

UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

E. T. S. DE INGENIEROS AGRÓNOMOS Y DE MONTES

DEPARTAMENTO DE BROMATOLOGÍA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS



***“DETERMINACIÓN NO DESTRUCTIVA DE PARÁMETROS
DE CALIDAD DE FRUTAS Y HORTALIZAS MEDIANTE
ESPECTROSCOPIA DE REFLECTANCIA EN EL
INFRARROJO CERCANO”***

TESIS DOCTORAL

Katherine Ubina Flores Rojas

Directoras:

**Dra. M^a Teresa Sánchez Pineda de las Infantas
Dra. Dolores Pérez Marín**

Córdoba, Enero 2009

TITULO: *DETERMINACIÓN NO DESTRUCTIVA DE PARÁMETROS DE CALIDAD DE FRUTAS Y HORTALIZAS MEDIANTE ESPECTROSCOPIA DE REFLECTANCIA EN EL INFRARROJO CERCANO*
AUTOR: *KATHERINE UBINA FLORES ROJAS*

© Edita: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba. 2009
Campus de Rabanales
Ctra. Nacional IV, Km. 396
14071 Córdoba

www.uco.es/publicaciones
publicaciones@uco.es

ISBN-13: 978-84-7801-942-7
D.L.: CO-752/2009

Departamento de Bromatología
y Tecnología de los Alimentos

**“DETERMINACIÓN NO DESTRUCTIVA DE PARÁMETROS
DE CALIDAD DE FRUTAS Y HORTALIZAS MEDIANTE
ESPECTROSCOPIA DE REFLECTANCIA EN EL
INFRARROJO CERCANO”**

TESIS

para aspirar al grado de Doctor por la Universidad de Córdoba presentada por la
Licenciada en Ciencia y Tecnología de Alimentos Dña. *Katherine Ubina Flores Rojas*

La Doctoranda

Fdo.: Katherine Ubina Flores Rojas

Vº Bº Las Directoras

*Fdo.: Profª. Dra. Mª Teresa Sánchez
Pineda de las Infantas*

Fdo.: Dra. Dolores Pérez Marín

Córdoba, Enero 2009



Departamento de Bromatología
y Tecnología de los Alimentos

M^a TERESA SÁNCHEZ PINEDA DE LAS INFANTAS, Profesora Titular del Departamento de Bromatología y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Córdoba y DOLORES PÉREZ MARÍN, Doctora por la Universidad de Córdoba

INFORMAN:

Que la Tesis titulada “**DETERMINACIÓN NO DESTRUCTIVA DE PARÁMETROS DE CALIDAD DE FRUTAS Y HORTALIZAS MEDIANTE ESPECTROSCOPIA DE REFLECTANCIA EN EL INFRARROJO CERCANO**”, de la que es autora Dña Katherine Ubina Flores Rojas, ha sido realizada bajo nuestra dirección durante los años 2006, 2007, 2008, 2009; y cumple las condiciones académicas exigidas por la Legislación vigente para optar al título de Doctor por la Universidad de Córdoba.

Y para que conste a los efectos oportunos firman el presente informe en Córdoba a 8 de Enero de 2009

Fdo.: Prof^a. Dra. M^a Teresa Sánchez
Pineda de las Infantas

Fdo.: Dra. Dolores Pérez Marín

*A mis abuelas: Felicia y
Proserpina, ejemplo de mujeres
trabajadoras del Perú. Cuyo
esfuerzo y tesón conforman la
tesis de sus vidas*

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi sincera gratitud y reconocimiento a todas las personas que han hecho posible la realización de este Trabajo de Investigación:

A la Dra. María Teresa Sánchez Pineda de las Infantas, Profesora Titular de Universidad del Departamento de Bromatología y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Córdoba, y codirectora de esta Tesis.

A la Dra. Dolores Pérez Marín, Coordinadora de Proyectos NIRS del Departamento de Producción Animal de la Universidad de Córdoba, y codirectora de esta Tesis.

A la Agencia Española de Cooperación Internacional, por la oportunidad de formarme en España.

A los Departamentos de Bromatología y Tecnología de los Alimentos y Producción Animal de la Universidad de Córdoba.

A mi familia, por su apoyo incondicional durante todo el tiempo que ha durado la realización de esta Tesis Doctoral.

Por último, a todos aquellos que durante estos años se han interesado por el desarrollo de esta tesis, muchas gracias.

ÍNDICE

Capítulo 1. INTRODUCCIÓN	16
1.1. LA HORTOFRUTICULTURA EN ESPAÑA	16
1.2. LA CALIDAD EN EL SECTOR DE FRUTAS Y HORTALIZAS	18
1.2.1. Influencia de los factores precosecha en la calidad poscosecha de frutas y hortalizas	19
<i>1.2.1.1. Factores agronómicos</i>	20
<i>1.2.1.2. Factores ambientales</i>	24
<i>1.2.1.3. Factores genéticos</i>	25
<i>1.2.1.4. Factores fisiológicos</i>	26
1.2.2. Recolección	29
1.2.3. Influencia de los factores poscosecha en la calidad de frutas y hortalizas	30
<i>1.2.3.1. Manejo de la temperatura</i>	31
<i>1.2.3.2. Control de la humedad relativa</i>	33
<i>1.2.3.3. Las atmósferas controladas y modificadas y la calidad de frutas y hortalizas</i>	36
1.2.4. Control de calidad en el sector de frutas y hortalizas frescas	37
<i>1.2.4.1. Componentes de la calidad</i>	38
<i>1.2.4.2. Métodos para evaluar la calidad</i>	40
1.2.5. La tecnología NIRS	44
<i>1.2.5.1. Introducción al análisis quimiométrico de datos espectroscópicos NIRS</i>	50
<i>1.2.5.2. Aplicación de la tecnología NIRS en el sector de frutas y hortalizas</i>	59
Capítulo 2. OBJETIVOS	87
2.1. OBJETIVO GENERAL	87
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	87
Capítulo 3. LA TECNOLOGÍA NIRS PARA PREDICCIÓN DE PARÁMETROS DE CALIDAD INTERNA EN FRUTAS DE CÁSCARA DURA Y EN HORTALIZAS	89
3.1. LA TECNOLOGÍA NIRS PARA LA PREDICCIÓN DE PARÁMETROS DE CALIDAD INTERNA EN FRUTAS DE CÁSCARA DURA	89

3.1.1. Prediction of total soluble solid content in intact and cut melons and watermelons using near infrared spectroscopy	90
3.1.2. Espectroscopía de Reflectancia en el Infrarrojo Cercano para la predicción de color interno en melones intactos	98
3.2. LA TECNOLOGÍA NIRS PARA LA PREDICCIÓN DE PARÁMETROS DE CALIDAD INTERNA EN TOMATE	104
3.2.1. Feasibility in NIRS instruments for predicting internal quality in intact tomato	105
Capítulo 4. LA TECNOLOGÍA NIRS PARA PREDICCIÓN DE TEXTURA Y VIDA ÚTIL POSCOSECHA EN ESPÁRRAGOS INTACTOS	114
4.1. LA TECNOLOGÍA NIRS PARA LA PREDICCIÓN DE TEXTURA EN ESPÁRRAGOS VERDES INTACTOS	114
4.1.1. Quantitative assessment of intact green asparagus quality by Near Infrared Spectroscopy	115
4.2. LA TECNOLOGÍA NIRS PARA LA PREDICCIÓN DE VIDA ÚTIL POSCOSECHA EN ESPÁRRAGOS VERDES INTACTOS	122
4.2.1. Use of near-infrared reflectance spectroscopy for shelf-life discrimination of green asparagus stored in a cool room under controlled atmosphere	123
Capítulo 5. LA TECNOLOGÍA NIRS PARA PREDICCIÓN DE RESIDUOS FITOSANITARIOS EN PIMIENTO	131
5.1. LA TECNOLOGÍA NIRS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE RESIDUOS QUÍMICOS EN PIMIENTO VERDE	131
5.1.1. Measurement of pesticide residues in peppers by Near Infra-Red Reflectance Spectroscopy	132
Capítulo 6. CONCLUSIONES	153
Capítulo 7. BIBLIOGRAFÍA	157

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Índices de madurez para algunas frutas y hortalizas	27
Tabla 2	Condiciones de conservación (t^a y HR) y vida útil para frutas y hortalizas	35
Tabla 3	Componentes de la calidad de frutas y hortalizas	39
Tabla 4	Contenido mínimo en sólidos solubles totales (SST) y de acidez titulable (AT) máxima propuestos para garantizar un sabor aceptable en frutas	41
Tabla 5	Valores de los estadísticos de RPD y RER relacionados con el control NIRS de productos y procesos	55
Tabla 6	Criterios de interpretación de los valores del coeficiente de variación en relación con el control NIRS de productos y procesos.	56
Tabla 7	Aplicaciones de la tecnología NIRS en frutas y hortalizas	63

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Evolución de la producción hortofrutícola española por grupos de cultivo	17
Figura 2	Principales cultivos hortofrutícolas producidos y destinados a exportación. Año 2006	18
Figura 3	Formas de análisis NIRS de los productos agroalimentarios	49

ABREVIATURAS

A: Absorbancia
AC: Atmósfera controlada
ACP: Análisis de Componentes Principales
ADF: Fibra ácido detergente
AM: Atmósfera modificada
AT: Acidez titulable
CE: Comunidad Europea
CH: Enlace carbono-hidrógeno
CP: Componente Principal
CPS: Componentes Principales
CV: Coeficiente de Variación de un constituyente químico, calculado como $dt/media$
CVETL: Coeficiente de Variación del estadístico ETL, calculado como $ETL/media$
CVETVC: Coeficiente de Variación del estadístico ETVC, calculado como $ETVC/media$
DESIR: Dry Extract Spectroscopy by Infrared Reflection
dt: Desviación típica
DT: Detrending
DTS: Digital Transform Spectroscopy
ETC: Error Típico de Calibración
ETL: Error Típico de Laboratorio (método de referencia)
ETP: Error Típico de Predicción
ETSIAM: Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos y de Montes
ETVC: Error Típico de Validación Cruzada
EE.UU.: Estados Unidos
FT-NIR: NIR con transformada de Fourier
H: Distancia de H, estadístico análogo a la Distancia de Mahalanobis
HR: Humedad relativa
MAPA: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación
MARM: Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino
MEAN: media del estadístico *RMS*
MEMS: Micro-Electro-Mechanical System
MIR: Mid Infrared, Infrarrojo medio
MPLS: Modified Partial Least Squares, Mínimos Cuadrados Parciales Modificados
MSC: Multiplicative Scatter Correction, Corrección multiplicativa del efecto “scatter”

N: Newton

NDF: Fibra neutro detergente

NH: Enlace nitrógeno-hidrógeno

NIR: Near Infrared, Infrarrojo cercano

NIRS: Near Infrared Spectroscopy, Espectroscopía en el infrarrojo cercano

nm: Nanómetros

NSAS: Near Infrared Spectral Analysis Software

OH: Enlace oxígeno-hidrógeno

PLS: Partial Least Squares, Mínimos Cuadrados Parciales

r y R: Coeficientes de correlación

r^2 y R^2 : Coeficientes de determinación

RCP: Regresión en Componentes Principales

RER: Range Error Ratio, Cociente entre el intervalo de composición de los datos de referencia y el ETVC

RLM: Regresión Lineal Múltiple

RMN: Resonancia magnética nuclear

RMS: Raíz Cuadrada del Cuadrado Medio del Error

RPD: Residual Predictive Deviation, Cociente entre la desviación típica de la composición de los datos de referencia y el ETVC

SNV: Standard Normal Variate

SST: Sólidos solubles totales

STD: Desviación Típica del estadístico *RMS*

T: Estadístico T, análogo a una t de Student

t^a : temperatura

UCO: Universidad de Córdoba

UE: Unión Europea

UV: Ultravioleta

VIS: Visible

Capítulo 1

Capítulo 1. INTRODUCCIÓN

1.1. LA HORTOFRUTICULTURA EN ESPAÑA

El sector de frutas y hortalizas es uno de los principales sectores de la agricultura española. La diversidad productiva, consecuencia de las variadas condiciones climáticas y edáficas en las distintas zonas del territorio, es uno de sus elementos más relevantes; se cultivan desde especies propias del clima templado, hasta especies tropicales, pasando por los cultivos típicos mediterráneos: viñedo, olivar, cítricos, hortalizas, etc.

La participación del sector hortofrutícola en la producción final agraria alcanza el 37%, cifra altamente significativa y que ha aumentado en los últimos años desde un 32% en 2000 hasta el 37% de 2006 (MARM, 2008); siendo la producción agrícola final española alrededor del 13% de la del conjunto de los Estados Miembros de la Unión Europea.

La superficie dedicada al cultivo hortofrutícola en España se aproxima a 1,7 millones de hectáreas, un 9,5% de la superficie agraria española, alcanzando un 24% del total de tierras en regadío (MARM, 2008). Dicha superficie se concentra en las Comunidades Autónomas Mediterráneas: Andalucía, Valencia, Murcia y Cataluña con un 66,3% de la superficie total, coincidiendo a su vez con la concentración de la superficie total de regadío (70,1%) (MARM, 2008).

Andalucía presenta el 33% del cultivo de hortalizas, seguida por Murcia, Castilla-La Mancha y Extremadura con el 12%, 12% y 11%, respectivamente. Además Andalucía posee la mayor superficie de cultivo bajo plástico (72,6%), siendo las hortalizas el cultivo más extendido en esta modalidad de cultivo (MARM, 2008).

Respecto al sector frutícola indicar que el 80% de la superficie de frutales no cítricos se localiza en la costa mediterránea (Andalucía, Valencia y Murcia) y en las zonas productoras contiguas de Cataluña y Aragón, mientras que los frutales cítricos están concentrados en la Comunidad Valenciana (58,6%), Andalucía (24,9%) y Región

de Murcia (12,6%), reuniendo estas tres Comunidades Autónomas el 96,1% de la superficie cultivada (MARM, 2008).

La producción de frutas y hortalizas en España asciende a 24,3 millones de toneladas, de los cuales el 55,2% del volumen total son aportados por el grupo de cultivos como los de tomate, pimiento, cebolla, melón y lechuga.

A pesar que las superficies destinadas a los productos hortofrutícolas han decrecido en los últimos 20 años, la evolución de la producción muestra un comportamiento contrario. Se ha producido un crecimiento desde los 25 millones de toneladas del periodo 1989-90 hasta los 26,8 millones de toneladas en el periodo 2005-06 (Figura 1). Dicha producción ha aumentado gracias al crecimiento experimentado por los grupos de cultivo de hortalizas, frutales cítricos, y frutales no cítricos.

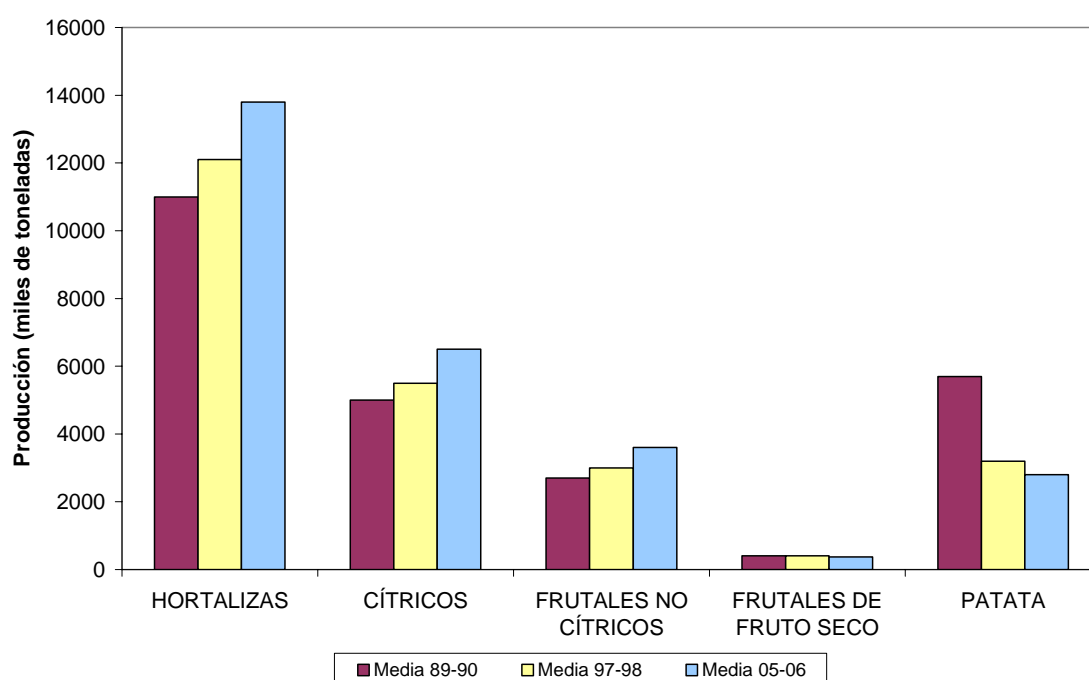


Figura 1. Evolución de la producción hortofrutícola española por grupos de cultivo.

Fuente: MARM, 2008.

Andalucía concentra la producción de pimiento (63,31%), sandía (63,20%) y espárrago (68,11%), y comparte con Extremadura la producción de tomate (70%) (MARM, 2008).

El destino comercial tradicional del sector hortofrutícola español es la Unión Europea, siendo los cítricos, melocotón, tomate, lechuga, pimiento y ajo los principales cultivos claramente orientados a la exportación (Figura 2) (MAPA, 2008).

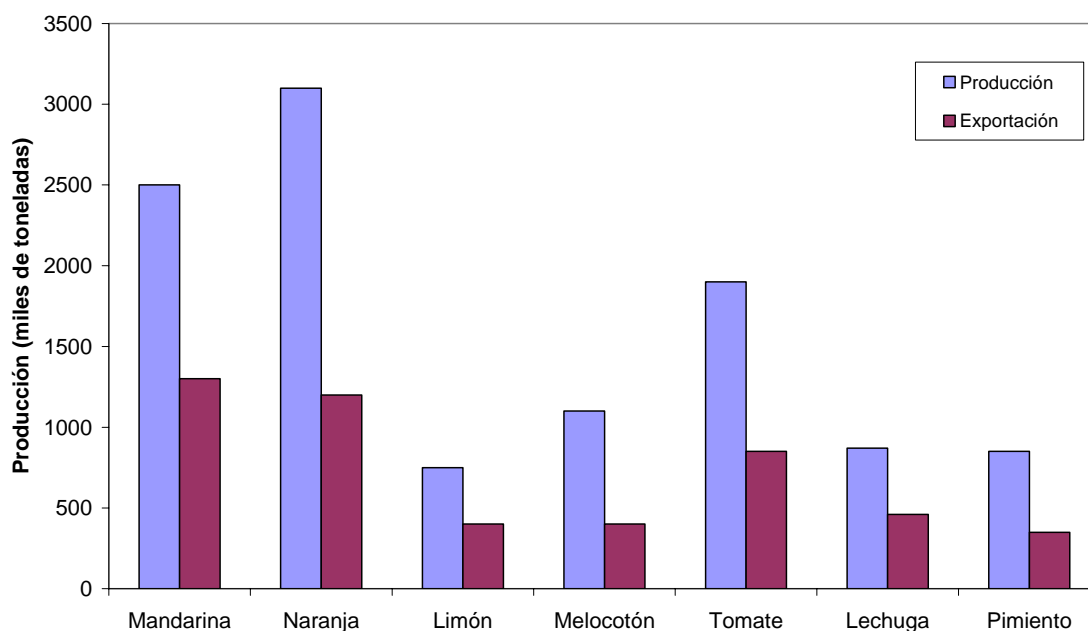


Figura 2. Principales cultivos hortofrutícolas producidos y destinados a exportación. Año 2006.

Fuente: MARM, 2008

El consumo *per cápita* de frutas y hortalizas en España fue de 161,6 kilos, una cantidad con una cierta tendencia al alza en los últimos años (MAPA, 2006), siendo nuestro País el sexto país consumidor de estos productos en la Unión Europea, después de Grecia, Alemania, Italia, Austria y Francia. De este consumo, el 92% corresponde a frutas y hortalizas frescas.

1.2. LA CALIDAD EN EL SECTOR DE FRUTAS Y HORTALIZAS

La palabra “calidad” proviene del latín “*Qualitas*”, que significa atributo, propiedad o naturaleza básica de un objeto. Sin embargo, en la actualidad y en sentido abstracto su significado es “grado de excelencia o superioridad” o idoneidad para un uso particular (Kader, 1985; Abbott, 1999). Con esta definición se puede decir que un

producto tiene calidad cuando cumple los valores mínimos establecidos, o es superior en uno o varios atributos que son valorados objetiva o subjetivamente.

La percepción de calidad en la industria de frutas y hortalizas ha estado circunscrita durante muchos años a atributos externos como color y apariencia, relegando a otros atributos muy importantes como la percepción del sabor, textura, color y defectos internos a ser evaluados durante el consumo. Actualmente, el sector hortofrutícola ha comenzado a considerar los atributos internos de cada producto junto a los externos en todas las etapas de producción como un criterio integrado del control de calidad, tratando de dar respuesta a las altas exigencias de un mercado altamente competitivo como es el de las frutas y hortalizas frescas (Bruhn, 2007)

La determinación de la calidad en frutas y hortalizas ha ido evolucionando según las exigencias del mercado; las mediciones instrumentales se han preferido sobre las evaluaciones sensoriales tanto por los investigadores como por la propia industria, ya que dichas mediciones reducen la variabilidad entre los individuos, son más precisas y pueden proporcionar un lenguaje común entre los investigadores, la industria y los consumidores. La apariencia es detectada por instrumentos de medición electromagnética (generalmente ópticos), las propiedades texturales por mediciones mecánicas, y el sabor y aroma por propiedades químicas. Algunos instrumentos se basan en sensores con señales no detectables por los seres humanos, por ejemplo: el infrarrojo cercano, rayos X, resonancia magnética nuclear, etc. (Abbott, 1999).

La calidad y rendimiento de la producción hortofrutícola es derivada del manejo de los factores pre-cosecha (Moccia et al., 2006) los cuales deberían orientarse a la optimización de su impacto en la calidad poscosecha (Crisosto y Mitchell, 2007).

1.2.1. Influencia de los factores precosecha en la calidad poscosecha de frutas y hortalizas

La preservación de la calidad de frutas y hortalizas se inicia en la precosecha, desde la selección de semillas, pasando por las labores culturales y de riego para finalmente llegar con éxito a la etapa de cosecha. A pesar de esta afirmación, es poca la

investigación que se ha realizado sobre la influencia de los factores precosecha en la calidad poscosecha de las distintas frutas y hortalizas (Crisosto y Mitchell, 2007).

En la etapa de precosecha se determina la calidad del producto en el momento de la recolección, dando lugar al comportamiento en la vida útil poscosecha. Los factores precosecha que influyen sobre la calidad son muy diversos y están interrelacionados entre sí. Unos dependen intrínsecamente de la propia planta (la integración del flujo de energía, agua y nutrientes) y otros son de tipo genético, ambiental, agronómicos y fisiológicos.

Debido a la diversidad de frutas y hortalizas que se producen comercialmente y a la carencia general de investigación que relacione los factores precosecha con la calidad poscosecha, es imposible generalizar afirmaciones sobre la influencia en los factores precosecha en la calidad final de frutas y hortalizas (Crisosto y Mitchell, 2007).

1.2.1.1. Factores agronómicos

El estado nutricional es un factor importante para la calidad en el momento de la cosecha, así como en la vida poscosecha de frutas y hortalizas (Crisosto y Mitchell, 2007). El equilibrio entre uno o más nutrientes afecta al crecimiento y estado fisiológico del fruto pudiendo originar desordenes fisiológicos, tanto por deficiencia como por una dosis excesiva (Soares-Gomes et al., 2005).

Los nutrientes como el nitrógeno, calcio y fósforo son los que mayor interés tienen, al participar de forma activa en numerosos procesos metabólicos (Romojaro et al., 2006).

Dentro de éstos, el nitrógeno es el elemento que mayor efecto tiene en la calidad de frutas y hortalizas (Crisosto y Mitchell, 2007). La aplicación de este nutriente varía ampliamente entre productores y depende generalmente de la historia del cultivo, el tipo de suelo y de los resultados del análisis del mismo (Ericsson, 1988; Marschner, 1999). El contenido de nitrógeno está directamente relacionado con la síntesis de proteínas y carotenoides. En general, se considera que un contenido excesivo de nitrógeno se

traduce en una mayor producción foliar a costa de una menor calidad del fruto; asimismo, su deficiencia es también adversa, provocando frutas con menor tamaño, sabor pobre, árboles con bajo rendimiento y en poscosecha la pérdida de agua durante el almacenamiento (Crisosto y Mitchell, 2007).

En las hortalizas, los niveles excesivos de nitrógeno inducen retraso en la madurez e incrementan la incidencia de varias fisiopatías que disminuyen su calidad poscosecha; así, la pared grisácea o el obscurecimiento interno en el tomate, el tallo hueco del brócoli, la baja concentración de sólidos solubles en la patata, los lunares en los pimientos o la pudrición suave en tomates se ha asociado con altos niveles de nitrógeno (Crisosto y Mitchell, 2007). El exceso del mismo en el suelo puede afectar negativamente a la calidad de las hortalizas, induciendo cambios en su composición tales como la reducción en el contenido de ácido ascórbico (vitamina C), menor contenido de azúcares, menor acidez y proporciones alteradas de aminoácidos esenciales (Crisosto y Mitchell, 2007).

El calcio (Ca) es el segundo nutriente en importancia, al estar involucrado en numerosos procesos bioquímicos y morfológicos de las plantas. Está relacionado con muchas fisiopatías de considerable importancia económica para la producción y calidad poscosecha de frutas y hortalizas, especialmente con la textura, debido a que participa en numerosos procesos de desarrollo y mantenimiento de la estructura de la pared celular, por su capacidad para establecer enlaces iónicos con los grupos carboxilatos de las pectinas (Poovaiah et al., 1988). El desequilibrio de calcio es responsable de un elevado número de alteraciones fisiológicas o fisiopatías que se pueden manifestar durante el crecimiento del fruto en la planta o posteriormente en la posrecolección. Todas ellas tienen una repercusión económica importante, ya que las producciones afectadas no son comercializables. La deficiencia del mismo produce fisiopatías como el picado amargo (bitter pit) en las manzanas, los lunares corchosos (corkspot) en pera, el corazón negro en el apio, la pudrición en la punta estilar del tomate, el manchado de la cavidad y el agrietado en la zanahoria, así como la punta quemada de la lechuga, la vitrescencia en melón (Madrid et al., 2004) y “blossom end rot” en tomate. Estas fisiopatías pueden acentuarse si los niveles de potasio o nitrógeno son altos o cuando los niveles de fósforo son bajos (Beverly et al., 1993; Crisosto y Mitchell, 2007). Ciertas

fisiopatías por deficiencia de calcio, como el picado amargo de las manzanas y la pudrición de la punta estilar en tomates, pueden reducirse mediante una apropiada irrigación y manejo adecuado de fertilización.

Además, existe evidencia acumulada de que el equilibrio catiónico del suelo afecta directamente a la calidad poscosecha de varias hortalizas (Crisosto y Mitchell, 2007). Hartz et al., (1998) demostraron que los defectos del corazón blanco y la incidencia del ojo amarillo, dos defectos de color en tomate, se correlacionan con el equilibrio catiónico del suelo; el aumento en los niveles de potasio en el suelo disminuye estas fisiopatías relacionadas con el color, mientras que los niveles altos de magnesio en el suelo los acentúan.

Otro factor que condiciona la calidad en el momento de la recolección y durante la conservación poscosecha es el contenido y momento de aplicación del agua de riego. La importancia de la disponibilidad de agua y de la humedad relativa ambiental está condicionada por los gradientes de potencial hídrico entre el tejido vegetal y el aire, ya que cuando la planta pierde agua se produce un flujo de la misma hacia las hojas, disminuyendo el aporte hídrico y de nutrientes al fruto. Cuando la pérdida de humedad es elevada, del orden del 5%, el turgor celular puede verse afectado y en consecuencia la textura puede disminuir sensiblemente, sobre todo en los vegetales de hoja como espinaca y lechuga (Shackel et al., 1991).

El riego presenta el dilema de tener que escoger entre producción y calidad; un estrés moderado reduce el rendimiento del cultivo pero puede mejorar algunos atributos de calidad de la fruta; y sin estrés de agua, se puede aumentar el rendimiento pero puede reducirse la calidad poscosecha. El estrés de agua al final de la estación, que puede deberse a la interrupción de la irrigación o a un déficit de la relación entre la irrigación y la demanda evapotranspirativa durante los 20 días previos a la cosecha, puede mejorar significativamente el contenido en sólidos solubles totales (SST) en tomate. Crisosto y Mitchell (2007) indican que riegos con agua salina en la estacionalidad tardía también incrementan el contenido de SST en tomate. Un contenido mayor de SST puede repercutir en mejor precio para los productores, dado el vínculo que existe entre el agua

aplicada y el rendimiento, por lo que las prácticas de riego apuntan hacia el mejor equilibrio económico entre productividad y calidad.

Cuando el riego se realiza en fechas próximas a la recolección se observa un aumento de tamaño y dilución de los componentes celulares, con la consiguiente pérdida de calidad sensorial, rajado y agrietado de los frutos (Romojaro et al., 2006). En el espárrago, en cambio el efecto es positivo. Según Sosa et al., (1976), si hay un aumento de lluvias en la estación de crecimiento la fibrosidad de los turiones disminuye.

La calidad poscosecha de melón también es bastante sensible al manejo del agua. El exceso de riego no sólo puede inducir un menor contenido de SST en este fruto, sino también las antiestéticas manchas y pudriciones.

Otras prácticas también a tener en consideración en la calidad precosecha son la poda y aclareo, las cuales han sido relacionadas con el tamaño de los frutos, observándose que el aumento de la relación “hoja/fruto” induce un aumento de aromas en manzana, además de mejorar el color de las mismas y disminuir la pudrición, sin influir negativamente en el rendimiento del árbol (Tahir et al., 2007). Sin embargo, hay que considerar que aunque el aclareo aumenta el tamaño de los frutos, a la vez reduce el rendimiento total, por lo que debe procurarse un equilibrio entre el rendimiento y el tamaño de la fruta (Crisosto y Mitchell, 2007). Es importante considerar que, generalmente, los máximos beneficios no se obtienen con la máxima producción comerciable, ya que es la fruta de mayor tamaño la que alcanza mayor precio en el mercado.

La posición de la fruta y la eliminación de hojas son factores que también tienen incidencia en la calidad de la fruta. El contenido de sólidos solubles, acidez y tamaño difiere entre frutas ubicadas en la parte exterior y aquellas que se encuentran en la parte interior del árbol.

La eliminación de hojas alrededor de los frutos aumenta la exposición a la luz, y cuando se realiza apropiadamente puede incrementar el color de la fruta sin afectar al

tamaño y al contenido de sólidos solubles totales. Según Tahir et al. (2007), si la poda en manzanas se realiza entre 5-6 semanas antes de la cosecha puede mejorar el proceso de fotosíntesis y la síntesis de antocianinas, resultando frutas con mejor color y almacenamiento potencial.

En el caso del espárrago, la altura a la que se realiza el corte influye en la fibrosidad del mismo. Según Haard et al., (1974) y Nelson et al., (1977), los espárragos verdes con un trozo blanco en la zona basal muestran menor fibrosidad, menor pérdida de agua y mayor retención de vitamina C.

A estos factores se añade una práctica ancestral, que hoy en día la producción intensiva ha relegado a pequeñas huertas y a la producción ecológica: la rotación de cultivos. Ésta suele ser una práctica efectiva para minimizar las pérdidas poscosecha, al reducir el inóculo de pudriciones de hongos, bacterias y nematodos (Crisosto y Mitchell, 2007).

1.2.1.2. Factores ambientales

Los factores ambientales, especialmente la temperatura y la intensidad de luz, tienen una fuerte influencia sobre la calidad nutricional de las frutas y hortalizas (Kader, 2007a).

Las altas temperaturas asociadas a una radiación solar intensa en el periodo precosecha originan un amplio abanico de alteraciones de color y pardeamientos, así como de las propiedades organolépticas debido a cambios en el contenido en sólidos solubles y acidez titulable (Romojaro et al., 2006). Los efectos directos inducen daños en las membranas celulares, proteínas y ácidos nucleicos, y los indirectos inhibición de la síntesis de pigmentos o degradación de los ya existentes, produciéndose una amplia gama de síntomas de escaldado y quemaduras. En manzanas, fresas y peras, se ha puesto de manifiesto una relación indirecta entre la temperatura y la firmeza, manteniéndose o aumentando cuando el nivel térmico no es elevado (Sams, 1999).

La maduración también se ve afectada por la temperatura, inhibiéndola o acelerándola, e incrementando la desecación por pérdida acelerada de agua, originando alteraciones tanto en el exterior como en el interior del fruto (Romojaro et al., 2006).

La calidad nutricional también puede sufrir modificaciones con la temperatura. Las temperaturas inferiores a 20 °C favorecen el aumento de la vitamina C y las del grupo B, mientras que en tomate la acumulación máxima tiene lugar entre 27 y 30 °C (Shewfelt, 1990). En espárragos, el endurecimiento de los turiones es menor en aquellos mantenidos a la sombra durante la cosecha que en los expuestos a la luz solar, debido a que disminuye su tasa de respiración (Haard et al., 1974; Nelson et al., 1977).

La exposición a la luz determina el contenido de ácido ascórbico de los tejidos vegetales. En general, cuanto más baja sea la intensidad luminosa, menor será el contenido de ácido ascórbico en los tejidos vegetales. Aunque la luz no juega un papel directo en la absorción y metabolismo de elementos minerales por las plantas, la temperatura influye en el suministro de nutrientes debido a que la transpiración se incrementa con las altas temperaturas (Kader, 2007a).

1.2.1.3. Factores genéticos

Los factores genéticos tienen gran influencia en la calidad sensorial, rendimiento, composición nutricional y vida poscosecha de las frutas y hortalizas (Crisosto y Mitchell, 2007). Ello provoca la existencia de muchos programas de mejora genética de frutas y hortalizas a nivel mundial, sobre todo, los orientados a reducir la incidencia y severidad del deterioro causado por plagas y condiciones ambientales adversas.

El comportamiento durante el periodo precosecha de las frutas y hortalizas en un medio extremo depende del genoma de la planta (Romojaro et al., 2006). La variabilidad genética de una variedad, dentro de una misma especie, es relativamente amplia, por lo que la selección de la más apropiada es de vital importancia para la calidad del producto final. Además, es importante considerar que inicialmente el genoma va a determinar cuantitativa y cualitativamente no sólo los parámetros

responsables de la calidad organoléptica y nutricional, sino también otros que repercuten sobre la aptitud de la fruta u hortaliza a evolucionar tras la recolección y su capacidad de conservación (Romojaro et al., 2006).

La ingeniería genética puede ser una herramienta útil para alterar la calidad y rendimiento de ciertas hortalizas, pero su aplicación comercial dependerá en gran medida de la aceptación del consumidor y de las regulaciones en materia de seguridad alimentaria. Así, la aceptación de los cereales y oleaginosas modificados por biotecnología en los mercados europeos y de Asia es controvertida en este momento y se ha solicitado un programa de etiquetado obligatorio que resulte accesible para los consumidores. Muchos países han iniciado o están considerando etiquetados obligatorios. Las etiquetas se deben diseñar cuidadosamente para que el contenido sea cierto, claro y transparente. La investigación con consumidores indica que términos como “organismos genéticamente modificados” no se comprenden y llevan asociados una connotación negativa. Para incrementar la aceptación del consumidor se debe indicar el propósito de la modificación genética (Bruhn, 2007).

Los futuros avances dependerán del éxito de los esfuerzos del trabajo en equipo de los ingenieros de mejora genética, fitopatólogos, genetistas moleculares y de los programas de educación para el consumidor (Crisosto y Mitchell, 2007).

1.2.1.4. Factores fisiológicos

El estado de madurez en la recolección tiene un papel esencial en la composición química del fruto y la calidad poscosecha de frutas y hortalizas (Kader, 2007a).

Durante la maduración se producen cambios bioquímicos y estructurales que originan cambios en los constituyentes, alcanzando el fruto las óptimas características sensoriales para el consumo. Sin embargo, y debido al manejo poscosecha, generalmente se cosechan en su madurez fisiológica y no en madurez de consumo (Kader, 2007a).

A pesar de que se han intentado establecer parámetros que permitan seguir la evolución de la maduración en la mayoría de los frutos, no se han podido establecer “índices de madurez” que permitan determinar el momento de recolección. El índice de madurez para un producto dado es una medida que puede utilizarse para determinar si un producto en particular posee la madurez requerida comercialmente (hortícola), y difiere sustancialmente de un cultivo a otro (Tabla 1).

Tabla 1. Índices de madurez para algunas frutas y hortalizas

Índice de madurez	Frutas y hortalizas
Acidez	Granada roja, cítricos, papaya, melón, kiwi
Astringencia (contenido de taninos)	Caqui, dátil
Color externo	Todas las frutas y la mayoría de las hortalizas
Color interno y estructura	Formación de material gelatinoso en tomates
Concentración interna de etileno	Manzana, pera
Contenido de azúcar	Manzana, pera, frutas de hueso, uvas
Contenido de almidón	Manzana, pera
Contenido de aceite	Aguacate
Desarrollo de la capa de abscisión	Melón, manzana
Días transcurridos de floración a cosecha	Manzana, pera
Firmeza	Manzana, pera, fruta de hueso
Forma	Angulosidad de los dedos de los plátanos Compactación de brócoli y coliflor Llenado de los hombros en mangos
Jugosidad	Cítricos
Morfología y estructura de la superficie	Brillo de algunas frutas (desarrollo de cera) Reticulado de algunos melones Formación de cutículas en uvas, tomates
Peso específico	Cereza, sandía, patata
Proporción azúcar/ácido	Melón, kiwi
Solidez	Lechuga, col, col de Bruselas
Tamaño	Todas las frutas y muchas hortalizas
Terneza	Garbanzo
Unidades de calor promedio durante el desarrollo	Garbanzo, manzana, maíz

Fuente: Reid, 2007.

Tradicionalmente, los métodos para determinar un índice de madurez han empleado el color, forma, tamaño, sabor, peso específico, sólidos solubles totales y

acidez. Recientemente, algunos métodos no destructivos como el infrarrojo cercano, los acústicos, de imágenes de color y de conductancia térmica se han probado en frutas y hortalizas para medir el índice de madurez, siendo estos métodos más cómodos y fiables que los tradicionales (Asrey et al., 2008).

El comportamiento de las frutas climatéricas y no climatéricas dificulta la posibilidad de optimizar el momento de la recolección con la calidad y la capacidad de conservación en poscosecha. En las especies climatéricas el aumento de la síntesis de etileno es responsable del inicio de la maduración, dotando al fruto de un mayor potencial para su regulación y de la posibilidad de continuar el proceso en la poscosecha. Mientras que en los frutos no climatéricos la posibilidad de actuación es muy limitada, ya que carecen de esta capacidad y deben recolectarse cuando han alcanzado su calidad de consumo (Romojaro et al., 2006).

Una recolección temprana permite que el fruto mantenga la textura durante un periodo de tiempo más prolongado, pero en manzana y tomate conlleva una disminución de los compuestos volátiles responsables del aroma, ya que una vez separados del árbol o de la planta la tasa de producción de estos compuestos disminuye (Baldwin et al., 1991).

El contenido de fibra en guisante, espárrago y judía aumenta con la maduración, lo que puede dar lugar a una textura indeseable si la recolección se realiza en un estado demasiado maduro (Salunkhe et al., 1991).

Los cambios de color durante la maduración se caracterizan por la desaparición de las clorofilas y la síntesis de pigmentos coloreados, fundamentalmente carotenoides y antocianos. En el caso de los frutos no climatéricos, sólo se logrará la coloración adecuada durante el periodo de precosecha, ya que si se recolectan en un estado inmaduro la evolución de los pigmentos no tiene lugar y afectará a la intensidad y calidad del color de la piel y pulpa.

El estado de maduración en la recolección también incide sobre la susceptibilidad del fruto a determinados desórdenes fisiológicos que se ponen en

evidencia en la poscosecha, como los “daños por frío”. Así el pimiento conservado a 2°C es mucho más sensible en el estado verde maduro que cuando ha alcanzado la coloración roja (Serrano et al., 1997)

1.2.2. Recolección

La recolección es la etapa donde se recolectan los productos del campo en la madurez adecuada con el mínimo de daño y pérdidas, tan rápidamente como sea posible y a un mínimo costo (Thompson, 2007a); mientras más tiempo transcurra entre la cosecha y el consumo, mayor será la pérdida de las características organolépticas de los productos hortofrutícolas (Kader, 2008). La cosecha se puede realizar de forma mecánica o manual. En la actualidad, como en el pasado, y para la mayoría de las frutas, hortalizas y cultivos de flor, estos objetivos se continúan alcanzando mejor con la recolección manual.

A pesar de numerosas investigaciones y desarrollo de equipos mecánicos de recolección, las ventajas de la recolección manual siguen prevaleciendo sobre la mecánica (Thompson, 2007a). La ventaja más importante es que se puede seleccionar con mayor precisión la madurez de la fruta; esto es particularmente importante para aquellos cultivos que presentan un amplio rango de grados de madurez (asincrónicos) y requieren cosecharse varias veces durante la estación. Debido a las magulladuras y otros daños, la recolección mecánica se limita sólo a unos pocos cultivos y a frutos que por lo general serán procesados (Prusia, 1985).

La recolección mecánica está más extendida para hortalizas que se cosechen de una sola vez y productos como raíces, tubérculos y nueces. Tanto el suelo como las cáscaras duras actúan como amortiguadores y protectores naturales a los daños mecánicos causados por la máquina. En algunos casos, productos como la uva para vino, ciruelas pasas, melocotón, aceitunas y algunas hortalizas de hoja verde se cosechan mecánicamente, ya que el daño de la cosecha no afecta significativamente la calidad del producto procesado (Thompson, 2007a).

El uso eficiente de las cosechadoras mecánicas requiere de personal bien entrenado, ya que la inadecuada operación puede originar desperfectos costosos de la maquinaria y ocasionar rápidamente grandes daños al cultivo, alterando negativamente la calidad del mismo (Sidahmen y Jaber, 2004). Los métodos de recolección mecánica han sido ampliamente investigados y mejorados de forma significativa (Sanders, 2005) con el objeto de encontrar mecanismos destinados a la reducción de los costos que conlleva la recolección manual, que en muchos casos pueden representar el 35-45% del costo de producción total.

1.2.3. Influencia de los factores poscosecha en la calidad de frutas y hortalizas

La investigación poscosecha está orientada a mantener la calidad y seguridad, y a minimizar las pérdidas de cultivos hortícolas entre la producción y el consumo. Reducir las pérdidas poscosecha aumenta la disponibilidad de alimentos para la creciente población mundial (Kader, 2001).

La influencia de los factores precosecha en la calidad de frutas y hortalizas es determinante en poscosecha. De esta manera, las estrategias para la prevención de pérdidas de calidad en poscosecha se limitan a preservar la calidad de cosecha sin opción a mejorarla. La mayoría de los logros de la hortofruticultura por mantener la calidad poscosecha han sido el resultado de esfuerzos interdisciplinarios de colaboración entre los hortofruticultores, biólogos, ingenieros, economistas, consumidores y otros investigadores.

Las pérdidas en calidad y cantidad entre la cosecha y el consumo pueden oscilar entre el 5 y el 25% en países desarrollados, y entre el 20 y el 50% en países en desarrollo, dependiendo del producto, la variedad y las condiciones de manejo (Kader, 2007a). Para reducir estas pérdidas, se debe tener en cuenta que los factores biológicos y ambientales unidos a las desigualdades morfológicas (raíces, tallos, hojas, frutos, etc.) son los responsables de la senescencia de los productos hortofrutícolas en poscosecha.

La respiración y producción de etileno, junto a los cambios de composición, la transpiración y pérdida de agua son los principales factores biológicos responsables de la pérdida de calidad poscosecha de frutas y hortalizas.

Las consecuencias de la respiración poscosecha son pérdidas en reservas alimenticias almacenadas en el fruto y la consiguiente disminución de valor alimenticio, que afectan principalmente al dulzor, además de la pérdida de peso seco. La energía liberada durante la respiración afecta a las consideraciones tecnológicas poscosecha (requerimientos de ventilación y refrigeración). Según la tasa de respiración, las frutas se pueden clasificar por la producción de etileno en climatéricas y no climatéricas, difiriendo el tratamiento de conservación poscosecha en ambos tipos (Kader, 2007a).

Además están los cambios que se producen en la pigmentación de frutas y hortalizas, cambios en carbohidratos, degradación de pectina, incremento del contenido de lignina, cambios en los ácidos orgánicos, proteínas, aminoácidos y lípidos que pueden influir en la calidad durante la poscosecha.

En los últimos años se han planteado diferentes mecanismos y estrategias destinados a preservar la calidad poscosecha de frutas y hortalizas. Entre ellos el manejo de la temperatura y humedad relativa han sido los más frecuentemente utilizados y con los que se han obtenido mejores resultados.

1.2.3.1. Manejo de la temperatura

Numerosos estudios han demostrado la influencia del manejo de la temperatura en la calidad de las frutas y hortalizas frescas (Mitchell y Kader, 1989; Sommer, 1989; Kader, 1992, 2007a; Mitchell, 1992).

La temperatura del aire es la variable más importante en el manejo poscosecha debido a que tiende a controlar la temperatura de los productos perecederos. Todos los productos perecederos tienen un intervalo óptimo de temperatura de almacenamiento. Por encima del óptimo, éstos respiran a tasas inaceptablemente altas y son más susceptibles a daños por etileno y enfermedades. De hecho, los productos

hortofrutícolas respiran a tasas del doble, triple y hasta del cuádruple, por cada 10°C de incremento de temperatura. Temperaturas por debajo del óptimo originan daños por frío o congelación. Un estricto control de temperatura es vital para alcanzar la máxima vida útil de frutas y hortalizas (Thompson, 2007b).

El enfriamiento rápido a bajas temperaturas, inmediatamente después de la cosecha protege la salud fisiológica de los frutos con la ralentización de la expansión y crecimiento de pudriciones fúngicas. Cuatro horas de retraso de refrigeración, se traduce en un aumento de la dureza en tallos de espárrago, medida ésta a 5 cm de la base del turión, pasando de 2,1 a 2,8 N (Hernández-Rivera et al., 1992), y 20 horas de demora casi duplican la fuerza de cizalla. La vida comercial del brócoli se reduce por un retraso de 3 horas en la refrigeración del producto (Brennan y Shewfelt, 1989), mientras que 6 horas es el plazo máximo para la lechuga (Lipton y Barger, 1965) y 2 horas para las frambuesas antes que ocurra la pérdida de calidad (Robbins y Moore, 1992). Temperaturas próximas a 0°C serían las ideales para el enfriamiento de las cerezas dentro de las 3-4 horas de la cosecha, con el objeto de mantener sus propiedades sensoriales (Crisosto et al., 1993). Las manzanas con una larga vida útil y una menor tasa de respiración deben ser enfriadas desde 7,5 a 3,3 °C dentro de los 3 días de cosecha, para impedir la pérdida de firmeza y acidez durante el almacenamiento (Liu, 1986).

La acidez y el ácido ascórbico en los tomates se pierden más rápidamente que los sólidos solubles si dicha hortaliza se encuentra a una temperatura igual o superior a 30 °C durante 24 horas antes de ser refrigerada (Kader y Morris, 1978), mientras que durante el almacenamiento a bajas temperaturas (entre 0 y 10 °C) puede haber una disminución en el sabor; el almacenamiento de tomates verdes maduros o rosa claro a 21 °C puede alterar la proporción de azúcares y ácidos (Buescher, 1975; Kader et al., 1978) y provocar un cambio en la percepción del atributo del aroma (Auerswald et al., 1999; Maul et al., 2000).

En productos climatéricos, el retraso en la refrigeración permite continuar con la maduración causando la pérdida total del almacenamiento potencial, siendo un problema en productos tales como el melocotón, papaya y chirimoya que tienen un

corto período de vida (10-14 días). El enfriamiento inicial de productos hortofrutícolas hasta cerca de su temperatura óptima de almacenamiento, puede realizarse por diversos métodos, que incluyen: cámaras de enfriamiento, aire forzado, agua, hielo troceado y enfriamiento bajo vacío.

Las bajas temperaturas durante el almacenamiento tienen el beneficio adicional de proteger atributos de calidad como la textura, la calidad nutricional, aroma y sabor (Paull, 1999). No obstante, la temperatura de almacenamiento difiere incluso entre variedades del mismo producto (Collins y Tisdell, 1995; Miccolis y Saltveit, 1995).

El almacenamiento comercial poscosecha potencial, para la mayoría de las frutas y hortalizas frescas, ha quedado recogido en la literatura científica en las publicaciones de Anon (1986), Hardenburg et al., (1986), Snowdon (1990, 1992), Thompson (1996), Imahori (2008), Villalobos-Acuña y Mitchan (2008).

Durante el período comercial, la vida útil de los productos puede variar enormemente, debido a que en muchos casos las instalaciones para almacenar los productos no disponen de las condiciones ideales de manipulación en cuanto a la elección de temperatura y humedad relativa; la variación de temperaturas en el producto puede conducir a estrés fisiológico y, por consiguiente, causar pérdidas de calidad durante su vida útil. Esta limitación, especialmente durante la etapa de venta al por menor, exige a todos los participantes en la cadena de distribución aumentar su comprensión de la necesidad de mejorar la gestión de la manipulación, la temperatura y la humedad relativa para limitar las pérdidas en la calidad.

1.2.3.2. Control de la humedad relativa

La humedad relativa (HR) es un término comúnmente utilizado para describir la humedad del aire. La influencia que ejerce en la conservación de la calidad de las frutas y hortalizas está relacionada con la capacidad de comportarse como un indicador de la deshidratación potencial de dichos productos (Thompson, 2007b).

El manejo de la humedad relativa puede incidir positiva o negativamente en la calidad de los productos hortofrutícolas. El aumento de la misma durante el almacenamiento a bajas temperaturas tiene como principal beneficio mantener el equilibrio de humedad entre la fruta u hortaliza y el ambiente y reducir la transpiración del producto (Dash et al., 2006).

La pérdida de agua o transpiración es un importante proceso fisiológico que afecta a las principales características de calidad de las frutas y hortalizas frescas (peso, apariencia y textura), originando el arrugamiento superficial, la flacidez y la disminución del brillo.

Los valores recomendados de temperatura y humedad relativa para cada producto vegetal dependen de las características intrínsecas de la fruta u hortaliza (Tabla 2).

Las diferencias en las recomendaciones pueden reflejar conclusiones generales y específicas para un determinado producto o grupo de productos. Ben-Yehoshua et al., (2001) indican que en el caso de la naranja la reducción de temperatura de 20 a 5 °C y el aumento de la HR a valores de 97-99% reducen en gran medida la incidencia de la necrosis superficial y los daños causados por la misma.

Una alta humedad relativa (90-95%) es esencial para productos como los espárragos, ya que éstos se deshidratan muy rápidamente, provocando cambios texturales no deseados y pérdidas de peso (Sánchez et al., 2001). Lo mismo ocurre en el caso de las setas, donde el aumento de la humedad de almacenamiento en contenedores desde el 76% al 96%, junto a la disminución de la temperatura desde 16 °C a 4 °C, provoca una disminución de la tasa de transpiración del producto de un 61% (Mahajan et al., 2008).

Las dificultades prácticas en el mantenimiento de una alta HR en las grandes salas de almacenamiento van en detrimento de la calidad de frutas y hortalizas. Pequeñas variaciones ponen a prueba los límites de la sensibilidad necesaria para medir la temperatura y HR. A altas HR, una pequeña fluctuación de la temperatura (0,5°C)

puede dar lugar a la condensación en la superficie de frutas y hortalizas frescas, y derivar en daños por frío, infestaciones fúngicas, etc. Cabe indicar asimismo que una alta HR no evita la pérdida de humedad del producto si la temperatura del producto no está próxima a la temperatura del aire.

Tabla 2. Condiciones de conservación (tª y HR) y vida útil para frutas y hortalizas

Producto	Temperatura de almacenamiento (°C)	Humedad relativa (%)	Vida útil (días)
<i>Frutas</i>			
Carambola	9-10 (nv)	85-90	21-28 (nv)
Cereza	-1-0	90-95	14-21
Coco	0-1,5 (0)	80-85 (90-95)	30-60 (25-56)
Fresa	0	90-95	2-7
Lima	9-10 (11)	85-90 (95)	42-56
Mango	13 (5-12,5)	85-90	14-21 (14-25)
Manzana	-1-4 (-0,5)	90-95	30-365 (90-240)
Melocotón	-0,5	90-95	14-28 (30-32)
Melón	10-15	90	14-21
Plátano	13-14	90-95 (85-90)	7-28
Papaya	7 (7,5-12)	85-90	7-21
Piña	7-13 (10)	85-90	14-28 (14-36)
<i>Hortalizas</i>			
Castaña de agua	0-2 (5-7,5)	98-100	(0-60) (100-128)
Cebolla verde	0	95-100	21-28 (7-10)
Col	0	95-100 (90-95)	60-90 (30-60)
Espárragos	0-2 (1-2)	95-100 (90-95)	14-21 (14-28)
Jengibre	12.5	65 (85-90)	180 (90-180)
Maíz	0	90-95 (95-98)	4-6 (5-8)
Pepino	(10-13) 10	95	10-14
Pimientos	7-13 (7,5-10)	90-95 (95)	14-21
Tomate	13-18	85-95	10
Yuca	0-5 (12.5)	85-90	30-60 (14-21) (140-170)
Zanahorias	0	95-100 (90-95)	28-180

Fuente: Snowdon (1990, 1992).

1.2.3.3. Las atmósferas controladas y modificadas y la calidad de frutas y hortalizas

El uso de las atmósferas controladas (AC) y/o modificadas (AM) debe considerarse como un complemento al manejo de la temperatura y humedad relativa apropiadas (Bishop, 1990). El potencial beneficio o riesgo de las AM/AC depende del producto, variedad, edad fisiológica, composición atmosférica, así como de la temperatura y duración del almacenamiento (Kader, 2007b).

El principal beneficio del uso de AC/AM en la calidad de frutas y hortalizas es la reducción cuantitativa y cualitativa de las pérdidas durante el manejo poscosecha, lo que se traduce en su creciente demanda durante el transporte y almacenamiento posterior.

La reducción de oxígeno y el incremento de dióxido de carbono tienen beneficios como el retraso de la senescencia (madurez de consumo), con tasas más bajas de respiración y producción de etileno, disminución del ablandamiento y de los cambios composicionales (Madrid et al., 2004). A la vez, puede ocurrir una reducción de ciertas fisiopatías, tales como el daño por frío, y algunas alteraciones del almacenamiento (Moure et al., 1995).

La influencia beneficiosa de las AC/AM en la preservación de la calidad de frutas y hortalizas ha sido estudiada por numerosos autores (Wills et al., 1984; Paull y Rohrbach, 1985; Kader, 1993; Saltveit, 1993; Artés, 1995a; Chitarra y Da Silva, 1999; Marrero y Kader, 2005; Amors et al., 2008). El manejo inapropiado de ellas puede originar algunos efectos negativos, como la posibilidad de que se inicien o agraven ciertas fisiopatías, como el corazón negro en patatas (Tudela et al., 2003), pardeamiento en la lechuga y corazón marrón en manzanas y peras.

Concentraciones muy bajas de O₂ y muy altas de CO₂ pueden generar distintos desórdenes, como el desarrollo de sabores y aromas desagradables, resultado de la respiración anaeróbica y del metabolismo fermentativo; la susceptibilidad a la pudrición cuando el producto es dañado fisiológicamente y una maduración de consumo irregular en frutos como el plátano, mango, pera y tomate durante un almacenamiento entre 2 y 4 semanas (Kader, 2007b).

La calidad sensorial y nutricional del espárrago se mantiene mejor aplicando las AC y/o AM (Sánchez et al., 2001; Villanueva et al., 2005), ya que se produce un retraso en la senescencia del mismo (McKenzie et al., 2004). Su uso se ha extendido para incrementar la vida útil, evitando el envejecimiento del turión, el desarrollo de patógenos, las pérdidas de color, el endurecimiento y la degradación de la vitamina C (Artés, 1995b; Moure et al., 1995, Villanueva et al., 2005).

En productos como el plátano y la manzana, el uso de atmósferas controladas ha permitido una cosecha lo más próxima posible a la madurez plena; en aguacate las AC facilitan el transporte a temperaturas más bajas (5 °C).

Las combinaciones de las AC/AM y la temperatura han permitido la apertura de mercados (Kader, 2000). Su uso se ha extendido también a la conservación de la calidad de las frutas y hortalizas mínimamente procesadas (Wright y Kader, 1997; Gorny et al., 2002; Vilas-Boas y Kader, 2006).

1.2.4. Control de calidad en el sector de frutas y hortalizas frescas

La calidad de los productos hortofrutícolas frescos es una combinación de características, atributos y propiedades que le dan al producto su valor como alimento. La importancia relativa de cada componente de la calidad depende del producto y cómo se utiliza; el concepto varía entre los productores, manipuladores y los consumidores.

Para los productores, el producto debe tener alto rendimiento y buena apariencia, ser de fácil cosecha, y resistir largas distancias hasta los mercados. Para los envasadores y distribuidores, la calidad interna (sabor, defectos internos y firmeza) y externa (color, tamaño, defectos) es lo más importante, además de contar con una larga vida comercial. Los consumidores opinan que la apariencia y la frescura son los factores más importantes en el momento de la compra. Éstos seleccionan productos de tamaño, color, forma y firmeza apropiados. Son también importantes la calidad nutricional y propiedades relacionadas con la salud. Bruhn (2007) indica que los parámetros

determinantes de la calidad en el momento de la compra son el sabor, el valor nutritivo, la inocuidad y el precio.

1.2.4.1. Componentes de la calidad

Los diversos componentes de la calidad que se muestran en la Tabla 3, se utilizan para evaluar los productos hortofrutícolas en relación a las especificaciones a cumplir en las distintas categorías comerciales establecidas, los programas de mejora genética y en la evaluación de las respuestas a distintos factores ambientales y tratamientos poscosecha.

La importancia de cada uno de los factores de calidad depende del producto y de su uso (fresco o procesado).

Los factores relacionados con la apariencia son los atributos de calidad más juzgados por los consumidores a la hora de comprar productos frescos (Kader, 2000). Muchos defectos influyen en la apariencia de los productos hortofrutícolas: defectos morfológicos (brotaciones, malformaciones, elongaciones, germinaciones, etc.), daños físicos (marchitez, deshidrataciones, punciones, cortaduras, rasguños, agrietados, abrasiones, deformaciones, compresiones y magulladuras), desórdenes fisiológicos (congelación, daños por frío, quemaduras, escaldados por sol, esponjosidad, pudriciones), defectos patológicos (pudriciones causadas por hongos o bacterias, manchado relacionado con algunos virus, maduración irregular, etc.) y otros defectos como los causados por insectos, aves y granizo, lesiones químicas, cicatrices y costras y varios tipos de manchado (acanelado y manchado de la cáscara).

El tamaño, color y forma apropiados son otros de los criterios de calidad más importantes. Un color y olor característico es deseable pues indica madurez y refleja calidad de consumo. Generalmente, a los productos de mayor tamaño se les asigna el precio máximo. Las cicatrices, rasguños y otras marcas disminuyen la preferencia del consumidor en términos de calidad (Bruhn, 2007).

La textura y el sabor son también factores de calidad de los productos hortofrutícolas. La firmeza está relacionada con la resistencia al estrés mecánico durante el transporte. Evaluar la calidad de sabor implica la percepción de gustos y aromas de muchos compuestos. La determinación analítica objetiva de componentes críticos del sabor debe estar unida a las evaluaciones subjetivas del panel-test para proporcionar información significativa acerca de la calidad de sabor (Kader, 2007c).

Tabla 3. Componentes de la calidad de frutas y hortalizas

Calidad	Componentes
Apariencia (visual)	Brillo: naturaleza de la cera superficial Color: Uniformidad, intensidad Defectos: externos, internos Defectos entomológicos Defectos físicos y mecánicos Defectos fisiológicos Defectos morfológicos Defectos patológicos Figura y forma: Diámetro/profundidad, radio, compactación, uniformidad. Tamaño: dimensiones, peso, volumen
Sabor (gusto y olfato)	Acidez Astringencia Amargor Aroma (compuestos volátiles) Dulzor Olores y sabores extraños o desagradables
Seguridad	Contaminantes (residuos químicos, metales pesados) Contaminación microbiana Micotoxinas Tóxicos naturales
Textura (sensación)	Comestibilidad, arenosidad Correosidad y fibrosidad Firmeza, dureza, suavidad Suculencia, jugosidad Textura crujiente
Valor nutricional	Carbohidratos (incluyendo fibra dietética) Lípidos Minerales Proteínas Vitaminas

Fuente: Bruhn, 2007.

La calidad de frutas y hortalizas frescas es así mismo medida por su aporte nutricional, especialmente como fuentes de vitaminas (A, C, B6, tiamina, niacina), minerales (zinc, calcio, potasio y fósforo) y fibra dietética. Las pérdidas poscosecha en la calidad nutricional, particularmente en el contenido de vitamina C, pueden ser sustanciales y se incrementan con el daño físico, la duración del almacenamiento, las altas temperaturas, la baja humedad relativa y el daño por frío.

Los factores de seguridad incluyen niveles de tóxicos naturales presentes en algunos cultivos, contaminantes como los residuos químicos y metales pesados, la carga microbiana, etc. Todos estos factores deben ser controlados para asegurar el cumplimiento de los niveles máximos de tolerancia permitidos.

1.2.4.2. Métodos para evaluar la calidad

La industria hortofrutícola requiere de sistemas efectivos de control y aseguramiento de la calidad demandada por el consumidor. Estos sistemas tradicionalmente han utilizado métodos destructivos basados en análisis físico- químicos y algunos métodos no destructivos basados en análisis subjetivos empleando escalas hedónicas.

El control de calidad comienza en el campo con la selección del momento adecuado de recolección para maximizar la calidad del producto. El sabor mínimo aceptable para los productos hortofrutícolas es determinado mediante la relación entre el contenido en sólidos solubles y la acidez titulable (Tabla 4).

En poscosecha, el envasado se realiza generalmente con métodos automatizados después de una clasificación manual que separa productos por color, tamaño, grado de calidad y elimina unidades defectuosas (Moons et al., 1997). A la vez se realizan, aunque sea sólo con muestras representativas, controles sobre parámetros internos de calidad como el contenido en sólidos solubles, la acidez total, la firmeza, el color y los defectos internos.

La calidad relacionada con la apariencia incluye el tamaño, la forma, color y defectos externos.

Tabla 4. Contenido mínimo en sólidos solubles totales (SST) y de acidez titulable (AT) máxima propuestos para garantizar un sabor aceptable en frutas

Fruta	Contenido mínimo en sólidos solubles totales (%)	Acidez titulable máxima (%)
Albaricoque	10	0,8
Arándano azul	10	-
Caqui	18	-
Cereza	14-16	-
Ciruela	12	0,8
Frambuesa	8	0,8
Fresa	7	0,8
Granada	17	1,4
Kiwi	14	-
Mandarina	Relación SST:AT > de 8	-
Mango	12-14 (dependiendo del cultivar)	-
Manzana	10,5-12,5 (dependiendo del cultivar)	-
Melocotón	10	0,6
Melón	10	-
Naranja	Relación SST:AT > de 8	-
Nectarina	10	0,6
Papaya	11,5	-
Pera	13	-
Piña	12	1,0
Sandía	10	-
Tomate	3	0,3
Toronja	Relación SST:AT > de 6	-
Uva	14-17,5 (dependiendo del cultivar) o relación SST:AT > de 20	-

Fuente: Kader, 2007c.

El tamaño y la forma se evalúan mediante la relación de las dimensiones características de la fruta u hortaliza. Dichas medidas se realizan con anillos especiales para tamaño, calibradores y balanzas digitales, basadas en escalas proporcionadas por la investigación científica, mientras que el color externo, se realiza tradicionalmente en forma manual y se mide por medio de cartas de color habituales y específicas según el

producto. También puede medirse magnitudes como los parámetros de color L, a y b, aunque esta práctica no es frecuente.

Los productos hortofrutícolas con presencia de defectos externos son identificados visualmente y separados manualmente de las líneas de envasado y clasificado. Los criterios para separar estos productos difieren de un producto a otro, pero esencialmente están basados en la ausencia de magulladuras, manchas, cicatrices, pudriciones y malformaciones.

Sin embargo, la industria no puede basarse solamente en una selección por características externas, a pesar que la preferencia del consumidor se fundamente en ellas.

La fidelización, condición superior de consumo, se consigue a través de la calidad de los atributos internos de frutas y hortalizas (Harker et al., 2008). Los atributos internos se determinan generalmente con métodos analíticos destructivos como la refractometría, la titración, el uso de penetrómetros y texturómetros en muestras representativas por lote, pero su efectividad puede verse limitada por la alta variabilidad en la calidad interna, entre piezas de frutas y hortalizas de una misma especie o variedad.

Si bien es cierto que los métodos físicos, químicos, y biológicos están en continua renovación, y que es generalmente aceptado el hecho de que los laboratorios son capaces de determinar cualquier constituyente de un alimento, sea cual sea la concentración en la que se encuentra, es igualmente reconocido que la alta sofisticación del equipamiento, junto con la lentitud y el alto coste por muestra de los métodos tradicionales, dificulta su implantación en los programas actuales de Gestión de Calidad. Todo ello plantea la necesidad de disponer de métodos rápidos, precisos y económicos para la determinación analítica de las características físicas, químicas y sensoriales de los productos hortofrutícolas.

En este contexto, la industria realiza numerosos esfuerzos para llevar a cabo determinaciones no destructivas de la calidad, que no dañen ni deprecien el producto, de

forma que éste pueda ser posteriormente vendido y/o utilizado para otras medidas (Peiris, et al., 1998). Efectivamente, existen una amplia variedad de métodos no destructivos (Espectroscopía VIS/NIRS, fluorescencia, rayos, X, etc.), que están siendo evaluados y utilizados por la industria para medir atributos de calidad de frutas y hortalizas intactas (Hutton, 1998, Peiris et al., 1998).

Entre estas técnicas, la Espectroscopía en el Infrarrojo Cercano (NIRS), reúne una serie de requisitos adecuados para que se puedan investigar y desarrollar sistemas de aseguramiento y control de calidad de productos y procesos acordes con las nuevas demandas.

Entre los principales atributos de esta tecnología destacan el ser una técnica no destructiva, su alta velocidad de respuesta, su bajo coste analítico por muestra, la nula o escasa necesidad de preparación de muestra, su versatilidad para el análisis de muy diversos productos y parámetros, su elevada reproducibilidad y repetitividad, la posibilidad de su incorporación en línea, así como el ser una técnica limpia que no utiliza reactivos y que, por tanto, no produce residuos (Garrido et al., 1993; Garrido, 1997).

Sin embargo, presenta también algunos inconvenientes que es imponente comentar, siendo su principal limitación, la de ser un método de medida secundario, esto significa que necesita ser calibrado con un método convencional usado como referencia (Williams, 1991; Shenk y Westerhaus, 1995a). Así mismo, la complejidad de la señal NIRS obliga a aplicar técnicas quimiométricas que permitan modelar los datos para identificar y cuantificar las muestras; supone un alto costo de implantación por la formación de personal especializado y por el tiempo invertido en el tratamiento de datos y desarrollo de calibraciones (1,5 a 2 años). Además, la adquisición de instrumentos NIRS es relativamente costosa, aunque un adecuado e intensivo uso de los mismos los vuelve rentables; se encuentra influenciada por factores de naturaleza no química (temperatura, humedad, tamaño de partícula, etc.) y no es un método universal, ya que las ecuaciones desarrolladas permiten obtener información sólo de muestras conocidas o similares a aquellas para las que se desarrolló la aplicación (Pérez, 2005).

1.2.5. La tecnología NIRS

La Espectroscopía en el Infrarrojo Cercano, NIRS, es una técnica analítica usada en la determinación de atributos de índole cualitativo y cuantitativo aplicada a una gran variedad de sectores productivos, y una alternativa a los análisis tradicionales de laboratorio para el control de calidad de alimentos (Williams y Norris, 2001; Osborne et al., 1993; Thyholt e Isaksson, 1997; Cen y He, 2007).

Es a partir de los años ochenta, y sobre todo en los noventa, cuando esta tecnología ha experimentado un mayor desarrollo y sus aplicaciones se han extendido a nuevos campos, gracias a la labor investigadora llevada a cabo en diferentes países (McClure, 2003). Definida como una técnica no destructiva alternativa a los métodos tradicionales de análisis, NIRS es una técnica, rápida, de gran precisión y exactitud, siempre que se sigan los procedimientos adecuados para generar los modelos de predicción requeridos (Marten y Naes, 1989; Garrido et al., 1993).

La tecnología NIRS se basa en la emisión de un haz de luz sobre la muestra a analizar, la cual en función de su composición, o mejor aún, de la naturaleza de los enlaces presentes en sus moléculas, fundamentalmente de aquellos de tipo $-CH$, $-NH$ y $-OH$, interaccionará con ellos absorbiendo una determinada cantidad de radiación electromagnética en el rango del infrarrojo cercano, de 780 a 2500 nm (Shenk et al., 2001).

El espectro NIRS es único para cada muestra (Workman y Shenk, 2004) y es el resultado de los diferentes sobretonos, bandas de combinación y absorciones electrónicas de radiación de los grupos funcionales presentes en las moléculas de una muestra (Burns y Ciurczak, 1992 y 2001; Shenk y Westerhaus, 1995a; Bokobza, 1998). El espectro NIRS está basado en los valores de absorbancia a las diferentes longitudes de onda en el rango espectral considerado, siendo los cambios en la respuesta del espectro NIR proporcionales a los cambios en la concentración de componentes químicos, o en las características físicas de la muestra a analizar (Workman y Shenk, 2004).

Dada la simplicidad de esta tecnología (poca o nula preparación de la muestra, lectura del resultado), el número de errores introducidos, con respecto a otras técnicas analíticas clásicas, es menor (Osborne y col., 1993). Sin embargo, y a pesar de los excelentes resultados logrados con el empleo del NIRS, se han identificado algunas fuentes de error que conviene conocer, con el fin de minimizar o anular su efecto.

Dichas fuentes de error fueron clasificadas por Williams y Norris (2001) en los tres grupos siguientes:

- 1) Relacionados con el instrumento (relación señal/ruido, exactitud y precisión en la longitud de onda, linealidad de la señal, tipo y tamaño de la cápsula, etc.).
- 2) Relacionados con la muestra (homogeneidad, densidad, textura, granulometría, estabilidad ante fluctuaciones en temperatura, etc.).
- 3) Operacionales (preparación de muestra, errores del analista, estrategias y procedimientos estadísticos empleados, etc.).

Los primeros espectrofotómetros comerciales NIRS aparecieron en la década de los 50. El esquema básico de estos instrumentos era el mismo que el utilizado en los espectrofotómetros UV-Visible o de Infrarrojo Medio (fuente de radiación, sistema de selección de longitudes de onda, compartimento para la muestra y detector) pero modificando solamente los materiales de ciertos componentes para optimizar la respuesta del instrumento. El primer espectrofotómetro comercial capaz de registrar en la zona NIRS fue el Cary Model 14, fabricado en 1954 por Applied Physics Corporation en Monrovia (California, EE.UU.). El sistema de selección de longitudes de onda estaba integrado por un doble monocromador formado por un prisma de sílice fundida y una red con 600 líneas/mm, siendo el detector de PbS. Este instrumento era capaz de registrar hasta 2650 nm.

Después de esta etapa inicial, se desarrollaron espectrofotómetros basados en diversas técnicas ópticas, introduciendo nuevos sistemas de selección de longitudes de onda y detección, consiguiendo registrar espectros de forma más rápida y fiable.

El avance en el perfeccionamiento de la instrumentación NIRS, ha ido evolucionando desde finales de los años sesenta hasta nuestros días. Los cambios más relevantes que se han producido en los instrumentos NIRS son aquellos relacionados con la mejora de la relación señal/ruido, la precisión en la longitud de onda, la disponibilidad de diferentes sistemas de interacción de la radiación con la muestra y la existencia de una gran variedad de accesorios (cápsulas y cubetas de diferente forma, diferentes tipos de fibras ópticas para su utilización “in line”, “on line” y “at line”, etc.).

En la actualidad existe una amplia variedad de instrumentos NIRS, cada uno con características particulares que determinan su aptitud para distintas aplicaciones, su facilidad de uso y su costo. Así, desde los primeros equipos de filtros que sólo trabajaban con determinadas longitudes de onda, se ha pasado a equipos de barrido que trabajan con todo el rango NIR, dentro de éstos la instrumentación ha evaluado desde los monocromadores que utilizan un red de difracción móvil (grating) por la selección de longitud de onda hasta equipos con tecnologías más actuales como los de red de diodos, los FT-NIR (Transformadas de Fourier) o los MEMS.

Los instrumentos de filtros irradian la muestra con un número reducido de longitudes de onda prefijadas (de 10 a 20 nm de amplitud) por cada filtro, normalmente dentro de un rango reducido de la región NIR, generando un espectro de absorción discontinuo. Este tipo de instrumentos son los más sencillos y de menor costo, pero dependen de que las longitudes de onda elegidas sean las apropiadas para ser absorbidas por los componentes que interese determinar. Generalmente tienen sensibilidad para determinar componentes químicos mayores (agua, grasa, proteína, fibra), pero no parámetros tales como ácidos grasos, aminoácidos, etc.

Los instrumentos monocromadores trabajan en un rango continuo de longitudes de onda a lo largo de toda la región NIRS. Estos equipos prácticamente sustituyeron por completo a los anteriores, ya que proporcionan una mayor información espectral lo que los hace más versátiles en sus aplicaciones (Davies, 1999; Barton, 2002).

Sin embargo, el hecho de que las medidas espectrales de muestras en movimiento sean difíciles de realizar con este tipo de instrumentos ha llevado al

desarrollo en los últimos años de los denominados instrumentos de red de diodos. En este tipo de espectrofotómetros, un cierto número de detectores se localizan en una fila o matrix (red). Cada detector en la red registra su propia parte del espectro y debido al hecho que los todos detectores trabajan en paralelo, la totalidad del espectro es adquirida de forma simultánea lo que provoca una velocidad de análisis superior (Greensill y Walsh, 2002; Saranwong y Kawano, 2005).

Recientemente, los espectrofotómetros miniaturizados de red de diodos han sido introducidos comercialmente. Estos espectrofotómetros presentan redes de diodos de silicio, en el rango de longitudes de onda de 350 a 1100 nm y de indio-galio-arsenico-InGaAs, en el rango de longitudes de onda 900-2200 nm. Los instrumentos de red de diodos de InGaAs son todavía bastantes caros y su disponibilidad está de alguna forma limitada. Los instrumentos de red de diodos de sílice son baratos y están comercialmente disponibles; productos tan comunes como los escáners y cámaras de fotos poseen esta tecnología (Axrup et al., 2000).

Por último, señalar el desarrollo de los instrumentos NIRS portátiles basados en la tecnología MEMS conocida por sus siglas en inglés (MEMS, *Micro-Electro-Mechanical System*) la cual ofrece enormes ventajas en cuanto a tamaño de los instrumentos y robustez de los mismos, rango espectral y bajo coste de fabricación (Coates y Ramani, 2006). La Espectroscopía de Transformación Digital (DTS, *Digital Transform Spectroscopy*) es una nueva técnica en la cual el espectro recogido de una muestra determinada es dispersado a través de un chip o dispositivo MEMS. Aplicando el voltaje apropiado a los distintos píxeles, es posible controlar que pixels van a difractar la luz en su región espectral correspondiente y qué píxeles son los encargados de reflejar la luz. Por lo tanto, el dispositivo MEMS puede controlar para difractar la luz en determinadas regiones del espectro, mientras que en otras la luz es reflejada. La luz reflejada es posteriormente recogida y recombinada (usando una rendija fija) en un único foto-detector de InGaAs, siendo ésta la principal ventaja de este tipo de instrumentos si se le compara con los instrumentos de red de diodos lo que permite construir equipos más competitivos en cuanto a costo (Day et al., 2005).

En los últimos años se ha incrementado el interés por el uso de la tecnología NIRS ante la necesidad de realizar evaluaciones NIRS en el lugar de origen de la muestra y no a la inversa. Estos equipos funcionan con baterías, son de tamaño reducido y carecen de elementos móviles que pudieran dañarse o desalinearse con el traslado. Para la investigación de frutas y hortalizas con NIRS estos equipos pueden ser muy beneficiosos, ya que su portabilidad puede permitir recoger datos espectrales antes o durante la cosecha permitiendo así la posibilidad de realizar ecuaciones de calibración con fines precosecha, y destinados a determinar el momento óptimo de la misma.

Los instrumentos NIRS permiten registrar el espectro, tanto de muestras sólidas, líquidas o gaseosas. La versatilidad en cuanto al tipo de producto y atributo a medir es una de las características de la tecnología NIRS que se ha puesto anteriormente de manifiesto. La variabilidad en la presentación de la muestra conlleva que exista una gran variedad de accesorios para presentar la muestra al instrumento. En función de la naturaleza y tipo de producto puede ser más apropiado un modo de análisis u otro.

La Figura 3 muestra a cuatro modos principales de análisis NIR: transmitancia, reflectancia, transflectancia, e interactancia (Tsuchikawa, 2007).

La ubicación de los detectores con respecto a la muestra determinará si el equipo trabaja en transmitancia, reflectancia, o combinaciones de éstas (Shenk y Westerhaus, 1995a). En transmitancia, la radiación NIRS atraviesa la muestra, interactuando en su camino con las moléculas que la componen, siendo una parte absorbida por ellas. La energía que no es absorbida pasa de largo y es cuantificada por los detectores ubicados detrás de la muestra. El uso más común de este sistema es para analizar sólidos de baja densidad, muestras líquidas y semilíquidas.

En reflectancia, el haz de luz se difunde por la muestra irradiada, la radiación penetra en ella (normalmente unos mm), interactuando con las partículas y siendo selectivamente absorbida. La energía que no se absorbe es reflejada y puede ser cuantificada por detectores situados en el mismo plano que la muestra. Este sistema es el más común para muestras sólidas y semisólidas, que forman una barrera difícil de atravesar en transmitancia.

La transflectancia o doble transmisión es una combinación de la transmisión y la reflexión, desarrollada por Technicon para el equipo InfraAlyser (Tsuchikawa, 2007). La luz es transmitida a través de la muestra (generalmente líquidos), ésta se dispersa llegando hasta el fondo de la cubeta, el cual tiene un material totalmente reflectante (aluminio u oro) y regresa al detector que se encuentra en paralelo con la muestra, en modo reflectancia.

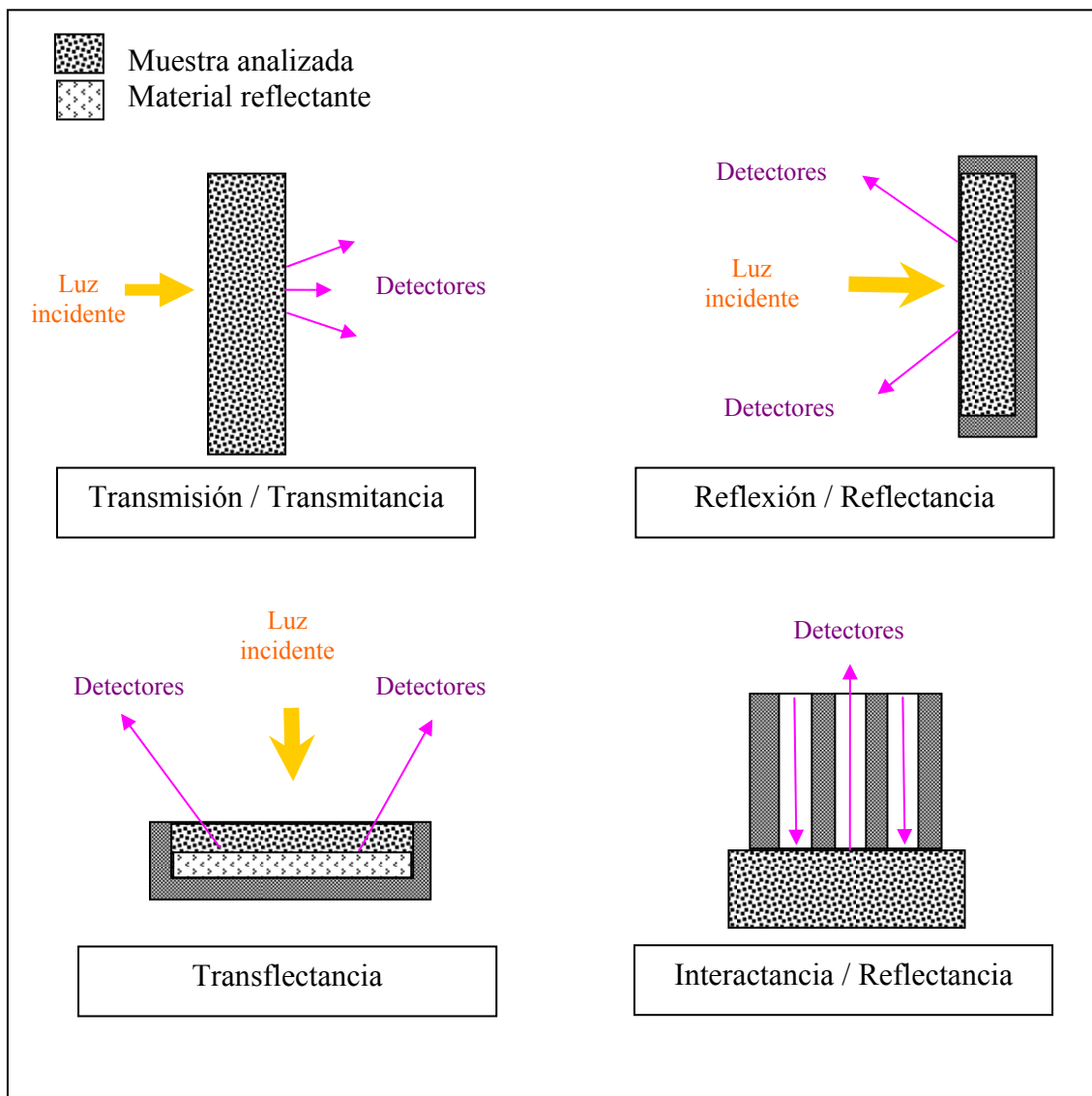


Figura 3. Formas de análisis NIRS de los productos agroalimentarios (adaptado de Kawano, 2004).

La interactancia fue desarrollada por Karl Norris para estudiar plantas vivas y tejidos humanos (Kawano, 2002). El modo de actuación consiste en que sondas de fibra

óptica concéntricas se disponen de tal modo que el exterior de la mismas es por donde se ilumina la muestra y el interior de la sonda por el que se devuelve la energía reflejada de la muestra. Para la recogida del espectro NIRS, la sonda debe estar en contacto con la superficie de la muestra (Kawano, 2004; Tsuchikawa, 2007).

La incorporación a los instrumentos tradicionales de sondas con este modo de análisis, los cuales habitualmente estaban adaptados para muestras secas y molidas (generalmente a través de cápsulas, etc.), ha permitido el desarrollo de estudios en muestras intactas y con diferentes volúmenes, de tal forma que se minimiza o elimina el tiempo de preparación de muestra (Fernández y Garrido, 2000), realizándose la medición de forma más versátil. Así, es posible obtener los espectros de las muestras directamente sobre ellas, transmitiéndose a continuación la señal al instrumento mediante una sonda de fibra óptica (Osborne et al., 1993, Shenk y Westerhaus, 1995a).

Actualmente existe una gran variedad de sondas de fibra óptica y de configuraciones posibles; la elección de un modelo determinado de trabajo dependerá del tipo de muestra a analizar (Shenk y Westerhaus, 1995a; Streamer y De Thomas, 1995).

1.2.5.1. Introducción al análisis quimiométrico de datos espectroscópicos NIRS

La Espectroscopía NIR es una técnica ampliamente usada como método de análisis cuantitativo y cualitativo, para lo cual es necesario el desarrollo de modelos de predicción.

El modelo quimiométrico relaciona la información espectral de las muestras que constituyen el colectivo de aprendizaje con sus valores para el parámetro en estudio, proporcionados por un método de referencia. Una vez desarrollado el modelo, éste permite predecir el contenido de otras muestras de características similares a las incluidas en el grupo de entrenamiento o calibración.

El modelo puede ser bastante complejo, dado que el espectro recogido en la zona del infrarrojo cercano es altamente variable, y contiene información físico-química de la muestra. Cada espectro NIRS contiene una importante cantidad de información, en

muchos casos redundante, con superposición de bandas de absorción a lo largo de todo el espectro, lo que dificulta en muchos casos la extracción de información relevante (Sheik et al., 2001). Ello implica que en la región NIR sea difícil encontrar longitudes de onda específicas, y que sea necesario recurrir a métodos de calibración multivariantes, es decir, basados en la combinación de las absorbancias a varias longitudes de onda (Naes et al., 2002).

Para extraer la información química relevante de cada muestra es necesario recurrir al uso de pretratamientos de la señal espectral, que permiten separar la información meramente química de las variaciones de origen físico (textura, tamaño, geometría de las partículas, etc.).

Los pretratamientos más tradicionalmente utilizados son la derivación, y los tratamientos de corrección del efecto “scatter” o radiación dispersa denominados corrección multiplicativa del efecto del *scatter*, Standard Normal Variate (SNV) y Detrend (DT) (Shenk y Westerhaus, 1995a; Naes et al., 2002; Heise y Winzen, 2004).

Después de los pretratamientos de la señal espectral, los siguientes pasos están orientados a desarrollar una ecuación de calibración capaz de predecir parámetros de calidad de otras muestras con características similares a las incluidas en el colectivo de aprendizaje (Shenk y Westerhaus, 1995b y 1996; Williams y Sobering, 1996).

Un buen método de calibración debe satisfacer una serie de requerimientos. En primer lugar, los modelos matemáticos aplicados deben realizar una estimación eficiente y, por otro lado, resolver el problema de colinealidad, que es bastante acusada cuando se trabaja con información espectroscópica NIRS, provocando la inestabilidad de las predicciones (Naes, 1992, Pérez-Marín et al., 2007). A su vez, los datos de referencia de las muestras obtenidos por laboratorio de vía húmeda deben ser lo más precisos posibles, ya que los resultados obtenidos por un método secundario como NIRS tendrán una precisión similar al del método de análisis convencional usado como referencia y que dio origen a la calibración.

Disponer de un colectivo de calibración que aporte variabilidad, es tal vez uno de los factores más importantes en el desarrollo de ecuaciones NIRS. La variabilidad, en

lo posible debe ser tanto espectral como física y química, similar a la que se espera posteriormente encontrar en el análisis de rutina diario de nuevas muestras (Williams y Norris, 2001). Sin embargo, por la naturaleza de la construcción de las ecuaciones NIRS, las muestras han de ser analizadas mediante el método de referencia, el cual suele ser lento y costoso y el número de dichas muestras a emplear suele ser limitado. Shenk et al., (2001) y Williams (2001) señalan que las características que definen al colectivo de calibración empleado determinan tanto la estabilidad como la exactitud de las ecuaciones desarrolladas.

La selección de muestras para constituir el colectivo de calibración puede ser realizada a través del uso de herramientas matemáticas diseñadas para la estructuración de la población y la elección de muestras representativas del colectivo. Así, por ejemplo el software WinISI (Infrasoft Internacional, Port Matilda, PA, EE.UU.) cuenta con los algoritmos CENTER y SELECT, que se basan en la realización de un análisis de componentes principales (ACP), seguido del cálculo de distancias entre los espectros de las distintas muestras en un espacio n-dimensional, a través generalmente de la distancia de Mahalanobis (Shenk y Westerhaus, 1995b, 1996). Al mismo tiempo, estos procedimientos permiten detectar aquellas muestras con comportamiento diferente, denominadas “anómalas” (outliers), cuya anomalía puede ser causada tanto por la información espectroscópica o química.

Williams y Norris (2001) realizan una detallada descripción de las posibles causas de los espectros anómalos; así mismo, señalan que la detección, interpretación y posible eliminación de estas muestras anómalas es una etapa crítica en el desarrollo de una ecuación de calibración, debido a la gran influencia que provoca su presencia en los resultados del modelo.

Estos procedimientos previos se realizan para definir el colectivo de calibración, ya sea para la construcción de ecuaciones de calibración (análisis cuantitativo) como para modelos de clasificación (análisis cualitativo).

Para el desarrollo de una calibración existen diferentes métodos de regresión (Martens y Naes, 1989; Burns y Ciurczak, 1992 y 2001), siendo los más utilizados en

las aplicaciones cuantitativas NIRS la Regresión Lineal Múltiple (RLM ó MLR), la Regresión por Componentes Principales (RCP ó PCR), la Regresión mediante Mínimos Cuadrados Parciales (RMCP ó PLS) y la Regresión mediante Mínimos Cuadrados Parciales Modificada (RMCPM ó MPLS), siendo éstas dos últimas las más empleadas en aplicaciones agroalimentarias (Shenk y Westerhaus, 1995b, Pérez-Marín et al., 2007).

El método de regresión MPLS es una variante del PLS y aporta la ventaja de la estandarización, es decir, que los residuos NIR a cada longitud de onda, son divididos por la desviación estándar de los residuales a esa longitud de onda, antes de calcular el siguiente factor. Se dice que este método es a menudo más estable y preciso que el algoritmo PLS (Shenk y Westerhaus, 1995a), siendo el número de factores de la regresión seleccionado por validación cruzada (Shenk y Westerhaus, 1995a). La validación cruzada es un algoritmo que selecciona diferentes colectivos de calibración y validación dentro de una población específica. El procedimiento consiste en dividir el colectivo de calibración en grupos (dependiendo del número de muestras). Cada grupo de validación es predicho una vez con la ecuación desarrollada a partir del resto de grupos. El procedimiento se repite hasta que todas las muestras hayan sido predichas una vez. Este procedimiento además previene el sobreajuste del modelo (Shenk y Westerhaus, 1995a; Williams, 2001). Los errores de la misma son evaluados mediante el estadístico Error Típico de Validación Cruzada (ETVC) que es similar al Error Típico de Predicción (ETP).

El ETP es el estadístico más empleado para estimar la capacidad de predicción de una ecuación de calibración NIRS, entendido también como la desviación típica de las diferencias, para un colectivo de validación, entre el valor determinado mediante el método de referencia y el valor estimado mediante el análisis NIRS (Mark y Workman, 1991; Shenk y Westerhaus, 1995b; Williams, 2001).

Por otro lado, un estimador de la capacidad predictiva de la ecuación es el propio error de calibración del modelo desarrollado; éste es el error típico de calibración (ETC), que se define como la desviación típica de los residuales (diferencia entre el valor aportado por el método de referencia y el valor estimado por la ecuación) para el

colectivo de calibración (Williams, 2001). Sin embargo, al ser únicamente un estimador del error del modelo quimiométrico empleado, dicho estadístico suele sobreestimar la capacidad real de predicción de una ecuación (Mark y Workman, 1991; Shenk y Westerhaus, 1995b).

Así mismo, el estadístico RPD (Ratio of standard error of performance to standard deviation), que mide la relación entre la desviación típica de los datos de referencia de un determinado constituyente y el ETVC para el colectivo de validación cruzada y el estadístico RER (Ratio of standard error of performance to range of standard data), que establece la relación entre el rango de los datos de referencia de un determinado constituyente y el ETVC para el colectivo de validación cruzada, son estadísticos muy útiles usados en la evaluación de aplicaciones NIRS (Williams, 2001).

Williams (2001), consideran que el RPD es un estadístico sencillo y que permite la evaluación del ETVC o del ETP en términos de la desviación típica de los datos de referencia para la población en estudio. De hecho, la eficiencia del análisis NIRS viene definida por la consistencia de las desviaciones de los datos predichos con respecto a los datos de referencia, esto es, el ETP o ETVC. Por tanto, si ETP o ETVC son similares a la desviación típica (o incluso superiores), significaría que la calibración no estaría prediciendo los valores correctamente. Estos estadísticos debe ser inferiores a la desviación típica. Williams (2001) señala que valores del RPD comprendidos entre 3 y 5 indican predicciones NIRS eficientes.

La Tabla 5 ilustra el significado de algunos valores de los estadísticos RPD y RER en relación con la aplicación de la tecnología NIRS en el control de productos y procesos.

Tabla 5. Valores de los estadísticos de RPD y RER relacionados con el control NIRS de productos y procesos

RPD	RER	Clasificación	Aplicación
0,0 – 2,3	< 6	Muy pobre	No recomendada
2,4 – 3,0	7 – 12	Pobre	Clasificación grosera
3,1 – 4,9	13 – 20	Pasable	Clasificación
5,0 – 6,4	21 – 30	Bueno	Control de calidad
6,5 – 8,0	31 – 40	Muy bueno	Control de procesos
> 8,1	> 41	Excelente	Cualquier aplicación

Fuente: Williams, 2001.

El estadístico RER, anteriormente definido, es otra forma de estandarizar el ETP y el ETVC. El valor del RER debería ser tan alto como fuera posible, pero puede ser aumentado de forma ficticia por una presencia de muestras extremas en concentración lo cual le resta utilidad y consistencia. Esto no ocurre cuando para estandarizar el ETP o ETVC utilizamos la desviación típica, es decir, utilizando el RPD.

Otro estadístico de uso tradicional en química analítica y de utilidad para la interpretación de datos NIRS es el coeficiente de variación (CV), el cual relaciona la desviación típica con la media. El tamaño e interpretación del CV depende parcialmente de la fuente de los datos, es decir, que se trate de datos de vía húmeda, datos predichos NIRS, datos de parámetros “funcionales” como dureza, digestibilidad, etc., (Williams, 2001). La Tabla 6 recoge criterios para la interpretación del coeficiente de variación en relación con la aplicación de la tecnología NIRS para el control de productos y procesos.

Tabla 6. Criterios de interpretación de los valores del coeficiente de variación en relación con el control NIRS de productos y procesos

CV (%)	Análisis químico	Análisis predichos NIRS; parámetros químicos	Análisis predichos NIRS; parámetros funcionales
> 0,5	Excepcional	Imposible de obtener	Imposible de obtener
0,6 – 1,0	Excelente	Excepcional	Imposible de obtener
1,1 – 2,0	Muy bueno	Excelente	Excepcional
2,1 – 3,0	Bueno	Muy bueno	Excelente
3,1 – 4,0	Pasable	Bueno	Muy bueno
4,1 – 5,0	Mediocre	Pasable	Bueno
> 5,1	Necesita investigación	Mediocre	Pasable

Fuente: Williams, 2001.

De acuerdo con la Tabla 6, valores del CV para datos predichos NIRS del 2 al 3 % son considerados muy buenos para el control de calidad de parámetros químicos.

Así mismo, la tecnología NIRS ha sido aplicada en el análisis cualitativo de productos agroalimentarios. El análisis cualitativo está orientado al desarrollo de modelos de clasificación basados exclusivamente en información espectral de la muestra. El fundamento es agrupar espectros de una muestra junto a aquellas con espectros similares y separarla de otras con espectros distintos (Downey, 1994, 1996). Este hecho amplía las aplicaciones de NIRS en el control de calidad a nivel agropecuario e industrial orientadas a identificar muestras desconocidas, distinción entre variedades, autenticación de productos, clasificación por calidades, etc.

La correlación espectral y las operaciones lógicas o cálculo de distancias son herramientas usualmente utilizadas para realizar estos agrupamientos; en el análisis cualitativo NIRS, normalmente se utiliza la distancia de Mahalanobis, la cual incorpora un procedimiento de estandarización de los datos. No obstante, podría distorsionar la formación de los grupos si existe una alta colinealidad en los datos (Vandeginste et al., 1998; Heise y Winzen, 2004).

El análisis discriminante se evalúa desde tres aproximaciones: la primera de ellas hace referencia al uso de varios algoritmos utilizados para determinar si una muestra

pertenece a un grupo de muestras conocidas a través de comparaciones espectrales. En segundo lugar, se habla de métodos de reconocimiento de pautas, usados para determinar el grado de similitud entre el espectro de una muestra desconocida y una biblioteca espectral y finalmente, la tercera de las estrategias se refiere a la interpretación espectral mediante asignación de bandas características (Penchev et al., 1999; Kramer et al., 2004).

Simultáneamente, estos métodos de clasificación se pueden agrupar en dos categorías: supervisados y no supervisados, dependiendo de si es conocida o no *a priori* la asignación de clases del colectivo de aprendizaje (Vandeginste et al., 1998; Naes et al., 2002; Heise y Winzen, 2004).

Los métodos no supervisados se usan generalmente cuando no se dispone de información previa del colectivo, pues no se requiere de ningún conocimiento previo de los objetos para realizar su agrupamiento o clasificación, sino que ellos mismos definen las clases. El objetivo de este tipo de técnicas es identificar tendencias dentro de los colectivos de aprendizaje y construir subgrupos o clases en base a ellas (Naes et al., 2002). Mientras que en los métodos supervisados sucede lo contrario. Éstos se basan en el aprendizaje previo del sistema, utilizando colectivos de calibración o entrenamiento en los que las clases y la pertenencia de las distintas muestras a ellas ya se encuentran definidas (Vandeginste et al., 1998).

Uno de los métodos más utilizados es el análisis discriminante PLS, cuyos principios y procedimientos son idénticos a los usados para el análisis cuantitativo; con la diferencia que mientras para el análisis cuantitativo se mide la concentración de compuestos, en el análisis discriminante se utilizan variables discretas, de pertenencia o no a un determinado grupo (Vigneau et al., 2000; Naes et al., 2002; Kramer et al., 2004).

El análisis discriminante PLS utiliza un colectivo de entrenamiento para el desarrollo de modelos de predicción cualitativos que pueda aplicarse posteriormente a la clasificación de nuevas muestras desconocidas. Dicho modelo persigue correlacionar las variaciones espectrales (X) con las clases definidas (Y), tratando de maximizar la

covarianza existente entre ambos tipos de variables. En este tipo de aproximación, las variables Y utilizadas no son variables continuas, como en el caso del análisis cuantitativo, sino que son variables categóricas artificiales o ficticias (“dummy”), creadas asignando el valor 0 a la muestra perteneciente a la categoría A y el valor 1 a la muestra perteneciente a la categoría B (Naes et al. 2002; Heise y Winzen, 2004; Kramer et al., 2004).

Según indican Naes et al., (2002), la elección de los valores 0/1 para las variables ficticias es arbitraria, pudiendo ser considerados asimismo otros pares de valores como 1/2, 0/100.

Downey (2000) sugiere que la elección de los valores de las variables no es importante siempre y cuando la matriz Y sea centrada y normalizada antes del análisis. Cuando existen dos clases a discriminar se aplica normalmente el algoritmo PLS1, ya que existe una única variable independiente que toma para cada muestra del colectivo de aprendizaje un valor de 0 ó 1.

El criterio para la clasificación de muestras desconocidas en una u otra categoría dependerá de que el valor predicho se aproxime más a 0 ó a 1, respectivamente. Si existen más de dos clases a discriminar, sólo se podría usar PLS1 si se fuesen dividiendo las clases en grupos de dos de forma estratificada; aunque, en tal caso, la opción más apropiada sería el uso del algoritmo de regresión multivariante PLS2. No obstante, este algoritmo también se puede utilizar cuando exclusivamente se dispone de dos clases (Naes et al., 2002).

Cuando se aplica PLS2 el significado de las variables ficticias cambia ligeramente. En esta aproximación, la variable independiente se convierte en un vector de clases, de forma que cada muestra tenga un valor de 1 en la clase a la que pertenece y un valor de 0 para el resto de clases (Vandeginste et al., 1998; Naes et al., 2002; Heise y Winzen, 2004). Por su parte, para la predicción de muestras desconocidas, se obtiene un valor de la variable discriminatoria para cada una de las clases establecidas; así, un valor de 1 en una de las categorías representaría una asignación perfecta a la misma, mientras que un valor de 0 indicaría la no pertenencia a dicha clase. Para una misma

muestra, si los valores de las variables ficticias usados son 0 y 1, los predichos obtenidos para cada clase deben sumar 1.

Los criterios para la clasificación de muestras desconocidas son diversos. Así, Naes et al., (2002) y Kramer et al., (2004) indican que las muestras desconocidas deben ser asignadas al grupo en el que presenten un mayor valor predicho de la variable discriminatoria, mientras que otros autores señalan que el valor medio de las variables discriminatorias puede usarse como límite discriminatorio (Downey y Boussion, 1996; McElhinney y Downey, 1999; Woo et al., 1999).

Downey (2000) explica que el uso del valor medio sería de aplicación en el caso de que las clases estuviesen equilibradas en cuanto a número de muestras, pero recomienda calcular el límite de discriminación entre clases teniendo en cuenta la desviación típica de los valores predichos para cada clase.

Otra aproximación similar descrita por Murray et al., (2001) sería considerar lo que se denomina factor de incertidumbre para calcular el límite de discriminación. Esta opción está incorporada en el programa quimiométrico WinISI, en la opción de análisis discriminante mediante PLS2, y calcula el valor de la “mínima diferencia” para clasificar las muestras en una determinada categoría como el producto del error de ajuste del modelo por un factor de incertidumbre, cuyo valor está asociado al estadístico *t* de Student para un número de grados de libertad infinito. De esta forma, una muestra es clasificada de forma incierta en una clase cuando la diferencia entre el valor dado a esa muestra en su clase y el valor que se le da en la/s otra/s clase/s es inferior al valor de la mínima diferencia (ISI, 2000).

1.2.5.2. Aplicación de la tecnología NIRS en el sector de frutas y hortalizas

Los primeros trabajos analíticos llevados a cabo con NIRS se desarrollaron a finales de los años sesenta para determinar humedad, proteína y grasa en productos agrícolas (granos y semillas: Norris y Hart, 1965; carne: Ben-Gera y Norris, 1968a; soja: Ben-Gera y Norris, 1968b). Posteriormente, su aplicación se ha extendido a la determinación de un gran número de parámetros en productos agroalimentarios.

En el sector de frutas y hortalizas, la tecnología NIRS ha sido empleada con el fin de desarrollar modelos de predicción de parámetros de calidad interna como el contenido en sólidos solubles totales, acidez, firmeza, contenido en sacarosa, fructosa, sorbitol, clorofila A, ácido málico, etc., de diferentes frutas y hortalizas, como recogen los distintos trabajos de revisión publicados (Nicolai et al., 2007; Saranwong and Kawano, 2007).

Así mismo, dicha tecnología ha sido aplicada con el objeto de determinar fecha de recolección, evolución de la calidad en campo y en poscosecha, genotipo, variedad, defectos internos, presencia de hongos y levaduras, etc., (Mehinagic et al., 2004; Saranwong et al., 2004; Seregely et al., 2004; Kleynen et al., 2005; McGlone et al., 2005; Peirs et al., 2005; Han et al., 2006; Delwiche et al., 2008).

Kays et al., (2000) analizan las ventajas e inconvenientes del potencial de la tecnología NIRS para el análisis de productos vegetales de alta humedad analizados en forma intacta. Los autores indican que a pesar de las ventajas innegables de la tecnología NIRS como método no destructivo, su desarrollo en la última década ha sido muy lento, debido a problemas específicos presentados por frutas y hortalizas, entre los que se pueden destacar los siguientes:

- Alto contenido de humedad, lo que dificulta rescatar información espectral relevante de otros atributos de interés.
- Desarrollo científico e instrumental NIRS basado principalmente en productos secos y molidos.
- Variaciones importantes a nivel de piezas individuales (gradientes de azúcar, variedades, etc.).
- Necesidad de equipos de geometría óptica variable, adaptados a variaciones en tamaño y forma de frutas y hortalizas.
- Productos perecederos, lo que dificulta la posibilidad de simultanear análisis de referencia y análisis NIRS.

- No tradición en la determinación analítica de la calidad de frutas y hortalizas, debido a la práctica inexistencia de pago por calidad en dichos productos.

Igualmente es importante destacar que la puesta a punto de una investigación con NIRS para frutas y hortalizas conlleva un planteamiento distinto según el objetivo de la investigación.

Así, para un mismo producto hortofrutícola, se han realizado numerosos estudios analizando:

- Regiones espectrales óptimas (Park et al., 2003; Saranwong et al., 2003a; Liu y Ying, 2005; Guthrie et al., 2006).
- Modos de la presentación de la muestra: intacto, rodajas, muestra desecada y molida (Dull et al., 1989; Pérez et al., 2001).
- Utilización de distintos accesorios según objetivos: sondas, cápsulas, etc.
- Formas de recogida de la señal: transmitancia, reflectancia, transflectancia (Schaare y Fraser, 2000; Clark et al., 2003; McGlone et al., 2003).
- Influencia de factores externos como la temperatura (Hernández-Sánchez et al., 2003; Peirs et al., 2003; Golic y Walsh, 2006).
- Distancia de la muestra al instrumento (Lu y Ariana, 2002; Liu et al., 2007).

Actualmente, en las líneas de procesado, la clasificación de frutas y hortalizas se viene realizando de forma visual y manual, mediante detección de atributos como color, tamaño, defectos externos, etc., (Moons et al., 1997); asimismo, existen equipos para la detección de defectos, que trabajan en la región del visible (Hutton, 1998). Sin embargo, la industria hortofrutícola está empezando a considerar las propiedades internas de cada producto, junto a las externas, como criterio de clasificación por estándares de calidad de cara a su venta.

En el caso de frutas y hortalizas, la calidad interna se refiere principalmente a dos atributos: defectos internos y sabor. La región del infrarrojo cercano presenta la ventaja, frente a otras regiones del espectro electromagnético (ej. infrarrojo medio), de que al poseer una elevada relación señal/ruido permite el uso de mayores pasos ópticos (Peiris et al., 1998), permitiendo así, que la radiación penetre en el interior de frutas y hortalizas y por tanto sea posible evaluar atributos de calidad internos.

NIRS ofrece enormes expectativas en este terreno, particularmente derivadas de ser una tecnología no destructiva, rápida y con posibilidad de ser incorporada a nivel de la línea de producción (ej. cadenas de envasado), permitiendo además estudiar simultáneamente diversos indicadores específicos de calidad de un producto, como se muestra en los numerosos trabajos publicados relativos a la aplicación de la tecnología NIRS en el análisis de frutas y hortalizas (Abbott, 1999; Slaughter y Abbott, 2004; Nicolai et al., 2007; Huang et al., 2008).

La Tabla 7 recoge una exhaustiva revisión de diferentes estudios relacionados con el análisis de frutas y hortalizas empleando la tecnología NIRS desde los comienzos de la aplicación de dicha tecnología hasta nuestros días. Salvo algunas excepciones, la mayor parte de los estudios se han realizado en frutas y hortalizas en forma intacta, siendo los parámetros de calidad más estudiados los responsables del sabor y la textura (sólidos solubles totales, acidez tituble y firmeza).

Tabla 7. Aplicaciones de la tecnología NIRS en frutas y hortalizas

Producto	Parámetro	Instrumento	Tipo de medida	Rango (nm)	Estadísticos	Referencia, año
Aceituna	Discriminación entre tipos de aceite de oliva	Monocromador	Transflectancia	400-2500	96,9% de clasificación correcta	Dowey y Flynn (2002)
	Ácido Esteárico	Red de diodos	Reflectancia	400-1700	ETP = 0,68 %; $r^2 = 0,41$	León-Moreno et al., (2002)
	Ácido Linoléico				ETP = 2,73 %; $r^2 = 0,95$	
	Ácido Oléico				ETP = 4,40 %; $r^2 = 0,94$	
	Ácido Palmítico				ETP = 1,75 %; $r^2 = 0,85$	
Ácido Palmitoléico	ETP = 1,04 %; $r^2 = 0,72$					
Albaricoque	Rendimiento en aceite	Red de diodos	Reflectancia	400-1700	ETVC = 1,02 %; $r^2 = 0,95$	González et al., (2004)
	Acidez				ETVC = 0,27 %; $r^2 = 0,91$	
Albaricoque	SST	Monocromador	Interactancia	400-2500	ETC = 0,56 °Brix; $R^2 = 0,92$	Carlini et al., (1998)
	SST	Monocromador	Interactancia	600-2500	ETP = 0,9 °Brix	Carlini et al., (2000)
Almendra	Defectos internos	Red de diodos	Transmitancia	700-1400	Error de tasa de clasificación en la calibración: 20 %	Pearson (1999)
					Error de tasa de clasificación en la validación: 14,3 %	
Café	Discriminación de variedades	---	---	1100-1498	98,51 %	Downey y Bousson (1996)
Cereza	Firmeza variedad 1	Monocromador	Reflectancia	800-1700	ETP = 0,55 N; $r^2 = 0,64$	Lu (2001)
	Firmeza variedad 2				ETP = 0,44 N; $r^2 = 0,42$	
	SST variedad 1				ETP = 0,71 °Brix N; $r^2 = 0,90$	
	SST variedad 2				ETP = 0,65 °Brix N; $r^2 = 0,79$	

Tabla 7. Aplicaciones de la tecnología NIRS en frutas y hortalizas (continuación)

Producto	Parámetro	Instrumento	Tipo de medida	Rango (nm)	Estadísticos	Referencia, año
Ciruela	Acidez	---	---	---	ETP = 0,11 %; $r^2 = 0,61$	Onda et al., (1996)
	Firmeza				ETP = 0,21 kg; $r^2 = 0,69$	
	SST				ETP = 0,41 °Brix; $r^2 = 0,85$	
	Clasificación en función del sabor (azúcar/ acidez)	Red de diodos	Reflectancia	700-1100	92,8 % de clasificación correcta	Abu-Khalaf y Bennedsen, (2002)
	SST	Red de diodos	Interactancia	735-932	ETVC = 0,47 %; $r^2 = 0,71$	Walsh et al., (2004)
	SST	Red de diodos	Interactancia	735-932	ETP = 0,6 %; $r^2 > 0,85$	Golic y Walsh (2006)
	Firmeza	Red de diodos	Reflectancia	400-1700	ETVC = 2,54 N; $r^2 = 0,52$	Paz et al., (2008)
	SST				ETVC = 0,77 °Brix; $r^2 = 0,83$	
	Acidez	FT-NIR	Reflectancia	800-2500	ETP = 3,62 meq/100g; $r^2 = 0,79$	Bureau et al., (2009)
	SST			ETP = 0,98 °Brix; $r^2 = 0,85$		
Espárrago blanco	Clasificación zonas de espárrago blanco: base, intermedia y yema,	Monocromador	Reflectancia	800-1700	98,6 % de la zona yema 72,8 % de la zona media 66,7 % de la zona base	Jarén et al., (2006)
	Clasificación meses de recolección: marzo, abril y mayo				75,4 % del mes de marzo 68,2 % del mes de abril 68,4 % del mes de mayo	
	Fibra ácido detergente	Monocromador	Reflectancia	400-2500	ETVC = 0,60 g/100 g ms; $r^2 = 0,97$	Garrido-Varo et al., (2001)
	Fibra neutro detergente				ETVC = 0,84 g/100 g ms; $r^2 = 0,98$	

Tabla 7. Aplicaciones de la tecnología NIRS en frutas y hortalizas (continuación)

Producto	Parámetro	Instrumento	Tipo de medida	Rango (nm)	Estadísticos	Referencia, año
Espárrago verde	Autenticación de variedades	Monocromador	Reflectancia	400-2500	100 % de muestras correctamente clasificadas	Pérez-Marin et al., (2001)
	Textura: Energía de corte	Monocromador	Reflectancia	400-2500	ETP = 0,04 J; $r^2 = 0,89$	Pérez-Marin et al., (2002)
	Textura: Dureza				ETP = 0,36 Pa 10^{-6} ; $r^2 = 0,85$	
	Textura: Fuerza máxima de corte				ETP = 6,73 N; $r^2 = 0,82$	
Kiwi carne amarilla	Color interno	Red de diodos	Interactancia	300-1100	ETP = 1,63°; $r^2 = 0,82$	Schaare y Fraser (2000)
	Densidad				ETP = 3,60 kg/m ³ ; $r^2 = 0,74$	
	SST				ETP = 0,80 °Brix; $r^2 = 0,93$	
	Color interno	Red de diodos	Transmitancia	300-1100	ETP = 1,95°; $r^2 = 0,74$	
	Densidad				ETP = 4,80 kg/m ³ ; $r^2 = 0,55$	
	SST				ETP = 1,01 °Brix; $r^2 = 0,89$	
	Color interno	Red de diodos	Reflectancia	300-1100	ETP = 1,88°; $r^2 = 0,76$	
	Densidad				ETP = 4,50 kg/m ³ ; $r^2 = 0,59$	
	SST				ETP = 1,18 °Brix; $r^2 = 0,86$	
Kiwi carne verde	Firmeza	Monocromador	Interactancia	800-1100	ETP = 7,8 N; $r^2 = 0,66$	McGlone y Kawano (1998)
	Materia seca				ETP = 0,42 %; $r^2 = 0,90$	
	SST				ETP = 0,39 °Brix; $r^2 = 0,90$	
	Fructuosa	Monocromador	Transmitancia	400-1100	ETC = 1,96 %; $R^2 = 0,92$	Slaughter y Crisosto (1998)
	Glucosa				ETC = 1,68 %; $R^2 = 0,94$	
	Materia seca				ETC = 0,61 %; $R^2 = 0,94$	
	SST				ETC = 0,78 °Brix; $R^2 = 0,98$	
	Materia seca	Red de diodos	Interactancia	300-1140	ETP = 0,5 %	McGlone et al., (2002)
	SST				ETP = 0,5 °Brix	

Tabla 7. Aplicaciones de la tecnología NIRS en frutas y hortalizas (continuación)

Producto	Parámetro	Instrumento	Tipo de medida	Rango (nm)	Estadísticos	Referencia, año
Kiwi carne verde	Firmeza	FT-NIR	Reflectancia	800-2500	ETP = 4,09 N; $r^2 = 0,79$	Fu et al., (2007c)
Limón	SST	Red de diodos	Transmitancia	636-1236	SEP = 0,42 °Brix; $r^2 = 0,81$	Lee et al., (2004)
Mandarina	SST	Monocromador	Transmitancia	680-1235	ETP = 0,3 °Brix	Kawano et al., (1993)
	SST (zumo)	Monocromador	Transmitancia	710-930	ETP = 0,48; $r^2 = 0,88$	Miyamoto y Kitano (1995)
	Ácido cítrico	Monocromador	Transmitancia	700-1000	ETP = 0,15 %; $r^2 = 0,69$	Miyamoto et al., (1998)
	SST	---	Interactancia	730-930	ETVC = 0,26 %; ETP = 0,25%	Greensill y Walsh (2002)
	Acidez titulable	Red de diodos	Interactancia	600-1100	ETP = 0,15 %; $r^2 = 0,60$	McGlone et al., (2003)
	SST	Red de diodos	Transmitancia 180°	700-930	ETP = 0,32 %; $r^2 = 0,93$	
	SST	Red de diodos	Transmitancia 90°	700-930	ETP = 0,36 %; $r^2 = 0,91$	
	SST	Red de diodos	Interactancia	750-1100	ETP = 0,47 %; $r^2 = 0,85$	

Tabla 7. Aplicaciones de la tecnología NIRS en frutas y hortalizas (continuación)

Producto	Parámetro	Instrumento	Tipo de medida	Rango (nm)	Estadísticos	Referencia, año
Mandarina	SST	Red de diodos	Reflectancia	500-1100	ETP = 0,63 %; $r^2 = 0,75$	McGlone et al., (2003)
	SST	Red de diodos	Interactancia	300-1100	ETVC = 0,49 %; $r^2 = 0,77$	Walsh et al., (2004)
	SST	Red de diodos	Interactancia	720-950	ETC < 0,4 %; $R^2 > 0,75$	Guthrie et al., (2005a,b)
	Materia seca				ETC < 0,6 %; $R^2 > 0,90$	
	Firmeza	Red de diodos	Reflectancia	350-2350	ETP = 8,53 N; $r^2 = 0,69$	Hernández-Gómez et al., (2006)
	pH				ETP = 0,18; $r^2 = 0,64$	
	SST				ETP = 0,33 °Brix; $r^2 = 0,88$	
Mango	Materia seca	Monocromador	Reflectancia	400-2500	ETVC = 1,19; $r^2 = 0,98$ %	Guthrie y Walsh (1997)
	Acidez					
	Días de Almacenamiento	Monocromador	Reflectancia	1200-2400	ETP = 0,16 %; $r^2 = 0,61$	Schmilovitch et al., (2000)
	Firmeza				ETP = 37,03 días; $r^2 = 0,94$	
	SST				ETP = 17,2 N; $r^2 = 0,82$	
					ETP = 1,24 °Brix; $r^2 = 0,93$	
	Materia seca	Monocromador	Interactancia	700-1100	ETP = 0,46 %; $r^2 = 0,94$	Saranwong et al (2001)
	SST				ETP = 0,55 °Brix; $r^2 = 0,94$	
	Almidón	Monocromador	Interactancia	850-1100	ETP = 0,40 %; $r^2 = 0,96$	Saranwong et al., (2003a)
	Materia seca	Red de diodos	Interactancia	850-1100	ETP = 0,40 %; $r^2 = 0,90$	
	Almidón	Red de diodos	Interactancia	700-1100	ETP = 2,04 %; $r^2 = 0,81$	Saranwong et al., (2003b)
	Materia seca			800-1100	ETP = 0,52 %; $r^2 = 0,88$	

Tabla 7. Aplicaciones de la tecnología NIRS en frutas y hortalizas (continuación)

Producto	Parámetro	Instrumento	Tipo de medida	Rango (nm)	Estadísticos	Referencia, año				
Mango	Acidez titulable	FT-NIR	Reflectancia	650-2500	ETP = 0,3 %; $r^2 = 0,72$	Mahayothee et al., (2004)				
	Firmeza				ETP = 25,8 N; $r^2 = 0,68$					
	Perdida de peso				ETP = 0,9 %; $r^2 = 0,92$					
	SST/Acidez titulable				ETP = 18,6; $r^2 = 0,84$					
	SST				ETP = 1,4 °Brix; $r^2 = 0,59$					
	Tiempo de madurez				ETP = 0,4 días; $r^2 = 0,97$					
Manzana	Almidón	Monocromador	Interactancia	700-1100	ETP = 1,71 %; $r^2 = 0,86$	Saranwong et al., (2004)				
	Materia seca				ETP = 0,41 %; $r^2 = 0,92$					
	Almidón	Red de diodos	Interactancia	300-1100	ETVC = 0,46 %; $r^2 = 0,79$	Walsh et al., (2004)				
	SST				ETVC = 0,88 %; $r^2 = 0,92$					
	<i>Hunter b</i>	Red de diodos	Interactancia	400-1100	ETVC = 4,74; $r^2 = 0,81$	Subedi et al., (2007)				
	Materia seca				ETVC = 0,66 %; $r^2 = 0,52$					
	SST				ETVC = 0,84 %; $r^2 = 0,85$					
	Manzana	Acidez	Monocromador	Transmitancia	800-1100	$R^2 = 0,88$; CV (%) = 10	Lovász et al., (1994)			
		Firmeza				$R^2 = 0,76$; CV (%) = 14				
		Materia seca				$R^2 = 0,85$; CV (%) = 3				
pH		$R^2 = 0,92$; CV (%) = 2								
Sólido insolubles en alcohol AIS		$R^2 = 0,88$; CV (%) = 7								
Firmeza		Monocromador				Reflectancia		380-1650	ETP = 2,49 N; $r^2 = 0,81$	Lammertyn et al., (1998)
pH									ETP = 0,07; $r^2 = 0,85$	
SST	ETP = 0,61 °Brix; $r^2 = 0,67$									

Tabla 7. Aplicaciones de la tecnología NIRS en frutas y hortalizas (continuación)

Producto	Parámetro	Instrumento	Tipo de medida	Rango (nm)	Estadísticos	Referencia, año
Manzana	Acidez	Red de diodos	Reflectancia	---	ETP = 1,33 ml NaOH; $r^2 = 0,77$	Moons et al., (1997)
	Firmeza				ETP = 0,74 kg/cm ² ; $r^2 = 0,41$	
	Materia Seca				ETP = 0,56 %; $r^2 = 0,74$	
	pH				ETP = 0,10; $r^2 = 0,61$	
	SST				ETP = 0,45 °Brix; $r^2 = 0,74$	
	Acidez	Red de diodos	Reflectancia	400-1700	ETVC = 1,39 % ácido málico; $r^2 = 0,75$	Moons y Dardenne (1999)
	Diámetro				ETVC = 0,20 cm; $r^2 = 0,80$	
	Firmeza				ETVC = 0,83 N; $r^2 = 0,67$	
	Materia seca				ETVC = 0,78 %; $r^2 = 0,84$	
	pH				ETVC = 0,09; $r^2 = 0,77$	
	SST				ETVC = 0,49 °Brix; $r^2 = 0,88$	
	SST				ETP = 1,14 °Brix; $r^2 = 0,31$	
	Firmeza	Monocromador	Reflectancia	800-1700	ETP = 10,1 N; $r^2 = 0,33$	Lu et al., (2000)
	SST				ETP = 0,42 °Brix; $r^2 = 0,94$	
	Acidez	Monocromador	Reflectancia	380-2000	ETP = 2,07ml NaOH; $r^2 = 0,64$	Peirs et al., (2000)
	Fecha de cosecha				ETP = 7,4 días; $r^2 = 0,81$	
	Firmeza				ETP = 1,13 kg; $r^2 = 0,61$	
	SST				ETP = 0,73 °Brix; $r^2 = 0,71$	
	Firmeza	Red de diodos	Interactancia	900-1500	ETP = 9,8-10,6 N	Lu y Ariana (2002)
	SST				ETP = 0,5-0,7 %, $r^2 > 0,65$	

Tabla 7. Aplicaciones de la tecnología NIRS en frutas y hortalizas (continuación)

Producto	Parámetro	Instrumento	Tipo de medida	Rango (nm)	Estadísticos	Referencia, año
Manzana	SST	---	Reflectancia	1453, 1732 y 1790	ETP = 1,17 °Brix ; $r^2 = 0,56$	Fu et al., (2004)
	SST	---	Reflectancia	1453, 1732, 1790 y 1931	ETP = 0,92 °Brix ; $r^2 = 0,56$	
	Acidez	FT- NIR	Interactancia	967-2619	ETP = 0,07 %; $r^2 = 0,76$	Liu et al., (2004)
	Materia Seca	Red de diodos	Transmitancia	650-950	ETP = 0,43 %; $r^2 = 0,87$	McGlone y Martinsen (2004)
	SST	Red de diodos	Interactancia	300-1100	ETVC = 0,22 %; $r^2 = 0,96$	Walsh et al., (2004)
	Acidez titulable pH SST	FT- NIR	Interactancia	812-2357	ETP = 0,0044 g/100 g; $r^2 = 0,53$ ETP = 0,068; $r^2 = 0,69$ ETP = 0,45 %; $r^2 = 0,94$	Liu y Ying (2005)
	Día óptimo de cosecha	Monocromador	Reflectancia	380-2000	ETP = 5 días; $r^2 = 0,94$ Días dependiendo del cultivar	Peirs et al., (2005)
	Firmeza SST	Red de diodos	Transmitancia	400-1100	<i>En árbol</i> ETVC = 7,7 N/cm ² ; $r^2 = 0,93$ ETVC = 0,94 °Brix; $r^2 = 0,41$ <i>En almacenamiento</i> ETVC = 10,3 N/cm ² ; $r^2 = 0,8$ ETVC = 1,36 °Brix; $r^2 = 0,05$	Zude et al., (2006)
	Firmeza SST					

Tabla 7. Aplicaciones de la tecnología NIRS en frutas y hortalizas (continuación)

Producto	Parámetro	Instrumento	Tipo de medida	Rango (nm)	Estadísticos	Referencia, año
Manzana	SST	FT-NIR	Reflectancia	1000-2500	ETP = 0,55 °Brix; $r^2 = 0,76$	Alamar et al., (2007)
	Días de almacenamiento Variedad	Monocromador	Reflectancia	400-2498	83 % clasificación correcta 95 % clasificación correcta	Camps et al., (2007)
	SST	FT-NIR	Interactancia	812-2357	ETP = 0,77 °Brix; $r^2 = 0,84$	Liu et al., (2007b)
	Contenido de agua Firmeza SST	Red de diodos	Reflectancia	600-1100	ETVC = 0,92 %; $r^2 = 0,92$ ETVC = 7,54 N/cm ² ; $r^2 = 0,79$ ETVC = 0,85 °Brix; $r^2 = 0,88$	Qing y Zude (2007)
	Daños internos	Red de diodos	Reflectancia	400-1700	95 % clasificación correcta	Xing y Baerdemaeker (2007)
	SST	Monocromador	Interactancia	680-1235	ETP = 0,5 °Brix	Kawano et al., (1992)
Melocotón	SST	---	---	---	ETP = 0,49 %; $r^2 = 0,69$	Lee et al., (2001)
	SST	Monocromador	Interactancia	680-1235	ETP = 0,44; $r^2 = 0,92$	Kawano et al., (1995)
	Acidez SST	FT-NIR	Interactancia	800-2500	ETP = 0,13 %; $r^2 = 0,90$ ETP = 0,53 °Brix; $r^2 = 0,92$	Ying et al., (2005)

Tabla 7. Aplicaciones de la tecnología NIRS en frutas y hortalizas (continuación)

Producto	Parámetro	Instrumento	Tipo de medida	Rango (nm)	Estadísticos	Referencia, año
Melocotón	Firmeza	FT-NIR	Reflectancia	800-2500	ETP = 5,42 N; $r^2 = 0,90$	Fu et al., (2008)
Melón	SST fruto intacto	Monocromador	Transmitancia	800-1000	ETP = 2,18 %; $r^2 = 0,36$	Dull et al., (1989)
	SST rodajas				ETP = 1,56 %; $r^2 = 0,94$	
	SST	---	---	---	ETC = 1,67 °Brix; $R^2 = 0,87$	Dull y Birth (1989)
	SST	--	Transmitancia	---	ETC = 1,5 °Brix; $R^2 = 0,72$	Dull et al. (1990)
	SST	Monocromador	Reflectancia	400-2500	ETC = 0,89 °Brix; $R^2 = 0,81$	Guthrie et al., (1998)
	SST	Red de diodos	Reflectancia	700-1050	ETVC = 1,18 %; $r^2 = 0,64$	Walsh et al., (2000)
	SST	Monocromador	Reflectancia	400-2500	ETVC = 0,84 %; $r^2 = 0,71$	
	SST	Red de diodos	Reflectancia	400-1700	ETVC = 1,07 %; $r^2 = 0,97$	Greensill et al., (2001)
	SST	Red de diodos	Interactancia	630-1030	ETP = 0,70-1,3 °Brix	
	SST	Red de diodos	Interactancia	306-1130	ETP = 1 °Brix	
	SST	Red de diodos	Interactancia	300-1150	ETP = 0,4 °Brix	Long y Walsh (2006)

Tabla 7. Aplicaciones de la tecnología NIRS en frutas y hortalizas (continuación)

Producto	Parámetro	Instrumento	Tipo de medida	Rango (nm)	Estadísticos	Referencia, año	
Naranja	pH	---	---	325-1075	ETP = 0,06; $r^2 = 0,92$	Cen et al., (2006)	
	SST	---	---	325-1075	ETP = 0,68 °Brix; $r^2 = 0,96$		
	Acidez	Monocromador	Reflectancia	580-1850	ETP = 0,33 %; $r^2 = 0,53$	Cayuela (2007)	
	pH	---	---	580-1850	ETP = 0,49; $r^2 = 0,41$		
	SST	---	---	580-1850	ETP = 0,51 °Brix; $r^2 = 0,86$		
Nectarina	Ácido cítrico	Red de diodos	Reflectancia	325-1075	ETP = 0,60 %; $r^2 = 0,88$	Cen et al., (2007)	
	Ácido tartárico	---	---	325-1075	ETP = 0,013 %; $r^2 = 0,86$		
	Clorofila	Monocromador	Interactancia	400-1100	$r^2 = 0,94$	Slaughter (1995)	
	Sacarosa	---	---	400-1100	$r^2 = 0,76$		
	Sorbitol	---	---	400-1100	$r^2 = 0,77$		
	SST	---	---	400-1100	$r^2 = 0,85$		
	Nectarina	Acidez	Monocromador	Reflectancia	650-1200	ETC = 0,75 g/l; $R^2 = 0,71$	Costa et al., (2002)
		SST	---	---	650-1200	ETC = 0,61 °Brix; $R^2 = 0,90$	
	Nectarina	SST	Red de diodos	Interactancia	300-1100	ETVC = 0,3 %; $r^2 = 0,81$	Walsh et al., (2004)
		SST	---	---	300-1100	ETVC = 0,3 %; $r^2 = 0,81$	Walsh et al., (2004)
Nectarina	Acidez total	Red de diodos	---	650-1200	ETP = 1,27 g/L ácido málico; $r^2 = 0,80$	Costa et al., (2006)	
	Ácido cítrico	---	---	650-1200	ETP = 1,11 mg/g; $r^2 = 0,81$		
	Ácido málico	---	---	650-1200	ETP = 1,40 mg/g; $r^2 = 0,82$		
	Ácido quínico	---	---	650-1200	ETP = 0,36 mg/g; $r^2 = 0,76$		
	Firmeza	---	---	650-1200	ETP = 1,73 kg/cm ² ; $r^2 = 0,62$		

Tabla 7. Aplicaciones de la tecnología NIRS en frutas y hortalizas (continuación)

Producto	Parámetro	Instrumento	Tipo de medida	Rango (nm)	Estadísticos	Referencia, año
Nectarina	Fructuosa	---	---	---	ETP = 1,40 mg/g; $r^2 = 0,85$	Costa et al., (2006)
	Glucosa				ETP = 2,80 mg/g; $r^2 = 0,89$	
	Sacarosa				ETP = 10,00 mg/g; $r^2 = 0,91$	
	SST				ETP = 1,00 °Brix; $r^2 = 0,80$	
	SST	Red de diodos	Interactancia	735-932	ETP = 0,47 °Brix; $r^2 = 0,92$	Golic y Walsh (2006)
	Firmeza	Red de diodos	Interactancia	598-1100	ETC = 0,42 kg/cm ² ; $R^2 = 0,66$	Peano et al., (2006)
	SST	Red de diodos	Interactancia	600-1100	ETC = 0,47 °Brix; $R^2 = 0,86$	
	SST	Red de diodos	Interactancia	600-1100	ETP = 0,6 °Brix; Bias = 0,01°Brix	Reita et al., (2008)
Papaya	SST	Monocromador	Interactacia	400-2500	ETC = 1,1 °Brix; ETP = 1,1 °Brix; $r^2 = 0,84$	Slaughter et al., (1999)
Pepino	Color	Red de diodos	Interactancia	800-1650	ETP = 5,04; $r^2 = 0,49$	Kavdir et al., (2007)
	Croma carne				ETP = 0,02; $r^2 = 0,51$	
	Matiz carne				ETP = 5,14; $r^2 = 0,48$	
	Croma piel				ETP = 0,04; $r^2 = 0,40$	
	Matiz piel				ETP = 4,40 N; $r^2 = 0,55$	
	Firmeza				ETP = 0,35 %; $r^2 = 0,50$	
	Materia seca					

Tabla 7. Aplicaciones de la tecnología NIRS en frutas y hortalizas (continuación)

Producto	Parámetro	Instrumento	Tipo de medida	Rango (nm)	Estadísticos	Referencia, año
Pera	Daño interno: Corazón marrón	Monocromador	Transmitancia	651-1282	95,4 % clasificación correcta	Han et al., (2006)
	Firmeza SST	---	Reflectancia	800-2500	ETC = 2,29 N; ETP = 2,95 N; $r^2 = 0,85$ ETC = 0,35 °Brix; ETP = 0,50 °Brix; $r^2 = 0,86$	Fu et al., (2006)
	Daños internos: Corazón marrón	FT-NIR	Transmitancia	400-1028	91,2 % clasificación correcta	Fu et al., (2007a)
	Variedad	FT-NIR	Reflectancia	800-2500	100 % clasificación correcta	Fu et al., (2007b)
	Firmeza SST	Red de diodos	Reflectancia	350-1800	ETP = 1,38 N; $r^2 = 0,66$ ETP = 0,68 °Brix; $r^2 = 0,85$	Liu et al., (2007a)
	<i>Constituyentes de las pectinas:</i> Sólidos insolubles en alcohol	Monocromador	Interactancia	1100-2500	ETP = 0,62%; $r^2 = 0,86$	Sirisomboom et al., (2007)
	Contenido de pectinas solubles en oxalato				ETP = 8,48 $\mu\text{g}/\text{mg}$ AIS; $r^2 = 0,90$	
	SST	Monocromador	Reflectancia	923-1627	ETVC = 0,62 °Brix; $r^2 = 0,86$	Tsai et al., (2007)
	Firmeza SST	Red de diodos	Reflectancia	350-1800	ETP = 1,23 N; $r^2 = 0,72$ ETP = 0,66 °Brix; $r^2 = 0,83$	Liu et al., (2008)

Tabla 7. Aplicaciones de la tecnología NIRS en frutas y hortalizas (continuación)

Producto	Parámetro	Instrumento	Tipo de medida	Rango (nm)	Estadísticos	Referencia, año
Pera	SST	Red de diodos	Reflectancia	780-1700	ETP = 0,4 °Brix	Nicolai et al., (2008)
	Acidez titulable pH SST	FT-NIR	Interactancia	800-2500	ETP = 0,02 % ETP = 0,01 ETP = 0,51 °Brix	Ying y Liu (2008)
Pimiento	Aflatoxina Ocratoxina	Monocromador	Reflectancia	1100-2000	ETVC = 0,2; $r^2 = 0,96$ ETVC = 3,0; $r^2 = 0,85$	Hernández-Hierro et al., (2008)
Piña	SST	Monocromador	Reflectancia	400-2500	ETVC = 1,09 °Brix; $r^2 = 0,91$	Guthrie y Walsh (1997)
Piña	SST	Monocromador	Reflectancia	400-2500	ETC = 1,27 %; $R^2 = 0,85$	Guthrie et al., (1998)
Plátano	Fructosa Glucosa Sacarosa	Monocromador	Reflectancia	1100-2500	ETP = 0,16; $r^2 = 0,83$ ETP = 0,21; $r^2 = 0,93$ ETP = 0,78; $r^2 = 0,93$	Tarkosova y Copikova (2000)
Sandía	SST	Red de diodos	Transmitancia	700-1100	ETP = 0,42 °Brix; $r^2 = 0,81$	Abebe (2006)
Sandía	SST	Monocromador	Transmitancia	350-1000	ETC = 0,34 °Brix; ETP = 0,48 °Brix; $r^2 = 0,90$	Tian et al., (2007a)
	Firmeza	---	Transmitancia	350-1000	ETP = 0,59 N; $r^2 = 0,94$	Tian et al., (2007b)

Tabla 7. Aplicaciones de la tecnología NIRS en frutas y hortalizas (continuación)

Producto	Parámetro	Instrumento	Tipo de medida	Rango (nm)	Estadísticos	Referencia, año
Tomate	SST	Monocromador	Interactancia	400-1100	ETC = 0,27 ° Brix; R ² = 0,85; ETP = 0,33 ° Brix; r ² = 0,79	Slaughter et al., (1996)
	Acidez Color a/b SST	Monocromador	Reflectancia	400-2500	ETP = 0,09 %; r ² = 0,99 ETP = 0,34; r ² = 0,97 ETP = 0,06 °Brix; r ² = 0,96	Hong y Tsou (1998)
(zumos)	Acidez Humedad Proteína Sal SST	Filtros	Reflectancia		ETP = 0,20; r ² = 0,95 ETP = 1,07; r ² = 0,99 ETP = 1,04; r ² = 0,98 ETP = 0,12; r ² = 0,96 ETP = 0,59; r ² = 0,98	Goula y Adamopoulos (2003)
	Presencia/ausencia de <i>Rhizopus stolonifer</i>	Red de diodos	Reflectancia	500-1000	78% de presencia 81% de ausencia	Hahn et al., (2004)
(zumos)	Ratio Acidez total-SST	Red de diodos	Transmitancia	703-1124	ETP = 0,009; r ² = 0,85	Jha y Matsouka (2004)
	Materia seca	Red de diodos	Interactancia	305-1100	ETP = 0,36 %; r ² = 0,96	Khuriyati et al., (2004)
Tomate	SST	Red de diodos	Transmitancia	---	ETP = 0,73 %; r ² = 0,83	Khuriyati y Matsouka (2004)
	Firmeza (fuerza de compresión; fuerza de penetración) pH SST	Red de diodos	Reflectancia	350-2500	ETP = 16,02 N; r ² = 0,66 ETP = 1,18 N; r ² = 0,69 ETP = 0,09; r ² = 0,69 ETP = 0,19 °Brix; r ² = 0,81	Hu et al., (2005)
	Materia seca	FT-NIR	Reflectancia	800-2500	ETC = 0,73 %; ETP = 1,91 %; r ² = 0,92	Jiang et al., (2005)

Tabla 7. Aplicaciones de la tecnología NIRS en frutas y hortalizas (continuación)

Producto	Parámetro	Instrumento	Tipo de medida	Rango (nm)	Estadísticos	Referencia, año
Tomate	Concentración de "dichlofluamid"	Monocromador	Reflectancia	1800-2500	ETC = 4,84; ETP = 6,58; $r^2 = 0,96$	Sarawong y Kawano (2005)
	Fuerza de compresión	Red de diodos	Reflectancia	350-2500	ETP = 1,18 N; $r^2 = 0,77$	Shao et al., (2007)
	Fuerza de penetración				ETP = 0,79 N; $r^2 = 0,85$	
	SST				ETP = 0,19 °Brix; $r^2 = 0,81$	
	Identificación de tomates transgénicos	FT-NIR	Reflectancia	670-1100	100% de muestras correctamente clasificadas	Xie et al., (2007a)
	pH	FT-NIR	Transmitancia	800-2400	ETP = 0,03 y ETVC = 0,05; $r^2 = 0,81$	Xie et al., (2007b)
	SST				ETP = 0,15 °Brix; ETVC = 0,14 °Brix; $r^2 = 0,85$	
	a	Monocromador	Reflectancia	400-1500	ETVC = 1,13; $r^2 = 0,98$	Clément et al., (2008)
	b				ETVC = 2,13; $r^2 = 0,92$	
	Firmeza				ETVC = 6,44 N; $r^2 = 0,75$	
	L				ETVC = 1,46; $r^2 = 0,92$	
	Licopeno				ETVC = 3,15 mg/kg; $r^2 = 0,98$	

Tabla 7. Aplicaciones de la tecnología NIRS en frutas y hortalizas (continuación)

Producto	Parámetro	Instrumento	Tipo de medida	Rango (nm)	Estadísticos	Referencia, año
Uva	SST	Red de diodos	Transmitancia/ Interactancia	650-1100	ETP = 1,06 °Brix; $r^2 = 0,94$	Herrera et al., (2003)
	Color pH	Red de diodos	Reflectancia	400-1100	ETVC = 0,14 mg/g; $r^2 = 0,50$ ETVC = 0,08; $r^2 = 0,60$	Cozzolino et al., (2004)
	Discriminación entre variedades	Monocromador	Reflectancia	500-800	97,2% de la variedad "Viura" 79,2% de la variedad "Chardonnay"	Arana et al., (2005)
	Concentración de antocianinas	Red de diodos	Interactancia	640-1300	ETP = 0,3 mg/g; $r^2 = 0,68$	Larrain et al., (2008)
	pH SST				ETP = 0,14; $r^2 = 0,79$ ETP = 1,1 °Brix; $r^2 = 0,93$	
Zanahoria	Carotenoides Fructosa Glucosa Sacarosa	Monocromador	Reflectancia	1108-2490	ETVC = 1,54; $r^2 = 0,80$ ETVC = 1,01; $r^2 = 0,55$ ETVC = 1,13; $r^2 = 0,44$ ETVC = 0,74; $r^2 = 0,76$	Schulz et al., (1998)
	Discriminación entre variedades	Red de diodos	Reflectancia	700-1100	Variedad 1 (92,8%) Variedad 2 (64,3%) Variedad 3 (70,3%)	Abu-Khalaf et al., (2004)
	Discriminación entre tipo de cultivo				Cultivo convencional (87,2%) Cultivo ecológico (83,7%)	

Aunque inicialmente en la mayoría de estudios se utilizaron instrumentos monocromadores, en los últimos años se ha llevado a cabo la incorporación de instrumentos de nueva generación como los equipos de red de diodos y FT-NIR. La incorporación de sondas de fibra óptica a los instrumentos NIRS ha posibilitado la aplicación de dicha tecnología a productos intactos. En los últimos años ha habido un gran interés por el desarrollo de instrumentos portátiles, normalmente de red de diodos, para su incorporación a determinaciones “on line” de atributos de calidad.

La Tabla 7 también pone de manifiesto que la reflectancia ha sido el modo de análisis más utilizado, reemplazando a la transmitancia, que fue la más utilizada la cual fue utilizada en los primeros ensayos. Además, un importante número de ensayos utiliza a la posteriormente introducida interactancia, ya que se considera muy adecuada para muestras biológicas ópticamente densas de forma y tamaño irregular como las frutas y hortalizas intactas (Slaughter et al., 1996).

Dada la amplia diversidad de productos hortofrutícolas para los que se han desarrollado aplicaciones NIRS, a continuación se expondrá con más detalle las aplicaciones y evolución de la citada tecnología en los productos que han sido objeto de estudio en esta Tesis Doctoral, es decir en melón, sandía, tomate, espárrago y pimiento.

Todas las aplicaciones NIRS desarrolladas para melón han tenido como único objetivo la determinación del contenido en sólidos solubles totales presentes en la citada fruta. Es importante destacar la evolución instrumental acaecida en el desarrollo de estas aplicaciones, ya que en los primeros trabajos se emplearon instrumentos monocromadores en modo transmitancia que posteriormente fueron reemplazados por monocromadores en modo reflectancia y equipos de red de diodos en modos reflectancia e interactancia. Así mismo, conviene señalar que generalmente se observa en los trabajos, que se han ensayado distintas ventanas espectrales al objeto de establecer el rango espectral óptimo para la determinación de dicho parámetro.

En 1989, Dull et al., aplicaron la tecnología NIRS en melones Cantaloupe seleccionando dos formas de presentación de muestra al instrumento, productos intacto y cortado, al objeto de determinar la influencia ejercida por la cáscara en la penetración

de la luz en la fruta y por tanto, en la precisión y exactitud de los modelos de predicción desarrollados. Posteriormente, dichos autores en 1989 y 1990, realizaron ensayos con melones Honeydew dirigidos a analizar la influencia del ángulo de radiación de la luz sobre la muestra en el desarrollo de modelos de predicción de SST en productos de cáscara dura.

La comparación entre instrumentos y regiones espectrales fue realizada por Walsh et al., (2000) con el objetivo de encontrar aquellas zonas del espectro NIRS que mejor podrían ser correlacionadas con el contenido en SST presentes en esta fruta, mientras que Greensill et al., (2001) tratan de establecer para un mismo tipo de instrumento (red de diodos) el modo más idóneo de trabajo (reflectancia o interactancia) y la ventana espectral óptima.

Por último, señalar que las determinaciones más recientes del citado parámetro en melón han sido realizadas exclusivamente en producto intacto y utilizando instrumentos de red de diodos con rangos espectrales reducidos (350-1100 nm) en modo interactancia (Long y Walsh, 2006).

En el caso de la sandía, todos los estudios realizados (SST y firmeza) se han llevado a cabo empleando instrumentos NIRS monocromadores y de red de diodos, que trabajan en modo transmitancia, al objeto de conseguir una mayor penetración de la luz, ya que la cáscara de las sandías es más gruesa (5-15 mm) que la cáscara de los melones (2-5 mm). En ambos casos son instrumentos que no sobrepasan los 1100 nm en cuanto al rango espectral de trabajo.

Así, Abebe (2006) realiza la determinación del contenido en SST de sandías con grosor de cáscara entre 9,5-15 mm con resultados que se pueden considerar como satisfactorios, mientras que Tian et al., (2007a) determinan dicho parámetro en 2 variedades de sandía que presentaban grosores de cascara muy diferentes (5-10 mm; 3-7 mm, respectivamente), indicando la influencia que el grosor de la cáscara presenta sobre la exactitud y precisión de los modelos desarrollados.

Posteriormente, Tian et al., (2007b) afirman que la tecnología NIRS puede ser empleada para la determinación de firmeza de forma no destructiva en productos de cáscara dura como la sandía, obteniendo resultados satisfactorios (ETP = 0,59 N; $r^2 = 0,94$).

Para el tomate, la tecnología NIRS ha sido aplicada en la determinación de atributos de calidad interna, SST y acidez representada tanto por la acidez titulable como por el pH, principales parámetros responsables del sabor y directamente relacionados con la calidad a percibir por los consumidores (Hobson y Bedford, 1989).

Los primeros ensayos realizados en tomate con NIR emplearon instrumentos monocromadores, para posteriormente ir incorporando instrumentos de red de diodos y FT-NIR, siendo muy diversas las ventanas espectrales seleccionadas.

Slaughter et al., (1996) empleando un instrumento monocromador en modo interactancia y Hong y Tsou (1998) utilizando el mismo tipo de instrumento pero en modo reflectancia, encontraron altas correlaciones entre los componentes responsables del sabor en tomate (SST y acidez titulable) y la señal espectral. Es importante señalar que los modelos de predicción llevados a cabo por Hong y Tsou (1998) fueron desarrollados con un reducido número de muestras ($n = 40$) que fueron seleccionadas de las 200 muestras que constituían el colectivo inicial, indicando los autores que la elección de muestras representativas de la variabilidad existente en el colectivo inicial podría favorecer la construcción de modelos de predicción más robustos.

Estudios posteriores de estos parámetros (Khuriyati y Matsuoka, 2004; Hu et al., 2005; Shao et al., 2007; Xie et al., 2007b) han sido llevados a cabo empleando instrumentos de red de diodos o FT-NIR, obteniendo resultados ligeramente inferiores para estos dos parámetros.

En el año 2005, Hu et al., llevaron a cabo por primera vez mediante NIRS la determinación del parámetro firmeza en tomate, a través de las medidas de la fuerza de compresión y de la fuerza de penetración. Tras el análisis de los resultados obtenidos, los autores indican que NIRS puede ser considerada como una técnica prometedora para

la determinación de atributos físicos en productos hortofrutícolas. Esta afirmación fue posteriormente corroborada por Shao et al., (2007) y Clément et al., (2008) en función de la precisión y exactitud de los modelos desarrollados.

La decisión de compra de los productos hortofrutícolas por parte de los consumidores se suele basar inicialmente en la apariencia y el color externo, y el tomate no es una excepción. De hecho, la literatura científica indica el desarrollo de sistemas ópticos en la zona del visible del espectro electromagnético con el fin de relacionar dichas medidas espectrales con algunas características del producto asociadas con los dos atributos anteriormente citados (Birth et al., 1957; Bittner y Stephenson, 1968; O'Brien y Sarkar, 1974; Worthington et al., 1976; Nattuvetty y Chen, 1980). Sin embargo, recientes publicaciones científicas denotan la importancia del color interno como un atributo de calidad de los productos vegetales. Es por ello que Hong y Tsou (1998) y Clément et al., (2008) emplean la tecnología NIRS, para la predicción del color interno del tomate a través de los parámetros de color, L, a y b, obteniendo modelos de predicción de alta exactitud.

Los últimos modelos desarrollados para determinaciones cuantitativas de parámetros de calidad en tomate mediante NIRS han sido realizados para la medida del contenido en sustancias antioxidantes como es el caso del licopeno (Clément et al., 2008). El éxito de estos modelos indica que NIRS puede ser empleada por la industria hortofrutícola para el establecimiento de forma no destructiva de calidades nutricionales de frutas y hortalizas.

Así mismo, la tecnología NIRS ha sido empleada por diversos autores como herramienta de clasificación, discriminación o autenticación en tomates.

Hahn et al., (2004) construyen modelos NIRS para identificar la presencia de *Rhizopus stolonifer*, microorganismo responsable de pudriciones internas en tomate mientras que Xie et al., (2007a) desarrollan modelos para identificar tomates transgénicos. Si bien los autores emplearon distintos tipos de instrumentos, ambos ensayos se realizaron utilizando el modo reflectancia con rangos espectrales de 500-1100 nm y de 670-1100 nm, respectivamente. Los excelentes resultados de ambos

estudios confirman la capacidad de NIRS para el desarrollo de modelos de clasificación que permitan determinar calidad interna y variabilidad genética de los productos hortofrutícolas.

Igualmente, Saranwong y Kawano en 2005 muestran en un ensayo de laboratorio las posibilidades de la tecnología NIRS para la determinación de la presencia/ausencia de trazas de pesticidas en la superficie del tomate, abriendo expectativas sobre el uso de esta tecnología para ser incorporada en la industria hortofrutícola como herramienta destinada a garantizar la seguridad alimentaria.

En el caso del espárrago, la textura ha sido el parámetro más estudiado empleando la tecnología NIRS, debido a su importancia y relación con la aceptación o rechazo del producto por parte de los consumidores. Diversas publicaciones científicas (Barton II y Himmelsbach, 1992; Davies 1998) apoyan el uso de la tecnología NIRS para la determinación de características físicas (dureza, firmeza, tamaño de las partículas) que pueden ser utilizadas a la hora de definir la textura de un producto.

Las primeras aplicaciones de la tecnología NIRS en espárrago datan del año 2001. En dicho año, Pérez-Marín et al., (2001), utilizan la tecnología NIRS como herramienta de autenticación de variedades, construyendo para ello modelos de discriminación de diversas variedades de espárragos verdes con excelentes resultados; mientras que Garrido-Varo et al., (2001), utilizan la tecnología NIRS para predecir el contenido en fibra ácido detergente (ADF) y fibra neutro detergente (NDF) en espárragos verdes demostrando que dicha la tecnología puede ser utilizada para predecir con precisión la fibrosidad de espárragos verdes. En ambos estudios las muestras son presentadas a los instrumentos en formas desecada y molida.

Posteriormente, Pérez-Marín et al., (2002) emplean la tecnología NIRS para la determinación de parámetros texturales (fuerza máxima de corte, energía de corte y dureza) en espárragos verde desecados y molidos, obteniendo calibraciones de una capacidad predictiva adecuada.

En 2006, Jarén et al., emplean de nuevo con éxito la tecnología NIRS para el desarrollo de modelos de clasificación, basados esta vez en la zona del turión a analizar y en la época de recolección seleccionada. En este caso los modelos de clasificación son desarrollados para espárragos blancos intactos.

Es importante destacar que todos los modelos NIRS desarrollados para espárrago, tanto los cuantitativos como los de clasificación, se han llevado a cabo empleando instrumentos monocromadores en modo reflectancia, si bien las ventanas espectrales seleccionadas han sido distintas (800-1700 nm para el espárrago blanco intacto, y 400-2500 nm para el espárrago verde desecado y molido).

En relación con la aplicación de la tecnología NIRS para la determinación de parámetros de calidad en pimiento, la literatura científica recoge un único trabajo de investigación realizado por Hernández-Hierro et al., (2008) quienes determinan con éxito los contenidos en aflatoxina y ocratoxina de pimiento paprika utilizando un instrumento monocromador dotado con una sonda de fibra óptica, trabajando en modo reflectancia y realizando la presentación de la muestra al instrumento en forma intacta.

La revisión bibliografía realizada pone de manifiesto que la industria hortofrutícola demanda disponer de metodologías y tecnologías de control analítico no destructivo de los distintos parámetros determinantes de la calidad, tanto externa como interna, de los productos vegetales de cara a garantizar la calidad y seguridad de sus productos.

Las características contractuales de la tecnología NIRS hace que sea una técnica muy apropiada para satisfacer dicha demanda. Aunque existen trabajos previos en el análisis hortofrutícola queda claro que es necesario estudiar y profundizar para cada aplicación concreta qué solución NIRS sera la más apropiada teniendo en cuenta los avances acaecidos en la instrumentación y software, de cara al establecimiento de aplicaciones robustas a nivel de laboratorio, campo y proceso.

Por lo que se plantea este trabajo de Tesis Doctoral con los objetivos que se recogen a continuación.

Capítulo 2

Capítulo 2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GENERAL

El objetivo general de este Trabajo de Investigación es evaluar el potencial de la Espectroscopía de Reflectancia en el Infrarrojo Cercano (NIRS) para su implementación en el control y aseguramiento de la calidad de productos y procesos en las industrias de manipulación y transformación de frutas y hortalizas.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Los objetivos específicos de este Trabajo de Investigación son los siguientes:

1. Desarrollo y evaluación de modelos de predicción NIRS para la determinación de parámetros de calidad interna en frutas de cáscara dura analizadas en forma intacta y cortada.
2. Desarrollo y evaluación de modelos de predicción NIRS para la determinación de parámetros de calidad interna determinantes del sabor en hortalizas analizadas en forma intacta.
3. Desarrollo y evaluación de modelos de predicción NIRS para la determinación de textura en hortalizas analizadas en forma intacta.
4. Desarrollo y evaluación de estrategias para la estima de la vida útil posrecolección de hortalizas analizadas intactas, utilizando información espectral NIRS.
5. Desarrollo y evaluación de estrategias para la clasificación de hortalizas en función de la presencia/ausencia de residuos de pesticidas, utilizando información espectral NIRS.
6. Evaluación y contraste de instrumentos NIRS y de métodos de presentación de muestra para su adaptación al control de calidad en industria hortofrutícola.

Capítulo 3

Capítulo 3. LA TECNOLOGÍA NIRS PARA PREDICCIÓN DE PARÁMETROS DE CALIDAD INTERNA EN FRUTAS DE CÁSCARA DURA Y EN HORTALIZAS

3.1. LA TECNOLOGÍA NIRS PARA LA PREDICCIÓN DE PARÁMETROS DE CALIDAD INTERNA EN FRUTAS DE CÁSCARA DURA

3.1.1. Prediction of total soluble solid content in intact and cut melons and watermelons using near infrared spectroscopy



Prediction of total soluble solid content in intact and cut melons and watermelons using near infrared spectroscopy

K. Flores,^a M.T. Sánchez,^{a,*} D.C. Pérez-Marín,^{b,*} M.D. López,^c J.E. Guerrero^b and A. Garrido-Varo^b

^aDepartment of Bromatology and Food Technology. University of Cordoba, Spain. E-mail: bt1sapim@uco.es

^bDepartment of Animal Production. University of Cordoba, Spain. E-mail: pa2pemad@uco.es

^cInnovation and Research Center. COEXPHAL. Almeria, Spain

There is currently a growing tendency for fruit to be classified and marketed in accordance with quality criteria. One parameter used to evaluate quality in melons and watermelons is total soluble solid content, measured by invasive analytical methods which are incompatible with current quality-assurance requirements for individual pieces of fruit. Use of near infrared (NIR) reflectance spectroscopy as a non-destructive technique for measuring total soluble solid content could therefore be of considerable interest to the fruit and vegetable sector. The present study assesses the use of a NIR diode array spectrometer for estimating total soluble solid content (°Brix) in intact and cut melons and watermelons. NIR calibration models were developed using two sets for each fruit, a 2006 set ($N=158$) and a 2007 set ($N=415$) for melon samples and a 2006 set ($N=77$) and 2007 set ($N=183$) for watermelon samples, grown in El Ejido (Almeria, Spain). The predictive ability of the calibrations developed were greater for cut fruit ($SECV=0.60^{\circ}\text{Brix}$, $r^2=0.88$, $RPD=2.94$ in melons and $SECV=0.49^{\circ}\text{Brix}$, $r^2=0.85$, $RPD=2.50$ in watermelons) than for intact fruit ($SECV=0.98^{\circ}\text{Brix}$, $r^2=0.76$; $RPD=2.05$ in melons and $SECV=0.93^{\circ}\text{Brix}$, $r^2=0.65$, $RPD=1.69$ in watermelons). This study demonstrates the value of NIR spectroscopy for grading cut melons and watermelons, intact melons and possibly intact watermelon fruits into categories of high, medium and low levels of sweetness.

Keywords: NIR, spectroscopy, melon, watermelon, quality, non-destructive test, soluble solid content

Introduction

Fruit quality has traditionally been assessed by visual inspection of external appearance and by destructive methods to measure certain internal quality indices (including sugars, acidity and defects).¹ Due to the destructive nature of the methods used, only a certain number of items per batch can be analysed, even though fruits and vegetables are known to be highly variable, and the quality of individual pieces may differ greatly from the average.² This is particularly true of fruits such as melon and watermelon, whose external appearance—unlike that of other fruits and vegetables³—is not a useful indicator of internal quality and whose considerable size also implies higher costs.

A major determinant of internal quality in melons and watermelons is their sweetness, since this is the parameter most affecting consumer acceptance or rejection and thus influencing the market value of the fruit.⁴ Sugar content in melons and water melons is estimated by measuring soluble solid content (SSC); the SSC of melon pulp, for example, is about 80% soluble sugar.⁵

For technological and economic reasons, therefore, this fruit sector clearly requires non-invasive analytical methods to facilitate quality control of every piece of fruit, both before harvest and at the packing site, in terms not only of external

appearance but also of internal quality attributes such as SSC. Near infrared (NIR) reflectance spectroscopy is currently one of the approaches best suited to these industrial requirements, since it combines fast, accurate measurement with considerable versatility and low cost.⁶ Use of NIR spectroscopy for quality control and assurance purposes within the fruit sector offers certain advantages: increased volume of fruit analysed, large-scale individual analysis and real-time decision making.⁷

A number of studies have focussed on the potential of NIR technology for assessing SSC in melon,^{6,8-14} although relatively few papers deal with the application of NIR spectroscopy to watermelon analysis.³ Moreover, most studies have been performed using the transmittance mode and, in most cases, using contact-based analytical devices. This is the approach traditionally recommended, since it ensures light penetration into the fruit, particularly when analysing thick-rind fruits such as melon and watermelon.¹⁵ However, the instruments used for this purpose combine intense illumination with long integration times, leading to potential heat damage,¹⁴ thus rendering the NIR technique invasive. This drawback could be avoided by using the reflectance mode, which would give a light penetration into the fruit of around 4–20 mm,^{16,17} which might be sufficient for estimating soluble solid content. Moreover, instruments working in reflectance mode can be incorporated into the production line at lower cost, with no loss in predictive ability or in working speed.^{10,14}

Commercial instrumentation for on-line analysis of melons is still lacking scientific information concerning a theoretical basis for understanding interaction mechanisms between the irradiated energy and the sample (i.e. depth of penetration, scattering etc.). At the same time, there is a lack of information relating to the reflection from melons of irradiation with incident wavelengths higher than 1100 nm. The availability of low cost and portable commercial instrumentation covering the visible+NIR range is evolving rapidly¹⁵ and so scientific information concerning the full visible+NIR range is needed. While these instruments offering an extended visible+NIR range of wavelengths have become cheaper and may be used on-line, scientific information about calibration results using a large number of samples and adequate data pre-processing are still lacking. It is clear that to obtain a sufficiently robust prediction model, the calibration dataset should be sufficiently rich in variation and contain samples from multiple orchards and seasons. Model robustness is the single most important concern in NIR spectroscopy of horticultural produce.¹⁸

The research described here studied the feasibility of using visible+NIR reflectance spectroscopy to determine intact melon and watermelon internal quality and charted the relationship between non-destructive NIR measurements and total soluble solid content. As part of the data analysis, a comparison was made between two different fruit presentations: intact and cut, simulating with the last one the application of NIR technology to the analysis of fresh-cut or minimally-processed products, which are very important for the fruit markets at the present time.

Materials and methods

Fruit

A total of 455 melons— $N_{2006}=80$ and $N_{2007}=153$ Cantaloupe (*Cucumis melo* L. var. *reticulatus* Naud. Vulcano cultivar) and $N_{2006}=78$ and $N_{2007}=146$ Galia (*Cucumis melo* L. var. *reticulatus* Naud. Siglo, Deneb, Esmeralda and Solarking cultivars)—and 231 watermelons (*Citrullus lanatus* Thunb.)— $N_{2006}=28$ Crimson Sweet and $N_{2006}=49$ and $N_{2007}=154$ Fashion cultivars—were harvested in July 2006 and 2007 in glasshouses belonging to the Provincial Fruit and Vegetable Harvesters' and Exporters' Association in Almeria, Spain.

On arrival at the laboratory, fruit was promptly placed in cold storage; melons at 5°C and 95% relative humidity and watermelons at 10°C and 90% relative humidity (one day of storage). Prior to each measurement, fruit samples were left at room temperature to allow the near-surface temperature to rise and to stabilise at the laboratory temperature of 20°C.

Reference data

Soluble solid content (SSC, in °Brix) was determined using a traditional destructive test. Soluble solid concentrations were determined on melon and watermelon juice squeezed and tested with an Abbé-type refractometer (Zeiss, Oberkochen, Würt, Germany, model B). Each sample was analysed in duplicate. All measurements for °Brix were performed immediately after visible+NIR measurements.

NIR analysis

Melons and watermelons were scanned using a diode array spectrometer (Pertec DA-7000, Flexi-Mode, Pertec Instruments North America, Inc., Springfield IL, USA), which covers the visible and NIR range from 400 nm to 1700 nm (taking data every 5 nm). The main technical specifications of the instrument are reported in Table 1.

The instrument was used in the standard upright position and both cut and intact fruits were scanned. Samples were irradiated from below by the light source (Figure 1). The distance of measurement between the sample and the instrument was 120 mm, with a large surface viewing area (a circular area with a diameter of 127 mm). The horizontal distance between the light source and the detectors was 80 mm.

For scanning intact fruit, the item was placed centrally upon the fruit holder, with the stem–stylar axis horizontal. Three separate spectral measurements were made on each intact fruit, after a 120° sample rotation each time. The three spectra were averaged to provide a mean spectrum for each intact fruit.

For cut melon analysis, slices 2 mm thick were cut from the equatorial region, discarding both stylar and stem ends. These slices were then piled up until they filled a glass Petri dish. For watermelon, a slice roughly 6 mm thick cut from the equatorial region was placed on a glass Petri dish and analysed in the same way as the melon samples. In both cases, care was taken to exclude seeds, excess water and air bubbles. Three separate spectral measurements were made on each cut fruit,

Table 1. Basic technical characteristics of the diode array spectrophotometer (Perten DA-7000 VIS+NIR).

Properties	Diode Array Instrument
Detector type	Silicon and InGaAs arrays each consist of 76 elements
Wavelength range (nm)	Dual array: 400–1700 nm
Dispersion element	One stationary reflective holographic grating
Spectral resolution (average)	Silicon array 7.5 nm; InGaAs array 10 nm
Output resolution	5 nm by interpolation
Photometric noise	<30 micro-absorbance units
Spectral data rate	600 scans per second
Reference	Internal: continuous dual-beam correction; External: Spectralon for base line
Chopper modulation frequency	30 reference/sample cycles per second
Operating environment	Temperature 10–35°C; Humidity 35–80% non-condensing; Max. altitude 2500 m
Dispersion	Post
Light source	Full spectrum. Tungsten–halogen bulb
Analysis mode	Reflectance

after a 120° sample rotation each time. The three spectra were averaged to provide a mean spectrum for each cut fruit.

Calibration and validation sets

In the year 2006, NIR-based prediction models for melon were generated using three different calibration sets for both intact and for cut fruit, one for each variety ($N=80$ Cantaloupe melons and $N=78$ Galia melons) and a third for both varieties ($N=158$) in order to check the need for independent calibrations for each variety. A single calibration set was used for both watermelon varieties ($N=77$), since the sample number was too small to justify the use of separate calibration sets for each variety.

The sample sets were enlarged using melons (153 of Cantaloupe and 146 of Galia) and watermelons (154 of Fashion) harvested in 2007. After removal of anomalous spectra ($N=2$

for Galia melon, caused by bruising), a new calibration set and an external validation set (Table 2) were defined solely on the basis of spectral information, following the method proposed by Shenk and Westerhaus¹⁹ using the CENTER algorithm included in the WinISI II software package version 1.50 (Infrasoft International, Port Matilda, PA, USA).

Chemometric data treatment

Calibrations were developed using the WinISI software package, ver. 1.50.

For structuring the calibration population, an initial principal component analysis (PCA) was performed to calculate the centre of the population and the distance of samples (spectra) from that centre in an n -dimensional space, using the Mahalanobis distance (GH); samples with a statistical value greater than 3 were considered outliers or anomalous spectra.²⁰

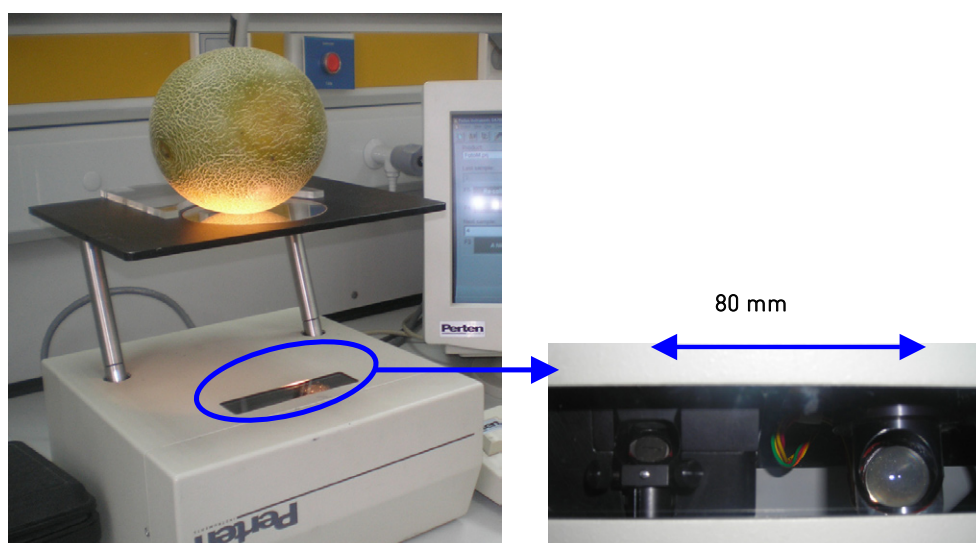


Figure 1. NIR instrument analysing an intact melon.

The calibrations were obtained using modified partial least squares (MPLS) regression.²⁰ The MPLS method is very similar to PLS (partial least squares) regression, which uses both the reference data (chemical, physical, etc.) and spectral information to identify the factors useful for fitting purposes. In MPLS, the residuals are standardised before calculating the next factor. When developing MPLS equations, cross-validation is recommended to select the optimal number of factors and to avoid over-fitting.²⁰ For cross-validation, the calibration set is partitioned into several groups; then each group is validated using a calibration developed on the other samples; finally the validation errors are combined in a standard error of cross-validation (SECV).

In our study, cross-validation was performed by splitting the population into four or six groups, depending on the number of samples in the calibration set. All multivariate regression equations were obtained using the standard normal variate and detrending methods for scatter correction.²¹ Moreover, four derivative mathematical treatments were tested in the development of NIR calibrations: 1,5,5,1; 2,5,5,1; 1,10,5,1 and 2,10,5,1, where the first digit is the number of the derivative, the second is the gap over which the derivative is calculated, the third is the number of data points in a running average or smoothing and the fourth is the second smoothing.²⁰

The spectral region used was between 515 nm and 1650 nm (at 5 nm increments), thereby eliminating spectral noise encountered at the beginning and end of the spectrum.

External validation of the best calibration models obtained with the calibration set 2006+2007 for intact product was performed using sets comprising 20–40 samples not included in the calibrations (Table 2). Although several authors have reported that the SECV gives a realistic estimate of the error prediction of samples not included in the calibration,^{22,23} this step is necessary to obtain an independent measurement of the equation accuracy expressed as SEP, i.e. standard error of performance.²⁴

The external validation procedure determines the predictive ability of an equation, based on a sample set which has not been used in the calibration development. This statistical process is based on the determination of a known significant error, (bias) and an unexplained significant error [SEP(c) or standard error of performance bias corrected].²⁴

Generally, for calibration sets constituted of 100 or more samples and validation sets made up of nine or more samples, the following control limits are assumed:²⁵

Limit control SEP(c) = $1.30 \times SEC$ (standard error of calibration)

Limit control bias = $\pm 0.60 \times SEC$ (standard error of calibration)

Results and discussion

Spectral features

Typical log (1/R) spectra for intact and cut melons and watermelons, obtained on the DA-7000 instrument, are shown in Figures 2 and 3, respectively. The main absorption peaks

Table 2. Mean, range and standard deviation statistics (°Brix) and coefficient of variation for samples in the calibration and validation sets.

Item	Product												
	Melon 2006			Melon 2006+2007						Watermelon 2006		Watermelon 2006+2007	
	C	G	C+G	C	V-C	G	V-G	C+G	V-(C+G)	F+CS	F	V-F	
N	80	78	158	213	20	202	20	415	40	77	183	20	
Mean	9.11	7.97	8.52	9.31	9.14	8.97	8.63	9.15	8.88	7.94	7.98	8.41	
Range	4.00–14.00	5.00–12.00	4.00–14.00	3.25–13.75	4.25–14.00	3.75–13.75	6.00–11.50	3.25–13.75	4.25–14.00	3.25–11.00	2.00–11.25	6.25–11.50	
SD	1.75	1.72	1.84	2.19	2.41	2.09	1.47	2.14	1.98	1.56	1.77	1.23	
CV (%)	19.21	21.58	21.60	23.49	26.32	23.29	17.02	23.44	22.34	19.65	22.14	14.66	

F: Watermelon cv. Fashion; CS: Watermelon cv. Crimson Sweet; C: Cantaloupe melon; G: Galia melon; V: Validation; N: Number of samples; SD: Standard deviation; CV: Coefficient of variation = SD/Mean

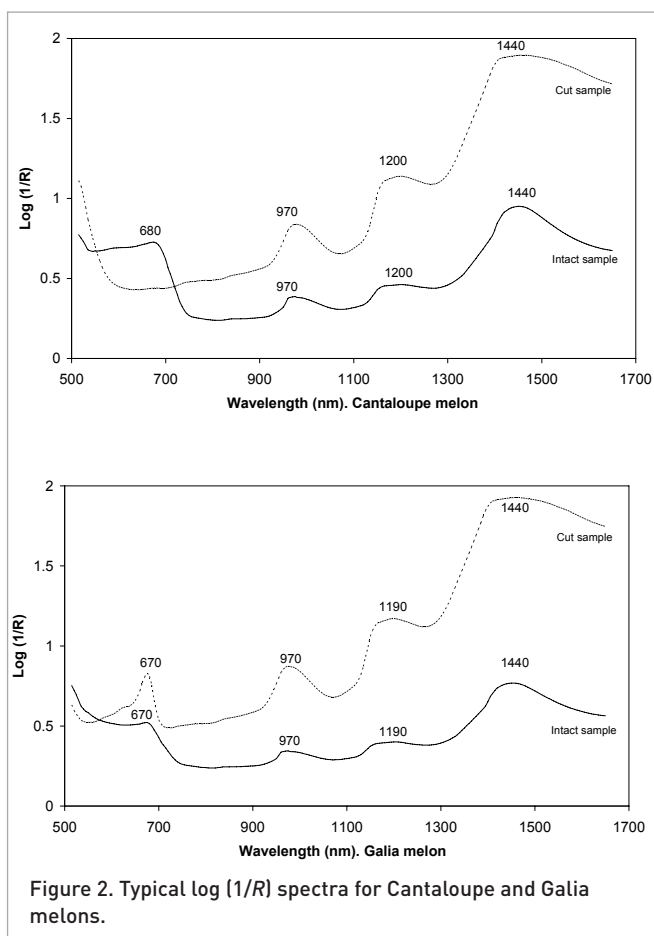


Figure 2. Typical log (1/R) spectra for Cantaloupe and Galia melons.

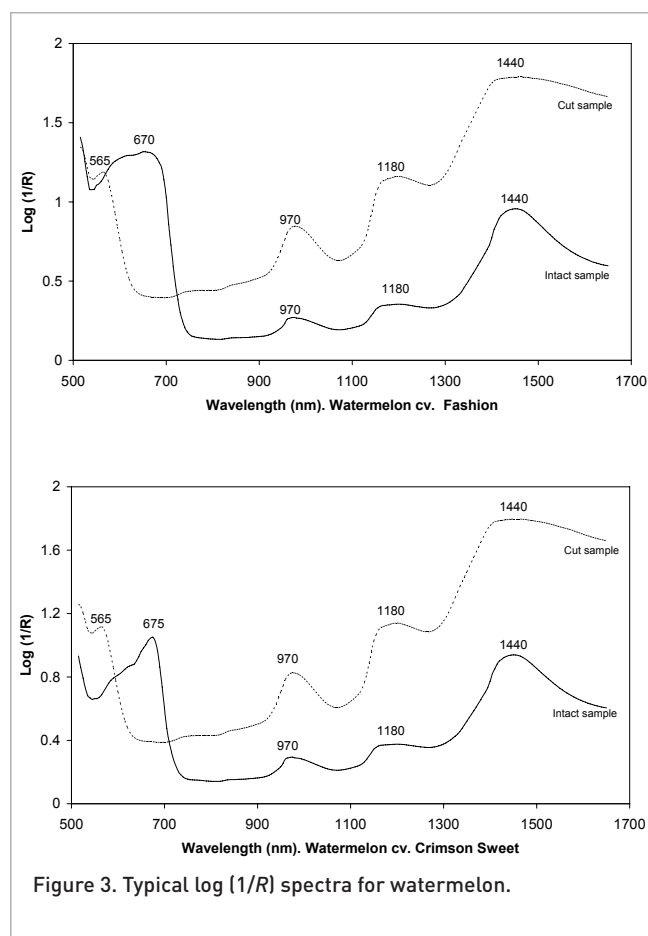


Figure 3. Typical log (1/R) spectra for watermelon.

coincided for both fruits (670 nm, 970 nm, 1180–1200 nm and 1440 nm).

Spectra displayed two peaks characteristic of fruit and vegetable produce: at 680 nm and 970 nm. The first is characteristic of the chlorophyll band, which near 680 nm has a strong inverse correlation with sugar content.²⁶ The second peak is indicative of considerable water content. In most fruits and vegetables, the water absorption peak tends to predominate over the chlorophyll peak,²⁷ although there are certain exceptions such as the kiwi, in which the reverse is true. This effect was observed in the spectra of both fruits tested here and especially in watermelon (Figure 3), whose rind is an intense green; as McGlone *et al.*²⁸ have reported, measurements in the reflectance mode are necessarily dominated by the surface characteristics of the fruit in question.

Other peaks were characteristic of sugar absorption, sugar being the second largest component after water: these peaks were at 1200 nm and 1440 nm,²⁹ although the latter band was also strongly influenced by the high water content of these fruits.

Calibration development

Table 2 shows calibration/validation set characteristics, i.e. variety, number of samples, mean, range, *SD* and *CV* for SSC in both fruits.

Tables 3 and 4 show statistics for the best equations obtained for predicting SSC in intact and cut melons and watermelons for the years 2006 and 2007. The final equations, for each fruit and presentation mode, were selected by statistical criteria (lower *SECV* value and higher r^2 value).

The performance statistics obtained for the intact fruit were, in both cases, indicative of lower precision and accuracy than those obtained with cut fruits, probably because the thick rind hindered light penetration¹⁵ and also because sugar distribution is heterogeneous in these fruits.¹⁴ Thus, the best fitting equations obtained for cut fruit accounted for 88% of the variation in the reference SSC method in cut Cantaloupe melon, 84% in cut Galia melon and 85% in cut watermelon.

Comparison of the results obtained for SSC prediction for each melon variety for the year 2006 showed that equations had a very similar predictive ability for cut fruit (Cantaloupe melon $SECV=0.61^\circ\text{Brix}$ and $r^2=0.88$; Galia melon $SECV=0.65^\circ\text{Brix}$ and $r^2=0.84$). However, in the analysis of whole fruits, the calibration statistics for Cantaloupe melon ($SECV=1.43^\circ\text{Brix}$ and $r^2=0.12$) were considerably poorer than those obtained for Galia melon ($SECV=0.92^\circ\text{Brix}$ and $r^2=0.67$). When the calibrations sets were enlarged with new samples harvested in 2007, the predictive ability of the calibrations developed analysing the fruit intact product improved, both for Cantaloupe and Galia melons. Thus, the calibration statistics were $SECV=1.05^\circ\text{Brix}$

Table 3. Calibration statistics for the equations obtained for the prediction of the soluble solid content (°Brix) for melon.

Melon	Sample presentation	Mathematical treatment	Mean	SD	SEC	R ²	SECV	r ²	RPD
Cantaloupe	Cut 2006	2,5,5,1	9.17	1.74	0.47	0.93	0.61	0.88	2.85
	Intact 2006	1,10,5,1	9.15	1.52	1.24	0.33	1.43	0.12	1.06
	Intact 2006 + 2007	1,5,5,1	9.44	2.01	0.94	0.78	1.05	0.73	1.91
Galia	Cut 2006	1,10,5,1	7.94	1.63	0.53	0.89	0.65	0.84	2.51
	Intact 2006	1,10,5,1	7.92	1.60	0.84	0.72	0.92	0.67	1.74
	Intact 2006 + 2007	2,10,5,1	9.01	2.00	0.93	0.78	0.98	0.76	2.05
Cantaloupe + Galia	Cut 2006	2,5,5,1	8.50	1.76	0.51	0.91	0.60	0.88	2.94
	Intact 2006	1,10,5,1	8.54	1.69	1.17	0.52	1.25	0.45	1.35
	Intact 2006 + 2007	1,10,5,1	9.24	1.95	0.98	0.74	1.03	0.72	1.89

SD: Standard deviation; SEC: standard error of calibration; R²: Coefficient of determination of calibration; SECV: standard error of cross-validation; r²: Coefficient of determination of cross-validation; RPD: Ratio SD/SECV

and $r^2=0.73$ for intact Cantaloupe melon and $SECV=0.98^\circ\text{Brix}$ and $r^2=0.76$ for Galia melon and also very similar to the results obtained with the calibration set made up of the two varieties ($SECV=1.03^\circ\text{Brix}$ and $r^2=0.72$).

The calibration models obtained for predicting SSC in intact melon displayed a predictive capacity greater than those reported by Dull *et al.*⁸ in a study of whole Cantaloupe melons using the transmittance mode ($R^2=0.36$; $SEP=2.18\%$) and by Walsh *et al.*⁶ when analysing rockmelons using a range of different instruments ($R^2=0.16-0.64$; $SECV=0.97-1.18\%$), including a Perten DA-7000 like the one used here.

For watermelon, the results obtained for the prediction of SSC with the multi-variety set analysed cut ($SECV=0.49^\circ\text{Brix}$, $r^2=0.85$ and $RPD=2.50$) were also better, as could be expected, than we obtained with the same set analysed intact ($SECV=0.93^\circ\text{Brix}$, $r^2=0.65$ and $RPD=1.69$). The calibration model obtained using the enlarged set with samples harvested in 2007, and made up of samples that belonged only to the variety Fashion, did not improve the results obtained previously ($SECV=1.09^\circ\text{Brix}$, $r^2=0.57$ and $RPD=1.53$).

According to the guidelines for interpretation of the RPD statistic indicated by Williams,³⁰ the results of cut fruit can be considered adequate for screening purposes, while the results obtained with the intact fruit must be improved for their routine use. Nevertheless, on the basis of the coefficient

of determination values, these results are adequate for the classification of the samples as having a low, medium or high level of sweetness,²² with a very fast and non-destructive sensor.

The calibration models obtained in the present work for SSC prediction in intact watermelons (Table 4) indicated rather less precision than reported by Abebe³ for the same product ($r^2=0.81$; $SEP=0.42^\circ\text{Brix}$) working in the transmittance mode and with a contact probe; however, the spectral population used here comprised different watermelon varieties.

External validation

Figure 4 shows predicted values for SSC and for the different calibration and validation sets of the melons and watermelons analysed using NIR calibrations values vs reference values.

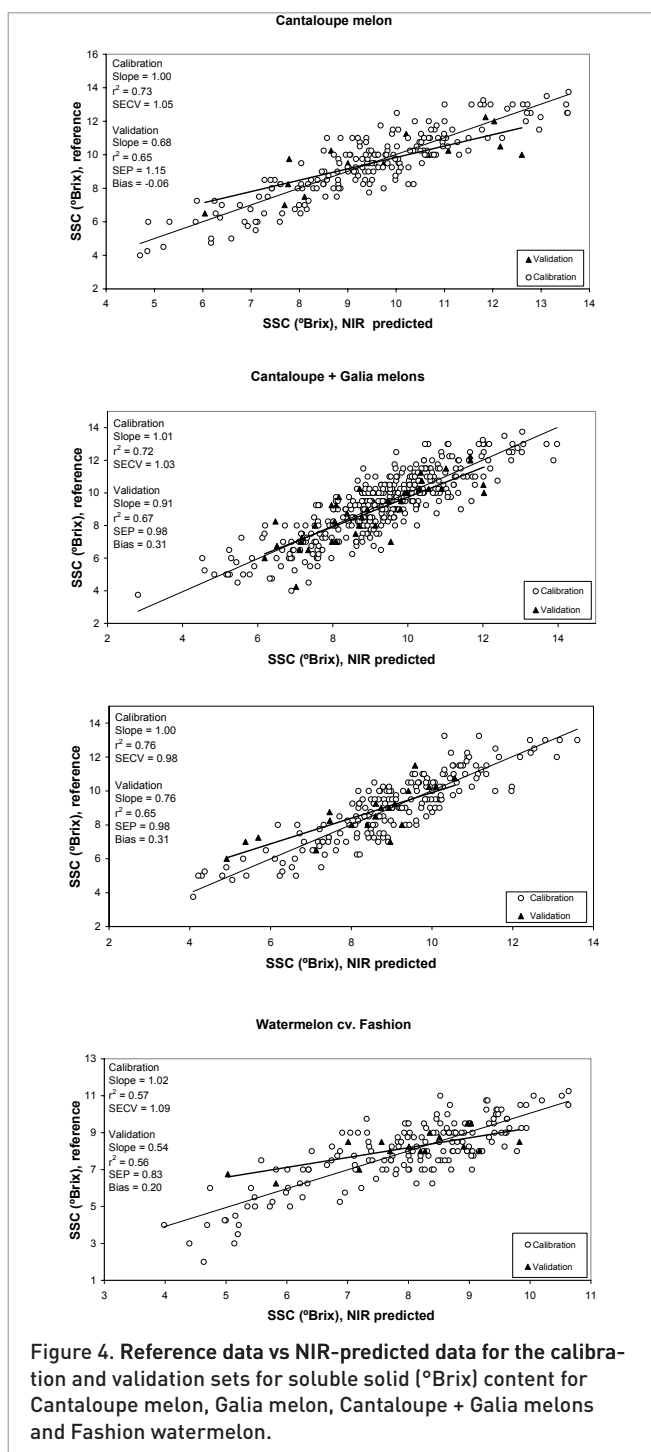
On examining the validation statistics shown in Figure 4, it can be observed that the values obtained for the statistical SECV and SEP for the prediction of SSC in melons and watermelons by NIR spectroscopy are very similar, suggesting that application of these models is feasible.

Moreover, according to the monitoring procedure proposed by Shenk *et al.*,²⁵ for the parameter studied (SSC), both the SEP(c) and the bias are below the confidence limits (limit controls for SEP(c) = 1.22 and bias = ± 0.56 for Cantaloupe melon; limit controls for SEP(c) = 1.48 and bias = ± 0.55 for Galia

Table 4. Calibration statistics for the equations obtained for the prediction of the soluble solid content (°Brix) for watermelon.

Watermelon	Sample presentation	Mathematical treatment	Mean	SD	SEC	R ²	SECV	r ²	RPD
Fashion + Crimson Sweet	Cut 2006	1,5,5,1	8.05	1.22	0.39	0.9	0.49	0.85	2.50
Fashion + Crimson Sweet	Intact 2006	2,10,5,1	7.95	1.57	0.84	0.71	0.93	0.65	1.69
Fashion	Intact 2006 + 2007	2,5,5,1	8.02	1.67	0.96	0.67	1.09	0.57	1.53

SD: Standard deviation; SEC: Standard error of calibration; R²: Coefficient of determination; SECV: Standard error of cross-validation; r²: Coefficient of determination; RPD: Ratio SD/SECV



melon; limit controls for $SEP(c) = 1.27$ and bias = ± 0.59 for Cantaloupe+Galia melons and limit controls for $SEP(c) = 1.24$ and bias = ± 0.58 for fashion watermelon), so that the four equations ensure accurate predictions.

Generally speaking, the results obtained for intact fruits and their correlation with SSC suggested that the calibration equations developed would enable individual fruits to be classified in terms of their sweetness. Moreover, the results

suggest that the fruit industry could use the same instrument for quality testing of both the raw material and of minimally-processed products.

Conclusions

The results show that NIR technology enables the quantification of the total soluble solid content in cut melons and watermelons and also the classification between low, medium and high level of sweetness in intact fruit with a very fast and non-destructive sensor, allowing increased sampling of each batch produced, thus ensuring a more precise and accurate guarantee of specific quality. It may also be concluded that reflectance measurement is a promising technique for these non-destructive quality evaluations of melon fruits during industrial processing, and has some potential to be implemented on-line in the packing-houses and on-site on-farm.

Acknowledgements

This research was funded by the Andalusian Regional Government under the Research Excellence Program (Project N° 3713 "Safety and Traceability in the Food Chain using NIRS"). The authors thank Mr Antonio López, Mr Manuel Sánchez and Mrs. M^a Carmen Fernández of the Animal Production Department (ETSIAM-UCO) for their technical assistance.

References

1. S. Narayan and T. Matsouka, "Non-destructive techniques for quality evaluation of intact fruits and vegetables", *Food Sci. Technol. Res.* **6**, 248–251 (2000). doi: [10.3136/fstr.6.248](https://doi.org/10.3136/fstr.6.248)
2. J.A. Abbott, "Quality measurement of fruits and vegetables", *Postharvest Biol. Technol.* **15**, 207–225 (1999). doi: [10.1016/S0925-5214\(98\)00086-6](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(98)00086-6)
3. T. Abebe, "Total sugar and maturity evaluation of intact watermelon using near infrared spectroscopy", *J. Near Infrared Spectrosc.* **14**, 67–70 (2006).
4. Z. Li, L. Yao, Y. Yang and A. Li, "Transgenic approach to improve quality traits of melon fruit", *Sci. Hortic. Amsterdam.* **108**, 268–277 (2006). doi: [10.1016/j.scienta.2006.02.005](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.02.005)
5. M. Cantwell, "Honeydew and smooth-skinned melons", *Perishables Handling Newsletter Issue* 85, pp. 10–18 (1996).
6. K.B. Walsh, J. Guthrie and J. Burney, "Application of commercially available, low-cost, miniaturised NIR spectrometers to the assessment of the sugar content of intact fruit", *Aust. J. Plant Physiol.* **27**, 1175–1186 (2000).
7. C.A. Roberts, J. Stuth and P. Flinn, "Analysis of forages and feedstuffs", in *Near-infrared spectroscopy in agricul-*

- ture, Ed by C.A. Roberts, J. Workman and J.B. Reeves III. ASA, CSSA and SSSA, Inc., Madison, Wisconsin, USA, p. 231 (2004).
8. G.G. Dull, G.S. Birth, D.A. Smittle and R.G. Leffler, "Near infrared analysis of soluble solids in intact cantaloupe", *J. Food Sci.* **54**, 393–395 (1989). doi: [10.1111/j.1365-2621.1989.tb03090.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1989.tb03090.x)
 9. J.A. Guthrie, B. Wedding and K. Walsh, "Robustness of NIR calibration for soluble solids in intact melon and pineapple", *J. Near Infrared Spectrosc.* **6**, 259–265 (1998).
 10. C.V. Greensill and K.B. Walsh, "A remote acceptance probe and illumination configuration for spectral assessment of internal attributes of intact fruit", *Meas. Sci. Technol.* **11**, 1674–1684 (2000). doi: [10.1088/0957-0233/11/12/304](https://doi.org/10.1088/0957-0233/11/12/304)
 11. M. Tsuta, J. Sugiyama and Y. Sagara, "Near-infrared imaging spectroscopy based on sugar absorption band for melons", *J. Agr. Food Chem.* **50**, 48–52 (2002). doi: [10.1021/jf010854i](https://doi.org/10.1021/jf010854i)
 12. K.B. Walsh, M. Golic and C.V. Greensill, "Sorting of fruit using infrared spectroscopy: application to a range of fruit and vegetables for soluble solids and dry matter content", *J. Near Infrared Spectrosc.* **12**, 141–148 (2004).
 13. A. Guthrie, C.J. Liebenberg and K.B. Walsh, "NIR model development and robustness in prediction of melon fruit total soluble solids", *Aust. J. Agr. Res.* **57**, 411–418 (2006). doi: [10.1071/AR05123](https://doi.org/10.1071/AR05123)
 14. R. Long and K. Walsh, "Limitations to the measurement of intact melon total soluble solids using near infrared spectroscopy", *Aust. J. Agr. Res.* **57**, 403–410 (2006). doi: [10.1071/AR05285](https://doi.org/10.1071/AR05285)
 15. S. Saranwong and S. Kawano, "Fruits and vegetables", in *Near-infrared spectroscopy in food science and technology*, Ed by Y. Ozaki, W.F. McClure and A.A. Christy. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, USA, p. 219 (2007).
 16. J. Guthrie and K. Walsh, "Influence of environmental and instrumental variables on the non-invasive prediction of Brix in pineapple using near infrared spectroscopy", *Aust. J. Exp. Agr.* **39**, 73–80 (1999). doi: [10.1071/EA96127](https://doi.org/10.1071/EA96127)
 17. J. Lammertyn, A. Peirs, J. De Baerdemaeker and B. Nicolai, "Light penetration properties of NIR radiation in fruit with respect to non-destructive quality assessment", *Postharvest Biol. Technol.* **1**, 121–132 (2000). doi: [10.1016/S0925-5214\(99\)00071-X](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(99)00071-X)
 18. B.M. Nicolaia, K. Beullensa, E. Bobelyna, A. Peirsa, W. Saeysa, K.I. Theronb and J. Lammertyna, "Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: A review", *Postharvest Biol. Technol.* **46**, 99–118 (2007). doi: [10.1016/j.postharvbio.2007.06.024](https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.06.024)
 19. J.S. Shenk and M.O. Westerhaus, "Population structuring of near infrared spectra and modified partial least squares regression", *Crop Sci.* **31**, 1548–1555 (1991).
 20. J.S. Shenk and M.O. Westerhaus, *Analysis of agriculture and food products by near infrared reflectance spectroscopy*. Monograph. NIR Systems, Inc., 12101 Tech. Road, Silver Spring, MD 20904, (1995).
 21. R.J. Barnes, M.S. Dhanoa and S.J. Lister, "Standard normal variate transformation and de-trending of near infrared diffuse reflectance spectra", *Appl. Spectrosc.* **43**, 772–777 (1989). doi: [10.1366/0003702894202201](https://doi.org/10.1366/0003702894202201)
 22. J.S. Shenk and M.O. Westerhaus, "Calibration: the easy way", in *Near Infrared Spectroscopy: The Future Waves*, Ed by A.M.C. Davies and P.C. Williams. NIR Publications. Chichester, UK, p. 198 (1996).
 23. M. Meuret, P. Dardenne, R. Biston and O. Poty, "The use of NIR in predicting nutritive value of Mediterranean tree and shrub foliage", *J. Near Infrared Spectrosc.* **1**, 45–54, (1993).
 24. W.R. Windham, D.R. Mertens and F.E. Barton, II, "Protocol for NIRS calibration: sample selection and equation development and validation", in *Near infrared spectroscopy (NIRS): analysis of forage quality*, Ed by G.C. Martens, J.S. Shenk and F.E. Barton, II. Agriculture Handbook, N° 643, USDA-ARS, US Government Printing Office, Washington, DC, USA, p. 96 (1989).
 25. J.S. Shenk, M.O. Westerhaus and S.M. Abrams, "Protocol for NIRS calibration: monitoring analysis results and recalibration", in *Near infrared spectroscopy (NIRS): analysis of forage quality*, Ed by G.C. Martens, J.S. Shenk and F.E. Barton II, Agriculture Handbook, N° 643, USDA-ARS, US Government Printing Office, Washington, DC, USA, p. 104 (1989).
 26. P. Stchur, D. Cleveland, J. Zhou and R.G. Michel, "A review of recent applications of near infrared spectroscopy, and of the characteristics of a novel PbSCCD array-based near-infrared spectrometer", *Appl. Spectrosc. Rev.* **37**, 383–428 (2002). doi: [10.1081/ASR-120016293](https://doi.org/10.1081/ASR-120016293)
 27. R. Cubeddu, A. Pifferi, P. Taroni, A. Torricelli, G. Valentini, M. Ruiz-Altisent, C. Valero and C. Ortiz, "Non-destructive optical characterisation of fruits with time-resolved reflectance spectroscopy", in *Proc. of the 9th International Conference*, Ed by A.M.C. Davies and R. Giangiacomo. NIR Publications, Chichester, UK, p. 145 (2000).
 28. V.A. McGlone, D.G. Fraser, R.B. Jordan and R. Künemeyer, "Internal quality assessment of mandarin fruit by vis/NIR spectroscopy", *J. Near Infrared Spectrosc.* **11**, 323–332 (2003).
 29. B.G. Osborne, T. Fearn and P.H. Hindle, *Practical NIR spectroscopy with applications in food and beverage analysis*, Longman, Essex (1993).
 30. P. Williams, *Near-infrared technology—getting the best out of light*. A short course in the practical implementation of near-infrared spectroscopy for a user. Edn 5.3, March 2008. PDK Projects, Inc., Nanaimo, Canada (2008).

3.1.2. Espectroscopía de Reflectancia en el Infrarrojo Cercano para la predicción de color interno en melones intactos



Organizadores



Patrocinadores



Colaboradores



AGRADECIMIENTOS

El Comité Organizador y el Comité Científico del V Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y Agroexportaciones, expresan su agradecimiento a las siguientes entidades patrocinadoras y colaboradoras sin cuyo valioso aporte hubiera sido imposible organizarlo.

Entidades patrocinadoras:

Asociación Iberoamericana de Tecnología Postcosecha
Universidad Politécnica Cartagena
Instituto de Biotecnología Vegetal de la Universidad Politécnica de Cartagena
Instituto de Fomento de la Región de Murcia

Entidades colaboradoras

Ministerio de Educación y Ciencia
Fundación Séneca de la Región de Murcia
Ayuntamiento de Cartagena
Autoridad Portuaria de Cartagena
Federación de Cooperativas Agrarias de Murcia
TECNIDEX S.L.
Fundación Cajamurcia
Fundación Cajamar
FOMESA FRUITECH S.L.

Edita:

Grupo de Postrecolección y Refrigeración. UPCT

Co-edita:

Asociación Iberoamericana de Tecnología Postcosecha

ISBN 978-84-95781-85-7

(S3-P17)

PREDICCIÓN DE COLOR DE LA PULPA EN MELONES ENTEROS MEDIANTE ESPECTROSCOPIA DE REFLECTANCIA EN EL INFRARROJO CERCANO

K. FLORES^{(1)*}, P. PAZ⁽¹⁾, M. T. SÁNCHEZ^{(1)**}, D. C. PÉREZ-MARÍN⁽²⁾, M. D. LÓPEZ⁽³⁾, M. CONTRERAS⁽³⁾, J. L. MEJÍA⁽⁴⁾, J. E. GUERRERO⁽²⁾ y A. GARRIDO⁽²⁾

⁽¹⁾Departamento de Bromatología y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Córdoba. *Becaria AECI, **teresa.sanchez@uco.es

⁽²⁾Departamento de Producción Animal. Universidad de Córdoba.

⁽³⁾Centro de Innovación y Tecnología COEXPHAL. Almería.

⁽⁴⁾Abelló Linde, S.A. Dpto. I+D. Cádiz.

RESUMEN

El color de la pulpa del melón es uno de los índices utilizados para determinar el grado de madurez y calidad del mismo, siendo necesario disponer de medidas no destructivas que impidan el daño y la depreciación del producto. La tecnología NIRS ofrece enormes expectativas en este terreno, particularmente derivadas de su carácter de no destructiva, rápida y con posibilidad de ser incorporada a nivel de la línea de producción. El objetivo de este trabajo de investigación fue evaluar un instrumento NIRS de red de diodos para estimar el color del mesocarpio (a^* : variación verde-rojo y b^* : variación amarillo-azul) de melones intactos. El desarrollo de los modelos de predicción de color se realizó utilizando un colectivo constituido por 158 muestras (vars. *Cantaloupe* y *Galia*) procedentes de El Ejido (Almería). Los valores del coeficiente de determinación (r^2) y del error típico de validación cruzada (ETVC) obtenidos para los parámetros a^* (0,97, 1,98) y b^* (0,88, 3,17) en la fruta intacta indican la viabilidad inicial del empleo de la tecnología NIRS para la determinación de la madurez y calidad de frutos de melón enteros.



PREDICCIÓN DEL COLOR DE LA PULPA EN MELONES ENTEROS MEDIANTE ESPECTROSCOPIA DE REFLECTANCIA EN EL INFRARROJO CERCANO

K. Flores^{1*}, P. Paz¹, M.T. Sánchez^{1***}, D.C. Pérez-Marín^{2***}, M.D. López³, M. Contreras³, J.E. Guerrero² y A. Garrido²

¹Departamento de Bromatología y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Córdoba. España. *Becaria AECL. ²Departamento de Producción Animal. Universidad de Córdoba. España. ³Centro de Innovación y Tecnología. COEXPHAL. Almería. España

INTRODUCCIÓN

El color de la pulpa del melón es uno de índices utilizados para determinar el grado de madurez y calidad del mismo, siendo necesario disponer de medidas no destructivas que no dañen ni deprecien el producto. La tecnología NIRS ofrece enormes expectativas en este terreno, particularmente derivadas de ser una tecnología no destructiva, rápida y con posibilidad de ser incorporada a nivel de la línea de producción.

OBJETIVO

Evaluar un instrumento NIRS de red de diodos para estimar el color del mesocarpio (a*: variación verde-rojo y b*: variación azul-amarillo) de melones enteros y cortados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

MELONES (*Cucumis melo* L. var. Galia y Cantaloupe) CULTIVADOS EN EL EJIDO (ALMERÍA).

COLECTIVO MUESTRAL: 158 MUESTRAS.



Análisis de Referencia

DETERMINACIÓN DEL COLOR (a* y b*) POR COLORIMETRÍA (CIE).



Análisis NIRS

- EQUIPO NIRS DE RED DE DIODOS: PERTEN DA-7000.

- MODO DE ANÁLISIS: REFLECTANCIA.

- PRESENTACIÓN DE MUESTRAS: ENTERA Y CORTADA.

- REGIÓN ESPECTRAL: 400-1.700 nm (cada 5 nm).

- POSICIÓN DEL EQUIPO: "UP".



Desarrollo de Calibraciones

- MÉTODO DE REGRESIÓN: "MPLS".

- RANGO ESPECTRAL: 515-1.650 nm.

- CORRECCIÓN DE "SCATTER": "SNV + DT".

- DERIVADAS: 1,5,5,1; 2,5,5,1; 1,10,5,1 y 2,10,5,1.

- PROGRAMA: WINISI II, Versión 1.5.

RESULTADOS

Tabla 1. Estadísticos de calibración para la predicción NIRS del color a* de melones enteros y cortados

	Melón Entero			Melón Cortado		
	Cantaloupe N = 80	Galia N = 78	C + G N = 158	Cantaloupe N = 80	Galia N = 78	C + G N = 158
Media	14,12	-9,30	12,01	14,22	-9,29	11,88
DT	1,48	2,70	2,94	1,65	2,63	3,10
ETVC	0,87	1,17	1,98	0,87	1,11	0,95
R ²	0,66	0,81	0,97	0,72	0,82	0,99

C = Cantaloupe; G = Galia; DT = Desviación típica; ETVC = Error típico de validación cruzada; R² = Coeficiente de determinación

Tabla 2. Estadísticos de calibración para la predicción NIRS del color b* de melones enteros y cortados

	Melón Entero			Melón Cortado		
	Cantaloupe N = 80	Galia N = 78	C + G N = 158	Cantaloupe N = 80	Galia N = 78	C + G N = 158
Media	41,56	24,47	33,17	41,19	24,98	33,44
DT	2,54	5,39	9,36	2,86	5,32	9,37
ETVC	1,70	1,98	3,17	1,36	2,33	1,67
R ²	0,55	0,86	0,88	0,78	0,81	0,97

C = Cantaloupe; G = Galia; DT = Desviación típica; ETVC = Error típico de validación cruzada; R² = Coeficiente de determinación

CONCLUSIONES

Estos resultados indican la viabilidad inicial del empleo de la tecnología NIRS para la determinación de la madurez y calidad de frutas enteras.

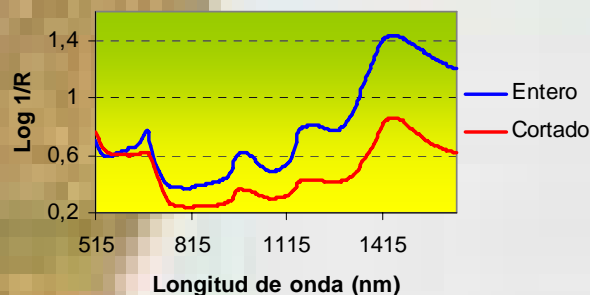


Figura 1. Espectros medios del colectivo de melones *Cantaloupe* y *Galia*, enteros y cortados

3.2. LA TECNOLOGÍA NIRS PARA LA PREDICCIÓN DE PARÁMETROS DE CALIDAD INTERNA EN TOMATE

3.2.1. Feasibility in NIRS instruments for predicting internal quality in intact tomato



Feasibility in NIRS instruments for predicting internal quality in intact tomato

Katherine Flores^a, María-Teresa Sánchez^{a,*}, Dolores Pérez-Marín^{b,*}, José-Emilio Guerrero^b, Ana Garrido-Varo^b

^a Department of Bromatology and Food Technology, University of Cordoba, Campus of Rabanales, 14071 Córdoba, Spain

^b Department of Animal Production, University of Cordoba, Campus of Rabanales, 14071 Córdoba, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 24 March 2008
Received in revised form 6 June 2008
Accepted 14 September 2008
Available online 26 September 2008

Keywords:

NIR spectroscopy
Tomato
Quality
Non-destructive test
Soluble solid content
Titrable acidity

ABSTRACT

Quality control, a major concern in the production of all fresh tomatoes, is particularly important for 'Raf' tomatoes, a much-prized variety in Spain whose exquisite flavor commands very high market prices. Soluble solid content (SSC) and titrable acidity (TA), the two internal quality indices most contributing to tomato flavor, have traditionally been measured using destructive techniques, which enable analysis of batches but not of individual items. This study examined the feasibility of using NIRS technology to predict internal quality parameters in individual tomatoes. The results obtained using new-generation diode-array instruments, which can be adapted for 'on-site' and 'on-line' measurements, were compared with those obtained with a traditional, laboratory-based NIRS monochromator. Calibration models were developed using different regions of the spectrum and different signal pretreatments. Tomatoes picked in 2006 ($N = 180$) were used for the initial calibration, which was subsequently enlarged with tomatoes harvested in 2007 ($N = 132$). The standard error of cross validation (SECV) obtained for the prediction of SSC ranged between 0.55 and 0.74 °Brix, whilst SECV values for titrable acidity ranged from 0.06% to 0.1% citric acid; the coefficient of determination (r^2) was between 0.63 and 0.82 for SSC and between 0.41 and 0.71 for TA. The regression models were tested with independent validation samples ($N = 100$); the resulting standard errors of prediction (SEP) and r^2 for the same parameters were (0.68, 0.77) and (0.08, 0.68), respectively. The results obtained suggest that NIRS can accurately predict tomato internal quality parameters, even in the variety studied, which is highly irregular in shape. Wavelengths above 1700 nm were found to be unnecessary for the applications considered, and the diode-array instrument proved sufficiently accurate.

© 2008 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

The recovery of traditional flavors is a key goal of the fruit and vegetable industry in Europe, since today's consumers are willing to pay for top-quality products with a real 'old-fashioned' flavor (Abbott, 1999).

Spain boasts numerous varieties of tomatoes to be consumed fresh. The 'Raf' tomato – the name comes from the acronym *Resistente a Fusarium*, indicating resistance to fusarium 0 (*Fusarium oxysporium lycopersici*) – is one of the oldest and most traditional products from the Vega de Almería (Spain). Though outwardly ugly, due to its distinctive dark-green coloring and almost-black shoulder, its salinity resistance guarantees an exquisite flavor rarely found in other varieties. Although it is considerably more expensive (6–12 euros/kg) than other varieties (2–3 euros/kg), there is an ever-increasing demand from gourmet grocers and delicatessens.

Soluble solid content (SSC) and titrable acidity (TA), the main components responsible for tomato flavor (Kader, 1986), are properties of the tomato most likely to match the consumer perception of internal quality (Baldwin et al., 1998; Artés et al., 1999; Arazuri et al., 2007). Kader et al. (1978) report that high-quality fruits, i.e. fruits with the best flavor, are those with an SSC of over 3% and a TA value of 0.32%. However, measurement of these two quality parameters using traditional analytical methods is highly time-consuming, costly and contaminant. Moreover, since traditional methods are destructive, they only enable quality control of a few samples per batch, rather than of each individual fruit. The development of rapid, simple, low-cost, non-contaminant and non-invasive quality control techniques may be regarded as crucial for tomato-producing and -marketing companies, particularly if the product commands high market prices.

Near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) technology shows considerable promise for the non-destructive analysis of food products, and is ideally suited to the requirements of the agrofood industry in terms of both quality control: it requires little or no sample preparation; it is both flexible and versatile (applica-

* Corresponding authors. Fax: +34 957 212000 (D. Pérez-Marín).

E-mail addresses: teresa.sanchez@uco.es (M.-T. Sánchez), pa2pemad@uco.es (D. Pérez-Marín).

ble to multiproduct and multicomponent analysis); it generates no waste, is less expensive to run than conventional methods, and can be built into the processing line, enabling large-scale individual analysis and real-time decision making (Osborne et al., 1993; Shenk and Westerhaus, 1995a; Garrido, 2000).

A number of studies have investigated the potential of NIRS technology for assessing internal-quality parameters in fruit and vegetables (Slaughter and Abbott, 2004; Saranwong and Kawano, 2007); some papers have focused on tomatoes (Slaughter et al., 1996; Hong and Tsou, 1998; Walsh et al., 2004; He et al., 2005; Shao et al., 2007), although to date there have been no studies of the 'Raf' variety. Most research has centered on SSC or acidity (pH), but little work has been done on titratable acidity analysis (Hong and Tsou, 1998), which is also a key element in tomato selection. Most of these studies were performed with instruments measuring in a narrow region of the near-infrared, generally between 800 and 1100 nm, which probably limits the development of applications providing sufficient predictive capacity for determining more complex quality parameters. Moreover, many of the instruments used work in the transmittance mode, which hinders their incorporation in processing lines and also requires greater light intensity, which might damage vegetables by overheating (Long and Walsh, 2006). This is particularly true of thin-skinned vegetables such as tomatoes, for which the reflectance mode is more suitable, since light penetration is not markedly impeded by skin thickness (Saranwong and Kawano, 2007).

Since the success and acceptance of NIR analysis as a quantitative tool are largely the result of enhanced spectrum quality and the use of more powerful mathematics for analysis (Hruschka et al., 2001), the selection of the spectral range to be used in the calibration is crucial (Liu et al., 2005). The addition of relevant visible wavelengths to spectral analysis could add more marginal improvements to SSC and TA estimations, since both these tomato quality parameters also vary as a function of maturity (Kader, 1986). McGlone et al. (2003) report that fruit and vegetable spectra in the wavelength range between 600 and 750 nm are strongly affected by the red-light-absorbing skin pigment chlorophyll (absorbance band at 680 nm).

This study assessed the feasibility of using VIS/NIRS spectroscopy to correlate with the internal quality of fresh intact 'Raf' tomatoes, as expressed by soluble solid content and titratable acidity, i.e. the main components responsible for tomato flavor. Data analysis included a comparison between two NIRS instruments with very different optical designs.

2. Materials and methods

2.1. Samples

Tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill., cv. 'Raf') were harvested at commercial maturity in greenhouses belonging to the Provincial Association of Fruit and Vegetable Growers and Export-

ers, Almería (Spain), from February to April 2006 and from January to March 2007. The 'Raf' variety is distinguished from other varieties by its highly-irregular shape, with several well-defined lobes, and by its characteristic dark-green color (Fig. 1).

On arrival at the laboratory, fruits were promptly placed in refrigerated storage at 10 °C and 95% relative humidity. Prior to each measurement, samples were left until the near-surface fruit temperature had risen to, and stabilized at, the laboratory temperature of 20 °C.

2.2. Definition of calibration and validation sets

In 2006, thirty-six tomatoes were tested weekly over a 10-wk period, giving a total of 360 tomatoes. Due to budget and time limitations, 18 tomatoes were selected at each weekly test, using the SELECT algorithm included in the WinISI II software package version 1.50 (Infrasoft International, Port Matilda, PA), which calculates spectral distances (Mahalanobis H) in order to detect samples whose spectrum is very similar to that of others in the population (Shenk and Westerhaus, 1991). This algorithm enables selection of a number of samples representative of the population as a whole, by calculating the 'NH' distance (Mahalanobis neighbor distance) between two spectra. An 'NH' of less than 0.6 implies that two spectra are too similar to each other ('neighbor'. When reference analysis cannot be performed for all the samples subjected to spectral analysis, as was the case here for reasons explained earlier, the initial set can thus be reduced by eliminating redundant samples, whilst still maintaining a spectral variability similar to that of the starting set. After application of this algorithm, the sample set for the first season (2006) was reduced to 180 tomatoes (18 per week), which formed calibration set 1 (C1).

This calibration set was enlarged using tomatoes harvested in 2007, and the best calibration equations obtained were subjected to external validation. A total of 132 tomatoes were tested and added to the 2006 calibration set, thus yielding a new sample set comprising 312 samples. After removal of anomalous spectra (12 samples), samples for calibration and validation were selected solely on the basis of spectral information following the method recommended by Shenk and Westerhaus (1991), using the CENTER algorithm included in the WinISI II software package version 1.50. This algorithm performs a principal component analysis, reducing the original spectral information (log 1/R values) to a small number of linearly-independent variables, thus facilitating the calculation of spectral distances. These new variables were used to calculate the centre of the spectral population and the distance (expressed as the Mahalanobis global distance 'GH') of each sample in the calibration set from that centre. Having ordered the sample set by spectral distances (from smallest to greatest distance to the centre), the 100 samples forming the validation set (V) were selected by taking one of every two samples from the (2006 + 2007) sample set ($N = 300$) so that the new calibration set (C2) was formed by 200 samples.



Fig. 1. Group of characteristic 'Raf' tomato samples.

2.3. Reference data analysis

Soluble solid content (SSC) and titrable acidity (TA) were determined using traditional destructive tests. After removal of the peduncle, tomatoes were halved and tissue from each fruit was blended for 60 s. Juice samples were taken for SSC and TA measurement.

Soluble solid content (SSC, in °Brix) was measured as the refractometer reading for tomato juice, using a temperature-compensated digital Abbé-type refractometer (model B, Zeiss, Oberkochen, Würt, Germany). Titrable acidity was measured by titration with 0.1 NaOH to an end point of pH 8.1. An automatic titrator was used (Crison Micro TT 2050, Crison, Alella, Barcelona, Spain). Results were expressed as % citric acid. Each sample was analyzed in duplicate. All measurements were performed immediately after VIS/NIRS measurements.

2.4. Spectrum collection

The two NIRS instruments used for spectra collection differed considerably in terms of both function and optical design, thus enabling comparison between a new-generation diode-array model suitable for 'on site' measurements and the monochromator traditionally used in the laboratory.

One instrument was a FNS-6500 scanning monochromator (FOSS NIRSystems, Silver Spring, MD, USA), interfaced to a remote reflectance fiber optic probe (NR-6539-A) with a 43×43 mm window. In order to shield the detector assembly, a dark compartment ($340 \times 238 \times 222$ mm) was used (Fig. 2). Each fruit was hand-placed in the probe, so that the desired fruit location was centered on, and in direct contact with, the probe. The optical absorption spectrum from 400 nm to 2500 nm was measured in 2 nm steps at three different locations. The first measurement was made at a random location on the blossom of the fruit. The next two measurements were taken on the blossom at rotations of roughly 120° and 240° from the initial site. The three spectra were averaged to provide a mean spectrum for each tomato.

The other instrument (Fig. 3) was a diode-array NIR spectrometer Perten DA-7000 Flexi-Mode (Perten Instruments, North America, Inc., Springfield, IL, USA). Tomatoes were placed centrally upon the fruit holder, with the stem-calyx axis vertical, calyx up, and were irradiated from above by the light source while they rotated; reflectance spectra were captured between 400 and 1700 nm in 5 nm steps. Three separate spectral measurements were made on each tomato, after a 120° sample rotation each time. The three

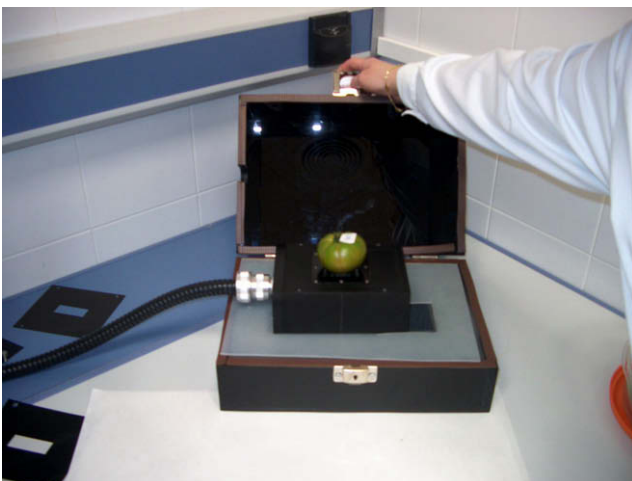


Fig. 2. Set-up of scanning monochromator.



Fig. 3. Set-up of diode-array NIR spectrometer.

spectra were averaged to provide a mean spectrum for each tomato.

Samples harvested in 2006 ($N = 360$) were analyzed in parallel by both instruments. Samples harvested in 2007 ($N = 132$) were analyzed using only the Perten DA-7000 spectrometer.

2.5. Chemometric data management

Chemometric data management was performed using WINISI II software version 1.50 (Infrasoft International, Port Matilda, PA, USA). Several spectral ranges were studied in both instruments for the management of spectral data. Signal noise at the beginning and end of the spectral range was eliminated for both instruments: the resulting range for the DA-7000 spectrometer was from 515 to 1650 nm, while that of the FNS-6500 monochromator was from 516 to 2200 nm. For purposes of comparison, the same three spectral regions were used for both instruments: 515–1650 nm, 850–1650 nm and 1100–1650 nm. An additional spectral region was used for the FNS-6500 monochromator: 1100–2200 nm.

Prior to developing NIRS calibrations, the CENTER algorithm included in the WINSI software package was applied to determine the structure and spectral variability of the study population. The algorithm was applied in four spectral regions (515–1650, 850–1650, 1100–1650 and 1100–2200 nm), subsequently used for obtaining calibrations; the Standard Normal Variate and Detrending methods were applied for scatter correction (Barnes et al., 1989), together with the mathematical derivation treatment '1,5,5,1', where the first digit is the number of the derivative, the second is the gap over which the derivative is calculated, the third is the number of data points in a running average or smoothing, and the fourth the second smoothing (Shenk and Westerhaus, 1995b).

Calibrations were developed for predicting SSC and TA in tomato. The prediction equations were obtained using the modified partial least squares (MPLS) method of regression (Shenk and Westerhaus, 1995a). Partial least squares (PLS) regression is similar to principal component regression (PCR), but PLS uses both reference data (chemical, physical, etc.) and spectral information to identify factors useful for fitting (Williams, 2001). MPLS is often more stable and accurate than the standard PLS algorithm. In MPLS, the NIR residuals at each wavelength, obtained after each factor is calculated, are standardized (divided by the standard deviations of the residuals at a wavelength) before calculating the next factor. When developing MPLS equations, cross-validation is recommended to select the optimal number of factors and to avoid

overfitting (Shenk and Westerhaus, 1995a). For cross validation the calibration set is partitioned in several groups; each group is then validated using a calibration developed on the other samples; finally the validation errors are combined to obtain a standard error of cross validation (SECV).

In all cases, cross validation was performed by splitting the population into four groups. All multivariate regression equations were obtained using the Standard Normal Variate and Detrending methods for scatter correction (Barnes et al., 1989). Moreover, four derivative mathematical treatments were tested in the development of NIRS calibrations: 1,5,5,1; 2,5,5,1; 1,10,5,1 and 2,10,5,1 (Shenk and Westerhaus, 1995b).

The performance of the calibration models was evaluated using the following statistics: the standard error of calibration (SEC), the coefficient of determination between the predicted and measured parameters (R^2), the standard error of cross validation (SECV) and the coefficient of determination for cross validation (r^2). A good model should have a low SEC, a low SECV and a high correlation coefficient, but also a small difference between SEC and SECV (Shenk and Westerhaus, 1995a; Williams, 2001).

Other statistics used were the RPD or ratio of the standard deviation of the original data (SD) to SECV, the RER or ratio of the range of the original data (maximum–minimum value) to SECV and the CV (Coefficient of Variation) or ratio between the SECV and the mean value of the reference data of the studied parameter for

the training set. This statistic enables standardization of the SECV, facilitating the comparison of results obtained with sets of different means (Williams, 2001).

The best-fitting equations, selected by statistical criteria, were subsequently evaluated by external validation, a procedure determining the predictive ability of an equation based on a sample set which has not been used in calibration procedures. This statistical process is based on the determination of a known significant error, denominated 'bias' and an unexplained significant error, denominated SEP(c) (standard error of performance bias corrected) (Windham et al., 1989).

Generally, for calibration groups comprising 100 or more samples and validation groups formed by 9 or more samples the following control limits are assumed (Shenk et al., 1989; Shenk and Westerhaus, 1996):

Limit control SEP(c) = $1.30 \times \text{SEC}$ (standard error of calibration)

Limit control bias = $\pm 0.60 \times \text{SEC}$ (standard error of calibration).

3. Results and discussion

3.1. Spectral features

Typical log (1/R) spectra for intact tomatoes, captured by the two instruments (DA-7000 and FNS-6500), together with the most relevant absorption bands, are shown in Figs. 4 and 5. The two

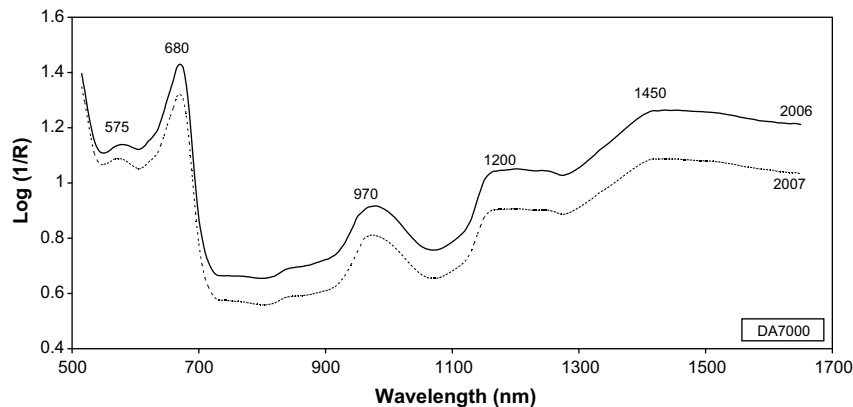


Fig. 4. Typical log (1/R) spectra for intact tomato using the DA-7000. 2006 and 2007 seasons.

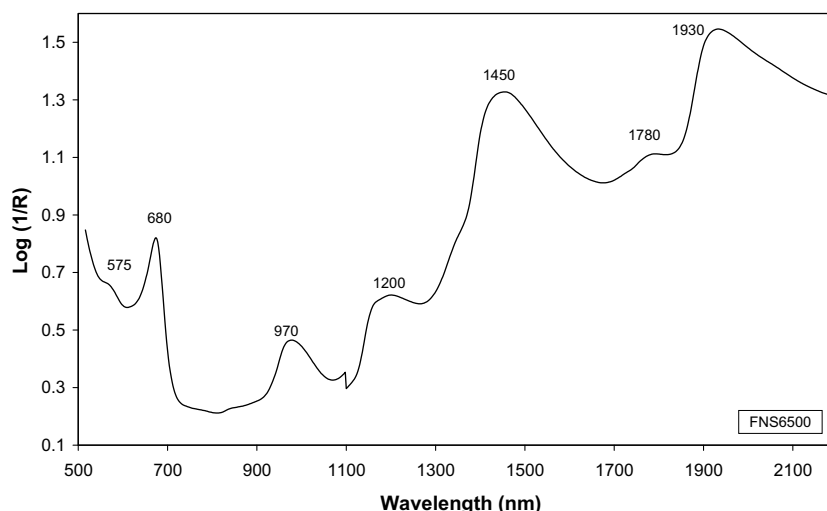


Fig. 5. Typical log (1/R) spectra for intact tomato using the FNS-6500. 2006 season.

instruments tested yielded spectra of the same shape, with similar characteristic absorption bands, for the same spectral regions.

In the VIS region, the clear chlorophyll absorption band (~680 nm) was attributable to the distinctive green coloring of skin and pulp in 'Raf' tomatoes. One of the spectral regions tested (515–1650 nm) was selected precisely because it includes that band.

In the near-infrared region, the spectrum is dominated by water-related absorption bands: 970, 1450 and 1930 nm (Osborne et al., 1993; Lammertyn et al., 2000), as is usually the case for fruits and vegetables, particularly those with a high water content, such as tomato (around 90% water). A sugar-related absorption band was also observed in the 1200 nm region (Osborne et al., 1993).

3.2. Population characterization and structuring

Table 1 shows the characteristics of calibration and prediction sets (C1 = 180 samples for calibration; C2 = 200 samples for recalibration and V = 100 samples for validation) for the two chemical parameters studied. The mean values for soluble solid content (SSC = 5.30 and 5.78 °Brix for the two calibration sets and SSC = 5.73 °Brix for the validation set) and for titrable acidity (TA = 0.36 and 0.43% citric acid for the two calibration sets and TA = 0.42% citric acid for the validation set) indicate that the 'Raf' variety is a high-quality tomato with an exquisite flavor, in terms of the criteria suggested by Kader et al. (1978).

The CENTER algorithm was applied prior to the development of prediction models in order to structure the spectral population and detect possible outliers. Six samples in the calibration set comprising tomatoes harvested in 2006 were identified as outliers, with a 'GH' value not greater than 5; this was due to the presence of a physiological disorder known as blossom-rot. The total (2006 + 2007) set comprising 312 samples contained 12 outliers: the six with blossom-rot detected in the previous set, and six others which differed considerably in shape from the rest.

3.3. Calibration development with the training set C1

Tables 2 and 3 show statistics for the best-fitting equations obtained using calibration set C1 ($N = 180$) for the prediction of SSC and TA, respectively, on the two instruments tested, in the spectral regions selected, and using the best signal pre-treatment in each case.

Generally speaking, and with occasional exceptions, the best results for all spectral regions, both instruments and both parameters, were obtained using the second derivative of log (1/R). Similar findings have been reported by Schmilovitch et al. (2000) for the measurement of physiological indices (SSC, acidity and firmness) in mango fruit.

For SSC prediction, the best results were obtained using spectral windows up to 1650 nm, in the two instruments tested. Both instruments displayed very similar, and adequate, predictive

capacity, although results were slightly better with the FNS-6500 monochromator ($r^2 = 0.82$ vs. 0.77, SECV = 0.55 vs. 0.61 °Brix). Similar results were recorded by Saranwong et al. (2003), when comparing the performance of the portable FT-20 spectrometer and an FNS-6500 monochromator for determining Brix values in intact mangoes; the authors found that the two instruments were equally accurate.

For TA prediction, spectral regions up to 1650 nm again yielded the best-fitting calibration equations; the FNS-6500 monochromator achieved the best results in the 850–1650 nm range, whilst the best results for the DA-7000 spectrometer were obtained when the visible region was also included (i.e. range 515–1650 nm); the two instruments displayed a very similar predictive capacity ($r^2 = 0.71$, SECV = 0.06% citric acid for the FNS-6500, compared with $r^2 = 0.66$, SECV = 0.06% citric acid for the DA-7000).

3.4. Recalibration using set C2

As indicated above, analysis of the results obtained for tomatoes harvested in 2006 showed that both instruments yielded calibration equations with very similar predictive capacity for the two parameters studied. Given this similarity, and given that the DA-7000 diode-array spectrometer is – like other optically-similar instruments – more robust, newer, more stable, better-suited to 'on-site' measurements, and more economical than the bench-top monochromator, tests using the tomatoes harvested in 2007 were performed only on the DA-7000.

The working range selected for this second set was from 515 to 1650 nm, since this range had yielded the best results for both parameters using set C1. Different signal-pretreatment methods were again tested.

Table 4 shows calibration statistics for the best-fitting equations obtained for SSC and TA using the calibration set comprising 200 samples harvested in 2006 and 2007, with the DA-7000 and a spectral window of 515 to 1650 nm.

Comparison of the results obtained using training sets C1 and C2 (Tables 2–4) shows a slight variation in the predictive capacity of the equations developed; C2 results were better for SSC prediction ($r^2 = 0.80$ vs. $r^2 = 0.77$) but worse for TA prediction ($r^2 = 0.56$ vs. $r^2 = 0.66$).

Although other studies of SSC prediction in tomatoes using NIRS technology report disparate findings, with r^2 values ranging from 0.49 to 0.97 (Slaughter et al., 1996; Hong and Tsou, 1998; Walsh et al., 2004; He et al., 2005; Shao et al., 2007) and SEP values of between 0.22 and 0.38 °Brix, the models developed here for predicting SSC displayed adequate predictive capacity, bearing in mind the irregular shape of this tomato variety, which undoubtedly influences measurements.

As regards TA, Hong and Tsou (1998) recorded an r^2 value of 0.94, i.e. higher than that obtained here, although they used chopped rather than intact tomato; the residual error reported by these authors was similar to that recorded here (0.06% citric acid). Shao et al. (2007) determined the calibration correlation between NIR measurements and pH in tomatoes, obtaining a r^2 value of 0.72, similar to that found here.

3.5. External validation

External validation of the best models obtained with calibration set C2 was performed using a set comprising 100 tomato samples. Although several authors have reported that the SECV gives a realistic estimate of the error of prediction of samples not included in the calibration (Meuret et al., 1993; Shenk and Westerhaus, 1996; Martens and Dardenne, 1998), this step is necessary to obtain an independent measurement of the equation's accuracy, expressed as SEP, i.e. standard error of performance (Windham et al., 1989).

Table 1

Statistical analysis of the calibration and prediction sample sets, i.e., the data ranges, means and standard deviations (SD) and coefficients of variation (CV)

Characteristic	Item	C1	C2	V
SSC (°Brix)	Number	180	200	100
	Range	2.50–9.00	2.50–9.25	2.50–8.50
	Mean	5.30	5.78	5.73
	SD	1.31	1.36	1.34
	CV (%)	24.71	23.52	23.39
	TA (% citric acid)	Number	180	200
TA (% citric acid)	Range	0.10–0.67	0.10–0.88	0.10–0.78
	Mean	0.36	0.43	0.42
	SD	0.11	0.14	0.15
	CV (%)	30.56	29.00	35.71

Table 2
Calibration statistics for the equations obtained for the prediction of the soluble solid content (SSC, °Brix) for the different instruments and spectral ranges studied ($N = 180$ samples)

Instrument	Spectral range (nm)	Mathematic treatment	Mean	SD	Range	SEC	R^2	SECV	r^2	RPD	RER	CV
DA-7000	515–1650	2, 5, 5, 1	5.25	1.22	2.50–9.00	0.51	0.82	0.61	0.77	2.00	10.66	11.62*
	850–1650	2, 5, 5, 1	5.33	1.25	2.75–9.00	0.50	0.84	0.61	0.76	2.05	10.25	11.44
	1100–1650	1, 5, 5, 1	5.35	1.23	3.00–9.00	0.62	0.75	0.74	0.63	1.66	8.11	13.83
FNS-6500	516–1650	2, 5, 5, 1	5.28	1.28	2.50–9.00	0.53	0.83	0.59	0.79	2.17	11.02	11.17
	850–1650	2, 10, 5, 1	5.25	1.26	2.50–9.00	0.47	0.86	0.55	0.82	2.29	11.82	10.48*
	1100–1650	1, 5, 5, 1	5.29	1.26	2.50–9.00	0.60	0.78	0.66	0.74	1.91	9.84	12.47
	1100–2200	2, 10, 5, 1	5.27	1.28	2.50–9.00	0.47	0.87	0.61	0.77	2.10	10.66	11.57

Mean: mean of the calibration set.

SD: standard deviation.

SEC: standard error of calibration.

R^2 : coefficient of determination.

SECV: standard error of cross validation.

r^2 : coefficient of determination.

RPD: SD/SECV.

RER: range/SECV.

CV: coefficient of variation.

* Best equation.

Table 3
Calibration statistics for the equations obtained for the prediction of titrable acidity (TA, % citric acid) for the different instruments and spectral ranges studied ($N = 180$ samples)

Instrument	Spectral range (nm)	Mathematic treatment	Mean	SD	Range	SEC	R^2	SECV	r^2	RPD	RER	CV
DA-7000	515–1650	2, 5, 5, 1	0.36	0.11	0.10–0.67	0.06	0.76	0.06	0.66	1.83	9.50	16.66*
	850–1650	2, 5, 5, 1	0.36	0.11	0.10–0.67	0.07	0.64	0.07	0.59	1.57	8.14	19.44
	1100–1650	2, 5, 5, 1	0.37	0.11	0.10–0.67	0.07	0.62	0.08	0.52	1.38	7.12	21.62
FNS-6500	516–1650	2, 5, 5, 1	0.36	0.11	0.16–0.67	0.06	0.74	0.06	0.62	1.83	8.50	16.66
	850–1650	2, 10, 5, 1	0.36	0.11	0.16–0.67	0.05	0.75	0.06	0.71	1.83	8.50	16.66*
	1100–1650	2, 10, 5, 1	0.36	0.11	0.16–0.67	0.06	0.66	0.07	0.57	1.57	7.29	19.44
	1100–2200	1, 10, 5, 1	0.36	0.11	0.16–0.67	0.06	0.71	0.06	0.67	1.83	8.50	16.66

Mean: mean of the calibration set.

SD: standard deviation.

SEC: standard error of calibration.

R^2 : coefficient of determination.

SECV: standard error of cross validation.

r^2 : coefficient of determination.

RPD: SD/SECV.

RER: range/SECV.

CV: coefficient of variation.

* Best equation.

Table 4
Calibration statistics for the equations obtained for the prediction of the soluble solid content (SSC, °Brix) and of titrable acidity (TA, % citric acid) for DA-7000 instrument

Parameter	Mathematic treatment	Mean	Range	SD	SEC	R^2	SECV	r^2	RPD	RER	CV
SSC	1, 5, 5, 1	5.78	2.75–9.25	1.32	0.55	0.83	0.64	0.77	2.14	10.48	10.72
	2, 5, 5, 1	5.75	2.75–9.25	1.32	0.52	0.85	0.59	0.80	2.22	10.97	10.29*
	1, 10, 5, 1	5.74	2.75–9.00	1.31	0.58	0.81	0.59	0.80	2.21	10.59	10.28
	2, 10, 5, 1	5.74	2.75–9.00	1.31	0.57	0.81	0.63	0.77	2.07	9.88	11.01
TA	1, 5, 5, 1	0.43	0.20–0.74	0.13	0.08	0.65	0.09	0.56	1.51	6.35	19.95*
	2, 5, 5, 1	0.43	0.20–0.74	0.13	0.08	0.60	0.09	0.55	1.48	6.21	20.37
	1, 10, 5, 1	0.43	0.20–0.74	0.13	0.10	0.44	0.10	0.41	1.31	5.40	23.36
	2, 10, 5, 1	0.43	0.20–0.74	0.13	0.08	0.61	0.09	0.53	1.47	6.13	20.56

Spectral range: 515–1650 nm. ($N = 200$).

Mean: mean of the calibration set.

SD: standard deviation.

SEC: standard error of calibration.

R^2 : coefficient of determination.

SECV: standard error of cross validation.

r^2 : coefficient of determination.

RPD: SD/SECV.

RER: range/SECV.

CV: coefficient of variation.

* Best equation.

Figs. 6 and 7 show predicted NIRS values and values obtained by the reference method for the calibration and validation sets, for both parameters tested (SSC and TA).

Examination of the validation statistics shown in Figs. 6 and 7 reveals similar SECV and SEP values for NIRS prediction of both SSC and TA, suggesting that application of these models is feasible.

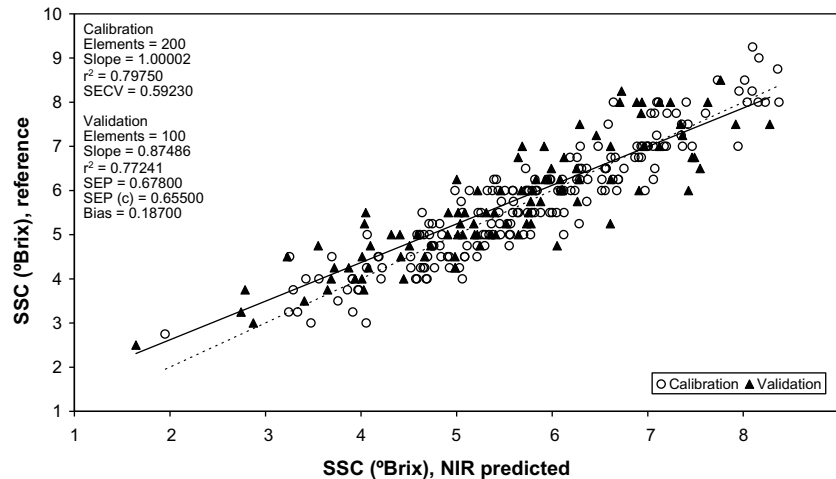


Fig. 6. Reference data vs. NIRS predicted data for the validation set for soluble solid content.

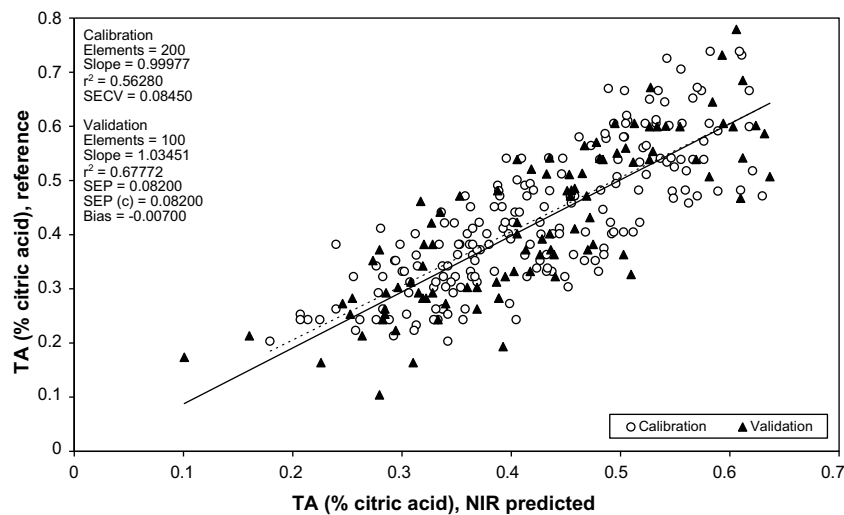


Fig. 7. Reference data vs. NIRS predicted data for the validation set for titrable acidity.

Moreover, using the monitoring procedure proposed by Shenk et al. (1989), for the two parameters studied, both the SEP(c) and the bias are below the confidence limits (limit controls for SEP(c) = 0.68 and bias = 0.312 for soluble solid content and limit controls for SEP(c) = 0.104 and bias = 0.048 for titrable acidity), showing that the two equations ensure accurate predictions.

4. Conclusions

The results show that NIRS technology enables the quantification of total soluble solid content and titrable acidity in 'Raf' tomatoes (a 'flavor' variety), both in the laboratory and at factory level, allowing increased sampling of each batch produced, and thus ensuring a more precise and accurate guarantee of specific quality. It may also be concluded that the DA-7000 spectrometer is a promising instrument for the non-destructive, on-line evaluation of tomato quality.

Acknowledgements

This research was funded by the Andalusian Regional Government under the Research Excellence Program (Project No. 3713 'Safety and Traceability in the Food Chain using NIRS').

References

- Abbott, J.A., 1999. Quality measurement of fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology* 15, 207–225.
- Arazuri, S., Jarén, C., Arana, J.I., Pérez de Ciriza, J.J., 2007. Influence of mechanical harvest on the physical properties of processing tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Journal of Food Engineering* 80, 190–198.
- Artés, F., Conesa, M.A., Hernández, S., Gil, M.I., 1999. Keeping quality of fresh-cut tomato. *Postharvest Biology and Technology* 17, 153–162.
- Baldwin, E.A., Scott, J.W., Einstein, M.A., Malundo, T.M.M., Carr, B.T., Shewfelt, R.L., Tandon, K.S., 1998. Relationship between sensory and instrumental analysis for tomato flavor. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 123, 906–915.
- Barnes, R.J., Dhanoa, M.S., Lister, S.J., 1989. Standard normal variate transformation and De-trending of near infrared diffuse reflectance spectra. *Applied Spectroscopy* 43, 772–777.
- Garrido, A., 2000. La spectroscopie proche infrarouge: une technologie d'appui pour un service intégral en alimentation animale. In: Bertrand, D., Dufour, E. (Eds.), *La Spectroscopie Infrarouge et ses Applications Analytiques*. TEC & DOC, Paris, pp. 473–496.
- He, Y., Zhang, Y., Pereira, A.G., Gómez, A.H., Wang, J., 2005. Nondestructive determination of tomato fruit quality characteristics using VIS/NIR spectroscopy technique. *International Journal of Information Technology* 11, 97–108.
- Hong, T.L., Tsou, S.C.S., 1998. Determination of tomato quality by near infrared spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 6, A321–A324.
- Hruschka, H., Probst, M., Fettes, W., 2001. A combined artificial neural network-multinomial logit model to measure marketing effects. In: Mastorakis, N. (Ed.), *Advances in Neural Networks and Applications*. World Scientific and Engineering Society Press, pp. 339–343.

- Kader, A.A., 1986. Effects of postharvest handling procedures on tomato quality. *Acta Horticulturae* 190, 209–221.
- Kader, A.A., Morris, L.L., Stevens, M.A., Albright-Holton, M., 1978. Composition and flavor quality of fresh market tomatoes as influenced by some postharvest handling. *Journal of American Society for Horticultural Science* 103, 6–11.
- Lammertyn, J., Peirs, A., De Baerdemaeker, J., Nicolai, B., 2000. Light penetration properties of NIR radiation in fruit with respect to non-destructive quality assessment. *Postharvest Biology and Technology* 1, 121–132.
- Liu, Y., Ying, Y., Fu, X., 2005. Prediction of valid acidity in intact apples with Fourier transform near infrared spectroscopy. *Journal of Zhejiang University Science* 6B, 158–164.
- Long, R.L., Walsh, K.B., 2006. Limitations to the measurement of intact melon total soluble solids using near infrared spectroscopy. *Australian Journal of Agricultural Research* 57, 403–410.
- Martens, H.A., Dardenne, P., 1998. Validation and verification of regression in small data sets. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 44, 99–121.
- McGlone, V.A., Fraser, D.G., Jordan, R.B., Künemeyer, R., 2003. Internal quality assessment of mandarin fruit by vis/NIR spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 11, 323–332.
- Meuret, M., Dardenne, P., Biston, R., Poty, O., 1993. The use of NIR in predicting nutritive value of Mediterranean tree and shrub foliage. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 1, 45–54.
- Osborne, B.G., Fearn, T., Hindle, P.H., 1993. Practical NIR spectroscopy with applications. In: Osborne, B.G., Fearn, T., Hindle, P.H. (Eds.), *Food and Beverage Analysis*. Longman, Essex, pp. 11–35.
- Saranwong, S., Kawano, S., 2007. Applications to agricultural and marine products: fruits and vegetables. In: Ozaki, Y., McClure, W.F., Christy, A.A. (Eds.), *Near-Infrared Spectroscopy in Food Science and Technology*. John Wiley & Sons, Inc., New Jersey, Hoboken, pp. 219–242.
- Saranwong, S., Sornsrivichai, J., Kawano, S., 2003. Performance of a portable near infrared instrument for Brix value determination of intact mango fruit. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 11, 175–181.
- Schmilovitch, Z., Mizrach, A., Hoffman, A., Egozi, H., Fuchs, Y., 2000. Determination of mango physiological indices by near-infrared spectrometry. *Postharvest Biology and Technology* 19, 245–252.
- Shao, Y., He, Y., Gómez, A.H., Pereir, A.G., Qiu, Z., Zhang, Y., 2007. Visible/near infrared spectrometric technique for nondestructive assessment of tomato "Heatwave" (*Lycopersicon esculentum*) quality characteristics. *Journal of Food Engineering* 81, 672–678.
- Shenk, J.S., Westerhaus, M.O., 1991. Population definition sample selection and calibration procedures for near infrared spectra and modified partial least squares regression. *Crop Science* 31, 469–474.
- Shenk, J.S., Westerhaus, M.O., 1995a. Analysis of Agriculture and Food Products by Near Infrared Reflectance Spectroscopy. Monograph, NIRSystems.
- Shenk, J.S., Westerhaus, M.O., 1995b. Routine Operation, Calibration, Development and Network System Management Manual. NIRSystem Inc., 12101 Tech Road, Silver Spring, MD 20904, USA.
- Shenk, J.S., Westerhaus, M.O., 1996. Calibration the ISI way. In: Davies, A.M.C., Williams, P.C. (Eds.), *Near Infrared Spectroscopy: The Future Waves*. NIR Publications, Chichester, pp. 198–202.
- Shenk, J.S., Westerhaus, M.O., Abrams, S.M., 1989. Protocol for NIR calibrations: monitoring analysis results and recalibration. In: Martens, G.C., Shenk, J.S., Barton, F.E., II (Eds.), *Near Infrared Spectroscopy (NIRS): Analysis of Forage Quality*, Agriculture Handbook, vol. 643. USDA-ARS, US Government Printing Office, Washington, DC, pp. 104–110.
- Slaughter, D.C., Abbott, J.A., 2004. Analysis of fruits and vegetables. In: Roberts, C.A., Workman, J., Reeves, J.B., III (Eds.), *Near-Infrared Spectroscopy in Agriculture*. ASA, CSSA and SSSA, Madison, Wisconsin, pp. 377–398.
- Slaughter, D.C., Barrett, D., Boersig, M., 1996. Nondestructive determination of soluble solids in tomatoes using near infrared spectroscopy. *Journal of Food Science* 61, 695–697.
- Walsh, K.B., Golic, M., Greensill, C.V., 2004. Sorting of fruit using near infrared spectroscopy: application to a range of fruit and vegetables for soluble solids and dry matter content. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 12, 141–148.
- Williams, P.C., 2001. Implementation of near-infrared technology. In: Williams, P.C., Norris, K.H. (Eds.), *Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*. AACC Inc., St. Paul, MN, pp. 145–171.
- Windham, W.R., Mertens, D.R., Barton II, F.E., 1989. Protocol for NIRS calibration: sample selection and equation development and validation. In: Martens, G.C., Shenk, J.S., Barton, F.E., II (Eds.), *Near Infrared Spectroscopy (NIRS): Analysis of Forage Quality*, Agriculture Handbook, vol. 643. USDA-ARS, US Government Printing Office, Washington, DC, pp. 96–103.

Capítulo 4

Capítulo 4. LA TECNOLOGÍA NIRS PARA PREDICCIÓN DE TEXTURA Y VIDA ÚTIL POSCOSECHA EN ESPÁRRAGOS INTACTOS

4.1. LA TECNOLOGÍA NIRS PARA LA PREDICCIÓN DE TEXTURA EN ESPÁRRAGOS VERDES INTACTOS

4.1.1. Quantitative assessment of intact green asparagus quality by Near Infrared Spectroscopy



Contents lists available at ScienceDirect

Postharvest Biology and Technology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/postharvbio

Quantitative assessment of intact green asparagus quality by near infrared spectroscopy

Katherine Flores-Rojas^a, María-Teresa Sánchez^{a,*}, Dolores Pérez-Marín^{b,*}, José Emilio Guerrero^b, Ana Garrido-Varo^b

^a Department of Bromatology and Food Technology, University of Cordoba, Campus of Rabanales, 14071 Córdoba, Spain

^b Department of Animal Production, University of Cordoba, Campus of Rabanales, 14071 Córdoba, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 21 August 2008

Accepted 20 December 2008

Keywords:

Green asparagus

NIR spectroscopy

Non-destructive analysis

Texture

Quality

ABSTRACT

NIR spectroscopy was used to assess textural parameters (maximum shear force and cutting energy) in intact green asparagus. At the same time, two commercially available spectrophotometers, which differ primarily in terms of measurement principles, were evaluated: a scanning monochromator (SM) of 400–2500 nm and a combination of diode array and scanning monochromator (DASM) of 350–2500 nm. A total of 468 green asparagus spears cv. ‘UC-157’ were used to obtain calibration models based on reference data and NIR spectral data. Both instruments provided good precision for maximum shear force, with r^2 values between 0.55 and 0.67 and standard error of cross-validation (SECV) ranging from 7.81 to 8.43 N, and also for cutting energy ($r^2 = 0.60–0.74$; SECV = 0.06–0.07 J). The results obtained suggest that NIR spectroscopy is a promising technology for predicting intact green asparagus quality in terms of texture. They also show that the two spectrophotometers tested provided a similar degree of accuracy for texture measurements in intact green asparagus.

© 2009 Published by Elsevier B.V.

1. Introduction

Appearance, flavor and texture are the key characteristics governing food acceptability (Bourne, 1978; Beauchamp, 1990; Abbott, 1999). The relative importance of each of these quality parameters depends on the type of food and on consumer demands and preferences, and is influenced by a variety of factors ranging from socioeconomic to purely personal considerations (Drewnowski, 1997).

In asparagus, texture is one of the sensory properties most influencing consumer acceptance or rejection (Bourne, 1976; Sánchez, 1996; Jarén et al., 2006). Texture is determined by a number of pre- and post-harvest factors, including variety, weather conditions before and during harvesting, post-harvest spear length, cut location, and storage conditions (Chang, 1987). Texture analysis is thus a key element in asparagus quality control. However, the development of a non-invasive instrumental method for texture determination in intact products, permitting speedy, accurate and reproducible results, has not proved an easy task.

NIRS technology provides a non-destructive analytical sensor, offering both speed and precision; it is also highly versatile, in that

a single instrument can be used for a whole range of products and analytical parameters (Walsh et al., 2000; Slaughter and Abbott, 2004). However, although NIRS analysis of fruit and vegetables has enormous potential and offers numerous advantages over traditional methods, its use in certain vegetables has been hindered by a number of features inherent in the product. The chief obstacles in the case of asparagus are its high moisture content, which hampers the capture of relevant attributes of interest in the spectrum, major variations between individual spears (fibrosity gradients, etc.), and product morphology, which considerably hinders adaptation of the sample-instrument interface (Kays et al., 2000).

Previous research has demonstrated the potential of NIRS technology for quantitative (chemical composition and texture) and qualitative (variety identification) analysis in green asparagus (Garrido et al., 2001; Pérez-Marín et al., 2001, 2002). However, these studies all used previously dried and ground samples rather than intact asparagus, thus failing to exploit two of the main advantages of NIRS technology, its non-destructive nature and its speed in predicting product quality parameters.

In recent years, NIRS instruments have undergone radical changes; they are now much more versatile in terms of the infrared region in which measurements can be made, more portable and better adapted to on-site measurement. Low cost instruments have also started to appear in the market (Saranwong and Kawano, 2007). Further research is required into the interaction of NIRS radiation from different regions of the near-infrared with intact vegetables,

* Corresponding authors. Tel.: +34 957 212576; fax: +34 957 212000.

E-mail addresses: teresa.sanchez@uco.es (M.-T. Sánchez), pa2pemad@uco.es (D. Pérez-Marín).

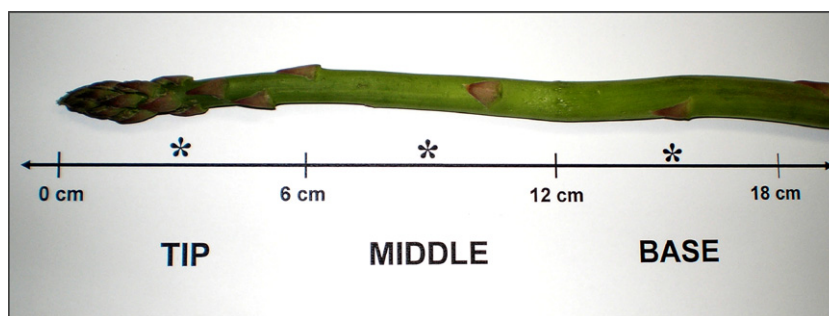


Fig. 1. Areas measured in green asparagus.

with a view to optimizing instruments depending on the type of vegetable and the parameters to be measured, before this technology can be successfully transferred to the vegetable industry and, especially, implemented on a large scale. Another key aspect for the development and implementation of NIRS technology is the possibility of transferring calibrations obtained between different instruments. Although, it is known that the consistency of the measurements across instruments can be poor, even between instruments of the same type, there are different strategies and methods that allow achieving the standardisation of instruments and the transferring of the models (Fearn, 2001).

The present study sought to assess the feasibility of rapid measurement of intact green asparagus texture using two NIRS instruments, a scanning monochromator (SM) better suited, due to its technical characteristics, to laboratory analysis, and a combination of diode array and scanning monochromator offering greater versatility in terms of its potential use for on-site measurement. The specific objectives of this research were (1) to establish correlations between NIR measurements and texture parameters in intact green asparagus, and (2) to compare the performance of calibration models obtained using different instruments, different spectra treatments and wavelength ranges, in order to identify the most suitable instrument and the optimal wavelength range, and thus to obtain the most accurate calibration model.

2. Materials and methods

2.1. Vegetable material: calibration and validation sets

A total of 468 green asparagus spears (*Asparagus officinalis*, L., cultivar 'UC-157'), grown in selected, controlled plots in Huétor-Tájar (Granada, Spain), were harvested by hand over 1–3-month crop season (April–June, 2007). Spears were stored under refrigeration (2 °C, 95% R.H.) and exposed to one of three controlled atmosphere (CA) treatments: air (21 kPa O₂ + 0.3 kPa CO₂), CA₁ (5 kPa O₂ + 5 kPa CO₂) and CA₂ (10 kPa O₂ + 10 kPa CO₂). The product

was kept under these conditions throughout the trial period, with samples drawn for analysis at 7, 14, 21 and 28 d; fresh untreated samples (0 d) were used as control.

Fresh and stored asparagus spears were cut into three parts for analysis: tip (0–6 cm, measured from the apex of the spear), middle portion (6–12 cm) and base (12–18 cm) (Fig. 1). Maximum shear force and cutting energy were measured, and NIRS spectra captured. After cutting spears into three portions, the total number of available samples was 1404.

In order to predict the reference parameters, calibration and validation sets were formed for the two instruments tested. Samples to be used for both sets were selected solely on the basis of spectral data, following the method proposed by Shenk and Westerhaus (1991) using the CENTER algorithm included in the WinISI II software package Version 1.50 (Infrasoft International, Port Matilda, PA, USA). This program performs an initial principal component analysis (PCA) to calculate the centre of the population and the distance of samples (spectra) from that centre in an *n*-dimensional space, using the Mahalanobis distance (GH); samples with a statistical value greater than 3 were considered outliers or anomalous spectra. Having ordered the sample set by spectral distances (from smallest to greatest distance to the centre), and after elimination of outliers, the 100 samples comprising the validation sets were selected by taking 1 of every 12 samples from the initial sets (Table 1).

2.2. Texture measurement

Texture is objectively measured by physical parameters: maximum shear force and cutting energy. Texture measurements were made individually at three points on the spear (3, 9 and 15 cm from the apex), following the method proposed by Wiley et al. (1956), recording shear force versus time curve. The Warner–Bratzler cutting cell was used in conjunction with a Universal Testing Machine (Model 3343 Single Column, Instron Corporation, Norwood, MA, USA), fitted with a 1000 N load cell, selecting a displacement speed of 20 mm/min.

Table 1

Statistical analysis of the calibration and validation sets, i.e. data range, mean, standard deviation (S.D.) and coefficient of variation (CV).

Parameters	Items	Instruments			
		FNS-6500		LabSpec® Pro A108310	
		Calibration set (n ^a = 1275)	Validation set (n ^a = 100)	Calibration set (n ^a = 1124)	Validation set (n ^a = 100)
Maximum shear force (N)	Range	13.58–211.52	13.86–100.41	13.58–211.52	17.50–116.94
	Mean	44.95	41.98	43.59	43.92
	S.D.	20.79	16.62	19.71	20.05
	CV (%)	46.25	39.59	45.22	45.65
Cutting energy (J)	Range	0.06–1.59	0.06–0.78	0.06–1.56	0.08–1.26
	Mean	0.29	0.29	0.29	0.28
	S.D.	0.18	0.15	0.17	0.20
	CV (%)	62.06	51.72	58.62	71.42

^a Number of samples.

Table 2
Basic technical characteristics of two spectrophotometers: scanning monochromator (SM) and diode array and scanning monochromator (DASM).

Properties	Instruments	
	SM: FNS-6500	DASM: LabSpec®Pro A108310
Detector type	Silicon, 400–1100 nm. Lead sulphide, 1100–2500 nm	Modular silicon array and two peltier cooled InGaAs detectors
Wavelength range (nm)	400–2500	350–2500
Spectral bandpass	10 nm ± 1 nm in reflectance	3 nm at 700 nm; 10 nm at 1400–2100 nm
Spectral data rate	1.8 scans/s	0.1 s
Dispersion	Pre	Post
Light source	Full spectrum	Full spectrum
Analysis mode	Interactance–reflectance	Interactance–reflectance

The study parameters [maximum shear force (N) and cutting energy (J)], were measured and recorded using Instron Bluehill 2 software Version 2.5. Changes in these parameters in each area of the spear (tip, middle and base) were monitored during storage, as a function of storage treatment, storage duration and harvest date; 1404 measurements were made for each textural parameter.

2.3. Spectra collection

Spectra were collected on all samples in reflectance–interactance mode ($\log 1/R$) using two NIR-instruments: (1) FNS-6500 scanning monochromator (FOSS NIRSystems, Silver Spring, MD, USA); and (2) Vis/NIR Spectrometer LabSpec®Pro A108310 (Analytical Spectral Device (ASD) Inc., Boulder, CO, USA). The main features of these instruments are listed in Table 2.

The FNS-6500 scanning monochromator was interfaced to a remote reflectance–interactance fiber-optic probe (NR-6539-A) with a 50 mm × 6 mm window. Each spear portion to be analyzed was hand-placed in the probe so that the desired asparagus location was centred on, and in direct contact with, the probe. Two separate spectral measurements were made on each spear portion, rotating the sample through 180° after the first measurement. The optical absorption spectrum ranged from 400 to 2500 nm in 2-nm steps. The signal was collected using the WINISI II Version 1.50 software package (Infrasoft International, Port Matilda, PA, USA).

The LabSpec®Pro A108310 spectrophotometer (DASM) was equipped with a fiber-optic contact probe, working in reflectance mode in the spectral range of 350–2500 nm, every 1 nm. The first measurement was made at the middle point of the spear portion to be analyzed, and the second after rotating the sample through 180°. The signal was collected using Indico™ Pro software (ASD Inc., Boulder, CO, USA) and subsequently pre-processed using the Unscrambler Version 7.5 program (CAMO, ASA, Oslo, Norway).

In both cases, the averaged spectrum for each spear was used for data processing.

2.4. Data processing

The WinISI II software package Version 1.50 (Infrasoft International, Port Matilda, PA, USA) was used for the chemometric treatment of data (ISI, 2000).

Quantitative calibrations were developed for predicting texture in intact green asparagus. The prediction equations were obtained using modified partial least squares (MPLS) as regression method (Shenk and Westerhaus, 1995a). Partial least squares (PLS) regression is similar to principal component regression (PCR), but uses both reference data (chemical, physical, etc.) and spectral information to identify the factors useful for fitting (Martens

and Naes, 1989). MPLS is often more stable and accurate than the standard PLS algorithm. In MPLS, the NIR residuals at each wavelength, obtained after each factor is calculated, are standardized (divided by the standard deviations of the residuals at a wavelength) before calculating the next factor. When developing MPLS equations, cross-validation is recommended to select the optimal number of factors and to avoid overfitting (Shenk and Westerhaus, 1995a). For cross-validation, the calibration set was partitioned into four groups, each group was then validated using a calibration developed on the other samples, and finally, validation errors were combined to obtain a standard error of cross-validation (SECV).

All multivariate regression equations were obtained using the standard normal variate and detrending methods for scatter correction (Barnes et al., 1989). Moreover, four derivative mathematical treatments were tested in the development of NIRS calibrations: 1,5,5,1; 2,5,5,1; 1,10,5,1 and 2,10,5,1 where the first digit is the number of the derivative, the second is the gap over which the derivative is calculated, the third is the number of data points in a running average or smoothing, and the fourth the second smoothing (Shenk and Westerhaus, 1995b).

The following spectral regions were tested for calibration purposes on each instrument: 500–2200 nm (the higher spectral range with useful information, after removing the noise, for both instruments, covering the VIS + NIR regions); 800–2200 nm (higher spectral range covering the NIR region only) and 1100–2200 nm (including only the spectral range corresponding to the second detector in the FNS-6500 instrument). In order to eliminate spectral noise at the beginning and end of the spectral range, regions between 350 and 500 nm and between 2200 and 2500 nm were discarded.

The statistics used to select the best equations were: standard error of calibration (SEC), coefficient of determination of calibration (R^2), standard error of cross-validation, coefficient of determination for cross-validation (r^2), RPD or ratio of the standard deviation of the original data (SD) to SECV, and the CV (coefficient of variation) or ratio between the SECV and the mean value of the reference data of the studied parameter for the training set. This statistic enables SECV to be standardized, facilitating the comparison of the results obtained with sets of different means (Williams, 2001).

The best-fitting equations, as selected by statistical criteria, were subsequently evaluated by external validation, a procedure determining the predictive ability of an equation based on a sample set which has not been used in the calibration procedures. This statistical process is based on the determination of a known significant error, termed “bias”, and an unexplained significant error, termed SEP(c) (standard error of performance, bias-corrected) (Windham et al., 1989).

Generally, for calibration groups comprising 100 or more samples, and validation groups containing nine or more samples, the following control limits are assumed (Shenk et al., 1989; Shenk and Westerhaus, 1996):

• Limit control SEP(c) = $1.30 \times \text{SEC}$ (standard error of calibration).

• Limit control bias = $\pm 0.60 \times \text{SEC}$ (standard error of calibration).

3. Results and discussion

3.1. NIR response to tissue absorption

Similar spectral patterns were obtained with the two instruments, although absorption levels differed. In the visible region, one peak was detected (~672 nm) characteristic of the chlorophyll band. In the near-infrared region, the spectrum was dominated by water peaks, recorded at around 970, 1450 and 1940 nm (Osborne

Table 3
Statistics for calibration equations obtained for predicting maximum shear force (N) and cutting energy (J) in intact green asparagus using two different instruments and various spectral ranges.

Parameters	Instruments	Spectral ranges	Math treatments	Terms	Mean ^a	Range	S.D. ^b	SEC ^c	R ^{2d}	SECV ^e	r ^{2f}	RPD ^g	CV ^h
Maximum shear force (N)	FNS-6500	500–2200	2,5,5,1	6	40.82	13.58–90.93	13.60	7.43	0.70	7.81	0.67	1.74	19.14
		800–2200	2,10,5,1	8	40.68	13.58–88.24	13.49	7.86	0.66	8.30	0.62	1.63	20.40
		1100–2200	1,10,5,1	6	40.30	13.58–80.19	12.84	8.79	0.53	8.98	0.51	1.43	22.29
	LabSpec [®] Pro A108310	500–2200	2,10,5,1	4	40.51	13.58–79.61	13.31	9.08	0.54	9.37	0.50	1.42	23.13
		800–2200	1,5,5,1	8	40.43	13.58–80.05	13.31	8.62	0.58	9.09	0.53	1.46	22.48
		1100–2200	1,10,5,1	9	39.77	13.58–79.61	12.60	8.04	0.59	8.43	0.55	1.49	21.20
Cutting energy (J)	FNS-6500	500–2200	1,10,5,1	11	0.26	0.06–0.74	0.12	0.06	0.75	0.06	0.74	1.95	23.35
		800–2200	1,5,5,1	9	0.25	0.06–0.74	0.12	0.06	0.72	0.06	0.69	1.80	25.60
		1100–2200	1,5,5,1	8	0.26	0.06–0.69	0.12	0.07	0.62	0.08	0.58	1.54	29.34
	LabSpec [®] Pro A108310	500–2200	2,10,5,1	4	0.25	0.06–0.57	0.11	0.07	0.59	0.07	0.56	1.50	28.92
		800–2200	1,10,5,1	9	0.25	0.06–0.57	0.11	0.06	0.64	0.07	0.60	1.61	26.83
		1100–2200	1,5,5,1	8	0.24	0.06–0.54	0.10	0.06	0.64	0.07	0.60	1.57	26.75

^a Mean of the calibration set.^b Standard deviation of the calibration set.^c Standard error of calibration.^d Coefficient of determination of calibration.^e Standard error of cross-validation.^f Coefficient of determination of cross-validation.^g Ratio S.D./SECV.^h Coefficient of variation.ⁱ Best equation.

et al., 1993; Lammertyn et al., 2000; Williams, 2001), as is usually the case for vegetables, particularly those with a high water content, such as asparagus (around 92% water). The absorption bands at 1160 and 1790 nm are related to C–H bonds and have been associated with glucides such as cellulose (Osborne et al., 1993; Maalouly and Jaillais, 2006); these compounds account for around 2.5% of asparagus weight.

3.2. Population structuring

The number of samples in the calibration and validation sets is shown in Table 1, together with range, mean, S.D., and CV values.

The CENTER algorithm was applied to the all-sample set in order to determine the structure of the population and define the calibration and external validation sets. Samples marked with *H* values

higher than 3 were considered outliers (Shenk and Westerhaus, 1991). For both instruments, outlier samples all belonged to asparagus stored for 21 or 28 d, which after refrigerated storage in a controlled atmosphere displayed more extreme deterioration than that reported either in fresh or spears dipped in antioxidant solutions (Albanese et al., 2007).

3.3. Calibration development

Table 3 shows the statistics for the best-fitting equations obtained for maximum shear force and cutting energy using the two NIR instruments tested, FNS-6500 and LabSpec[®]Pro A108310.

For maximum shear force as predicted using the FNS-6500, the MPLS method yielded the best calibrations using $D_2 \log(1/R)$ with the spectral window 500–2200 nm, whilst using the LabSpec[®]Pro A108310, the best result was obtained with $D_1 \log(1/R)$ for the

Table 4
Validation statistics for the prediction of maximum shear force (N) and cutting energy (J) in green asparagus ($n = 100$).

Parameters	Instruments	Spectral ranges (nm)	Mean		S.D.		Prediction		Limit control ^a		
			R ^b	P ^c	R ^b	P ^c	SEP ^d	SEP(c) ^e	Bias	SEP(c)	Bias
Maximum shear force (N)	FNS-6500	500–2200	38.88	40.20	12.06	10.15	8.51	8.45	–1.317	9.66	±4.458
		800–2200	39.09	40.41	12.33	10.91	9.03	8.99	–1.318	10.22	±4.717
		1100–2200	39.57	39.88	12.90	9.63	9.52	9.57	–0.314	11.43	±5.276
	LabSpec [®] Pro A108310	500–2200	38.81	41.49	12.28	9.30	9.23	8.88	–2.678	11.81	±5.449
		800–2200	38.89	40.79	12.05	9.66	9.10	8.95	–1.900	11.20	±5.169
		1100–2200	38.31	40.25	10.88	9.92	8.82	8.66	–1.937	10.45	±4.824
Cutting energy (J)	FNS-6500	500–2200	0.26	0.26	0.12	0.09	0.06	0.06	0.004	0.08	±0.035
		800–2200	0.26	0.26	0.12	0.09	0.06	0.06	0.002	0.08	±0.036
		1100–2200	0.25	0.26	0.12	0.09	0.07	0.07	–0.005	0.09	±0.043
	LabSpec [®] Pro A108310	500–2200	0.24	0.26	0.11	0.08	0.08	0.08	–0.017	0.09	±0.041
		800–2200	0.24	0.25	0.10	0.08	0.07	0.07	–0.017	0.08	±0.038
		1100–2200	0.26	0.26	0.12	0.09	0.06	0.06	–0.002	0.08	±0.037

^a $1.30 \times \text{SEC}$ for SEP(c) and $\pm 0.60 \times \text{SEC}$ for bias.^b Reference values.^c NIRS predicted values.^d Standard error of prediction.^e Standard error of prediction bias corrected.

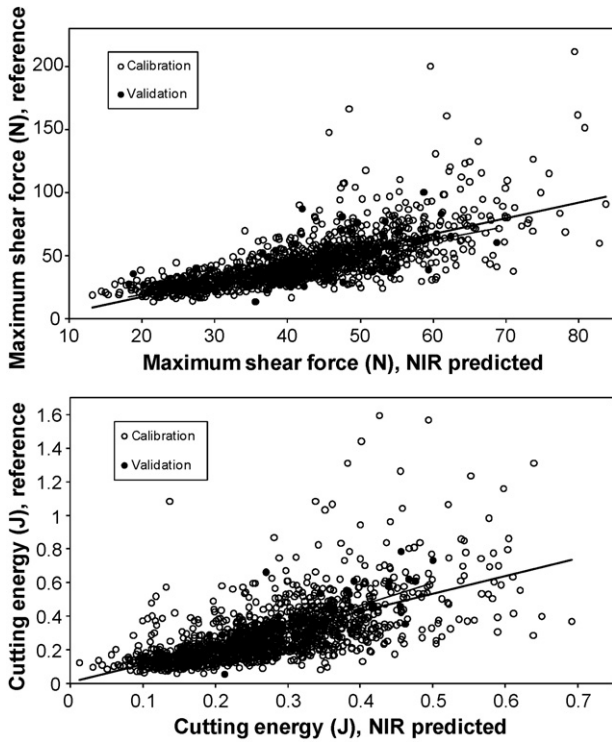


Fig. 2. Reference data vs. NIRS predicted data for the calibration and validation set for maximum shear force (N) and cutting energy (J). Instrument FNS-6500. Spectral range: 500–2200 nm.

spectral window 1100–2200 nm. For cutting energy prediction, the best models were obtained using $D_1 \log(1/R)$ at wavelength range of 500–2200 nm for the FNS-6500, and at wavelength range of 1100–2200 nm for the LabSpec® Pro A108310.

Both instruments tested displayed adequate predictive capacity for maximum shear force, bearing in mind that this is a physi-

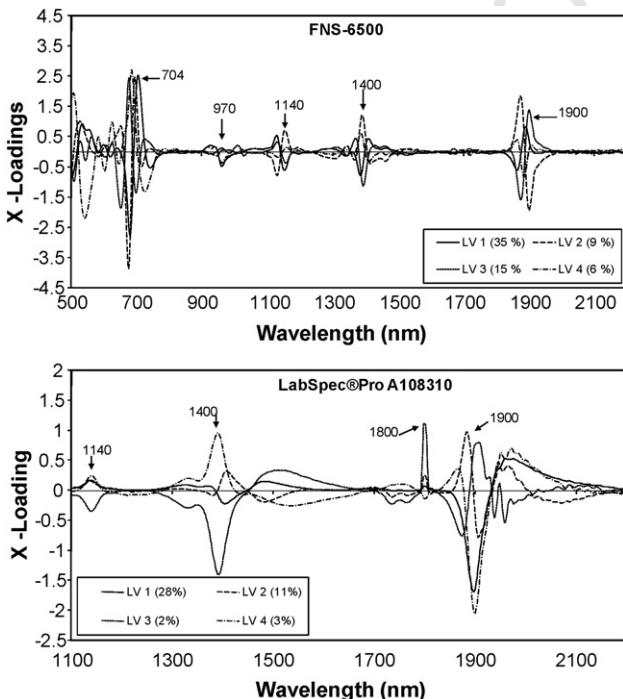


Fig. 3. Loadings for maximum shear force.

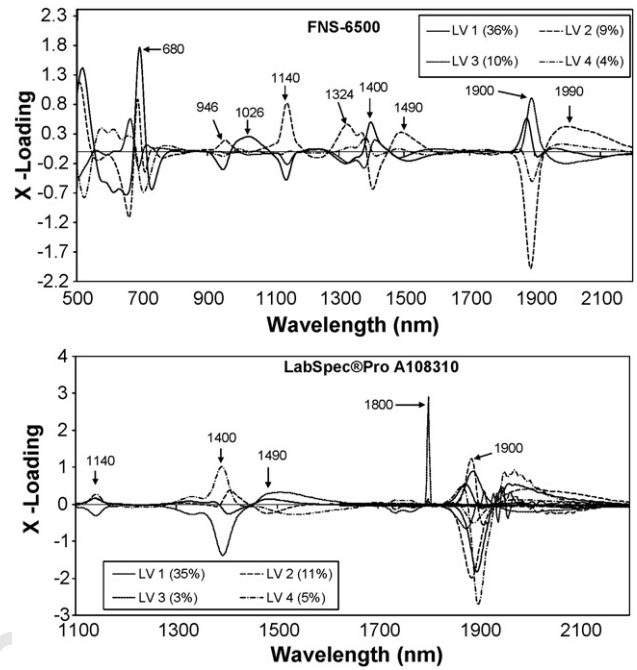


Fig. 4. Loadings for cutting energy.

cal parameter and that the spectrum was captured from an intact product. Results were marginally more accurate with the FNS-6500 than with the LabSpec® Pro A108310 ($r^2 = 0.67$ vs. 0.55 ; $SECV = 7.81$ N vs. 8.43 N; $RPD = 1.74$ vs. 1.49 ; $CV = 19.14$ vs. 21.20 , respectively). As Table 3 shows, the predictive capacity of both models for cutting energy may be considered good, although again the FNS-6500 performed slightly better ($r^2 = 0.74$ vs. 0.60 ; $SECV = 0.06$ J vs. 0.07 J; $RPD = 1.95$ vs. 1.57 ; $CV = 23.35$ vs. 26.75 , respectively).

The best-fitting equations accounted for 67% of the variation noted using the reference method for maximum shear force, and 74% for cutting energy. Shenk and Westerhaus (1996) suggest that an r^2 value of more than 0.9 indicates excellent quantitative information, a value of between 0.70 and 0.89 indicates good quantitative information and a value of between 0.50 and 0.69 indicates good separation of samples into high, medium and low groups; accordingly, the results for maximum shear force ($r^2 = 0.67$) and cutting energy ($r^2 = 0.74$) show that the equations obtained will provide a good separation of samples for maximum shear force and good quantitative information in the case of cutting energy.

Comparison of these results with those reported in the literature suggests that while Pérez-Marín et al. (2002) obtained slightly higher values for both maximum shear force ($r^2 = 0.84$, $SECV = 5.73$ N; $RPD = 2.47$) and cutting energy ($r^2 = 0.85$, $SECV = 0.04$ J; $RPD = 2.54$), these authors were working with dry, ground samples, which diminished two of the main sources of error associated with spectrum capture in asparagus: moisture content, which hampers the capture of spectra relevant for other attributes of interest, and product morphology, which considerably hinders adaptation of the sample-instrument interface. Nonetheless, the lower predictive capacity of the models obtained here is offset by greater speed of analysis due to use of the intact product, and also by the non-destructive nature of the method, allowing wider sampling of all product batches.

3.4. External validation

External validations of the best calibration models obtained for each instrument and each selected spectral window (Table 3) were

performed using sets comprising 100 asparagus samples (Table 1). Although several authors have reported that the SECV gives a realistic estimate of the error prediction of samples not included in the calibration (Meuret et al., 1993; Shenk and Westerhaus, 1996; Martens and Dardenne, 1998), this step is necessary to obtain an independent measurement of the equation accuracy expressed as SEP, i.e. standard error of performance (Windham et al., 1989).

Table 4 shows external validation statistics for the two parameters studied, for both instruments and for all the models obtained. Values for SECV and SEP were very similar in all cases, confirming that application of these models is feasible (Tables 3 and 4). In terms of the monitoring procedure outlined by Shenk et al. (1989), for the two parameters studied, both the SEP(c) and the bias were below confidence limits (Table 4): equations thus ensured accurate predictions.

The results are most clearly expressed in Fig. 2, which shows the fit obtained with the best calibration models, i.e. equations obtained using the FNS-6500 in the region 500–2200 nm, and mathematical treatments (2,5,5,1) for maximum shear force and (1,10,5,1) for cutting energy, together with results obtained using a separate validation set.

3.5. Effective wavelengths for predicting maximum shear force and cutting energy

The loading plots corresponding to the best models obtained for predicting maximum shear force and cutting energy are shown in Figs. 3 and 4. These plots show the areas across the spectral range where variance has influenced computing of the model to a greater or lesser degree, and the direction (positive or negative).

For the prediction of maximum shear force in intact green asparagus using the FNS-6500, representation of the four latent variables (LV) used in constructing the calibration equation shows that the areas of the spectrum exerting greatest weight on model fitting were 680 and 704 nm in the visible region, and 970, 1140, 1400, and 1900 nm, related to the absorption of glucides and water (Fig. 3). For the LabSpec[®] Pro A108310, the best results were obtained in the spectral range of 1100–2200 nm, and the areas exerting greatest weight were the same as those found for the FNS-6500.

For the prediction of cutting energy using the FNS-6500, the wavelengths exerting greatest weight were 680 nm in the visible region and 946, 1026, 1140, 1324, 1400, 1490, 1900 and 1990 nm, also associated with glucide and water absorption; their influence was either positive or negative, depending on the latent variable in question (Fig. 4). Using the LabSpec[®] Pro A108310, the most effective wavelengths were 1140, 1400, 1490, 1800, 1900 and 1990 nm. A marked positive influence was noted at 1800 nm for latent variable 8 (3.4%), an absorption area characteristic of cellulose (Osborne et al., 1993).

The results obtained suggest that NIR spectroscopy is a promising technology for predicting intact green asparagus quality in terms of texture, using a non-destructive, instantaneous technique, thus allowing increased sampling of each batch produced, and ensuring a more precise and accurate guarantee of specific quality. It may also be concluded that both instruments tested produces similar results for this application.

Acknowledgements

This research was funded by the Andalusian Regional Government under the Research Excellence Program (Project No. 3713 'Safety and Traceability in the Food Chain using NIRS') and the Research Program in Ecological Agriculture (Project No. 92162/3 'Postharvest Treatments for Increasing Asparagus Shelf-life').

References

- Abbott, J.A., 1999. Quality measurement of fruits and vegetables. *Postharvest Biol. Technol.* 15, 207–225.
- Albanese, D., Russo, L., Cinquanta, L., Brasiello, A., Di Matteo, M., 2007. Physical and chemical changes in minimally processed green asparagus during cold-storage. *Food Chem.* 1, 274–280.
- Barnes, R.J., Dhanoa, M.S., Lister, S.J., 1989. Standard normal variate transformation and De-trending of near infrared diffuse reflectance spectra. *Appl. Spectrosc.* 43, 772–777.
- Beauchamp, G.K., 1990. Research in chemosensation related to flavor and fragrance perception. *Food Technol.* 44, 98–100.
- Bourne, M.C., 1976. Texture of fruits and vegetables. In: De Man, J.M., Voisey, P.W., Rasper, V.F., Stanley, D.W. (Eds.), *Rheology and Texture in Food Quality*. Van Nostrand Reinhold/AVI, New York, pp. 275–307.
- Bourne, M.C., 1978. Texture profile analysis. *Food Technol.* 32, 62–66.
- Chang, D.N., 1987. Asparagus. In: Weichmann, J. (Ed.), *Postharvest Physiology of Vegetables*. Marcel Dekker, New York, pp. 523–525.
- Drewnowski, A., 1997. Taste preferences and food-intake. *Annu. Rev. Nutr.* 17, 237–253.
- Fearn, T., 2001. Standardization and calibration transfer for near infrared instruments: a review. *J. Near Infrared Spectrosc.* 9, 229–244.
- Garrido, A., Sánchez, M.T., Cano, G., Pérez-Marín, D., López, C., 2001. Prediction of neutral and acid detergent fiber content of green asparagus stored under refrigeration and modified atmosphere conditions by near-infrared reflectance spectroscopy. *J. Food Qual.* 6, 539–550.
- ISI, 2000. *The Complete Software Solution Using a Single Screen for Routine Analysis, Robust Calibrations, and Networking*. Manual, FOSS NIRSystems/TECATOR. Infrasoft International, LLC, Silver Spring, MD.
- Jarén, C., Arazuri, S., García, M.J., Arnal, P., Arana, J.I., 2006. White asparagus harvest date discrimination using NIRS technology. *Int. J. Infrared Milli.* 27, 391–401.
- Kays, S.J., Dull, G.G., Leffler, R.G., 2000. Challenges and opportunities in the use of near infrared for the analysis of intact, high moisture plant products. In: Davies, A.M.C., Giangiaco, R. (Eds.), *Near Infrared Spectroscopy: Proceedings of the 9th International Conference*. NIR Publications, Chichester, UK, pp. 841–848.
- Lammertyn, J., Peirs, A., De Baerdemaeker, J., Nicolai, B., 2000. Light penetration properties of NIR radiation in fruit with respect to non-destructive quality assessment. *Postharvest Biol. Technol.* 1, 121–132.
- Maalouly, J., Jaillais, B., 2006. *Glucides*. In: Bertrand, D., Dufour, E. (Eds.), *La Spectroscopie Infrarouge et Ses Applications Analytiques*. TEC&DOC Editions, Paris, France, pp. 175–227.
- Martens, H., Naes, T., 1989. *Multivariate Calibration*. John Wiley & Sons, Chichester, UK.
- Martens, H.A., Dardenne, P., 1998. Validation and verification of regression in small data sets. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* 44, 99–121.
- Meuret, M., Dardenne, P., Biston, R., Poty, O., 1993. The use of NIR in predicting nutritive value of Mediterranean tree and shrub foliage. *J. Near Infrared Spectrosc.* 1, 45–54.
- Osborne, B.G., Fearn, T., Hindle, P.H., 1993. *Practical NIR spectroscopy with applications*. In: Osborne, B.G., Fearn, T., Hindle, P.H. (Eds.), *Food and Beverage Analysis*. Longman, Essex, pp. 11–35.
- Pérez-Marín, D., Sánchez, M.T., Cano, G., Garrido, A., 2001. Authentication of green asparagus varieties by near-infrared reflectance spectroscopy. *J. Food Sci.* 66, 323–327.
- Pérez-Marín, D., Sánchez, M.T., Cano, G., Garrido, A., 2002. Prediction of texture in green asparagus by near infrared spectroscopy (NIRS). *J. Food Qual.* 25, 277–287.
- Sánchez, M.T., 1996. Estudio de los factores que afectan a la textura del espárrago. (I) Su análisis. *Alim. Equip. Tecnol.* XV, 47–51.
- Saranwong, S., Kawano, S., 2007. Applications to agricultural and marine products: fruits and vegetables. In: Ozaki, Y., McClure, W.F., Christy, A.A. (Eds.), *Near-Infrared Spectroscopy in Food Science and Technology*. John Wiley & Sons Inc., Hoboken, NJ, pp. 219–242.
- Slaughter, D.C., Abbott, J.A., 2004. Analysis of fruits and vegetables. In: Roberts, C.A., Workman, J., Reeves II, J.B. (Eds.), *Near-Infrared Spectroscopy in Agriculture*. ASA, CSSA and SSSA, Madison, WI, pp. 377–398.
- Shenk, J.S., Westerhaus, M.O., 1991. Population structuring of near infrared spectra and modified partial least squares regression. *Crop Sci.* 31, 1548–1555.
- Shenk, J.S., Westerhaus, M.O., 1995a. Analysis of Agriculture and Food Products by Near Infrared Reflectance Spectroscopy. Foss NIRSystems Inc., Silver Spring, MD, USA.
- Shenk, J.S., Westerhaus, M.O., 1995. *Routine Operation, Calibration, Development and Network System Management Manual*. NIRSystem Inc., Silver Spring, MD, USA.
- Shenk, J.S., Westerhaus, M.O., 1996. Calibration the ISI way. In: Davies, A.M.C., Williams, P.C. (Eds.), *Near Infrared Spectroscopy: The Future Waves*. NIR Publications, Chichester, UK, pp. 198–202.
- Shenk, J.S., Westerhaus, M.O., Abrams, S.M., 1989. Protocol for NIR calibrations: monitoring analysis results and recalibration. In: Martens, G.C., Shenk, J.S., Barton II, F.E. (Eds.), *Near Infrared Spectroscopy (NIRS): Analysis of Forage Quality*. Agriculture Handbook, vol. 643. USDA-ARS, US Government Printing Office, Washington, DC, pp. 104–110.
- Walsh, K.B., Guthrie, J., Burney, J., 2000. Application of commercially available, low-cost, miniaturized NIR spectrometers to the assessment of the sugar content of intact fruit. *Aust. J. Plant Physiol.* 27, 1175–1186.

456 Wiley, R.C., Elhwany, N., Kramer, A., Hager, F.J., 1956. The shear press. An instrument
457 of measuring the quality of foods. 4. Applications to asparagus. *Food Technol.* 8,
458 439-444.
459 Williams, P.C., 2001. Implementation of near-infrared technology. In: Williams, P.C.,
460 Norris, K.H. (Eds.), *Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*.
AACCC Inc., St. Paul, MN, pp. 145-169.

Windham, W.R., Mertens, D.R., Barton II, F.E., 1989. Protocol for NIRS calibration:
sample selection and equation development and validation. In: Martens, G.C.,
Shenk, J.S., Barton II, F.E. (Eds.), *Near Infrared Spectroscopy (NIRS): Analysis
of Forage Quality*. Agriculture Handbook, vol. 643. USDA-ARS, US Government
Printing Office, Washington, DC, pp. 96-103.

461
462
463
464
465

UNCORRECTED PROOF

4.2. LA TECNOLOGÍA NIRS PARA LA PREDICCIÓN DE VIDA ÚTIL POSCOSECHA EN ESPÁRRAGOS VERDES INTACTOS

4.2.1. Use of near-infrared reflectance spectroscopy for shelf-life discrimination of green asparagus stored in a cool room under controlled atmosphere



Contents lists available at ScienceDirect

Talanta

journal homepage: www.elsevier.com/locate/talanta

Use of near-infrared reflectance spectroscopy for shelf-life discrimination of green asparagus stored in a cool room under controlled atmosphere

María-Teresa Sánchez^{a,*}, Dolores Pérez-Marín^{b,*}, Katherine Flores-Rojas^a, José-Emilio Guerrero^b, Ana Garrido-Varo^b

^a Departamento de Bromatología y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Córdoba, Edificio Charles Darwin, 14071 Córdoba, Spain

^b Departamento de Producción Animal, Universidad de Córdoba, Campus Rabanales, 14071 Córdoba, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 10 June 2008

Received in revised form

25 November 2008

Accepted 2 December 2008

Available online 6 December 2008

Keywords:

Green asparagus

NIR spectroscopy

Non-destructive analysis

Shelf-life

Post-harvest treatment

Discriminant analysis

PLS2

ABSTRACT

This study sought to evaluate the ability of near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to classify intact green asparagus, in refrigerated storage under controlled atmosphere, by storage time and post-harvest treatments applied. A total of 468 green asparagus (*Asparagus officinalis*, L., cultivar UC-157) were sampled after 7, 14, 21 and 28 days of refrigerated storage (2 °C, 95% R.H.) under three controlled atmosphere (CA) treatments: air (21 kPa O₂ + 0.3 kPa CO₂), CA₁ (5 kPa O₂ + 5 kPa CO₂) and CA₂ (10 kPa O₂ + 10 kPa CO₂). Two commercially available spectrophotometers were evaluated for this purpose: a scanning monochromator (SM) of 400–2500 nm and a combination of diode array and scanning monochromator (DASM) of 350–2500 nm. Models developed using partial least squares 2-discriminant analysis (PLS2-DA) correctly classified between 81–100% of samples by post-harvest storage time, depending on the instrument used. Using similar models, the DASM instrument correctly classified 85% of samples by post-harvest treatment, compared with 72% using the SM. These results confirmed that NIR spectroscopy, coupled with the use of chemometric techniques, provides a reliable, accurate method of predicting the shelf-life of asparagus under different storage conditions and as a function of post-harvest treatment applied; the method can be readily applied at industrial level.

© 2008 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Asparagus is a highly perishable vegetable, whose post-harvest metabolic activity prompts rapid and undesirable structural modifications [1]. Once cut, the spear undergoes a number of changes (e.g. hardening due to lignifications, loss of soluble carbohydrates, changes in protein content, loss of vitamins, tip lengthening) affecting texture and edibility, and thus shelf-life [2,3].

Asparagus fibrosity increases in the interval between harvest and product cooling, and is influenced both by the type and duration of post-harvest storage [1,4,5]. A negative correlation has been reported between heat accumulation and shelf-life [6,7], so that harvested spears should be cooled as quickly as possible, before they have been exposed to sunlight or adverse temperatures [8].

The requirements for asparagus storage are refrigeration at 0–4 °C and high relative humidity (90–95%) for a period of 2–10 days [1]. High relative humidity is essential, since asparagus dehydrates rapidly, leading to undesirable texture changes and weight

loss. Consumer demand has lately prompted a need for post-harvest storage techniques which not only extend the life of fruit and vegetables over a longer period, but also ensure that initial sensory quality is maintained [9]. Innovations in this field include the use of controlled atmospheres, which preserve product quality and allow the consumer to be presented with characteristics very similar to those of the fresh vegetable [10,11]. The storage of asparagus in a controlled atmosphere may prevent or lessen post-harvest changes in flavor, color and chemical composition [3,12,13]. However, the use of controlled atmospheres should be seen as complementary to the appropriate management of temperature and relative humidity during refrigerated storage [14].

The asparagus processing industry – using both fresh and minimally processed products – requires non-destructive measurement techniques that will allow asparagus to be classified in terms of quality and post-harvest treatment, as well as enabling shelf-life to be estimated. However, the estimation of shelf-life in fruit and vegetable products on the basis of single quality parameters is hindered by a number of constraints, since changes in quality may be due to a large number of factors [15]. In this respect, the information provided by the whole NIR spectrum, considered as the spectral fingerprint of the product analyzed, may be of great value in charting post-harvest asparagus quality and establishing shelf-life.

* Corresponding authors. Tel.: +34 957 212576; fax: +34 957 212000.

E-mail addresses: teresa.sanchez@uco.es (M.-T. Sánchez), pa2pemad@uco.es (D. Pérez-Marín).

Table 1

Basic technical features of two spectrophotometers: scanning monochromator (SM) and diode array and scanning monochromator (DASM).

Properties	Instruments	
	SM: FNS-6500	DASM: LabSpec®Pro A108310
Detector type	Silicon, 400–1100 nm. Lead sulphide, 1100–2500 nm	Modular Silicon Array and 2 Peltier cooled InGaAs detectors
Wavelength range (nm)	400–2500	350–2500
Spectral bandpass	10 nm ± 1 nm in reflectance	3 nm at 700 nm. 10 nm at 1400–2100 nm
Spectral data rate	1.8 scans/s	0.1 s
Dispersion	Pre	Post
Light source	Full spectrum	Full spectrum
Analysis mode	Interactance–reflectance	Interactance–reflectance

Near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) shows considerable promise for the non-destructive analysis of food products, and is ideally suited to the requirements of the agrofood industry in terms of both quality control and traceability: it requires little or no sample preparation; it is both flexible and versatile (applicable to multiproduct and multicomponent analysis); it generates no waste, is less expensive to run than conventional methods, and can be built into the processing line, enabling large-scale individual analysis and real-time decision making [16,17]. Although a number of published studies have addressed the application of NIRS technology to prediction of quality parameters in fruit and vegetables [18,19], few papers have focused on its use in asparagus, and particularly in green asparagus. Research has covered neutral detergent and acid detergent fiber content [4], and the estimation of texture-related parameters [20] in dry ground asparagus. Models have been constructed to enable classification by variety [21], again in dry ground green asparagus, as well as by spear area and harvesting date in intact white asparagus [22]. However, no published studies have dealt with the application of NIR spectroscopy models for predicting shelf-life – a major commercial parameter – or the influence of post-harvest treatments on shelf-life.

Most published studies have used previously processed samples rather than intact asparagus [4,20,21], and have thus failed to exploit one of the main advantages of NIRS technology, its non-destructive nature. In recent years, NIRS equipment has undergone radical changes; new-generation instruments are much more versatile, more portable and better adapted to on-site, non-destructive measurement.

The use of PLS-discriminant analysis on spectral data for intact asparagus as a means of classifying the product by storage interval, as an estimator of the shelf-life of the product, and by type of post-harvest treatment was evaluated by comparing the performance of discrimination models with different instruments and different spectrum treatments; finally, the optimum wavelengths for classification purposes were determined.

2. Materials and methods

2.1. Samples

A total of 468 green asparagus spears (*Asparagus officinalis*, L., cultivar UC-157), grown in selected, controlled plots in Huétor-Tájar (Granada, Spain), were harvested by hand over one three-month crop season (April–June, 2007). Spears were placed under refrigeration (2 °C, 95% R.H.) and exposed to one of the three controlled atmosphere (CA) treatments: air (21 kPa O₂ + 0.3 kPa CO₂), CA₁ (5 kPa O₂ + 5 kPa CO₂) and CA₂ (10 kPa O₂ + 10 kPa CO₂). The product was kept under these conditions throughout the trial period, with samples drawn for analysis at 7, 14, 21 and 28 days; fresh untreated samples (0 days) were used as control.

Fresh and stored asparagus spears were cut into three parts for analysis: tip (0–6 cm, measured from the apex of the spear), middle portion (6–12 cm) and base (12–18 cm); thus the total num-

ber of samples available for discrimination process was of 1404 samples.

2.2. Spectra collection

Spectra were collected from all samples in reflectance–interactance mode (Log 1/R) using two NIR-instruments: (1) FNS-6500 scanning monochromator (FOSS NIRSystems, Silver Spring, MD, USA); and (2) LabSpec®Pro A108310 Spectrometer (Analytical Spectral Device (ASD), Inc., Boulder, Colorado, USA). The main features of these instruments are listed in Table 1, the major difference between the two being the measuring principle involved.

The FNS-6500 scanning monochromator was interfaced to a remote reflectance fiber-optic probe (NR-6539-A) with a 50 mm × 6 mm window. Each spear portion to be analyzed was hand-placed in the probe so that the desired asparagus location was centred on, and in direct contact with, the probe. Two separate spectral measurements were made on each spear portion, rotating the sample through 180° after the first measurement. The optical absorption spectrum ranged from 400 nm to 2500 nm, in 2-nm steps. The signal was collected using WINISI v. 1.50 software package (Infrasoft International, Port Matilda, PA, USA).

The second instrument was a diode array scanning monochromator NIR spectrometer (LabSpec®Pro A108310) equipped with a fiber-optic contact probe (Ø 5 mm), working in reflectance–interactance mode in the spectral range 350–2500 nm (every 1 nm). The first measurement was made at the middle point of the spear portion to be analyzed, and the second after rotating the sample through 180°. The signal was collected using the Indico™ Pro software package (Analytical Spectral Device (ASD), Inc., Boulder, Colorado, USA) and pretreated using the Unscrambler v. 7.5 program (CAMO, ASA, Oslo, Norway).

In both cases, the averaged spectrum for each spear was used for data processing.

2.3. Definition of calibration and validation sets

The design of models to classify asparagus by post-harvest storage time with a view to estimating shelf-life was based on five classification groups: 0, 7, 14, 21 and 28 days' storage. Each group contained 108 samples for each of the three post-harvest treatments applied and for each NIRS instrument tested, except the 0 days group that only has 108 samples.

Models to classify asparagus by post-harvest treatment used three classification groups, one for each treatment tested: ambient air, controlled atmosphere 1 and controlled atmosphere 2. Each group comprised 108 samples for each storage interval tested: 7, 14, 21 and 28 days.

For structuring the calibration population, an initial principal component analysis (PCA) was performed to calculate the centre of the population and the distance of samples (spectra) from that centre in an *n*-dimensional space, using the Mahalanobis distance (GH); samples with a statistical value greater than 3 were consid-

Table 2
Percentage of spears correctly classified by storage interval. PLS-DA. FNS-6500. Spectral range: 500–2200 nm.

Qualitative groups	Post-harvest treatments					
	21 kPa O ₂ + 0.3 kPa CO ₂		5 kPa O ₂ + 5 kPa CO ₂		10 kPa O ₂ + 10 kPa CO ₂	
	A: 75% B: 0.32 C: 27 D: 1,10,5,1		A: 83% B: 0.29 C: 26 D: 1,10,5,1		A: 84% B: 0.29 C: 30 D: 1,10,5,1	
Storage time (days)	Training set		Validation set		Training set	
Day 0	88%	95%	93%	95%	99%	100%
Day 7	79%	80%	80%	75%	83%	75%
Day 14	68%	80%	75%	80%	72%	95%
Day 21	61%	80%	85%	95%	82%	85%
Day 28	78%	65%	83%	90%	84%	100%

A, Percentage of correctly classified training samples after cross validation; B, Model SECV; C, number of factors; D, math treatment.

ered outliers or anomalous spectra [23]. After elimination of outlier spectra, samples to be used for calibration and external validation sets were selected solely on the basis of spectral data, following the method proposed by Shenk and Westerhaus [23], using the CENTER algorithm included in the WinISI II software package version 1.50 (Infrasoft International, Port Matilda, PA, USA). This algorithm performs a principal component analysis PCA, reducing the original spectral information (Log 1/R values) to a small number of linearly independent variables, thus facilitating the calculation of spectral distances. These new variables were used to calculate the centre of the spectral population and the distance (expressed as the Mahalanobis 'GH' distance) of each sample in the calibration set from that centre. Having ordered the sample set by spectral distances (from smallest to greatest distance to the centre), the 20 samples forming the external validation set for each discrimination group were selected, i.e. 1 out of every 5 samples in the overall set.

2.4. Development of near-infrared classification models

Discriminant models were constructed to classify asparagus by storage time and post-harvest treatment, using PLS-discriminant analysis (PLS-DA) for supervised classification. Specifically, the PLS2 algorithm was applied, using the "Discriminant Equations" option in the WINISI v. 1.50 software package. The principles and procedures involved in NIRS discriminant analysis are essentially identical to those involved in quantitative analysis, the main difference between the two lying in the type of variables predicted: discriminant analysis uses discrete variables (membership or non-membership of a given group), rather than analyte concentrations or other continuous data [24]. Briefly, PLS discriminant analysis uses a training set to develop a qualitative prediction or calibration model which may subsequently be applied for the classification

Table 3
Percentage of spears correctly classified by storage interval. PLS-DA. LabSpec® Pro A108310. Spectral range: 500–2200 nm.

Qualitative groups	Post-harvest treatments					
	21 kPa O ₂ + 0.3 kPa CO ₂		5 kPa O ₂ + 5 kPa CO ₂		10 kPa O ₂ + 10 kPa CO ₂	
	A: 100% B: 0.14 C: 16 D: 2,5,5,1		A: 100% B: 0.14 C: 11 D: 2,5,5,1		A: 100% B: 0.15 C: 11 D: 2,5,5,1	
Storage time (days)	Training set		Validation set		Training set	
Day 0	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Day 7	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Day 14	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Day 21	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Day 28	100%	100%	100%	100%	100%	100%

A, Percentage of correctly classified training samples after cross validation; B, Model SECV; C, number of factors; D, math treatment.

of new unknown samples. This model seeks to correlate spectral variations (X) with defined classes (Y), attempting to maximize the covariance between the two types of variables. In this type of approach, the Y variables used are not continuous, as they are in quantitative analysis, but rather categorical "dummy" variables created by assigning different values to the different classes to be distinguished.

All models were developed using four cross validation groups (i.e. the calibration set is partitioned into four groups; each group is then predicted using a calibration developed on the other samples), a spectral range from 500 to 2200 nm (every 2 nm), eliminating signal noise at the beginning and end of the spectral range, and combined SNV + Detrend treatment for scatter correction [25]. First- and second-derivative treatments were tested: 1,5,5,1; 1,10,5,1; 2,5,5,1 and 2,10,5,1, where the first digit is the number of the derivative, the second is the gap over which the derivative is calculated, the third is the number of data points in a running average or smoothing, and the fourth is the second smoothing [26].

The precision of the models obtained was evaluated using the standard error of cross validation (SECV) and the percentage of correctly classified samples, both for the global model and for each class.

3. Results and discussion

3.1. Classification by storage time

Results for the best discriminant models, obtained by PLS2-DA, for predicting storage time and thus shelf-life in asparagus stored under refrigeration in a controlled atmosphere, using two analytical instruments and various training sets, are shown in Tables 2 and 3.

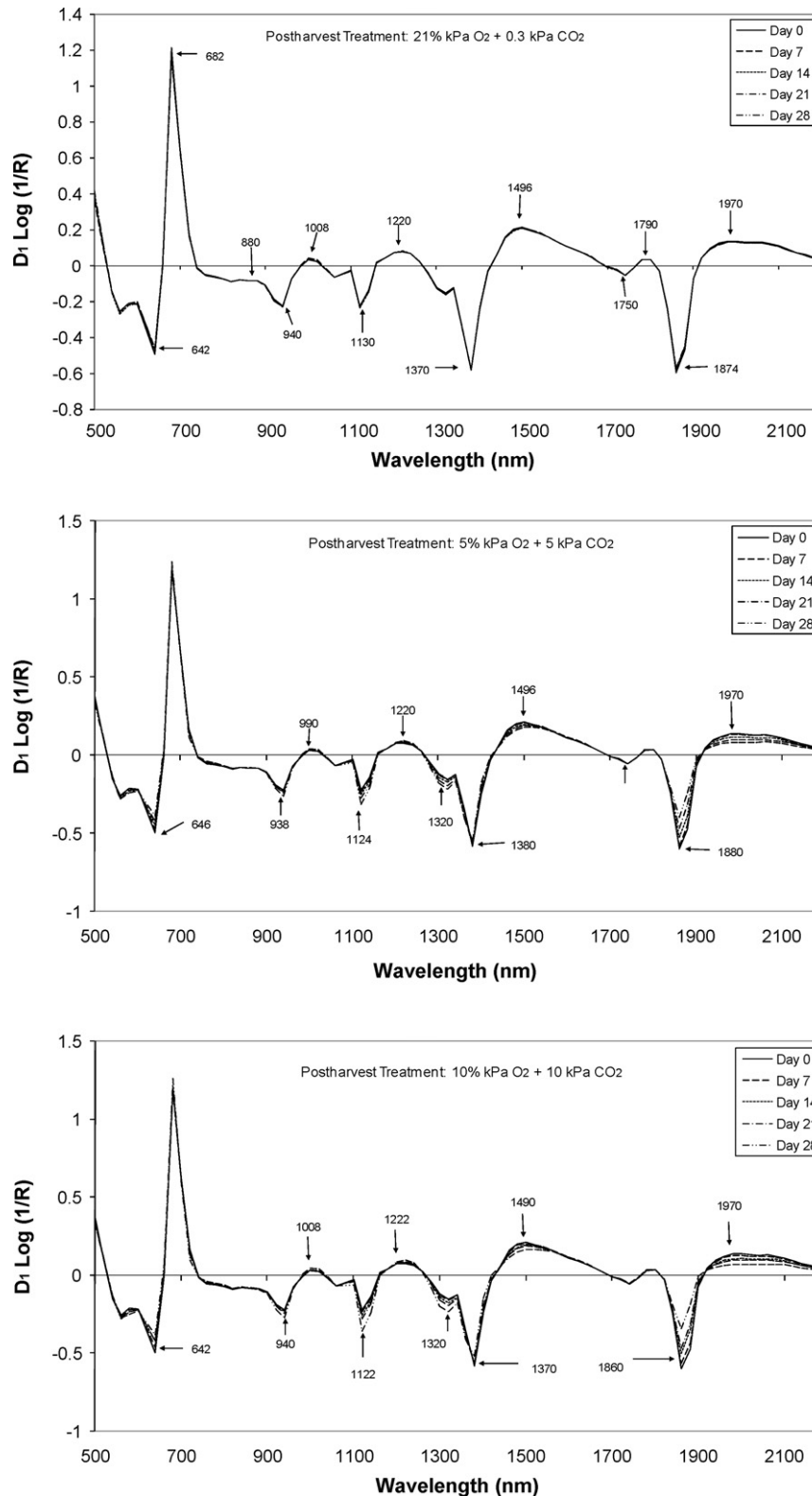


Fig. 1. $D_1 \text{ Log}(1/R)$ for intact green asparagus for FNS-6500.

Generally speaking, the most accurate discriminant models were obtained using $D_1 \text{ Log}(1/R)$ for the FNS-6500 and $D_2 \text{ Log}(1/R)$ for the LabSpec® Pro A108310.

The LabSpec® Pro A108310 correctly classified 100% of samples in all three post-harvest treatment groups, while the shelf-life prediction models developed using the FNS-6500 correctly classified 75% of spears stored in ambient air and 83–84% of

samples stored in the two controlled atmospheres. A similar trend was recorded for partial or class-based discrimination data. SECV values for models to classify samples by post-harvest storage time were also lower with the LabSpec® Pro A108310 (0.14 in ambient air; 0.14 in CA₁; 0.15 in CA₂) than with the FNS-6500 (0.32 in ambient air; 0.29 in CA₁; 0.29 in CA₂).

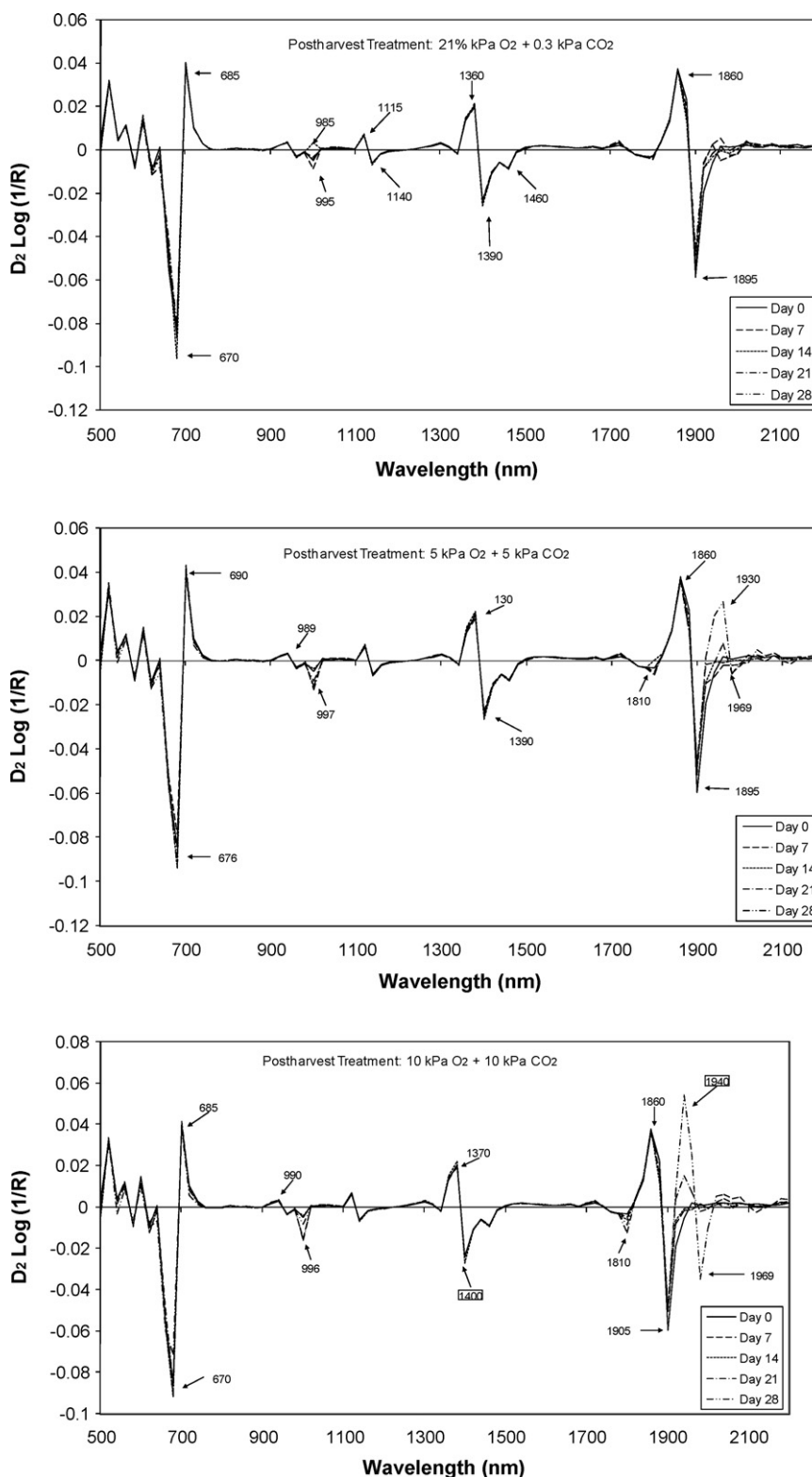


Fig. 2. $D_2 \text{ Log}(1/R)$ for intact green asparagus for LabSpec® Pro A108310.

Figs. 1 and 2 show the mean spectra for each class (storage time), together with the spectral signal pretreatment that yielded the best result in each case, grouped by storage treatment and NIRS instrument used. For asparagus stored in ambient air and analyzed on the FNS-6500 – for which the lowest percentage of correctly classified samples was recorded (Table 2) – there was considerable overlap of mean spectra, which

hindered discrimination; absorption bands at around 642 nm, 682 nm and 1874 nm appeared to have the greatest classification weight. A higher percentage of correctly classified samples was obtained for asparagus in the two controlled atmosphere groups (Table 2). Mean spectra of these groups were more clearly differentiated (Fig. 1) considering absorption bands at around 642–646 nm, 938–940 nm, 990–1008 nm, 1122–1124 nm, 1320 nm,

Table 4

Percentage of spears correctly classified by post-harvest treatment. PLS-DA. FNS-6500. Spectral range: 500–2200 nm.

Qualitative groups	Storage time (days)															
	7 days		14 days		21 days		28 days									
	A: 74%	B: 0.40	C: 14	D: 1,10,5,1	A: 69%	B: 0.45	C: 14	D: 1,5,5,1	A: 72%	B: 0.48	C: 29	D: 1,10,5,1	A: 74%	B: 0.42	C: 19	D: 1,5,5,1
Post-harvest treatments	Training set	Validation set	Training set	Validation set	Training set	Validation set	Training set	Validation set								
21 kPa O ₂ + 0.3 kPa CO ₂	92%	100%	85%	85%	87%	75%	94%	95%								
5 kPa O ₂ + 5 kPa CO ₂	66%	55%	49%	55%	64%	65%	65%	65%								
10 kPa O ₂ + 10 kPa CO ₂	65%	45%	73%	60%	65%	60%	65%	75%								

A, Percentage of correctly classified training samples after cross validation; B, Model SECV; C, number of factors; D, math treatment.

Table 5

Percentage of spears correctly classified by post-harvest treatment. PLS-DA. LabSpec®Pro A108310. Spectral range: 500–2200 nm.

Qualitative groups	Storage time (days)															
	7 days		14 days		21 days		28 days									
	A: 89%	B: 0.34	C: 16	D: 2,10,5,1	A: 80%	B: 0.44	C: 26	D: 2,10,5,1	A: 86%	B: 0.32	C: 10	D: 2,10,5,1	A: 85%	B: 0.34	C: 11	D: 2,5,5,1
Post-harvest treatments	Training set	Validation set	Training set	Validation set	Training set	Validation set	Training set	Validation set								
21 kPa O ₂ + 0.3 kPa CO ₂	95%	100%	98%	90%	96%	100%	100%	95%								
5 kPa O ₂ + 5 kPa CO ₂	83%	95%	54%	50%	81%	80%	84%	75%								
10 kPa O ₂ + 10 kPa CO ₂	89%	85%	86%	75%	82%	80%	71%	75%								

A, Percentage of correctly classified training samples after cross validation; B, Model SECV; C, number of factors; D, math treatment.

1370–1380 nm, 1490–1496 nm, 1860–1880 nm and 1970 nm. Using the LabSpec®Pro A108310 (Fig. 2), differentiation between classes was much clearer, suggesting that the models obtained provided excellent discriminant power. Generally speaking, discrimination of asparagus by shelf-life in the NIR region of the spectrum appears to be related to water content and O–H combinations, suggesting that differences caused by fiber profiles and water loss might contribute to the variations as a function of storage time. This confirms findings reported by Garrido et al. [4], who noted that NIR spectra were sensitive to chemical changes in neutral and acid detergent fiber over the storage period.

Models were validated using sample sets not included in model development: 100% of samples were correctly classified using the LabSpec®Pro A108310, while between 65% and 100% were correctly classified using the FNS-6500.

Generally speaking, while both instruments proved suitable for estimating shelf-life in green asparagus, better results were obtained with the LabSpec®Pro A108310, perhaps due to the measurement system used, i.e. the design of the sampler probe and the nature of the product–radiation interaction. The FNS-6500 performs a scan of the sample, while with the LabSpec®Pro A108310, the spectral measurement is made at a central point of each spear area to be analyzed, due to the small probe diameter. As a result, each spectrum captured by the FNS-6500 displays greater variability than its LabSpec®Pro A108310 counterpart, partly because spear deterioration is not wholly uniform. Moreover, the number of latent variables used with discriminant models, based on spectra obtained with the FNS-6500, was virtually twice that recommended for obtaining models using the LabSpec®Pro A108310 (Tables 2 and 3).

3.2. Classification by post-harvest treatment

The results obtained by the best discriminant models for classifying asparagus spears by post-harvest treatment, for the various

storage times tested and using the two analytical instruments, are shown in Tables 4 and 5.

Again, generally speaking, the best discriminant models were obtained $D_1 \text{Log}(1/R)$ for FNS-6500 and $D_2 \text{Log}(1/R)$ for LabSpec®Pro A108310.

The LabSpec®Pro A108310 yielded a higher overall percentage of correctly classified samples for the various storage periods analyzed: 7 days (89% vs. 74% for the FNS-6500), 14 days (80% vs. 69%), 21 days (86% vs. 72%) and 28 days (85% vs. 74%). The SECVs for the models obtained using the LabSpec®Pro A108310 were also lower than those recorded with the FNS-6500, although the difference was less marked than for discrimination by post-harvest storage interval.

Analysis of partial discrimination by classes within each model (Tables 4 and 5) showed that the lowest percentage of correctly classified samples was obtained after 14 days' storage using both instruments.

Models for classifying spears by post-harvest treatment were validated using new sample sets not included in model development: the percentage of correctly classified samples using the FNS-6500 ranged from 45% for asparagus stored in controlled atmosphere 2 for 7 days, and 100% for samples stored in ambient air for 7 days. Using the LabSpec®Pro A108310, the equivalent percentages ranged from 50% for asparagus stored for 14 days in controlled atmosphere 1 and 100% for samples stored in ambient air for 7 and 21 days. It should be noted that, in all cases, most misclassified samples belonged to one of the two controlled atmosphere sets; discrimination between the two was insufficient. By contrast, discrimination between samples stored in ambient air and those stored in either of the controlled atmospheres was sufficient.

4. Conclusions

These results suggest that NIRS technology enables classification of intact green asparagus stored in refrigeration under controlled

atmosphere, both by storage time and by post-harvest treatments applied, with an accuracy of up to 100%, using either of the two instruments tested. It should also be considered that the work here presented is a first step towards shelf-life prediction for asparagus, allowing increased sampling of each batch produced, and thus ensuring a more precise and accurate guarantee of specific quality.

Acknowledgements

This research was funded by the Andalusian Regional Government under the Research Excellence Program (Project No. 3713 'Safety and Traceability in the Food Chain using NIRS') and the Research Program in Ecological Agriculture (Project No. 92162/3 'Postharvest Treatments for Increasing Asparagus Shelf-Life').

References

- [1] C. Scheer, I. Schonhof, B. Brückner, M. Schreiner, D. Knorr, *J. Appl. Bot.* 77 (2003) 177.
- [2] P.K. Bhowmik, T. Matsui, K. Kawada, *Pak. J. Biol. Sci.* 3 (2000) 787.
- [3] M.J. McKenzie, L.A. Greer, J.A. Heyes, P.L. Hurst, *Postharvest Biol. Technol.* 32 (2004) 45.
- [4] A. Garrido, M.T. Sanchez, G. Cano, D. Perez, C. Lopez, *J. Food Qual.* 6 (2001) 539.
- [5] D. Albanese, L. Russo, L. Cinquanta, A. Brasiello, M. Di Matteo, *Food Chem.* 101 (2007) 274.
- [6] P.L. Hurst, G. Boulton, R.E. Lill, *Food Chem.* 61 (1998) 381.
- [7] D. Nei, T. Uchino, N. Sakai, S. Tanaka, *Postharvest Biol. Technol.* 37 (2005) 277.
- [8] A.A. Kader, *Postharvest Technology of Horticultural Crops*, vol. 3311, University of California, 1992.
- [9] F. Ramojaro, M. Zapata, P. Segura, *Nuevas Tecnologías de Conservación de Frutas y Hortalizas: Atmósferas Modificadas*, Mundi-Prensa, Madrid, España, 1996.
- [10] H. Izumi, A.E. Watada, W. Douglas, *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 121 (1996) 127.
- [11] R.E. Lill, V.K. Corrigan, *Int. J. Food Sci. Technol.* 31 (1996) 117.
- [12] A.A. Kader, *Food Technol.* 40 (1986) 99.
- [13] J. An, M. Zhang, Q. Lu, Z. Zhang, *J. Food Eng.* 77 (2006) 951.
- [14] M.J. Villanueva, M.D. Tenorio, M. Sagardoy, A. Redondo, M.D. Saco, *Food Chem.* 91 (2005) 609.
- [15] C. Camps, P. Guillermin, J.C. Mauget, D. Bertrand, J. Near Infrared Spectrosc. 15 (2007) 169.
- [16] B.G. Osborne, T. Fearn, P.H. Hindle (Eds.), *Practical NIR Spectroscopy with Applications in Food and Beverage Analysis*, Longman, Essex, 1993, pp. 11–35.
- [17] J.S. Shenk, M.O. Westerhaus, *Analysis of Agriculture and Food Products by Near Infrared Reflectance Spectroscopy*, Monograph, NIRSystems, Inc., 12101 Tech Road, Silver Spring, MD 20904, USA, 1995.
- [18] D.C. Slaughter, J.A. Abbott, in: C.A. Roberts, J. Workman, J.B. Reeves III (Eds.), *Near-Infrared Spectroscopy in Agriculture*, ASA, CSSA and SSSA, Madison, Wisconsin, 2004, pp. 377–398.
- [19] S. Saranwong, S. Kawano, in: Y. Ozaki, W.F. McClure, A.A. Christy (Eds.), *Near-Infrared Spectroscopy in Food Science and Technology*, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 2007, pp. 219–242.
- [20] D. Pérez, M.T. Sánchez, G. Cano, A. Garrido, *J. Food Qual.* 25 (2002) 277.
- [21] D.C. Perez, M.T. Sanchez, G. Cano, A. Garrido, *J. Food Sci.* 66 (2001) 323.
- [22] C. Jarén, S. Arazuri, M.J. García, P. Arnal, J.I. Arana, *Int. J. Infrared Milli* 27 (2006) 391.
- [23] J.S. Shenk, M.O. Westerhaus, *Crop Sci.* 31 (1991) 1548.
- [24] T. Naes, T. Isaksson, T. Fearn, A. Davies, *A User-friendly Guide to Multivariate Calibration and Classification*, NIR Publications, Chichester, UK, 2002.
- [25] ISI, *The Complete Software Solution Using a Single Screen for Routine Analysis, Robust Calibrations, and Networking*, Manual, FOSS NIRSystems/TECATOR, Infrasoft International, LLC, Sylver Spring MD, USA, 2000.
- [26] J.S. Shenk, M.O. Westerhaus, *Routine Operation, Calibration, Development and Network System Management Manual*, NIRSystem, Inc., 12101 Tech Road, Silver Spring, MD 20904, USA, 1995.

Capítulo 5

Capítulo 5. LA TECNOLOGÍA NIRS PARA PREDICCIÓN DE RESIDUOS FITOSANITARIOS EN PIMIENTO

5.1. LA TECNOLOGÍA NIRS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE RESIDUOS QUÍMICOS EN PIMIENTO VERDE

5.1.1. Measurement of pesticide residues in peppers by Near Infra-Red Reflectance Spectroscopy

Measurement of Pesticide Residues in Peppers by Near Infra-Red Reflectance Spectroscopy

María-Teresa Sánchez^{a,*}, Dolores Pérez-Marín^{b,*}, Katherine Flores-Rojas^a, José Emilio Guerrero^b, Ana Garrido-Varo^b

^a Department of Bromatology and Food Technology, ^b Department of Animal Production, University of Cordoba, Campus Rabanales, 14071 Córdoba, Spain

* To whom correspondence should be addressed. Phone: +34 957 21 2576. Fax: +34 957 212000. E-mail: teresa.sanchez@uco.es (M.T.S.); pa2pemad@uco.es (D.P.-M.)

Abstract

Peppers are a frequent object of Food Safety Alerts in various member States of the European Union, due to the presence in some batches of unauthorized pesticide residues. This study assessed the viability of near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) for the measurement of trace pesticide residues in peppers. Commercially-available spectrophotometers using different sample-presentation methods were evaluated for this purpose: a diode-array spectrometer for intact raw peppers, and two scanning monochromators, fitted with different sample-presentation accessories – transport and spinning modules – for crushed peppers and dry extract (DESIR) respectively. Models developed using partial least squares 2 - discriminant analysis (PLS2-DA) correctly classified between 62% and 68% of samples by presence/absence of pesticides, depending on the instrument used. At model validation, the highest percentage of correctly-classified samples – 75% and 82% for pesticide-free and pesticide-containing samples respectively – were obtained for intact peppers using the diode-array spectrometer. The results obtained confirmed that NIRS technology may be used to provide swift, non-destructive preliminary screening for pesticides and other chemical residues; suspect samples may then be analyzed by other confirmatory analytical methods.

KEYWORDS: NIRS, pepper, quality, pesticide, non-destructive analysis.

INTRODUCTION

Fresh fruit and vegetables are a key component of a healthy diet, since they are a major source of vitamins and minerals. However, failure to respect safety procedures when applying chemical treatments may mean that chemical residues in these products exceed the maximum residue limits established by current legislation, thus representing a potential threat to consumer health and safety (1).

Pesticides are highly-toxic chemical compounds widely used in farming during both production and post-harvest storage. Residues in fruit and vegetables are a direct result of pesticide application during the growing stage (2); over 1000 chemical products are currently used to control plant pests and diseases (3). A list of the pesticides applied during production is generally not available (4). Recent alerts put out by Food Safety Agencies in a number of EU member States have been linked to pesticide abuse or the use of illegal pesticides in a number of crops. These alerts highlight the existence of food safety concerns in fruit and vegetable products (5).

Increasing consumer awareness of food safety issues has prompted an urgent need to develop analytical methods enabling swift screening for pesticide residues in foods. The techniques most commonly used at present for pesticide residue analysis in fruit and vegetables are gas chromatography (6, 7), gas chromatography combined with mass spectrometry (8, 9), capillary electrophoresis (10) and immunoassay (11, 12).

However, measurement of pesticide residues using these traditional analytical methods is highly time-consuming, costly and contaminant. Moreover, since traditional methods are destructive, they only enable quality control of a few samples per batch, rather than of each individual vegetable. The development of rapid, simple, low-cost, non-contaminant and non-invasive quality control techniques may be regarded as crucial for the industry, in order to ensure plant product safety and thus meet consumer requirements.

Near Infra-Red Reflectance Spectroscopy (NIRS) is one of the most promising techniques for monitoring vegetable quality and safety, and is ideally suited to the requirements of the agrofood industry in terms of quality assurance control: it requires little or no sample preparation; it is both flexible and versatile (applicable to multiproduct and multicomponent analysis); it generates no waste, is less expensive to run than conventional methods, and can be built into the processing line, enabling large-scale individual analysis and real-time decision making (13-15).

The advent of NIRS technology for the measurement of chemicals and other low-concentration compounds in foods led Meurent et al. (16) to develop a dry-extract system for infrared (DESIR) analysis. The authors showed that the DESIR technique was able to measure sugar content in juice at concentrations ranging from 0.0% to 5.0%. These excellent results encouraged other researchers to use the technique for the quantitative analysis of milk (17-19), beer (20), wine (21), tea (22), and orange juice (23), and for the measurement of trace pesticide residues (24, 25).

However no published studies have addressed the use of NIR spectroscopy models for predicting pesticide residues in harvested intact fruits and vegetables. The only NIR spectroscopy studies dealing with this issue are those of Saranwong and Kawano (24), who used the DESIR technique to measure fungicide levels on tomato surface, although theirs were laboratory tests involving the application of different fungicide rates to the product.

The use of PLS-Discriminant Analysis of spectral data for pepper as a means of classifying the product by pesticide residue levels was evaluated by comparing the performance of discrimination models with various sample-presentation methods: intact, crushed and dry extract (DESIR technique).

MATERIALS AND METHODS

Vegetables and sample preparation. Peppers (*Capsicum annuum*, L.; Lamuyo and California types) of different colors (red, yellow and green) were harvested in greenhouses belonging to the Provincial Association of Fruit and Vegetable Growers and Exporters, Almeria (Spain).

On arrival at the laboratory, peppers were promptly placed in refrigerated storage at 7°C and 95% relative humidity. Prior to each measurement, samples were left until the near-surface temperature had risen to, and stabilized at, the laboratory temperature of 20°C.

A total of 659 intact-pepper and 717 crushed-pepper samples were used, each sample comprising 10 peppers. Peppers were crushed in a food processor (Sammic SK-5, Guipúzcoa, Spain) with no additional solvent. Fifty grams of crushed product were used for pesticide residue measurement using the reference method, and the rest were used for NIRS analysis both in crushed form and as dry extract using the DESIR technique.

Reference Data Analysis. All pesticide residue analyses were performed on a gas chromatograph (GC) (Varian CP-3800, Varian, Inc., Palo Alto, CA, USA) fitted with an ion-trap mass spectrometer (Varian 4000 GC/MS, Varian, Inc., Palo Alto, CA, USA) working in tandem mode (MS/MS).

A 10 μ l aliquot of sample filtered through a 40-mm PTFE filter (Millipore Iberia SA, Madrid, Spain) was injected into the GC through an automatic sampler (Varian CP-8200, Varian, Inc., Palo Alto, CA, USA) which transferred the sample to the programmed temperature vaporization injector (PTV).

Analytes were separated on a fused silica capillary column (Agilent JW Scientific DB-5ms, Agilent-J&W, Santa Clara, CA, USA) measuring 30 m x 0.25 mm i.d.; film thickness 0.25 μ m; stationary phase 5% diphenyl-95% dimethyl siloxane. A 1.5 m x 0.25 mm i.d. guard column (precolumn) was attached via a temperature-sealed pressure-adjusted glass connector. Helium was employed as carrier gas, at a flow rate of 1 mL/min. The selected temperature regime was as follows: initial temperature 70°C for 1 minute; increased to 180°C at a rate of 35°C min⁻¹, followed by a second ramp of 10°C min⁻¹ up to 240°C, where it was held for 5 minutes. The PTV injector operating conditions were as follows: a) initial split ratio 50:1, closed for 0.5 min and opened to 100:1 after 3.5 min; b) initial temperature 70°C for 0.5 min followed by 100°C min⁻¹ ramp to 300°C, and held for 15 min.

Mass detector operating conditions were optimized by the built-in self-adjustment program. Analyzer operating conditions were optimized at ion isolation, storage and fragmentation phases. The parameters adjusted were: selection of ion precursor, isolation window, isolation time, ion excitation voltage and excitation time. The chromatograph / mass detector transfer line was kept at 280 °C.

Fifteen grams of crushed, homogenized sample were placed in a 200-mL PTFE centrifuge tube and mixed with a measured amount of triphenyl phosphate (TPP) to ensure a post-extraction concentration of 0.33 mg/L for extraction control purposes. Then 60 mL of ethyl acetate and 13 g of anhydrous sodium sulphate were added and the mixture was homogenized for 20 s. Supernatant was then filtered on a Büchner funnel coated with a fine film of around 20 g of anhydrous sodium sulphate to retain possible water residue. Extraction and filtration steps were repeated, adding a further 60 mL of ethyl acetate. Combined extracts were evaporated to dryness using a rotary vacuum evaporator at 45°C. Final residue was redissolved in 15 mL of ethyl acetate with the aid

of ultrasound. The extract thus obtained, containing 1 g of sample per mL of extract, was then ready for GC/MS analysis.

The results obtained were summarized as either: “Residue detected” or “No tested unauthorized pesticide detected”, on the basis of established maximum residue limits (MRLs) expressed as mg of pesticide per kg of sample.

Spectrum Collection. Spectra were collected from all samples in reflectance mode (Log 1/R).

NIR spectra of intact peppers were captured using a Perten DA-7000 parallel diode-array Vis-NIR spectrophotometer (Perten Instruments North America, Inc., Springfield, IL, USA). This instrument does not use any moving parts in the optics, making it very stable and more suitable than other types of instrument for on-line measurement, providing ultra-fast non-contact measurement (1-3 seconds). Peppers were placed centrally upon the fruit holder, with the stem-calyx axis horizontal, and were irradiated from below by the light source (**Figure 1a**). The distance from the pepper to the instrument was 120 mm, the visualization window was 77 mm in diameter, and the horizontal distance from the light source to the detectors was 80 mm. The spectrophotometer scanned at 5 nm intervals, across a range encompassing the entire visible (400-780 nm) and NIR (780-1700 nm) spectrum. When scanning individual intact peppers, ten spectra were averaged to provide a mean spectrum for each sample.

NIR spectra of crushed peppers were captured on a FNS-6500 scanning monochromator (I) (FOSS NIRSystems, Silver Spring, MD, USA), using an opaque liquid cell with internal dimensions of 2.60 cm wide, 4.55 cm long, and 1.75 cm deep, and a transport module. The optical absorption spectrum from 400 nm to 2500 nm was measured in 2 nm steps. Two spectra were averaged to provide a mean spectrum for each crushed sample (**Figure 1b**).

Near-infrared reflectance analysis of dried filter paper embedded with crushed, homogenized pepper, hereafter referred to as a DESIR sample, requires a number of operations prior to spectrum collection. The method, designed by Meurens et al. (16), was later modified by Díaz et al. (26); that modification was used here. Briefly, 3 ml of pepper juice were placed in a Petri dish. A glass fiber filter (AP40 047, Millipore Corporation, Billerica, MA, USA) was soaked in the juice for 60 s, then carefully removed with tweezers and placed in a different Petri dish, where it was kept at 40°C

for 24 h. Dried samples were then placed in a desiccator in the NIR instrument room for one hour prior to spectroscopic analysis, in order to allow them to cool to room temperature, thus avoiding moisture uptake. Filters were placed at the bottom of a small ring cup, with the readable side facing the quartz window for NIRS analysis.

The DESIR samples were scanned using a FNS-6500 scanning monochromator (II) (FOSS NIRSystems, Silver Spring, MD, USA) in a small ring cup (3.75 cm ϕ) using the spinning sample module. Spectra were collected on all samples from 400 to 2500 nm (every 2 nm). Two spectra were averaged to provide a mean spectrum for each DESIR pepper sample (**Figure 1c**).

Intact pepper samples were immediately analyzed using both the reference method and NIR technology. However, since the NIRS scanning monochromator instruments could not be moved, crushed-pepper and DESIR samples were referred to the University of Córdoba (Spain) for NIRS spectra collection, a few days after analysis using the reference method.

Definition of calibration and validation sets. Initially, models for classifying peppers by the presence/absence of pesticide residues in intact, crushed and DESIR samples were developed using all available samples (**Table 1**).

Thereafter, in order to obtain balanced calibration models, i.e. comprising the same number of samples of each class to be discriminated (presence vs. absence of pesticide residues) and also the same number of samples for each form of presentation in order to facilitate comparative evaluation, the number of samples in each group was reduced to 158, of which 130 samples were used to develop classification models and the remaining 28 were used to validate those models.

The 158 samples were selected using the SELECT algorithm included in the WinISI II software package version 1.50 (Infrasoft International, Port Matilda, PA, USA), which calculates spectral distances (Mahalanobis neighbor distance, 'NH') in order to detect samples whose spectrum is very similar to that of others in the population (Shenk and Westerhaus, 1991) (27). The SELECT algorithm enables selection – on the basis of spectral data alone – of those spectra with most neighbouring spectra, as measured by the Mahalanobis distance; redundant samples are thus eliminated, and the most representative are selected.

Samples to be used for calibration and validation sets were selected solely on the basis of spectral data, following the method proposed by Shenk and Westerhaus (27),

using the CENTER algorithm included in the WinISI II software package version 1.50 (Infrasoft International, Port Matilda, PA, USA). This algorithm performs a principal component analysis (PCA), reducing the original spectral information (Log 1/R values) to a small number of linearly-independent variables, thus facilitating the calculation of spectral distances. These new variables were used to calculate the centre of the spectral population and the distance (expressed as the Mahalanobis 'GH' distance) of each sample in the calibration set from that centre. Having ordered the sample set by spectral distances (from smallest to greatest distance to the centre), the 28 samples forming the external validation set for each discrimination group were selected, i.e. one out of every 5 samples in the overall set.

Spectral Data Processing. The WinISI software package version 1.50 (Infrasoft International, Port Matilda, PA, USA) was used for the chemometric treatment of data (28).

Discriminant models were constructed to classify peppers in the two groups defined, absence *versus* presence of pesticides, using PLS Discriminant Analysis (PLS-DA) for supervised classification. Specifically, the PLS2 algorithm was applied, using the "Discriminant Equations" option in the WINISI version 1.50 software package. The principles and procedures involved in NIRS discriminant analysis are essentially identical to those involved in quantitative analysis, the main difference between the two lying in the type of variables predicted: discriminant analysis uses discrete variables (membership or non-membership of a given group), rather than analyte concentrations or other continuous data (29). Briefly, PLS discriminant analysis (PLSD) uses a training set to develop a qualitative prediction or calibration model which may subsequently be applied for the classification of new unknown samples. This model seeks to correlate spectral variations (X) with defined classes (Y), attempting to maximize the covariance between the two types of variable. In this type of approach, the Y variables used are not continuous, as they are in quantitative analysis, but rather categorical "dummy" variables created by assigning different values to the different classes to be distinguished.

All models were developed using four cross-validation groups (i.e. the calibration set is partitioned into four groups; each group is then predicted using a calibration developed on the other samples). The following spectral regions were used: a) for intact pepper samples, 1100 to 1650 nm; b) for crushed pepper samples 1100 to

1600 nm, due to signal saturation beyond that wavelength caused by water content; and c) for DESIR samples, 1100-2200 nm. Since peppers of various colors were used, the visible region, although recorded, was not considered for correlation with experimental data; the 2200-2500 nm region was eliminated due to signal noise. A combined SNV + Detrend treatment for scatter correction was applied (30). First- and second-derivative treatments were tested: 1,5,5,1; 1,10,5,1; 2,5,5,1 and 2,10,5,1, where the first digit is the number of the derivative, the second is the gap over which the derivative is calculated, the third is the number of data points in a running average or smoothing, and the fourth is the second smoothing (31).

The precision of the models obtained was evaluated using the standard error of cross validation (SECV) and the percentage of correctly-classified samples, both for the global model and for each class. The best-fitting equations, as selected by statistical criteria, were subsequently validated, a procedure determining the predictive ability of a discriminant model based on a sample set which has not been used in the training procedures, taking into account the values of SEP(c) (standard error of performance, bias-corrected) and the percentage of correctly-classified samples for the validation set.

RESULTS AND DISCUSSION

Spectrum features. **Figure 2** shows the first derivative of the mean spectrum for each population class (peppers with/without pesticide residue) which, of all the math-pretreatments studied, best highlighted the spectral differences existing between the two studied populations and three analysis modes (intact, crushed and DESIR pepper samples).

For intact pepper samples analyzed using the diode-array instrument, over the spectral region used for chemometric data treatment (1100-1650 nm), absorption bands (**Figure 2**) at around 1100 nm, 1200 nm, 1280 nm, associated with C-H absorption, and 1400 nm related to O-H absorption, displayed clearly visible differences. Saranwong and Kawano (24) have suggested that pesticide measurements in the NIR region of the spectrum may be related to C–H absorption.

For DESIR samples analyzed using a FNS-6500 equipped with a spinning module, mean spectra over a broader spectral region (1100-2200 nm), were more clearly defined, with relevant absorption bands around 1400, 1890, 1960 and 2030 nm displaying differences between the two populations (**Figure 2**).

For crushed pepper samples, analyzed in a FNS-6500 fitted with a transport module, absorption bands were observed at around 1120, 1300, 1360, 1480, 1510 and 1560 nm, but the increased influence of water absorption might hinder the future development of discrimination models (**Figure 2**).

Development of discriminant models using unbalanced samples. Initial qualitative models to detect the presence/absence of pesticides in pepper samples were developed using the whole sample set (**Table 1**), whose class-distribution was markedly unbalanced (451 or 455 pesticide-free samples *versus* 130 or 184 pesticide-containing samples, depending on the analysis mode).

Results obtained for the three analysis modes showed that the samples belonging to the class “Presence of Pesticides” were largely misclassified, with only between 2.3-10.3% of samples correctly classified, while in the other class “No pesticides” between 97% and 100% of samples were correctly classified. This may be due to the use of clearly unbalanced sample numbers; the “presence of pesticides” class comprised fewer samples, between a half or a third of the other class, which may have influenced model training (29).

A number of authors have drawn attention to the importance of class distribution in the training set; Downey (32) suggests that discriminant PLS works best where sample sets have similar dispersion and covariance structures; where there is not the case, others qualitative approaches are recommended. Naes et al. (29) point out that if the two classes in the training set are of unequal size, the regression derivation will shift the cut-off towards the smaller group, thus assigning more unknown samples to the larger group. Pérez-Marín et al. (33) also stress the importance of a balanced set when PLS discriminant analysis is used.

This finding prompted the decision to investigate the effect of set balance on the development of discriminant models for classifying pepper samples as pesticide-free or pesticide-containing.

Development of discriminant models using balanced samples. Adjusted training sets contained all 130 available samples for the “pesticide-containing” class, and the same number of available pesticide-free samples.

Sample selection for this second training set was performed spectrally using the SELECT algorithm (27) as being the most representative of the “pesticide-free” class, as explained under Material and Methods. This algorithm has been successfully applied

with the aim of selecting the most representative samples in a given starting set, with a view to maintaining a spectral variability similar to that of the starting set (33-35).

Results for the best discriminant models using balanced sample groups, obtained by PSL2-DA, for predicting the presence/absence of pesticide residues in intact, crushed and DESIR pepper samples, using the three instruments and various training sets, are shown in **Table 2**.

The models obtained using the various math-pretreatments studied (results not shown) displayed similar predictive ability, as reported by other authors (33, 36), although the best results were obtained using $D_1 \text{ Log}(1/R)$ for the three analysis modes assayed (intact, crushed and DESIR).

As **Table 2** shows, the total percentage of samples correctly classified by the model were as follows: 68.5% for the pepper samples analyzed intact in the Perten DA-7000 instrument, 68.1% for DESIR samples analyzed on the FNS-6500 monochromator with a spinning module, and 62.7% for crushed pepper samples analyzed on the FNS-6500 fitted with a transport module.

A similar trend was recorded for partial or class-based discrimination data, since the highest rates of correct classification were obtained using intact and DESIR samples; this was also reflected in a lower model error rate, as indicated by the SECV values.

Models were validated using sample sets not included in model development. The results (**Table 2**) indicated that the model developed using intact pepper samples displayed greater generalizing ability (75.0% of pesticide-free samples and 82.1% of pesticide-containing samples correctly classified); slightly poorer results being recorded with DESIR and crushed samples.

A number of hypotheses might be advanced to explain why results for intact samples were better than those obtained for crushed samples, and – to a lesser extent – for DESIR samples. Intact samples were simultaneously analyzed by the reference method and the NIRS method, whereas – for operational reasons – an interval of days elapsed before NIRS analysis of crushed and DESIR samples. The high water content of crushed samples hindered analysis and subsequent discrimination; better results were thus obtained with dry extract DESIR samples due to water evaporation. The type of instrument used may also have influenced results, particularly in the case of the two modules used with the FNS 6500 monochromator. Although the same instrument was

used, crushed samples were analyzed in the transport module, which provided only a small rectangular window, whilst DESIR samples were analyzed in the spinning module, which provided a more representative reading of the whole area of the sample exposed to the instrument.

The results obtained confirm the potential of NIRS technology for screening intact vegetable samples in order to detect pesticide residues. This technology provides a non-destructive means of preliminary screening, allowing a larger number of samples to be tested; traditional destructive methods only enable quality control of a few samples per batch. Suspect products may then be analyzed using more sophisticated – though slower and more costly – confirmatory methods (1, 37).

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was funded by the Andalusian Regional Government under the Research Excellence Program (Project N° 3713 ‘Safety and Traceability in the Food Chain using NIRS’). The authors wish to thank COEXPHAL for providing pepper samples and information, and are particularly grateful to Dr M^a Dolores López and Dr Luis Piedra for their technical support.

LITERATURE CITED

- (1) Alder, L.; Greulich, K.; Kempe, G.; Vieth, B. Residue analysis of 500 high priority pesticides: Better by GC-MS or LC-MS/MS? *Mass Spectrom. Rev.* **2006**, *25*, 838-865.
- (2) Knezevic, Z.; Serdar, M. Screening of fresh fruit and vegetables for pesticide residues on Croatian market. *Food Control* **2009**, *20*, 419-422.
- (3) Ortelli, D.; Edder, P.; Corvi, C. Multiresidue analysis of 74 pesticides in fruit and vegetables by liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* **2006**, *520*, 33-45.
- (4) Stan, H. J. Pesticide residue analysis in foodstuffs applying capillary gas chromatography with mass spectrometric detection. State-of-the-art use of modified DFG-multimethod S19 and automated data evaluation. *J. Chromatogr. A.* **2000**, *892*, 347-377.
- (5) Mezcuca, M.; Ferrer, C.; García-Reyes, J. F.; Martínez-Bueno, M. J.; Sigrist, M.; Fernández-Alba, A. R. Analyses of selected non-authorized insecticides in peppers by gas chromatography/mass spectrometry and gas chromatography/tandem mass spectrometry. *Food Chem.* **2009**, *112*, 221-225.

- (6) Podhorniak, L. V.; Negron, J. F.; Griffith Jr F. D. Gas chromatography with pulsed flame photometric detection multiresidue method for organophosphate pesticide and metabolite residues at the parts-per-billion level in representative commodities of fruit and vegetable crop groups. *J. AOAC Int.* **2001**, *84*, 873-890.
- (7) Ueno, E.; Oshima, H.; Saito, I.; Matsomoto, H.; Yoshihiro, Y.; Nakazawa, H. Multiresidue analysis of pesticides in vegetables and fruits by gas chromatography/mass spectrometry after gel permeation chromatography and graphitized carbon column cleanup. *J. AOAC Int.* **2004**, *87*, 1003-1015.
- (8) Gamón, M.; Lleó, C.; Ten, A.; Mocholí, F. Multiresidue determination of pesticides in fruit and vegetables by gas chromatography/tandem mass spectrometry. *J. AOAC Int.* **2001**, *84*, 1209-1216.
- (9) Lehotay, S. J.; De Kok, A.; Hiemstra, M.; Van Bodegraven, P. Validation of a fast and easy method for the determination of residues from 229 pesticides in fruits and vegetables using gas and liquid chromatography and mass spectrometric detection. *J. AOAC Int.* **2005**, *88*, 595-614.
- (10) Juan-García, A.; Picó, Y.; Font, G. Capillary electrophoresis for analyzing pesticides in fruit and vegetables using solid-phase extraction and stir-bar sorptive extraction. *J. Chromatogr. A.* **2005**, *1073*, 229-236.
- (11) Kim, Y. J.; Cho, Y. A.; Lee, H. -S.; Lee, Y. T.; Gee, S. J.; Hammock, B. D.; Synthesis of haptens for immunoassay of organophosphorus pesticides and effect of heterology in hapten spacer arm length on immunoassay sensitivity. *Anal. Chim. Acta* **2003**, *475*, 85-96.
- (12) Park, E. K.; Kim, J. H.; Gee, S. J.; Watanabe, T.; Anh, K. C.; Hammock, B. D. Determination of pyrethroid residues in agricultural products by an enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 5572-5576.
- (13) Osborne, B. G.; Fearn, T.; Hindle, P. H. Practical NIR spectroscopy with applications. In *Food and Beverage Analysis*; Osborne, B. G., Fearn, T., Hindle, P. H., Eds.; Longman: Essex, 1993; pp 11-35.
- (14) Shenk, J. S.; Westerhaus M. O. *Analysis of Agricultural and Food Products by Near Infrared Reflectance Spectroscopy*; NIRSystems: Silver Spring, MD, 1995.
- (15) Garrido, A. La spectroscopie proche infrarouge: une technologie d'appui pour un service intégral en alimentation animale. In *La Spectroscopie Infrarouge et*

- ses Applications Analytiques*; Bertrand, D., Dufour, E., Eds.; Technique & Documentation: Paris, 2000; pp 473-495.
- (16) Meurens, M.; Van Den Eynde, O.; Vanbelle, M. Fine analysis of liquids by NIR reflectance spectroscopy of dry extract on solid support (DESIR). In *Near Infrared Diffuse Reflectance/Transmittance Spectroscopy*; Hollow, J., Kaffka, K. J., Gonczy, J. L., Eds.; Akademiai Kiado: Budapest, 1987; pp 297-302.
- (17) Debrabant, M.P.; Legrand, P. Quantitative analysis of dry milk on solid support by NIR reflectance spectrometry. In *3rd International Conference on NIR Spectroscopy Vol. 2*; Biston, R. Bartiaux-Thill, N., Eds.; Agricultural Research Centre: Gembloux, 1990; pp. 577-581.
- (18) Meurens, M.; Alfaro, G. DESIR instrumentation for NIR analysis. In *3rd International Conference on NIR Spectroscopy*; Biston, R. Bartiaux-Thill, N., Eds.; Agricultural Research Centre: Gembloux, 1990; pp 39-41.
- (19) Nuñez-Sánchez, N.; Serradilla, J. M.; Ares, J. L.; Garrido-Varo, A. Effect of moisture uptake on the repeatability of near infrared spectroscopy analyses of ewe milk using the dry extract system for infrared (DESIR) method. *J. Near Infrared Spectrosc.* **2008**, *16*, 381-388.
- (20) Chandley, P. The application of the DESIR technique to the analysis of beer. *J. Near Infrared Spectrosc.* **1993**, *1*, 133-139.
- (21) Medrano, R.; Yan, S. H.; Maudoux, M.; Baeten, V.; Meurens, M. Wine analysis by NIR. In *Leaping Ahead with Near Infrared Spectroscopy: Proceedings of the Sixth International Conference on Near Infrared Spectroscopy*; Batten, G. D., Flinn, P. C., Welsh, L. A., Blakeney, A. B., Eds.; Royal Australian Chemical Institute, Victoria, 1995; pp. 303-306.
- (22) Hall, M. N.; Robertson, A.; Scotter, C. N. G. Near-infrared reflectance prediction of quality, theaflavin content and moisture content of black tea. *Food Chem.* **1988**, *27*, 61-75.
- (23) Segtnan, V. H.; Isaksson, T. Evaluating near infrared techniques for quantitative analysis of carbohydrates in fruit juice model systems. *J. Near Infrared Spectrosc.* **2000**, *8*, 109-116.
- (24) Saranwong, S.; Kawano, S. Rapid determination of fungicide contaminated on tomato surfaces using the DESIR-NIR: A system for ppm-order concentration. *J. Near Infrared Spectrosc.* **2005**, *13*, 169-175.

- (25) Saranwong, S.; Kawano, S. The reliability of pesticide determinations using near infrared spectroscopy and the dry-extract system for infrared (DESIR) technique. *J. Near Infrared Spectrosc.* **2007**, *15*, 227-236.
- (26) Díaz, E.; Muñoz, A.; Alonso, A.; Serradilla, J. M. Near infrared calibrations for goat's milk components: protein, total casein, α -, β -, κ -caseins, fat and lactose. *J. Near Infrared Spectrosc.* **1993**, *1*, 141-146.
- (27) Shenk, J. S.; Westerhaus, M. O. Population definition sample selection and calibration procedures for near infrared spectra and modified partial least squares regression. *Crop Sci.* **1991**, *31*, 469-474.
- (28) ISI. *The Complete Software Solution Using a Single Screen for Routine Analysis, Robust Calibrations, and Networking; Manual.* FOSS NIRSystems/TECATOR; Infrasoft International: Sylver Spring, MD, 2000.
- (29) Naes, T.; Isaksson, T.; Fearn, T.; Davies, A. *A User-friendly Guide to Multivariate Calibration and Classification*; NIR Publications: Chichester, 2002.
- (30) Barnes, R. J.; Dhanoa, M. S.; Lister, S. J. Standard normal variate transformation and De-trending of near infrared diffuse reflectance spectra. *Appl. Spectrosc.* **1989**, *43*, 772-777.
- (31) Shenk, J. S.; Westerhaus, M. O. *Routine Operation, Calibration, Development and Network System Management Manual*; NIRSystem: Silver Spring, MD, 1995.
- (32) Downey, G. Discrimination et authentification des aliments et des ingrédients alimentaires par spectroscopie dans l'infrarouge proche et moyen. In *La Spectroscopie Infrarouge et ses Applications Analytiques*; Bertrand, D., Dufour, E., Eds.; Technique & Documentation: Paris, 2000; pp 397-422.
- (33) Pérez-Marín, D. C.; Garrido-Varo, A.; Guerrero, J. E. Optimization of discriminant partial least squares regression models for the detection of animal by-product meals in compound feedingstuffs by near-infrared spectroscopy. *Appl. Spectrosc.* **2006**, *60*, 1432-1437.
- (34) Garrido, A.; Sánchez, M. T.; Cano, G.; Pérez-Marín, D.; López, C. Prediction of neutral and acid detergent fiber content of green asparagus stored under refrigeration and modified atmosphere conditions by near-infrared reflectance spectroscopy. *J. Food Qual.* **2001**, *6*, 539-550.

- (35) Flores, K.; Sánchez, M. T.; Pérez-Marín, D.; Guerrero J. E.; Garrido-Varo, A. Feasibility in NIRS instruments for predicting internal quality in intact tomato. *J. Food Eng.* **2009**, *91*, 311-318.
- (36) Murray, I.; Aucott, L. S.; Pike, I. H. Use of discriminant analysis on visible and near infrared reflectance spectra to detect adulteration of fishmeal with meat and bone meal. *J. Near Infrared Spectrosc.* **2001**, *9*, 297-311.
- (37) Pico, Y.; Font, G.; Moltó, J. C.; Mañes, J. Pesticide residue determination in fruit and vegetables by liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* **2000**, *892*, 153-173.

Table 1. Number of Samples in Calibration and Prediction Sets for Three Types of Sample Presentation: Intact, Crushed and DESIR Peppers

Characteristic	Intact samples		Crushed samples		DESIR samples	
	C ^a	V ^b	C	V	C	V
Absence of pesticide residue	451	50	455	50	455	50
Presence of pesticide residue	130	28	184	28	184	28

^a C, Calibration set. ^b V, Validation set.

Table 2. Percentage of Peppers Correctly Classified by Presence of Pesticide Residue. Discriminant Models Using Balanced Sample Groups.

Qualitative groups	Sample presentation					
	Intact samples		Crushed samples		DESIR samples	
	Pertem DA-7000		FNS-6500 and transport module		FNS-6500 and spinning module	
	A: 68.5%		A: 62.7%		A: 68.1%	
	B: 0.47		B: 0.50		B: 0.46	
	C: 8		C: 14		C: 3	
	D: 1,5,5,1		D: 1,10,5,1		D: 1,10,5,1	
	Training Set	Validation set	Training set	Validation set	Training set	Validation set
No pesticide residue	64.6%	75.0%	59.2%	57.1%	68.5%	71.4%
Pesticide residue	72.3%	82.1%	66.2%	71.4%	67.7%	57.1%

A, Percentage of correctly-classified training samples after cross validation. B, Model SECV. C, Number of factors. D, Math treatment.

Figure 1. Methods of sample presentation for the NIRS instruments used: (a) Intact pepper; (b) Crushed pepper; (c) DESIR pepper.

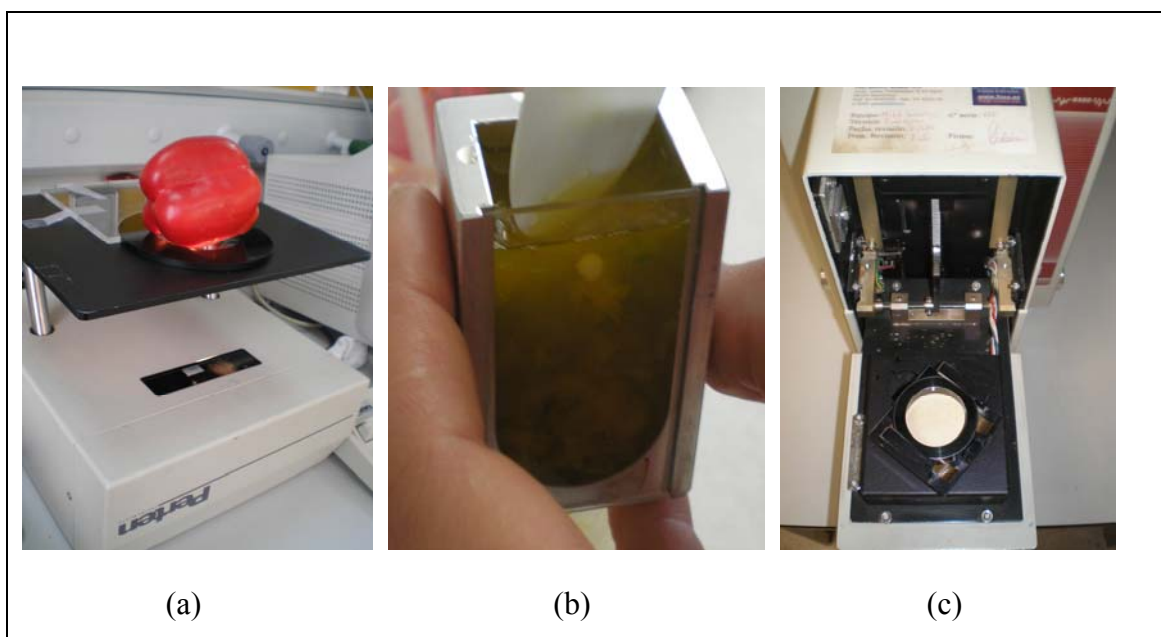
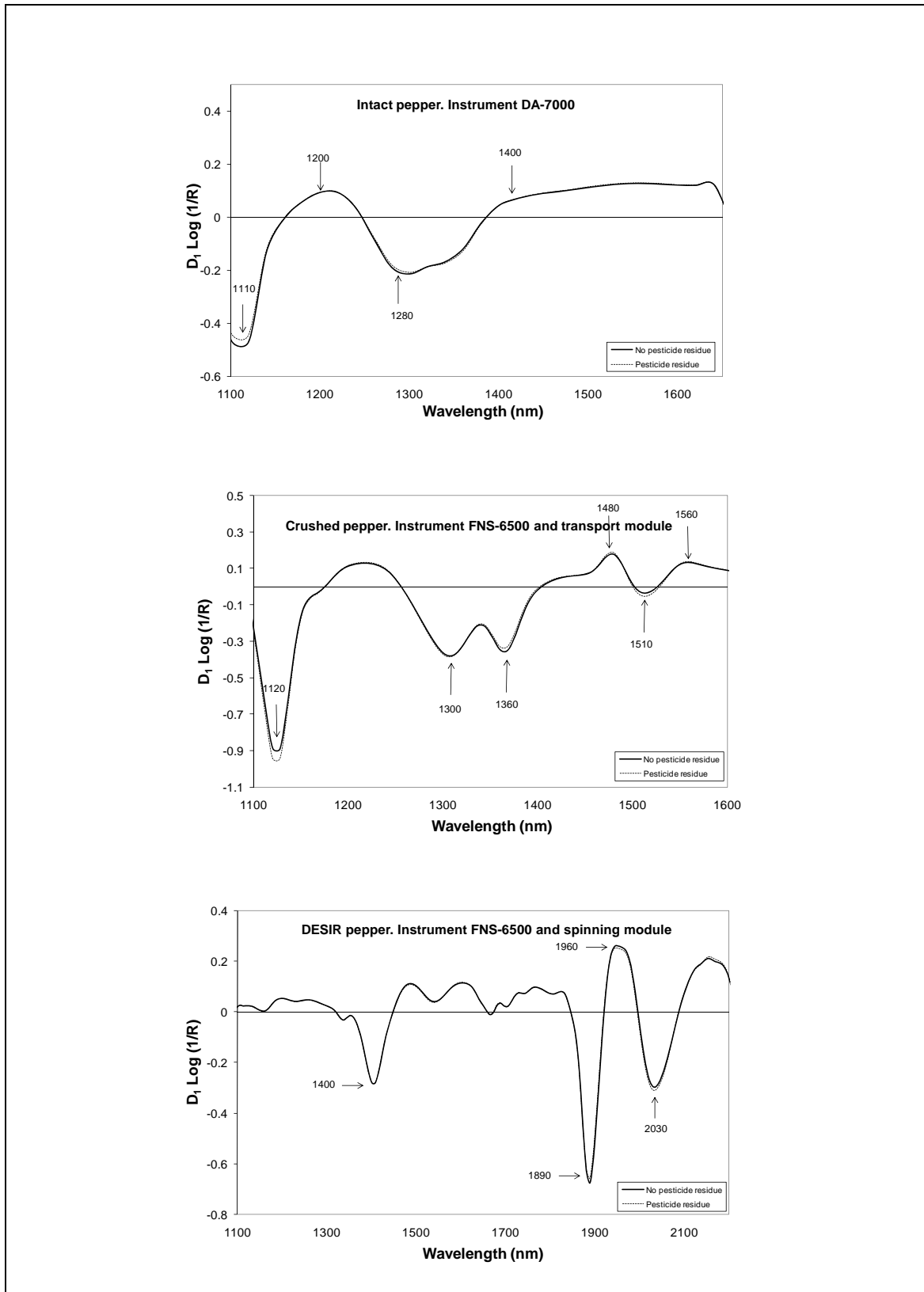


Figure 2. Typical D_1 Log (1/R) spectra for different pepper sample presentations and NIRS instruments.



Capítulo 6

Capítulo 6. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en los diferentes ensayos que constituyen este Trabajo de Investigación, permiten establecer las siguientes conclusiones:

1. Los modelos de predicción NIRS desarrollados para la determinación de parámetros de calidad interna en melones y sandías presentan una adecuada capacidad predictiva para la cuantificación del contenido en sólidos solubles en dichos frutos analizados cortados, así como para la predicción del color interno en melón intacto y cortado. La capacidad predictiva de las calibraciones obtenidas para la determinación del contenido en sólidos solubles totales en melón y sandía analizados en forma intacta permitiría su clasificación en tres niveles de dulzor (alto, medio o bajo).
2. Los estudios de evaluación y optimización de modos de análisis y formas de presentación de muestra a los instrumentos en frutas de cáscara dura, permiten afirmar que las medidas en reflectancia de este tipo de productos analizados tanto cortados como intactos posibilitan establecer de forma no destructiva y sobre piezas de fruta individuales los niveles mínimos de los principales atributos de calidad interna que garantizan su aceptación por los consumidores, teniendo en cuenta que las medidas en reflectancia ofrecen importantes posibilidades para la implementación a nivel de procesos de la tecnología NIRS en el sector horto-frutícola.
3. Los adecuados resultados obtenidos utilizando la tecnología NIRS en el análisis de frutos cortados es de gran interés para su aplicación al control de calidad de productos mínimamente procesados, los cuales tienen en la actualidad una importancia creciente dentro del sector hortofrutícola.
4. Los modelos de predicción NIRS desarrollados para la determinación no destructiva de los principales parámetros responsables del sabor en tomate “Raf” (tomate-sabor) presentan una capacidad predictiva adecuada para su uso como herramienta de caracterización de productos hortofrutícolas de alto valor añadido, permitiendo un control a nivel de piezas individuales.

5. Las ecuaciones NIRS desarrolladas con espárragos verdes analizados de forma intacta permiten la caracterización textural de dicho producto de forma no destructiva y en tiempo real, lo que confirma además que el espectro NIRS de un producto no sólo contiene información química, sino también física y sensorial.
6. La aplicación de la Espectroscopía NIRS, junto con el uso de adecuadas herramientas matemáticas y estadísticas, permite la estima en tiempo real de la vida útil poscosecha, en función del tiempo de almacenamiento, de espárragos verdes analizados intactos. Así mismo, la misma metodología permite la clasificación del producto en función del tratamiento de conservación poscosecha aplicado.
7. El poder discriminante de los modelos de clasificación desarrollados para la determinación de la presencia/ausencia de pesticidas en pimientos cuyo espectro NIRS fue recogido sobre producto analizado intacto es similar o superior al de los obtenidos con espectros de producto analizado utilizando el sistema DESIR o la muestra triturada.
8. Los modelos de discriminación obtenidos para la autenticación de pimientos libres de residuos de pesticidas muestran la potencialidad de la tecnología NIRS como herramienta no destructiva de “screening” de hortalizas intactas. Dicha tecnología podría constituir la primera barrera de defensa, y al ser no destructiva, permitiría el aumento del muestreo en estos productos, de los cuales actualmente sólo se controlan representantes de cada lote, pudiendo reservar el uso de métodos confirmatorios, más costosos, lentos y destructivos, para el análisis de lotes detectados previamente como sopechosos.

9. Los estudios de predicción de parámetros de calidad interna y determinación de vida útil en frutas y hortalizas, en los que se evaluaron y contrastaron instrumentos comerciales con diseños ópticos y prestaciones diferentes, pusieron de manifiesto que los resultados obtenidos utilizando equipos de nueva generación como los de red de diodos eran comparables e incluso superiores a los obtenidos utilizando instrumentos monocromadores de altas prestaciones; destacando además la idoneidad de los equipos de red de diodos para ser incorporados en las líneas de manipulación y transformación de productos vegetales, contrariamente a lo que sucede con los instrumentos monocromadores con aptitudes para uso a nivel de laboratorio.
10. En general, la exactitud y precisión de los modelos NIRS desarrollados para la predicción de parámetros de calidad interna: contenido en sólidos solubles totales, acidez titulable, color interno y textura en frutas y hortalizas analizadas en forma intacta demuestran el potencialidad de la tecnología NIRS como herramienta de control de calidad no destructivo en la industria hortofrutícola, permitiendo incrementar el volumen de producto analizado, tanto a nivel de laboratorio como de proceso, lo que facilitará la toma de decisiones a lo largo de toda la cadena de producción.
11. Se confirma la viabilidad de la tecnología NIRS para la caracterización de productos vegetales complejos como frutas y hortalizas, los cuales muestran una alta heterogeneidad tanto en sus características externas, tamaño, forma, grosor de la piel o cáscara y color como en su composición físico-química, además de un alto contenido en agua. Las expectativas de uso e incorporación de esta tecnología al sector hortofrutícola son muy prometedoras, si bien dadas las particularidades de este tipo de productos es necesario el estudio y adaptación de los diseños ópticos y de los algoritmos de tratamiento de la señal más adecuados para la implementación real de la tecnología en medidas “on-site” en campo, y “on-line” en líneas de manipulación, clasificación y envasado.

Capítulo 7

Capítulo 7. BIBLIOGRAFÍA

- Abbott, J. 1999. Quality measurement of fruits and vegetables. *Postharvest Biol. Technol.* 15, 207-225.
- Abebe, A.T. 2006. Total sugar and maturity evaluation of intact watermelon using near infrared spectroscopy. *J. Near Infrared Spectrosc.* 14, 67-70.
- Abu-Khalaf, N., Bennedsen, B., Bjørn, G. 2004. Distinguishing Carrot's Characteristics by Near Infrared (NIR) Reflectance and Multivariate Data Analysis. *Agricultural Engineering International: the CIGR Journal of Scientific Research and Development*. Manuscript FP 03 012. March, pp. 1-17.
- Abu-Khalaf, N., Bennedsen, B.S. 2002. Sensing taste of plum using near infrared (NIR) technology. *Int. Agrophys.* 16, 83-89.
- Alamar, C.M., Bobelyn, E., Lammertyn, J., Nicolai, B.M., Moltó, E. 2007. Calibration transfer between NIR diode array and FT-NIR spectrophotometers for measuring the soluble solids contents of apple. *Postharvest Biol. Technol.* 45, 38-45.
- Amors, A., Pretel, M.T., Zapata, P.J., Botella, M.A., Romojaro, F., Serrano, M. 2008. Use of modified atmosphere packaging with microperforated polypropylene films to maintain postharvest loquat fruit quality. *Food Sci. Technol. Int.* 14, 95-103.
- Anon, 1986. *A Handbook on Shipping Perishable Commodities*. American President Lines, Oakland, CA.
- Arana, I., Jarén, C., Arazuri, S. 2005. Maturity, variety and origin determination in white grapes (*Vitis Vinifera* L.) using near infrared reflectance technology. *J. Near Infrared Spectrosc.* 13, 349-357.
- Artés, F. 1995a. Review: Innovaciones en los tratamientos físicos para preservar la calidad de los productos hortofrutícolas en la postrecolección. I. Pretratamientos térmicos. *Rev. Esp. Cienc. Technol. Aliment.* 35, 45-64.
- Artés, F. 1995b. Review: Innovaciones en los tratamientos físicos modulados para preservar la calidad de los productos hortofrutícolas en la postrecolección. III. Tratamientos gaseosos. *Rev. Esp. Cienc. Technol. Aliment.* 35, 247-269.
- Asrey, R., Patel, V.B., Singh, S.K., Sagar, V.R. 2008. Factors affecting fruit maturity and maturity standards - A review. *J. Food Sci. Tech.* 45, 381-390.

- Auerswald, H., Peters, P., Bruckner, B., Krumbein, A., Kuchenbuch, R. 1999. Sensory analysis and instrumental measurements of short-term stored tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Postharvest Biol. Technol.* 15, 323-334.
- Axrup, L., Markides, K., Nilsson, T. 2000. Using miniature diode array NIR spectrometers for analysing wood chips and bark samples in motion. *J. Food Chem.* 14, 561-572.
- Baldwin, E.A., Nisperos-Carriedo, M.O., Moshonas, M.G. 1991. Quantitative analysis of flavor and other volatiles and for certain constituents of two tomato cultivars during ripening. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 116, 265-269.
- Barton II, F.E., Himmelsbach, D.S. 1992. NIRS in agriculture: its birth, growth and future. In *Making Light Work: Advances in Near Infrared Spectroscopy*. Murray, I., Cowe, I. (Eds.). VCH, London, UK. pp. 210-216.
- Barton, F.E. 2002. Theory and principles of near infrared spectroscopy. In *Near Infrared Spectroscopy: Proceedings of the 10th International Conference on Near-Infrared spectroscopy*. Davies, A.M.C., Cho, R.K. (Eds.). NIR Publications, Chichester, UK. pp. 1-6.
- Ben-Gera, I., Norris, K.H. 1968a. Direct spectrophotometric determination of fat and moisture in meat products. *J. Food Sci.* 33, 64-67.
- Ben-Gera, I., Norris, K.H. 1968b. Determination of moisture content in soybeans by direct spectrophotometry. *Agric. Res.* 18, 125-132.
- Ben-Yehoshua, S., Perez, J., Moran, R., Lavie, B., Kim, J.J. 2001. Reducing the incidence of superficial flavedo necrosis (noxan) of 'Shamouti' oranges (*Citrus sinensis*, Osbeck). *Postharvest Biol. Technol.* 22, 19-27.
- Beverly, R.B., Latimer, J.G., Smittle, D.A. 1993. *Postharvest Handling: A System Approach*. Academic Press, New York. pp. 73-98.
- Birth, G.S., Norris, K.H., Yeatman, J.N. 1957. Non-destructive measurement of internal color of tomatoes by spectral transmission. *Food Technol.* 17, 552-557.
- Bishop, D. 1990. Controlled atmosphere storage. In *Cold and Chilled Storage Technology*. Dellino, C.V.J. (Ed.). Van Nostrand Reinhold Publisher, New York. pp. 66-98.
- Bittner, D.R., Stephenson, K.Q. 1968. Reflectance and transmittance properties of tomatoes versus maturity. ASAE Paper No. 68-327. St. Joseph, MI, USA.
- Bokobza, L. 1998. Near infrared spectroscopy. *J. Near Infrared Spectrosc.* 6, 3-17.

- Brennan, P.S., Shewfelt, R.L. 1989. Effect of cooling delay at harvest on broccoli quality during postharvest storage. *J. Food Qual.* 12, 12-22.
- Bruhn, C.M. 2007. Aspectos de calidad y seguridad alimentaria de interés para el consumidor. In *Tecnología Poscosecha de Productos Hortofrutícolas*. 3ª edición. Kader, A. (Ed.). University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, Oakland, California, USA. pp. 37-44.
- Buescher, R.W. 1975. Organic acid and sugar levels in tomato pericarp as influenced by storage at low temperature. *Hortscience*, 10, 158-159.
- Bureau, S., Ruiz, D., Reich, M., Gouble, B., Bertrand, D., Audergon, J.-M., Renard, C.M.G.C. 2009. Rapid and non-destructive analysis of apricot fruit quality using FT-near-infrared spectroscopy. *Food Chem.* 113, 1323-1328.
- Burns, D.A., Ciurczak, E.W. 1992. *Handbook of Near Infrared Analysis*. Burns, D.A., Ciurczak, E.W. (Eds.). Practical spectroscopy series. 13. Marcel Dekker, Inc. New York, USA.
- Burns, D.A., Ciurczak, E.W. 2001. *Handbook of Near-Infrared Analysis*. Marcel Dekker, Inc. New York, USA.
- Camps, C., Guillermin, P., Mauget, J.C., Bertrand, D.J. 2007. Discrimination of storage duration of apples stored in a cooled room and shelf-life by visible-near infrared spectroscopy. *J. Near Infrared Spectrosc.* 15, 169-177.
- Carlini, P., Massantini, R., Mencarelli, F. 1998. Determination of soluble solids content in apricot varieties by visible/near-infrared spectroscopy. *Agr. Med.* 128, 138-141.
- Carlini, P., Massantini, R., Mencarelli, F. 2000. Vis-NIR measurement of soluble solids in cherry and apricot by PLS regression and wavelength selection. *J. Agr. Food Chem.* 48, 5236-5242.
- Cayuela., J.A. 2007. Vis/NIR soluble solids prediction in intact oranges (*Citrus sinensis* L.) cv. Valencia Late by reflectance. *Postharvest Biol. Technol.* 47, 75-80.
- Cen, H., Bao, Y., He, Y., Sun, D-W. 2007. Visible and near infrared spectroscopy for rapid detection of citric and tartaric acids in orange juice. *J. Food Eng.* 82, 253-260.
- Cen, H., He, Y. 2007. Theory and application of near infrared reflectance spectroscopy in determination of food quality. *Trends Food Sci. Tech.* 18, 72-83.

- Cen, H., He, Y., Huang, M. 2006. Measurement of soluble solids contents and pH in orange juice using chemometrics and vis-NIRS. *J. Agric. Food Chem.* 54, 7437-7443.
- Chitarra, A.B., Da Silva, J.M. 1999. Effect of modified atmosphere on internal browning of 'Smooth Cayenne' pineapples. *Acta Hort.* 485, 85-90.
- Clark, C.J., McGlone, V.A., Requejo, C., White, A., Woolf, A.B. 2003. Dry matter determination in 'Hass' avocado by NIR spectroscopy. *Postharvest Biol. Technol.* 29, 300-307.
- Clément, A., Dorais, M., Vernon, M. 2008. Multivariate approach to the measurement of tomato maturity and gustatory attributes and their rapid assessment by Vis-NIR Spectroscopy. *J. Agric. Food Chem.* 56, 1538-1544.
- Coates, J., Ramani, M. 2006. Making NIR your essential instrument. *Lab. Equipment* 43, 50-52.
- Collins, R.J., Tisdell, J.S. 1995. The influence of storage time and temperature on chilling injury in Fuyu and Suruga persimmon (*Diospyros kaki* L.). *Postharvest Biol. Technol.* 6, 149-157.
- Costa, G., Fiori, G., Noferini, M. 2006. Using NIRS to determine intrinsic fruit quality and harvest date. *Acta Hort.* 713, 435-440.
- Costa, G., Noferini, M., Fiori, G., Miserocchi, O., Bregoli, A.M. 2002. NIRS evaluation of peach and nectarine fruit quality in pre- and post-harvest conditions. *Acta Hort.* 592, 593-599.
- Cozzolino, D., Esler, M.B., Damberg, R.G., Cynkar, W.U., Boehm, D.R., Francis, I.L., Gishen, M. 2004. Prediction of colour and pH in grapes using a diode array spectrophotometer (400–1100 nm). *J. Near Infrared Spectrosc.* 12, 105-111.
- Crisosto, C.H., Mitchell, F.G. 2007. Factores precosecha que afectan la calidad de frutas y hortalizas. In *Tecnología Poscosecha de Productos Hortofrutícolas*. 3ª edición. Kader, A. (Ed.). University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, Oakland, California, USA. pp. 55-62.
- Crisosto, C.H., Garner, D., Doyle, J., Day, K.R. 1993. Relationship between fruit respiration, bruising susceptibility, and temperatures in sweet cherries. *Hortscience* 28, 132-135.
- Dash, S.K., Chandra, P., Kar, A. 2006. Evaporatively cooled storage of horticultural produce: A review. *J. Food Sci. Tech.* 43, 105-120.

-
- Davies, A.M.C. 1999. Some variations on a "Local" theme. *Spectroscopy Europe* 11/4, 22-24.
- Davies, A.M.C. 1998. The Proceedings of NIR-97. *J. Near Infrared Spectrosc.* 6, 1-4.
- Day, D.R., Butler, M.A., Smith, M.C., McAllister, A., Deutsch, E.R., Zafiriou, K., Senturia, S.D. 2005. Diffractive-MEMS implementation of a hadamard near-infrared spectrometer. TRANSDUCERS'05. The 13th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems, Vol. 2. Seoul, Korea, pp. 1246-1249.
- Delwiche, S.R., Mekwatanakarn, W., Wang, C.Y. 2008. Soluble solids and simple sugars measurement in intact mango using near infrared spectroscopy. *HortTechnology* 18, 410-416.
- Downey, G, Boussion J. 1996. Coffee authentication by near infrared spectroscopy. In: Near Infrared Spectroscopy: The future Waves. Proceedings of the 7th International Conference on Near Infrared Spectroscopy. Davies, A.M.C., Williams, P. (Eds.). NIR Publications, Chichester, UK, pp. 410-415.
- Downey, G. 1994. Tutorial review. Authentication of food and food ingredients by near infrared spectroscopy. *J. Near Infrared Spectrosc.* 4, 47-61.
- Downey, G. 1996. Review. Qualitative analysis in near-infrared region. *Analyst* 119, 2367-2375.
- Downey, G. 2000. Discriminant PLS-questions and answers from a listserver. *NIRNews* 11, 9-12.
- Downey, G., Flynn, F.J. 2002. Discrimination between virgin olive oils from Crete, the Peloponese and other Greek islands using near infrared transfectance spectroscopy. Near Infrared Spectroscopy: Proceedings of the 10th International Conference. Cho, R.K., Davies, A.M.C. (Eds.). NIR Publications, Norwich, UK. pp. 239-241.
- Dull, G.G., Birth, G.S. 1989. Nondestructive evaluation of fruit quality: use of near infrared spectrophotometry to measure soluble solids in intact honeydew melons. *HortScience* 24, 754.
- Dull, G.G., Birth, G.S., Smittle, D.A., Leffler, R.G. 1989. Near infrared analysis of soluble solids in intact cantaloupe. *J. Food Sci.* 54, 393-395.
- Dull, G.G., Leffler, R.G., Birth G.S. 1990. Near-infrared spectrophotometry for measurement of soluble solids in intact honeydew melons. *HortScience* 25, 1132.

-
- Ericsson, N.A. 1998. Effect of nitrogen fertigation on apple production. *Frukt o. Bar* 2, 10-14.
- Fernández, V., Garrido, A. 2000. Interactance-Reflectance versus Reflectance NIRS analysis of grains and ground animal feeds. In *Near Infrared Spectroscopy: Proceedings of the 9th International Conference on Near-Infrared Spectroscopy*. Davies, A.M.C., Giangiaco, R. (Eds.). NIR Publications, Chichester, UK. pp. 655-659.
- Fernández-Cabanás, V., Garrido-Varo, A., Pérez-Marín, D., Dardenne, P. 2006. Evaluation of pre-treatments strategies for Near-Infrared Spectroscopy calibration development of unground and ground compound feedingstuffs. *Appl. Spectrosc.* 60, 17-23.
- Fu, X., Ying, Y., Liu, Y. 2004. Near-infrared spectroscopy for sugar-content detection of Fuji apples using optical fiber. *Proc. SPIE* 5589, 316-324.
- Fu, X., Zhou, Y., Ying, Y., Lu, H., Xu, H. 2006. NIR assessment of soluble solids and firmness for pears of different cultivars. *Proc. SPIE* 6381, 63810N.
- Fu, X., Ying, Y., Lu, H., Xu, H. 2007a. Comparison of diffuse reflectance and transmission mode of visible-near infrared spectroscopy for detecting brown heart of pear. *J. Food Eng.* 83, 317-323.
- Fu, X., Zhou, Y., Ying, Y., Lu, H., Xu, H. 2007b. Discrimination of pear varieties using three classification methods based on near-infrared spectroscopy. *Trans. ASABE* 50, 1355-1361.
- Fu, X., Ying, Y., Lu, H., Xu, H., Yu, H., 2007c. FT-NIR diffuse reflectance spectroscopy for kiwifruit firmness detection. *Sens. & Instrumen. Food Qual.* 1, 29-35.
- Fu, X.P., Ying, Y.B., Zhou, Y., Xie, L.J., Xu, H.R. 2008. Application of NIR spectroscopy for firmness evaluation of peaches. *J. Zhejiang Univ. Sci. B.* 9, 552-557.
- Garrido, A. 1997. Current and future applications of NIRS technology. *Options Méditerranéennes* 26, 87-92.

- Garrido, A., Guerra, J.E., Gómez-Cabrera, A. 1993. Posibilidades y limitaciones de la aplicación de la técnica NIRS en la evaluación nutricional de alimentos para el ganado. In *Nuevas Fuentes de Alimentos para la Producción Animal IV*. Gómez-Cabrera, A., De-Pedro-Sanz, E.J. (Eds.). Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía, Sevilla, España. pp. 243-255.
- Garrido-Varo, A., Sánchez, M.T., Cano, G., Pérez, D., López, C. 2001. Prediction of neutral and acid detergent fiber content of green asparagus stored under refrigeration and modified atmosphere conditions by near-infrared reflectance spectroscopy, *J. Food Qual.* 24, 9-550.
- Golic, M., Walsh, K.B. 2006. Robustness of calibration models based on near infrared spectroscopy for the in-line grading of stone fruit for total soluble solids content. *Anal. Chim. Acta* 555, 286-291.
- González, J.M., Pérez, D., Garrido, A., Guerrero, J.E. 2004. Non-destructive analysis of intact olive fruits by near infrared spectroscopy: prediction of fat yield and acidity. In *Near Infrared Spectroscopy: Proceedings of the 11th International Conference*. Davies, A.M.C., Garrido-Varo, A. (Eds.). NIR Publications, Norfolk, UK. pp. 373-375.
- Gorny, J.R., Hess-Pierce, B., Cifuentes, R.A., Kader, A.A. 2002. Quality changes in fresh-cut pear slices as affected by controlled atmospheres and chemical preservatives. *Postharv. Biol. Technol.* 24, 271-278.
- Goula, A.M., Adamopoulos, K.G. 2003. Estimating the composition of tomato juice products by near infrared spectroscopy. *J. Near Infrared Spectrosc.* 11, 123-136.
- Greensill, C.V., Walsh, K. 2002. Calibration transfer between miniature photodiode array-based spectrometers in the near infrared assessment of mandarin soluble solids content. *J. Near Infrared Spectrosc.* 7, 27-35.
- Greensill, C.V., Wolf, P.J., Spiegelman, C.H., Walsh, K.B. 2001. Calibration transfer between PDA-based NIR spectrometers in the NIR assessment of melon soluble solids content. *Appl. Spectrosc.* 55, 647-653.
- Guthrie, J., Wedding, B., Walsh, K. 1998. Robustness of NIR calibrations for soluble solids in intact melon and pineapple. *J. Near Infrared Spectrosc.* 6, 259-265.
- Guthrie, J.A., Liebenberg, C.J., Walsh, K.B. 2006. NIR model development and robustness in prediction of melon fruit total soluble solids. *Aust. J. Agr. Res.* 57, 1-8.

- Guthrie, J.A., Walsh, K.B. 1997. Non-invasive assessment of pineapple and mango fruit quality using near infra-red spectroscopy. *Aust. J. Exp. Agr.* 37, 253-263.
- Guthrie, J.A., Walsh, K.B., Reid, D.J., Liebenberg, C.J. 2005a. Assessment of internal quality attributes of mandarin fruit I. NIR calibration model development. *Aust. J. Agric. Res.* 56, 405-416.
- Guthrie, J.A., Reid, D.J., Walsh, K.B. 2005b. Assessment of internal quality attributes of mandarin fruit II. NIR calibration model robustness. *Aust. J. Agric. Res.* 56, 417-426.
- Guthrie, J.A., Wedding, B., Walsh, K.B. 1998. Robustness of NIR calibrations for soluble solids in intact melon and pineapple. *J. Near Infrared Spectrosc.* 6, 259-265.
- Haard, N.F., Sharma, S.C., Wolfe, R., Frenkel, C. 1974. Ethylene induced isoperoxidase changes during fiber formation in postharvest asparagus. *J. Food Sci.* 39, 452-456.
- Hahn, F., Lopez, I., Hernández, G. 2004. Spectral bandwidth effect on a *Rhizopus stolonifer* spores detector and its on-line behavior using red tomato fruits. *Biosyst. Eng.* 46, 93-99.
- Han, D., Tu, R., Lu, C., Liu, C., Wen, Z. 2006. Nondestructive detection of brown core in the Chinese pear 'Yali' by transmission visible-NIR spectroscopy. *Food Control* 17, 604-608.
- Hardenburg, R.E., Watada, A.E., Wang, C.Y. 1986. The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks. United States Department of Agriculture. Agricultural Research Service. Agriculture Handbook No. 66, pp. 130.
- Harker, F.R., Kupferman, E.M., Marin, A.B., Gunson, F.A., Triggs, C.M. 2008. Eating quality standards for apples based on consumer preferences. *Postharvest Biol. Technol.* 50, 70-78.
- Hartz, T.K., Giannini, C., Miyao, G., Valencia, J., Cahn, M., Mullen, R. y Brittan, K. 1998. Soil cation balance affects tomato fruit color disorders. *HortScience* 33, 445-446.
- Heise, H.M., Winzen, R. 2004. Chemometrics in Near-Infrared Spectroscopy. In Near-Infrared Spectroscopy. Principles, Instruments, Applications. Siesler, H.W., Ozaki, Y., Kawata, S., Heise, H.M. (Eds.). WILEY-VCH, Weinheim, Germany, pp. 125-162.

-
- Hernández-Gómez, A.H., He, Y., Pereira, A.G. 2006. Non-destructive measurement of acidity, soluble solids and firmness of Satsuma mandarin using Vis/NIR-spectroscopy techniques. *J. Food Eng.* 77, 313-319.
- Hernández-Hierro, J.M., García-Villanova, R.J., González-Martín, I. 2008. Potential of near infrared spectroscopy for the analysis of mycotoxins applied to naturally contaminated red paprika found in the Spanish market. *Anal. Chim. Acta* 622, 189-194.
- Hernandez-Rivera, L., Mullen, R., Cantwell, M. 1992. Textural changes of asparagus in relative to delays in cooling and storage conditions. *HortTechnology* 2, 378-381.
- Hernández-Sánchez, N., Lurol, S., Roger, J.M., Bellon-Maurel, V. 2003. Robustness of models based on NIR spectra for sugar content prediction in apples. *J. Near Infrared Spectrosc.* 11, 97-107.
- Herrera, J., Guesalaga, A., Agosin, E. 2003. Shortwave-near infrared spectroscopy for non-destructive determination of maturity of wine grapes. *Meas. Sci. Technol.* 14, 689-697.
- Hobson, G.E., Bedford, L. 1989. The composition of cherry tomatoes and its relation to consumer acceptability. *J. Hortic. Sci.* 64, 321-329.
- Hong, T.L., Tsou, S.C.S. 1998. Determination of tomato quality by near infrared spectroscopy. *J. Near Infrared Spectrosc.* 6, A321-A324.
- Hu, X., He, Y., García-Pereira, A., Hernández-Gómez, A. 2005. nondestructive determination method of fruit quantity detection based on Vis/NIR. In Spectroscopy Technique Proceedings of the 2005 IEEE Engineering in Medicine and Biology. 27th Annual Conference. Shanghai, China, pp. 1-4.
- Huang, H., Yu, H., Xu, H., Ying, Y. 2008. Near infrared spectroscopy for on/in-line monitoring of quality in foods and beverages: A review. *J. Food Eng.* 87, 303-313.
- Hutton, R. 1998. Potential of NIR technique to measure internal quality of citrus fruit. Australian Near Infrared Group. In NISG Conference. Queensland. Australia.
- Imahori, Y., Takemura, M., Bai, J. 2008. Chilling-induced oxidative stress and antioxidant responses in mume (*Prunus mume*) fruit during low temperature storage. *Postharvest Biol. Technol.* 49, 54-60.

-
- ISI. 2000. The Complete Software Solution Using a Single Screen for Routine Analysis, Robust Calibrations, and Networking; Manual. FOSS NIRSystems/TECATOR. Infrasoft International, LLC, Sylver Spring MD, USA.
- Jarén, C., Arazuri, S., García, M.J., Arnal, P., Arana, J.I. 2006. White asparagus harvest date discrimination using NIRS technology. *Int. J. Infrared Milli.* 27, 39-401.
- Jha, S.N., Matsouka, T. 2004. Non-destructive determination of acid-brix ratio of tomato juice using near infrared spectroscopy. *Int. J. Food Sci. Tech.* 39, 425-430.
- Jiang, H., Ying, Y., Bao, Y. 2005. Study on the water content measurement of tomatoes by near infrared technique. *Proceedings of SPIE-The International Society for Optical Engineering* 5996, 599-612.
- Kader, A.A. 1985. Postharvest biology and technology: an overview. In Postharvest Technology of Horticultural Crops. Kader, A.A. (Ed.). University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, Oakland, California, USA. pp. 3-7.
- Kader, A.A. 1992. Postharvest biology and technology: an overview. In: Postharvest Technology of Horticultural Crops. Kader, A.A. (Ed.). University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, Oakland, California, USA. pp. 15-20.
- Kader, A.A. 1993. A summary of CA requirements and recommendations for fruits other than pome fruits. In Proceedings of Sixth International Controlled Atmosphere Research Conference. Walker, C. (Ed.). Ithaca, NY, pp. 859-887.
- Kader, A.A. 2000. Advances in CA/MA Applications. *Perishables Handling Quarterly.* 104, 8-9.
- Kader, A.A. 2001. Quality assurance of harvested horticultural perishables. In Proceedings of 4th International Conference on Postharvest. Ben-Arie, R., Philosoph-Hadas, S. (Eds.). *Acta Hort.* 553, 51-56.
- Kader, A.A. 2007a. Biología y tecnología poscosecha: Un panorama. In Tecnología Poscosecha de Productos Hortofrutícolas. 3^a edición. Kader, A. (Ed.). University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, Oakland, California, USA. pp. 43-54.

- Kader, A.A. 2007b. Atmósferas modificadas en el transporte y el almacenamiento. In Tecnología Poscosecha de Productos Hortofrutícolas. 3ª edición. Kader, A. (Ed.). University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, Oakland, California, USA. pp. 43-54.
- Kader, A.A. 2007c. Factores de seguridad y calidad: definición y evaluación para productos hortofrutícolas frescos. In Tecnología Poscosecha de Productos Hortofrutícolas. 3ª edición. Kader, A. (Ed.). University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, Oakland, California, USA. pp. 315-322.
- Kader, A.A. 2008. Flavor quality of fruits and vegetables. *J. Sci. Food Agric.* 88, 1863-1868.
- Kader, A.A., Morris, L.L. 1978. Prompt handling reduces processing-tomato losses. *Calif. Agric.* 32, 21-22.
- Kader, A.A., Morris, L.L., Stevens, M.A., Allbright-Holton, M. 1978. Composition and flavor quality of fresh market tomatoes as influenced by some postharvest handling procedures. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 103, 6-13.
- Kavdir, I., Lu, R., Ariana, D., Ngouajio, M. 2007. Visible and near-infrared spectroscopy for nondestructive quality assessment of pickling cucumbers. *Postharvest Biol. Technol.* 44, 165-174.
- Kawano, S. 2002. Sample presentations of near infrared analysis of intact fruits, single grains, vegetable juice, milk and other agricultural products. In Near Infrared Spectroscopy: Proceedings of the 10th International Conference on Near-Infrared spectroscopy. Davies, A.M.C., Cho, R.K. (Eds.). NIR Publications, Chichester, UK. pp. 15-18.
- Kawano, S. 2004. Sampling and sample presentation. In Near-Infrared Spectroscopy. Principles, Instruments, Applications. Siesler, H.W., Ozaki, Y., Kawata, S., Heise, H.M. (Eds.). Wiley-VCH, Weinheim, Germany. pp. 115-124.
- Kawano, S., Abe, H., Iwamoto, M. 1995. Development of a calibration equation with temperature compensation for determining the Brix value in intact peaches *J. Near Infrared Spectrosc.* 3, 211-218.
- Kawano, S., Fujiwara, T., Iwamoto, M. 1993. Nondestructive determination of sugar content in satsuma mandarin using near infrared (NIR) transmittance. *J. Jpn. Soc. Hortic. Sci.* 62, 465-470.

-
- Kawano, S., Watanabe, H., Iwamoto, M. 1992. Determination of sugar content in intact peaches by near infrared spectroscopy with fiber optics in interactance mode. *J. Jpn. Soc. Hortic. Sci.* 61, 445-451.
- Kays, S.J., Dull, G.G., Leffler, R.G. 2000. Challenges and opportunities in the use of near infrared for the analysis of intact, high moisture plant products. In *Near Infrared Spectroscopy: Proceedings of the 9th International Conference*. Davies, A.M.C., Giangiaco, R. (Eds.). NIR Publications, Chichester, UK. pp. 841-848.
- Khuriyati, N., Matsuoka, T. 2004. Near infrared transmittance method for nondestructive determination of soluble solids content in growing tomato fruits. *Environ. Control Biol.* 42, 217-223.
- Khuriyati, N., Matsuoka, T., Kawano, S. 2004. Precise near infrared spectral acquisition of intact tomatoes in interactance mode. *J. Near Infrared Spectrosc.* 12, 391-395.
- Kleynen, O., Leemans, V., Destain, M.F. 2005. Development of a multi-spectral vision system for the detection of defects on apples. *J. Food Eng.* 69, 41-49.
- Kramer, R., Workman, J.Jr., Reeves III, J.B. 2004. Qualitative analysis. In *Near Infrared Spectroscopy in Agriculture*. Roberts, C.A., Workman J.Jr, Reeves III, J.B. (Eds.). Agronomy Serie No. 44. ASA, CSSA y SSSA Publishers, Madison, Wisconsin, USA. pp. 175-206.
- Lammertyn, J., Nicolai, B., Ooms, K., De Smedt, V., De Baerdemaeker, J. 1998. Non-destructive measurement of acidity, soluble solids, and firmness of Jonagold apples using NIR spectroscopy. *Trans. ASAE* 41, 1089-1094.
- Larraín, M., Guesalaga, A.R., Agosin, E. 2008. A multipurpose portable instrument for determining ripeness in wine grapes using NIR spectroscopy. *IEEE T. Instrum. Meas.* 57, 294-302.
- Lee, K., Kim, G., Kang, S., Son, J., Choi, D., Choi, K. 2004. Measurement of sugar contents in citrus using near infrared transmittance. *Key Eng. Mat.* 270-273 (II), 1014-1019.
- Lee, K.J., Choi, K.H., Choi, D.S. 2001. Development of automatic peach grading system using NIR Spectroscopy. *Proceedings of the KSAM 2001. Winter Conference, ROK.* pp. 365-370.

- León-Moreno, L., Garrido-Varo, A., Rallo-Romero, L. 2002. Use of near infrared spectroscopy to predict oil content components and fatty acid composition in intact olive fruit. *Near Infrared Spectroscopy: Proceedings of the 10th International Conference*. Cho, R.K., Davies, A.M.C. (Eds.). NIR Publications, Norwich, UK. pp. 239-241.
- Lipton, W.J., Barger, W.R. 1965. Market Quality of Head Lettuce in Relation to Delays Between Harvest and Precooling and Temperature after Cooling. US Department of Agriculture. Agriculture Research Service ARS 51-5, Washington, D.C. USA.
- Liu, F.W. 1986. Effects of delayed cooling and delayed low ethylene CA storage on the keeping quality of 'McIntosh' apples. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 111, 719-723.
- Liu, Y., Chen, X., Ouyang, A. 2008. Nondestructive determination of pear internal quality indices by visible and near-infrared spectrometry LWT. *Food Sci. Technol.* 41, 1720-1725.
- Liu, Y., Ying, Y. 2005. Use of FT-NIR spectrometry in non-invasive measurements of internal quality of 'Fuji' apples. *Postharvest Biol. Technol.* 37, 65-71.
- Liu, Y., Ying, Y., Lu, H., Fu, X. 2004. Harvest-time prediction of apple physiological indices using fiber optic Fourier transform near-infrared spectrometer. *Proc. SPIE* 5589, 303-315.
- Liu, Y.D., Chen, X.M., Sun, X.D., Ying, Y.B. 2007a. Non-destructive measurement of pear internal quality indices by visible and near-infrared spectrometric techniques. *New Zealand J. Agric. Res.* 50, 1051-1057.
- Liu, Y.D., Ying, Y., Fu, X., Lu, H. 2007b. Experiments on predicting sugar content in apples by FT-NIR Technique. *J. Food Eng.* 80, 986-989.
- Long, R.L., Walsh, K.B. 2006. Limitations to the measurement of intact melon total soluble solids using near infrared spectroscopy. *Aust. J. Agric. Res.* 57, 403-410.
- Lovás, T., Merész, P., Salgó, A. 1994. Application of near infrared transmission spectroscopy for the determination of some quality parameters of apples. *J. Near Infrared Spectrosc.* 2, 213-221.
- Lu, R. 2001. Predicting firmness and sugar content of sweet cherries using near-infrared diffuse reflectance spectroscopy. *Trans. ASAE* 44, 1265-1271.
- Lu, R., Ariana, D. 2002. A near-infrared sensing technique for measuring internal quality of apple fruit. *Appl. Eng. Agric.* 18, 585-590.

-
- Lu, R., Guyer, D.E., Beaudry, R.M. 2000. Determination of firmness and sugar content of apples using near-infrared diffuse reflectance. *J. Text. Stud.* 31, 615-630.
- Madrid, R., Valverde, M., Alcolea, V., Romojaro, F. 2004. Influence of calcium nutrition on water soaking disorder during ripening of Cantaloupe melon. *Sci. Hortic.* 101, 69-79.
- Mahajan, P.V., Oliveira, F.A.R., Macedo, I. 2008 Effect of temperature and humidity on the transpiration rate of the whole mushrooms. *J. Food Eng.* 84, 281-288.
- Mahayothee, B., Leitenberger, M., Neidhart, S., Mühlbauer, W., Carle, R. 2004. *Acta Hortic.* 645, 581-588.
- MAPA, 2006. Anuario de Estadística Agraria. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid, España.
- Mark, H., Workman, J. 1991. Statistics in Spectroscopy. Academic Press, Inc., Burlington, MA. USA.
- MARM, 2008. Anuario de Estadística Agraria. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, Madrid, España
- Marrero, A., Kader, A.A. 2005. Optimal temperature and modified atmosphere for keeping quality of fresh-cut pineapples. *Postharvest Biol. Technol.* 39, 163-168.
- Marschner, H. 1999. Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press, London, UK.
- Martens, H., Naes, T. 1989. Multivariate Calibration. John Wiley & Sons. Chichester, UK.
- Maul, F., Sargent, S.A., Sims, C.A., Baldwin, E.A., Balaban, M.O., Huber, D.J. 2000. Tomato flavor and aroma quality as affected by storage temperature. *J. Food Sci.* 65, 1228-1237.
- McClure, W. F., Tsuchikawa, S., 2007. Instruments. In Near-Infrared Spectroscopy in Food Science and Technology. Ozaki, Y., McClure, W.F., Christy, A.A. (Eds.). Wiley-VCH, Weinheim, Germany, pp. 75-107.
- McClure, W.F. 2003. 204 years of near infrared technology: 1800-2003. *J. Near Infrared Spectrosc.* 11, 487-518.
- McElhinney, J., Downey, G. 1999. Chemometric processing of visible and near infrared reflectance spectra for species identification in selected raw homogenised meats. *J. Near Infrared Spectrosc.* 7, 145-154.

-
- McGlone, V. A., Jordan, R. B., Martinsen, P. J. 2002. Vis/NIR estimation at harvest of pre- and post-storage quality indices for 'Royal Gala' apple. *Postharv. Biol. Technol.* 25, 135-144.
- McGlone, V.A., Fraser, D., Jordan, R.B., Kunnemeyer, R. 2003. Internal quality assessment of mandarin fruit by vis/NIR spectroscopy. *J. Near Infrared Spectrosc.* 11, 323-332.
- McGlone, V.A., Kawano, S. 1998. Firmness, dry-matter and soluble-solids assessment of postharvest kiwifruit by NIR-spectroscopy. *Postharvest Biol. Technol.* 13, 131-141.
- McGlone, V.A., Martinsen, P.J. 2004. Transmission measurements on intact apples moving at high speed. *J. Near Infrared Spectrosc.* 12, 37-43.
- McGlone, V.A., Martinsen, P.J., Clark, C.J., Jordan, R.B. 2005. On-line detection of brown heart in Braeburn apples using near infrared transmission measurements. *Postharvest Biol. Technol.* 37, 142-151.
- McKenzie, M.J., Greer, L.A., Heyes, J.A., Hurst, P.L. 2004. Sugar metabolism and compartmentation in asparagus and broccoli during controlled atmosphere storage. *Postharvest Biol. Technol.* 32, 45-56.
- Mehinagic, E., Royer, G., Symoneaux, R., Bertrand, D., Jourjon, F. 2004. Prediction of the sensory quality of apples by physical measurements. *Postharv. Biol. Technol.* 34, 257-269.
- Miccolis, V., Saltveit, M.E. 1995. Influence of storage temperature on the postharvest characteristics of six melons (*Cucumis melo* L., Inodorus Group) cultivars. *Postharvest Biol. Technol.* 5, 211-219.
- Mitchell, F.G. 1992. Cooling horticultural commodities. In *Postharvest Technology of Horticultural Crops*, Publication 3311, Kader, A.A. (Ed.). University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, Oakland, California, USA. pp. 53-63.
- Mitchell, F.G., Kader, A.A. 1989. Factors affecting deterioration rate. In: *Peaches, Plums and Nectarines - Growing and Handling for Fresh Market*, Publication 3331, LaRue, J.H. and Johnson, R.S. (Eds.). University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, Oakland, California, USA. Chapter 23, pp. 165-178.

- Miyamoto, K., Kawauchi, M., Fukuda, T. 1998. Classification of high acid fruits by partial least squares using the near infrared transmittance spectra of intact satsuma mandarins. *J. Near Infrared Spectrosc.* 6, 267-271.
- Miyamoto, K., Kitano, Y. 1995. Non-destructive determination of sugar content in satsuma mandarin fruit by near infrared transmittance spectroscopy *J. Near Infrared Spectrosc.* 3, 227-237.
- Moccia, S., Chiesa, A., Oberti, A., Tittonell, P.A. 2006. Yield and quality of sequentially grown cherry tomato and lettuce under long-term conventional, low-input and organic soil management systems. *Eur. J. Hortic Sci.* 71, 183-191
- Moons, E., Dardenne, P. 1999. Determination of internal apple quality by non-destructive visible and near infrared spectroscopy. In *Near Infrared Spectroscopy: Proceedings of the 9th International Conference*. Davies, A.M.C., Giangiacomo, R. (Eds.). NIR publications, Norwich UK. pp. 785-789.
- Moons, E., Dubois, A., Dardenne, P., Lindic, M. 1997. Non destructive visible and NIR Spectroscopy for the determination of internal quality in apple. *Sensors for Nondestructive Testing*. Northeast Regional Agricultural Engineering Service (NRAES). Ithaca, New York, pp. 122-131.
- Moure, J., Ayuso, M.C., López-García, J.L., 1995. Efecto del tratamientos postcosecha en la calidad del espárrago. *Alimentaria*, Diciembre, 31-35.
- Murray, I., Aucott, L.S., Pike, H.I. 2001. Use of discriminant analysis on visible and near infrared reflectance spectra to detect adulteration of fishmeal with meat and bone meal. *J. Near Infrared Spectrosc.* 9, 297-311.
- Naes, T. 1992. Progress in multivariate calibration. In *Near Infrared Spectroscopy. Bridging the Gap between Data Analysis and NIR Applications*. Hildrum, K.I., Isaksson, T., Naes, T., Tandberg, A. (Eds.). Ellis Horwood Limited, Chichester, West Sussex, UK, pp. 51-60.
- Naes, T., Isaksson, T., Fearn, T., Davies, A. 2002. *A User-Friendly Guide to Multivariate Calibration and Classification*. NIR Publications, Chichester, UK.
- Nattuvetty, V.R., Chen, P. 1980. Maturity sorting of green tomatoes based on light transmittance through regions of the fruit. *Trans. ASAE.* 23, 515-518.
- Nelson, J.W., Drake, S.R., Carter, G.H., Early, R.E. 1977. Fresh asparagus quality as affected by field cut and holding conditions. *Bull. Wash. Agric. Exp. Stn.* 846.

- Nicolai, B.M., Beullens, K., Bobelyn, E., Peirs, A., Saeys, W., Theron, K.I., Lammertyn, J. 2007. Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: A review. *Postharvest Biol. Technol.* 46, 99-118.
- Nicolai, B.M., Verlinden, B.E., Desmet, M., Saevels, S., Saeys, W., Theron, K., Cubeddu, R., Torricelli, A. 2008. Time-resolved and continuous wave NIR reflectance spectroscopy to predict soluble solids content and firmness of pear. *Postharvest Biol. Technol.* 47, 68-74.
- Norris, K.H., Hart, J.R. 1965. Direct spectrophotometric determination of moisture content of grain and seeds. In Proceedings of the 1963 International Symposium on Humidity and Moisture. Vol. 4. Reinhold Publication, New York. pp. 19-25.
- O'Brien, M., Sarkar, S.C. 1974. System for optical transmission characteristics for computerized grading tomatoes. *Trans. ASAE* 17, 193-194.
- Onda, T., Komiyama, Y., Otaguro, C. 1996. Time series analysis of postharvest ripening of plum fruit by near infrared spectroscopy. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 43, 382-387.
- Osborne, B.G., Fearn, T., Hindle, P. 1993. Practical NIR Spectroscopy with Applications in Food and Beverage Analysis. Longman Scientific and Technical. London, UK.
- Park, B., Abbott, J.A., Lee, K.J., Choi, C.H., Choi, K.H. 2003. Near-infrared diffuse reflectance for quantitative and qualitative measurement of soluble solids and firmness of Delicious and Gala apples. *Trans. ASAE* 46, 1721-1731.
- Paull, E. 1999. Effect of temperature and relative humidity on fresh commodity quality. *Postharvest Biol. Technol.* 15, 263-277.
- Paull, R.E., Rohrbach, K.G. 1985. Symptom development of chilling injury in pineapple fruit. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 110, 100-105.
- Paz, P., Sánchez, M.-T., Pérez-Marín, D., Guerrero, J.-E., Garrido-Varo, A. 2008. nondestructive determination of total soluble solid content and firmness in plums using Near-Infrared Reflectance Spectroscopy. *J. Agric. Food Chem.* 56, 2565-2570.
- Peano, C., Reita, G., Chiabrando, V. 2006. Firmness and soluble solids assessment of nectarines by NIRs spectroscopy. *Acta Hort.* 713, 465-470.
- Pearson, T.C. 1999. Use of near infrared transmittance to automatically detect almonds with concealed damage. *Lebensm. Wiss. u Technol.* 32, 73-78.

- Peiris, K.H.S., Leffler, R.G., Dull, G.G., Kays, S.J. 1998. Non destructive determination of soluble solids content of peach by Near Infrared Spectroscopy. In *Sensors for Nondestructive Testing*. Northeast Regional Agricultural Engineering Service (NRAES). Ithaca, New York, pp. 77-87.
- Peirs, A., Lammertyn, J., Ooms, K., Nicolai, B. 2000. Prediction of the optimal picking date of different apple cultivars by means of VIS-NIR spectroscopy. *Postharvest Biol. Technol.* 21, 189-199.
- Peirs, A., Scheerlinck, N., Nicolai, B.M. 2003. Temperature compensation for near infrared reflectance measurement of apple fruit soluble solids contents. *Postharvest Biol. Technol.* 30, 233-248.
- Peirs, A., Schenk, A., Nicolai, B.M. 2005. Effect of natural variability among apples on the accuracy of VIS-NIR calibration models for optimal harvest date predictions. *Postharvest Biol. Technol.* 35, 1-13.
- Penchev, P.N., Andreev, G.N., Varmuza, K. 1999. Automatic classification of infrared spectra using a set of improved expert-based features. *Anal. Chim. Acta* 388, 145-159.
- Pérez-Marín, D. 2005. Tecnología NIRS para la certificación y trazabilidad de piensos compuestos. Tesis doctoral. Universidad de Córdoba, Departamento de Bromatología y Tecnología de los Alimentos.
- Pérez-Marín D., Sánchez M.T., Cano G., Garrido, A. 2001. Authentication of green asparagus varieties by Near-Infrared Reflectance Spectroscopy. *J. Food Sci.* 66, 323-327.
- Pérez-Marín, D., Sánchez, MT. Cano, G., Garrido, A. 2002. Prediction of texture in green asparagus by near infrared spectroscopy (NIRS). *J. Food Qual.* 25, 277-287.
- Pérez-Marín, D., Garrido-Varo, A., Guerrero, J.E. 2007. Non-linear regression methods in NIRS quantitative analysis. *Talanta*, 72, 28-42.
- Poovaiah, B.W., Glenn, G.M., Reddy, A.S.N. 1988. Calcium and fruit softening: Physiology and biochemistry. *Hort. Rev.* 10, 107-152.
- Prusia, S.E. 1985. Ergonomics of manual harvesting. *Applied Ergon.* 16, 209-215.
- Qing, Z., Zude, M. 2007. Wavelength selection for predicting physicochemical properties of apple fruit based on near-infrared spectroscopy. *J. Food Qual.* 30, 511-526.

- Reid, M.S. 2007. Maduración e índices de madurez. In Tecnología poscosecha de productos hortofrutícolas. 3ª edición. Kader, A. (Ed.). University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, Oakland, California, USA. pp. 63-72.
- Reita, G., Peano, C., Saranwong, S., Kawano, S. 2008. An evaluating technique for variety compatibility of fruit applied to a near infrared Brix calibration system: A case study using Brix calibration for nectarines. *J. Near Infrared Spectrosc.* 16, 83-89.
- Robbins, J., Moore, P.P. 1992. Fruit quality of stored, fresh red raspberries after a delay in precooling. *HortTechnology* 2, 468-470.
- Romojaro, F., Martínez-Madrid, M.C., Pretel, M.T. 2006. Factores precosecha determinantes de la calidad y conservación en poscosecha de productos agrarios. V Simposio Ibérico VIII Nacional de Maduración y Post-Recolección, Orihuela Alicante. pp. 91-96.
- Saltveit, M.E., Jr. 1993. A summary of CA and MA requirements and recommendations for the storage of harvested vegetables. In Proceedings of Sixth International Controlled Atmosphere Research Conference. Walker, C. (Ed.). Ithaca, NY, pp. 800-818.
- Salunkhe, D.K., Bolin, H.R., Reddy, N.R. 1991. Storage, processing, and nutritional quality of fruits and vegetables; 2nd edition, Vol. 1: Fresh Fruits and Vegetables (323 p.) and Vol. 2: Processed Fruits and Vegetables (195 p.). CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Sams, C.E. 1999. Preharvest factors affecting postharvest texture. *Postharv. Biol. Technol.* 15, 249-254.
- Sánchez, M.T., Cano, G., Cruz, J. 2001. Influencia de las condiciones de conservación en atmósfera controlada sobre la textura y el contenido en fibra de espárragos verdes. *Aliment. Equipos Technol.* 159, 61-66.
- Sanders, K.F. 2005. Orange Harvesting Systems Review. *Biosyst. Eng.* 115-125.
- Saranwong, S., Kawano, S. 2005. Rapid determination of fungicide contaminated on tomato surfaces using the DESIR-NIR: a system for ppm-order concentration. *J. Near Infrared Spectrosc.* 13, 169-175.

-
- Saranwong, S., Kawano, S., 2007. Applications to agricultural and marine products: Fruits and vegetables. In *Near-Infrared Spectroscopy in Food Science and Technology*. Ozaki, Y., McClure, W.F., Christy, A.A. (Eds.), John Wiley & Sons, Inc., New Jersey, USA, pp. 219-242.
- Saranwong, S., Sornsrivichai, J., Kawano, S. 2001. Improvement of PLS calibration for Brix value and dry matter of mango using information from MLR calibration. *J. Near Infrared Spectrosc.* 9, 287-295.
- Saranwong, S., Sornsrivichai, J., Kawano, S. 2003a. Performance of a portable near infrared instrument for Brix value determination of intact mango fruit. *J. Near Infrared Spectrosc.* 11, 175-181.
- Saranwong, S., Sornsrivichai, J., Kawano, S. 2003b. On-tree evaluation of harvesting quality of mango fruit using a hand-held NIR instrument. *J. Near Infrared Spectrosc.* 11, 283-293.
- Saranwong, S., Sornsrivichai, J., Kawano, S. 2004. Prediction of ripe-stage eating quality of mango fruit from its harvest quality measured nondestructively by near-infrared spectroscopy. *Postharvest Biol. Technol.* 31, 137-145.
- Schaare, P.N., Fraser, D.G. 2000. Comparison of reflectance, interactance and transmission modes of visible-near infrared spectroscopy for measuring internal properties of kiwifruit (*Actinidia chinensis*). *Postharvest Biol. Technol.* 20, 175-184.
- Schmilovitch, Z., Mizrach, A., Hoffman, A., Egozi, H., Fuchs, Y. 2000. Determination of mango physiological indices by near-infrared spectrometry. *Postharvest Biol. Technol.* 19, 245-252.
- Schulz, H., Drews, H.-H. 1998. Application of near infrared spectroscopy for the quantification of quality parameters in selected vegetables and essential oil plants. *J. Near Infrared Spectrosc.* 6, A125-A130.
- Serégely, Z., Deák, T., Bisztray, G.D. 2004. Distinguishing melon genotypes using NIR spectroscopy. *Chemometr. Intell. Lab.* 72, 195-203.
- Serrano, M., Martínez-Madrid, M.C., Pretel, M.T., Riquelme, F., Romojaro, F. 1997. Modified atmosphere packaging minimizes increases in putrescine and abscisic acid levels caused by chilling injury in pepper fruit. *J. Agric. Food Chem.* 45, 1668-1672.

- Shackel, K.A., Grece, C., Labavitch, J.M., Ahmadi, H. 1991. Cell turgor changes associated with ripening in tomato pericarp tissue. *Plant Physiol.* 97, 814-816.
- Shao, Y., He, Y., Gómez, A.H., Pereir, A.G., Qiu, Z., Zhang, Y. 2007. Visible/near infrared spectrometric technique for nondestructive assessment of tomato "Heatwave" (*Lycopersicum esculentum*) quality characteristics. *J. Food Eng.* 81, 672-678.
- Shenk, J.S., Westerhaus, M.O. 1995a. Analysis of Agriculture and Food Products by Near Infrared Reflectance Spectroscopy. Monograph, NIRSystems, Inc., 12101 Tech Road, Silver Spring. MD 20904. USA.
- Shenk, J.S., Westerhaus, M.O. 1995b. Routine Operation, Calibration, Development and Network System Management Manual. NIRSystems, Inc., 12101 Tech Road, Silver Spring. MD 20904. USA.
- Shenk, J.S., Westerhaus, M.O. 1996. Calibration the ISI way. In Near Infrared Spectroscopy: The Future Waves. Davies, A.M.C., Williams, P.C. (Eds.). NIR Publications, Chichester, UK. pp.198-202.
- Shenk, J.S., Workman J., Westerhaus, M. 2001. Application of NIR spectroscopy to agricultural products. In Handbook of Near Infrared Analysis. 2nd Edition. Burns, D.A., Ciurczac, E.W. (Eds.). Marcel Dekker, Nueva York. (USA). pp. 419-474.
- Shewfelt, R.L. 1990. Sources of variation in the nutrient content of agricultural commodities from the farm to the consumer. *J. Food Qual.* 13, 37-54.
- Sidahmed, M.M., Jaber, N.S. 2004. The design and testing of a cutter and feeder mechanism for the mechanical harvesting of lentils. *Biosyst. Eng.* 88, 295- 304.
- Sirisomboon, P., Tanaka, M., Fujita, S., Kojima, T. 2007. Evaluation of pectin constituents of Japanese pear by near infrared spectroscopy. *J. Food Eng.* 78, 701-707.
- Slaughter, D. 1995. Non-destructive determination of internal quality in peaches and nectarines. *Trans. ASAE* 38, 617-623.
- Slaughter, D.C., Crisosto, C.H. 1998. Nondestructive internal quality assessment of kiwifruit using near-infrared spectroscopy. *Semin. Food Anal.* 3, 131-140.
- Slaughter, D.C., Abbott, J.A. 2004. Analysis of fruits and vegetables. In Near-Infrared Spectroscopy in Agriculture. Roberts C.A., Workman J., Reeves III, J.B. (Eds.). ASA, CSSA y SSSA, Inc., Madison, Wisconsin, USA. pp. 377-398.

-
- Slaughter, D.C., Barrett, D., Boersig, M. 1996. Nondestructive determination of soluble solids in tomatoes using near infrared spectroscopy. *J. Food Sci.* 61, 695-697.
- Slaughter, D.C., Cavaletto, C.G., Gautz, L.D., Paull, R.E. 1999. Non-destructive determination of soluble solids in papayas using near infrared spectroscopy. *J. Near Infrared Spectrosc.* 7, 223-228.
- Snowdon, A.L. 1990. A Color Atlas of Post-Harvest Diseases and Disorders of Fruits and Vegetables. Vol. 1: General Introduction and Fruits. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 302 p.
- Snowdon, A.L. 1992. Color Atlas of Post-Harvest Diseases and Disorders of Fruits and Vegetables. Vol. 2. Vegetables. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 416 p.
- Soares-Gomes, A., Trugo, L.C., Botrel, N., Da Silva-Souza, L.F. 2005. Reduction of internal browning of pineapple fruit (*Ananas comusus* L.) by preharvest soil application of potassium. *Postharv. Biol. Technol.* 35, 201-207.
- Sommer, N.F. 1989. Suppressing postharvest disease with handling practices and controlled environments. In Peaches, Plums and Nectarines-Growing and Handling for Fresh Market, Publication 3331, LaRue, J.H., Johnson, R.S. (Eds.). University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, Oakland, California, USA. Chapter 24, pp. 179-190.
- Sosa, J., Vest, G., Herner, R.C. 1976. Distribution of fiber content in asparagus cultivars. *HortScience* 11, 149-151.
- Streamer R.W. y De Thomas F.A. 1995. Fibre optic interfaces for process measurements. In Leaping Ahead with Near Infrared Spectroscopy. Batten, G.D., Flinn, P.C., Welsh, L.A., Blakeney, A.B. (Eds.). Royal Australia Chemical Institute, Australia. pp. 19-23.
- Subedi, P.P., Walsh, K.B., Owens, G. 2007. Prediction of mango eating quality at harvest using short.wave near infrared spectrometry. *Postharvest Biol. Technol.* 43, 326-334.
- Tahir, I., Johansson, E., Olsson, M.E. 2007. Improvement of quality and storability of apple cv. Aroma by adjustment of some pre-harvest conditions. *Sci. Hortic.* 112, 164-171.
- Tarkosova, J., Copiova, J. 2000. Determination of carbohydrate content in bananas during ripening and storage by near infrared spectroscopy. *J. Near Infrared Spectrosc.* 8, 21-26.

- Thompson, A.K. 1996. *Postharvest Technology of Fruit and Vegetables*. Blackwell, Oxford, UK. pp. 410.
- Thompson, J.F. 2007a. Sistemas de cosecha. In *Tecnología Poscosecha de Productos Hortofrutícolas*. 3ª edición. Kader, A. (Eds.). University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, Oakland, California, USA. pp. 73-76.
- Thompson, J.F. 2007b. Psicrometría y productos perecederos. En *Tecnología Poscosecha de Productos Hortofrutícolas*. 3ª edición. Kader, A. (Eds.). University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, Oakland, California, USA. pp. 149-156.
- Thyholt, K., Isaksson, T. 1997. Near infrared spectroscopy of dry extracts from high moisture food products on solid support-a review. *J. Near Infrared Spectrosc.* 5, 179-193.
- Tian, H-Q., Ying, Y-B., Lu, H-S., Fu, X-P., Yu, H-Y. 2007a. Measurement of soluble solids content in watermelon by Vis/NIR diffuse transmittance technique. *J. Zhejiang Univ. Sci. B.* 8, 105-110.
- Tian, H-Q., Ying, Y., Lu, H-S., Xu, H-R., Xie, L-J., Fu, X-P., Yu, H-Y. 2007b. Study on predicting firmness of watermelon by Vis/NIR diffuse transmittance technique. *Spectrosc. Spect. Anal.* 27, 1113-1117.
- Tsai, C.Y., Chen, H.J., Hsieh, J.F., Sheng, C.T. 2007. Fabrication of a near infrared online inspection system for pear fruit. *Int. Agr. Eng. J.* 16, 57-70.
- Tsuchikawa, S. 2007. Sampling techniques. In *Near-Infrared Spectroscopy in Food Science and Technology*. Ozaki, Y., McClure, W.F., Christy, A.A. (Eds.). Wiley-VCH, Weinheim, Germany, pp. 133-165.
- Tudela, J.A., Hernández, J.A., Gil, M.I., Espin, J.C. 2003. L-Galactono- γ -Lactone dehydrogenase activity and vitamin C content in fresh-cut potatoes stored under controlled atmospheres. *J. Agric. Food Chem.* 51, 4296-4302.
- Vandeginste, B.G.M., Massart, D.L., Buydens, L.M.C., De Jong, S., Lewi, P.J., Smeyers-Verbeke, J. 1998. *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Part B*. Elsevier Science B.V., Amsterdam, The Netherlands. pp. 649-699.
- Ventura, M., De Jager, A., De Putter, H., Roelofs, F.P.M.M. 1998. Nondestructive determination of soluble solids in apple fruit by near infrared spectroscopy (NIRS). *Postharvest Biol. Technol.* 14, 21-27.

-
- Vigneau, E., Qannari, E.M., Devaux, M.F. 2000. Méthodes prédictives. In *La Spectroscopie Infrarouge et ses Applications Analytiques*. Bertrand, D., Dufour, E. (Eds.). Technique & Documentation, Paris, Francia. pp. 295-332.
- Vilas-Boas, E.V.B., Kader, A.A. 2006. Effect of atmospheric modification, 1-MCP and chemicals on quality of fresh-cut banana. *Postharv. Biol. Technol.* 39, 155-162.
- Villalobos-Acuña, M., Mitcham, E.J. 2008. Ripening of European pears: The chilling dilemma. *Postharv. Biol. Technol.* 49, 187-200.
- Villanueva, J.M., Tenorio, M.D., Sagardoy, M., Redondo, A., Saco, M.D. 2005. Physical, chemical, histological and microbiological changes in fresh green asparagus (*Asparagus officinalis*, L.) stored in modified atmosphere packaging. *Food Chem.* 91, 609-619.
- Walsh, K.B., Guthrie, J.A., Burney, J.W. 2000. Application of commercially available, low-cost, miniaturised NIR spectrometers to the assessment of the sugar content of intact fruit. *Aust. J. Plant Physiol.* 27, 1175-1186.
- Walsh, K.B., Golic, M., Greensill, C.V. 2004. Sorting of fruit using near infrared spectroscopy: application to a range of fruit and vegetables for soluble solids and dry matter content. *J. Near Infrared Spectrosc.* 12, 141-148.
- Williams, P.C. 1987. Variables affecting near-infrared reflectance spectroscopy analysis. In *Near Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*. Williams, P.C. Norris, K. (Eds.). American Association of Cereal Chemists Inc., St Paul, MN, USA. pp. 143-148.
- Williams, P.C. 1991. Application of near-infrared reflectance and transmittance spectroscopy in agriculture. In *The 3rd International Conference on Near Infrared Spectroscopy*. Biston, R., Bartiaux-Thill, N. (Eds.). Agricultural Research Centre, Gembloux (Belgium). pp. 463-473.
- Williams, P.C. 2001. Implementation of Near-Infrared technology. In *Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*, 2nd edition, Williams, P.C., Norris, K. (Eds.). American Association of Cereal Chemists, Inc., St. Paul, Minnesota, USA, pp.145-169.
- Williams P.C., Norris K. 2001. *Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*, 2nd edition. American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota, USA.

- Williams, P.C., Sobering D. 1996. How do we do it: a brief summary of the methods we use in developing near infrared calibrations. In *Near Infrared Spectroscopy: The Future Waves*. Davies, A.M.C., Williams, P.C. (Eds.). NIR Publications, Chichester, West Sussex, UK, pp. 185-188.
- Wills, R.H.H., Lee, T.H., Mc-Glasson, W.B., Hall, E.G., Graham, D. 1984. *Fisiología y Manipulación de Frutas y Hortalizas Postrecolección*. Acribia Ed., Zaragoza, España. pp. 18-93.
- Woo, Y., Kim, H., Chung, H. 1999. Classification of cultivation area of ginseng radix with NIR and Raman spectroscopy. *Analyst* 124, 1223-1226.
- Workman, J.Jr., Shenk, J. 2004. Understanding and using the near-infrared spectrum as an analytical method. In *Near-Infrared Spectroscopy in Agriculture*. Roberts C.A., Workman, J., Reeves III, J.B. (Eds.). ASA, CSSA y SSSA, Inc., Madison, Wisconsin, USA, pp. 3-10.
- Worthington, J.T., Massie, D.R., Norris, K.H., 1976. Light transmission technique for predicting ripening time for intact green tomatoes. In *Quality Detection in Foods*. ASAE Publication, St. Joseph, MI, USA. 1-76: 46-49.
- Wright, K.P., Kader, A.A. 1997. Effect of slicing and controlled-atmosphere storage on the ascorbate content and quality of strawberries and persimmons. *Postharvest Biol. Technol.* 10, 39-48.
- Xie, L., Ying, Y., Ying, T., Yu, H., Fu, X. 2007a. Discrimination of transgenic tomatoes based on visible/near-infrared spectra. *Anal. Chim. Acta* 2, 379-384.
- Xie, L., Ying, Y., Lin, H., Zhou, Y., Niu, X., Jiang, X. 2007b. Near-infrared transmittance spectroscopy for nondestructive determination of soluble solids content and pH in tomato juice. *Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering*, 6761, art. no. 676110.
- Xing, J., Baerdemaerker, J. 2007. Fresh bruise detection by predicting softening index of apple tissue using VIS/NIR spectroscopy. *Postharvest Biol. Technol.* 45, 176-183.
- Ying, Y., Liu, Y. 2008. Non destructive measurement of internal quality in pear using genetic algorithms and FT-NIR spectroscopy. *J. Food Eng.* 84, 206-213.
- Ying, Y.B., Liu, Y.D., Wang, J.P., Fu, X.P., Li, Y.B. 2005. Fourier transform near-infrared determination of total soluble solids and available acid in intact peaches. *Trans. ASAE* 48, 229-234.

Zude, M., Herold, B., Roger, J.-M., Bellon-Maurel, V., Landahl, S., 2006. Nondestructive tests on the prediction of apple fruit flesh firmness and soluble solids content on tree and in shelf life. *J. Food Eng.* 77, 254-260.