml and 3.71 EqAGmg/mL, respectively). The RMSEP values found for all models built in this work show that spectroscopic analysis, NIR and MIR, can act as a substitute for

traditional analyzes for quality control nectars and bioactive compounds in grape juice, with the advantages of being chemically green, fast and efficient, and do not require sample preparation, avoiding errors due to instability of the compounds evaluated.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Esquema estrutural da vitamina C (Fonte: FLORENCIO, 2014)	21
Figura 2. Oxidação do ácido ascórbico (Fonte: OETTERER,2016).....	21
Figura 3. Estrutura química das catequinas (A) e antocianidinas (B) (Fonte: SILVA et al., 2010).....	22
Figura 4. Estrutura química das seis antocianinas mais comuns na dieta humana (Fonte: GIULIANI et al., 2016).	23
Figura 5. Spectra data obtained to cashew apple (A) and guava juice (B).....	35
Figure 6. Acidity and Total sugar models by NIR to cashew apple (A and C) and guava's nectars (B and D). Calibration set (●) and Validation set (▲).....	37
Figure 7. Ascorbic acid model to cashew apple (A) and guava's nectars (B). Calibration set (●) and Validation set (▲).	39
Figure 8. Raw spectra data by MIR (A) and NIR (B).	45
Figure 9. TAC and TPC models obtained by MIR (A and C) and NIR (B and D). Calibration set (●) and Validation set (▲).....	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Padrão de identidade e qualidade para néctares de caju e goiaba.....	18
Tabela 2. Regiões espectrais no infravermelho.	25
Table 3. Identity and pattern do cashew apple and guava's nectars according the legislation of Brazil (2003).....	32
Table 4. Determined parameters of cashew apple and guava nectars and the number of samples discording of the Brazilian's legislation.....	35
Table 5. Preprocessing for spectra data of cashew apple and guava's nectar.	36
Table 6. Performance of PLS calibration models for acidity, total sugar, soluble solids, pH and ascorbic acid in cashew apple and guava nectar.....	38
Table 7. Total polyphenols and anthocyanins content in grape juice.	45
Table 8. Preprocessing applied in MIR and NIR spectra data.	46
Table 9. Statistics for calibration and prediction of anthocyanin and polyphenols content by MIR and NIR.	47

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1. Produção de frutas	16
2.2. Produção de goiaba.....	16
2.3. Produção de caju.....	17
2.4. Produção de uva.....	17
3. SUBPRODUTOS DAS FRUTAS.....	18
3.1. Néctar e suco.....	18
4. QUALIDADE NUTRICIONAL DE NÉCTAR E SUCO DE FRUTAS.....	19
4.1. Vitamina C	20
4.2. Compostos fenólicos.....	22
5. MÉTODOS TRADICIONAIS PARA ANÁLISE DE PIQ (PADRÃO DE IDENTIDADE E QUALIDADE) EM NÉCTAR E COMPOSTOS FENÓLICOS EM SUCOS: CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL E PERIGOS ANALÍTICOS.....	24
6. MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS (NIR E MIR) COMO ALTERNATIVAS PARA PIQ E COMPOSTOS FENÓLICOS EM SUCOS E NÉCTARES	25
6.1. Espectroscopia no infravermelho e aplicação em alimentos	25
7. ARTIGO I	30
7.1. Introduction.....	31
7.2. Material and Methods	32
7.2.1 Materials	32
7.2.2 Chemical Analysis.....	33
7.2.3 NIR spectroscopy	33
7.2.4 Chemometrics.....	33
7.3. Results and discussion	34

7.3.1	Chemical measurements	34
7.4.	Conclusion	39
8.	ARTIGO II	40
8.1.	Introduction.....	41
8.2.	Materials and Methods.....	42
8.2.1	Materials	42
8.2.2	Total anthocyanin content analysis.....	43
8.2.3	Total phenolic compounds content.....	43
8.2.4	Spectra acquisition.....	43
8.2.5	Chemometrics	44
8.3.	Results and Discussion	44
8.3.1	Chemical analysis	44
8.3.2	Overview and pre-treatment of spectra data.....	45
8.4.	Conclusion	48
9.	DISCUSSÃO GERAL.....	49
10.	CONCLUSÃO GERAL	54
11.	REFERÊNCIAS	55

1. INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é terceiro maior produtor mundial de frutas (tropicais, subtropicais e de clima temperado), com 42,6 milhões de toneladas produzidas em 2,2 milhões de hectares distribuídos pelo país; dentre as regiões produtoras merecem destaque Nordeste, Sul e Sudeste (EMBRAPA, 2003).

A cultura do cajueiro destaca-se no cenário agrícola, com produção de 291,3 mil toneladas de castanha e 2 milhões de toneladas de pedúnculo por ano. O caju apresenta especial interesse econômico pela qualidade da castanha e pela riqueza em vitamina C (ácido ascórbico) de seu pedúnculo (em média 230mg/100g), que corresponde à polpa comestível, porção que é consumida “in natura”, na forma de sucos, refrigerantes, bebidas alcoólicas e doces (IBGE, 2012).

O cultivo da goiaba no Brasil produz 345 mil toneladas de frutos por ano que são empregados na indústria para a produção de diversos subprodutos como: polpa, purê, doce, compota, néctar e suco, entre outros. O valor nutritivo associado ao baixo valor calórico da goiaba está entre seus principais atrativos, pois além de conter cerca de 150 a 209 calorias por 100g de fruta, possui um dos mais altos teores de vitamina C (600mg/100g de fruta), superada apenas pela acerola (GONZAGA NETO, 2007).

A produção nacional de uva é de cerca de 1,4 milhões de toneladas/ano e o estado do Rio Grande do Sul é o estado com a maior produção de uva. Cerca de 57% da produção brasileira é destinada a produção de sucos, vinhos e derivados. A produção de vinhos, sucos e derivados foi de 579,31 milhões de litros em 2012, sendo que dentre os subprodutos o suco de uva obteve o maior percentual de aumento de produção (27%) em relação ao ano anterior. Níveis consideráveis de compostos fenólicos, incluindo ácidos fenólicos, flavonoides e dentre esses antocianinas, estão presentes na uva, e estão relacionados com a prevenção de alguns tipos de câncer, diabetes, obesidade, aterosclerose (DAL MAGRO et al., 2016; EMBRAPA, 2012).

A vitamina C é estável na forma seca, porém quando em solução, como em sucos e néctares, fica muito sensível a luz, ao oxigênio e a temperatura. Caju e goiaba apresentam composição complexa, com alto teores de ácido ascórbico e substâncias fenólicas, que uma vez em processo de oxidação são responsáveis pela alta perecibilidade através da formação de substâncias que causam o escurecimento do suco e a formação de aromas e sabores estranhos. (MAIA, MONTEIRO & MAGALHÃES, 2001).

O teor de compostos fenólicos em sucos de uva é afetado pelas condições de cultura, espécie da uva utilizada para a produção do suco, condições pós colheita, entre outros fatores. Esses compostos são termolábeis, fotossensíveis, sujeitos a degradação durante processamento

e armazenamento do suco de uva, afetando parâmetros sensoriais como a cor do suco, que é dependente das antocianinas (LAMBRI et al., 2015).

Os métodos atualmente utilizados para o padrão de identidade e qualidade do néctar de caju e goiaba são sólidos solúveis, acidez total, açúcares totais, pH e ácido ascórbico e estão descritos pela AOAC (Association of Official Analytical Chemists) e, em geral, utilizam reagentes tóxicos, levando risco ao analista e também de contaminação ambiental, além de serem laboriosos e demorados para conclusão e obtenção de resultados. Algumas análises são titulométricas, como as de açúcares totais, acidez total e ácido ascórbico, e por isso apresentam alta dependência do analista para obtenção de boa precisão nos resultados. A determinação dos compostos fenólicos presentes no suco de uva pode ser realizada por diferentes metodologias, como espectrofotométricas, para determinação de antocianinas totais por diferencial de pH e Folin-Ciocalteu para determinação da concentração total de compostos fenólicos, e cromatográficas que identificam os fenólicos individuais e utilizam além de reagentes tóxicos, equipamentos caros e específicos que exigem treinamento do analista e apresentam o desafio de manter a estabilidade desses compostos durante as etapas de preparo de amostra e procedimento analítico (LORRAIN et al., 2013; BRASIL, 2003; AOAC, 2006).

A análise por espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) e médio (MIR) têm sido aplicadas como métodos de controle de qualidade em diferentes tipos de produtos alimentícios e agrícolas devido ao seu baixo custo e reduzido tempo de análise. Essas técnicas também apresentam vantagem de não necessitarem de preparo de amostra, além de analisar vários parâmetros simultaneamente sem geração de resíduos químicos, sendo assim boas alternativas para substituição de métodos tradicionais utilizados no controle de qualidade de bebidas (ESCUREDO et. al., 2013; BURNS & CIURCZAK, 2007).

Esse trabalho teve como objetivo aplicar análises espectroscópicas (MIR e NIR) em conjunto com a quimiometria para analisar diferentes parâmetros de qualidade em néctares de caju e goiaba e compostos bioativos em sucos de uva.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Produção de frutas

Frutas são constituintes essenciais da nutrição humana, são altamente recomendáveis por serem saudáveis e ricas em vitaminas e nutrientes essenciais. No mundo, mais de 600 milhões de toneladas de frutas são produzidos todos os anos. A Ásia é o continente com a maior produção mundial, a China- maior país produtor- produz por ano cerca de 135 milhões de toneladas de frutos (POMMER & BARBOSA, 2009).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas, com cerca de 2,5 milhões de hectares dedicadas a fruticultura (cerca de 1,5% do total da área agricultável do território brasileiro), em 2013 o país produziu cerca de 43,6 milhões de toneladas de frutas. Em um período de 14 anos, o setor de produção de frutas frescas brasileira aumentou 30%, o que confirma o aumento da importância econômica desta atividade. O setor de frutas apresenta um grande potencial empregador e por consequência de gerar renda, a fruticultura brasileira gera cerca de 5 milhões de postos de trabalho. Todos esses aspectos garantem à fruticultura um importante papel econômico nacional (IBRAF, 2016).

Evidências dos benefícios a saúde gerados pelo consumo de frutas e vegetais vêm sido alvo de pesquisa na comunidade científica por anos, várias pesquisas concluíram a existência de uma correlação entre a frequência do consumo de frutas e vegetais com a prevenção de câncer, de doenças coronárias, mais recentemente com a prevenção da catarata e hipertensão. Essas evidências juntamente com a nova demanda dos consumidores por alimentos saudáveis, sem conservantes e funcionais tem alavancado o consumo de frutas (VAN DUYN & PIVONKA, 2000).

Por outro lado, populações de diferentes países ainda registram consumo de frutas e vegetais abaixo do recomendado pela World Health Survey (400g/dia). No Brasil, cerca de 55% das pessoas ainda consomem menos que 400g de frutas e vegetais por dia, o baixo consumo desses alimentos aumenta a chance de o organismo apresentar doenças como diabetes tipo 2, obesidade, câncer (pulmão, estômago, colón, pâncreas, boca) e hipertensão (HALL et al. 2009).

No intuito de aumentar o consumo diário de frutas muitos consumidores têm buscado o consumo de subprodutos que ainda mantenham as características benéficas das frutas in natura, tais como, sucos e bebidas, setor que têm apresentado tendência de crescimento mundial.

2.2. Produção de goiaba

O Brasil apresenta imensas áreas de clima e solo favoráveis à produção comercial da goiabeira (aproximadamente 345 mil toneladas/ano), sendo esse aspecto importante, não apenas

pelo valor nutritivo da fruta, mas também pela perspectiva que representa no incremento da produção agrícola, na ampliação da atividade industrial e no potencial de exportação (IBGE, 2012b).

O fruto da goiabeira é produzido mundialmente (América do Sul, Ásia, Europa e África) com importância sustentada tanto pelo seu alto consumo quanto pelas suas múltiplas formas de emprego nas indústrias, como na produção de doces, sucos, purês, néctar, compota, sorvete, entre outros produtos (ZHANG et al., 2016).

A goiaba passa a ser ainda mais apreciada por consumidores que seguem a tendência mundial de busca por vida mais saudável – conceito que alia o consumo de alimentos funcionais, como as frutas, com a prática regular de exercício físico- por apresentar um alto teor de vitamina C, além de minerais, fibras e compostos antioxidantes como carotenoides (GONZAGA NETO, 2007).

2.3. Produção de caju

Considerada uma das mais importantes espécies cultivadas das regiões tropicais, o cajueiro ocupa, no mundo, uma área estimada em 3,39 milhões de hectares. No Brasil, a cajucultura mobiliza cerca de 280 mil pessoas e possui uma área cultivada de 779.000 hectares, proporcionando uma produção de aproximadamente 291,3 mil toneladas de castanha e 2 milhões de tonelada de pedúnculo por ano. Distribuída em várias regiões do país, concentra-se na região Nordeste, que responde por 94% da produção nacional, sendo os estados do Ceará, Rio Grande do Norte e Piauí os maiores produtores (IBGE, 2012a).

Além do aspecto econômico, os produtos derivados do caju apresentam elevada importância alimentar, verificando-se um expressivo aumento no consumo, em particular na região Sudeste, tanto no fruto “in natura” como na forma de 30 subprodutos, dos quais se destacam o suco concentrado, puro, clarificado e pronto para beber, um dos produtos mais vendidos no Brasil, além de doces e refrigerantes (DE OLIVEIRA, 2008). O valor nutricional do caju também é bastante relevante, pelo seu alto teor de vitamina C (aproximadamente 261mg/100 mL), um bom conteúdo de açúcares, sendo ainda uma fonte regular de cálcio e fósforo (SOUZA FILHO et al., 2002).

2.4. Produção de uva

A uva é um fruto comestível tipo baga, de formato, tamanho, cor, consistência e aroma variáveis. É uma fruta do tipo não climatérica, ou seja, não amadurece após a colheita. A planta responsável pela produção de uvas é a videira e comercialmente são classificadas em: finas

(cultivares de *Vitis vinífera L.*) - destinadas a produção de vinho- e as rústicas (cultivares Americanas, *V. labrusca* e *V. bourguina*) - destinadas a produção de sucos, doces, etc. (SEBRAE, 2016).

A produção de uvas ocupa cerca de 81mil hectares do território brasileiro, os estados que registram a maior produção são: o estado do Rio Grande do Sul (840 milhões de quilos) e o estado do Pernambuco (224 milhões de quilos) (IBGE, 2012).

Grande parte da produção de uva nacional destina-se a fabricação de vinho, outra parte é destinada ao processamento de suco integral e/ou concentrado. A produção de suco de uva integral é de cerca de 32 milhões de litros por ano, esse suco é muito apreciado devido a facilidade de sua elaboração e boas características organolépticas.

3. SUBPRODUTOS DAS FRUTAS

3.1. Néctar e suco

Néctar é a bebida não fermentada, obtida da dissolução, em água potável, da parte comestível da fruta e açúcares, destinado ao consumo direto, podendo ser adicionado de ácidos. Para a avaliação de néctares, incluindo de caju e goiaba, a legislação brasileira vigente exige a realização das análises de acidez total, açúcares totais, sólidos solúveis e teor de ácido ascórbico, obedecendo as características de composição descritas na Tabela 1. Tais parâmetros buscam garantir a proporcionalidade dentre os ingredientes do suco, por exemplo, a quantidade mínima de polpa de fruta utilizada para a fabricação do néctar, além das características químicas, físicas e organolépticas da fruta que compõe o produto (BRASIL, 2003).

Tabela 1. Padrão de identidade e qualidade para néctares de caju e goiaba.

Análises	Caju*	Goiaba*
Sólidos solúveis (°Brix)	10,00	10,00
Acidez total, em equivalente ácido cítrico (g/100g)	0,12	0,10
Açúcares totais (g/100g)	7,00	7,00
Ácido ascórbico (mg/100g)	15,00	14,00

*Expresso em valores mínimos (Fonte: BRASIL, 2003).

O mercado brasileiro tem acompanhado a tendência mundial no aumento do consumo de bebidas saudáveis, convenientes e saborosas. Segundo a Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e de Bebidas Não Alcoólicas, em 2008 somente o setor de sucos e néctares de frutas prontos para beber faturou US\$ 1,9 bilhão com a venda de 476 milhões de litros, isso representa aumento de 11% tanto da receita quanto do volume de 2007 para 2008. O consumo de néctares, em especial, vem crescendo a taxas significativamente maiores que as do suco, isso

se deve ao fato de que muitos consumidores não sabem diferenciar néctar de suco no momento da escolha, além do preço do néctar ser inferior ao do suco. (PIRILLO & SABIO, 2009; BRASIL, 1997).

Suco é definido como a bebida não fermentada, não concentrada e não diluída, destinada ao consumo, obtido de fruta sã e madura, ou parte do vegetal de origem, por processo tecnológico adequado, submetido a tratamento que assegure sua apresentação e conservação até o consumo. Para os sucos designados como ‘integral’ é vetada a adição de açúcar (FERRAREZI et al., 2010).

O hábito do consumo de sucos de frutas e hortaliças processados tem aumentado, motivado pela falta de tempo da população em preparar suco das frutas “*in natura*”, pela praticidade oferecida pelos produtos, substituição ao consumo de bebidas carbonatadas devido ao seu valor nutricional e a preocupação com o consumo de alimentos mais saudáveis. O consumo de suco tem sido impulsionado pelo aumento da procura por alimentos saudáveis e funcionais. O suco integral de uva reflete essa tendência mundial, nos anos de 2001-2013 a produção de suco integral de uva cresceu de 12,1 milhões de litros para 72 milhões de litros somente no estado do Rio Grande do Sul, estado que mais produz uvas no Brasil. No ano de 2014 já era o segundo derivado de uva mais consumido em território nacional. No mundo, Brasil e Estados Unidos são os dois países que apresentam a maior produção e consumo de suco de uva (MELLO, 2013; GOMES, 2014; OIV, 2011, MATSUURA & ROLIM, 2002).

4. QUALIDADE NUTRICIONAL DE NÉCTAR E SUCO DE FRUTAS

As frutas e os vegetais, em geral, apresentam baixos teores em calorias, são ricos em carboidratos, fibras e não contém colesterol; são fontes de vitaminas (principalmente a vitamina C) e minerais (como o potássio). Apresentam também grandes quantidades de compostos antioxidantes como carotenoides e flavonoides. O valor nutricional de frutas e vegetais está relacionado com diversos fatores, como por exemplo, as espécies, os cultivares e a maturidade. Devido às suas propriedades, o consumo de frutas e vegetais está associado à redução do risco de doenças graves, retarda os distúrbios relacionados com o envelhecimento, entre outras funções (VINCENTE et al., 2014).

O consumo diário de frutas e vegetais *in natura* ainda é baixo, apesar da orientação dietética indicar consumir 5 a 10 porções por dia (VINCENTE et al., 2014). A população dá preferência ao consumo de alimentos produzidos a partir dessas frutas e vegetais, como sucos integrais, néctares, polpas congeladas, doces, geléias, entre outros. Assim como a qualidade nutricional das frutas e vegetais depende de diversas características intrínsecas ao vegetal, a

qualidade nutricional dos produtos citados anteriormente depende do tipo de fruta ou vegetal utilizado para sua produção, tipo de processamento aplicado (aquecimento, congelamento, ou adição de conservantes, por exemplo) e tipo de produto avaliado.

O suco integral de fruta apresenta teor em compostos bioativos similar ao do fruto de que ele é proveniente. Por outro lado, néctares são produzidos a partir da diluição da polpa ou do suco da fruta selecionada, o que leva a uma diluição da quantidade de compostos bioativos para esse tipo de produto. O néctar de caju deve apresentar um mínimo de 15% de polpa ou suco de caju na sua composição, enquanto o néctar de goiaba deve apresentar um mínimo de 35% (BRASIL, 2003).

Estudos recentes ressaltam a importância de se avaliar o valor nutricional dos alimentos, a fim de se conhecer sua contribuição no suprimento da recomendação diária de nutrientes, bem como a influência do processamento e das tecnologias de preservação na sua composição química (ZHANG & HAMAUZU, 2004).

No entanto, a legislação brasileira não prevê itens que avaliem ou garantam a presença de compostos bioativos em subprodutos de frutas, néctares de caju e goiaba (Instrução Normativa nº 12, de 4 de setembro de 2003) e suco integral de uva (Portaria nº 259, de 31 de maio de 2010), por exemplo; o único composto bioativo citado nos padrões de identidade e qualidade, no caso de néctares de caju e goiaba, é o teor de ácido ascórbico, o que não demonstra o potencial bioativo global dos produtos em questão. A adição de valores mínimos para compostos fenólicos, antocianinas, carotenóides e outros compostos bioativos nos parâmetros de identidade e qualidade dos subprodutos de fruta poderia ser um atrativo para os consumidores aumentarem o consumo desses produtos.

4.1. Vitamina C

Vitamina C (ou ácido ascórbico) é um nutriente essencial na dieta humana para a manutenção de um bom funcionamento do metabolismo (Figura 1). Essa vitamina pode ser facilmente encontrada em frutas e vegetais tais como: frutas cítricas, tomates, goiaba, pimentão vermelho e verde e brócolis. O consumo recomendado diário para homens adultos é de 110mg/dia e para mulheres é de 95mg/dia. Deficiência no consumo dessa vitamina pode acarretar na ocorrência de escorbuto, que é uma doença caracterizada por inflamação da gengiva, dor nas extremidades do corpo e hemorragia (DAUD et al., 2016; EFSA, 2013).

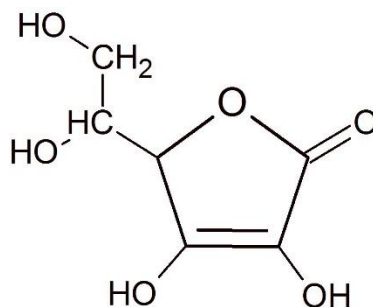


Figura 1.Esquema estrutural da vitamina C (Fonte: FLORENCIO, 2014)

Vitamina C também apresenta efeitos antioxidantes comprovados tanto *in vitro* quanto em estudos com animais. Isso confere características anticarcinogênicas, anti-inflamatório, ação benéfica no caso de doenças crônicas- asma, osteoporose, hipertensão- e redução do estresse oxidativo (DAUD et al., 2016).

Tendo em vista a importância do consumo de frutas e vegetais contendo ácido ascórbico, frutas como goiaba e caju que apresentam alto teor de vitamina C, cerca de 600mg/100g e 230mg/100g respectivamente, tem papel fundamental no aporte desse micronutriente, seja pelo seu consumo *in natura* ou pelo consumo de seus subprodutos, como néctares que apresentam vitamina C proveniente das frutas e/ou adicionados. Porém, dissolvida em água, como em bebidas, a vitamina C é muito sensível a degradação pela luz, oxigênio e/ou temperatura, sendo afetado durante processamento. O esquema da oxidação do ácido ascórbico está representado na Figura 2 (MAIA, MONTEIRO & MAGALHÃES, 2001).

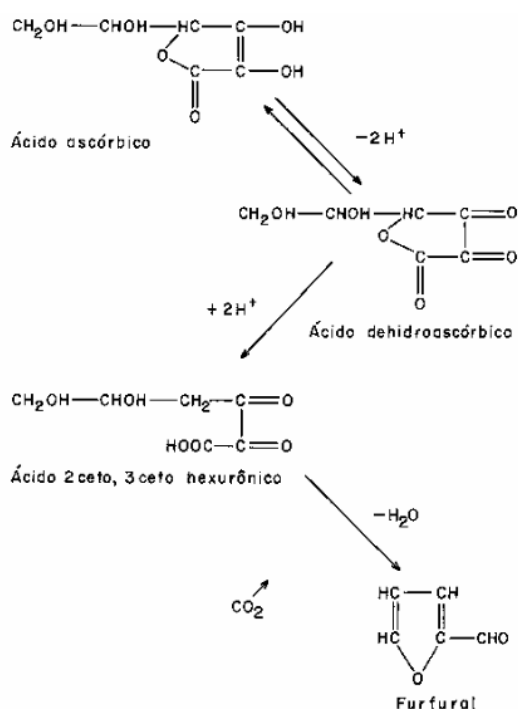


Figura 2.Oxidação do ácido ascórbico (Fonte: OETTERER,2016).

4.2. Compostos fenólicos

Compostos fenólicos são resultados do metabolismo secundário das plantas, atuando no mecanismo de defesa contra raios ultravioletas. Formam um grupo de mais de oito mil estruturas conhecidas, dessas algumas estão presentes na dieta humana em teores significativos. A estrutura básica dos polifenóis consiste em um anel aromático com um ou mais grupos de hidroxila e frequentemente conjugada com açúcares (GOLLUCKE & TAVARES, 2007).

Esta classe de compostos apresenta uma grande variedade e divide-se em: flavonoides (polifenóis) e não-flavonoides (fenóis simples ou ácidos). Os flavonoides encontram-se amplamente distribuídos em frutas e vegetais em muitas formas, como: flavonóis, flavonas, flavanonas, catequina (Figura 3A), antocianinas (Figura 3B), isoflavonas e chalconas. Já na classe de não- flavonoides estão os ácidos hidroxicinâmicos e hidrobenzóicos, os principais fenólicos derivados dos ácidos hidroxicinâmicos são os ácidos cumárico, cafeico e ferúlico, dentre os derivados dos ácidos hidrobenzóicos estão os ácidos salicílico, gálico, elágico, protocatéico e vanílico (SILVA et al., 2010).

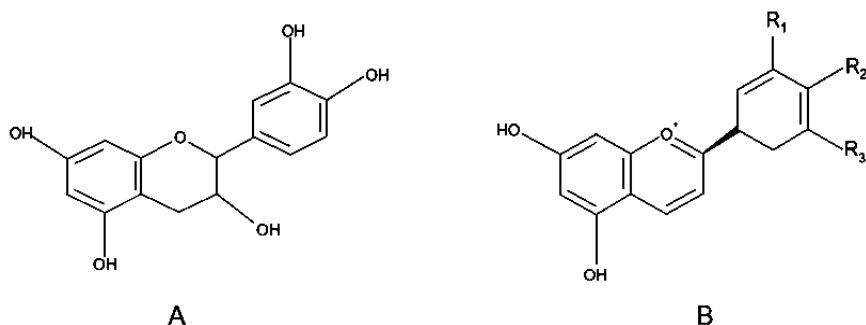


Figura 3. Estrutura química das catequinas (A) e antocianidinas (B) (Fonte: SILVA et al., 2010).

Dentre todas as classes de compostos fenólicos ocorrentes na natureza as antocianinas fazem parte do grupo dos mais presentes nos alimentos. Até o momento 600 tipos de antocianinas são conhecidas, dentre essas merece destaque as antocianidinas que costumam estar ligadas a açúcares ou acilados por um outro fenólico ou ácido alifático. Dentre os 23 tipos conhecidos de antocianidinas somente seis são mais comuns em plantas: pelargonidina, cianidina, peonidina, delphinidina, petunidina e malvidina (Figura 4) (GIULIANI et al., 2016).

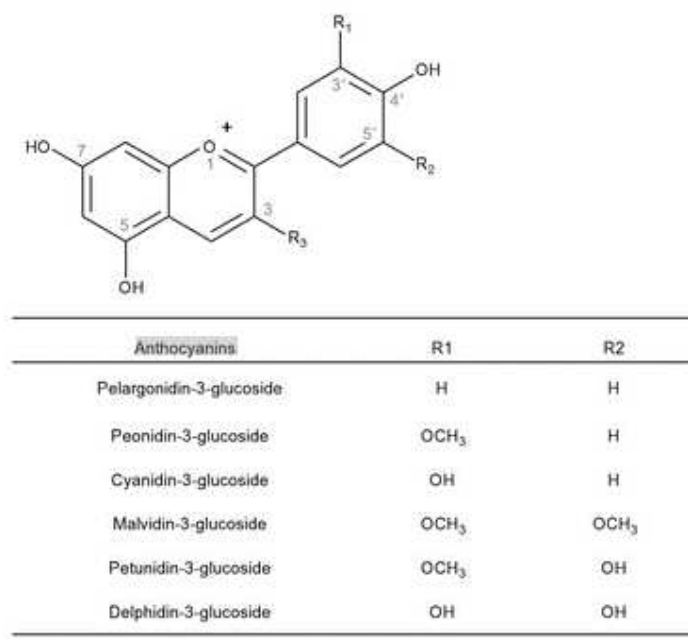


Figura 4. Estrutura química das seis antocianinas mais comuns na dieta humana (Fonte: GIULIANI et al., 2016).

Dentre os compostos fenólicos presentes na uva destacam-se flavan-3-ols, flavonóis, ácidos fenólicos, resveratrol e antocianinas. Juntos os compostos fenólicos são o terceiro maior constituinte de uvas e derivados, perdendo apenas para carboidratos e ácidos orgânicos. As antocianinas dos tipos cianidina-3,5-diglicosídeo e a malvidina-3,5-diglicosídeo são majoritárias em uvas do tipo *Vitis labrusca* L. (uvas tipo: Isabel, Concord, Bordo e Niágara) que representam cerca de 80% das uvas processadas na produção de suco de uva (TOALDO et al., 2015)

A concentração de compostos fenólicos em derivados da uva, como sucos e vinhos, é diretamente relacionada com o método de extração, contato com casca e sementes, além de fatores geográficos, o modo de cultivo, clima, solo, exposição à luz e o grau de maturação das uvas utilizadas no processamento. Além disso, por serem compostos fotossensíveis, sujeitos a oxidação, termolábeis, com estabilidade dependente do pH, o processamento utilizado durante a produção de sucos é outro fator determinante para a quantidade final desses compostos (GOLLUCKE & TAVARES, 2007).

Muitas pesquisas têm sido desenvolvidas nas últimas décadas para determinar os efeitos dos compostos fenólicos na saúde humana, essas pesquisas apontam propriedades antioxidantes, anti-inflamatório e antimicrobiana. Sendo assim esses compostos chamam atenção por poderem atuar na prevenção e como agente terapêutico em doenças crônicas, por

reduzirem o estresse oxidativo das células, apresentam características anticarcinogênicas, além de diminuir o risco de doenças cardiovasculares (GIOXARI et al., 2016).

5. MÉTODOS TRADICIONAIS PARA ANÁLISE DE PIQ (PADRÃO DE IDENTIDADE E QUALIDADE) EM NÉCTAR E COMPOSTOS FENÓLICOS EM SUCOS: CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL E PERIGOS ANALÍTICOS

A determinação de açúcares totais através de métodos clássicos são na sua maioria fundamentados em redução de íons ou desidratação dos açúcares e para tal, fazem uso de soluções alcalinas (Solução de Fehling e hidróxido de sódio 20 e 40%, por exemplo) ou ácidos concentrados – substâncias tóxicas e difícil de serem descartadas apropriadamente –, além de serem laboriosas com várias etapas, algumas com duração de 2 horas, que no caso de métodos titulométricos levam a resultados relativamente grosseiros, dependendo da prática do analista (SILVA et al., 2003; HORWITZ, 2006). Além da análise de açúcares totais, a determinação da acidez também aplica soluções básicas tóxicas (hidróxido de sódio).

As análises empregadas para conhecimento do teor de vitamina C em produtos como néctar de frutas são comumente realizadas com emprego de métodos tradicionais, como o método descrito pela AOAC (2006) para a quantificação de ácido ascórbico. Esse procedimento faz uso de reagente tóxico, como o 2,6-diclorofenolindofenol (DFI), que representa risco de contaminação ambiental por se tratar de um agente oxidante, assim como apresenta risco de contaminação para o analista, sendo necessário o uso de óculos de proteção, luvas e máscara, pois o composto pode causar irritação na pele, no sistema respiratório e nos olhos. Além dos cuidados em relação ao DFI, a determinação de ácido ascórbico deve ser realizada na ausência de luz ou em luz quase inexistente para evitar a oxidação do ácido ascórbico e a redução do DFI antes da reação entre os dois ocorrer. Ademais, para se obter os resultados de todas as análises exigidas pelo PIQ, através de técnicas e metodologias distintas, é necessária uma alta demanda de tempo.

Dada a importância dos compostos fenólicos, incluindo antocianinas na dieta humana é cada vez mais interessante o desenvolvimento de métodos que nos permitam saber a quantidade ingerida em alimentos costumeiramente consumidos. Muitos trabalhos de pesquisa têm apresentado propostas de métodos para possibilitar o conhecimento dos teores de bioativos em alimentos. No geral, para a determinação do teor de compostos fenólicos e de antocianinas totais normalmente a amostra passa por uma extração inicial que geralmente é feita com solvente orgânicos polares (ex.: etanol, metanol e acetona) acidificados ou não (ex.: ácido trifluoracético, ácido acético). Os solventes utilizados nessa etapa apresentam diferentes níveis

de toxicidade que podem causar risco ao manipulador e gerar resíduos tóxicos que necessitarão de tratamento adequado. Seguindo a etapa de extração, a determinação dos compostos é geralmente feita em espectrofotômetro ou em Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (HPLC), equipamentos que exigem grau de treinamento por parte do manipulador além de um alto investimento na aquisição de equipamentos (GIULIANI et al., 2016; SHIBAMOTO & BJELDANES, 2014).

Para a realização de cada análise é, portanto, necessário a aplicação de uma nova metodologia e/ou técnica analítica, por vezes, em diferentes equipamentos, que necessitam de diferentes procedimentos para preparo de amostra, o que demanda tempo para obtenção de todos os resultados necessários para a certificação do PIQ em néctares e das características bioativas em sucos.

6. MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS (NIR E MIR) COMO ALTERNATIVAS PARA PIQ E COMPOSTOS FENÓLICOS EM SUCOS E NÉCTARES

6.1. Espectroscopia no infravermelho e aplicação em alimentos

A radiação na região do infravermelho altera os níveis vibracionais, quando absorvida por uma molécula orgânica. Esse processo é quantizado e o espectro vibracional resultante aparece como uma série de bandas que são características de determinados grupos de átomos que permitem ao analista, através do estudo detalhado do espectro e consulta de tabelas de informações estruturais, realizar a identificação de compostos (SILVERSTEIN, 2006).

A região espectral que corresponde ao infravermelho compreende a radiação com números de onda no intervalo de aproximadamente 12800 a 10 cm^{-1} . Do ponto de vista da aplicação como dos instrumentos empregados, o espectro infravermelho é dividido em infravermelho próximo (NIR – do inglês, Near Infrared), médio (MIR – do inglês, Middle Infrared) e distante (FIR – do inglês, Far Infrared), como pode ser observado na Tabela 2 (SKOOG, 2002).

Tabela 2. Regiões espectrais no infravermelho.

Região no infravermelho	Intervalos de número de onda (ν) - (cm^{-1})	Intervalos de comprimento de onda (λ) - (nm)
Próximo (NIR)	14000 a 4000	750 a 2500
Médio (MIR)	4000 a 400	2500 a 25000
Distante (FIR)	400 a 100	25×10^3 a 100×10^3

De maneira geral, com base na relação estabelecida entre energia e comprimento de onda pelo efeito fotoelétrico, NIR permite uma melhor penetração da radiação na amostra por apresentar maior energia em comparação ao MIR, e por consequência obtém-se um espectro mais sobrecarregado de combinações, sobreposições de bandas e sobretons. Porém, esse sobrecarregamento de informações dificulta a interpretação dos espectros, quando comparado com a interpretação dos dados obtidos por MIR, que apresenta em seu espectro informações das vibrações fundamentais (BELLON-MAUREL & MCBRATNEY, 2011; RIBEIRO, 2012; SHIROMA & RODRIGUES-SANOIA, 2009; DE OLIVEIRA et al., 2014).

Métodos espectroscópicos associados a métodos de análise multivariada-quimiometria-fornecem resultados rápidos e confiáveis para quantificação e qualificação de diversas amostras, ademais é uma técnica não invasiva, não destrutiva, com manipulação de amostra mínima e de baixo custo já que dispensa reagentes específicos ou uso de materiais para preparo de amostra (MORGANO et al., 2005).

Por conta dessas características a espectroscopia no infravermelho próximo e médio (NIR e MIR) vem sendo aplicado com sucesso no controle de qualidade de diversos produtos agroalimentares, tanto de origem animal quanto de origem vegetal, fornecendo informações analíticas sobre constituintes dos alimentos exigidos pelo Ministério da Agricultura, como micro-organismos, gorduras, fibra, matéria seca, umidade, e outros não obrigatórios, mas de interesse nutricional como valores energéticos, capacidade antioxidante, aminoácidos (BORGES et al., 2001; CHEN et al., 2012; SHIROMA & RODRIGUES-SANOIA, 2009; DE OLIVEIRA et al., 2014).

Diversos estudos foram realizados aplicando as espectroscopias NIR e MIR para avaliar atributos de qualidade, como sólidos solúveis, acidez, teor de ácido ascórbico, concentração de etanol, entre outros, em maçã, maracujá, goiaba e peras (LIU, FU, CHENG, 2007; MANIWARA et al., 2014; MENDOZA et al., 2011; PAZ et al., 2008, GUTIÉRREZ DEVIA et al., 2015; BAG, SRIVASTAV, MISHRA, 2011; MUSINGARABWI et al., 2016; NOGALES-BUENO et al., 2015a; NOGALES-BUENO et al., 2015b.) e subprodutos de frutas, como néctares e sucos de frutas como tomate (determinação de açúcares redutores, sólidos solúveis, viscosidade, entre outros), uva (diferenciação de variedades) e *blend* de uva (determinação da concentração de uva concórdia em um *blend* de uva) e maçã (comparação entre tratamento térmico e diferentes variedades). Esses estudos têm sido confirmativos na possibilidade do uso de técnicas espectroscópicas para a determinação dos parâmetros estudados por eles, demonstrando a qualidade, versatilidade e aplicabilidade dessas técnicas na

área de alimentos (AYVAZ et al., 2016; SNYDER et al., 2014; REID et al., 2005; COZZOLINO et al., 2011a; COZZOLINO et al., 2011b).

Para a interpretação dos dados gerados pelas análises de NIR e/ou MIR é necessário o uso de ferramentas quimiométricas. Quimiometria pode ser definida como uma disciplina da química que faz uso de ferramentas matemáticas, estatísticas e lógicas para extrair o máximo de informações possível dos dados de um experimento (MARINI, 2016).

Com o advento de novas tecnologias a quantidade de informação adquirida com cada experimento aumentou vertiginosamente e no âmbito de organizar e analisar uma massa de dados a quimiometria torna-se útil em diversos campos de estudo, tais como a astrofísica, a física de partículas, as geociências, as ciências sociais, a biologia molecular, a genética molecular, a neurociência, a meteorologia e ciências ambientais (FERREIRA, 2015).

Para uma boa análise de dados é importante seguir um conjunto de etapas, que inclui a organização e preparação dos dados seguida de uma análise exploratória, e se for interessante, construção de um modelo de classificação (qualitativo) ou de regressão (quantitativo) (FERREIRA, 2015).

A análise de componentes principais (Principal Component Analysis-PCA) é a análise exploratória mais conhecida na quimiometria e é uma formulação matemática que possibilita a redução da dimensão de dados, assim permitindo a identificação de padrões no conjunto de dados de forma que seja possível destacar as suas semelhanças e diferenças. Uma vez que esses padrões são encontrados podem ser suprimidos à uma componente principal (Principal Component- PC) (SANTO, 2012).

Dentre os métodos usados para a regressão multivariada dos dados encontram-se: Mínimos Quadrados Clássicos (CLS), Mínimos Quadrados Inverso (ILS), Regressão de Componentes Principais (PCR), Mínimos Quadrados Parciais (PLS), Regressão Linear Múltipla (MLR), sendo o método PLS o mais utilizado graças a sua robustez, ou seja, uma vez determinados os parâmetros do modelo não se alteram de maneira significativa quando novas amostras são acrescentadas ou retiradas do conjunto utilizado para a calibração, tornando o método adequado para aplicações de fim industrial onde os padrões nem sempre se mantêm rigorosamente iguais durante o processamento (LEITÃO, 2005; PARREIRA, 2003).

Para avaliação da performance dos modelos de regressão como o PLS vários parâmetros podem ser empregados, dentre os mais utilizados encontram-se: o PRESS (Prediction Residual Error Sum of Squares), o RMSEC (Root Mean Square Error of Calibration) e o RMSEP (Root Mean Square Error of Calibration) - Equações 1,2 e 3 respectivamente. A minimização desses

valores afirma a qualidade e confiabilidade do modelo construído e são essenciais para mensurar a sua performance de predição.

$$\text{PRESS} = \sum (y_{\text{previsto}} - y_{\text{medido}})^2 \quad (1)$$

$$\text{RMSEC} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (y_{\text{previsto}} - y_{\text{medido}})^2}{N}} \quad (2)$$

$$\text{RMSEP} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^k (y_{\text{previsto}} - y_{\text{medido}})^2}{k}} \quad (3)$$

Onde: y_{previsto} é o valor previsto pelo modelo; y_{medido} é o valor medido para a amostra; N é o número de amostras utilizado no conjunto de calibração e k é o número de amostras usadas no conjunto de validação externa.

A regressão PLS, assim como os parâmetros utilizados para avaliar a performance do modelo final, podem ser obtidos através do uso de diferentes softwares como, MatLab, Excel (com XLSTAT), The Unscrambler, Statistica, entre outros. A aplicabilidade desse tipo de regressão multivariada é vasta em alimentos. Viegas et al. (2016) utilizou a regressão multivariada PLS em dados obtidos por NIR para a determinação da concentração total de compostos fenólicos e antocianinas em jambo-vermelho, obtendo parâmetros excelentes em relação a performance dos modelos construídos; Fernández-Espinosa (2016) também fez uso do NIR (on-line) com aplicação do PLS, com sucesso, para construção de modelos de predição dos parâmetros de qualidade (acidez total, lipídios totais e umidade) de três espécies de azeitonas intactas; De Souza et al. (2015), obteve dados pelo MIR que foram usados para a construção de modelos PLS que detectam a adulteração de óleo extra virgem de sementes de linhaça com baixos valores de erro; Romera-Fernández et al. (2012) utilizou MIR para construção de um modelo PLS que determinava a concentração de antocianinas em vinho.

Todos esses estudos recentes demonstraram que o método de regressão PLS aplicado em dados obtidos através de técnicas espectroscópicas NIR e/ou MIR figura como uma importante opção de análise eficiente, rápida e quimicamente verde em alimentos, podendo ser uma possibilidade real de substituto a várias técnicas tradicionalmente utilizadas na análise de alimentos, e significam um grande avanço nesse campo.

Diante disso, esse estudo teve como objetivo a utilização de técnicas espectroscópicas, NIR e/ou MIR, como método alternativo às análises químicas tradicionais aplicadas para o

controle dos parâmetros de qualidade dos néctares de caju e goiaba e para a determinação de compostos bioativos em suco de uva integral.

Para tanto, foram avaliados os Parâmetros de Identidade e Qualidade (PIQ) de amostras de néctar de caju e goiaba- acidez total titulável, açúcares totais, sólidos solúveis, pH e ácido ascórbico- com o uso de métodos descritos pela AOAC (2005). As mesmas amostras foram analisados por NIR para a obtenção de espectros, em seguida, para análise dos dados foram realizados pré tratamentos- centrar na média, MSC (Multiplicative Scatter Correction)- e foram determinados modelos PLS para cada parâmetro analisado.

Ainda foram analisadas amostras de suco de uva para a determinação dos teores de polifenóis e antocianinas totais com uso de metodologias descritas pela AOAC (2005) e por Guisti e Wrolstad (2001). Foram obtidos espectros nas faixas do infravermelho próximo e médio para cada amostra de suco de uva, esses espectros foram pré tratados matematicamente- centrado na média, SNV (Standard Normal Variation)- e então foi determinado um modelo NIR e MIR para cada parâmetro analisado.

7. ARTIGO I

Quality control of cashew apple and guava nectar by near infrared spectroscopy.

Elem T. S Caramês^{a,*}, Priscila D. Alamar^a, Ronei J. Poppi^b, Juliana A. Lima Pallone^a

^a*Department of Food Science, School of Food Engineering, University of Campinas, Monteiro Lobato Street, 80, Zip Code: 13083-862, Campinas, São Paulo, Brazil.*

^b*Institute of Chemistry, University of Campinas, P.O. Box 6154, 13083-970 Campinas, S.P, Brazil.*

Paper submitted to Journal of Food Composition and Analysis

ABSTRACT

The fruit beverage industry is growing, boosted by the pursuit of a healthy lifestyle. In this context, beverages as cashew apple and guava nectar are an important source of ascorbic acid and other bioactive compounds. This article reports a study that aimed at applying near-infrared spectroscopy (NIR) along with multivariate calibration based on partial least squares (PLS) regression for quality control of cashew apple and guava nectars. Total acidity, total sugars, soluble solids, pH, and ascorbic acid contents were analyzed by traditional wet chemical methodologies and NIR. All models presented adequate accuracy for prediction, with coefficient of determination above 0.7, standard errors of calibration (RMSEC), and prediction (RMSEP). Above all, the ascorbic acid models obtained satisfactory accuracy (RMSEP= 4.80 mg/100g for cashew apple and RMSEP= 7.44 mg/100g for guava nectar), thus proving that replacement of traditional methodology by NIR can be viable and recommended since it is faster and environmentally friend.

Keywords: Near infrared; juice; fruit; ascorbic acid.

7.1. Introduction

Brazil is the third biggest fruit producer in the world; being evident its fruit production potential. The production of cashew apple (2 million tons/year) and guava (345 thousand tons/year) is relevant in the Brazilian economy, especially to the agro-industrial sector. These fruits had their consumption boosted by the crescent search for a healthier lifestyle. In this context, the high concentration of vitamin C in cashew apple (230 mg/100g) and guava (600 mg/100g), is a big attractive to consumers. Besides, they represent a good source of antioxidant compounds (eg.: carotenoids), fibers, calcium, sodium, iron and phosphorus (Amorim et al., 2015; IBGE, 2012a; IBGE, 2012b; Wang et al., 2009; Ki Lin et al., 2013; Lemos et al, 2015; Zienlisk, 2014).

These fruits are not only consumed *in natura*, but also widely used in the production of several products, such as jam, soda, and nectar. In particular, the fruit beverages sector has been growing at significant rates. The nectar and fruit juice sector in Brazil earned US\$1.9 billion from the sale of 476 million liters of products, which represented an 11% sales growth in a one-year period (2007-2008). Part of this expansion is related to the fact that nectars, especially cashew apple and guava, are a good source of ascorbic acid and other micronutrients as well as the fruits which they are derived (Lemos et al, 2015; Zienlisk, 2014).

Its relevant knowing that, nectar is an unfermented drink produced by dissolving fruit pulp and sugar in water, intended for direct consumption. Furthermore, it can be added to acids. Several countries have specific legislation for quality pattern of fruit nectar. Mexico, Colombia, Canada and Europe Union specify the analyzes which must be carried out in these products, such as soluble solids, pH, total acidity, and, in some of them, ascorbic acid content. The legislation which regulates this sector in Brazil (2003) demands some parameters to guarantee the safety and quality of nectars, such as total acidity, total sugars, soluble solids and ascorbic acid contains (Table 3). Those are usually done following the official methods that demand the use of toxic reagents, which represent a risk for the operator and toxic waste generation. In addition, the time spent on these analyzes is high and sometimes they require intensive labor (Lemos, 2012; Galusk, Migaszewski & Namieśnik, 2013; Canada, 2013; Mexico, 2009; Colombia, 1991; Spain, 2005).

Table 3. Identity and pattern do cashew apple and guava's nectars according the legislation of Brazil (2003)

Analyzes	Cashew apple*	Guava*
Soluble solids (°Brix)	10,00	10,00
Total acidity, in citric acid equivalent (g/100g)	0,12	0,10
Total sugars (g/100g)	7,00	7,00
Ascorbic acid (mg/100g)	15,00	14,00

*Expressed as minimum values.

Near infrared spectroscopy (NIR) is a non-invasive, non-destructive, and rapid method which has several advantages, such as minimal or no sample preparation, no need of toxic or harmful reagents, no laborious chemical analyzes and experienced laboratory staff, fitting as a green methodology. Several studies have been developed applying this technique to quality control in fruits; such as determination of vitamin C in apples, soluble solid content and acidity in oranges and others citrus fruits, color in strawberries, and sucrose in date fruits (Yuan et al., 2015; Pissard et al., 2013; Ruslan et al., 2012; Sánchez et al., 2012; Mabood et al., 2015).

However, NIR can only be potentially applicable when combined with chemometrics. Different methods of regression are used for calibration, for instance, Least Squares Support Vector Machine (LS-SVM), which was used to calibrate ascorbic acid, total polyphenol, and sugar content in apples; Modified Partial Least Squares (MPLS), which was used to determine color, firmness, soluble solids and titratable acidity; and Partial Least Squares (PLS) which is the most used among the methods mentioned above. The PLS has been particularly successful applied in calibration models for NIR spectroscopy because it uses the y parameter actively in determining the regression factors from spectral data (Sánchez et al., 2012; Pissard et al., 2013; Rodriguez- Sanoa et al. 2001).

Therefore, this study aimed at applying near infrared spectroscopy, in conjunction with chemometrics for the development of PLS calibration models and quality control of cashew apple and guava nectars in the quantification of the parameters required for the Brazilian legislation.

7.2. Material and Methods

7.2.1 Materials

It was acquired 70 samples (for different brands) of guava and cashew apple nectar, each, in local markets of Campinas- SP and Belém- PA, Brazil. The samples were divided in two portions, one for chemical analysis and another to obtain the spectral data. All samples were stored at -18°C until the analysis execution.

7.2.2 *Chemical Analysis*

The parameters analyzed were: acidity, total sugars, soluble solids, pH, and ascorbic acid. All chemical analysis was carried in triplicate and the mean values were used in the sequence of the study.

The acidity of the samples was determined titrimetrically in citric acid equivalent according to the method described by AOAC 942.15. Total sugar contents were measured titrimetrically according to AOAC 923.09. Soluble solids were identified using a refractometer according to AOAC 932.12. The pH was determined using pH meter according to AOAC 981.12 (AOAC, 1998). The ascorbic acid content was identified titrimetrically by reduction of 2,6- dichlorophenol indophenol. This method was described by AOAC 967.21 with adaptation (Benassi and Antunes, 1988; AOAC, 1998).

7.2.3 *NIR spectroscopy*

About 2 grams of each sample was placed into a petri dish, the liquid reflector (Perkin Elmer-Waltham, USA, Part Number L118-0503) was placed on top of the sample and carefully pushed against the glass before scanning. Transflectance measurements were conducted using near infrared reflectance accessory (Perkin Elmer-Waltham, USA, model NIRA) in spectrometer FT-NIR (Perkin Elmer-Waltham, USA, model Spectrum 100N) in a range of 10,000-4,000 cm^{-1} , with 4 cm^{-1} of resolution. All data was obtained in triplicate and the mean was used in subsequent calculations.

7.2.4 *Chemometrics*

The spectra data were processed using the PLS Toolbox for Matlab version 5.2 (The Math Works, 2009; Eigenvector, 2010). The preprocessing data involved Multiplicative Scatter Correction (MSC) to minimize light scattering that could affect the results, first derivative using Savitzky-Golay algorithm with smoothing window of 21 points, and the data were mean centered. Cross-validation was used for the determination of the ideal number of latent variables in all PLS models.

Outliers were detected and excluded based on Student residuals and leverage to improve the quality of the model. To avoid overfitting, the latent variables (LV) were chosen between five and eight.

The spectra were randomly divided into calibration and validation sets, where calibration represented 75% of all samples and validation 25% of the samples.

Partially Least Squares (PLS) regression was the chosen method for model calibration. In order to evaluate the performance of the obtained models, it was measured the coefficient of determination (R^2), the Root Mean Square Error of Prediction (RMSEP), and the Root Mean Square Error of Calibration (RMSEC).

7.3. Results and discussion

7.3.1 Chemical measurements

Acidity, total sugar, soluble solids, pH, and ascorbic acid contents for cashew apple nectar and guava nectar evaluated are shown in Table 4. Range, mean, and relative error for each chemical analyzes are given, between parenthesis are shown the values demanded by the Brazilian legislation. According to the values established by the Brazilian legislation (2003), all samples in this study were within the required standard, with the exception of the ascorbic acid content and soluble solids. The samples that did not reach the established values for total sugar were light. The irregular samples for soluble solids of guava nectar were the light ones, and one of them was not light. When it comes to soluble solids in cashew apple nectar, fourteen samples were irregular, four of them were light (Table 4). The brix scale for determination of soluble solids is applied to pure sucrose solutions. Fruit nectars have other compounds besides sucrose, and they may cause interference in the determination of soluble solids.

Compounds, such as citric acid (used as acidulant in nectars), may be interfering in the samples that present results below the threshold, causing an error in the brix determination (Stevens and Baier, 1939).

Some samples presented ascorbic acid content below the minimum allowed by the Brazilian legislation: six of cashew apple nectar and eleven of guava nectar. Since ascorbic acid is heat-labile and heating is a traditional treatment in processing technologies, pasteurization can be the responsible for those low contents (Gabriel, et al, 2015a). Along with the temperature, other attributes could affect negatively the presence of ascorbic acid in products, such as pH, moisture content, oxygen and metal ion catalysis (Gabriel, et al., 2015b).

Table 4. Determined parameters of cashew apple and guava nectars and the number of samples discording of the Brazilian's legislation.

	Range	Mean $\pm$ SD	NIS
Cashew apple nectar			
Acidity (%)	0.12 – 0.32	0.23 $\pm$ 0.01	0 (<0.12%)
Total Sugars (%)	1.43 – 11.58	8.60 $\pm$ 0.13	4 (<7%)
Soluble Solids ($^{\circ}$ Brix)	2.13 – 12.39	10.33 $\pm$ 0.02	14 (<10 $^{\circ}$ B)
pH	3.24 – 3.87	3.53 $\pm$ 0.01	-
Ascorbic Acid (mg/100g)	8.14 – 114.92	28.06 $\pm$ 1.28	8 (>15 mg/100g)
Guava nectar			
Acidity (%)	0.17 – 0.38	0.29 $\pm$ 0.01	0 (<0.10%)
Total Sugars (%)	1.26 – 9.96	7.38 $\pm$ 0.27	9 (<7%)
Soluble Solids ($^{\circ}$ Brix)	2.19 – 12.78	9.95 $\pm$ 0.02	10 (<10 $^{\circ}$ B)
pH	3.34 – 4.05	3.68 $\pm$ 0.02	-
Ascorbic Acid (mg/100g)	6.41 – 66.68	24.26 $\pm$ 0.93	14 (>14 mg/100g)

SD: Standard deviation.

NIS: Number of Irregular Samples

7.3.2 PLS calibration and prediction models.

Analyzing the raw spectral data (Figures 5A and 5B) for cashew apple and guava nectars it can be noted a great similarity, since both presented high water volume, then, strong water absorption peaks in 6900 cm^{-1} (first overtone by O-H) and 5200 cm^{-1} (O-H combination) (Rodríguez-Sanoa et al., 2001; Xie et al., 2009).

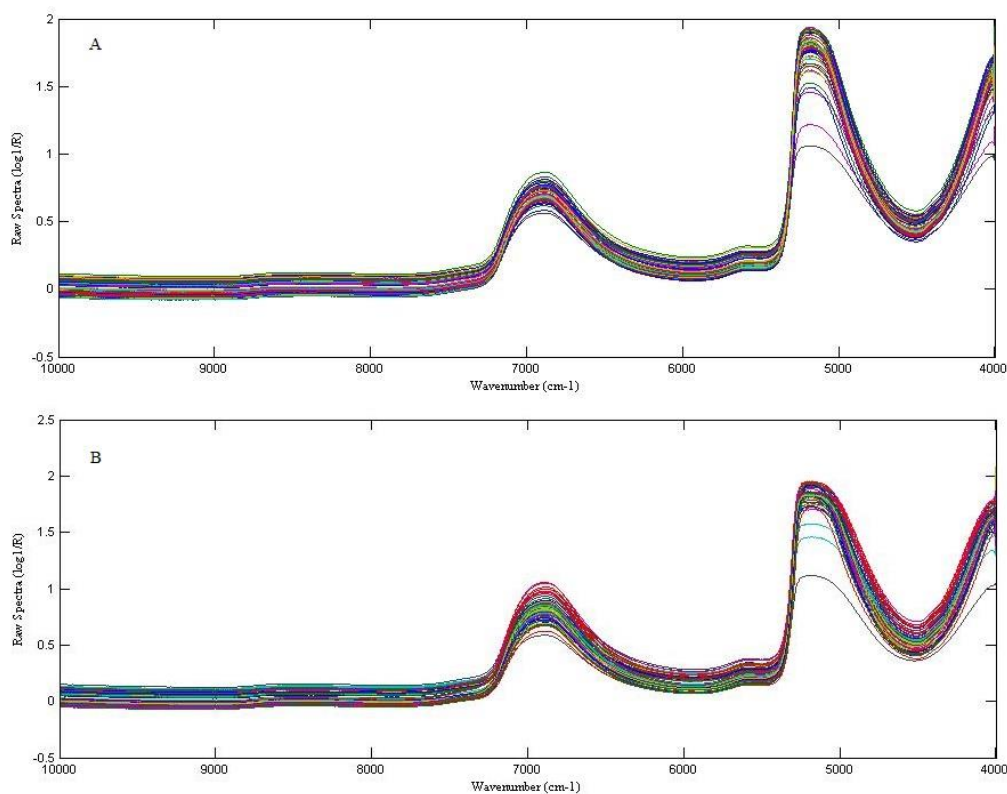


Figure 5. Spectra data obtained to cashew apple (A) and guava juice (B).

Table 5 shows the preprocessing and the wavelength range used in the construction of calibration models. In order to optimize the results obtained by the PLS calibration, the data were preprocessed by applying MSC to correct the light scattering caused by the presence of high water contents and some heterogeneous particles, this preprocessing is normally necessary when the sample presents this characteristic. To reduce the noise and the baseline offset present in spectra data, it was applied the first derivate (with window of 21 points) using the Savitzky-Golay method (Shao & He, 2007; Nicolai et al., 2007).

Afterward, the spectral range was selected. The final part of the spectra data –for all models- was complicating the modeling process, on that account, this part of the spectra has been removed. The same difficulty was faced by Alamar et al. (2016) to build PLS models for assessing the quality of frozen fruit pulps. The initial section of soluble solids and pH models, for both nectars, refers exclusively to the baseline, and it was removed to improve the models quality. In the construction of the ascorbic acid PLS model it was necessary to remove the water band ($\approx 5200\text{cm}^{-1}$). Nectars presented a strong signal in this wavenumber as a result of its composition, and it was negatively affecting the modeling, the same strategy was used by Xie et al. (2009) to create PLS models to quantify sugars in bayberry juice.

Table 5. Preprocessing for spectra data of cashew apple and guava's nectar.

Cashew Apple			Guava	
	Preprocessing	Spectral Range (cm^{-1})	Preprocessing	Spectral Range (cm^{-1})
Acidity		8804-4450		8781-4519
Total sugar	1 st derivative + MSC + Mean Center	10000-4505	1 st derivative + MSC + Mean Center	10000-4505
Soluble solids		8790-4491		8790-4505
pH		8787-4491		8771-4533
Ascorbic acid		10000-5256; 5074-4491		10000-5267; 5044-4491

MSC: Multiplicative Scatter Correction.

All parameters for PLS calibration models are present in Table 6. The acidity models for both nectars (Figures 6A and 6B) presented good coefficients of determination (0.75 and 0.79, respectively) predictive and calibration errors about 0.02%.

Coefficient of determination, RMSEP and RMSEC values obtained in this study were better when compared to the PLS models developed by Bing-fang et al. (2014) which predict total acid in tomato juice (RMSEP=0.103% and RMSEC= 0.133%) and by Ruslan et al. (2012)

that consists in the measurement of titratable acidity in orange juice which achieved $RMSEP=0.25\%$ and $R^2=0.73$.

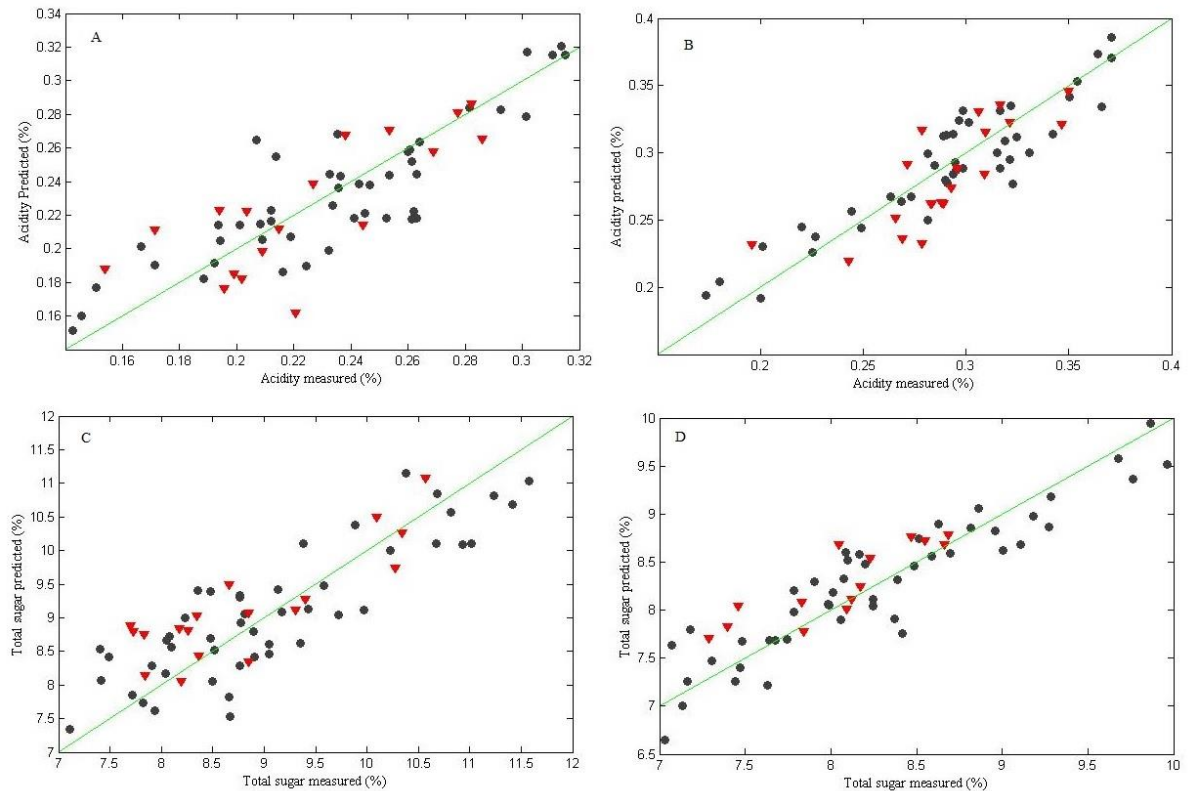


Figure 6. Acidity and Total sugar models by NIR to cashew apple (A and C) and guava's nectars (B and D). Calibration set (●) and Validation set (▲).

The cashew apple nectar models for total sugar contents (TS) presented error parameters superior to the ones presented in the guava nectar models (Figures 6C and 6D).

Although, Fujiwara and Honjo (1995) have found $RMSEP=0.3\%$ to TS in strawberry juice and Fujiwara and Honjo (1996) have presented $RMSEP=0.3\%$ to TS in Satsuma Mandarin juice, both values were lower than the ones obtained in this study for cashew apple model, but similar to guava model.

The PLS model for soluble solids (SS) in guava nectar presented better RMSEC and RMSEP when compared to the model obtained by Yao et al.(2013) that measured SS in watermelon juice ($RMSEC=0.461$ °Brix and $RMSEP=0.480$ ° Brix), and better RMSEP when compared to the model constructed by Shao and He (2007) that quantified SS in bayberry juice ($RMSEP=0.42$ °Brix). The model of SS in cashew apple nectar achieved a poor coefficient of

determination and error standard prediction, probably because this parameter is standardized by the producer which decreases the variability of values compromising the final model quality.

Regarding pH quantification, the models developed to cashew apple and guava nectars exhibited coefficient of determination above 0.7, RMSEC about 0.06 and RMSEP about 0.1. All these parameters were better than the ones found by Yuan et al. (2015) who achieved RMSEP= 0.17 to quantify pH contained in oranges and by Sánchez et al. (2012) who found RMSEC= 0.3 to determine pH in strawberries.

Table 6. Performance of PLS calibration models for acidity, total sugar, soluble solids, pH and ascorbic acid in cashew apple and guava nectar.

	Cashew Apple nectar				
	N	LV	R ²	RMSEC	RMSEP
Acidity (%)	70	7	0.75	0.022	0.025
Total sugar (%)	66	6	0.71	0.589	0.600
pH	66	7	0.75	0.068	0.123
Ascorbic Acid (mg/100g)	65	7	0.84	4.610	4.800
	Guava nectar				
	N	LV	R ²	RMSEC	RMSEP
Acidity (%)	63	7	0.79	0.019	0.024
Total sugar (%)	61	6	0.82	0.297	0.315
Soluble solids (°Brix)	56	5	0.88	0.242	0.301
pH	64	7	0.76	0.063	0.107
Ascorbic Acid (mg/100g)	54	6	0.86	6.410	7.440

N: number of samples; LV: Latent Variable; R²: Coefficient of determination; RMSEC: Root Mean Square Error of Calibration; RMSEP: Root Mean Square Error of Prediction.

The models constructed to preview ascorbic acid concentration in cashew apple and guava nectars (Figures 7A and 7B) presented an excellent coefficient of determination, about 0.8, the same value was found by Pissard et al. (2013) in non-destructive measurement of vitamin C in apples. Cashew apple and guava juice models gave a good calibration and prediction parameters (RMSEC=4.61 mg/100g and 6.41 mg/100g, respectively) better than those founded by Ignat et al. (2012) - RMSEC (10.5 mg/100g) and RMSEP (18.33 mg/100g) - constructing models to predict ascorbic acid in bell peppers.

Magwaza et al. (2013) researched the application of NIR for integrated external and internal quality assessment of Valencia oranges, the authors obtained a model to predict vitamin C with RMSEP= 8.01 mg/100mL, comparable to the RMSEP founded to predict ascorbic acid in guava nectar. A comparative study for least angle regression on NIR to determine internal qualities of navel orange realized by Liu et al. (2015) founded a RMSEP= 5.6mg/100mL to

predict ascorbic acid by PLS regression, quite similar to the value of RMSEP presented in cashew apple nectar in this study.

The RMSEP achieved by Sun et al. (2012) (2.30mg/100g) of ascorbic acid in mandarin fruit and by Pissard et al. (2013) (2.22 mg/100g) who analyzed ascorbic acid in apples, were lower when compared to the values presented in this study. However, the number of samples used by these authors was higher than these used in this article (about 1200 samples). Comparing both nectars models, it is important to consider that guava nectar presented less variation in the concentration of ascorbic acid when compared to cashew apple nectar and this fact could explain the relatively higher RMSEP. When compared to others parameters analyzed, ascorbic acid presented slightly higher errors values, probably because it is a minority compound and the large range of concentration could result in a relatively high value of RMSEP, as related by Hu et al. (2013)

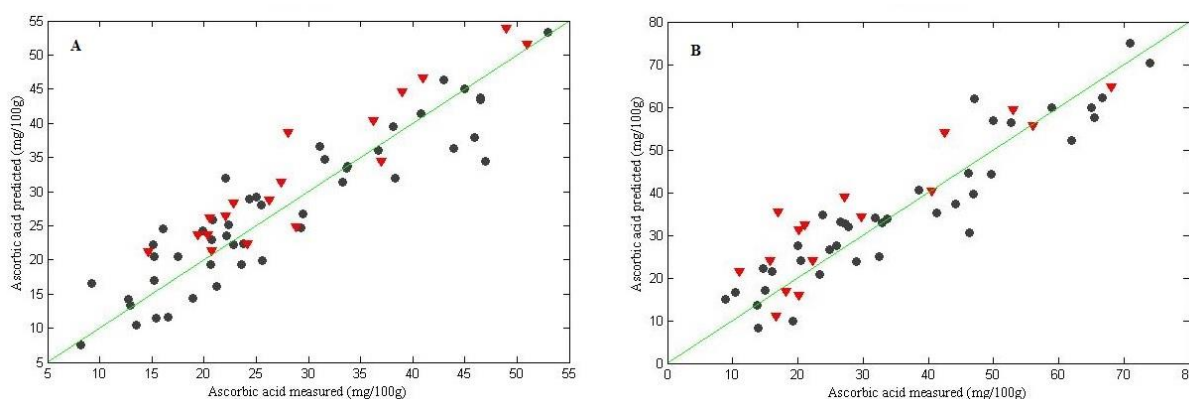


Figure 7. Ascorbic acid model to cashew apple (A) and guava's nectars (B). Calibration set (●) and Validation set (▲).

7.4. Conclusion

Near infrared spectroscopy has proved to be a useful and applicable technique to evaluate quality parameters in cashew apple and guava nectar, without the presence of overfitting or lack of fit, presenting good coefficients of determination and low errors in prediction and calibration sets. Moreover, NIR presents many advantages: rapid acquisition of spectra, clean methodology, applicability to online systems, multi-parameters, among others. These characteristics prove the importance of this new technology in food industry in order to decrease the time and amount of reagent currently necessary in food analysis as a whole.

8. ARTIGO II

Rapid assessment of total phenolic and anthocyanin contents in grape juice using infrared spectroscopy and multivariate calibration

Elem T. S Caramês^{a,*}, Priscila D. Alamar^a, Ronei J. Poppi^b, Juliana A. Lima Pallone^a

^a*Department of Food Science, School of Food Engineering, University of Campinas, Monteiro Lobato Street, 80, Zip Code: 13083-862, Campinas, São Paulo, Brazil.*

^b*Institute of Chemistry, University of Campinas, 13083-970 Campinas, S.P, Brazil.*

Paper submitted to Food Research International

ABSTRACT

Grape juice is rich in bioactive compounds that are known for beneficial effects, such as prevention of cancer and diabetes. The determination of these compounds content has been carried out following several protocols which generate toxic waste. In this context, infrared spectroscopy in near (NIR) and mid (MIR) regions were applied for the determination of total phenolic and anthocyanins content (TPC and TAC, respectively) in grape juice for being a rapid green methodology. Calibration models were built using Partial Least Squares Regression (PLSR) to predict TPC and TAC in grape juice. MIR and NIR had a similar satisfactory performance to predict TAC presenting low RMSEP (4.22mg/100mL and 4.44 mg/100mL). In TPC prediction, MIR presented a RMSEP (0.21 mgGAE/mL) slightly better in comparison to the one presented by NIR (0.37 mgGAE/mL). Errors can be considered acceptable for determination of TPC and TAC in grape juice, qualifying both infrared techniques to replace traditional wet methodologies, with the advantage of being environmentally friendly.

Keywords: Grape juice; NIR; MIR; phenolic compounds; anthocyanins.

8.1. Introduction

Owing to its resistance to many fungal diseases and a high productivity, the main cultivar applied in grape juice processing in Brazil is cv. Isabel (*Vitis vinifera* x *Vitis labrusca*). Nevertheless, Isabel grapes present light color, requiring blending with other varieties of grape, as the hybrids BRS Cora and BRS Violet (Lima et al., 2015; Yamamoto et al., 2015). Grapes, as well as the juices produced from them, are known for their significant concentration of bioactive compounds, such as phenolic acids (e.g., gallic acid), flavonoids (e.g., proanthocyanidins), and anthocyanins (Ribeiro et al., 2015; Eshghi; Salehi; Karami, 2014; Lima et al., 2015).

Grape juice and derivatives are very important commodities in the international juice trade. In the USA, wine, grape and derivatives generate \$162 billion dollars a year; in Brazil, the consumption of grape juice has grown 400% in 5 years (from 10 million liters in 2007 to 50 million liters in 2012). Grape juice is not only used as beverage but also as ingredient for other foodstuffs. Furthermore, grape juice meets the growing consumer demand for a product without preservatives but with color, flavor, high nutritional qualities, high concentration of minerals, vitamins and phenolic compounds (Hui, 2008; Dani et al., 2016).

Phenolic compounds content in grape juice is affected by culture and post-harvest conditions, or according to the grape species used in juice production. The mean compounds founded in grapes, the anthocyanins, are related to a reduction in oxidative stress, they can help in the prevention of diseases as cancer, arteriosclerosis, diabetes, and neurological diseases. In addition, anthocyanins have antihyperglycemic and anti-inflammatory effects, besides that, they are extremely important in sensory attributes as color (Magro et al., 2016; Eshghi; Salehi; Karami, 2014; Xu et al., 2010; Moreno-Montoro et al., 2015; Lambri et al., 2015).

The determination of bioactive compounds as phenolic compounds and anthocyanins has been performed by many different methodologies. Spectrophotometric methods are widely applied in total phenolic compounds quantification; an estimation by measurement of absorption at 280nm and the Folin-Ciocalteu method are the most used (Lorrain et al., 2013). Liquid chromatography, coupled or not with mass spectrometry, was also used to quantify these compounds in many researches (Diaz-de-Cerio et al., 2016; Moreno-Montoro et al., 2015; Magro et al., 2016). The main problem, when such methodologies are used in the determination, is the extraction of compounds, which is mainly performed by liquid-liquid or solid-liquid extraction (Lorrain et al., 2013), resulting in the generation of wastes which are toxic for both environment and operator. Moreover, the fact that phenolic compounds are photosensitive leads

to the need of using amber glassware and/or manipulation under reduced brightness to maintain the compounds stability during chemical analysis.

In the recent years, a number of analytical approaches are being used to monitor food quality, such as vibrational spectroscopy, including infrared spectroscopy (near and mid regions), Raman spectroscopy, and hyper/multispectral imaging. These techniques are non-invasive and non-destructive, require a small amount of sample, do not require extraction, and can be used on-line (Lohumi et al., 2015; Ropodi; Panagou; Nychas, 2016). Near infrared (NIR) spectra ($10,000 - 4,000 \text{ cm}^{-1}$) provide information from overtones and their combinations, while mid-infrared (MIR) spectra ($4,000 - 400 \text{ cm}^{-1}$) give information from fundamental molecular vibrational frequencies. Therefore, the spectra obtained by MIR are straightforward (de Oliveira et al., 2014; Shiroma; Rodriguez-Saona, 2009). Despite the differences between the analysis of NIR and MIR spectra, both require the application of chemometrics to develop models and to obtain other data (Hell et al., 2016).

Several works have been developed applying NIR and MIR spectroscopies to evaluate quality and to quantify different chemical compounds in food products, food authenticity, and adulterations (de Oliveira et al., 2014; Bag; Srivastav; Mishra, 2011; Shiroma; Rodriguez-Saona, 2009; Hell et al., 2016; Martelo-Vidal, Vázquez, 2014, Mendes et al., 2015, Li et al., 2013, Ignat et al., 2012, Wang and Xie, 2014).

This article reports a study that aimed at applying the techniques NIR and MIR for the determination of total phenolic compounds and anthocyanins contents in grape juices consumed in Brazil as alternatives for routine analysis.

8.2. Materials and Methods

8.2.1 Materials

A total of 65 (sixty-five) commercial samples of grape juice (information about cultivars were not available) were acquired in local market and analyzed. Sixty-two samples were products of different brands and lots, and three of them were obtained by lyophilization (Terroni Equipamentos Científicos, Brazil, Série LS). The commercial sample of grape juice with the highest phenolic content was concentrated by liophilization during 30 minutes, 60 minutes and 90 minutes. This process was carried out in order to ensure greater variability of the results to construct a calibration model with large values.

8.2.2 *Total anthocyanin content analysis*

It was analyzed the total content of anthocyanins in 65 samples of grape juice. The extraction was carried out mixing the grape juice with a solution of HCl 0.1 mol/L at room temperature (25°C) for 30 minutes in dark room. The samples were centrifuged 3600rpm/10min to remove the solid particles, the supernatant was collected according to reference method with modifications (AOAC method 2005-02; Guisti and Wrolstad, 2001). The absorbance was recorded with spectrophotometer (Hithachi High-Technologies, Japan, U-2900) in wavelengths of 520nm and 700nm, for both solutions, pH 1.0 and pH 4.5.

8.2.3 *Total phenolic compounds content*

The total phenolic content (TPC) was determined in the 65 samples of grape juice according to Singleton and Rossi (1965). The extract of the samples was obtained according to Paz et al. (2015). A volume of 500µL of sample extract, 75µL of water, 250µL of Folin Ciocalteu 1mol/L reagent, and 1250µL of sodium carbonate was placed in the cuvette for 30 minutes in dark room. The absorbance was determined at 700nm in spectrophotometer (Hithachi High-Technologies, Japan, U-2900). To calculate the phenolic concentration in samples, a calibration curve was done using Gallic Acid (GA) as standard antioxidant; the results were expressed in gallic acid equivalents (GAE).

8.2.4 *Spectra acquisition*

About 2 grams of each sample was placed in a petri dish, the liquid reflector (Perkin Elmer-Waltham, USA, Part Number L118-0503) was placed on top of the sample and carefully pushed against the glass before scanning. Transflectance measurements were conducted using near infrared reflectance accessory (Perkin Elmer-Waltham, USA, model NIRA) in spectrometer FT-NIR (Perkin Elmer-Waltham, USA, model Spectrum 100N) in the range of 10,000-4,000 cm^{-1} , with 4 cm^{-1} of resolution. All data was obtained in triplicate and the mean was used in subsequent calculations.

All spectra data of Fourier Transformation mid infrared (MIR) were determined using the attenuated total reflectance (ATR-FTIR) technique (Agilent technologies, USA, Cary 630 FTIR Spectrometer). They were collected with 64 scans, 4 cm^{-1} of resolution, in wavenumber range of 4000 cm^{-1} to 400 cm^{-1} .

8.2.5 Chemometrics

Spectra data were processed using the PLS toolbox for Matlab version 5.2 (The Math Works, 2009; Eigenvector, 2010). For noise reduction and scattering correction, preprocessing was applied to it. It was used in this work the method of data smoothing based on the Savitzky-Golay algorithm, mean center, and standard normal variate (SNV). Cross-validation was used for number of latent variables (LV) optimization in each model, and the number of LV chosen was four and seven, for TAC and TPC, respectively.

Outliers were identified and excluded based on high values of Student residuals and leverage in order to improve the quality of the calibration model.

The samples were divided into calibration and validation sets to perform external validation, where 75% of samples were used in the calibration set and 25% represents the validation set.

The partial least squares regression (PLSR) was the methodology chosen for building the calibration model. To evaluate the quality of the obtained models, it was calculated the coefficient of determination (R^2), the root mean square errors of calibration (RMSEC) and prediction (RMSEP).

8.3. Results and Discussion

8.3.1 Chemical analysis

A summary of the total polyphenols (TPC) and total anthocyanins content (TAC) in grape juice samples evaluated are presented in Table 7. Range, mean and coefficient of variation are given for each analysis. A phenolic content study of red grapes from the South of Brazil (*Vitis Labrusca* L.) determined values of 2015.00 GAEmg/L for TPC and 420.01 mg/L for TAC, using conventional wet methodology. Those values were superior to the ones founded in this work and these differences may occur since phenolic compounds content are dependent of various factors as culture conditions, post-harvest conditions, or according to the grape species used in juice production, as well as, the methodology applied to determined TPC and TAC. Other studies with anthocyanins and phenolic contents in grape were done, most of them in grapes *V. vinifera* or hybrids used to wine production (Fraige et al., 2014; Lambri et al., 2015; Toaldo et al., 2015). Grape juice showed higher mean content of TPC when compared to apple juice (1.295 mgGAE/mL and 0.098GAE mg/mL) and similar TAC content to cranberry juice (13.64 mg/100mL). Moreover, some studies suggest the anthocyanins of grape juice present

higher antioxidant activity than some vitamins as E and C, feature that enhances the nutritional quality of the product (Knockaert, 2012; Sharma et al., 2015; Fraige et al., 2014; Islam et al., 2016; Bazinet et al., 2012).

Table 7. Total polyphenols and anthocyanins content in grape juice.

Analysis	Range	Mean $\pm$ SD	CV
Total Anthocyanins (mg/100mL)	43.56-2.67	14.50 $\pm$ 0.343	3.11
Total Polyphenols (mg GAE/mL)	4.01-0.29	1.29 $\pm$ 0.07	0.56

n= 65 samples.

8.3.2 Overview and pre-treatment of spectra data

The raw spectra data obtained in MIR and NIR are represented in Fig. 8-A and Fig.8-B, respectively. In MIR, it is observed larger peaks at 3200cm⁻¹ and at 1600cm⁻¹ associated with O-H stretch, appearing as a result of the amount of water present in the sample. The fingerprint region in the range of 1200 to 900cm⁻¹ was determinant in posteriorly PLS calibration model. This region is usually associated with C-O and C-C stretching and C-O-C and C-O-H, that could be related with esters, carbohydrates and organic acids (Shiroma and Rodriguez-Sanoa, 2009; Musingarabwi et al., 2016).

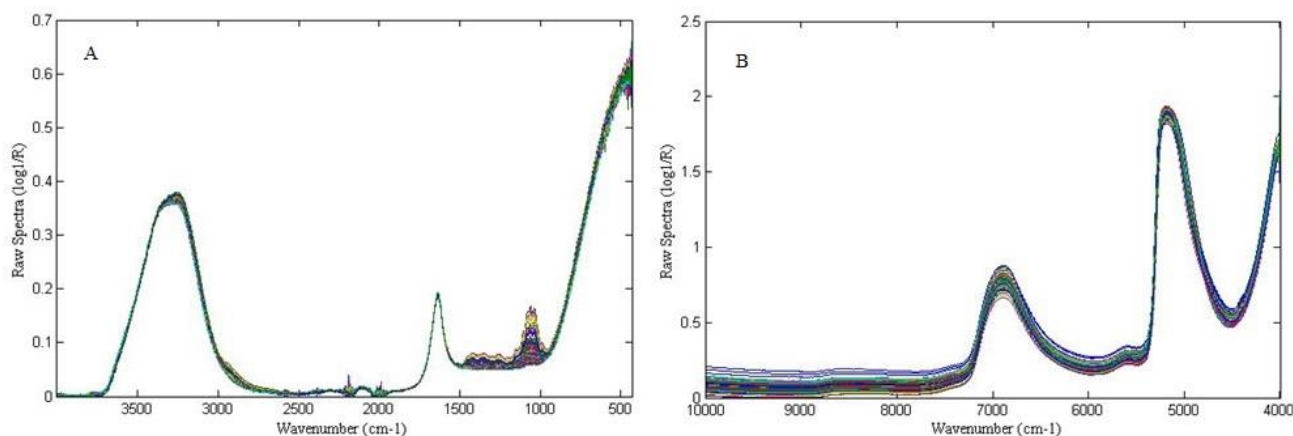


Figure 8. Raw spectra data by MIR (A) and NIR (B).

Analyzing the NIR spectra data, is notorious two maximum peaks at $\cong 6900\text{cm}^{-1}$ and $\cong 5200\text{cm}^{-1}$. These peaks refer to O-H first overtone and combinations, and their higher position in the spectrum is related to the huge amount of water present in grape juice (Shiroma and Rodriguez-Sanoa, 2009; Xie et al., 2009).

The preprocessing performed in all NIR and MIR spectra data are detailed in Table 8. As a consequence of the light scattering presented by NIR spectra data, it was necessary to apply standard normal variate (SNV) algorithm for base line correction. In order to remove the noise presented in the MIR spectra data it was used the Savitzky- Golay method of data smoothing. The spectral region used in MIR calibration is near to the fingerprint region and it was previously used qualitative and quantitative evaluation of grape berries. The rest of the spectral data was hindered because of the huge water amount (Musingarabwi et al., 2016).

Table 8. Preprocessing applied in MIR and NIR spectra data.

	MIR	
	Preprocessing	Spectral Range (cm ⁻¹)
Total Anthocyanins	Smoothing + Mean center	1747.42- 829.11
Total Polyphenols	Smoothing + Mean center	1747.42- 823.52
	NIR	
	Preprocessing	Spectral Range (cm ⁻¹)
Total Anthocyanins	SNV + Mean center	10000- 8450
Total Polyphenols	Mean center	10000- 4000

SNV: Standard Normal Variation.

8.3.3 *MIR x NIR.*

The statistical data for MIR and NIR calibration models are shown in Table 9 and Figure 9. Total anthocyanins content (TAC) provided a satisfactory coefficient of determination (R^2_c) for NIR (0.84) and MIR (0.81). Observing the values of RMSEP, RMSEC, MIR, and NIR, they were quite similar, with RMSEP=4.22 mg/100mL and RMSEC=4.31 mg/100mL for MIR and RMSEP=4.44 mg/100mL and RMSEC=4.09 mg/100mL for NIR. However, in the model it was necessary 7 latent variables (LV) for NIR prediction and only 5 LV for the MIR model.

Chen et al. (2015) performed the prediction of TAC in grapes using NIR hyperspectral imaging, and presented a more relevant, RMSEP (1.29mg/100g) using 16 LVs, which is a number twice as large as the one used in this paper to build NIR model. However, the use of too many LVs may result in an overfitting model. On that account, the usage of less LVs is more suitable. The value of RMSEP found in this article was better when compared to Xiaowei et al. (2014) that developed a prediction model of TAC in flowering tea using NIR combined with ant colony optimization models with RMSEP of 12.25mg/100g, nevertheless, they used only 3 LVs.

Table 9. Statistics for calibration and prediction of anthocyanin and polyphenols content by MIR and NIR.

		MIR			
		LV ^b	R ² _c	RMSEC ^d	RMSEP ^e
Total Anthocyanins (mg/100mL)	N ^a 65	5	0.81	4.31	4.22
Total Polyphenols (mg GAE/mL)	65	5	0.90	0.26	0.21
		NIR			
		LV	R ² _c	RMSEC	RMSEP
Total Anthocyanins (mg/100 mL)	N 64	7	0.84	4.09	4.44
Total Polyphenols (mg GAE/mL)	63	4	0.96	0.17	0.37

^aNumber total of samples ^bNumber of latent variables ^cCoefficient of determination of calibration set

^dRoot mean square error of calibration ^eRoot mean square error of prediction.

Total polyphenols content (TPC) was determined with adequate accuracy. Comparing NIR and MIR models, a slightly better RMSEC was obtained by NIR model (0.171mg GAE/mL) and a better RMSEP in MIR model (0.21 mg GAE/mL). Both techniques presented favorable coefficients of determination ($R_c^2 \geq 0.90$) and comparable number of LVs. Therefore, both techniques can be defined as efficient in determining TPC.

Hu et al. (2016) performed the determination of phenolic content in chocolate by ATR-FTIR and presented satisfactory RMSEP (5.08mg GAE/g DFW) and RMSEC (3.21mg GAE/g DFW). Kyraleou et al. (2015) used FT-IR to determine total phenolics contained in grape seeds and reported values of 0.97 for R^2 , RMSEC of 4.03 mg catechin/g DW, and RMSEP of 6.49 mg catechin/g DW, all errors presented by the authors were superior than these found in this work.

The content of total phenolic was determined, by Frizon et al. (2015), using PLS regression and NIR in yerba mate (*Ilex paraguariensis*) with RMSEC of 16.07 mg 5CQA/g and RMSEP of 12.12 mg 5CQA/g, the errors were superior to the ones found in NIR calibration model in this work. TPC was also determined, by Páscoa et al. (2014) in milled red grape pomace using NIR and a PLS calibration model, presenting a RMSEC of 1.77 mg GAE/g sample and RMSEP of 2.12 mg GAE/g sample, which were superior than these achieved to grape juice.

Viegas et al. (2015) obtained a RMSEP= 0.022mg/mL analyzing TPC in wax jambu fruit using NIRS and PLS, this result presented a lower predicting error when compared to the ones determined in this paper. However, to achieve this RMSEP the authors used 9 LVs, while the model constructed to analyze grape juice used only 4 LVs.

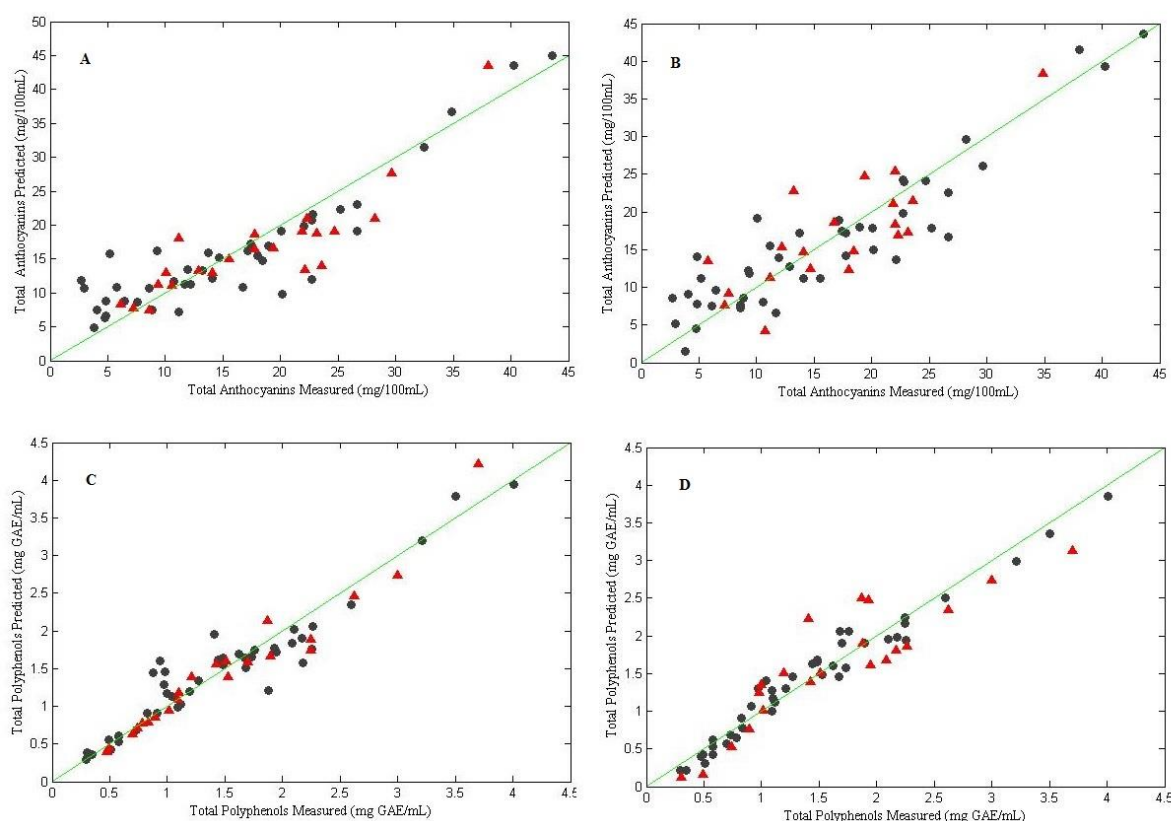


Figure 9. TAC and TPC models obtained by MIR (A and C) and NIR (B and D). Calibration set (●) and Validation set (▲).

8.4. Conclusion

Both techniques, NIR and MIR, presented quite similar results in the prediction of total phenolic and anthocyanins content in grape juice. However, the MIR spectra is more accessible to interpret than NIR spectra, making it possible to obtain a chemical knowledge of the system. The MIR spectra needed less pre-treatments than NIR spectra to achieve the best performance possible. It is important to consider that both spectroscopy techniques presented adequate performance; revealing a possible replacement of wet-chemical analyses with the advantage of producing no toxic waste, little time consuming, no danger to the operator, and without any trouble to maintain the stability of the phenolic compounds during the analytical process.

Acknowledgment

The authors thank FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo-process 2015/15848-0) for financial support for this work.

9. DISCUSSÃO GERAL

As frutas são essenciais fontes de micronutrientes na dieta humana e são altamente recomendáveis por serem saudáveis. A produção mundial de frutas é maior que 600 milhões de toneladas, e o Brasil figura como terceiro maior produtor, com cerca de 2,5 milhões de hectares dedicados a fruticultura. As frutas são consumidas tanto *in natura* quanto podem ser empregadas na obtenção de subprodutos - sucos, néctares, doces, geleias, entre outros. Dentre as frutas produzidas no Brasil, o caju, a goiaba e a uva se destacam tanto pelo volume de produção quanto pela gama de produtos que podem ser gerados através de seus processamentos (POMMER & BARBOSA, 2009; IBRAF, 2016).

Por se destacarem como alimentos saudáveis, tanto as frutas *in natura* quanto os seus subprodutos, têm tido seu consumo impulsionado pela busca crescente da população por uma alimentação mais saudável – sem conservantes, com presença de vitaminas e minerais. Nesse contexto, tanto sucos de fruta quanto néctares se apresentam como uma alternativa cada vez mais atraente para consumidores que anseiam por um produto prático, porém com perfil saudável. Confirmando essa maior procura por bebidas saudáveis, a Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e Bebidas Não Alcoólicas registrou em 2008, somente no setor de sucos e néctares de frutas prontos para beber, um faturamento de US\$ 1,9 bilhão com a venda de produtos (MELLO, 2013; GOMES, 2014).

Sendo assim, suco é definido como a bebida não fermentada, não concentrada e não diluída, destinada ao consumo, obtido de fruta sã e madura, ou parte do vegetal de origem, por processo tecnológico adequado, submetido a tratamento que assegure sua apresentação e conservação até o consumo. Para os sucos designados como ‘integral’ é vetada a adição de açúcar. E néctar é a bebida não fermentada, obtida da dissolução, em água potável, da parte comestível da fruta e açúcares, destinado ao consumo direto, podendo ser adicionado de ácidos (BRASIL, 2003; FERRAREZI et al., 2010).

Estudos recentes ressaltam a importância de se avaliar o valor nutricional dos alimentos, a fim de se conhecer sua contribuição no suprimento da recomendação diária de nutrientes, bem como a influência do processamento e das tecnologias de preservação na sua composição química. Por exemplo, néctares de caju e goiaba são fontes de vitamina C (seja adicionada ou proveniente da fruta). Esse nutriente, entretanto, é instável em meios aquosos, como em bebidas, apresentando suscetibilidade a luz, oxigênio e a temperaturas elevadas. Através do processo oxidativo substâncias podem ser formadas causando escurecimento do néctar e/ou

suco, além de outras alterações organolépticas indesejáveis ao produto. Nesse mesmo contexto, os compostos bioativos em suco de uva, assim como a vitamina C, apresentam instabilidade na presença de luz, oxigênio e elevadas temperaturas, sendo assim sujeitos a degradação durante o processamento e/ou armazenamento, podendo afetar parâmetros sensoriais do produto (ZHANG & HAMAUZU, 2004; MAIA, MONTEIRO & MAGALHÃES, 2001; LAMBRI et al., 2015).

Tendo em vista a garantia e controle da qualidade de néctares de caju e goiaba, a legislação brasileira determina o Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ) desses alimentos através da realização das análises de acidez total titulável, açúcares totais, sólidos solúveis e teor de ácido ascórbico. Porém, a legislação brasileira não prevê itens que avaliem ou garantam a presença de compostos bioativos em sucos de fruta, mesmo o suco integral de uva que, de maneira geral, contém representativo teor de compostos fenólicos. A garantia da presença, ou mesmo adição, de uma quantidade mínima de compostos bioativos em sucos, como o de uva, poderia ser um atrativo ainda maior para o consumo desse produto, além de ser um excelente parâmetro de qualidade. Atualmente parâmetros como conteúdo total de fenólicos, intensidade da pigmentação- relacionado com a quantidade de antocianinas- e presença de taninos, são utilizados como ferramenta para determinação do melhor momento de colheita da uva e também para definir o emprego adequado do fruto. Uvas com alto teor de taninos, por exemplo, não são indicadas para a produção de vinho (FOGAÇA & DOUDT, 2015; BRASIL, 2003).

Tanto para a avaliação da qualidade de néctares quanto para a determinação do teor de compostos bioativos em sucos, análises padrões e tradicionais são realizadas. No caso dos néctares, os métodos de análise são estabelecidos pela AOAC, parte deles- açúcares totais, acidez total titulável e teor de ácido ascórbico- incluem a realização de análises titulométricas que são altamente dependentes do analista para a obtenção de resultados precisos e exatos, além da geração de resíduos tóxicos. Em relação ao suco de uva, análises que buscam determinar a quantidade de compostos bioativos presentes no suco são realizadas através de espectrofotometria (análises colorimétricas- diferencial de pH para antocianinas totais e Folin-Ciocalteu para determinação de polifenóis totais) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC – para a determinação de compostos fenólicos individuais), ambas geram resíduos e utilizam reagentes tóxicos, no caso do HPLC o custo de análise é elevado, ambos- equipamento e reagentes- são caros. Além de todos esses problemas apresentados pelas metodologias tradicionais, é importante considerar o elevado tempo total despendido para que todos os resultados necessários para o PIQ e para a avaliação dos compostos bioativos sejam obtidos,

além do extenso e laborioso preparo de amostra necessário em algumas metodologias (AOAC, 2006; SHIBAMOTO & BJELDANES, 2014, BRASIL, 2003).

Como alternativa a esses métodos comumente aplicados, as técnicas espectrométricas no infravermelho próximo e médio (NIR e MIR), junto a técnicas quimiométricas, vem sendo cada vez mais empregadas para a determinação de diferentes parâmetros em produtos alimentícios, como gorduras, fibras, matéria seca, umidade, e outros não obrigatórios, mas de interesse nutricional como capacidade antioxidante, quantificação de compostos bioativos. Essas técnicas apresentam várias vantagens como a determinação de vários parâmetros simultaneamente, não geração de resíduos tóxicos e nem mesmo a utilização de quaisquer reagente, ou seja, análises sem risco para o ambiente ou para o analista, também não necessitam de preparo de amostra, reduzido tempo de análise (característica excelente para determinação de compostos facilmente degradáveis durante o processo analítico), técnicas não invasivas e não destrutivas. Essas características fazem com que essas técnicas sejam consideradas quimicamente verde (BORGES et al., 2001; CHEN et al., 2012; SHIROMA & RODRIGUES-SANOIA, 2009; DE OLIVEIRA et al., 2014; MORGANO et al., 2005).

Nesse contexto, nesse trabalho buscou-se avaliar a possibilidade do uso de técnicas espectroscópicas (NIR e MIR) em conjunto com a quimiometria, como técnicas alternativas as comumente utilizadas para a determinação do PIQ em néctares de caju e goiaba e compostos bioativos em suco integral de uva.

A obtenção dos espectros no infravermelho próximo foi realizada através da transflectância, com auxílio de um acessório para análise de líquidos em NIR. A transflectância é um modo alternativo para obter espectros, na qual a luz incidente atravessa a amostra e é refletida em um material metálico (aço inox) localizado no lado oposto, a luz então passa novamente através da amostra, antes de alcançar o detector; esse método tem sido utilizado principalmente em amostras líquidas ou semissólidas. Os espectros no MIR foram determinados utilizando a técnica de reflectância total atenuada (ATR-FTIR). Todos os espectros, no NIR e no MIR, foram obtidos em triplicata e a média foi utilizada no decorrer do trabalho. Os dados espectrais foram pré processados para a correção de linha de base, diminuição de efeitos multiplicativos, centralização na média, melhoria da razão sinal/ruído (BLANCO & ROMERO; 2002).

Foram realizadas as análises determinadas pelo PIQ para néctar de goiaba e caju, todas as amostras estavam de acordo com os parâmetros estabelecidos para acidez total, açúcares totais e pH. Em relação ao teor de ácido ascórbico, seis amostras de caju e onze de goiaba apresentaram valores abaixo do estabelecido por lei. A perda desse composto é explicado pela sua instabilidade e suscetibilidade a altas temperaturas (durante o processamento térmico, por exemplo), oxigênio, exposição a luz, presença de íon metálicos, entre outros fatores (GABRIEL, et al, 2015a; GABRIEL, et al, 2015b). E em relação as amostras que apresentaram valores abaixo do esperado de sólidos solúveis, a metodologia utilizada, refratometria, é precisa em soluções puras de sacarose, no caso do suco, interferentes podem ter contribuído para resultados diferentes daqueles esperados. Amostras com baixos valores de açúcares totais foram apresentados somente por amostras *lights*. Os modelos NIR foram obtidos por regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) e apresentaram boas performances. Os modelos de acidez total para ambos néctares apresentaram erros de predição (RMSEP) de cerca de 0,02%, valor abaixo do que o apresentado por Bing-fang et al. (2014) que construiu um modelo PLS para determinar acidez total em suco de tomate (RMSEP= 0.103). Os modelos de açúcares totais apresentaram RMSEP de 0,3 e 0,6% para néctar de goiaba e caju, respectivamente, valores comparáveis ao encontrado para a determinação de açúcares totais em suco de morango (FUJIWARA & HONJO, 1995). O modelo PLS para predição de sólidos solúveis para néctar de goiaba apresentou bons parâmetros de erros (RMSEP=0.3°Brix), porém o modelo obtido para néctar de caju não apresentou boa performance com RMSEC e RMSEP maiores do que o esperado, provavelmente devido à pouca variabilidade dentre as amostras. Os modelos desenvolvidos para quantificação de pH, em néctares de caju e goiaba exibiram bons coeficientes de determinação (0,7), RMSEC e RMSEP (em torno de 0,1).

Os modelos construídos para prever o teor de ácido ascórbico em néctar de caju e goiaba apresentaram excelente coeficiente de determinação ($R^2 > 0.8$), o modelo empregado para néctar de caju apresentou um RMSEP menor do que o modelo obtido para néctar de goiaba (cerca de 4 e 7 mg/100g, respectivamente) provavelmente devido ao teor de ácido ascórbico encontrado no néctar de goiaba ser menor do que o apresentado pelo néctar de caju, fato que dificultou uma melhor performance do modelo. Os valores de RMSEP encontrados para os dois modelos construídos foram menores do que o encontrado no modelo para a determinação de ácido ascórbico em pimentão (RMSEP=18mg/100g) (IGNAT et al., 2012).

Realizou-se também análise de determinação de fenólicos e antocianinas totais em 65 amostras de suco de uva, a média de fenólicos totais encontrada foi de 1,29 mgGAE/mL e de

antocianinas totais foi de 14,50mg/100mL. Mezaroba (2001) encontrou valor médio de antocianinas totais em suco de uva extraído de uva Isabel de 20 mg/100mL, comparável ao encontrado nesse trabalho. Sautter et al. (2005) analisou sucos industriais de uva e encontrou uma média de 1,91 mgEAG/mL média comparável a determinada nesse estudo, entretanto a comparação entre trabalhos é dificultada pela incerteza da variedade de uva (além de suas condições de plantio, colheita e pós-colheita) utilizada na produção do suco comercializado.

Foram obtidos modelos de NIR e MIR para as análises de antocianinas e fenólicos totais em suco de uva. Ambos modelos, NIR e MIR, para teor de antocianinas totais apresentaram excelente coeficiente de determinação ($R^2 > 0,8$), e valores de RMSEP e RMSEC similares (MIR: RMSEP=4,22 e RMSEC=4,31; NIR: RMSEP= 4,44 e RMSEC=4,09). O modelo obtido por Chen et al. (2015) apresentou um melhor RMSEP (1,29mg/100g) ao analisar antocianinas totais em uva, utilizando NIR-hiperespectral, porém foram utilizadas 16 variáveis latentes para obtenção do modelo final, enquanto nesse estudo foram usados 7 para o modelo NIR e 5 para o MIR. Um número elevado de LVs pode levar a construção de um modelo superajustado, prejudicial a predição de amostras um pouco diferentes das utilizadas no conjunto de calibração.

O teor de polifenóis totais foi determinado com boa precisão por ambos modelos, NIR e MIR, com coeficiente de determinação $\geq 0,9$, o modelo NIR apresentou RMSEC (0,17mg GAE/mL) ligeiramente menor que o modelo MIR e o modelo obtido pelo MIR apresentou um RMSEP (0,21mg GAE/mL) melhor do que o obtido pelo NIR. Hu et al. (2016) encontrou valor de RMSEP comparável (1,71 mgGAE/mL) ao utilizar dados obtidos pelo ATR-FTIR para construção de modelo para a determinação de polifenóis totais em chocolate.

Ambas técnicas, NIR e MIR, se mostraram muito eficientes na determinação de polifenóis totais e antocianinas totais, apresentando performances comparáveis. A técnica do infravermelho próximo apresentou-se como uma boa alternativa para determinação do PIQ em néctares, modelos com bons resultados de predição foram construídos, resultados de corroboram com diversos autores que têm aplicado essas técnicas com sucesso na determinação de vários parâmetros ligados a alimentos.

10. CONCLUSÃO GERAL

As análises realizadas seguindo metodologias tradicionais nesse trabalho apresentaram a necessidade do uso de reagentes tóxicos e a consequente geração de resíduos químicos, além disso, consumiram tempo elevado para a obtenção de resultados. Nesse sentido, as análises espectroscópicas, NIR e MIR aliadas a técnicas quimiométricas, mostraram-se técnicas úteis e aplicáveis para avaliar diferentes parâmetros de qualidade em sucos e néctares de frutas, comprovando sua versatilidade, eficiência e rapidez, apresentando bons coeficientes de determinação e baixos erros de predição e calibração. No entanto, foi detectada a necessidade de uma variedade de valores para serem construídos modelos de melhor qualidade, parâmetros como pH, que é altamente padronizado para néctares comercializados, dificultam a construção de um modelo com melhores parâmetros de predição. Além disso, há a necessidade de treinamento para que o analista desenvolva habilidade em lidar com as técnicas quimiométricas necessárias ao uso do infravermelho próximo e médio.

NIR foi aplicado para todas as análises do parâmetro de identidade e qualidade de néctares de goiaba e caju com sucesso- baixos RMSEP, RMSEC. A rapidez e precisão nessa análise é muito importante, principalmente na análise de ácido ascórbico, que é um composto lábil que pode ser degradado durante uma análise longa.

NIR e MIR apresentaram excelentes e similares performances quando aplicadas para a determinação de fenólicos e antocianinas totais em suco de uva, entretanto os espectros obtidos no MIR foram interpretados e pré-processados mais facilmente quando comparados aos dados obtidos pelo NIR.

Os resultados positivos obtidos nesse trabalho confirmam a possibilidade da substituição de técnicas tradicionais- que fazem uso de reagentes tóxicos se tornando um risco de contaminação ambiental, equipamentos caros, apresentam necessidade de analista treinado- por técnicas espectroscópicas- técnica rápida, quimicamente verde, apresenta a possibilidade de aplicação online durante o processamento- sem perda de precisão nos resultados analíticos e sem risco de perda da estabilidade dos compostos durante o processo analítico.

11. REFERÊNCIAS

- A.O.A.C. (1998) **Association of Official analytical chemists: Official methods of analysis** (16. Ed.). Washington, 4th Edition.
- A.O.A.C. (2006) **Association of Official analytical chemists: Official methods of analysis**.
- ALAMAR, Priscila D. *et al.* Quality evaluation of frozen guava and yellow passion fruit pulps by NIR spectroscopy and chemometrics. **Food Research International**, v. 85, p. 209–214, 2016.
- AYVAZ, H. *et al.* Monitoring multicomponent quality traits in tomato juice using portable mid-infrared (MIR) spectroscopy and multivariate analysis. **Food Control**, v. 66, p. 79–86, ago. 2016.
- BAG, S. K.; SRIVASTAV, P. P.; MISHRA, H. N. FT-NIR spectroscopy: a rapid method for estimation of moisture content in bael pulp. **British Food Journal**, v. 113, n. 4-5, p. 494–504, 2011.
- BAZINET, L.; BRIANCEAU, S.; DUBÉ, P.; DESJARDINS, Y. Evolution of cranberry juice physico-chemical parameters during phenolic antioxidant enrichment by electrodialysis with filtration membrane. **Separation and Purification Technology** (2012), 87, 31–39.
- BELLON-MAUREL, V.; MACBRATNEY 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 Biology & Biochemistry** v.43, 1398-1410, 2011.
- BENASSI, M. T.; ANTUNES, A. J. (1988). A comparison of metaphosphoric and oxalic acids as extractants solutions for the determination of vitamin C in selected vegetables. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 31, 507-513.
- BING-FANG, Z., LI-BO, Y., & BING-XIU, Z. (2014). Study on Predicting Total Acid Content and Soluble Sugar of Tomato Juice by Near Infrared Optical Fiber Spectrometer Technique. **Spectroscopy and Spectral Analysis**, 34(2), 350–353.
- BLANCO, M; ROMERO, M. A. Near infrared transfectance spectroscopy: Determination of dexketoprofen in a hydrogel. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 30, n. 3, p. 467–472, 2002.
- BORGES, F. M. O. *et al.* (2001) Espectroscopia de Reflectância no Infravermelho Próximo NIRS. **Revista CFMV**, v.24, n.10, p.30.
- BRASIL (1997). **Padronização, classificação, registro, inspeção, produção e a fiscalização de bebidas**. Decreto nº2134, de 04 de setembro de 1997.
- BRASIL (2003). **Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade gerais para Suco Tropical**. Instrução Normativa Nº 12, de 04 de setembro de 2003.
- BURNS, A. D.; CIURCZAK, E. W. **Handbook of near-infrared analysis**.3. ed. New York:, CRC Press, 2007.

CANADA (2013). **Processed Products Regulations**. Schedule II, last amended on April 26, 2013.

CHEN, S.; ZHANG, F.; NING, J.; LIU, X.; ZHANG, Z.; YANG, S. Predicting the anthocyanin content of wine grapes by NIR hyperspectral imaging, **Food Chemistry**. 172 (2015) 788–793. doi:10.1016/j.foodchem.2014.09.119.

COLOMBIA (1991). **Elaboración, conservación y comercialización de Jugos. Concentrados, Néctares, Pulpas, Pulpas azucaradas y refrescos de frutas**. Ministerio de la Salud, resolución número 7992 de 1991.

COZZOLINO, D. et al. Technical solutions for analysis of grape juice, must, and wine: the role of infrared spectroscopy and chemometrics. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 401, n. 5, p. 1475–1484, 5 abr. 2011a.

COZZOLINO, D. et al. Varietal Differentiation of Grape Juice Based on the Analysis of Near- and Mid-infrared Spectral Data. **Food Analytical Methods**, v. 5, n. 3, p. 381–387, 3 jun. 2011b.

DAL MAGRO, Lucas *et al.* Identification of Bioactive Compounds From *Vitis labrusca* L. Variety Concord Grape Juice Treated With Commercial Enzymes: Improved Yield and Quality Parameters. **Food and Bioprocess Technology**, v. 9, n. 2, p. 365–377, 2016.

DANI, C. Document2 - Suco_de_Uva__componentes_e_beneficios_para_a_sade.pdf, **Suco de Uva: Componentes E Benefícios Para a Saúde**. (n.d.). http://www.sucodeuvadobrasil.com.br/publicacoes/Suco_de_Uva__componentes_e_beneficios_para_a_sade.pdf (accessed March 28, 2016).

DAUD, Z. A. M.; ISMAIL, A.; SARMADI, B. Ascorbic Acid: Physiology and Health Effects A2 - Caballero, Benjamin. *In*: FINGLAS, Paul M.; TOLDRÁ, Fidel (Orgs.). **Encyclopedia of Food and Health**. Oxford: Academic Press, 2016, p. 266–274. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123849472000453>>. Acesso em: 10 mar. 2016.

DE AMORIM, D. A., ROZANE, D. E., DE SOUZA, H. A., MODESTO, V. C., & NATALE, W. (2015). Nitrogen and Potassium Fertilization in “Paluma” Guava Trees: I. Effect. **Revista Brasileira De Fruticultura**, 37(1), 201–209.

DE OLIVEIRA, G.A., DE CASTILHOS, F., RENARD, C.M.-G.C., BUREAU, S. (2014) Comparison of NIR and MIR spectroscopic methods for determination of individual sugars, organic acids and carotenoids in passion fruit, **Food Research International**, v. 60, p. 154–162.

DE SOUZA, Letícia Maria *et al.* (2015) Quantification of adulterations in extra virgin flaxseed oil using MIR and PLS. **Food Chemistry**, v. 182, p. 35–40.

DÍAZ-DE-CERIO, E.; GÓMEZ-CARAVACA, A.M.; VERARDO, V.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A.; SEGURA-CARRETERO, A. Determination of guava (*Psidium guajava* L.) leaf phenolic compounds using HPLC-DAD-QTOF-MS, **Journal of Functional Foods**. 22 (2016) 376–388. doi:10.1016/j.jff.2016.01.040.

EFSA NDA Panel (ESFA Panel on Dietetic Products) Scientific opinion on dietary references values for vitamin C. **European Food Safety Authority Journal** 11(11): 3418-3468, 2013.

EIGENVECTOR Research Inc. (2010) **PLS Toolbox 5.8**. Manson, USA.

EMBRAPA, 2007. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/11888/2/00081370.pdf>>. Acesso em: 9 mar.2016.

EMBRAPA, 2012. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/comunicado/cot137.pdf>>. Acesso em: 08 de maio de 2016.

EMBRAPA, 2003. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Caju/CultivodoCajueiro/>>. Acesso em: 03 de maio de 2016.

ESCUREDO, O. SEIJO, M.C., SALVADOR, J., GONZÁLEZ-MARTÍN, M.I. Near infrared spectroscopy for prediction of antioxidant compounds in the honey. **Food Chemistry**, v. 141, pg 3409-3414, 2013.

ESHGHI, S.; SALEHI, L.; KARAMI, M.J. Antioxidant Activity, Total Phenolic Compounds and Anthocyanin Contents in 35 Different Grapevine (*Vitis vinifera* L.) Cultivars Grown in Fars Province, **International Journal of Horticultural Science and Technology**. 1 (2014) 151–161.

FERNÁNDEZ-ESPINOSA, Antonio J. Combining PLS regression with portable NIR spectroscopy to on-line monitor quality parameters in intact olives for determining optimal harvesting time. **Talanta**, v. 148, p. 216–228, 2016.

FERRAREZI, Alessandra Carvalho; SANTOS, Karina Olbrich dos; MONTEIRO, Magali. Critical assessment of the Brazilian regulations on fruit juices, with emphasis on ready-to-drink fruit juice. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 667–677, 2010.

FERREIRA, M.M.C. **Quimiometria – Conceitos, Métodos e Aplicações**. Campinas, SP. Editora da Unicamp, 2015.

FLORENCIO, Antônio (2014). **Ácido ascórbico (Vitamina C) - uma molécula capaz de salvar vidas**. Disponível em: <<http://www.ensinandoeaprendendo.com.br/quimica/acido-ascorbico-vitamina-c/>>. Acesso em: 27 jun. 2016.

FOGAÇA, Aline De Oliveira; DAUDT, Carlos Eugenio. Potencial fenólico de uvas da variedade merlot e sua correlação com a composição fenólica dos vinhos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, n. 3, p. 578–587, 2015.

FRAIGE, K.; PEREIRA-FILHO, E. R.; CARRILHO, E. Fingerprinting of anthocyanins from grapes produced in Brazil using HPLC–DAD–MS and exploratory analysis by principal component analysis. **Food Chemistry** 2014, 145, 395–403.

FRIZON, C.N.T.; OLIVEIRA, G.A.; PERUSSELLO, C.A.; PERALTA-ZAMORA, P.G.; CAMLOFSKI, A.M.O.; ROSSA, Ü.B.; et al., Determination of total phenolic compounds in yerba mate (*Ilex paraguariensis*) combining near infrared spectroscopy (NIR) and multivariate analysis, **LWT - Food Science and Technology**, 60 (2015) 795–801. doi:10.1016/j.lwt.2014.10.030.

FUJIWARA, T., & HONJO, T. (1995). Determination of Sugar and Acid Contents in Fruit Juice of Satsuma Mandarin by Near Infrared Spectroscopy. **Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi**, 42(2), 109–117.

FUJIWARA, T., & HONJO, T. (1996). Determination of Sugar and Acid Contents in Fruit Juice of Strawberry by Near Infrared Spectroscopy. **Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi**, 43(7), 841–848.

GABRIEL, A. A., CAYABYAB, J. E. C., TAN, A. K. L., COROOK, M. L. F., ABLES, E. J. O., & TIANGSON-BAYAGA, C. L. P. (2015b). Development and validation of a predictive model for the influences of selected product and process variables on ascorbic acid degradation in simulated fruit juice. **Food Chemistry**, 177, 295–303.

GABRIEL, A. A., USERO, J. M. C. L., RODRIGUEZ, K. J., DIAZ, A. R., & TIANGSON-BAYAGA, C. L. P. (2015a). Estimation of ascorbic acid reduction in heated simulated fruit juice systems using predictive model equations. **LWT - Food Science and Technology**, 64(2), 1163–1170.

GAŁUSZKA, A., MIGASZEWSKI, Z., & NAMIEŚNIK, J. (2013). The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 50, 78–84.

GIOXARI, A. *et al.* Phenolic Compounds: Bioavailability and Health Effects A2 - Caballero, Benjamin. In: FINGLAS, Paul M.; TOLDRÁ, Fidel (Orgs.). **Encyclopedia of Food and Health**. Oxford: Academic Press, 2016, p. 339–345. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123849472007741>>. Acesso em: 11 mar. 2016.

GIULIANI, A.; CERRETANI, L.; CICHELLI, A. (2016) Colors: Properties and Determination of Natural Pigments. In: **Encyclopedia of Food and Health**. Oxford: Academic Press, p. 273–283. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123849472001896>>. Acesso em: 27 jun. 2016.

GIUSTI, M.M.; WROLSTAD, R.E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. **Current protocols in food analytical chemistry**. R.E. Wrolstad (Ed.), John Wiley and Sons Inc., New York (2001)

GOLLUCKE, A.P.B.; TAVARES, D.Q. Polifenóis em suco de uva : investigação sobre a estabilidade durante o processo e armazenamento. Disponível em: <<http://www.bibliotecadigital.unicamp.br/document/?code=000400616>>. Acesso em: 11 mar. 2016.

GOMES, G. Consumo de suco de uva integral cresce 43%. Disponível em: <http://jconline.ne10.uol.com.br/canal/economia/nacional/noticia/2014/03/04/consumo-de-suco-de-uva-integral-cresce-43_porcento-119950.php>. Acesso em: 10 mar. 2016.

GONZAGA NETO, L. **Produção de goiaba**. 14ª Semana Internacional da Fruticultura, Floricultura e Agroindústria – FRUTAL. p.10. 2007.

GUSTAVO GONZÁLEZ, A., & ÁNGELES HERRADOR, M. (2007). A practical guide to analytical method validation, including measurement uncertainty and accuracy profiles. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 26(3), 227–238.

GUTIÉRREZ DEVIA, ÁNYELO A. et al. Aplicación de la espectroscopia NIR para la predicción de sólidos solubles en pulpa de guayaba. *Acta Agronómica*, v. 64, n. 2, p. 103–109, 2015.

HALL, Justin N. et al. Global Variability in Fruit and Vegetable Consumption. **American Journal of Preventive Medicine**, v. 36, n. 5, p. 402–409.e5, 2009.

HELL, J.; PRÜCKLER, M.; DANNER, L.; HENNIGES, D.; APPRICH, S.; ROSENAU, T. A comparison between near-infrared (NIR) and mid-infrared (ATR-FTIR) spectroscopy for the multivariate determination of compositional properties in wheat bran samples, **Food Control**. 60 (2016) 365–369. doi:10.1016/j.foodcont.2015.08.003.

HORWITZ, W (Ed.). **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 18 ed. Maryland: AOAC, 2006.

HU, Y., LIU, C., HAO, Q., ZHANG, Q., & HE, Y. (2013). Building Kinetic Models for Determining Vitamin C Content in Fresh Jujube and Predicting Its Shelf Life Based on Near-Infrared Spectroscopy. **Sensors**, 13(11), 15673–15681.

HU, Y.; PAN, Z.J.; LIAO, W.; LI, J.; GRUGET, P.; KITTS, D.D. Determination of antioxidant capacity and phenolic content of chocolate by attenuated total reflectance-Fourier transformed-infrared spectroscopy, **Food Chemistry**. 202 (2016) 254–261. doi:10.1016/j.foodchem.2016.01.130.

HUI, Y.H. **Handbook of Fruits and Fruit Processing**, John Wiley & Sons, 2008.

IBGE. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Rio de Janeiro, 2012a. V. 25 n.08 p.17.

IBGE. **Produção agrícola municipal, culturas temporárias e permanentes**. Rio de Janeiro, 2012b. v. 39, p. 76.

IBRAF - Instituto Brasileiro de Frutas. Disponível em: <<http://www.ibraf.org.br/detalhe.aspx?id=1>>. Acesso em: 3 maio 2016.

IGNAT, T., SCHMILOVITCH, Z., FEFOLDI, J., STEINER, B., & ALKALAI-TUVIA, S. (2012). Non-destructive measurement of ascorbic acid content in bell peppers by VIS-NIR and SWIR spectrometry. **Postharvest Biology and Technology**, 74, 91–99.

ISLAM, M. S.; PATRAS, A.; POKHAREL, B.; WU, Y.; VERGNE, M. J.; SHADE, L.; XIAO, H.; SASGES, M. UV-C irradiation as an alternative disinfection technique: Study of its effect on polyphenols and antioxidant activity of apple juice. **Innovative Food Science & Emerging Technologies** (2016), 34, 344–351.

KI LIN, C. S., A. PFALTZGRAFF, L., HERRERO-DAVILA, L., B. MUBOFU, E., ABDERRAHIM, S., H. CLARK, J., ... LUQUE, R. (2013). Food waste as a valuable resource for the production of chemicals, materials and fuels. Current situation and global perspective. **Energy & Environmental Science**, 6(2), 426–464.

KNOCKAERT, G.; PULISSERY, S.K.; COLLE, I.; VAN BUGGENHOUT, S.; HENDRICKX, M.; LOEY, A.V. Lycopene degradation, isomerization and in vitro bioaccessibility in high pressure homogenized tomato puree containing oil: Effect of additional thermal and high pressure processing, **Food Chemistry**. 135 (2012) 1290–1297. doi:10.1016/j.foodchem.2012.05.065.

KYRALEOU, M.; PAPPAS, C.; VOSKIDI, E.; KOTSERIDIS, Y.; BASALEKOU, M.; TARANTILIS, P.A. Diffuse reflectance Fourier transform infrared spectroscopy for simultaneous quantification of total phenolics and condensed tannins contained in grape seeds, **Industrial Crops and Products**. 74 (2015) 784–791. doi:10.1016/j.indcrop.2015.06.016.

LAMBRI, M.; TORCHIO, F.; COLANGELO, D.; RÍO SEGADE, S.; GIACOSA, S.; DE FAVERI, D. M.; GERBI, V.; ROLLE, L. Influence of different berry thermal treatment conditions, grape anthocyanin profile, and skin hardness on the extraction of anthocyanin compounds in the colored grape juice production. **Food Research International** (2015), 77, Part 3, 584–590.

LEITÃO, João Manuel Martins. **Técnicas quimiométricas de calibração acopladas a metodologias de análise espectrofotométrica de formulações farmacêuticas**. UNIVERSIDADE DE COIMBRA, 2005.

LEMO, T. D. O., PASSOS RODRIGUES, M. D. C., RODRIGUES DE LARA, I. A., SOUZA DE ARAUJO, A. M., GOMES DE LEMOS, T. L., FERNANDES PEREIRA, A. L., & TORRES DE PAULA, L. V. (2015). Modeling the Acceptability of Cashew Apple Nectar Brands Using the Proportional Odds Model. **Journal of Sensory Studies**, 30(2), 136–144.

LEMO, T.O. (2012). Avaliação de blendas de hidrocolóides na estabilização do néctar de caju: aspectos reológicos e sensoriais. Universidade Federal do Ceará. **Doctoral Thesis in Biotechnology**, Fortaleza- CE. Brazil, 191p.

LI, J.; HUANG, W.; ZHAO, C.; ZHANG, B. A comparative study for the quantitative determination of soluble solids content, pH and firmness of pears by Vis/NIR spectroscopy, **Journal of Food Engineering**. 116 (2013) 324–332. doi:10.1016/j.jfoodeng.2012.11.007.

LIMA, M.S.; DUTRA, M.C.P.; TOALDO, I.M.; CORRÊA, L.C.; PEREIRA, G.E.; OLIVEIRA, D. Phenolic compounds, organic acids and antioxidant activity of grape juices produced in industrial scale by different processes of maceration, **Food Chemistry**. 188 (2015) 384–392. doi:10.1016/j.foodchem.2015.04.014.

LIU, Cong; YANG, Simon X.; DENG, Lie. A comparative study for least angle regression on NIR spectra analysis to determine internal qualities of navel oranges. **Expert Systems with Applications**, v. 42, n. 22, p. 8497–8503, 2015.

LIU, M., FU, P., CHENG, R. Non-destructive estimation peach ssc and firmness by mutispectral reflectance imaging. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v.50, 601–608, 2007.

LOHUMI, S.; LEE, S.; LEE, H.; CHO, B-K. A review of vibrational spectroscopic techniques for the detection of food authenticity and adulteration, **Trends in Food Science & Technology**. 46 (2015) 85–98. doi:10.1016/j.tifs.2015.08.003.

LORRAIN, B.; KY, I.; PECHAMAT, L.; TEISSEDRE, P.L. Evolution of analysis of polyphenols from grapes, wines, and extracts, **Molecules**. 18 (2013) 1076–1100. doi:10.3390/molecules18011076.

MABOOD, F., AL-HARRASI, A., BOGUE, R., JABEEN, F., HUSSAIN, J., HAFIDH, A., HIND, K., AHMED, M.A.G., MANZOOR, A., HUSSAIN, H., REHMAN, N.U., IMAN, S.H., SAID, J.J., HAMOOD, S. A. (2015). Determination of sucrose in date fruits (*Phoenix dactylifera* L.) growing in the Sultanate of Oman by NIR spectroscopy and multivariate calibration. **Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, 150, 170–174.

MAGRO, L.D.; GOETZE, D.; RIBEIRO, C.T.; PALUDO, N.; RODRIGUES, E.; HERTZ, P.F. Identification of Bioactive Compounds From *Vitis labrusca* L. Variety Concord Grape Juice Treated With Commercial Enzymes: Improved Yield and Quality Parameters, **Food Bioprocess Technol.** 9 (2015) 365–377. doi:10.1007/s11947-015-1634-5.

MAGWAZA, Lembe Samukelo *et al.* Evaluation of Fourier transform-NIR spectroscopy for integrated external and internal quality assessment of Valencia oranges. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 31, n. 1, p. 144–154, 2013.

MAIA, G. A.; MONTEIRO, J. C. S.; GUIMARÃES, A. C. L.; Estudo da estabilidade físico-química e química do suco de caju com alto teor de polpa. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n.1, p 43-46, 2001.

MANIWARA, P. et al. The use of visible and near infrared spectroscopy for evaluating passion fruit postharvest quality. **Journal of Food Engineering**, v. 143, p. 33–43, dez. 2014.

MARINI, F. Chemometrics A2 - Caballero, Benjamin. *In*: FINGLAS, Paul M.; TOLDRÁ, Fidel (Orgs.). **Encyclopedia of Food and Health**. Oxford: Academic Press, p. 1–9, 2016.

MARTELO-VIDAL, M.J.; VÁZQUEZ, M. Determination of polyphenolic compounds of red wines by UV–VIS–NIR spectroscopy and chemometrics tools, **Food Chemistry**. 158 (2014) 28–34. doi:10.1016/j.foodchem.2014.02.080.

MATSUURA, F.C.A.U., ROLIM, R.B., Avaliação da adição do suco de acerola de suco de abacaxi visando à produção de um “blend” com alto teor vitamina C. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, p. 138-141, 2002.

MELLO, L.M.R. Viticultura Brasileira: panorama 2012. Comunicado Técnico 137. **Embrapa**, p. 1-5, 2013.

MENDES, T.O.; DA ROCHA, R.A.; PORTO, B.L.S.; DE OLIVEIRA, M.A.L.; DOS ANJOS, V.C.; BELL, M.J.V. Quantification of Extra-virgin Olive Oil Adulteration with Soybean Oil: a Comparative Study of NIR, MIR, and Raman Spectroscopy Associated with Chemometric Approaches, **Food Anal. Methods**. 8 (2015) 2339–2346. doi:10.1007/s12161-015-0121-y.

MENDOZA, F., LU, R., ARIANA, D., CEN, H., BAILEY, B. Integrated spectral and image analysis of hyperspectral scattering data for prediction of apple fruit firmness and soluble solids content. **Postharvest Biology and Technology**, v. 62, 149–160, 2011.

Mexico (2009). **Jugos de frutas preenvasados- Denominaciones, especificaciones físicoquímicas, información comercial y métodos de prueba**. Norma Oficial Mexicana NOM-173-SCFI-2009.

MEZARROBA, M. E. P.C.. Extração de antocianina de casca de uva Isabel. **Dissertação de Mestrado**, Universidade Federal de Santa Catarina, 2001.

MORENO-MONTORO, M.; OLALLA-HERRERA, M.; GIMENEZ-MARTINEZ, R.; NAVARRO-ALARCON, M.; RUFIÁN-HENARES, J.A. Phenolic compounds and antioxidant activity of Spanish commercial grape juices, **Journal of Food Composition and Analysis**. 38 (2015) 19–26. doi:10.1016/j.jfca.2014.10.001.

MORGANO, M. A., FARIA, C. G., FERRÃO, M. F., BRAGAGNOLO, N., & FERREIRA, M. M. C. (2005). Determination of protein in raw coffee for NIR spectroscopy and regression PLS. **Food Science and Technology** (Campinas), 25(1), 25–31.

MUSINGARABWI, D.M.; NIEUWOUDT, H.H.; YOUNG, P.R.; EYÉGHÈ-BICKONG, H.A.; VIVIER, M.A. A rapid qualitative and quantitative evaluation of grape berries at various stages of development using Fourier-transform infrared spectroscopy and multivariate data analysis, **Food Chemistry**. 190 (2016) 253–262. doi:10.1016/j.foodchem.2015.05.080.

NICOLAÏ, B. M., BEULLENS, K., BOBELYN, E., PEIRS, A., SAEYS, W., THERON, K. I., & LAMMERTYN, J. (2007). Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: A review. **Postharvest Biology and Technology**, 46(2), 99–118. NOGALES-BUENO, J. et al. Comparative study on the use of anthocyanin profile, color image analysis and near-infrared hyperspectral imaging as tools to discriminate between four autochthonous red grape cultivars from La Rioja (Spain). **Talanta**, v. 131, p. 412–416, jan. 2015a.

NOGALES-BUENO, J. et al. Use of near infrared hyperspectral tools for the screening of extractable polyphenols in red grape skins. **Food Chemistry**, v. 172, p. 559–564, 1 abr. 2015b.

OETTERER, M. **Química de alimentos aula: escurecimento não enzimático curso de graduação**. Disponível em: <<http://www.esalq.usp.br/departamentos/lan/pdf/Quimica%20de%20Alimentos%20-%20Escurecimento%20nao%20enzimatico.pdf>>. Acesso em: 11 mar. 2016.

OIV – Organisation Internationale de la Vigne et du Vin. Recueil des methods internationaux d'analyse des vins et des mouts, édition 2011. 8th Assemblée Générale, 2011.

PARREIRA, THAIS FERNANDA. **Utilização de métodos quimiométricos em dados de natureza multivariada**. UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, 2003.

PÁSCOA, R.N.M.J.; MACHADO, S.; MAGALHÃES, L.M.; LOPES, J.A. Value Adding to Red Grape Pomace Exploiting Eco-friendly FT-NIR Spectroscopy Technique, **Food Bioprocess Technol.** 8 (2014) 865–874. doi:10.1007/s11947-014-1454-z.

PAZ, M.; GÜLLON, P.; BARROSO, M.F.; CARVALHO, A.P.; DOMINGUES, V.F.; GOMES, A.M. Brazilian fruit pulps as functional foods and additives: Evaluation of bioactive compounds, **Food Chemistry**. 172 (2015) 462–468. doi:10.1016/j.foodchem.2014.09.102.

PAZ, P., SANCHEZ, M.T., PEREZ-MARIN, D., GUERRERO, J.E., GARRIDO-VARO, A. Nondestructive determination of total soluble solid content and firmness in plums using near-infrared reflectance spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, 2565–2570, 2008.

PIRILLO, C.P.; SABIO, R.P. **100% Suco, nem tudo é suco nas bebidas de frutas**. Hortifruti Brasil, 2009. Disponível em <http://www.cepea.esalq.usp.br/hfbrasil/edicoes/81/mat_capa.pdf>. Acesso em: 23 de março de 2015.

PISSARD, A., FERNÁNDEZ PIERNA, J. A., BAETEN, V., SINNAEVE, G., LOGNAY, G., MOUTEAU, A., DUPONT, P., RONDIA, A., LATEUR, M. (2013). Non-destructive measurement of vitamin C, total polyphenol and sugar content in apples using near-infrared spectroscopy. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 93(2), 238–244.

POMMER, C. V.; BARBOSA, W. (2009). The impact of breeding on fruit production in warm climates of Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 2, p. 612–634.

REID, L. M. et al. Differentiation of apple juice samples on the basis of heat treatment and variety using chemometric analysis of MIR and NIR data. **Food Research International**, v. 38, n. 10, p. 1109–1115, dez. 2005.

RIBEIRO, L.F. **Uso de espectroscopia no infravermelho e análise multivariada para a previsão de ácidos graxos em linhaça dourada e marrom**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Paraná, 2012.

RIBEIRO, L.F.; RIBANI, R.H.; FRANCISCO, T.M.G.; SOARES, A.A.; PONTAROLO, R.; HAMINIUK, C.W.I. Profile of bioactive compounds from grape pomace (*Vitis vinifera* and *Vitis labrusca*) by spectrophotometric, chromatographic and spectral analyses, **Journal of Chromatography B**. 1007 (2015) 72–80. doi:10.1016/j.jchromb.2015.11.005.

RODRIGUEZ-SAONA, L. E., FRY, F. S., MCLAUGHLIN, M. A., & CALVEY, E. M. (2001). Rapid analysis of sugars in fruit juices by FT-NIR spectroscopy. **Carbohydrate Research**, 336(1), 63–74.

ROMERA-FERNÁNDEZ, M. *et al.* Feasibility study of FT-MIR spectroscopy and PLS-R for the fast determination of anthocyanins in wine. **Talanta**, v. 88, p. 303–310, 2012.

ROPODI, A.I.; PANAGOU, E.Z.; NYCHAS, G.J.E. Data mining derived from food analyses using non-invasive/non-destructive analytical techniques; determination of food authenticity, quality & safety in tandem with computer science disciplines, **Trends in Food Science & Technology**, 50 (2016) 11–25. doi:10.1016/j.tifs.2016.01.011.

RUSLAN, R., EHSANI, R., & LEE, W. S. (2012). Quantification of Total Soluble Solids and Titratable Acidity for Citrus Maturity Using Portable Vis-Nir Spectroradiometer. **Applied Engineering in Agriculture**, 28(5), 735–743.

SÁNCHEZ, M.-T., DE LA HABA, M. J., BENÍTEZ-LÓPEZ, M., FERNÁNDEZ-NOVALES, J., GARRIDO-VARO, A., & PÉREZ-MARÍN, D. (2012). Non-destructive characterization and quality control of intact strawberries based on NIR spectral data. **Journal of Food Engineering**, 110(1), 102–108.

SANTO, Rafael do Espírito. Principal Component Analysis applied to digital image compression. **Einstein (São Paulo)**, v. 10, n. 2, p. 135–139, 2012.

SANTOS, n. 27 De Agosto De 2014 at. **Consumo do suco de uva integral aumentou 400% | A Vindima**. Disponível em: <<http://www.avindima.com.br/?p=3266>>. Acesso em: 28 mar. 2016.

SAUTTER, C. K. et al. Determinação de resveratrol em sucos de uva no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 3, p. 437–442, 2005.

SEBRAE. **O cultivo e o mercado da uva | Sebrae**. Disponível em: <<http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/O-cultivo-e-o-mercado-da-uva>>. Acesso em: 9 mar. 2016.

SHAO, Y., & HE, Y. (2007). Nondestructive measurement of the internal quality of bayberry juice using Vis/NIR spectroscopy. **Journal of Food Engineering**, 79(3), 1015–1019.

SHARMA, K.; KO, E.Y.; ASSEFA, A.D.; HA, S.; NILE, S.H.; LEE, E.T. Temperature-dependent studies on the total phenolics, flavonoids, antioxidant activities, and sugar content in six onion varieties, **Journal of Food and Drug Analysis**, 23 (2015) 243–252. doi:10.1016/j.jfda.2014.10.005.

SHIBAMOTO, Takayuki; BJELDANES, Leonard F. Capítulo 2 - Determinação de Agentes Tóxicos Presentes nos Alimentos. *In: Introdução à Toxicologia de Alimentos (Segunda Edição)*. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda., 2014, p. 31–50.

SHIROMA, C., RODRIGUEZ-SAONA, L., Application of NIR and MIR spectroscopy in quality control of potato chips, **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 22, p. 596–605, 2009.

SILVA, Marília Lordêlo Cardoso *et al.* Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 669–682, 2010.

SILVA, R.N., MONTEIRO, V.N., ALCANFOR, J.D.X., ASSIS, E.M., ASQUIERI, E.R., Comparação de Métodos para a Determinação de açúcares redutores e totais em mel. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, n. 3, p. 337-341, set.-dez. 2003

SILVERSTEIN, R.M., WEBSTER, F.X., KIEMLE, D.J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. Editora LTC, 7 ed., 2006.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic – phosphotungstic acid reagents, **American Journal of Enology and Viticulture**. 16 (1965) 144-158.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. Princípios de análise instrumental. 5.ed. São Paulo: **Bookman**, 2002.

SNYDER, A. B. et al. Rapid authentication of concord juice concentration in a grape juice blend using Fourier-Transform infrared spectroscopy and chemometric analysis. **Food Chemistry**, v. 147, p. 295–301, 15 mar. 2014.

SOUZA FILHO, M.M., ARAGÃO, A.O., ALVES, R.E., FILGUEIRAS, H.A.C., **Aspectos da colheita, pós-colheita e transformação industrial do pedúnculo do caju (*Anacardium occidentale* L.)**. EMBRAPA Agroindústria Tropical, 2002.

SPAIN (2005). **Norma general del codex para zumos (jugos) y néctares de frutas**. Codex STAN 247-2005.

STEVENS, J. W.; BAIER, W. E. (1939) Refractometric Determination of Soluble Solids in Citrus Juices. **Ind. Eng. Chem. Anal.**, 11 (8), 447–449.

SUN, Xudong *et al.* (2012) NIR Spectroscopy and Least Square Support Vector Machines Regression for Determination of Vitamin C of Mandarin Fruit. **Sensor Letters**, v. 10, n. 1–2, p. 506–510.

THE MATH WORKS Inc. (2009) **Matlab 7.8**. Natick, USA.

TOALDO, I.M.; CRUZ, F.A.; DE L. ALVES, T.; DE GOIS, J.S.; BORGES, D.L.G.; CUNHA, H.P. Bioactive potential of *Vitis labrusca* L. grape juices from the Southern Region of Brazil: Phenolic and elemental composition and effect on lipid peroxidation in healthy subjects, **Food Chemistry**. 173 (2015) 527–535. doi:10.1016/j.foodchem.2014.09.171.

VAN DUYN, Mary ANN S; PIVONKA, ELIZABETH. Overview of the Health Benefits of Fruit and Vegetable Consumption for the Dietetics Professional: Selected Literature. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 100, n. 12, p. 1511–1521, 2000.

VIEGAS, Thayna R. *et al.* Determination of quality attributes in wax jambu fruit using NIRS and PLS. **Food Chemistry**, v. 190, p. 1–4, 2016.

VINCENTE, A. R. et al. Chapter 5 - Nutritional Quality of Fruits and Vegetables A2 - Florkowski, Wojciech J. In: SHEWFELT, R. L.; BRUECKNER, B.; PRUSSIA, S. E. (Eds.). **Postharvest Handling (Third Edition)**. San Diego: Academic Press, 2014. p. 69–122.

WANG, A.; XIE, L. Technology using near infrared spectroscopic and multivariate analysis to determine the soluble solids content of citrus fruit, **Journal of Food Engineering**. 143 (2014) 17–24. doi:10.1016/j.jfoodeng.2014.06.023.

WANG, Z.-W., DUAN, H.-W., & HU, C.-Y. (2009). Modelling the respiration rate of guava (*Psidium guajava* L.) fruit using enzyme kinetics, chemical kinetics and artificial neural network. **European Food Research and Technology**, 229(3), 495–503.

XIAOWEI, H.; XIAOBO, Z.; JIEWEN, Z.; JIYONG, S.; XIAOLEI, Z.; HOLMES, M. Measurement of total anthocyanins content in flowering tea using near infrared spectroscopy combined with ant colony optimization models, **Food Chemistry**. 164 (2014) 536–543. doi:10.1016/j.foodchem.2014.05.072.

XIE, L., YE, X., LIU, D., & YING, Y. (2009). Quantification of glucose, fructose and sucrose in bayberry juice by NIR and PLS. **Food Chemistry**, 114(3), 1135–1140.

XU, C.; ZHANG, Y.; CAO, L.; LU, J. Phenolic compounds and antioxidant properties of different grape cultivars grown in China, **Food Chemistry**. 119 (2010) 1557–1565. doi:10.1016/j.foodchem.2009.09.042.

YAMAMOTO, L.Y.; DE ASSIS, A.M.; ROBERTO, S.R.; BOVOLENTA, Y.R.; NIXDORF, S.L.; GARCÍA-ROMERO, E. Application of abscisic acid (S-ABA) to cv. Isabel grapes (*Vitis vinifera* × *Vitis labrusca*) for color improvement: Effects on color, phenolic composition and antioxidant capacity of their grape juice, **Food Research International**. 77, Part 3 (2015) 572–583. doi:10.1016/j.foodres.2015.10.019.

YAO, Y., CHEN, H., XIE, L., & RAO, X. (2013). Assessing the temperature influence on the soluble solids content of watermelon juice as measured by visible and near-infrared spectroscopy and chemometrics. **Journal of Food Engineering**, 119(1), 22–27.

YUAN, L., SUN, L., CAI, J., & LIN, H. (2015). A Preliminary Study on Whether the Soluble Solid Content and Acidity of Oranges Predicted by Near Infrared Spectroscopy Meet the Sensory Degustation. **Journal of Food Process Engineering**, 38(4), 309–319.

ZHANG, D., HAMAUZU, Y. Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. **Food Chemistry**, London, v. 88, p. 503-509, 2004.

ZHANG, Ziling *et al.* Structural characterization, α -glucosidase inhibitory and DPPH scavenging activities of polysaccharides from guava. **Carbohydrate Polymers**, v. 144, p. 106–114, 2016.

ZHOU, X., YANG, Z., HAUGHEY, S. A., GALVIN-KING, P., HAN, L., & ELLIOTT, C. T. (2015). Classification the geographical origin of corn distillers dried grains with solubles by near infrared reflectance spectroscopy combined with chemometrics: A feasibility study. **Food Chemistry**, 189, 13–18.

ZIELINSKKI, A.A.F., ÁVILA S., ITO V., NOGUEIRA, A., WOSIACKI, G., HAMINIUK, C.W.I. (2014). The association between chromaticity, phenolics, carotenoids, and In vitro

antioxidant activity of frozen fruit pulp in Brazil: An application of Chemometrics. **Journal of Food Science**, Vol. 79, n 4, 2014.

ANEXO I



Elem C. <elem.carames@gmail.com>

Fwd: Thank you for your submission to Journal of Food Composition and Analysis

1 mensagem

jpallone@fea.unicamp.br <jpallone@fea.unicamp.br>
 Para: "Elem C." <elem.carames@gmail.com>

30 de junho de 2016 14:09

----- Mensagem encaminhada -----

From: Journal of Food Composition and Analysis <jfca.elsevier@gmail.com>
 To: jpallone@unicamp.br
 Cc:
 Date: 30 Jun 2016 18:08:28 +0100
 Subject: Thank you for your submission to Journal of Food Composition and Analysis
 Dear Prof. Pallone,

Your submission entitled "Quality control of cashew apple and guava nectar by near infrared spectroscopy." has been received by Journal of Food Composition and Analysis

All manuscripts submitted to Journal of Food Composition and Analysis are evaluated before a decision is made concerning whether or not to send the paper to peer review, based on technical criteria and language. The status "Submitted to Journal" indicates that your paper is undergoing the initial technical check. When the manuscript has passed this technical check it will be given a number and assigned to an Editor. Please also be advised that all papers are now being processed using Cross-Check software (iThenticate).

For exceptional questions (e.g. a table or figure accidentally left out of the submission which you would like to have uploaded into your file; an author name unintentionally left out; other corrections to the text; etc.), please contact the Managing Editor at jfca.elsevier@gmail.com

Thank you for choosing this journal to submit your work.

With best regards,

Elsevier Editorial System
 Journal of Food Composition and Analysis

The URL is: <http://ees.elsevier.com/jfca/>.

Your Username is: Your username is: jpallone@unicamp.br

If you need to retrieve password details, please go to: http://ees.elsevier.com/JFCA/automail_query.asp

ANEXO II

Gmail - A manuscript number has been assigned: FOODRES-D-16-01478 <https://mail.google.com/mail/u/0/?ui=2&ik=f0721d6a8c&view=pt&scar...>



Elem C. <elem.carames@gmail.com>

A manuscript number has been assigned: FOODRES-D-16-01478

1 mensagem

Food Research International <fri@uoguelph.ca>
Para: elem.carames@gmail.com

8 de junho de 2016 21:02

Ms. Ref. No.: FOODRES-D-16-01478
Title: RAPID ASSESSMENT OF TOTAL PHENOLIC AND ANTHOCYANIN CONTENTS IN GRAPE JUICE USING INFRARED SPECTROSCOPY AND MULTIVARIATE CALIBRATION
Food Research International

Dear Mrs. Elem Tamirys dos Santos Caramês,

Your submission entitled "RAPID ASSESSMENT OF TOTAL PHENOLIC AND ANTHOCYANIN CONTENTS IN GRAPE JUICE USING INFRARED SPECTROSCOPY AND MULTIVARIATE CALIBRATION" has been assigned the following manuscript number: FOODRES-D-16-01478.

You may check on the progress of your paper by logging on to the Elsevier Editorial System as an author. The URL is <http://ees.elsevier.com/foodres/>.

Your username is: elem.carames@gmail.com

If you need to retrieve password details, please go to: http://ees.elsevier.com/foodres/automail_query.asp

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Food Research International

Anderson de Souza Sant'Ana, Ph.D.
Editor-in-Chief

For further assistance, please visit our customer support site at <http://help.elsevier.com/app/answers/list/p/7923>. Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions and learn more about EES via interactive tutorials. You will also find our 24/7 support contact details should you need any further assistance from one of our customer support representatives.