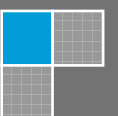


Aplicació de l'Espectroscòpia del Infraroig Proper en la Qualitat dels Aliments

Hasana Dkhissi El Bali
Tutora: Elena Albanell
Treball de Fi de Grau



ÍNDEX

1. Introducció.....	1
2. Fonament de l'espectroscòpia del infraroig proper.....	1
2.1.Radiació electromagnètica.....	1
2.2.Vibracions moleculars.....	2
2.3.Mesura de la radiació absorbida.....	3
2.4.Espectres d'absorció.....	4
3. Estructura i funcionament dels aparells NIRS.....	4
4. Tipus de mesures	6
5. Calibratge.....	6
6. Aplicacions del NIRS en la qualitat dels aliments.....	7
7. Avantatges i inconvenients.....	11
8. Conclusions.....	11
9. Bibliografia.....	12

1. Introducció

L'espectroscòpia del infraroig proper (NIRS) ha sigut molt estudiada des del seu descobriment, per tal de millorar-la dia a dia. Fins hi tot avui dia es segueixen realitzant estudis per tal de demostrar la seva gran utilitat i eficàcia en la mesura de diferents paràmetres.

Descoberta per Frederick William Herschel al 1800, en fer incidir llum a un prisma i observa com les longituds d'ona posteriors al visible feien augmentar la temperatura d'un termòmetre. L'anàlisi de la composició orgànica va ser rebutjada inicialment, perquè les bandes dels espectres electromagnètics eren dèbils i els pics d'absorció eren amples i es superposaven, això dificultava molt la interpretació dels resultats. No va ser fins a finals del 1960 quan Karl Norris quan treballava pel departament d'agricultura dels Estats Units, buscava nous mètodes per determinar la humitat dels productes agrícoles. En l'estudi del NIRS Norris va abandonar la mesura per transmitància, ja que no s'obtenien bons resultats i va iniciar la mesura per reflectància difusa, obtenint grans resultats i aportant un gran avanç a la tecnologia NIRS. La mesura de la reflectància difusa va permetre a Karl Norris mesurar la humitat dels aliments sense la necessitat de realitzar un tractament previ a les mostres, i així evitar la seva destrucció.

La tecnologia NIRS s'ha desenvolupat de forma ampla en diversos sectors com són el de l'alimentació, el tèxtil, el químic i el farmacèutic, etc.

L'alimentació és un sector molt important en el qual es realitzen una gran quantitat d'anàlisis diàriament, per tal d'assegurar la qualitat i la seguretat dels aliments, es per això que es necessari el desenvolupament de tècniques que ajudin a la realització d'anàlisis de forma ràpida però que siguin precises i exactes. La tecnologia NIRS s'ha utilitzat en la determinació de molts paràmetres com són la humitat, els lípids, proteïnes, hidrats de carboni, entre d'altres en diversos tipus d'aliments.

2. Fonament de l'espectroscòpia del infraroig proper.

2.1. Radiació electromagnètica.

La radiació electromagnètica esta formada per diversos espectres electromagnètiques que inclouen els raigs gamma, els raigs X, les ultraviolades, el visible, els infrarojos, els

microones i la radio freqüència, els quals es diferencien segons la longitud i l'amplada de l'ona. La regió del infraroig es divideix en tres regions segons la longitud d'ona a la qual es treballa (Figura1); infraroig proper (NIR; 750-2.500 nm), infraroig mig (MIR: 2.500-25.000 nm) i infraroig llunyà (25.000-100.000 nm), anomenades segons la seva proximitat amb la llum visible.

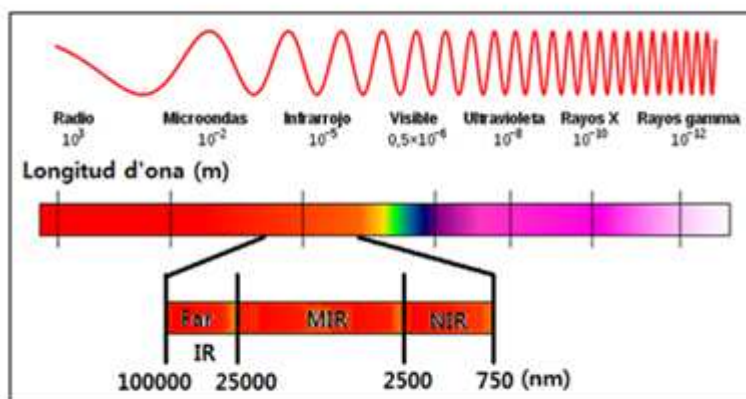


Figura 1: Espectre electromagnètic.

2.2. Vibracions moleculars

L'espectroscòpia del infraroig proper es basa en la mesura de la radiació reflectida per la matèria, després de fer incidir sobre aquesta radiació electromagnètica amb una longitud d'ona de entre 750 nm als 2500 nm (NIR). Les absorcions de radiació d'una molècula és produeixen quan els enllaços d'aquesta modifiquen la seva distribució de les carregues, produint moviments de rotació i vibració. No tots els enllaços vibren de la mateixa manera i tampoc necessiten la mateixa energia perquè es produeixin les vibracions, per això absorbeixen a diferents longituds d'ona. Per tant segons l'energia necessària per vibrar, l'absorció dels enllaços serà diferent, i obtindrem diferents pics en l'espectre. Les absorcions en l'infraroig es produeixen principalment per grups funcionals que contenen un àtom d'hidrogen unit a un carboni, un nitrogen o un oxigen. En el cas d'enllaços entre àtoms iguals no s'altera el moment dipolar i per tant no es produeixen vibracions. A la taula 1 és mostren exemples d'absorcions d'enllaços que formen alguns components i la longitud d'ona a la qual ho fan.

Taula 1: Absorcions dels enllaços de components que formen els aliments.

Component	Absorbent	Longitud d'ona (nm)
Aigua	Combinació de la tensió i deformació –OH.	1.920 – 1.950
	Tensió –OH.	1.400 – 1.450
Proteïnes: pèptids	Deformació –NH.	2.080 – 2.220 i 1.560 – 1.670
Lípids	Tensió –CH dels metilens	2.300- 2.350
	Tensió –CH ₂ i –CH ₃ .	1.680 – 1.760
Hidrats de carboni	Combinació de les tensions C – O i O – H.	2.060- 2.150

2.3. Mesura de la radiació absorbida

La quantitat de radiació absorbida per l'aliment, es determina mitjançant la mesura de la reflectància o la transmitància, ja que la radiació incidida en una mostra no es absorbida en la seva totalitat sinó que part de ella es reflectida, un altre es absorbida i un altre transmesa, com s'observa a la figura 2.

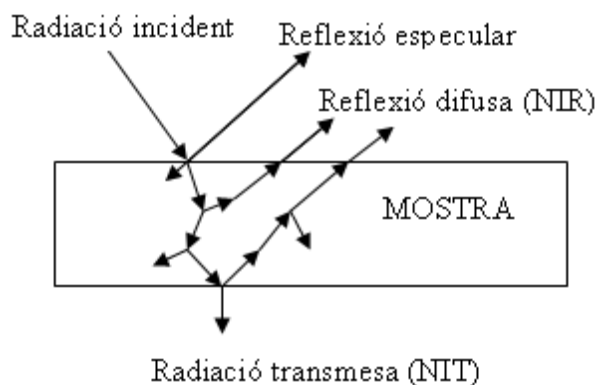


Figura 2: Dispersió de la radiació al incidir en una mostra.

La radiació reflectida es produeix en la superfície del aliment (reflexió especular) i en els enllaços de les molècules (reflexió difusa), aquesta ultima es l'única que aporta informació sobre la mostra. També es pot realitzar la mesura de la radiació transmesa, aquesta sol ser utilitzada en productes líquids i poc densos òpticament, ja que els productes òpticament densos no permeten el pas de la radiació a través de la mostra (NIT). Mitjançant la utilització de formules que relacionen l'absorbància i la reflectància/transmitància s'obté la radiació absorbida per la mostra.

$A = \log (1/R)$, R = Reflectància (intensitat de la radiació reflectida des de la mostra a una determinada longitud d'ona / intensitat de la radiació reflectida des de la referència a una determinada longitud d'ona).

$A = \log (1/T)$, T = Transmitància (Intensitat de la radiació incident / Intensitat de la radiació emesa).

2.4. Espectres d'absorció

Els espectres d'absorció permeten visualitzar les absorpcions dels enllaços que absorbeixen radiació en un aliment i a quina longitud d'ona ho fan (Figura 3). Segons la quantitat de radiació absorbida s'observaran pics de diferents amplades i altures, que permeten la identificació quantitativa i qualitativa d'un analit.

Els espectres d'absorció en la regió del NIRS tendeixen a ser dèbils en intensitat, amb la qual cosa les bandes amb insuficient intensitat no s'observen, això és positiu ja que les bandes amb una intensitat major si s'observen, aquestes bandes són dels grups funcionals que contenen C – H, N – H, C – O, O – H constituents principals dels aliments. (Ashurst i Dennis, 1998)

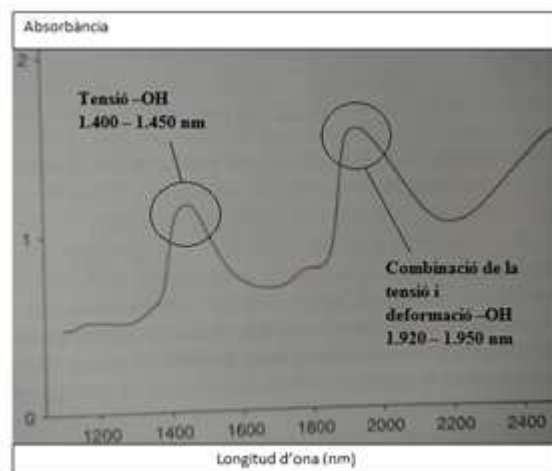


Figura 3: Espectre d'absorció de l'aigua.

3. Estructura i funcionament dels aparells NIRS.

Els aparells NIRS han de tenir com a mínim una font de radiació per tal que és produeixin les vibracions dels enllaços, un detector de la radiació difusa no absorbida i un programa informàtic, pel processament i la interpretació de resultats. La Figura 4 mostra l'estructura interna d'un aparell NIRS simple.

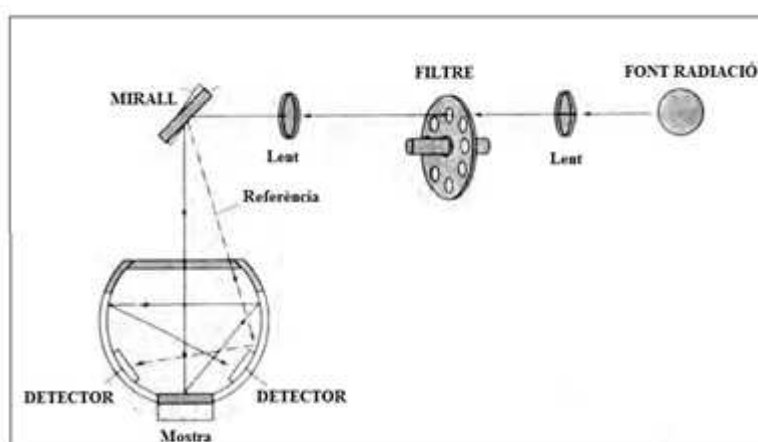


Figura 4: Estructura interna d'un espectròmetre de l'infraroig proper.

Font de radiació

La font de radiació més utilitzada són les làmpades halògenes de tungstè amb finestra de quars, ja que permeten la utilització de tot el rang de la regió NIR a una elevada intensitat d'emissió amb una radiació continua, aquests aporten una major informació espectral, també s'utilitzen dispositius semiconductors que treballen a longituds d'ona més estrets, aquests són els LEDs (díodes de llum emissora).

Filtres

La radiació electromagnètica s'ha de descompondre per tal de poder treballar amb longituds d'ona discretes. S'utilitzen dos tipus d'instruments per la descomposició de llum, els monocromadors i els interferòmetres.

Els monocromadors permeten l'obtenció de radiació electromagnètica monocromàtica mitjançant la utilització d'elements dispersants (reixes de dispersió).

Els interferòmetres consisteix en la utilització de dos miralls (un fix i l'altre mòbil) amb els quals es realitza un moviment de desplaçament que permet l'obtenció de longituds d'ona discretes. S'obtenen més longituds d'ona discretes que en els monocromadors, però tenen menys estabilitat i reproductibilitat. Hi ha dos tipus NIRS optoacústic (AOTF), que obté longituds d'ona discretes mitjançant l'excitació d'un cristall d'òxid de tel·luri i NIRS per transformada de Fourier (FT), que utilitza una làmpada de Michelson.

Detectors

La mesura de la radiació difusa es realitza mitjançant detectors, aquests es poden col·locar a 45° respecte la radiació incident, per evitar la mesura de la radiació especular. També s'utilitzen esferes d'integració, consisteix en una esfera metàl·lica recoberta d'or i que integra els detectors al seu interior. En aquest cas la radiació difusa no va directament als detectors sinó sobre l'esfera i aquesta es qui la guia cap els detectors (Figura 5).

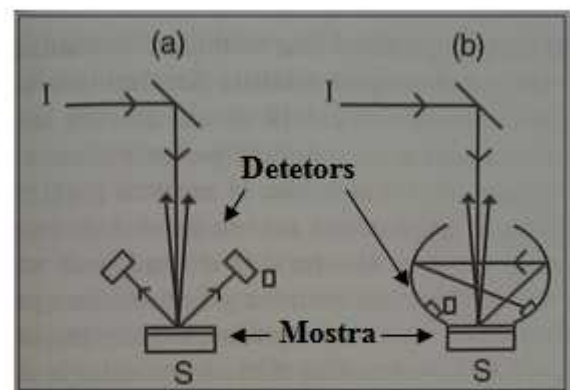


Figura 5: Detectors amb sensor a 45° (a) i detectors d'esferes d'integració (b).

4. Tipus de mesures

La mesura de mostres amb NIRS es pot realitzar tant al laboratori com pot ser integrada en els processos de producció.

- Mesura al laboratori: Selecció de mostres representatives de tot un lot per la mesura del analit d'interès. No permet realitzar anàlisis de tot el lot, tot i que l'anàlisi d'una mostra es realitza en poc temps.
- Anàlisis *atline*: La mesura de la mostra es realitza a la mateixa planta de processat, no s'ha de portar fins al laboratori. Permet realitzar més mesures que si es trobes al laboratori.
- Anàlisis *online*: El NIRS es troba integrat en el procés de producció, no es necessària la presa de mostres, ja que es realitza de forma automàtica la desviació de mostra per ser mesurada. Aquest tipus d'anàlisis es utilitza per la correcció de desviacions en el procés amb la utilització de sondes de fibra òptica.
- Anàlisis *inline*: El NIRS s' integra en el procés utilitzant fibra òptica, però en aquest cas la mesura es realitza de forma continua a totes les mostres d'un lot, i no es necessària la presa de mostres ja que tot el lot és analitzat.

5. Calibratge

L'espectroscòpia del infraroig proper necessita de ser calibrat prèviament per a cada tipus d'aliment i per cada component del aliment que es vulgui mesurar. La realització del calibratge es fa mitjançant la utilització de tècniques d'anàlisi convencional, d'aquesta manera s'obtenen mostres de les quals es coneix la concentració de l'analit i a partir d'aquí s'elabora un model matemàtic per calibrar l'aparell, també s'ha de seleccionar la longitud d'ona adequada per la mesura de l'analit. Un cop calibrat, el NIRS ha de ser validat mitjançant la comparació dels resultats obtinguts d'una mostra amb els obtinguts amb una tècnica convencional.

6. Aplicacions del NIRS en la qualitat dels aliments

La qualitat dels aliments ve definida per un conjunt de paràmetres mesurables, els quals aporten un nivell de satisfacció a les necessitats dels consumidors. Segons el grau de satisfacció de les necessitats, els aliments poden ser de baixa qualitat, qualitat mitja o d'elevada qualitat.

Les empreses alimentaries busquen donar als seus productes la màxima qualitat, ja que la qualitat dels aliments esta directament relacionada amb el seu valor econòmic. Per tal de garantir la qualitat dels productes, aquests han de complir amb uns requisits específics preestablerts. Els requisits preestablerts poden ser diversos en cada aliment i poden variar segons l'aliment, però en general tots són una sèrie de paràmetres químics, els quals han de trobar-se dins d'uns valors d'acceptació segons la qualitat que es busca en el producte.

La mesura dels diferents paràmetres químics per cada aliment suposa un cost elevat, ja que cada un dels paràmetres a mesurar necessita del seu mètode de mesura específic, en el qual es necessiten diversos productes químics, un tractament previ de la mostra i temps per realitzar cada anàlisi. L'espectroscòpia de l'infraroig proper mitjançant la mesura de les absorbàncies dels enllaços presents en l'aliment determinen la composició de diversos compostos químics a la vegada en un aliment i en poc temps, realitzant mesures tant qualitatives com quantitatives.

Un exemple molt clar de la necessitat del NIRS és la mesura del contingut de proteïnes amb el mètode Kjeldhal, aquest consisteix en realitzar una digestió a l'aliment, el qual té un temps de tractament elevat i se li afegixen diferents reactius químics perillosos. El temps d'espera pot ser un problema quan es una matèria primera el que s'analitza i s'ha d'esperar als resultat abans de poder començar a processar, i en el cas que es produeixi un error, l'anàlisi s'ha de repetir i aquest temps d'espera pot ser més elevat, provocant pèrdues a l'empresa. L'espectroscòpia del infraroig proper mesura en poc temps el contingut en proteïna i evita els temps d'espera. Pastas Gallo utilitza l'espectroscòpia de l'infraroig proper en la classificació del blat segons la composició de proteïna i fibra amb un NIRS *inline*, ja que els facilita la classificació segons la qualitat del blat de forma ràpida i fiable.

El fet que el NIRS sigui un aparell de fàcil utilització i que no necessita d'una formació específica, pot ser utilitzat pels operaris i així realitzar els anàlisis *atline*. A Nestlé són els mateixos operaris els que determinen el percentatge de humitat al cafè amb un aparell NIRS, mantenint la humitat dins d'uns valors d'acceptació per assegurar la qualitat del seu cafè.

A més de reduir el temps d'anàlisis, també permet la mesura dels paràmetres de qualitat sense haver de destruir el producte, això és important quan la destrucció del producte suposa una pèrdua de diners important, com en el cas de pernils de denominació d'origen, el anàlisis d'aquest suposa la seva destrucció. Mitjançant la utilització del NIRS amb sondes de fibra òptica es pot realitzar la mesura dels paràmetres de la qualitat sense haver de destruir el producte.

Altres paràmetres de qualitat mesurables amb NIRS de gran interès per la indústria, són la detecció de frauds i la maduresa de fruites entre d'altres;

- **Detecció de frauds**

Els frauds en alimentació són una realitat que es produeix contínuament, ja que les empreses busquen vendre productes de baix cost a un cost més elevat per sortir-ne beneficiades.

Un dels problemes per la eficaç detecció de frauds és la falta de tecnologies fiables que et permetin realitzar els anàlisis de forma ràpida, ja que les matèries primes utilitzades per elaborar el producte fraudulent són molt semblants a les que conté el producte original, no és poden detectar a simple vista i pràcticament no són percebuts de forma organolèptica, per això la seva detecció es complicada.

La tecnologia NIRS permet la detecció d'aquests frauds d'una forma ràpida, fiable i eficaç. A més de detectar el frau (qualitativament) permet detectar la quantitat de matèria prima que s'ha afegit fraudulentament.

Exemples de productes adulterats;

Productes carnis

Els productes carnis són un dels productes que pateixen moltes adulteracions, ja que les carns tenen diferent valor econòmic segons l'espècie, l'edat del animal, etc. Les barreges de carns, addicions de farines o llet en pols son un dels frauds més comuns. Estudis com el

que van dur a terme Ding i Xu (2000), en el qual van demostrar l'eficàcia de la utilització de l'espectroscòpia de l'infraroig proper amb la utilització de mostres d'hamburgueses de vedella adulterades amb carn de xai, carn de porc, llet en pols desnatada i farina de blat. A més de la determinació de l'adulteració van desenvolupar equacions de calibratge per a la mesura del nivell d'adulteració, d'aquesta manera a més de poder detectar l'adulteració amb una precisió de fins el 92,7% també permet predir el nivell d'adulteració amb un error de entre el 0,6 y 4,6% (Ding and Xu, 2000.).

En els espectres es pot veure com es produeix canvis de posició en els pics dels espectres de les mostres adulterades. Els pics que es troben entre els 1360 i 1840 nm estan relacionats amb la quantitat de proteïnes (1er pic) i la quantitat de greix (2n pic), el pic que es troba entre els 1840 i 2320 es relaciona amb la quantitat d'aigua i els pics posteriors als 2320 nm es relacionen amb els hidrats de carboni (Figura 6). També es van veure en altres espectres no mostrats com a mesura que l'adulteració era major els canvis eren majors.

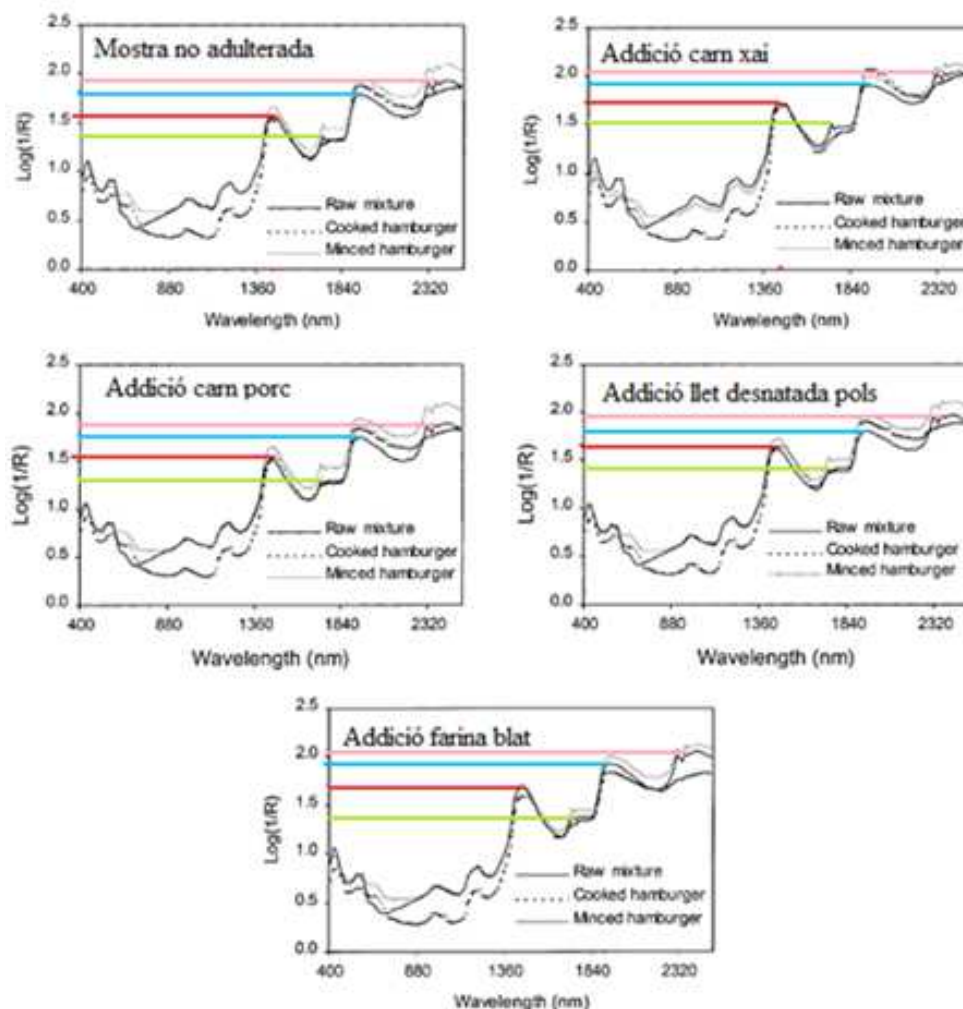


Figura 6: Variació del espectre de la carn de vedella segons l'adulterant afegit.

Oli oliva verge extra

L'oli d'oliva verge extra es també dels productes més adulterats amb olis de llavors degut al elevat preu de l'oli d'oliva i al baix preu de l'oli de llavors, això a més de ser un frau pot suposar un perill per la salut pública, ja que l'oli és un producte perible que s'altera fàcilment, per això es important la mesura de la qualitat dels olis.

S'han realitzat diversos estudis on s'ha demostrat la capacitat de l'espectroscòpia del infraroig proper per la detecció de la presència d'altres tipus d'olis en l'oli d'oliva, també s'han realitzat estudis amb resultats favorables per quantificar la quantitat d'oli afegida (Chrysty *et al.*, 2004).

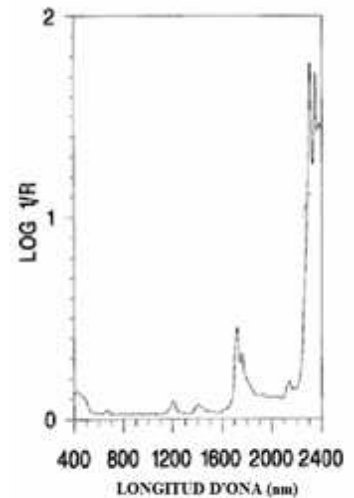


Figura 7: Espectre de l'oli d'oliva verge extra.

Els espectres d'absorció son com les empremtes digitals, es a dir son característiques de cada aliment, per això quan es modifica la composició els espectres es modifiquen (Figura 7).

- Maduració

La possibilitat de determinar la maduració de les fruites abans de realitzar la recol·lecció de la fruita permet l'obtenció de productes de bona qualitat, ja que la maduració depèn de les condicions ambientals i encara que la fruita tingui el color adequat es possible que encara no sigui madura, es a dir el anàlisi visual no garanteix que el producte estigui madur.

La mesura de la maduració amb paràmetres químics a l'arbre suposa de gran ajuda als agricultors que han de prendre la decisió de quan s'ha de realitzar la col·lecta, evitant així collites excessivament madures o que encara no es troben en el seu punt òptim de maduresa.

Sánchez *et al.* (2013) van realitzar un estudi en el qual es va demostrar que la tecnologia NIRS es una tècnica viable per la mesura de paràmetres de qualitat. Mitjançant la mesura de paràmetres interns (acidesa, contingut en sòlids y índex de maduresa) i externs (textura, color, grandària, pes i rendiment) amb mètodes tradicionals a taronges durant la seva maduració al arbre i a taronges després de la seva col·lecta.

En el sector de l'enologia el NIRS pot arribar a ser una gran eina imprescindible, per la mesura de forma objectiva del temps òptim de collita del raïm. D'aquesta manera s'assegura sempre l'obtenció d'un producte amb la mateixa qualitat.

7. Avantatges i inconvenients

Avantatges

- La tecnologia NIRS és una tècnica no destructiva, ja que permet la mesura de la qualitat sense la necessitat d'un tractament previ de la mostra.
- La rapidesa de la mesura i el fet de no haver de tractar la mostra prèviament disminueix el temps de mesura de les mostres, això implica una disminució de costos.
- Disminueix la contaminació medi ambiental, ja que no són necessaris la utilització de reactius químics.
- La repetició dels anàlisis es pot realitzar de forma fàcil i en poc temps.
- L'anàlisi d'un paràmetre a més de realitzar-se al laboratori pot ser realitzat al camp.
- Hi ha menys errors degut a que durant l'anàlisi no es produeixen pèrdues de mostra.
- Baix cost de manteniment.

Inconvenients

- Necessita d'una inversió inicial, ja que l'equip és car.
- El calibrat inicial es específic de cada analit i aliment.

8. Conclusions

La introducció del NIRS a la indústria alimentaria ha suposat un gran avanç entre els mètodes utilitzats. La seva fàcil aplicació, permet ser utilitzada per avaluar la qualitat de tot tipus d'aliments, degut a la rapidesa, l'eficàcia i la fiabilitat del aparell, a mes de permetre identificar i quantificar més d'un analit a la vegada.

La investigació contínua del NIRS per tal d'aconseguir un calibrat que pugui ser utilitzat en diferents analits i aliments, mostra com aquest mètode es de gran interès per les indústries.

9. Bibliografia

- Ding, H. B. and Xu, R. J. 2000. Near-Infrared Spectroscopic Technique for Detection of Beef Hamburger Adulteration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*: 48, 2193-2198.
- Cen, H. and He, Y. 2007. Theory and application of near infrared reflectance spectroscopy in determination of food quality. *Food Science & Technology*,18: 72-83.
- Sánchez, M.T., Haba, M. J., Serrano, I. and Marín, D. P. 2013. Application of NIRS for Nondestructive Measurement of Quality Parameters in Intact Oranges During On-Tree Ripening and at Harvest. *Food Anal. Methods*, 6: 826-837.
- Almeida, G.C. i Tomàs, F.J. 1999. Tècnica NIRS: aplicació en el control de qualitat. *Tecnologia i ciència dels aliments*, 3: 53 – 56.
- Chrysty, A.A., Kasemsumran, S., Du, Y. and Ozaki, Y. 2004. The detection and quantification of adulteration olive oil by Near-Infrared Spectroscopy and chemometrics. *Analytical sciences*, 20: 935 - 940.
- McClure, W.F. 2003. 204 years of near infrared technology: 1800 – 2003. *Near Infrared Spectroscopy*, 11: 487 – 518.
- Pasquini, C., 2003. Near Infrared Spectroscopy: Fundamentals, Practical Aspects and Analytical Applications. *J. Braz. Chem. Soc.*,14 : 198 – 219.
- Kartheek, M. Smith, A.A., Muthu, A. K., and Manavalan, R. 2011. Determination of Adulterants in Food. *J. Chem. Pharm. Res.*, 3:629-636.
- Ubina Flores Rojas, K. 2009. Determinación no destructiva de parámetros de calidad de frutas y hortalizas mediante espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano”. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba. Córdoba.
- Sierra Sánchez, V. 2010. Evolución post-mortem de parámetros indicativos de calidad en carne de vacuno: efecto de la raza y el gen de la hipertrofia muscular. Universidad de Oviedo. Oviedo.
- Da-wen Sun. 2009. *Infrared Spectroscopy for food quality analysis and control*. First edition. Elsevier. Dublin. 424.
- Ashurst, P.R. and Dennis, M.J. 1998. *Analytical methods of food authentication*. First edition. Blackie academic & professional. London. 357.