

# Aplicación de la espectroscopia NIR para la predicción de sólidos solubles en pulpa de guayaba

## Application of NIR spectroscopy for the prediction of soluble solids in guava pulp

Anyelo Andrey Gutiérrez Devia<sup>1</sup>, Jaime Eduardo Muñoz Flórez<sup>1</sup>, John Eiver Belalcázar Martínez<sup>2</sup>, Dora Mónica Ibarra Espinosa<sup>1</sup>, Álvaro Caicedo Arana<sup>3</sup> y Creuci María Caetano<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Colombia, facultad de Ciencias Agropecuarias. Palmira, Valle del Cauca, Colombia; <sup>2</sup>Laboratorio de Calidad RTB – CIAT Palmira.; <sup>3</sup>Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – Corpoica, Centro de Investigación Palmira, Valle del Cauca, Colombia. Autor para correspondencia: anyeloandreygd@yahoo.es

Rec.: 03.10.2013 Acep.: 19.05.2014

### Resumen

Utilizando la técnica NIRS (espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano) se realizó la predicción de sólidos solubles en pulpa de guayaba (*Psidium guajava* L.) y (*Psidium friedrichsthalianum*) sobre 92 muestras en dos estados de madurez de la fruta. Cada fruto fue procesado hasta obtener la fracción comestible en la cual se determinó el contenido de sólidos solubles (%). De esta fracción se tomaron dos submuestras que fueron escaneadas en el espectrofotómetro NIR en un rango entre 400 y 2500 nm. Para la calibración se generaron modelos de regresión mediante MPLS (mínimos cuadrados parciales modificados) en un rango entre 1108 y 2498.2 nm. Para la elección del modelo final de calibración del NIR se consideraron como criterios el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) y la desviación residual predictiva (RPD). Para establecer la existencia de diferencias entre los resultados obtenidos por el método primario o de referencia y los de NIR se realizó un análisis de varianza y prueba de medias mediante el programa estadístico SAS v 9.0. Los resultados mostraron una alta capacidad de predicción del modelo ( $R^2 = 0.990$ ) entre las mediciones primarias y las de NIR. El valor de RPD fue 6.20, que indica una excelente precisión de la predicción. Entre las estimaciones por NIR y primarias no se presentaron diferencias significativas, pero sí se observaron entre muestras.

**Palabras clave:** Espectroscopia en el infrarrojo cercano, °brix, calibración, guayaba

### Abstract

Prediction of soluble solids in pulp of 92 samples of guava (*Psidium guajava* L.) and (*Psidium friedrichsthalianum*) in two maturity stages was made by using NIRS technique (near infrared reflectance spectroscopy). Each fruit was processed to obtain the edible fraction in which it was determined the soluble solids content (%). Two subsamples were taken and scanned in NIR spectrophotometer at the range of 400 to 2500 nm. Calibration regression models were generated by using MPLS (modified partial least squares) at the range of 1108 - 2498.2 nm. For the choice of the final model of the NIR calibration the criteria considered were the coefficient of determination ( $R^2$ ) and the residual predictive deviation (RPD). Analysis of variance and mean test employing the statistical program SAS v 9.0 were realized in order to establish differences in the results obtained by the primary or reference method and NIR. The results showed a high predictive power of the model ( $R^2 = 0.990$ ) when compared the primary and NIR measurements. The RPD value was 6.20, indicating excellent prediction accuracy. Primary estimates and NIR not showed significant differences. However there were significant differences at level of samples.

**Keywords:** Near infrared spectroscopy, °brix, calibration, guava

## Introducción

El guayabo (*Psidium guajava* L.) es originario de Centroamérica (García, 2011). Su fruto, la guayaba, de agradable sabor y riqueza nutritiva, presenta alto contenido en vitamina C (ácido ascórbico) la cual es importante para la salud y en la industria alimentaria (Rosa *et al.*, 2007). Su fruta se destina principalmente para consumo en fresco y a nivel industrial para la elaboración de néctares, mermeladas, jaleas y concentrado para la industria de los dulces y panadería, entre otros (García, 2011).

La producción mundial de guayaba es aproximadamente de 1.2 millones de toneladas cada año (Yam *et al.*, 2010). En Colombia la producción nacional en el 2011 fue de 121,773 t en un área cosechada de 12,196 ha y un rendimiento promedio de 9985 kg/ha (MADR, 2012). Esta alta producción debe ser acompañada por la búsqueda de herramientas analíticas más específicas que las tradicionales en el control de la calidad y el monitoreo de procesos compatibles con el medio ambiente (Siesler, 2008). Una de ellas es la técnica de espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS), considerada en los últimos años como la más adecuada para el control de calidad del producto final elaborado y de las materias primas utilizadas en la industria agroalimentaria. Como NIR se conoce la zona del infrarrojo cercano (zona del espectro electromagnético) situada al final de la zona visible y al comienzo de la zona infrarroja media, cuyo espectro se caracteriza por presentar bandas o absorciones en la región de 700 a 2500 nm. Los espectros infrarrojos están constituidos por la representación gráfica de la energía absorbida en función de la longitud de onda (Bergera *et al.*, 2006).

Con la espectroscopia NIR se irradia una muestra en un rango de longitud de onda. Esta radiación es transmitida o reflejada, dependiendo de los procesos de vibración, dispersión y absorción, asociados con la composición química de la muestra (Nicolai *et al.*, 2007). La técnica NIRS permite hacer calibraciones para muchos productos y componentes, siempre que se disponga de análisis físico-químicos de referencia precisos

y confiables. Su éxito se atribuye, en gran parte, a la habilidad para realizar análisis rápidos (cuantitativos y cualitativos) de diversos componentes de una muestra, con un mínimo de preparación. Las etapas básicas en la aplicación de esta técnica incluyen la adquisición de datos, calibración, validación y análisis de rutina, dentro de las cuales la de mayor importancia y complejidad corresponde a la calibración del equipo (Bergera *et al.*, 2006).

Las aplicaciones más recientes de la técnica NIRS han tenido lugar en los sectores relacionados con medio ambiente, farmacia, cosmética, biología, medicina, industrias químicas, petroquímicas, textiles y actualmente para la estimación de parámetros de calidad en múltiples productos y derivados de la industria agroalimentaria (Bergera *et al.*, 2006; Jimaré *et al.*, 2008).

En guayaba se han realizado pocos estudios con el uso de esta técnica, Chananirami-phon *et al.* (2011) desarrollaron un sistema para la determinación exacta del contenido de antioxidantes (fenólicos) y sólidos solubles totales mediante NIRS. Aswanti (2009) efectuó la determinación de sólidos solubles totales utilizando reflectancia en el infrarrojo cercano. Hsieh y Lee (2005), mediante la aplicación de espectroscopia de infrarrojo cercano/visible estimaron el contenido de azúcar y la firmeza de frutos de guayaba variedad Pearl.

El objetivo de la presente investigación fue predecir los sólidos solubles en pulpa de guayaba mediante la técnica NIRS, utilizando frutos de introducciones procedentes del Banco de Germoplasma de Corpoica Palmira, fincas de productores, supermercados y algunas silvestres.

## Materiales y métodos

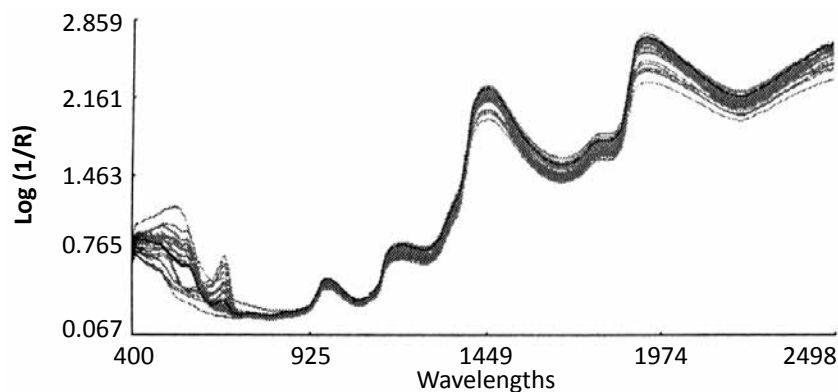
Los análisis de las muestras se desarrollaron en los Laboratorios de Biología Molecular y Fisiología Vegetal de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira. Para la calibración se tomaron muestras con diferencias altas en sólidos solubles de (*Psidium guajava* L.) y (*Psidium friedrichsthalianum*) incluyendo 16 variedades y dos grados de madurez (pre-maduros y maduros), para generar así mayor

variación en el rango de la variable de respuesta. Las muestras fueron suministradas por el Banco de Germoplasma de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica) en Palmira, ubicado a 965 m.s.n.m, con temperatura media de 25 °C, precipitación 1000 mm/año y humedad relativa de 73%; y fincas de productores, supermercados y árboles silvestres de guayaba.

El total de frutos incluidos en el análisis de sólidos solubles fue 92, los cuales fueron acondicionados, de forma individual, en el laboratorio a temperatura ambiente mediante limpieza, lavado, secado, trozado, picado, triturado y mezclado, con eliminación de las semillas. Los sólidos solubles fueron analizados en dos submuestras de pulpa por cada fruto utilizando un refractómetro digital portátil Atago modelo PAL-1, según la NTC 4624 de 1999, y fueron depositadas en celdas de cuarzo, realizando el escaneo en

modo de reflectancia difusa mediante el software ISIScan v. 4.0 de FOSS. Para obtener las huellas espectrales se utilizó un equipo XDS near - infrared Rapid Content Analyzer XM 1100 Series con Monochromator type XM-1000.

A partir de la información obtenida por el método convencional, referencia o primario, y los espectros generados por el NIR, correspondientes a las longitudes de onda comprendidas entre 400 y 2500 nm, se generaron modelos de regresión mediante MPLS (mínimos cuadrados parciales modificados) utilizando el software WinISI v. 1.60 de FOSS. Para la calibración de sólidos solubles, del rango espectral amplio en el que se realizaron las lecturas (longitud de onda completa) (Figura 1), se eligió el comprendido entre 1108 y 2498.2 nm, debido a la mayor estabilidad observada y al bajo ruido que produce.



**Figura 1.** Espectros obtenidos para pulpa de guayaba mediante espectroscopia NIR entre 400 y 2500 nm.

Se utilizaron 47 muestras seleccionadas por presentar mejor tendencia a la linealidad y mayor RPD (desviación residual predictiva). Se probaron cinco modelos de calibración, combinando tratamientos matemáticos. En dichas combinaciones, el primer término indica el orden de derivación (primera y segunda derivada, para reducir problemas por causa del tamaño de partícula); el segundo (Gap) se refiere a la distancia entre segmentos a sustraer; el tercero indica la longitud del segmento que debe ser suavizado (Smoot-1) y el último dígito representa

el número de veces que se promedia cada segmento (Smoot-2).

Para corregir problemas ópticos y la tendencia de los datos, los espectros fueron tratados mediante las técnicas matemáticas SNV (Standard Normal Variate), y/o Detrend, respectivamente. Para la elección del modelo final de calibración del NIR se consideraron como criterios el coeficiente de determinación  $R^2$  y la RPD; por ser esta última, según Arana *et al.* (2008) un buen indicador de la capacidad predictiva y robustez del modelo. Para la variable sólidos solubles se hizo un análisis

de varianza con nivel de significancia de 5%, mediante el programa estadístico SAS v 9.0 para estimar si existía o no efecto, tanto del método analítico utilizado (referencia o NIR) así como de las muestras. Los promedios se compararon con la prueba de Rango Múltiple de Duncan.

## Resultados y discusión

Entre los generados, el modelo de calibración 4 fue el que presentó el mejor ajuste para estimar el contenido de sólidos solubles en

pulpa de guayaba. Éste presentó un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 0.994 y una desviación residual predictiva (RPD) de 6.195 (Cuadro 1), lo que indica su alta capacidad predictiva y robustez, ya que de acuerdo con Arana *et al.* (2008) cuanto más alto es el valor de la RPD, mayor será la capacidad del modelo de calibración para predecir con exactitud los valores del parámetro de referencia. Según Nicolai *et al.* (2007) una RPD superior a 2.5, corresponde a una excelente precisión de la predicción.

**Cuadro 1.** Modelos de calibración MPLS probados y parámetros estadísticos para contenido de sólidos solubles (%) en pulpa de guayaba en el rango 1108 - 2498.2 nm.

Modelo de calibración	Tratamiento matemático	Media	D.E.	SECV	$R^2$	r	RPD
1	Correctivo: SNV y Detrend 2,6,6,2	10.008	1.623	0.492	0.973	0.986	3.296
2	Correctivo: SNV y Detrend 1,6,6,2	10.022	1.628	0.326	0.986	0.993	4.997
3	Correctivo: SNV y Detrend 1,6,6,1	10.007	1.472	0.281	0.966	0.983	5.242
4	Correctivo: SNV 1,8,8,2	10.009	1.489	0.240	0.994	0.997	6.195
5	Correctivo: SNV 1,6,6,1	9.900	1.302	0.331	0.975	0.987	3.937

MPLS: mínimos cuadrados parciales modificados - modified partial least squares. SNV: standard normal variate. D.E: desviación estándar. SECV: error estándar de validación cruzada - standard error of cross validation  $R^2$ : coeficiente de determinación. r: coeficiente de correlación. RPD: desviación residual predictiva. SNV y Detrend: son técnicas matemáticas de variación normal.

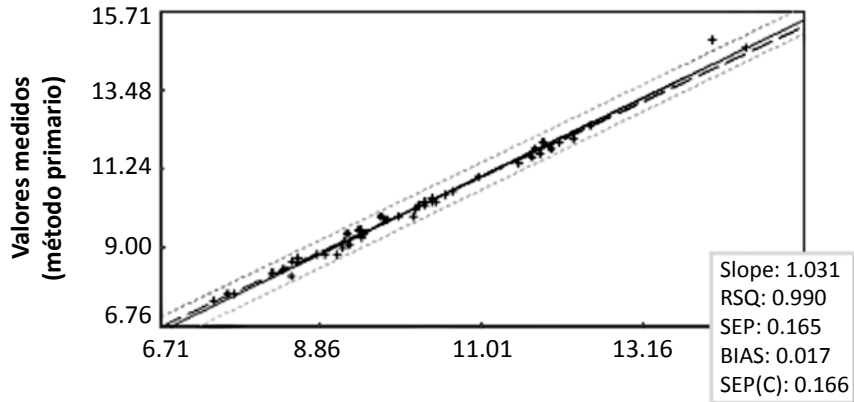
El coeficiente de determinación ( $R^2$ ) del modelo para pulpa de guayaba fue superior al reportado por Hsieh y Lee (2005) de 0.896 utilizando un modelo de calibración MPLS y al 0.98 encontrado por Chananiramitphon *et al.* (2011) en frutos de guayaba enteros. Estas diferencias posiblemente estén relacionadas con la corteza de los frutos, que en la guayaba presenta por lo general superficie rugosa con células duras, lo cual podría incidir negativamente en las lecturas obtenidas durante el escaneo del fruto entero, como lo demostraron Barahona *et al.* (2008) trabajando con melocotón tardío (*Prunus pérsica* L. Batsch), que presenta distorsión de los espectros al reflejar, los tricomas, la luz incidente y la señal captada del fruto entero durante el escaneo.

Los valores de comparación entre las mediciones primarias y las predicciones NIR para estimar los contenidos de sólidos solubles (%) en pulpa de guayaba se incluyen en el Cuadro 2 y la Figura 2. El valor del error estándar de predicción (SEP) fue 0.165 °brix, inferior al obtenido por Hsieh y Lee (2005) de 0.721 °brix. Este bajo valor de SEP indica que el modelo de calibración 4 permite predecir con un bajo nivel de incertidumbre, el contenido de sólidos solubles en pulpa de guayaba. Los resultados del análisis de varianza y la comparación de medias (Cuadro 3) indican que no existen diferencias entre las mediciones para sólidos solubles realizadas por la metodología primaria o de referencia y las hechas por NIR. No obstante, las diferencias a nivel de mues-

tras de pulpa de guayaba fueron altamente significativas ( $P \leq 0.01$ ) como consecuencia de la variabilidad de pulpas provenientes de frutos con dos grados de madurez, especies y las diferentes variedades.

El método desarrollado mediante el modelo de calibración MPLS puede ser utilizado para estimar el contenido de sólidos solubles en pulpa de guayaba, debido a su capacidad

de predicción por sus valores de  $R^2$  y RPD, sensibilidad, confiabilidad, rápido análisis y bajo costo. Puede ser una técnica interesante para estudiar la dinámica de los sólidos solubles en las variedades de ensayo de acuerdo con la edad del fruto, comparar variedades, grados de madurez, cambios después de la cosecha y en programas de selección y mejoramiento de las especies de guayaba.



**Figura 2.** Valores de predicción NIR vs. Valores de mediciones primarias para estimar el contenido de sólidos solubles (%) en pulpa de guayaba.

**Cuadro 2.** Comparación entre las mediciones primarias y las predicciones NIR para estimar el contenido de sólidos solubles (%) en pulpa de guayaba.

No.	Método primario	Predicción NIR	Desviación	No.	Método primario	Predicción NIR	Desviación
1	9.100	9.235	-0.135	25	8.800	9.062	-0.262
2	9.000	9.140	-0.140	26	9.300	9.395	-0.095
3	8.800	8.909	-0.109	27	11.400	11.489	-0.089
4	8.600	8.476	0.124	28	11.800	11.710	0.090
5	11.700	11.777	-0.077	29	12.000	11.825	0.175
6	11.600	11.667	-0.067	30	10.300	10.380	-0.080
7	10.200	10.155	0.045	31	10.500	10.507	-0.007
8	10.100	10.115	-0.015	32	11.000	10.955	0.045
9	10.300	10.334	-0.034	33	10.600	10.614	-0.014
10	10.400	10.336	0.064	34	8.800	8.792	0.008
11	10.200	10.236	-0.036	35	8.400	8.343	0.057
12	10.300	10.334	-0.034	36	7.700	7.700	-0.000
13	11.800	11.920	-0.120	37	8.700	8.552	0.148
14	12.100	12.228	-0.128	38	8.800	8.901	-0.101
15	9.900	9.889	0.011	39	9.400	9.200	0.200
16	10.300	10.228	0.072	40	9.900	9.654	0.246
17	9.200	9.178	0.022	41	9.800	9.731	0.069
18	9.500	9.359	0.141	42	9.100	9.220	-0.120
19	12.000	12.022	-0.022	43	9.400	9.429	-0.029
20	12.500	12.446	0.054	44	7.500	7.425	0.075
21	14.700	14.526	0.174	45	7.700	7.608	0.092
22	14.900	14.075	0.825	46	8.200	8.453	-0.253
23	9.500	9.380	0.120	47	8.300	8.203	0.097
24	9.900	10.080	-0.180				

**Cuadro 3.** Análisis de varianza y prueba de medias para sólidos solubles en pulpa de guayaba.

FV	GL	CM
Muestras	46	5.05**
Método	1	0.007 ns
Error	46	0.014
Media (%)	—	10.08
CV (%)	—	1.16
Media Lab.(%)	—	10.09 a•
Media NIR. (%)	—	10.07 a

FV: fuentes de variación. GL: grados de libertad. CM: cuadrado medio. ns = P ( $\alpha > 0.05$ ) \*\* = P ( $\alpha < 0.01$ ). Lab: datos laboratorio (método de referencia o primario). NIR: datos NIR.

•Promedios con la misma letra no son diferentes estadísticamente (P > 0.05).

## Conclusiones

- Se desarrolló un modelo de calibración en NIR con capacidad para medir con exactitud el contenido de sólidos solubles en pulpa de guayaba, como muestran el alto coeficiente de determinación  $R^2 = 0.994$ , la alta desviación residual predictiva (RPD = 6.195) y el bajo error estándar de predicción (SEP = 0.165 °brix). Esta técnica permitió diferenciar entre materiales genéticos, por lo cual puede ser usada en programas de selección y mejoramiento de especies.

## Agradecimientos

A. María Luisa Cortés González, Carlos Iván Cardozo Conde, David Gustavo Parra, Jairo Antonio Arcos, Adriana Valencia, Paula Andrea Rugeles Silva, Mauricio Espinal Ruíz, Hugo Mario Reyes, Ayda Henríquez, Eberto Rodríguez, Luis Carlos Mayor, Adelmo Lozano, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - Corpoica Palmira, Dirección de Investigación Palmira (DIPAL), Centro Experimental Universidad Nacional Palmira (CEUNP) de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira.

## Referencias

Arana, I.; Jarén, C.; Arazuri, S.; y Riga, P. 2008. Caracterización de parámetros de calidad en

tomate fresco mediante espectroscopia en el infrarrojo cercano. En: Oria Almudí, R. *et al.* (eds). Avances en maduración y pos-recolección de frutas y hortalizas. Zaragoza. Acribia S.A. p. 246-251.

Aswanti, 2009. Determination of total soluble solid of guava by using near infrared reflectance. Thesis bachelor of sciences with a major in food technology. Swiss German University. Island of Java, Indonesia. Disponible en <http://www.sgu.ac.id/library/garuda/read.php?code=620.23-01-2014>.

Barahona, S.; Díaz, A.; Val, J.; y Blanco, A. 2008. Espectroscopia NIR como método no destructivo de determinación de parámetros de calidad del fruto en melocotón tardío de Calanda y en Miraflores. En: Oria Almudí, R *et al.* (eds). Avances en maduración y post-recolección de frutas y hortalizas. Zaragoza. Acribia S.A. p. 211-215.

Bergera, G.; Jaren, C.; y Arazuri, S. 2006. Introducción a la espectroscopia de infrarrojo cercano en la horticultura. Hort. Intern. 52:58-62.

Chananimritphon, D.; Rittiron, R.; y Thaipong, K. 2011. A high accuracy system for analysis of antioxidant (phenolics) and total soluble solids content in guava fruits by NIRs technique. Agric. Sci. J. 42 (1):307-310.

Escobar, T. W. 2004. Evaluación de la colección de trabajo de guayaba (*Psidium guajava* L.) del ICA - Corpoica en Palmira, Valle del Cauca. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira. Palmira, Valle, Colombia. 248 p.

García, M. 2011. Guía técnica del cultivo de la guayaba. Programa MAG-CENTA-Frutales. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal. El Salvador. Impresos Múltiples. 27 p.

Hsieh, C. y Lee, Y. 2005. Applied visible/near-infrared spectroscopy on detecting the sugar content and hardness of pearl guava. Appl. Eng. Agric. 21(6):1039 - 1046

Icontec (Instituto Colombiano de Normas Técnicas). 1999. NTC 4624. Jugos de frutas y hortalizas. Determinación del contenido de sólidos solubles. Bogotá. Método refracto-métrico. Icontec. 9 p.

Jimaré, M. T.; Bosch, C.; y Sánchez, F. 2008. Química analítica de procesos. Aplicaciones de la espectrometría de absorción en el infrarrojo cercano al análisis de biocombustibles y al análisis de alimentos. An. Quím. 104(4):290 - 301.

MADR (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural). 2012. Anuario estadístico de frutas y hortalizas 2007 - 2011 y sus calendarios de siembras y cosechas. Resultados evaluaciones agropecuarias municipales 2011. Disponible en: <http://www.agronet.gov.co/www/htm3b/public/anuario/>

- anuario%20estadistico%20de%20frutas%20y%20hortalizas%202011.pdf. 18-09-2014
- Nicolai, B. M.; Beullens, K.; Bobelyn, E.; Peirs, A.; Saeys, W.; Theron, K.; y Lammertyn, J. 2007. Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: a review. *Postharvest Biol. Technol.* 46(2):99 - 118.
- Rosa, J. S.; Godoy, R. L.; Oiano, J.; Campos, R.; Matta, V. M.; Freire, C. A.; Silva, A. S.; y Souza, R. S. 2007. Desenvolvimento de um método de análise de vitamina C em alimentos por cromatografia líquida de alta eficiência e exclusão iônica. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 27(4):837 - 846.
- Siesler, H. W. 2008. Basic principles of near-infrared spectroscopy. En: Burns, D. A. y Ciurczak, E. W. *Handbook of Near-Infrared Analysis. Practical Spectroscopy Series Volume 35.* 3 ed. EE.UU. CRC Press. p. 7-19.
- Yam, J. A.; Villaseñor, C. A.; Romantchik, E.; Soto, M.; y Peña, M. A. 2010. Una revisión sobre la importancia del fruto de guayaba (*Psidium guajava* L.) y sus principales características en la poscosecha. *Cien. Téc. Agropec.* 19(4):74 - 82.