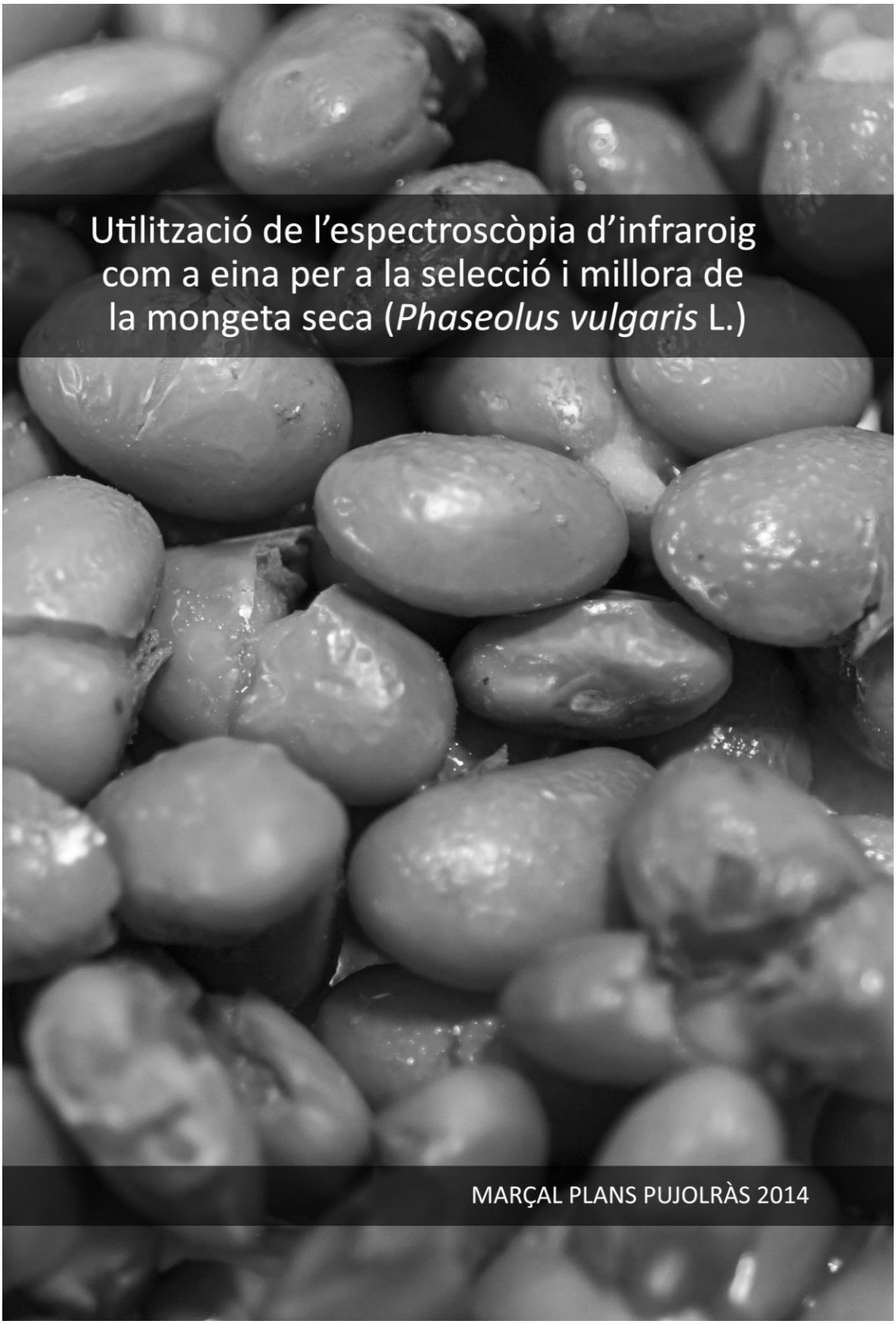

Utilització de l'espectroscòpia d'infraroig com a eina per a la selecció i millora de la mongeta seca (*Phaseolus vulgaris* L.)

MARÇAL PLANS PUJOLRÀS 2014

Marçal Plans Pujolràs
Tesi doctoral de la Universitat Politècnica de Catalunya
Castelldefels, Maig de 2014
mplans50@hotmail.com

Utilització de l'espectroscòpia d'infraroig com a eina per a la selecció i millora de la mongeta seca (*Phaseolus vulgaris* L.)

Autor
Marçal Plans Pujolràs
Per optar al títol de
Doctor per la Universitat Politècnica de Catalunya
Castelldefels, maig de 2014

Tesi realitzada sota la direcció del Dr. José Sabaté Reboll
al Departament d'Enginyeria Agroalimentària i Biotecnologia
Universitat Politècnica de Catalunya
Programa de Doctorat en Tecnologia Agroalimentària i Biotecnologia

Als meus pares

Agraïments

Agraïments

Sempre he pensat que he sigut un afortunat i que la gent que m'ha envoltat és qui m'ho ha fet ser. En aquest llarg camí han passat molts coses que m'han fet ser qui sóc avui. La història que em porta fins aquí no comença el dia que decideixo de fer el doctorat, sinó que s'inicia molt abans. Vull donar les gràcies a tota la gent que ha estat al meu costat en aquesta etapa que ara conclou, ja que crec que tots ells hi han tingut un paper molt especial. Espero que en aquestes ratlles em sigui possible donar-los aquest reconeixement.

A en Josep Sabaté, director de la tesis. Per donar-me l'oportunitat de realitzar junts aquest projecte i acompanyar-me durant tots aquest anys.

A en Francesc Casañas, l'investigador de la "bota". Per donar-me l'oportunitat d'aprendre en un món totalment desconegut per a mi com és la millora vegetal, així com tot el que suposa compaginar el camp amb el laboratori. Pel suport econòmic que durant tots els anys m'ha donat a través de la Fundació Miquel Agustí (FMA) tot i els mals moments econòmics .

A en Luis Rodriguez-Saona, Lucho, per donar-me l'oportunitat d'estar aquest dos anys i escaig a la Universitat Estat de Ohio (OSU). Es difícil d'explicar en paraules el canvi radical a la meva vida que això ha suposat.

Als professors Jordi Comas, Antoni Almirall, Isabel Achaerandio, Jaume Puy i Ferran Gatius. D'en Jordi, he après a apassionar-me pels números, m'ha fet entendre els problemes des d'altres punts de vista. Agrair al professor Almirall les llargues converses en el cotxe o els moments d'esbarjo, d'on he pogut aprendre tantes i tantes coses. A la Isabel per ajudar-me a fer possible el somni de marxar als USA. A Jaume Puy i Ferran Gatius per obrir-me les portes d'aquest apassionant món de la quimiometria.

Als amics de la Fundació. Ana (Futura Dra. Mongeta), Aurora, Carme, Dani (El Mongetero), J. Simó (Dr. Calçot), J. Casals (Dr. Tomàquet), Nando, Roca i Roser. Moltes gràcies per fer més amenes les llargues estades a l'oficina i ajudar-me en totes les innumerables tasques realitzades.

Als amics de l'escola i companys d'oficina. Ari, Clara, Cristina, Graciela, els Jordis, Maria, "Moha", Miriam, Olga, les Sheiles, Rivia i Xavi. Estar envolat de tant intel·lecte m'ha fet crèixer com a investigador i com a persona.

Als amics de tota la vida. Esther, Joan, Roger, Jordi, Carlos ("Litros"), Xavi. Què seria de mi sense vosaltres.

Als amics del bàsquet. Aleix, Saurí, Deme, Jordis, Joan, Xavi, Majoral, Pavón, Xus, Rafael i especialment el que ja no està entre nosaltres, però que sempre hi és en les nostres ments. Tots vosaltres m'heu fet créixer com a persona.

Als amics de l'UPC, UdL i Lleida. Manet, Andrés, Laura, Raga, Amalia, Kati, Pau, Oriol, Olga, Mariona, Secund, Marta. Moltes gràcies i a seguir vivint.

Els amics de Vilamajor: Raul, Núria, Jorge, Montse, Juan, Marta, família Méndez i Sandra. Molt especialment a la família Mendez i a la Sandra, sense vosaltres tot això no hauria sigut possible, us portaré sempre en un racó especial del meu cor.

Com he començat en els agraïments, aquesta història comença molt abans del que un es pot imaginar. Per això, vull agrair a en Sergi el suport durant les etapes a Uniquema, actualment CRODA, i molt especialment a en Rufí, que va ser el que ho va embolicar tot i en definitiva m'ha portat on avui sóc.

A la Neda, "*thank you for all your support during the lasts years and for making my live easy in this new country, without you this experience would have been incomplete"*.

A la família, peça clau per a la realització aquesta tesi i que dona sentit a la vida. Crec que mai no us podré retornar tot el que m'heu donat durant tots aquests anys. Als meus pares, Maria Teresa i Joan, tot el que pugui escriure aquí no reflectiria tot el que us estimo. Al meu germà Albert, Gemma i a les bessones, Núria i Abril, no sé com us he pogut tenir tant lluny durant tant de temps, espero que en el futur puguem compartir més temps junts.

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA
BARCELONATECH
Escola de Doctorat

Acta de qualificació de tesi doctoral

Curs acadèmic: 2013/2014

Nom i cognoms
Marçal Plans Pujolràs

Programa de doctorat
Tecnologia Agroalimentària i Biotecnologia

Unitat estructural responsable del programa
Departament d'Enginyeria Agroalimentària i Biotecnologia,
Universitat Politècnica de Catalunya

Resolució del Tribunal

Reunit el Tribunal designat a l'efecte, el doctorand / la doctoranda exposa el tema de la seva tesi doctoral titulada
Utilització de l'espectroscòpia d'infraroig com a eina per a la selecció i millora de la mongeta seca (*Phaseolus Vulgaris* L.)

Acabada la lectura i després de donar resposta a les qüestions formulades pels membres titulars del tribunal, aquest atorga la qualificació:

☐ NO APTE ☐ APROVAT ☐ NOTABLE ☐ EXCEL·LENT

(Nom, cognoms i signatura) President/a		(Nom, cognoms i signatura) Secretari/ària
(Nom, cognoms i signatura) Vocal	(Nom, cognoms i signatura) Vocal	(Nom, cognoms i signatura) Vocal

_____, _____ d'/de _____ de _____

El resultat de l'escrutini dels vots emesos pels membres titulars del tribunal, efectuat per l'Escola de Doctorat, a instància de la Comissió de Doctorat de la UPC, atorga la MENCIÓ CUM LAUDE:

☐ SÍ ☐ NO

(Nom, cognoms i signatura) Presidenta de la Comissió de Doctorat	(Nom, cognoms i signatura) Secretària de la Comissió de Doctorat

Barcelona, _____ d'/de _____ de _____

Resum

Resum

La mongeta seca (*Phaseolus vulgaris* L.) és una de les lleguminoses de gra més consumides i produïdes arreu del món i amb un alt valor nutricional degut al seu elevat contingut proteic. La seva gran diversitat fa que existeixen milers d'entrades conservades en els bancs de llavors i centres de millora vegetal. L'avaluació química i sensorial d'aquestes entrades donaria informació molt valuosa per a programes de millora vegetal, però requereixen processos llargs i laboriosos que els fan poc apropiats quan cal caracteritzar un gran nombre de mostres. L'espectroscòpia d'infraroig pot ser una alternativa ja que, l'espectre de la mostra, que es reagistra en pocs segons i que necessita un mínim pretractament de la mostra, podria donar una estimació dels caràcters químics i sensorials. L'objectiu principal d'aquesta tesi és, doncs, obtenir models que permetin correlacionar l'espectre en l'infraroig amb els atributs sensorial de la mongeta i amb el contingut d'aquells components químics que semblen influir en aquests atributs. La tesi s'articula en tres treballs: l'anàlisi química de la pell de la mongeta (fibra dietètica, àcids urònics, cendres, calci i magnesi), l'anàlisi química del cotiledó (proteïna, midó, amilosa) i els atributs sensorials de la mongeta (aroma, gust, farinositat, percepció, rugositat i brillantor de la pell). Els principals resultats són: i) Per a la correcte predicció de la composició química de la pell, aquesta ha de ser separada de cotiledó i molturada a fi d'obtenir una mostra suficientment homogènia; ii) El contingut en calci, cendres i fibra diatètica de la pell de la mongeta es pot predir utilitzant l'espectre NIR; iii) Es possible obtenir models per a la predicció de proteïna, midó i amilosa utilitzant varies tecnologies IR, essent els millors models el obtinguts amb FT-NIR; iv) Els resultats obtinguts amb equips d'IR portàtils i els seus homòlegs de sobretaula tenen bondats similars ; v) Per a la correcta predicció dels atributs sensorial és necessari coure, deshidratar i molturar la mongeta abans d'obtenir l'espectre; vi) els espectres NIR van permetre estimar el gust, farinositat, brillantor de la pell i rugositat de la pell de la mongeta valorats per un panel de tastador però no l'aroma i la percepció de la pell; vii) Finalment, es possible utilitzar la tecnologia IR, sent una eina molt valuosa per a la caracterització de col·leccions molt nombroses de mostres, per la selecció i la millora.

Paraules clau: Infraroig, quimiometria, composició química, atributs sensorials, *Phaseolus vulgaris* L.

Abstact

Common beans (*Phaseolus vulagaris* L.) are one of the most consumed and produced legumes in the world. Its high protein content makes it a high nutritional value product. As a result of its wide diversity, there are thousands of them conserved in seed banks and plant breeding centers. Chemical and sensory evaluations are necessary for their characterization and inclusion in plants breeding programs. Chemical analysis and sensory panels are time-consuming protocols and often require regents, which make them unsuitable for analysis of large amount of sample. Spectroscopy techniques are well-established non-destructible methods with a minimum sample preparation for determining the chemical components and sensory traits of foods. These techniques are suitable for managing a large volume of samples, because spectrum collection takes less than a minute. The main objective of this thesis is to develop regression models to correlate IR spectra with chemical composition and sensory traits. This thesis is composed of three publications in indexed journals, in which the main results are: i) For proper prediction of the chemical composition in common beans seed-coat, this seed-coat has to be removed from the cotyledon and ground to obtain a homogenous IR spectra; ii) Calcium, ash, dietary fiber values of the seed-coat can be predicted using NIR models; iii) It is possible to predict protein, starch, and total amylose using IR technology, moreover, the best models are obtained by the benchtop FT-NIR; iv) Nowadays, portable IR technology is almost at the same level as the benchtop instruments in terms of goodness of fit in prediction models; v) IR spectrum of the sample has a big impact in the developed models, so, it is necessary to cook , dry and ground the beans before registering the spectra; vi) It is not possible to predict aroma and seed-coat perception using NIR; vii) Finally, it is possible to integrate IR technology in common beans plants breeding and selection programs to analyze chemical composition and sensory trait.

Keywords: Infrared, chemometrics, chemical composition, sensory traits and *Phaseolus vulgaris* L.

"Remember that all models are wrong; the practical question is how wrong they have to be to not be useful"

George Box

Llista d'Abreviacions

ANOVA	Anàlisi de la variància
ATR	Attenuated total reflection
c	Velocitat de la llum
E	Energia
FT	Transformada de Fourier
h	Constant de Plank
IR	Infraroig
LSD	Menor diferencia significativa
MIR	Infraroig mitjà
MVA	Anàlisis multivariant
NIR	Infraroig proper
PCA	Anàlisi de components principals
PLSR	Regressió parcial per mínims quadrats
RAP	Relativa habilitat de predicció
RPD	Desviació percentual relativa
SD	Desviació estàndard
SEP	Error estàndard de predicció
X	Matriu d'espectres amb dimensions n mostres per p variables p (n×p)
X^T	Matriu X transposada
y	Vector de referència (n×1)
Y	Matriu de referències amb dimensions n mostres per q variables (n×q)
λ	Longitud d'ona
υ	Número quàntic vibracional
ν_{vib}	Freqüència vibracional
ν	vibracions d'extensió
δ	vibracions deformació

Índex

Capítol 1. Introducció 31
1.1. Eines de treball i objecte d'estudi 33
1.1.1 Espectroscòpia d'infraroig 33
1.1.1.1 Interacció ona-matèria 33
1.1.1.2 Espectroscòpia d'infraroig mitjà 35
1.1.1.3 Espectroscòpia d'infraroig proper 36
1.1.2 Quimiometria 37
1.1.2.1 Anàlisi Multivariant 39
1.1.2.1.1 Anàlisi de components principals (PCA) 39
1.1.2.1.2 Regressió parcial per mínim quadrats (PLSR) 40
1.1.2.2 Procés de modelització de dades espectroscòpiques 43
1.1.3 Mongeta seca (*Phaseolus vulgaris* L.) 44
1.1.3.1 Rellevància mundial 44
1.1.3.2 Caracterització nutricional 45
1.1.3.3 Caracterització sensorial 47
1.2. Estat de la tecnologia IR i aplicació en l'agricultura 48
1.2.1 Caracterització química i sensorial de les llegums mitjançant NIR 48
1.2.2 Caracterització nutricional i sensorial de llegums mitjançant MIR 49
1.2.3 Nova tecnologia i tendències en l'espectroscòpia NIR i MIR 50
Capítol 2. Objectius 53
2.1 Objectiu general 55
2.2 Objectius específics 55
Capítol 3. *Near-Infrared Spectroscopy Analysis of Seed Coats of Common Beans (Phaseolus vulgaris L.): A Potential Tool for Breeding and Quality Evaluation* 57
Capítol 4. *Characterization of Common Beans (Phaseolus vulgaris L.) by Infrared Spectroscopy: Comparison of MIR, FT-NIR and Dispersive NIR using Portable and Benchtop Instruments* 67
Capítol 5. *Estimating Sensory Properties of Common Beans (Phaseolus vulgaris L.) by Near Infrared Spectroscopy* 79
Capítol 6. Discussió general 89
6.1. Caràcters químics de les mongetes seques 91
6.1.1. Composició química de la pell 92

6.1.2. Composició química del cotiledó 93

6.2. Caràcters sensorials de les mongetes seques 95

Capítol 7. Conclusions 99

Bibliografia: 103

Capítol 1. Introducció

Capítol 1. Introducció

1.1. Eines de treball i objecte d'estudi

1.1.1 Espectroscòpia d'infraroig

L'espectroscòpia d'infraroig és una tècnica que aprofita la mesura d'absorbància d'una mostra en diferents freqüències quan aquesta és exposada a un feix de radiació electromagnètica de l'infraroig (Sherman 1997). Gairebé tots els compostos absorbeixen en diferents longitud d'ona en l'infraroig, el que fa que la tècnica sigui atractiva en una gran varietat de camps d'aplicació. L'espectroscòpia d'infraroig permet analitzar els grups funcionals que es troben en els components d'una mostra. Tant les mostres sòlides, líquides o gasoses poden ser analitzades mitjançant l'infraroig utilitzant l'accessori adequat (Pavia 1996; Coates 1990). El coneixement dels tipus d'interacció entre ona i matèria és basic per a la compressió de les seves aplicacions dins dels diferents camps de recerca.

1.1.1.1 Interacció ona-matèria

Tota radiació electromagnètica està caracteritzada per una longitud d'ona i una energia que es relacionen mitjançant l'equació de Max Planck:

$$E=\frac{hc}{\lambda} \qquad \text{Eq 1.1.1-1}$$

El conjunt de radiacions electromagnètiques es coneix com a espectre electromagnètic; aquestes radiacions s'agrupen en regions de les que se'n coneixen les propietats. El 1800 d.c. Sir Frederick William Hershel descobreix l'infraroig quant estava mesurant la temperatura de la difracció de la llum solar en diferents colors mitjançant un prisma. L'infraroig és una petita regió dins de l'espectre electromagnètic que compren l'interval de longituds d'ona des de 780 nm fins a 10000 nm. Es poden diferenciar tres zones: infraroig llunyà, entre 10000-4000 nm (*far infrared*, FIR), mitjà, entre 4000-2500 nm (*mid infrared*, MIR) i proper, entre 2500-780 nm (*near infrared*, NIR).

Quan una ona electromagnètica de l'infraroig interactua amb la matèria es produeixen transicions entre modes vibracionals de nivell energètic diferent. La situació més senzilla es dóna amb una molècula diatòmica on la distància d'enllaç pot variar i les dues masses, m_1 i m_2, descriuen un oscil·lador anharmònic l'energia del qual:

$$E_v = \left(\upsilon + \frac{1}{2}\right) h \nu_{vib} \qquad \text{Eq 1.1.1-2}$$

On υ és el numero quàntic vibracional (0, 1, 2, 3,...) i ν_{vib} és la freqüència vibracional del sistema, en aquest cas format per dues masses. Degut a la regla de selecció, per tenir ressonància entre les vibracions moleculars i la radiació excitant, l'energia de transició entre dos estats vibracionals és discreta i ha de ser exactament igual a l'energia que porta associada una determinada longitud d'ona (Skoog 2001).

En el cas de les molècules poliatòmiques, les vibracions no només afecten a la longitud de l'enllaç sinó també l'angle que formen els àtoms entre si. Es poden trobar vibracions al llarg de l'enllaç, anomenades vibracions d'extensió (ν); i vibracions que canvien l'aspecte de la molècula, anomenades vibracions de deformació (δ); (Figura 1.1.1-1). Ambdues es poden classificar com a simètriques o asimètriques segons si mantenen o no la simetria en la molècula.

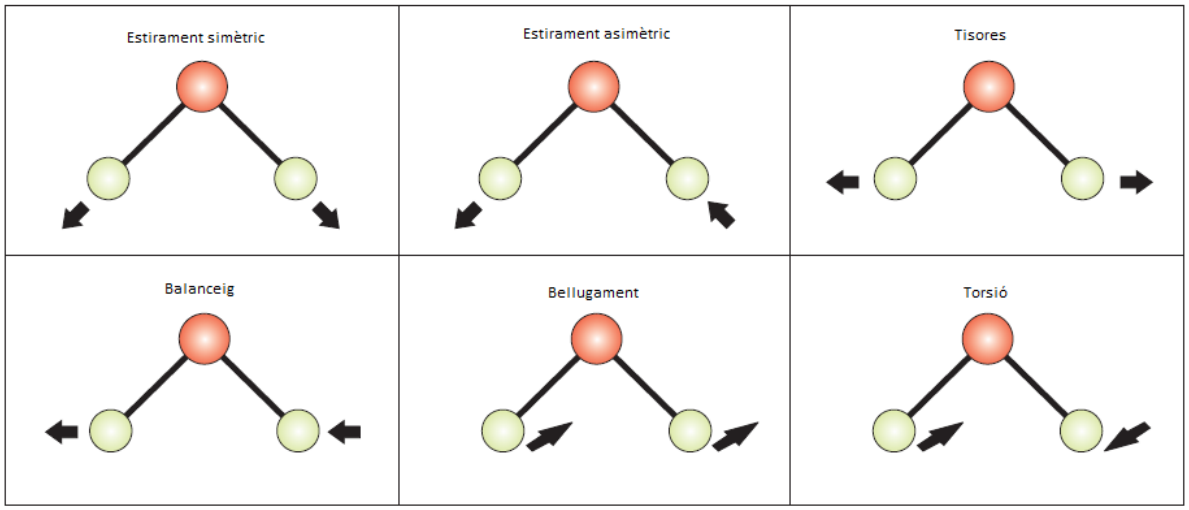

Figura 1.1.1-1. Idealització dels modes de vibracions fonamentals.

Tot i que els enllaços entre àtoms són elàstics, no obeeixen a la llei de Hook sinó que segueixen la funció de Morse. Els salts entre nivells vibracionals on es compleix $\Delta\upsilon = \pm 1$, s'anomenen transicions fonamentals, i els salts corresponent a $\Delta\upsilon = \pm 2$, ± 3,..., s'anomenen sobretons, mentre que salts de $\Delta\upsilon = \pm$ 3 o més són estranyament observats.

A causa de l'energia associada a cada regió, s'observa que en l'infraroig llunya (FIR) es donen rotacions moleculars, en l'infraroig mitja (MIR) es donen vibracions moleculars fonamentals ($\Delta\upsilon = \pm 1$) i

finalment en l'infraroig proper NIR s'observen sobretons $\Delta\upsilon = \pm 2, \pm 3,...$ i bandes de combinació de les vibracions fonamentals de l'infraroig mitjà (Workman 1999).

Els N àtoms d'una molècula es poden moure en les tres dimensions de l'espai (x, y i z). Així dons, els graus de llibertat dels possibles moviments per una molècula són 3N. Cal considerar però, que no tots els moviments vibracionals comporten un canvi en el pla i es pot calcular que per molècules no lineals els modes vibracionals normals són 3N-6 i per molècules lineals són 3N-5. Una molècula lineal com el CO_2 té 4 modes de vibració normal, mentre que H_2O al ser una molècula no lineal en té 3.

1.1.1.2 Espectroscòpia d'infraroig mitjà

En la regió del MIR únicament es troben transicions fonamentals ($\Delta\upsilon$=±1). Aquestes bandes d'absorció són d'alta intensitat, de fet són més de 10 vegades superiors en intensitat a les transicions de major nivell ($\Delta\upsilon$=±2, ±3, ±n) que es donen en el NIR. La Figura 2 mostra els enllaços que es detecten en la regió del MIR. Aquesta regió ha estat clàssicament utilitzada per a la identificació de compostos i l'anàlisi d'estructures de les molècules. Això es deu al fet que en la regió del MIR on únicament són possibles les transicions fonamentals, cada un dels pics o bandes d'absorció es relaciona únicament amb un tipus d'enllaç. Per tant l'espectre MIR dóna la informació detallada i independent per a cada un dels enllaços que formen la molècula (Lambert 1998).

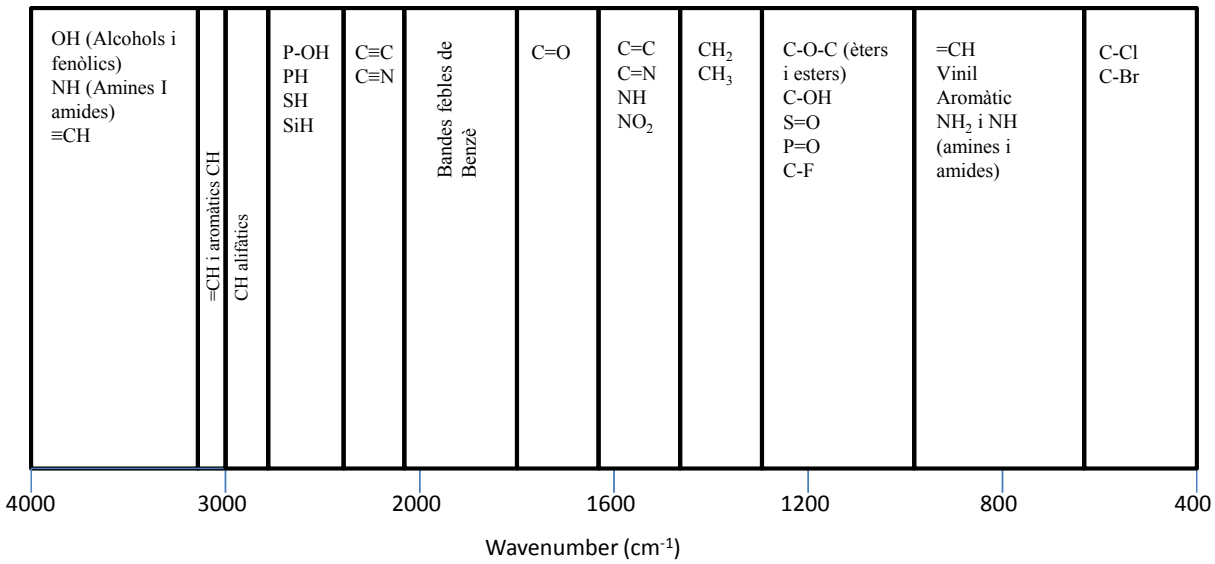

Figura 1.1.1-2. Correlació de bandes amb el número d'ona pel MIR. (Lambert 1998). Pag.202

La regió del MIR que conté la informació pels enllaços simples (C-C, C-O, C-N,...), compresa entre 1500 – 400 cm^{-1}, és coneguda com la regió de l'empremta digital (*fingerprint*). Rep aquest nom perquè el patró de pics en aquesta regió es únic per a cada compost. A més a més, l'energia d'un mode

vibracional particular pot estar influïda per la presència d'altres vibracions que es donen en la molècula a traves de l'acoblament vibracional. Aquest fenomen s'intensifica si les energies vibracionals dels grups independents són molt pròximes entre elles, i les bandes d'absorció no es troben exactament en el número d'ona teòric. Això fa que l'espectre MIR per a una determinada molècula sigui únic, fet que té una gran aplicació per anàlisis qualitatius o discriminats (Yadav 2005).

1.1.1.3 Espectroscòpia d'infraroig proper

No és fins a mitjans del segle XX que es publiquen els primers espectres NIR de productes orgànics (Kaye 1954). Més tard Norris i col·laboradors des del *United States Department of Agriculture* (USDA) impulsen la tècnica NIR utilitzant-la per a matrius orgàniques complexes, cosa que desperta l'interès de la comunitat científica pel NIR (Norris 1964; Ben-Gera 1968). Tot i això, la tecnologia estava encara en fase embrionària i els equips disponibles no permetien el registre continu de l'espectre (instruments de filtres). D'altra banda, la baixa capacitat de càlcul de l'època era incapaç d'emmagatzemar i tractar grans volums de dades. Això canvia a partir de mitjans dels 70 on apareixen els nous equips de espectre complet (monocromadors de malla) i sobretot per l'aparició dels microprocessadors i dels primers ordenadors personals que agilitzen i incrementen la capacitat de càlcul (Noble 1995; Bahadure 2010).

El canvi en l'harmonicitat de l'enllaç i del moment dipolar són els factors que marquen la intensitat de les bandes en el NIR. Com s'observa en la Figura 1.1.1-3, totes les bandes estan relacionades amb enllaços on participa l'àtom d'hidrogen, ja que és el que provoca les vibracions més àmplies i les desviacions més grans del comportament harmònic pel fet de ser l'àtom més lleuger. Les senyals dels enllaços amb àtoms més pesats com els dobles o triples enllaços (C=C, C≡C) o els enllaços C=O o C-Cl són gairebé inexistents en la regió del NIR (Kaye 1954). Els sobretons es troben des de 700 fins a 2000 nm i les bandes de combinació es troben entre els 1900 i els 2500 nm (Figura 1.1.1-3).

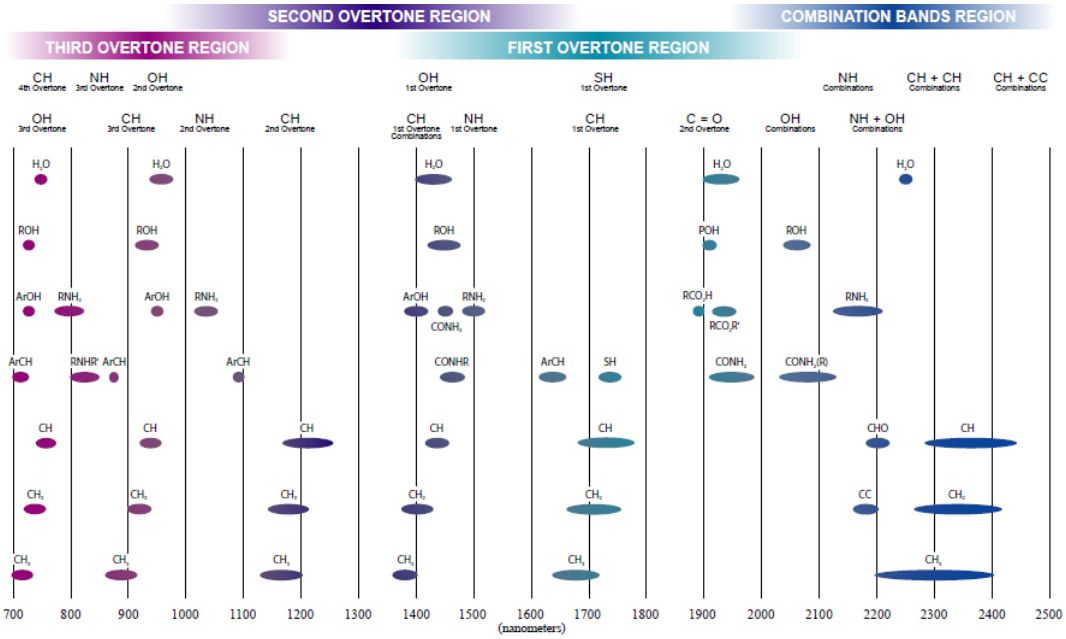

Figura 1.1.1-3. Estructura espectral de correlacions per la regió del NIR (Reproducció permesa per ASD Inc. (http://www.asdi.com/))

En contraposició al MIR, la recerca en el NIR ha estat molt més lenta. Una de les raons és que molts dels especialistes en el camp la consideraven una regió molt confusa amb nombrosos solapaments de pics, fent que l'assignació dels pics sigui una tasca difícil. Però actualment el NIR ofereix tres grans avantatges sobre altres espectrofotometries en d'IR:

- la font d'emissió és capaç de generar una gran quantitat d'energia donant gran intensitat de senyal,

- l'alta sensibilitat que ofereixen els nou detectors d'estat sòlid,

- el relatiu baix preu dels equips, ja que les parts del instrument (detectors, font de llum, òptics) poden ser construïdes utilitzant vidre en comptes de Bromur de potassi (KBr) o altres cristalls que no tenen absorció en la regió de l'IR (Donald 2001).

1.1.2 Quimiometria

La Quimiometria es pot definir com el conjunt de mètodes matemàtics utilitzats per extreure informació química útil d'un conjunt de dades. La Quimiometria és una ciència interdisciplinària que té com a objectiu la resolució de problemes químics utilitzant eines i idees de l'estadística, la química i les matemàtiques (Otto 2007; Varmuza 2009). Els coneixement d'aquests tres camps són necessaris per a

desenvolupar amb garanties treballs relacionats amb la quimiometria (Wold 1995). Les estructures de dades en què treballa la quimiometria, normalment, no només vénen donades pel fenomen fisicoquímic que s'investiga, sinó que estan fortament afectades pel procés analític, els instruments de mesura utilitzats, el maneig de les dades i les tècniques de modelització utilitzades (Marten 1992). Els resultats obtinguts per la quimiometria han de ser capaços de posar rellevància el fenomen d'interès.

En les tres últimes dècades, la quantitat d'informació disponible s'ha incrementat exponencialment per la transició de les plataformes analítiques analògiques a les plataformes digitals (Baird 1993). Això ha fet que les caracteritzacions en estudis analítics que utilitzaven pocs descriptors ara n'utilitzin una gran quantitat; a més, l'increment en la tecnologia ha fet desenvolupar les tècniques ja existents. Tot això ha generat que actualment es treballi amb grans volums de dades i ha fet que el camp de la quimiometria sigui de vital importància en molts estudis (Wold 2002; Wold 1998).

Les tècniques utilitzades en la quimiometria es poden separar en dos grans grups, les anàlisis qualititatives, que són les que agrupen les mostres en factors o classes, i per altra banda, les anàlisis quantitatives, que són les que busquen les relacions entre variables continues. En la figura 1.1.2-1 s'observen les tècniques més comunes que s'utilitzen en la quimiometria.

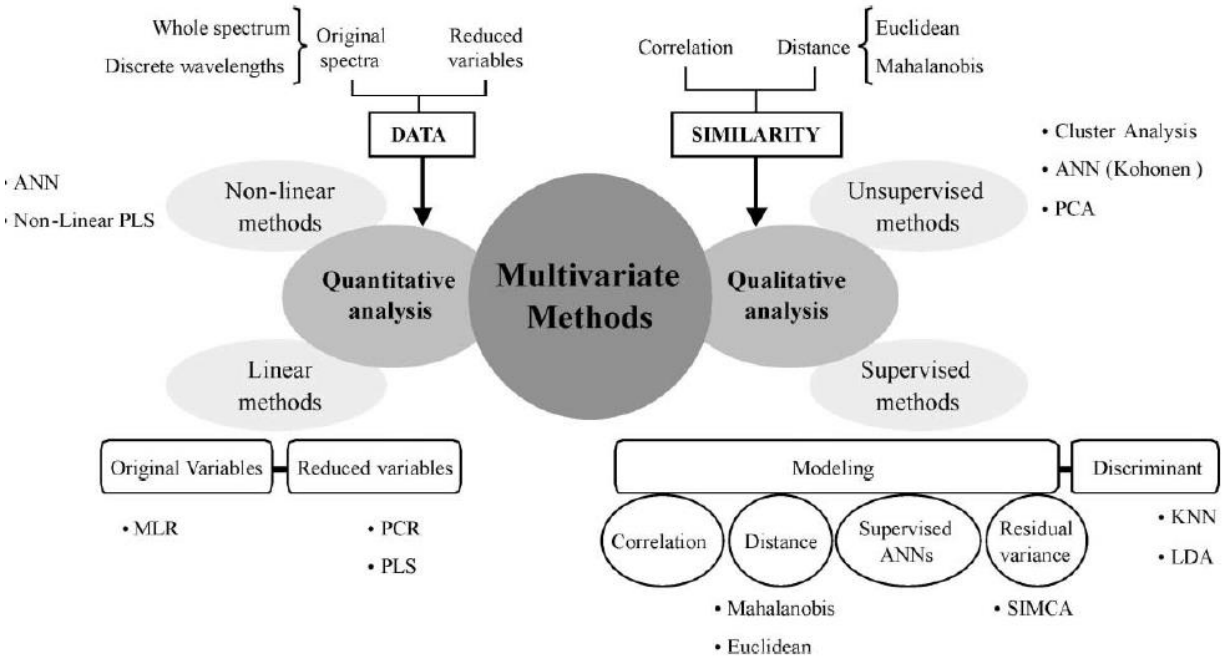

Figura 1.1.2-1. Classificació dels mètodes d'anàlisi multivariant més comuns per models quantitatius i qualitatius (Blanco 2002)

1.1.2.1 Anàlisi Multivariant

L'anàlisi multivariant és utilitzada per analitzar i modelitzar les relacions entre dades de variables, ja sigui dins d'una mateixa matriu de dades o relacionant varies matrius de dades. Les dades estan estructurades en matrius, la mida de les quals es defineixen com a $n \times p$, on n és el numero de mostres i p és el numero de variables. Es poden definir dos tipus de matrius: la matriu de dades (**X**), que correspon a dades espectroscòpiques; i la matriu de referència (**Y**), també anomenada matriu resposta, que normalment correspon a característiques químiques, sensorials o definicions de classe.

L'anàlisi multivariant permet analitzar dins de les matrius de dades possibles estructures difícils de detectar mitjançant altres tècniques. Tècniques no supervisades, com l'anàlisi de components principals (PCA), s'utilitzen per identificar en les matrius de dades (**X**) possibles estructures i tendències que ens permetin agrupar o posar en relleu mostres amb característiques o perfils de variables diferenciat de les altres. Les tècniques supervisades, com *Soft Independent Modeling of Class Analogy* (SIMCA) o la regressió per mínims quadrats parcials (PLSR), s'utilitzen per trobar relacions entre la matriu de dades (**X**) i la matriu de referencia (**Y**) que responguin a les diferents hipòtesis plantejades (Marten 1992).

1.1.2.1.1 Anàlisi de components principals (PCA)

El PCA busca les direccions de màxima variància en agrupacions de mostres i les utilitza com a nous eixos anomenats components principals (PC). Amb això s'aconsegueix que la informació rellevant del sistema sigui continguda en un nombre reduït de variables (Blanco 2002). Aquests nous eixos (PC) són ortogonals entre ells, per tant no estan correlacionats. Aquesta tècnica permet resoldre el problema de l'alta dimensionalitat de la matrius de dades (X), que es caracteritza per treballar amb un nombre de variables (p) molt elevat i amb alta correlació entre elles. El PCA pretén recollir la màxima variància de la matriu original (**X**) en $n \times p$, on n és els nombre de mostres i p és el nombre de variables, utilitzant poques variable latents $n \times n$ PC (on nPC són el nombre de components principals). El PCA és una tècnica que per la seva versatilitat, la simplicitat dels models que genera i la seva fàcil compressió, és una de les principals tècniques utilitzades en quimiometria (Jackson 1991; Wold 1987; Marten 1992). Pel càlcul de PCA es considera:

$$\mathbf{X}=\mathbf{T}.\mathbf{P}^{T}+\mathbf{E} \qquad \text{Eq. 1.1.2-1}$$

On **X** és la matriu de dades original, **T** és la matriu de puntuacions (*scores*) on es troben les mostres dins del nou espai dels PCs, $\mathbf{P}^{t}$ és la matriu transposada de les càrregues (*loadings*), és la matriu que

guarda la relacions entre les variables originals i els nous components principals (PC). **E** és la matriu de l'error del model o variància no modelitzada, també anomenada matriu dels residuals. L'ordre dels PC és important ja que el primer PC és el que explica major part de la variància de **X,** després el segon i així successivament (Marten 1992).

Per a l'anàlisi de les tendències o agrupacions s'estudia la matriu de les puntuacions (**T**), mentre que per l'anàlisi de les relacions entre variables s'estudia la matriu de càrregues (**P**). Així generalment, el PCA es descriu com a tècnica de compressió de dades, ja que redueix la matriu en una part estructural ($\mathbf{TP}^t$) i una part de soroll (**E**). L'aportació de cada una de les variables latents està relacionada amb la correlació de les variables original, per tant, una alta correlació de les variables de **X**-dades, farà que pocs components principals capturin la major part de la variabilitat sistemàtica (Jackson 1991; Marten 1992; Wold 1987).

La resolució de l'equació 1.2.1-1 requereix de la descomposició de la matriu de dades (**X**). Fer-la mitjançant tècniques clàssiques només és possible en matrius quadrades (n=p). Les matrius espectroscòpiques acostumen a tenir un nombre de variables p molt més elevat que de mostres n, per tant les tècniques de descomposició de matrius clàssiques no són aplicables en aquest camp. Un dels algoritmes més comuns per calcular aquesta descomposició matricial és la *non-linear interactive partial least square* (NIPALS), que es caracteritza per ser un mètode iteratiu seqüencial, on els components principals són calculats d'un en un i en ordre decreixent d'importància segons el seu autovalor. Aquest autovalor està directament relacionat amb la proporció explicada de variància de la matriu **X**. Així, l'algoritme NIPALS obté els mateixos resultats que els presentats en l'equació 1.1.2-1 condensant la matriu **X** en **T**, **P** i **E**.

1.1.2.1.2 Regressió parcial per mínim quadrats (PLSR)

També conegut com a projecció per a estructures latents, és una mètode d'anàlisi supervisat que té com a objectiu trobar les correlacions entre dues matrius **X** i **Y** a fi de poder predir la matriu de referència (**Y**) utilitzant només la matriu de dades (**X**). És una tècnica basada en la reducció de les dimensions de la matriu de dades (**X**) en uns pocs components rellevants. La gran diferència al comparar el PCA amb PLSR és que el primer maximitza la variància d'un conjunt de dades (**X**), mentre que el segon maximitza la covariància entre dos matrius de dades (**X** i **Y**). Així el PCA es refereix a la modelització per variables latents i el PLSR es refereix a la tècnica de modelització bilineal, ja que té en compte els dos conjunts de dades (Esbensen 2002).

L'algoritme PLSR més utilitzat actualment és el que van desenvolupar Martens i Naes (1992), tot i que parteix originalment del desenvolupat per Wold el 1975. Un esquema molt simplificat de l'algoritme és mostrar el PLSR com un doble PCA, un per la matriu de dades **X** i l'altre per la matriu de referència **Y**. Esbensen (2002) mostra una representació esquemàtica del algoritme de Marten i Naes (Figura 1.2.1 -1) on la solució passa per crear una connexió en què la variància de les variables que formen la matriu **Y** és la que intervé com a guia per la descomposició de la matriu de dades **X**. En aquest context, l'algoritme PLSR utilitza la informació de la matriu de les dades referència **Y** per trobar l'estructura més rellevant en la matriu de les dades **X**. El mètode PLS implica, com en el PCA, una projecció de les **X** en un subespai de menor dimensió. Però en quest cas, es troba en la direcció de màxima covariància entre **X** i **Y** i no en la direcció de màxima variància de X com el PCA, obtenint unes variables latents anomenades *factors* o components PLS (Esbensen 2002; Martens 1992; Ramis 2001; Wold 1983).

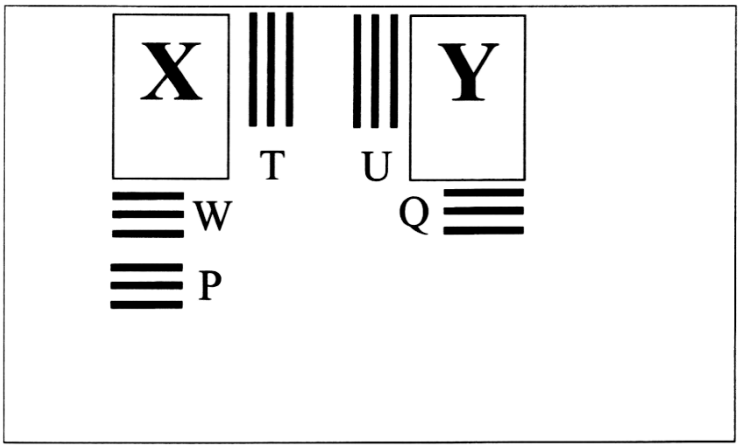

Figura 1.2.1-1. Descomposició gràfica de les matrius de dades (**X**) i de referència (**Y**) que intervenen en l'algoritme del PLSR (Esbensen 2002)

En el PLSR la descomposició de les matrius **X** i **Y** es realitza simultàniament. L'equació 1.2.1-2 i 1.2.1-3 mostra la relació entre les dues descomposicions mitjançant **T** i **W;** on **T** és la matriu de puntuacions (*scores*) i la matriu **W** serveix de guia per a la descomposició de la matriu de dades **X**, implicant la utilització de la matriu de puntuacions de **Y**. En aquest punt és on es creuen les dues matrius (**X** i **Y**).

$$\mathbf{T}=\mathbf{X}\cdot\mathbf{W} \qquad \text{Eq. 1.2.1-2}$$

$$\mathbf{W}=\mathbf{X}^{T}\cdot\mathbf{U} \qquad \text{Eq. 1.2.1-3}$$

On la **W** és a la matriu de càrregues pesades (*loading weights*), $\mathbf{X}^T$ és la matriu transposada de **X** i **U** la matriu de puntuacions de **Y**. Així, **W** correspon al conjunt de vectors normalitzats que, principalment, representen el pont entre els algoritmes de descomposició dels dos subespais (**X** i **Y**). (Wold 1987; Esbensen 2002). El RMSECV es calcula com:

S'assumeix que **T** és un bon predictor de **Y**, així doncs:

$$\mathbf{Y}=\mathbf{T}\cdot\mathbf{Q}^T+\mathbf{E} \qquad \text{Eq. 1.2.1-4}$$

On la Q^T és la matriu carregues del PCA per la matriu de referència. Si substituïm T segons l'equació 1.2.1-2 en l'equació 1.2.1-4:

$$\mathbf{Y}= \mathbf{X}\cdot\mathbf{W}\cdot\mathbf{Q}^T+\mathbf{E} \qquad \text{Eq. 1.2.1-5}$$

o bé:

$$\mathbf{Y}= \mathbf{X}\cdot\mathbf{B}+\mathbf{E} \qquad \text{Eq. 1.2.1-6}$$

essent:

$$\mathbf{B}=\mathbf{W}\cdot\mathbf{Q}^T \qquad \text{Eq. 1.2.1-7}$$

s'observa que podem expressar la regressió PLS com una regressió lineal múltiple (Eq.1.2.1-6) on la matriu de coeficients de regressió està definida per **B**

Com s'ha vist fins ara els models de regressió PLS es basen en la reducció de la dimensionalitat en diversos factors-PLS. El paràmetre més important a determinar en aquest models de regressió és el nombre de factors-PLS que inclou el model. Aquest paràmetre es determina experimentalment durant el procés de calibratge. Així, quants més factors inclogui el model, menys parsimoniós serà, perquè s'hauran de determinar més paràmetres, però alhora inclourà més percentatge d'informació d'ambdues matrius. El que es busca és una solució de compromís entre suficient informació i complexitat del model. La validació creuada (CV) és una solució extensament utilitzada per obtenir el número òptim de factors-PLS. Una forma d'obtenir el número de factors òptim és dibuixant el *Root Mean Square Error of Cross-Validation* (RMSECV) per a cada un dels factors-PLS ordenats de menor a major i utilitzar la regla del colze, agafar el factor que trenqui la tendència decreixent del RMSECV (Wold 1978; Esbensen 2002; Marten 1992).

$$RMSECV = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}\left(Y_i^{cv} - Y_i^{ref}\right)^2}{n}} \qquad \text{Eq. 1.2.1-8}$$

On n és número de mostres del model, Y_i^{cv} és el valor predit de la mostra pel model en la validació creuada i Y_i^{ref} és el valor de referència de la mostra *i*.

La validació és el procés final que tots els models han de passar a fi de ser utilitzats com a rutina d'anàlisi. Així, la validació té com finalitat demostrar la idoneïtat del calibratge pel propòsit que ha sigut dissenyat. La validació es realitza testant el model de regressió contra un conjunt de mostres de les quals es té la matriu d'espectres i els valors de referència, però que no han estat utilitzades en el càlcul del model. S'analitzen els valors predits per model en comparació amb dels valors de referència reals i s'obtenen els estadístic de bondat d'ajust.

1.1.2.2 Procés de modelització de dades espectroscòpiques

Aquest apartat mostra un recull de les idees generals per la modelització de dades espectroscòpiques que més específicament desenvolupen Beebe (1998), Williams (2001) i Blanco (2005) en els seus textos.

Els procés de calibratge i validació dels models té un conjunt d'etapes bàsiques. Aquestes es poden ordenar en:

1- Selecció del conjunt de calibratge i validació

És una de les etapes clau del procés de modelització, ja que d'aquest depèn en gran mesura l'èxit del procés. El conjunt de mostres escollit ha de ser representatiu de les mostres a les quals es voldrà aplicar la modelització i s'han de tenir en compte totes les fonts de variació possibles. Així, el model ha de recollir tota la variabilitat possible tant pel que fa al caràcter que es vol estudiar com per la variabilitat que es pot trobar a l'hora de registrar la mostra.

2- Mètode de referència

Aquesta etapa està més enfocada al models quantitatius, tot i que en certa mesura és aplicable a models qualitatius o de classificació. El models quantitatius requereixen d'una o més variables de referència, que normalment s'obtenen mitjançant mètodes químics estàndards que han de garantir valors precisos i exactes. Aquesta etapa és bàsica en un procés de modelització ja que l'error en la predicció del model IR portarà associat l'error del mètode de referència. Així doncs, l'error del

laboratori estarà implicat en el procés de modelització i tindrà un efecte important en les etapes posteriors.

3- Pretractament espectral

Aquest procés només afecta a la part espectroscòpica de les dades. Es pretén aplicar un seguit de transformacions a l'espectre per tal d'incrementar la relació senyal/soroll que porta l'espectre. També, en molts casos, es vol maximitzar la senyal que està associada a l'analit de referència obtingut en el mètode de referència químic o factor, aquest últim en el cas dels models de classificació. Els pretractaments més freqüents són: normalització, variable normal estàndard (SNV), correccions dels efectes multiplicatius de la dispersió (MSC), filtres o suavitzadors de l'espectre com el desenvolupat per Savitzky-Golay (1964) i derivades de diferents ordres a l'espectre de l'IR. Tot i que existeixen molts pretractaments com els esmentats abans, és l'analista de les dades quimiomètriques qui decideix els pretractaments que cal aplicar als espectres segons el cas.

4- Selecció, càlcul i avaluació del model quimiomètric

El tipus de model dependrà del tipus de variable que s'estigui treballant, s'utilitzaran models quantitatius quan busquem relacions en variables continues (PLSR) o mètodes no supervisats com el PCA per analitzar l'estructura de les dades. S'utilitzaran un conjunt de mostres representatives de les variables que es volen estudiar pel calibratge, i se'n farà una avaluació interna (validació creuada, per exemple). Finalment, un cop obtingut el model, s'utilitzarà un conjunt independent de validació per avaluar la seva capacitat predictiva. El conjunt de validació ha de complir les mateixes premisses que el conjunt de calibratge pel que fa a les fons de variació, però amb total independència. D'aquesta forma es verificarà el model desenvolupat durant el calibratge.

1.1.3 Mongeta seca (*Phaseolus vulgaris* L.)

La mongeta seca té una gran rellevància mundial ja que és un dels cultius de lleguminoses pel consum humà amb més producció del món i té una gran impacte en l'alimentació mundial, al tractar-se d'un aliment amb un gran contingut en proteïna.

1.1.3.1 Rellevància mundial

La mongeta seca és una lleguminosa de gra, i el seu conreu s'ha adaptat a la climatologia d'arreu del món des de que va ser importada des d'Amèrica fins a Europa i d'aquí a la resta del món. Pot ser

produïda des del 52 graus nord fins els 32 graus sud i des del nivell del mar fins a 3000 m d'altitud. A més de la seva capacitat d'adaptar-se, és un cultiu amb gran valor nutricional principalment gràcies al seu alt contingut proteïc (Shellie-Dessert 1991).

La mongeta és el tercer conreu de llegums amb més producció en el món després de la soja i del cacauet. Myanmar (Birmània), Índia i Brasil són els tres països amb major producció a nivell mundial de mongetes seques; a nivell europeu Espanya es trobava a la 11 posició de producció de mongeta seca el 2012 (FAOSTAT 2013). Malgrat que la producció mundial de mongeta gairebé s'ha duplicat en els últims 51 anys –des de 1961 fins a 2012– a Europa la producció en aquest mateix període de temps ha passat de 1113×10^3 T el 1961 a 488×10^3 T el 2012, una reducció de gairebé un terç de la producció (FAOSTAT 2013). Aquesta reducció pot ser a causa que els països europeus disposen de fonts de proteïna més atractius com la proteïna d'origen animal (carn, ous i peix) i més assequible econòmicament que fa 50 anys, fent que les mongetes passin a un segon pla en les dietes europees.

1.1.3.2 Caracterització nutricional

La gran diversitat d'ambients als que el cultiu de la mongeta ha estat capaç d'adaptar-se ha originat que mostri una gran variabilitat en aspectes nutricionals, sensorials i morfològics, donant lloc a una gran varietat de mides, formes, colors, textures, gustos i aspectes de les llavors (Figura 1.1.3-1). La taula 1.1.3-1 mostra la composició de la mongeta pels principals nutrients i la taula 1.1.3-2 per la composició en nutrients minoritaris (Salunkhe 1989; Shellie-Dessert 1991; Oomah 2008). En ambdues es mostra la gran variabilitat observada pels diversos caràcters nutricionals.

Figura 1.1.3-1. Algunes de les varietats de la col·lecció de mongetes conservades per la Fundació Miquel Agustí. (Font: FMA)

Taula 1.1.3-1. Contingut dels principals nutrients de la mongeta seca (*Phaseolus vulgaris* L.) expressat en g kg^{-1} de matèria seca.

Proteïna	Midó	Amilosa	Fibra	Lípids	Sacarosa
188 - 320	270 - 591	107 - 372	31 - 70	10 - 43	16 - 35

Font: Khattab 2009, Pujolà 2007 i Salunkhe 1989

Taula 1.1.3-2. Contingut dels elements minoritaris de la mongeta seca (*Phaseolus vulgaris* L.) expressat en g kg^{-1} de matèria seca.

Calci	Fòsfor	Ferro	Magnesi	Coure	Sodi	Potassi	Zinc
0.70 – 2.60	3.80 – 6.56	0.03 – 0.08	1.63 - 2.00	0 – 0.01	0.04 – 1.21	1.32 – 19.46	0.02 – 0.07

Font: Oomah 2009, Salunkhe 1989 i Shellie-Dessert 1991

Les mongetes seques són un aliment amb alt contingut de midó i proteïna i amb baix contingut amb lípids, dels quals 85% són àcids grassos insaturats i el 15% restants són àcids grassos saturats (Pirman 2003; Salunkhe 1989). Les mongetes seques són riques en lisina i altres aminoàcids que són deficitaris en els cereals. Per contra, contenen una baixa composició en aminoàcids sulfurats (Shellie-Dessert 1991).

1.1.3.3 Caracterització sensorial

La definició de l'anàlisi sensorial ha estat un tema controvertit durant anys. Actualment la definició més acceptada i adoptada és la de Stone (1993) i que també adopta el *Institute of Food Technologists*, així com Lawless (1998). Descriu l'anàlisi sensorial com: *"Scientific method used to evoke, measure, analyze and interpret those responses to products as perceived through the sense of sight, smell, touch, taste and hearing"*. En la definició queda clar que la primera premissa de l'anàlisi sensorial és la utilització del mètode científic per a realitzar la seva tasca.

L'estandardització i la validació dels mètodes utilitzats per l'obtenció dels atributs sensorials és clau per a la correcta obtenció i interpretació de les dades sensorials. L'Equip de Millora Vegetal per a Característiques Organolèptiques de la Universitat Politècnica de Catalunya (EMVCO), que va iniciar els seus treballs el 1980, va incorporar el 1992 als seus estudis la mongeta del Ganxet (actualment denominació d'origen Mongeta del Ganxet Vallès i Maresme). En aquell moment, l'EMVCO ja es va donar compte que no hi havia disponibles les eines d'avaluació sensorial per a les mongetes necessàries per al elaboració de la seva recerca. No es fins el 2008 que Romero del Castillo (2008) presenta el protocol d'avaluació sensorial de la mongeta, i el conjunt d'atributs sensorials. Les característiques sensorials de la textura de la mongeta consensuats pels dels tastadors són: rugositat de la pell, percepció de la pell, duresa de la mongeta i farinositat. Aquestes característiques sensorials són valorades per una escala semi-estructurada de 10 cm on els tastadors situen les mostres al llarg de l'escala segons la intensitat respecte els extrems donats. Per tant, es descriuen els atributs sensorials que té la mongeta i a més es troben quin són els extrems per a cada un dels atributs. Aquests són utilitzats durant l'entrenament del panel. Així mateix, Romero del Castillo (2008) realitza la validació del panel de tast per les característiques sensorials de la textura de les mongetes seques i cuites, utilitzant l'anàlisi de la variància (ANOVA) i els estadístics que se'n desprenent d'aquest anàlisi per validar el panel de tast. A més a més, Romero del Castillo (2012) desenvolupa l'estandardització del mètode de cocció de mongetes, basant-se en el prèviament descrit per Sanz (1997), a fi de fer la cocció de les llegums més reproduïble i pràctica pels usos del panel de tast. Finalment, inclou tres atributs sensorials més de la mongeta, que són: intensitat d'aroma, intensitat de gust i brillantor.

Malgrat la potent eina que significa el panel de tast a l'hora de descriure els atributs sensorials, té alguns inconvenients que el fan poc accessible per a l'anàlisi de gran volum de mostres. Com que s'ha de

fer amb un panel d'experts, aquests han d'estar entrenats. Sovint, a més a més, en cada sessió de tast es poden analitzar un número reduït de mostres (entre 4 i 5). A aquest fet cal sumar-li que a fi d'obtenir uns resultats sensorials reproduïbles és necessari un mínim de dues sessions per cada una de les mostres. Tots aquest fets fan del panel de tast una eina cara i que consumeix molt de temps, i per tant és inviable per a l'anàlisi d'un gran nombre de mostres.

1.2. Estat de la tecnologia IR i aplicació en l'agricultura

En la primera part de la introducció s'ha descrit, d'una banda, la teoria que hi ha darrere de l'espectroscòpia d'infraroig i, d'una altra, la descripció química i sensorial de la mongeta seca. En aquest apartat de la introducció es descriuran els treballs realitzats utilitzant el NIR i MIR per la caracterització de llegums, i finalment s'exposaran les noves tendències en el camp de la espectroscòpia d'infraroig.

1.2.1 Caracterització química i sensorial de les llegums mitjançant NIR

En l'actualitat el NIR és una tècnica reconeguda per l'anàlisi nutricional de tot tipus d'aliments (Williams 2001; Prieto 2009; Karoui 2007; Butz 2008). El NIR ofereix grans avantatges per l'anàlisi quantitativa gràcies, com ja hem vist, a la gran quantitat d'energia de què disposa la font d'emissió, a l'alta sensibilitat dels detectors i al fet que l'absorció de les bandes NIR són com a mínim d'un ordre de magnitud menys que el MIR. Tot això fa possible que la preparació de la mostra pel seu registre NIR sigui gairebé nul·la i la converteix en una tècnica molt atractiva per l'aplicació directe en els aliments (Osborne 1986).

La tecnologia NIR ha estat també aplicada per a la caracterització química de llegums. La soja ha estat per la seva importància a nivell mundial la lleguminosa on s'han centrat més esforços, havent-se utilitzat per a la determinació de proteïna, aminoàcids essencials, àcids grassos, carbohidrats i fòsfor inorgànic (Jiang 2009; Fontaine 2001; Sun 2008; Delwiche 2006). Actualment els esforços en el camp de la soja se centren en la discriminació de varietats transgèniques de les convencionals mitjançant l'espectre NIR (Esteve 2013; Wu 2013). La tecnologia NIR també s'ha aplicat per a l'anàlisi de proteïna, humitat, grasses totals, àcids grassos, cendres, mido, sòlids solubles, fibra dietètica total i propietats funcionals en cigrons i pèsols (Flinn 1998; Font 2006; Urban 1999; Chalucova 2000).

Malgrat la importància de la mongeta seca a nivell mundial, s'han desenvolupat pocs estudis per la seva caracterització nutricional mitjançant el NIR. Hermida (2006) va treballar amb un conjunt de varietats espanyoles obtingudes de diferents àrees de Galicia per a determinar la proteïna, humitat,

mido i grassa total utilitzant l'espectre de la mongeta sencera molturada. La possibilitat de treballar amb mongeta intacta ha estat investigada per Hacisalihogu (2010). En aquest treball es desenvolupen models per proteïna, midó i pes de 100 llavors mitjançant l'espectre de mongetes intactes. Hacisalihogu va trobar la necessitat de desenvolupar diferents models de calibratge tenint en compte el color de la llavor, ja que el PCA dels espectres mostrava que el color negre té un pes important en l'espectre, capaç de formar grups independents.

Encara que la caracterització sensorial utilitzant el NIR és menys acurada que en la caracterització nutricional, en els últims anys el nombre d'articles relacionats amb NIR i caràcters sensorials ha augmentat notablement. L'aplicació d'aquesta tècnica espectroscòpia per a la determinació de paràmetres sensorials de qualitat ha estat rellevant en el camp del vi i del cafè (Cozzolino 2011; Cozzolino 2006; Ribeiro 2011; Esteban-Díez 2004). En el camp dels vegetals la tecnologia NIR ha tingut uns resultats esperançadors determinant característiques sensorials en les patates cuites per a vint-i-dos descriptors diferents de la sensació en boca i quatre descriptors de l'aparença de la patata (van Dijk 2002). En la xicoira crua es van desenvolupar models per a dolçor, amargor i textura (François 2008; Boeriu 1998; van Dijk 2002). En el camp de les lleguminoses Martens (1986) i Kjølstad (1990) va treballar sobre descriptors sensorials en pèsols congelats obtenint models per la duresa, farinositat, gust, dolçor, gust afruitat, defectes en el gust, color, aparença, duresa de la pell, suculència i regust. Chalucova (2000) va desenvolupar models per a paràmetres de qualitat sensorial en pèsols frescos com ara la fermesa de la pell, la fermesa de la polpa, dolçor, intensitat de sabor a pèsol i brillantor del color. Malgrat els nombrosos treballs realitzat sobre característiques sensorials utilitzant el NIR en la bibliografia no hi ha cap article que treballi amb característiques sensorials en la mongeta.

1.2.2 Caracterització nutricional i sensorial de llegums mitjançant MIR

A causa de les característiques de la regió electromagnètica, el MIR ha estat clàssicament utilitzat per a la caracterització dels compostos i l'anàlisi de la seva estructura. En canvi, la seva aplicació en la quantificació de composició en aliments ha estat molt més baixa si es compara amb l'aplicació del NIR (Lambert 1998). El MIR s'ha utilitzat per a la classificació de varietats de cafè (Kemsley 1995), la detecció de toxines en llegums (Eichinger 2000) i la quantificació de proteïna en soja (Bras 2005). Actualment s'ha utilitzat el MIR per a l'anàlisi de les estructures secundàries de proteïna en mongeta, buscant la relació de la capacitat de digestió i l'estructura de la proteïna (Carbonaro 2012).

L'autor no ha trobat cap article que utilitzi aquesta regió de l'R per a la determinació de paràmetres sensorials en llegums. D'altra banda, la utilització en vegetals o derivats és merament anecdòtica; el MIR s'ha aplicat per a l'anàlisi d'adulteracions en cafè (Tavares 2012), el cribratge de puntuacions sensorials en el vinagre balsàmic (Versari 2011) i la classificació d'olis extra d'oliva en diferents graus de defectes (Sinelli 2010). Finalment també s'ha utilitzat per a la caracterització sensorial de productes fermentats com el formatge (Fagan 2007a, Fagan 2007b).

1.2.3 Nova tecnologia i tendències en l'espectroscòpia NIR i MIR

Els equips dispersius són els primers instruments que van ser utilitzats en els instruments NIR i MIR. Consten d'un prisma o una reixeta que serveixen per seleccionar la freqüència que emet la font d'energia en IR. Així doncs, el detector mesura la quantitat d'energia per a cada una de les freqüències que passen per la mostra individualment (Williams 2001). El món de la espectroscòpia va donar un salt qualitatiu quan el 1887 Albert Michelson va inventar l'interferòmetre, encara que aquest invent no estava relacionat amb el món de la espectroscòpia ja que Michelson treballava per detectar el moviment relatiu de la matèria a través de l'èter lumínic estacionari. Anys més tard, l'interferòmetre va ser adaptat pels equips de Transformada de Fourier (FT), que es basen en: una font de IR, el *beamsplitter*, el mirall fix i el mirall en moviment (Figura 1.5.1). La peça clau dels equips FT és el *beamsplitter,* que és un cristall (ex. KBr per MIR i quars per NIR) capaç de reflectir el 50% i transmetre el 50% de l'energia que rep. Així, el mirall en moviment és capaç de crear una interferència en el feix d'ones que estan en fase, i aquest feix d'ones recombinades és el que anirà al detector passant prèviament per la mostra. El detector registrarà la intensitat de tot el feix d'ones provinent de la mostra a la vegada, sense la necessitat de seleccionar les longituds d'ona prèviament. Mitjançant un microprocessador i sabent l'energia i la posició del mirall s'utilitzarà l'algoritme de transformada de Fourier (FT) per convertir la senyal energia i distància en absorbància i número d'ona (cm-1).

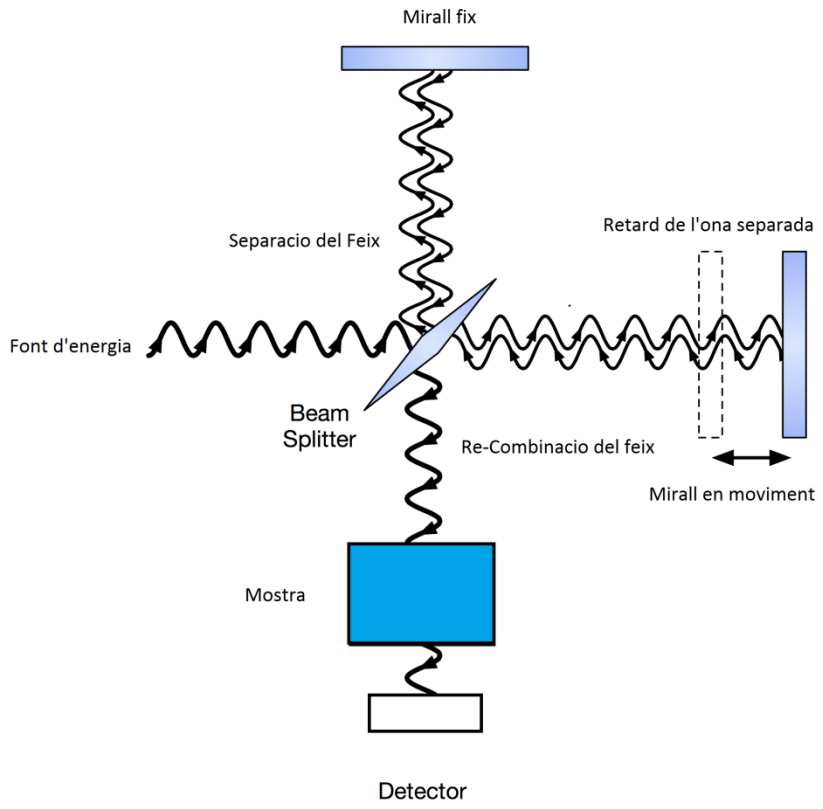

Figura 1.2.1-1. Esquema d'un equip FT-IR.

Els avantatges dels equips FT sobre els equips dispersius són nombrosos. (1) El més evident és l'increment significatiu de la velocitat del registre de la mostra, ja que tot l'espectre s'enregistra alhora i no és necessari l'enregistrament individual de les freqüències. (2) El número d'ona de l'espectre pot ser mesurat amb gran precisió, ja que es simplement funció de la transformada de Fourier. (3) La funció de resolució es fàcil de manipular i controlar, ja que nomes depèn de la distància a la que es mou el mirall. I (4) l'alta resolució pot aconseguir-se en equips relativament compactes (Ferraro 1982). Actualment la tendència de totes les grans marques d'espectrofotòmetres és introduir el FT en tot els seus models. Així, marques com Agilent, Bruker i Themo Scientific ja només produeixen sistemes FT pels seus clients.

La presa de mostra en temps real i en el camp (on-line i on-field) és una de les prioritats per totes les companyies. Com s'ha esmenat abans, la tecnologia FT pot obtenir una alta resolució en equips compactes, fent que aquesta tecnologia sigui idònia per a la construcció d'equips portàtils o de mà. En els últims anys s'han produït grans millores en el camp dels equips portàtils, posant-los al mateix nivell que els equips de sobretaula (Arno 2012; O'Brien 2012). La versatilitat d'aquests equips per prendre mesures on-line i on-field ha despertat l'interès de la comunitat científica i de les companyies que hi

veuen l'oportunitat de fer ús de la tecnologia IR sense haver de gastar mots diners en la compra d'aquest aparell. Els principals avantatges dels equips portàtils són el seu baix cost, mida reduïda, robustesa, lleugeresa i que generalment necessiten un entrenament mínim per la seva utilització. Això els fa molt apropiats per a la utilització en empreses i també en camps de recerca com la millora vegetal, bancs de germoplasma i agricultors (Ellis 2006). Tot i els avantatges , aquest equips són molt nous i això que fa que encara hi hagi poques referència de la seva utilització. L'equip de Dr. Luis Rodruiguez-Saona de la Ohio State University és un dels pioners en la utilització d'aquest equips en aliments, desenvolupant models per a l'anàlisi de la composició en olis i tomàquets, i adulteracions en llet (Allendorf 2012; Hassel 2012; Santos 2013; Wilkerson 2013). Malgrat les esmentades millores dels equips, encara cal fer molta recerca per poder demostrar que donen una qualitat comparable d'espectre a la dels equips convencionals de sobretaula i poder analitzar com afecta la reducció de la mida de l'equip al deteriorament de la mesura del espectre (Sorak 2012).

Capítol 2. Objectius

Capítol 2. Objectius

2.1 Objectiu general

L'objectiu de la tesi és desenvolupar models basats en l'espectrometria d'infraroig per a la predicció de paràmetres de qualitat de la mongeta seca i avaluar-ne l'aplicabilitat a la millora i selecció per a caràcters químics i sensorials.

2.2 Objectius específics

L'objectiu general es divideix en tres objectius específics, cadascun d'ells desenvolupat en un article. Els dos primers tracten sobre el contingut de components químics i el tercer sobre els atributs sensorials de la mongeta seca.

- Determinar mitjançant l'espectrometria NIR el contingut de fibra alimentària, àcids urònics, cendres, calci i magnesi de la pell de la mongeta. Comparar els resultats obtinguts a partir dels espectres de les mongetes intactes i de la farina de la pell.

- Determinar mitjançant l'espectrometria IR el contingut de proteïna, midó i amilosa del cotiledó de la mongeta. Avaluar els resultats obtinguts mitjançant NIR dispersiu, FT-NIR i MIR utilitzant equips de sobretaula i portàtils.

- Avaluar l'aplicació de la tecnologia NIR per la predicció dels atribut sensorials: aroma, gust, farinositat, percepció de la pell, brillantor de la pell i rugositat de la pell de la mongeta. Comparar els resultats obtinguts a partir dels espectres de farina de mongetes crues, farina de mongetes cuites deshidratades i puré de mongetes cuites.

CAPÍTOL 3. Near-Infrared Spectroscopy Analysis of Seed Coats of Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.): A Potential Tool for Breeding and Quality Evaluation

Near-infrared spectroscopy analysis of seed coats of common beans (*Phaseolus vulgaris L.*): a potential tool for breeding and quality evaluation

Marçal Plans , Joan Simó , Francesc Casañas , and José Sabaté
J. Agric. Food Chem., 2012, 60 (3), pp 706–712

Publication Date (Web): December 16, 2011
Copyright © 2011 American Chemical Society

Read this article on the website of the publisher

Llegiu aquest article a la web de l'editor

Este artículo puede leerse en la web del editor

http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf204110k

DOI: 10.1021/jf204110k

CAPÍTOL 4. Characterization of Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) by Infrared Spectroscopy: Comparison of MIR, FT-NIR and Dispersive NIR using Portable and Benchtop Instruments

Characterization of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) by infrared spectroscopy: comparison of MIR, FT-NIR and dispersive NIR using portable and benchtop instruments

Marçal Plans, Joan Simó, Francesc Casañas , José Sabaté, Luis Rodríguez-Saona

Food Research International, Volume 54, Issue 2, December 2013, Pages 1643–1651
DOI: 10.1016/j.foodres.2013.09.003

Read this article on the website of the publisher

Llegiu aquest article a la web de l'editor

Este artículo puede leerse en la web del editor

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996913004900

DOI: 10.1016/j.foodres.2013.09.003

CAPÍTOL 5. Estimation Sensory Properties of Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) by Near Infrared Spectroscopy

Estimating sensory properties of common beans (*Phaseolus vulgaris L.*) by near infrared spectroscopy

Marçal Plans, Joan Simó, Francesc Casañas , Roser Romero del Castillo, Luis E. Rodríguez-Saona , José Sabaté

Food Research International, Volume 56, February 2014, Pages 55–62

DOI: 10.1016/j.foodres.2013.12.003

Read this article on the website of the publisher

Llegiu aquest article a la web de l'editor

Este artículo puede leerse en la web del editor

http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996913006571

DOI: 10.1016/j.foodres.2013.12.003

Capítol 6. Discussió General

Capítol 6. Discussió general

Aquesta tesi es troba en el marc del programa de millora, selecció i conservació vegetal de varietats de mongetes seques en el què participa el grup de recerca Equip de Millora Vegetal per a Característiques Organolèptiques (EMVCO) de la Universitat Politècnica de Catalunya (UPC). Tots els disseny dels experiments han estat plantejats tenint en compte la variabilitat que podem trobar dins de les varietats de mongeta catalanes i espanyoles conservades majoritàriament pel *Centro de Recursos Filogenéticos del Instituto Nacional de Investigaciones y Tecnología Agraria y Alimentaria* (CRF-INIA), la Fundació Miquel Agustí (FMA) i el *Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario* (SERIDA). Com es pot observa en tots els materials i mètodes dels capítols anteriors (3, 4 i 5), tot el conjunt de mostres utilitzades pel desenvolupament de l'experimentació provenen dels esmentats organismes.

6.1. Caràcters químics de les mongetes seques

Els plans de millora i selecció vegetal així com els bancs de germoplasma requereixen de l'avaluació d'un gran nombre d'entrades o mostres. Durant molts anys s'ha intentat millorar l'aspecte analític i metodològic creant mètodes més ràpids i versàtils per a l'anàlisi químic. Així, per a la anàlisis de proteïna s'han proposat tècniques com el DUMAS (Thompson 2002), per a l'anàlisi de la composició elemental, tècniques com l'*inductively coupled plasma* ICP (Mermet 2005) o tècniques enzimàtiques per a l'ànàlisis de midó, amilosa i amilopectina (McCleary 1994). Tots aquest esforços han aconseguit que l'avaluació química de les mostres vegetals sigui en l'actualitat més ràpida i econòmica que fa només una dècada. Tot i això, totes aquestes tècniques requereixen de la utilització d'equips d'alta tecnologia en laboratoris especialitzats. En aquesta tesi s'han desenvolupat tècniques d'anàlisi química utilitzant la regió electromagnètics de l'infraroig per avaluar diferents analits químics que es basen en la interacció d'aquesta energia amb la matèria, i així permeten la predicció simultània i ràpida dels diferents analits d'interès, sense una elevava preparació de la mostra i sense reactius.

Tot i que actualment no existeix cap model per a la predicció dels atributs sensorials en mongeta a partir de la seva composició, hi ha dades que suggereixen possibles relacions entre determinats components i certs atributs sensorials. Casañas (2006) va trobar que la baixa farinositat tenia una certa relació amb l'alt contingut proteic i el baix contingut en amilosa de la mongeta. La fermesa de la pell està relacionada amb el contingut en calci, magnesi i la concentració de les pectines solubles (Wang 1988 i Quenzer 1978). Per tant, es va decidir assajar per espectroscòpia NIR la determinació de 5

components químics de la pell: -fibra dietètica, àcids urònics, cendres, calci i magnesi- i 3 del cotiledó: -proteïna, midó i amilosa total.

La pell de la mongeta és un petit percentatge (8-10%) del pes total de la llavor, té una composició química completament diferent de la del cotiledó (Moraghan 2006) i també, per la seva composició, té un paper important en les característiques organolèptiques. La pell esta constituïda bàsicament per fibres, com els àcids urònics, i per una part important de fracció inorgànica (cendres) on destaquen el calci i el magnesi. A més, la major part del calci de la mongeta es troba concentrat en la pell (Casañas 2006; Ribeiro 2012; Moraghan 2006). El cotiledó està format bàsicament per carbohidrats (60%), fibra (25 %), proteïna(24 %), cendres (4%) i grasses (Taula 1.1.3-1), tot i que la composició està fortament lligada a la varietat i l'ambient (Boye 2010). Per tant, es va considerar convenient la separació de la pell del cotiledó per a realitzar els anàlisis químiques i registrar-ne els espectres d'IR.

S'ha treballat amb un conjunt de 90 entrades provinents de diversos camps experimentals de Catalunya i Astúries. Es va analitzar la composició de la pell de totes elles, i el cotiledó en 54.

Per a l'anàlisi química s'han utilitzat els mètodes estandarditzats corresponents a cada un dels analits, aprovats per a la *AOAC International* i *American Association of Cereal Chemists* (AACC). El rang dels paràmetres químics de les mongetes emprades pel calibratge dels models en IR fa palesa l'elevada diversitat de genotips i ambients en què s'ha treballat.

En els anàlisis de la pell de la mongeta s'han trobat uns rangs de concentracions de 529.6–914.6, 68.9–174.2, 31.6–90.6, 4.1–25.6 i 1.6–5.0 g kg^{-1} per la fibra dietètica, els àcids urònics, les cendres, el calci i el magnesi, respectivament. En els anàlisis químics del cotiledó s'ha trobat uns rangs de concentracions de 207.0 –326.8, 309.7–484.4 i 201.2–329.1 g kg^{-1} de matèria seca per la proteïna, midó i amilosa total, respectivament.

6.1.1. Composició química de la pell

S'ha investigat la possibilitat d'utilitzar l'espectre de la mongeta intacte per a la predicció d'atributs químics de la pell. El fet de no haver de separar la pell del cotiledó i després molturar-la seria un gran avantatge ja que és un mètode no destructible, i després es pot utilitzar la llavor en el camp. Per tant, això implica una reducció significativa de temps, ja que no cal posar les llavors en remull 24 hores, separar manualment la pell, assecar-la i finalment molturar-la. Malgrat tots aquests avantatges, els

resultats dels models desenvolupats a partir dels espectres amb mongetes intactes estan lluny de la precisió que es busca en models de predicció.

Un estadístic generalment emprat per a l'anàlisi dels models de regressió i que resumeix el comportament de les seves prediccions és el *ratio of performance to deviation* (RPD), que es defineix com l'error estàndard de predicció (SEP) dividit per la desviació estàndard (SD) del grup de validació. Per a valors de RPD en l'interval 0 – 2.3 el model no és recomanable; valors en l'interval 2.4 - 3 permeten un cribratge groller (*rough screening*) de les mostres; i en 3.1-4.9 el model és adequat pel cribratge (*screening*) de les mostres (Williams 2001). Aquests rangs de RPDs són molt conservadors; en ciències del sòl es consideren models bons o excel·lents amb RPDs a partir de 1.5 (Leone 2012). Així doncs, tots els models desenvolupats utilitzant l'espectre de la mongeta intacta, els podem classificar com a models no recomanables per la predicció, excepte el model del calci que ens permet un cribratge groller. Aquests resultats indiquen que en el nostre cas cal separar la pell del cotiledó i homogeneïtzar abans de mesurar l'espectre. Els models que utilitzen l'espectre de la farina de la pell van donar lloc a valors de RPD de 2.6, 1.5, 3.5, 3.6 i 1.5 per la fibra dietètica, els àcids urònics, les cendres, el calci i el magnesi, respectivament. Això indica que hi ha dos models (cendres i calci) que són suficientment adequats pel cribratge de mostres. El model per la fibra dietètica és útil per a un cribratge groller, mentre que l'ús dels models pels àcids urònics i magnesi no són adequats. Aquests resultats van en el mateix sentit que la comparació dels estudis de Hermida (2006) i Hacisalihoglu (2010), que van treballar amb farina de mongeta i mongeta intacta respectivament essent els primers significativament més acurats.

6.1.2. Composició química del cotiledó

Del cotiledó es va analitzar el contingut de proteïna, midó i amilosa. L'anàlisi dels dos primers mitjançant NIR ja s'ha descrit en la literatura (Hermida 2006, Hacisalihoglu 2010), si bé per a tota la mongeta, sense separar pell i cotiledó. En el nostre cas, a part de mirar només el cotiledó, es van assajar diferents equips d'IR.

Actualment existeixen en el mercat una gran varietat d'equips IR amb variabilitat de selectors d'ona, com el equips dispersius o els equips FT. En tots els casos la tendència actual és fer equips més compactes. Recentment, els equips portàtils han pres una gran importància en la investigació, en particular a la destinada a crea eines d'aplicació, ja que poden ser utilitzats en diverses localitzacions i el seu cos és més reduït que els equips de laboratori convencionals. Això ha fet que els IR portàtils siguin molt atractius en molts camps d'investigació i en la indústria. Mentre que en el passat no estaven a

l'abast pel seu elevat cost i especificitat del laboratori, actualment molts equips de recerca, bancs de germoplasma o laboratoris de control de qualitat poden pensar en la possibilitat d'utilitzar-los. En canvi, els equips de sobretaula necessiten en molts casos de gasos com aire comprimit sec pel seu funcionament. Una representació d'aquest equips portàtils i els seus homòlegs de sobretaula van utilitzar-se per desenvolupar els models de proteïna, midó i amilosa total pel cotiledó.

Pels equips NIR dispersius es van utilitzar el NIR 5000 (FOSS NIRSystems Inc, Laurel, MD) equipat amb *rapid contents analyzer* (RCA) i els seu homòleg portable va ser el microPhazIR (Thermo Scientifics, Wilmington, MA). La diferència principal entre els dos equips és que el portàtil té una resolució fixa de 8 nm mentre que en l'equip de laboratori és variable i és l'usuari qui fixa la resolució. Pel que fa a l'infraroig mitjà tots els equips utilitzats tenien tecnologia FT: l'equip portàtil Cary 630 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) i el seu homòleg de sobretaula Varian Escalibur FT-IR 3100 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA). En ambdós casos es va utilitzar un *attenuated total reflection* (ATR) per la col·lecció de l'espectre. Finalment, també es va avaluar el funcionament de la tecnologia FT amb la regió del NIR utilitzant l'equip de sobretaula Varian Escalibur FT-IR 3100 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) equipat amb l' *Integrating Sphere* (PIKE, Technology, Madison, WI).

La capacitat del NIR per assignar grups funcionals específics a les bandes o regions de l'espectre és baixa en matrius complexes com les mongetes (Williams 2001). La correlació 2D entre l'espectre NIR i el MIR pot identificar quines bandes del NIR estant associades amb les bandes MIR. En el nostre cas, es va identificar una alta correlació entre les bandes 1620 (amida I), 15510 (amida II), 1250 (amida III) i 980 (C-H) cm^{-1}, amb les bandes 6850, 6800, 6770, 5250, 4600, 4550, 4350 i 4250 cm^{-1} del NIR. Aquestes bandes NIR són les candidates a tenir una relació més forta amb el contingut de proteïna, midó i amilosa total.

Els millors models de regressió PLSR per a la proteïna, midó i amilosa total s'obtenen utilitzant l'equip FT-NIR, que proporciona uns RPD de 3.7, 3.2 i 2.8, respectivament. Tots els models de regressió obtinguts utilitzant la regió del MIR necessiten de més factors-PLSR pel seu calibratge. Això pot ser perquè per a la col·lecció de l'espectre en el MIR és necessari pressionar la mostra contra l'ATR, fent que variacions de pressió modifiquin la intensitat de la senyal registrada pel detector. Els models PLSR pels equips portàtils són capaços d'estar al mateix nivell de bondat d'ajust o fins i tot en alguns casos millorar els resultats dels seus homòleg de sobretaula. Aquests resultats són esperançadors, ja que permeten la seva utilització en diferents camps d'aplicació com ara la genètica vegetal, bancs de germoplasma, companyies conserveres i companyes productores de menjars precuinats.

Un cop les mostres són molturades, en molts casos es guarden en bosses de plàstic per a la seva conservació i pel posterior anàlisi. El registre de l'espectre amb la mínima manipulació de la mostra ajudaria a incrementar la velocitat del procés analític i evitar la contaminació creuada entre mostres. Aquest tipus de registre de la mostra només pot ser utilitzat en la regió del NIR, ja que pel MIR és necessari el contacte directe de l'ATR amb la mostra. Malauradament, els models obtinguts utilitzant la bossa mostren un empitjorament en la bondat d'ajust dels models de regressió en tots els casos. S'observa que els models de regressió per l'equip portàtil no són aplicables per a la predicció de midó (RPD=2.5) ni de l'amilosa total (RPD=2.0) i el model de proteïna és aplicable pel cribratge groller de mostres (RPD=2.6). La utilització de l'equip NIR portàtil directament amb la bossa no és recomanable pel seu ús. Pel que fa a l'equip de sobretaula (FT-NIR), tot i la reducció de la bondat d'ajust, el model de proteïna encara conserva unes bones característiques (RPD= 3.31), mentre que el model pel midó és aplicable pel cribratge groller de mostres (RPD=2.7). Com passa amb l'equip portàtil, el model per a l'amilosa total no és recomanable pel seu ús.

6.2. Caràcters sensorials de les mongetes seques

Estimar els atributs sensorials mitjançant l'espectre electromagnètic, seria un eina important per a la millora i selecció en el cultiu de la mongeta. Això permetria l'anàlisi d'un gran volum de mostres que amb tècniques clàssiques com el panel de tast entrenat és inabastable. A més permetria fenotipar col·leccions en bancs de germoplasma i introduir aquests atributs en processos de millora i selecció vegetal. La modelització dels atributs sensorials ha estat assajada en un conjunt de 55 mostres que intenten recollir la màxima variabilitat de la col·lecció de mongetes espanyoles. L'espectre es va registrar en tres tipus diferents de mostres: (1) farina de mongeta crua, que implica un estalvi important de temps i de necessitats logístiques donat que no cal cuinar-la, (2) puré homogeneïtzat de mongeta cuita, on malgrat que l'aigua presenta una elevada absorció en el NIR i actua com a interferent, hi ha l'avantatge que no s'ha d'assecar ni molturar la mostra i (3) la farina de la mongeta cuita i deshidratada, que és la que portar més feina de preparació però que en principi hauria de representar millor els compostos que els tastadors perceben durant el tast. Les anàlisis sensorials, realitzades per duplicat, van mostrar diferències significatives entre els genotips i entre els panelistes. (En una escala de 0-10, , es van obtenir valors del diferents atributs en els següents rangs: aroma (2.34-5.65), gust (2.19-6.40), farinositat (2.13-7.87), percepció de la pell (1.01-6.11), rugositat de la pell (1.71-7.84) i brillantor de la pell (2.54-8.30).

Es van trobar correlacions significatives entre tots els atributs sensorials excepte en la percepció de la pell. Això, pot ser degut a que la percepció de la pell es troba fortament associada a la composició de calci, magnesi i àcids urònics de la pell (Wang 1988 i Quenzer 1978) i aquesta pell queda diluïda en el cotiledó un cop molturada la llavor. En canvi, tots els altres atributs sensorials avaluats podrien estar associades a la composició del cotiledó, tot i que actualment no existeix cap estudi que ho corrobori. Aquesta afirmació és important per als nostres models sensorials i especialment per a l'atribut de la percepció de la pell, ja que voldria dir que com passava amb la composició química de la pell, podria ser necessari separar-la del cotiledó a fi d'obtenir models de regressió robustos.

Per a l'avaluació de la bondat d'ajust dels models de regressió PLSR dels atributs sensorials, s'ha utilitzat el paràmetre RPD, explicat anteriorment, i la relativa habilitat de predicció (RAP), un quocient entre la desviació que té el model espectroscòpic dividit per la desviació de l'avaluació del panel de tast. Es tracta d'un estadístic proposat per Martens i Martens (1986), més lax que el RPD i que està enfocat a l'avaluació de models sensorials, on s'acostuma a tenir una major dispersió de les anàlisis de referència. Així doncs, en el millor dels casos es tindria un RAP d'1, on l'error associat del model és igual a l'error del panel de tast; mentre que un RAP de 0 o negatiu vol dir que l'error del model és major o igual a la desviació de l'atribut i descriu una manca d'habilitat del model per a la predicció d'aquest atribut sensorial.

Els models avaluats mitjançant l'espectre de farina de mongeta crua obtenen uns valors pobres de RAP i RPD, per sota de 0.60 i 1.40 respectivament, per a tots els atributs excepte la brillantor de la pell (RAP=0.74 i RPD=1.61) i el gust (RAP=0.61 i RPD=1.40). Els models obtinguts utilitzant els purés homogeneïtzats de les llavors cuites, només milloren el model per a la farinositat (RAP=0.62 i RPD=1.46). Finalment, els últims models avaluats van ser els obtingut mitjançant l'espectre de les mongetes cuites, deshidratades i molturades. S'obtenen uns bons models de predicció pel gust (RAP=0.81 i RPD=1.62), la farinositat (RAP=0.83 i RPD=1.90), la rugositat de la pell (RAP=0.53 i RPD=1.55) i la brillantor de la pell (RAP=0.69 i RPD=1.40). Malauradament, l'aroma (RAP=0.41) i la percepció de la pell (RAP=0.35) no es poden predir amb la bondat necessària. Aquest últim es pot explicar pel fet que la percepció de la pell és un caràcter fortament lligat a la composició de la pell i molt poc influït per la del cotiledó. Al registrar l'espectre de la mongeta molturada, el senyal deguda a la pell és molt baix i no és possible modelitzar-lo. Al compara els resultats entre els purés homogeneïtzats i les farines dels purés deshidratats es posa de relleu que l'aigua actua com a fort interferent de la mesura de l'espectre, diluint la intensitat i emmascarant les bandes associades als compostos relacions amb els atributs sensorials.

Capítol 7. Conclusions

Capítol 7. Conclusions

1. El contingut de calci, cendres i fibra dietètica de la pell de la mongeta es pot predir a partir dels espectres NIR de la farina de la pell. Els valors obtinguts de RPD per a aquests components foren 3.57, 3.49 i 2.60, respectivament. Atesa la baixa capacitat predictiva dels espectres NIR registrats sobre mongetes intactes, la separació de la pell del cotiledó es fa necessària per a una correcta predicció.

2. Totes les tecnologies d'espectrometria IR avaluades (MIR, NIR dispersiu i FT-NIR) mostren una bona capacitat per a la predicció del contingut de proteïna, midó i amilosa total del cotiledó de la mongeta a partir dels espectres registrats en farina de cotiledó.

3. Els models que obtenen millors prediccions són els obtinguts utilitzant l'equip de sobretaula FT-NIR, que van donar valors de RPD de 3.65, 3.16 i 2.80 per a la proteïna, midó i amilosa total, respectivament. Els resultats obtinguts amb equips d'IR portàtils i els seus homòlegs de sobretaula tenen bondats similars.

4. Les valoracions realitzades per un panel de tast entrenat sobre els atributs sensorials següents: gust, farinositat, brillantor de la pell i rugositat de la pell de la mongeta, es poden estimar mitjançant espectrometria NIR. Els valors obtingut de RAP per a aquests atributs foren 0.81, 0.83, 0.69 i 0.53 respectivament. Per contra, cap model quimiomètric ha permès estimar les valoracions de l'aroma i la percepció de la pell.

5. Per a l'adequada estimació dels atributs sensorials, cal emprar espectres registrats sobre mostres de farina de mongeta cuita i deshidratada, i en canvi no és recomanable la utilització de mostres de farina de mongeta crua o puré de mongetes cuites.

6. Durant el fenotipat de col·leccions de mostres molt nombroses, l'espectrometria NIR podria utilitzar-se per a descartar mostres que difereixin substancialment de l'ideotip de característiques sensorials. Això reduiria el nombre requerit de sessions de tast i permetria dur a terme una selecció que, d'una altra manera, seria inabastable.

Bibliografia

Bibliografia

A

Allendorf, M., Subramanian, A. and Rodriguez-Saona, L. **2012**. Application of a handheld portable mid-infrared sensor for monitoring oil oxidative stability. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89 (1), 79–88.

Arno, J., Cardillo, L., Judge, K., Frayer, M., Frunzi, M., Hetherington, P., *et al*. **2012**. Advances in hand-held FT-IR instrumentation. In: Druy M.A. and Crocombe R.A. Eds. *Next-generation spectroscopic technologies V*, vol. 8374. Bellingham: Spie-Int Soc Optical Engineering. MD, USA.

B

Bahadure, N.B. **2010**. Microprocessors : 8086/8088, 80186/80286, 80386/80486 and the Pentium family. PHI Learning Private Limited. New Delhi. India. p. 3-30.

Baird, D. **1993**. Analytical-Chemistry and the Big Scientific Instrumentation Revolution. *Annals of Science*, 50(3): p. 267-290

Beebe, K.R., Pell, R.J. and Seasholtz, M.B. **1998**. Chemometrics: A Practical Guide. John Wiley & Sons, Inc. NY. USA. 245-339.

Ben-Gera, I. and Norris, K.H. **1968**. Direct Spectrophotometric Determination of Fat and Moisture in Meat Product. *Journal of Food Science*, 33 (1), 64-67.

Blanco, M. and Alcala, M. **2005**. Use of Near-Infrared Spectroscopy for Off-line Measurement in the Pharmaceutical Industry. In: Bakeev, K. Ed. *Process Analytical Technology*. Blackwell Publishing, Oxford, UK. p. 362-391.

Blanco, M. and Villarroya, I. **2002**. Nir Spectroscopy: a Rapid-Response Analytical Tool. *Trends in analytical Chemistry,* 21 (4), 240-250.

Boeriu, C.G., Yuksel, D., de Vries, R.V.V., Stolle-Smits, T. and van Dijk, C. **1998**. Correlation Between Near Infrared Spectra and Texture Profiling of Steam Cooked Potatoes. *Journal of Near Infrared Spectroscopy, 6,* A291-A297.

Boye, J., Zare, F. and Pletch, A. **2010**. Pulse proteins: Processing, Characterization, Functional Properties and Applications in Food and Feed. *Food Research International*, 43 (2), 414-431

Bras, L.P., Bernardino, S.A., Lopes, J.A. and Menezes, J.C, **2005**. Multiblock PLS as an Approach to Compare and Combine NIR and MIR Spectra in Calibrations of Soybean Flour. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems,* 75 (1), 911-99

Butz, P., Hofmann, C. and Tauscher, B. **2005**. Recent developments in noninvasive techniques for fresh fruit and vegetable internal quality analysis. *Journal of Food Science,* 70 (9)*,* R131-R141.

C

Carbonaro, M., Maselli, P. and Nucara, A. **2012** . Relationship between digestibility and secondary structure of raw and thermally treated legume proteins: a Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopic study. *Amino Acids*, 43 (2),911-921.

Casañas, F., Pujolà , M., del Castillo, R. R., Almirall, A., Sanchez, E. and Nuez, F. **2006**. Variability in some texture characteristics and chemical composition of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 86 (14), 2445 – 2449.

Chalucova, R., Krivoshiev, G., Mukarev, M., Kalinov, V. and Scotter, C. **2000**. Determination of Green Pea Maturity by Measurement of Whole Pea Transmittance in the NIR Region. *LWT-Food Science and Technology*, 33 (7), 489-498.

Coates, J. **1990**. Instrumentation for Infrared Spectroscopy. In: Ewing, G.W. Ed. *Analytical Instrumentation Handbook*. Marcel Dekker, Inc. NY. USA. p. 233-280.

Cozzolino, D., Smyth, H.E., Lattey, K.A., Cynkar, W., Janik, L., Dambergs, R.G., Francis, I.L. and Gishen, M. **2005**. Relationship between sensory analysis and near infrared spectroscopy in Australian Riesling and Chardonnay wines. *Analytica Chimica Acta*, 539 (1), 341-348.

Cozzolino, D., Smyth, H.E., Lattey, K.A., Cynkar, W., Janik, L., Dambergs, R.G., Francis, I.L. and Gishen, M. **2006**. Combining mass spectrometry based electronic nose, visible-near infrared spectroscopy and chemometrics to assess the sensory properties of Australian Riesling wines. *Analytica Chimica Acta*, 563 (1), 319-324

D

Delwiche, S. R., Pordesimo, L. O., Scaboo, A. M. and Pantalone, V. R. **2006**. Measurement of inorganic phosphorus in soybeans with near- infrared spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (19), 6951−6956

Donald, A.B. and Ciurczak, E.W. **2001**. Handbook of Near-Infrared Analysis, Second Edition. Marcel Dekker, Inc. NY. USA. p. 1-10.

E

Eichinger, P.C.H, Rothnie, N.E., Delaere, I. and Tate, M.E. **2000**. New Technologies for Toxin Analyses in Food Legumes. *Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture*, 34, 685-692.

Ellis, D. I. and Goodacre, R. **2006**. Metabolic fingerprinting in disease diagnosis: Biomedical Applications of Infrared and Raman spectroscopy. *Analyst*, 131 (8), 875–885.

Esbensen, K., Guyot, D., Westad, F. and Houmøller, L.P. **2002**. Multivariate Data Analysis. In Practice: An Introduction to Multivariate Data Analysis and Experimental Design. 5th ed.Camo Process AS. Oslo. Norway.

Esteban-Díez, I., González-Sáiz, J.M. and Pizarro, C. **2004**. Prediction of sensory properties of espresso from roasted coffee samples by near-infrared spectroscopy. *Analytica Chimica Acta*, 525 (2), 171-182.

Esteve, A.L., Armstrong, P.R., Tallada, J.G. and Hurburgh, C.R.J. **2013**. Differences between Conventional and Glyphosate Tolerants Beans and Moisture Effect in their Discrimination by Near Infrared Spectroscopy. *Food Chemistry*, 144 (3) , 1895-901.

F

Fagan, C.C., Everard, C., O'Donnell, C.P., Downey,G., Sheehan, E.M., Delahunty, C.M. and O'Callaghan, D.J. **2007a**. Evaluating Mid-infrared Spectroscopy as a New Technique for Predicting Sensory Texture Attributes of Processed Cheese. *Journal of Dairy Science*, 90 (3), 1122-1132.

Fagan, C.C., O'Donnell, C.P., O'Callaghan, D.J., Downey, G., Sheehan, E.M., Delahunty, C.M., Everard, C., Guinee, T.P. and Howard, V. **2007b**. Application of Mid-Infrared Spectroscopy to the Prediction of Maturity and Sensory Texture Attributes of Cheddar Cheese. *Journal of Food Science*, 72 (3), E130-E137.

FAOSTAT. 2013. Web consultada el 11 d'Agost de 2013. Disponible en la següent adreça electrònica http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor.

Ferraro, J.R. and Basile L.J. **1982**. Fourier Transform Infrared Spectroscopy. Academic Press. NY.USA. p. 149-209.

Flinn, P. C., Black, R. G., Iyer, L., Brouwer, J. B. and Meares, C. **1998**. Estimating the food processing characteristics of pulses by near infrared spectroscopy, using ground or whole samples. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 6, 213−220.

Fontaine, J., Horr, J. and Schirmer, B. **2001**. Near-infrared reflectance spectroscopy enables the fast and accurate prediction of the essential amino acid contents in soy, rapeseed meal, sunflower meal, peas, fishmeal, meat meal products, and poultry meal. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (1), 57−66.

Font, R., del Rio-Celestino, M. and de Haro-Bailon, A. **2006**. The use of near-infrared spectroscopy (NIRS) in the study of seed quality components in plant breeding programs. *Industrial Crop and Products*, 24 (3) , 307−313.

François, I.M., Wins, H., Buysens, S., Godts, C., Van Pee, E., Nicolai, B. and De Proft, M. **2008**. Predicting Sensory Attributes of Different Chicory Hybrids Using Physico-Chemical Measurements and Visible/Near Infrared Spectroscopy. *Postharvest Biology and Technology,* 49 (3), 366-373.

H

Hacisalihoglu, G., Larbi, B. and Settles, A. M. **2010**. Near-infrared reflectance spectroscopy predicts protein, starch, and seed weight in intact seeds of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58 (2) , 702−706.

Hassel, S. and Rodriguez-Saona, L. E. **2012**. Application of a handheld infrared sensor for monitoring the mineral fortification in whole grain cornmeal. *Food Analytical Methods*, 5 (3), 571–578.

Hermida, M., Rodriguez, N. and Rodriguez-Otero, J. L. **2006**. Determination of moisture, starch, protein, and fat in common beans (Phaseolus vulgaris L.) by near infrared spectroscopy. *Journal of AOAC International*, 89 (4), 1039−1041.

J

Jackson J.E. **1991**. A Users Guide to Principal Components. Wiley .NY. USA.

Jiang, Y. and Wu, P. Y. **2009**. Study of soy protein by mid-infrared spectroscopy and near-infrared spectroscopy. *Progress Chemistry*, 21 (4) , 705–714.

K

Karoui, R. and De Baerdemaeker, J. **2007**. A Review of the Analytical Methods Coupled with Chemometric Tools for the Determination of the Quality and Identity of Dairy Products. *Food Chemistry,* 102 (3), 621-640.

Kaye, W. **1954**. Near-Infrared Spectroscopy: I. Spectral Identification and Analytical Applications, *Spectrochimica Acta*, 6 (4), 257-287.

Kemsley, EK. **1995**. Discrimination between Coffea-Arabica and Coffea-Canephora Variant Robusta Beans using Infrared-Spectroscopy. *Food Chemistry*, 54 (3), 321-326.

Khattab, R. Y., Arntfield, S.D. and Nyachoti, C.M. **2009**. Nutritional Quality of Legume Seeds as Affected by Some Physical Treatments. Part 1: Protein Quality Evaluation. *Food Science and Technology*. 42 (6), 1107-1112.

Kjølstad,L., Isaksson, T. and Rosenfeld, H.J. **1990**. Prediction of Sensory Quality by Near Infrared Reflectance Analysis of Frozen and Freeze Dried Green Peas (*Pisum sativum*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 51(2), 247-260.

L

Lambert, J.B., Shurvell, H.F., Lightner, D.A. and Cooks, R.G. **1998**. Organic Structural Spectroscopy. Prentice Hall. NJ. USA. p. 151-251.

Lawless, H.T. and Heymann, H. **1998**. Sensory Evaluation of Food, Principles and Practices. Kluwer Academic/Plenum Publishers. NY. USA. p. 2.

Leone A.P., Viscarra-Rossel R., Amenta P. and Buondonno A. **2012**. Prediction of Soil Properties with PLSR and Vis-NIR Spectroscopy: Application to Mediterranean Soils from Southern Italy. *Current analytical chemistry*, 8 (2), 283-299.

M

Martens, M. and Martens, H. **1986**. Near-Infrared Reflectance Determination of Sensory Quality of Peas. *Applied Spectroscopy,* 40 (3)*,* 303-310.

Martens, H. and Naes, T. **1992**. Multivariate Calibration. John Wiley & Sons: Chichester.NY.USA.

McCleary, B.V., Gibson, T.S., Solah, V. and Mugford, D.C. **1994**. Total Starch Measurement in Cereal Products: Interlaboratory Evaluation of a Rapid Enzymic Test Procedure. *Cereal Chemistry*, 71 (5), 501-505.

Mermet, J.M. **2005**. Is it still Possible, Necessary and Beneficial to Perform Research in ICP-Atomic Emission Spectrometry? *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 20 (1), 11-16.

Moraghan, J.T., Etchevers, J.D. and Padilha, J. **2006**. Contrasting accumulations of calcium and magnesium in seed coats and embryos of common bean and soybean. *Food Chemistry*, 95 (4), 554–561.

N

Noble, D. **1995** Illuminating Near-IR. *Analytical Chemistry*, 67 (23), 735A-40A.

Norris, K.H. **1964**. Simple Spectroradiometer for 0.4 to 1.2 Micron Region. *American Society of Agricultural Engineering*, 7 , 240-242.

O

O'Brien, N. A., Hulse, C. A., Friedrich, D.M., Van Milligen, F. J., von Gunten, M. K., Pfeifer, F., *et al.* **2012**. Miniature near-infrared (NIR) spectrometer engine for handheld applications In: Druy M.A. and Crocombe R.A. Eds. *Next-generation spectroscopic technologies V*, vol. 8374. Bellingham: Spie-Int Soc Optical Engineering. MD, USA.

Oomah, B.D., Blanchard, C. and Balasubramanian, P. **2008**. Phytic Acid, Phitase, Minerals and Antioxidant Activity in Canadian Dry Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (23), 11312-11319.

Osborne, B.G. and Fearn, T. **1986**. Near Infrared Spectroscopy in Food Analysis. Longman Scientific & Technical. NY. USA.

Otto, M. **2007.** Chemometrics, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. Betz-druck GmbH, Darmstadt. Germany.

P

Pavia, D., Lampman, G. and Kriz, G. **1996**. Introduction to Spectroscopy. Saunders College Publishing. FL.USA. p. 1-95

Pirman, T. and Stibilj, V. **2003**. An influence of Cooking on Fatty Acid Composition in Three Varieties of Common Beans and in Lentil. *European Food Research and Technology*, 217 (6), 498-503.

Prieto, N., Roehe, R., Lavín, P., Batten, G. and Andrés, S. **2009**. Application of Near Infrared Reflectance Spectroscopy to Predict Meat and Meat Poducts Quality: A Review. *Meat Science,* 83 (2), 175-186.

Pujola, M., Farreres, A. and Casañas, F. **2007**. Protein and Starch Content of Raw, Soaked and Cooked Beans (*Phaseolus vulagis* L.). *Food Chemistry*, 102 (4), 1034-1041.

Q

Quenzer, N.M., Huffman, V.L. and Burns, E.E. **1978**. Some Factors Affecting Pinto Bean Quality. *Journal of Food Science*, 43 (4), 1059−1061.

R

Ramis, G. and García, M.C. **2001**. Quimiometría. Editorial Síntesis. Madrid. Spain.

Ribeiro, J.S., Ferreira, M.M.C. and Salva, T.J.G. **2011**. Chemometric models for the quantitative descriptive sensory analysis of Arabica coffee beverages using near infrared spectroscopy. *Talanta*, 83 (5), 1352-1358.

Ribeiro, N.D., Maziero, S.M., Prigol, M., Nogueira, C.W., Rosa D.P. and Possobom, M.T.D.F. **2012**. Mineral Concentrations in the Embryo and Seed Coat of Common Bean Cultivars*. Journal of Food Composition and Analysis*, 26 (1-2), 89-95.

Romero Del Castillo, R., Costell, E., Plans, M., Simo, J. and Casañas, F. **2012**. A Standardized Method of Preparing Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) for Sensory Analysis. *Journal of Sensory Studies*, 24 (3), 188-195.

Romero Del Castillo, R., Valero, J., Casañas, F. and Costell, E. **2008**. Training, Validation and Maintenance of Panel to Evaluate the Texture of Dry Beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Sensory Studies*, 23 (3),303-319.

S

Salunkhe, D.K., Sathe, K.S. and Deshpande, S.S. **1989**. French Beans in Handbook of World Food Legumes: Nutritional Chemistry, Processing Technology, and Utilization. Volumen II. In: Salunke, D.K. and Kadam, S.S. Editors. CRC Press,Inc. FL. USA. p. 294-310.

Santos, P.M., Pereira, E. R. and Rodriguez-Saona, L. E. **2013**. Application of hand-held and portable infrared spectrometers in bovine milk analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(6), 1205–1211.

Sanz, M. **1997**. Parametros Fisico-Quimicos y Sensoriales que Evaluan la Calidad de las Legumbres de Consumo Humano. Tesis Doctoral. Departamento de Bioquimica y Biologia Molecular. Facultad de Biologia. Universidad de Leon. Spain. p. 261.

Savitzky, A. and Golay, M.J.E. **1964**. Smoothing and Differentiation of Data by Simpliffied Least Squares Procedures. *Analytical Chemistry*, 36 (), 1627-1639.

Shellie-Dessert, K.C. and Bliss, F.A. **1991**. Genetic Improvement of Food Quality Factors in Common Beans. In: Schoonhoven van, A. and Voysest, O. *Research for Crop Improvement*. CAB and CIAT. Wiltshire, UK. p. 980.

Shermanm, H. **1997**. Infrared Spectroscopy. In Settle, F. Ed. *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*. NJ.USA. p. 247-283.

Sinelli, N., Cerretani, L., Di Egidio, V., Bendini, A. and Casiraghi, E. **2010**. Application of Near (NIR) Infrared and Mid (MIR) Infrared Spectroscopy as a Rapid Tool to Classify Extra Virgin Olive Oil on the Basis of Fruity Attribute Intensity. *Food Reseach International*, 43 (1), 369-375.

Skoog, D.A., Holler, F.J. and Nieman, T.A. **2001.** Principios de analisis instrumental. McGraw-Hill. Madrid. Spain.

Sorak, D., Herberholz, L., Iwascek, S., Altinpinar, S., Pfeifer, F. and Siesler, H.W. **2012**. New developments and applications of handheld Raman, mid-infrared, and near-infrared spectrometers. *Applied Spectroscopy Reviews*, 47 (2), 83–115.

Stone, H. and Sidel, J.L. **1993**. Sensory Evaluation Practices, 2d ed. Academic. San Diego.CA. USA

Sun, J. M., Han, F. X., Yan, S. R., Yang, H. and Tetsuo, S. **2008**. Rapid determination of fatty acids in soybeans *Glycine max* (L.) Merr. by FT- near-infrared reflectance spectroscopy. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 28 (6), 1290−1295.

T

Tavares, K.M., Pereira, R.G.F.A., Nunes, C.A., Pinheiro, A.C.M, Rodarte, M.P. and Guerreiro, M.C. **2012**. Mid-Infrared Spectroscopy and Sensory Analysis Applied to Detection of Adulteration in Roasted Coffee by Addition of Coffee Husks. *Quimica Nova*, 35 (6), 1164-1168.

Thompson, M., Owen, L., Wilikinson, K., Wood, R. and Damant, A. **2002**. A comparison of the Kjeldahl and Dumas Methods for the Determination of Protein in Foods, using Data from a Proficiency Testing Scheme. *Analyst*, 127 (12), 1666-1668.

U

Urban, J. and Hybl, M. **1999**. The use of NIR method for evaluation of the pea (Pisum sativum L.) quality. *Rostlinna Vyroba*, 45 (1), 41−43.

V

van Dijk, C., Fischer, M., Holm, J., Beekhuizen, J.G., Stolle-Smits, T. and Boeriu, C. **2002**. Texture of Cooked Potatoes (*Solanum tuberosum*). 1. Relationships between Dry Matter Content, Sensory-Perceived Texture, and Near-Infrared Spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,50 (18), 5082-5088.

Varmuza, K., Filzmoser, P. **2009**. Introduction to Multivariate Statistical Analysis in Chemometrics. Taylor & Francis Group, FL. USA.

Versari, A., Parpinello, G.P., Chinnici, F. and Megliolo, G. **2011**. Prediction of Sensory Score of Italian Traditional Balsamic Vinegars of Reggio-Emilia by Mid-Infrared Spectroscopy. *Food Chemistry*, 125 (4), 1345-1350.

W

Wang, C. R., Chang, K. C. and Grafton, K. **1988**. Canning Quality Evaluation of Pinto and Navy Beans. *Journal of Food Science,* 53 (3), 772−776.

Wilkerson, E. D., Anthon, G. E., Barrett, D.M., Sayajon, G. F. G., Santos, A.M. and Rodriguez-Saona, L. E. **2013**. Rapid assessment of quality parameters in processin tomatoes using hand-held and benchtop infrared spectrometers and multivariate analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61 (9), 2088–2095.

Williams, P.C. **2001**. Implementation of Near-Infrared Technology. In: Williams, P.C. and Norris, K. Eds. *Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*. American Association of Cereal Chemists. MN. USA. p. 145-169.

Wold, H. **1975**. Soft Modeling by Latent Variables: the Nonlinear Iterative Partial Least Square approch. In: Gani, J. Ed. *Prespectives in probability and statistics*, paper in honour of M.S. Bartlett. Academic Press. London. UK. p. 540.

Wold, S. **1978**. Cross-Validation Estimation of the Number of Components in Factor and Principal Components Models. *Technometrics*, 20 (4), 397-405.

Wold, S. **1995**. Chemometrics; What Do We Mean With It, and What Do We Want from It? *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 30 (1), 109-115.

Wold, S., Berglund, A. and Kettaneh, N. **2002**. New and Old Trends in Chemometrics. How to Deal with the Increasing Data Volumes in R&D&P (research, development and production) - with Examples from Pharmaceutical Research and Process Modeling. *Journal of Chemometrics*, 16 (8-10), 377-386.

Wold, S., Esbensen, K. and Geladi, P. **1987**. Principal Component Analysis. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 2(1-3), 37-52.

Wold, S., Martens, H. and Wold,H. **1983**. The Multivariate Calibration Problem in Chemistry solved by the PLS Method.In: Ruhe, A. and Kågström,B. Eds. *Process Conference Matrix Pencils*. March 1982, *Lecture Notes in Mathematics*. Springer Verlag, Heidelberg. Germany. p. 286-293.

Wold, S. and Sjostrom, M. **1998**. Chemometrics, Present and Future Success. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 44(1-2), 3-14.

Workman, J.J. **1999***.* Review of Process and Non-Invasive Near Infrared and Infrared Spectroscopy: 1993-1999. *Applied Spectroscopy Reviews*, 34 (1-2),1-89.

Wu, J., Huang, F.R., Huang, C.H., Zhang, J. and Chen, X.D. **2013**. Study on Near Infrared Spectroscopy of Transgenic Soybean Identification Based on Principal Component Analysis and Neural Network. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 33 (6), 1537-1541.

Y

Yadav, L.D.S. **2005**. Organic Spectroscopy. Kluwer Academic Publisher, New Delhi, India.