

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE FÍSICA – INFIS

MARCUS VINICIUS DA SILVA FARIAS

Uso de Espectroscopia Óptica aliada à Inteligência Artificial para Identificação e
Quantificação de Adulterantes em Polpa de Açaí

Uberlândia

2023

MARCUS VINICIUS DA SILVA FARIAS

Uso de Espectroscopia Óptica aliada à Inteligência Artificial para Identificação e
Quantificação de Adulterantes em Polpa de Açaí

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto de física
(INFIS) da Universidade Federal de
Uberlândia como requisito parcial para
obtenção do título de bacharel em física
de materiais.

Área de concentração: Física
Experimental - Óptica

Orientador: Prof. Dr. Jader de Souza
Cabral

Uberlândia

2023

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

F224 2023	<p>Farias, Marcus Vinícius da Silva, 2001- Uso de Espectroscopia Óptica aliada à Inteligência Artificial para Identificação e Quantificação de Adulterantes em Polpa de Açaí [recurso eletrônico] / Marcus Vinícius da Silva Farias. - 2023.</p> <p> Orientador: Jader de Souza Cabral. Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Uberlândia, Graduação em Física de Materiais. Modo de acesso: Internet. Inclui bibliografia.</p> <p> 1. Física. I. Cabral, Jader de Souza, 1985-, (Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Graduação em Física de Materiais. III. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDU: 53</p>
--------------	--

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074

MARCUS VINICIUS DA SILVA FARIAS

Uso de Espectroscopia Óptica aliada à Inteligência Artificial para Identificação e
Quantificação de Adulterantes em Polpa de Açaí

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto de física
(INFIS) da Universidade Federal de
Uberlândia como requisito parcial para
obtenção do título de bacharel em física
de materiais.

Área de concentração: Física
Experimental - Óptica

Orientador: Prof. Dr. Jader de Souza
Cabral

Uberlândia, 27 de novembro de 2023

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Jader de Souza Cabral
Universidade Federal de Uberlândia

Prof. Dr. Marco Aurélio Boselli
Universidade Federal de Uberlândia

Prof. Dr. Djalmir Nestor Messias
Universidade Federal de Uberlândia

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família pelo suporte, pelo carinho e pela compreensão que sempre tiveram para comigo.

Agradeço, também, aos professores que me auxiliaram até o presente momento, em especial ao Prof. Jader Cabral pela confiança, paciência e dedicação.

Aos meus amigos, agradeço o companheirismo e a compreensão durante estes anos que se passaram.

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), assim como a FAPEMIG, pela bolsa concedida durante os anos do curso.

"The measure of greatness in a scientific idea is the extent to which it stimulates thought
and opens up new lines of research."
(P. A. M. Dirac, The scientific work of Georges Lemaître, Vol 2. Pontifical Academy of
Sciences, 1968.)

RESUMO

Neste trabalho de conclusão de curso é proposto a identificação/separação e quantificação de adulterantes presentes em amostras de polpa de açaí por meio de técnicas de espectroscopia óptica associadas a métodos quimiométricos. Foram utilizadas as técnicas de Espectroscopia de Fluorescência e Espectroscopia de Emissão Óptica com Plasma Induzido por laser (LIBS, acrônimo para *Laser-Induced Breakdown Spectroscopy*). As amostras foram adulteradas de forma controlada através da adição monitorada de diferentes adulterantes (farinha de trigo, liga neutra, amido de milho) para avaliarmos a eficiência de cada uma das técnicas. Para o tratamento de dados multidimensionais foram utilizadas as ferramentas quimiométricas PCA (*Principal Components Analysis*) e LDA (*Linear Discriminant Analysis*). Os melhores resultados se mostraram para a técnica LIBS que, associada ao PCA e LDA, foi capaz de separar os diferentes contaminantes para as amostras desde a mais baixa concentração (2%). Esse trabalho faz parte de uma colaboração científica entre o Laboratório de Óptica e Informação Quântica (LOIQ) do Instituto de Física da UFU, o Laboratório do Grupo GAIA (Grupo de Análise Instrumental Aplicada) do Departamento de Química da UFSCar.

Palavras-chave: Física Experimental, Açaí, Óptica, Espectroscopia de Fluorescência, LIBS, PCA, LDA.

ABSTRACT

In this work it's proposed the identification/separation and quantification of adulterants present in açai pulp samples through spectroscopy techniques associated with chemometric methods. Fluorescence Spectroscopy as well as *Laser Induced Breakdown Spectroscopy* (LIBS) were used. The samples were contaminated in a controlled way through the monitored addition of three different adulterants (wheat flour, ice cream stabilizer, maize starch) in order to evaluate the efficiency of each of the techniques. For the multidimensional data processing the methods *Principal Component Analysis* (PCA) and *Linear Discriminant Analysis* (LDA) were used. The best results were obtained through the use of LIBS, associated with PCA and LDA, that was capable to separate the different contaminants from the samples of even the lowest concentration analyzed (2%). This work is part of a scientific collaboration between the Laboratory of Optics and Quantum Information (LOIQ), from the Institute of physics at UFU, and the Laboratory GAIA (Group of Applied Instrumental Analysis) from the department of chemistry at UFSCar (Federal University of São Carlos).

Key-words: Experimental physics, Açai, Optics, Fluorescence Spectroscopy, LIBS, PCA, LDA.

SUMÁRIO

1	Introdução	10
2	Técnicas espectroscópicas	11
	2.1 Fluorescência	11
	2.2 LIBS	13
3	Técnicas de análise	15
	3.1 PCA	15
	3.2 LDA	16
4	Preparo de amostras e medidas experimentais	19
	4.1 Preparo de Amostras - Absorbância, Fluorescência 3D e Fluorescência Induzida por Laser (FIL)	19
	4.2 Preparo de Amostras – Espectroscopia de emissão óptica com plasma induzido por laser (LIBS)	20
5	Resultados	22
	5.1 Fluorescência	22
	5.1.1 Medidas de espectroscopia UV-VIS e fluorescência 3D	22
	5.1.2 Análise das amostras adulteradas via medidas de Fluorescência Induzida por Laser (FIL)	23
	5.2 Análise LIBS	26
	5.2.1 Loadings - PCA	34
6	Conclusão	35
7	Perspectivas futuras	35
8	Referências	35
9	Anexos	39
	9.1 Rotina computacional - PCA	39
	9.2 Rotina computacional – LDA	40
	9.3 Artigo submetido à International Journal of Food Science & Technology ...	41

1 Introdução

O açaí, proveniente do açaizeiro (*Euterpe oleracea*, Mart.), que compõe a matéria-prima da denominada polpa de açaí, se mostra como um importante símbolo econômico, social e cultural dos estados do Pará, Maranhão, Amapá, Acre e Rondônia [1]. O açaizeiro se destaca, entre os diversos recursos vegetais, pela sua abundância e por produzir importante alimento para as populações locais, além de gerar fonte de renda e emprego para os mesmos. A produção de frutos, a partir da década de 1990, passou a ser obtida, também, de açaizais nativos manejados e de cultivos implantados em áreas de várzea e de terra firme aumentando significativamente a produção do insumo [2].



Foto: Rafael A. Rocha

Figura 1 – Cachos de açaí com frutos de maturação, extraído de [31].

No aspecto produtivo e econômico, o açaí se mostra muito versátil, sendo possível a produção de sorvetes, licores, doces, néctares e geleias, podendo ser aproveitado, também, para a extração de corantes e antocianina [2]. Levando em conta as inúmeras propriedades da fruta, o consumo de polpa de açaí vem aumentando consideravelmente [3] e, dados recentes mostram que o mercado de açaí é um mercado potencialmente em expansão [4].

Por outro lado, a polpa de açaí comercializada apresenta um crescente problema: a fraude, ou adulteração, de sua composição [5] como uma tentativa ilegal de alguns fornecedores para maximizar seus lucros através da adição de ingredientes de menor valor agregado no mercado. A adulteração de polpa de açaí pode ser feita pela adição de materiais espessantes, como farinha de trigo, amido de milho, liga neutra, corantes artificiais ou derivados de outras frutas e vegetais [6]. Infelizmente, tais práticas de falsificação e adulteração são consideradas fenômenos recorrentes no comércio de alimentos de alto valor agregado [7].

Neste contexto, este trabalho de conclusão de curso tem como objetivo principal analisar o potencial de técnicas experimentais ópticas associadas à métodos quimiométricos para identificação e determinação de adulterantes na composição de amostras de polpa de açaí.

Os objetivos específicos como a (i) produção controlada de amostras sólidas adulteradas em diferentes porcentagens e com diferentes adulterantes; (ii) realização de medidas experimentais usando as técnicas de espectroscopia de fluorescência e LIBS; (iii) utilização das ferramentas quimiométricas PCA e LDA para decomposição espectral e quantificação dos adulterantes foram alcançados ao longo do trabalho.

2 Técnicas espectroscópicas

2.1 Fluorescência

O fenômeno de fluorescência é fundamentado na emissão de luz após a absorção de luz ultravioleta ou visível por um composto fluorescente, chamado de fluoróforo. O fluoróforo absorve energia, na forma de luz, em algum comprimento de onda e a libera na forma de outro comprimento de onda maior que possui, portanto, menor energia [8]. A diferença entre o fóton incidente e o fóton emitido é chamado de deslocamento de Stokes para a fluorescência [9]. Esse fenômeno pode ser ilustrado por um diagrama de Jablonski, como na figura 2.

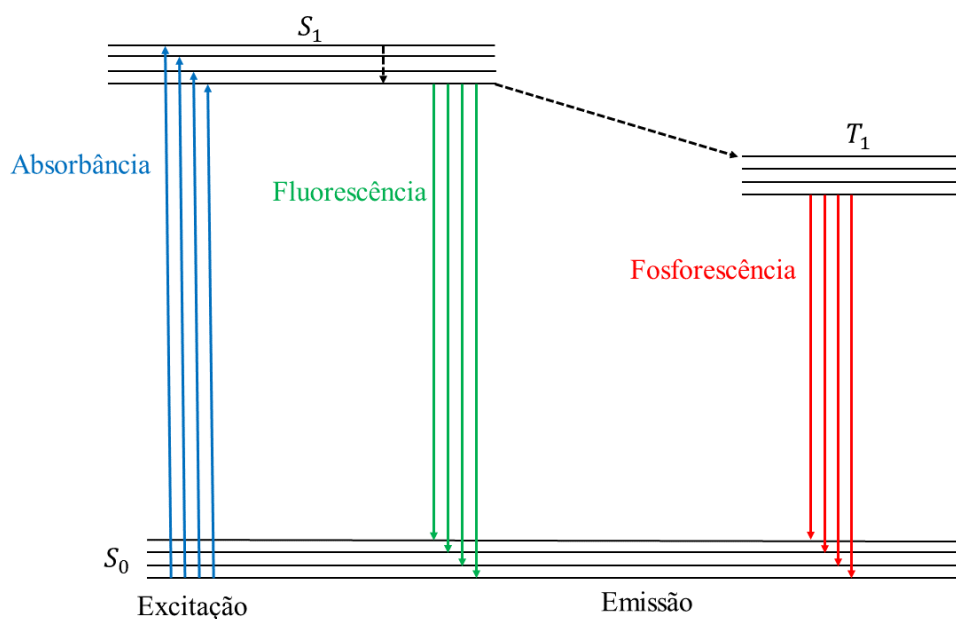


Figura 2 - Diagrama de Jablonski para os fenômenos de fluorescência e fosforescência.

O primeiro fenômeno a acontecer é a excitação causada pela luz incidente que faz com que a molécula transicione para o estado singlete excitado (Absorbância, representada por setas azuis). Esse fenômeno é seguido por relaxações do sistema por vibrações ou conversões internas (representado pela seta pontilhada).

A fluorescência ocorre devido à transição entre o estado singlete excitado (S_1) e o estado singlete S_0 . Essa emissão de luz por fluorescência ocorre por volta de 10^{-8} s após a excitação (representado pelas setas verdes) [8]. A luz que é emitida corresponde a diferença energética entre os níveis superiores e inferiores.

Caso ocorra uma transição entre o estado singlete (S_1) e o estado tripleto (T_1), denominada cruzamento intersistema, e em seguida uma emissão de luz, esse fenômeno é chamado de fosforescência (representado pelas setas vermelhas) e pode ocorrer na fixa temporal de $10^{-3} - 10^2$ s, ou seja, possui uma duração maior.

A espectroscopia de fluorescência é um método rápido e sensível para a caracterização de componentes moleculares. Pode ser usada como uma técnica não destrutiva para a identificação de compostos fluorescentes em diversas amostras biológicas [10]. A referência bibliográfica [8] mostra o uso da técnica de fluorescência

para o estudo de diferentes amostras, como produtos lácteos [11], carnes, óleos, cereais, açúcares, frutos, entre outros. A versatilidade desta técnica se mostra um fator importante para seu amplo uso na literatura.

A associação da espectroscopia de fluorescência com métodos quimiométricos tem sido amplamente utilizada para a identificação e separação de diferentes amostras. Um exemplo, amplamente demonstrado em um review [12], é o uso do espectro de fluorescência de excitação/emissão associado ao método PARAFAC (*PARAllel FACtor analysis*) para aferir sobre a qualidade de águas residuais. Outro artigo [13] utilizou a fluorescência, assim como o método PCA, para identificar diferentes espécies bacterianas. Além dos artigos [14], [15] que utilizaram a associação da fluorescência com métodos quimiométricos para identificar e caracterizar óleos vegetais.

2.2 LIBS

A Espectroscopia de Emissão Óptica com Plasma Induzido por laser (LIBS, acrônimo para *Laser-Induced Breakdown Spectroscopy*) consiste na leitura multi-elementar da composição atômica das amostras analisadas através de um pulso de laser focalizado na amostra. A simplicidade e eficiência da técnica têm despertado o interesse da comunidade científica nos últimos anos, visto o número crescente de publicações acadêmicas internacionais relacionadas às inúmeras aplicações da técnica em diversas áreas do conhecimento fundamental e aplicado [16].

A LIBS é formada por: (i) uma fonte laser pulsada com alta irradiância na amostra juntamente com um controlador; (ii) um conjunto de lentes focalizadoras (para manipular o perfil espacial do feixe) e coletoras; (iii) cabos ópticos; (iv) espectrômetros de configuração Czerny-Turner, assim como detectores e (v) um computador. A Figura 3 ilustra uma montagem LIBS típica. A amostra quando atingida pelo pulso laser (geralmente de duração de ns) passa pelos processos de aquecimento e vaporização em um curto intervalo de tempo, da ordem de 10 ns, e o material vaporizado, formado de átomos, íons e moléculas, é excitado pela energia incidente do pulso para níveis de energia superiores. Ao retornar aos níveis iniciais (de menor energia), por um processo de emissão espontânea, emite radiação específica em linhas espectrais, características de cada elemento químico que compõe a amostra. [16]. Esta radiação emitida pelo plasma

é, então, decomposta espectralmente por espectrômetros e os espectros são, portanto, analisados pelo computador.

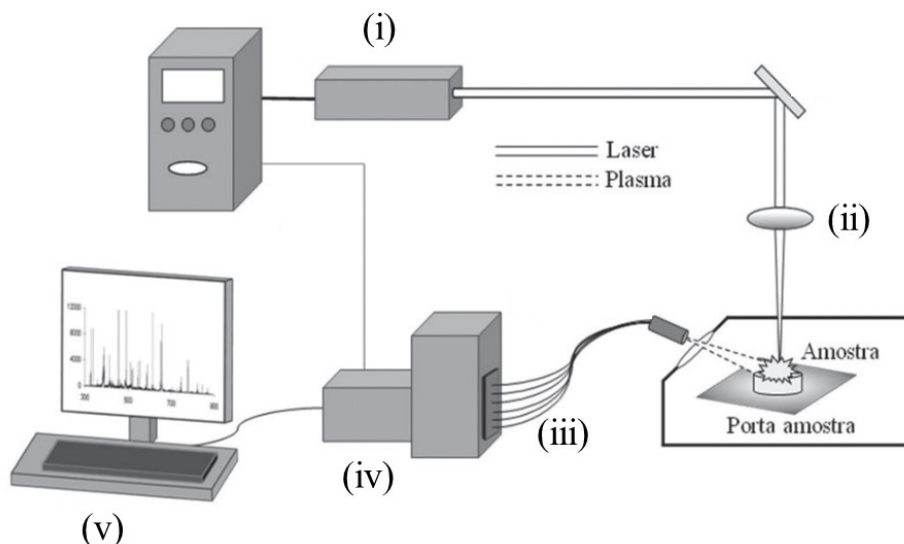


Figura 3 - Representação do aparato experimental da técnica LIBS. É composto por: (i) uma fonte laser pulsada com alta irradiância na amostra juntamente com um controlador; (ii) um conjunto de lentes focalizadoras (para manipular o perfil espacial do feixe) e coletoras; (iii) cabos ópticos; (iv) espectrômetros de configuração Czerny-Turner, assim como detectores e (v) um computador.

Extraído de [16].

Uma das grandes vantagens desta técnica é sua versatilidade no que diz respeito a amostras, que podem ser sólidas, líquidas ou gasosas. Em decorrência disto, a LIBS é utilizada em diversas áreas, tais como: agricultura, alimentos, ambiental, biológica, farmacêutica, artística, arqueologia, forense, metalurgia, resíduos eletrônicos, entre outros [16]–[18]. Além disso, um dos fatores mais atraentes para o uso da LIBS é sua análise elementar direta com o mínimo, ou nenhum preparo das amostras. Apesar da alta versatilidade da técnica, é na forma sólida que majoritariamente as amostras são analisadas [16]. Demais vantagens da técnica incluem: baixo custo do *setup* experimental; além de que a técnica é não-destrutiva já que a focalização do pulso é realizada em uma pequena área, promovendo uma pequena ablação (da ordem de micro

– ou picogramas) na amostra [18] e, conseqüentemente, uma mínima interferência na amostra.

Um exemplo notório do uso da LIBS é a análise do solo e da atmosfera do planeta Marte conduzido pelo *Mars Science Laboratory (MSL) Curiosity* que, em um recente estudo [19], buscou compreender o comportamento de alguns parâmetros obtidos por meio do plasma (como temperatura do plasma e densidade de elétrons) gerado em amostras do planeta vermelho. Existem também importantes trabalhos na área de alimentos como, por exemplo, em [20], no qual os pesquisadores visaram a determinação de contaminantes (Cd e Pb) em amostras de arroz. Além de diversos trabalhos nas áreas de agricultura [21], [22] e ambiental [23], que visaram estudar a presença de contaminantes em amostras de solos e água.

A partir de todos estes fatores, a LIBS (associada à quimiometria) se consolidou nos últimos anos como uma relevante técnica para a análise qualitativa e quantitativa de diversas amostras. Existem diversas técnicas quimiométricas, não supervisionadas e supervisionadas, que podem ser utilizadas na análise dos espectros LIBS. Neste trabalho de conclusão de curso exploraremos duas destas técnicas: (i) a de Componentes Principais (PCA) e (ii) a Análise dos Discriminantes Lineares (LDA).

3 Técnicas de análise

3.1 PCA

A Análise de Componentes Principais (PCA, acrônimo para Principal Components Analysis) é o método mais usado (dentre os demais métodos quimiométricos) para a análise de sistema de dados multivariados [24]. Esta técnica permite a redução da dimensão dos dados de entrada de maneira a preservar as características próprias que são, neste momento, representadas por um conjunto de novas variáveis, as chamadas Componentes Principais. A partir disso, a análise das componentes principais sustenta-se como uma maneira de identificar possíveis relações entre os dados que, em geral, são multidimensionais [25].

Para compreender o método PCA, considere:

$$\mathbf{PX} = \mathbf{Y} \quad \text{Eq.(1)}$$

onde \mathbf{X} representa os dados originais e \mathbf{Y} é uma nova representação dos dados. \mathbf{P} , então, é a matriz que transforma \mathbf{X} em \mathbf{Y} .

A partir dessa equação considere o problema: qual é a melhor maneira de reexpressar \mathbf{X} ? Ou ainda, qual é a melhor escolha para a base em que \mathbf{P} é escrita? Essas duas questões dependem diretamente do comportamento que desejamos encontrar em \mathbf{Y} .

Para o caso da PCA, dois fatores são interessantes ressaltar: (i) minimizar a redundância dos dados; (ii) maximizar o sinal medido pela variância [26]. Para que esses fatores sejam levados em conta, é necessário considerar a matriz de covariância de \mathbf{X} (considerando que a média de \mathbf{X} é nula), definida por:

$$\mathbf{C}_X = \frac{1}{n} \mathbf{X}\mathbf{X}^T \quad \text{Eq.(2)}$$

Considerando que \mathbf{X} é uma matriz $m \times n$, \mathbf{C}_X é uma matriz simétrica $m \times m$. Podemos escrever a matriz de covariância de \mathbf{Y} da forma:

$$\mathbf{C}_Y = \frac{1}{n} \mathbf{Y}\mathbf{Y}^T \quad \text{Eq. (3)}$$

$$\mathbf{C}_Y = \mathbf{P}\mathbf{C}_X\mathbf{P}^T \quad \text{Eq. (4)}$$

A forma ideal de \mathbf{C}_Y deve ser tal que esta matriz seja diagonal, ou seja, os elementos de \mathbf{Y} estarão descorrelacionados. Para isso é performado um algoritmo de diagonalização de matrizes. São obtidos, finalmente, os autovalores (denominados *scores*) e os autovetores (denominados *loadings*) ortonormais, que, por sua vez, são as componentes principais que apontam na direção de maior variância [26].

3.2 LDA

A Análise dos Discriminantes Lineares (*Linear Discriminant Analysis - LDA*) é uma técnica, assim como o PCA, utilizada para classificação de dados e redução de dimensionalidade. Contudo, o método dos discriminantes lineares é um método

supervisionado. Isso significa que, para performá-lo, é necessário identificar a natureza de cada amostra. [27]

Esse método maximiza a razão entre variância entre diferentes classes e a variância entre uma mesma classe [27]. Em outras palavras, o LDA tem como objetivo diferenciar classes em um espaço dimensional reduzido, enquanto retém as componentes que carregam informações que maximizam essa diferenciação. [28]

Para definir matematicamente este método, consideremos as médias dos dados em questão, onde x_i representa cada componente dos dados e n representa o tamanho deste vetor:

$$\boldsymbol{\mu} = \frac{1}{n} \sum x_i = \frac{1}{n} \sum n_i \mu_i \quad \text{Eq.(5)}$$

Consideremos, também, a projeção de $\boldsymbol{\mu}$ no espaço \boldsymbol{v} (onde \boldsymbol{v} é a base formada pelos autovetores, que o método visa encontrar):

$$\tilde{\boldsymbol{\mu}} = \boldsymbol{v}^T \boldsymbol{\mu} = \frac{1}{n} \sum n_i \tilde{\mu}_i \quad \text{Eq.(6)}$$

Definimos S_i como sendo:

$$\boldsymbol{S}_i = \sum_{x \in \text{Classe } i} (x - \mu_i)(x - \mu_i)^T \quad \text{Eq.(7)}$$

Em especial temos \boldsymbol{S}_ω , que é a soma em i de S_i , que está relacionado com a variância entre uma mesma classe.

$$\boldsymbol{S}_\omega = \sum_i \sum_{x \in \text{Classe } i} (x - \mu_i)(x - \mu_i)^T \quad \text{Eq.(8)}$$

Temos, também, \boldsymbol{S}_b que está associado com a variância entre as classes. É definido por:

$$\boldsymbol{S}_b = \sum_i n_i (\mu_i - \boldsymbol{\mu})(\mu_i - \boldsymbol{\mu})^T \quad \text{Eq.(9)}$$

A variância entre classes distintas é dada de forma geral por:

$$\begin{aligned}
 & \sum_i n_i (\tilde{\mu}_i - \tilde{\mu})^2 \\
 &= \sum_i n_i \mathbf{v}^T (\mu_i - \mu) (\mu_i - \mu)^T \mathbf{v} = \mathbf{v}^T \left(\sum_i n_i (\mu_i - \mu) (\mu_i - \mu)^T \right) \mathbf{v} \\
 &= \mathbf{v}^T \mathbf{S}_b \mathbf{v}
 \end{aligned}$$

Eq.(10)

ou seja, a variância entre classes distintas é a matriz S_b transformada pela matriz v , que é a dos autovetores.

O problema que o LDA tenta resolver é melhor expressado por:

$$\max_{v: ||v||=1} \frac{\mathbf{v}^T \mathbf{S}_b \mathbf{v}}{\mathbf{v}^T \mathbf{S}_\omega \mathbf{v}}$$

Eq.(11)

essa estrutura representa que o LDA busca maximizar a razão entre a variância entre diferentes classes (dado pelo numerador) e a variância entre uma mesma classe (dado pelo denominador).

Podemos representar essa quantidade de outra forma. O denominador pode ser escrito da seguinte forma (onde, por vezes, é preferível escrever em função de \tilde{s}_i^2 , que está interligado com S_ω):

$$\Sigma(\tilde{s}_i^2) = \Sigma \mathbf{v}^T \mathbf{S}_i \mathbf{v} = \mathbf{v}^T (\Sigma \mathbf{S}_i) \mathbf{v} = \mathbf{v}^T \mathbf{S}_\omega \mathbf{v}$$

Eq.(12)

então, o problema a ser resolvido pode ser escrito como a maximização de:

$$\frac{\Sigma n_i (\tilde{\mu}_i - \tilde{\mu})^2}{\Sigma(\tilde{s}_i^2)}$$

Eq.(13)

A solução é dada pelo maior autovetor de $\mathbf{S}_\omega^{-1}\mathbf{S}_b$:

$$\mathbf{S}_\omega^{-1}\mathbf{S}_b\mathbf{v} = \lambda_1\mathbf{v} \quad \text{Eq.(14)}$$

De maneira geral, o método retorna todos os autovetores não-nulos, de dimensão k , que satisfazem:

$$k \leq c - 1 \quad \text{Eq.(15)}$$

onde c é o número de classes de treino [29].

4 Preparo de amostras e medidas experimentais

4.1 Preparo de Amostras - Absorbância, Fluorescência 3D e Fluorescência Induzida por Laser (FIL)

Todas as amostras foram produzidas utilizando polpa comercial de açaí da marca Frutpres. Usando uma balança analítica com precisão de 0,01%, um conjunto de amostras de 10 g de açaí foi produzido. Para preparar as amostras com adulterantes em sua composição, a adição de adulterantes específicos: (i) amido de milho, (ii) farinha de trigo e (iii) liga neutra foi realizada. As porcentagens dos adulterantes nesse estudo foram de 2%, 4% e 6% pela massa. A Tabela 1 mostra as amostras utilizadas e sua composição.

Tabela 1: Composição das amostras para as medidas de Fluorescência

Nome	Composição
Amostra 0	Açaí puro.
Amostra 1	Açaí puro + farinha de trigo (2%, 4%, e 6% pela massa).
Amostra 2	Açaí puro + liga neutra (2%, 4%, e 6% pela massa).
Amostra 3	Açaí puro + amido de milho (2%, 4%, e 6% pela massa).

As medidas de absorvância foram realizadas por um espectrômetro UV-VIS, modelo Evolution 201 da Thermo Fisher Scientific, de 250 a 900 nm. Foi utilizado uma cubeta de quartzo de 1 cm e a amostra foi diluída em 5x em água deionizada para não causar saturação no detector. Já as medidas de fluorescência 3D foram realizadas em um espectrofluorímetro, modelo FluoroMax-4 da Horiba Scientific, com um alcance de 300 a 530 nm para os comprimentos de onda de excitação, com uma fenda de entrada 5 nm; e um alcance de detecção de 550 a 800 nm, com uma fenda de saída de 10 nm, com varredura de 2 nm para a excitação e de 0,5 nm para a detecção (emissão).

As medidas da técnica de espectroscopia de fluorescência induzida por laser (FIL) foram obtidas utilizando um espectrômetro Raman, modelo LabRAM HR Evolution da Horiba Scientific, acoplado com um microscópio (modelo Olympus BX41) capaz de se estender de 200 m, até 2200 nm com uma resolução espectral de 10 nm. Uma lente objetiva com uma amplificação de 10x e uma grade de difração de 600 gr/mm foram utilizadas. A excitação das amostras se deu com um laser vermelho (633 nm), com 18 mW. Para alcançar melhor acurácia e reduzir o erro estatístico, o espectro médio (por amostra) foi obtido de 4 scans e cada amostra foi medida em triplicata. É importante enfatizar que apesar do espectrômetro ser desenvolvido para realizar medidas de espectroscopia Raman, ou seja, de espalhamento inelástico, ele também pode ser usado para medidas de FIL, como neste trabalho.

As medidas de fluorescência foram realizadas no laboratório multiusuário do Instituto de Física da Universidade Federal de Uberlândia (MultiINFIS) com o auxílio dos técnicos responsáveis. Já as medidas LIBS foram realizadas em um dos laboratórios coordenados pelo Grupo de Análise Instrumental Aplicada (GAIA) da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar).

4.2 Preparo de Amostras – Espectroscopia de emissão óptica com plasma induzido por laser (LIBS)

O preparo de amostras para as medidas LIBS foi feito de modo muito similar ao descrito na seção anterior, com polpa comercial de açaí. Os mesmos adulterantes foram utilizados e foi acrescentada ao conjunto mais uma porcentagem de adulteração pela massa – 10%. A tabela 2 indica as amostras utilizadas e sua composição.

Tabela 2: Composição das amostras para as medidas LIBS.

Nome	Composição
Amostra 0	Açaí puro.
Amostra 1	Açaí puro + farinha de trigo (2%, 4%, 6% e 10% pela massa).
Amostra 2	Açaí puro + liga neutra (2%, 4%, 6% e 10% pela massa).
Amostra 3	Açaí puro + amido de milho (2%, 4%, 6% e 10% pela massa).

Após o preparo, essas amostras foram depositadas em fendas de vidro, com um suporte de metal que prevenia o escoamento do líquido, como mostra a figura 1a. Depois elas foram levadas para uma estufa a 37 °C por aproximadamente 30 minutos para secarem. Após a secagem, o suporte de metal era removido sobrando apenas a camada de polpa de açaí sobre o suporte de vidro, como mostra a figura 4b.

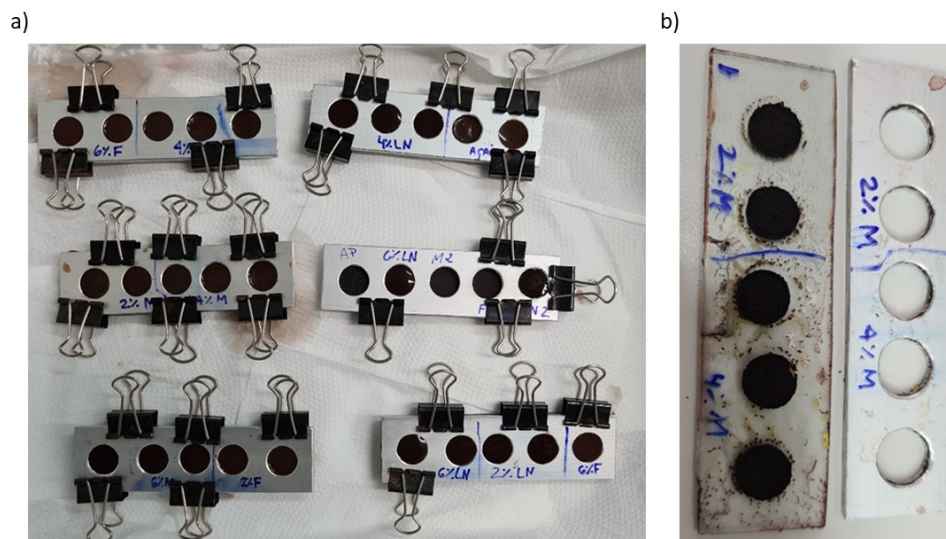


Figura 4 - Amostras de açaí puro e de açaí com adulterantes.

As medidas espectrais foram realizadas pelo equipamento LIBS, da fabricante Applied Spectra, modelo J200. Um laser de Nd:YAG em 1064 nm, com 80 mJ por pulso e *spot size* de 100 μm foi ajustado para as medidas. O tempo de atraso entre o pulso laser e a leitura dos espectrômetros foi ajustado para 1 μs e a faixa espectral de coleta de dados foi de 186 a 1042 nm, com precisão de aproximadamente 0,06 nm.

Foram coletadas 16 medidas LIBS (*laser shot*) (cada uma em uma região diferente da amostra) em cada amostra produzida. Para reduzir o erro estatístico, cada amostra foi feita em triplicata.

5 Resultados

5.1 Fluorescência

5.1.1 Medidas de espectroscopia UV-VIS e fluorescência 3D

Na figura 5 é apresentado o espectro de absorvância do açaí. É notável que, na região do ultravioleta (aprox. 250 nm), o sinal é saturado com muito ruído, indicando uma alta absorção óptica da amostra. Nas regiões próximas de 300 nm, uma banda pode ser observada. Para melhor compreender a absorção e a fluorescência do açaí, um gráfico de fluorescência 3D é mostrado na figura 6. A fonte de excitação varia de 300 a 500 nm e o sistema de detecção da emissão de fluorescência varia de 500 a 750 nm.

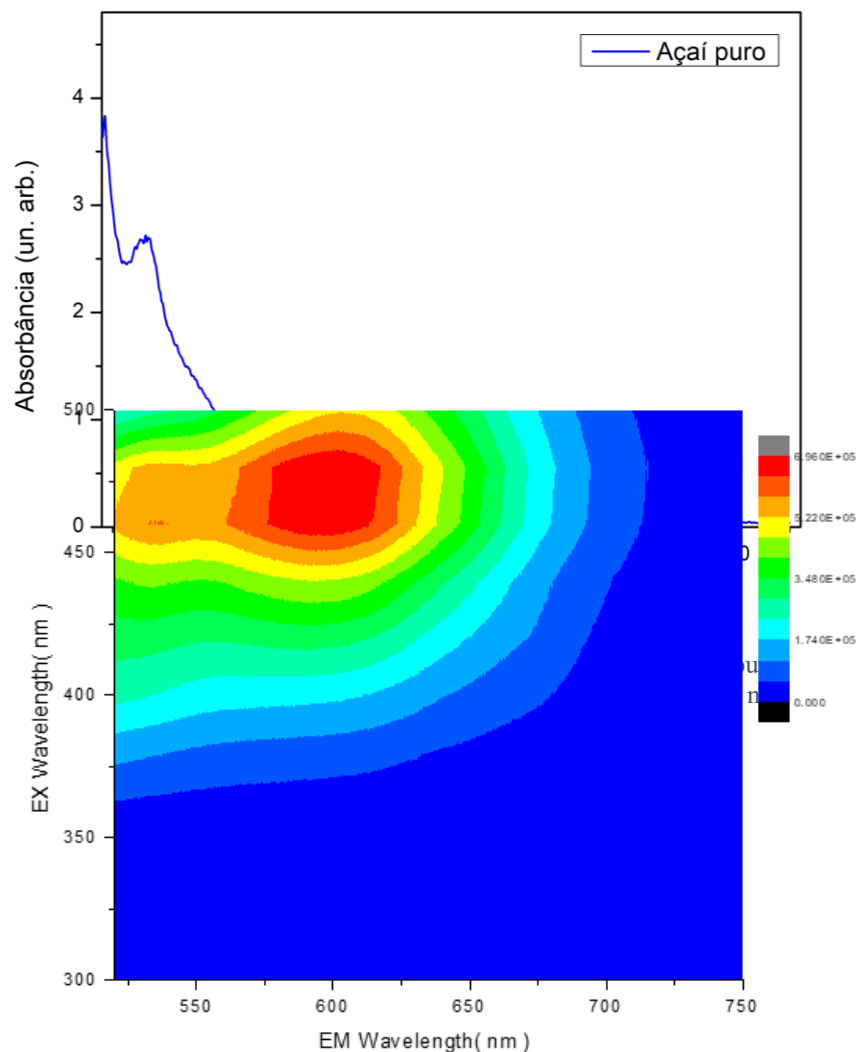


Figura 6 - Mapa de cores do espectro de fluorescência 3D para a amostra de açaí puro.

Analisando o mapa de cores na figura 6, um intenso sinal de fluorescência foi detectado na região de 600 nm (regiões do vermelho e laranja) para a amostra de açaí puro. O sinal de fluorescência mais elevado foi obtido com a fonte de excitação de 470 nm (centro da região do vermelho). Na próxima seção, apresentaremos as medidas de fluorescência de todas as amostras adulteradas excitadas com 633 nm, comprimento de onda relativamente próximo à região de maior sinal de fluorescência, bem como o tratamento estatístico para identificação/separação dos diferentes tipos de adulterantes presentes no açaí.

5.1.2 Análise das amostras adulteradas via medidas de Fluorescência Induzida por Laser (FIL)

Os espectros de fluorescência obtidos para as amostras de açaí e açaí adulterado com diferentes concentrações são mostrados na Figura 7 (a, b, c e d) para o laser de excitação de 633 nm.

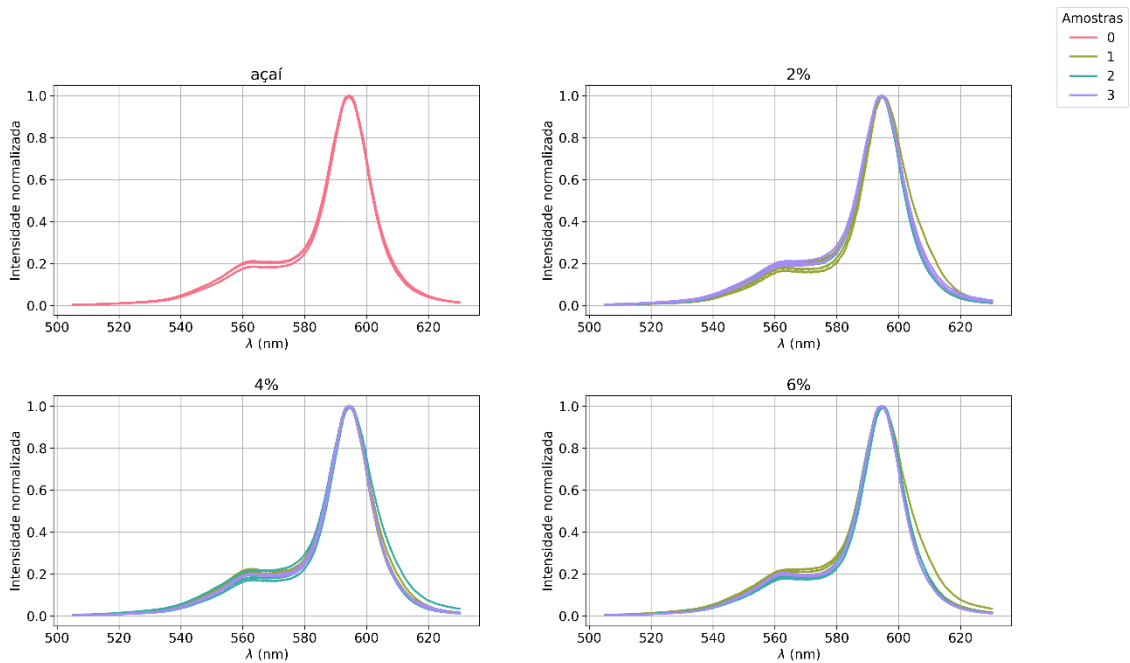


Figura 7 - Espectro de fluorescência para todas as amostras. (a) Açai puro, (b) açai + 2% de adulterantes; (c) açai + 4% de adulterantes, e (d) açai + 6% de adulterantes.

Com direta observação dos espectros, podemos afirmar que a diferença entre as amostras de açai puro e de açai com contaminantes não é clara, ou seja, a identificação/separação das amostras demanda um método estatístico de tratamento para os espectros. É difícil, também, identificar uma transição específica que permita uma diferenciação entre os resultados. Para extrair informações úteis dos dados obtidos foi utilizado um método de redução de dimensionalidade, o PCA (*Principal Component Analysis*), e sua capacidade de identificar/separar os dados foi analisada. A Figura 8 (a, b e c) mostra o mapa de scores 2D obtido para cada uma das concentrações de adulterantes, utilizando uma rotina implementada em Python.

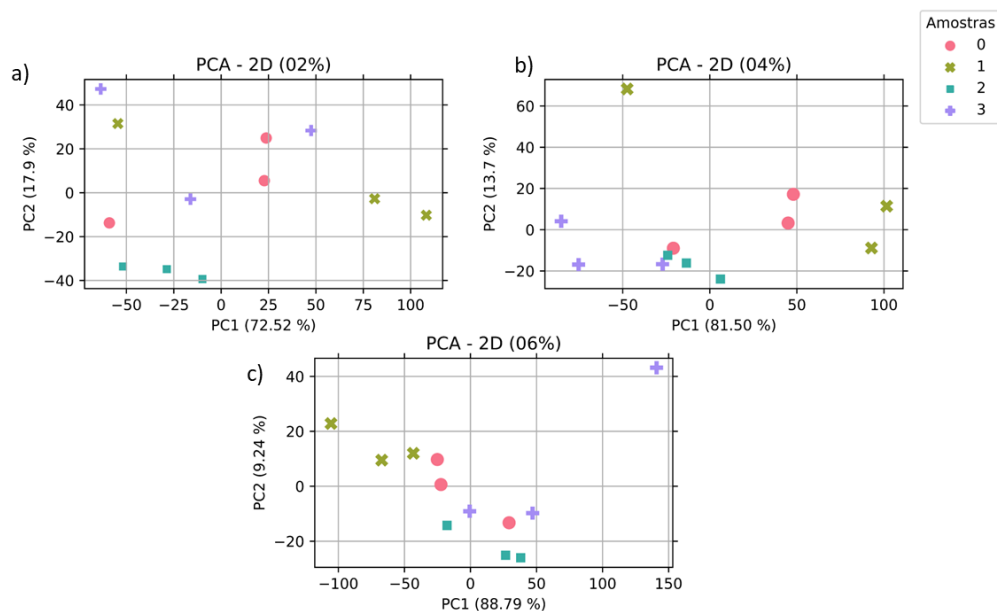


Figura 8 - Mapa de scores do PCA 2D para as amostras com (a) 2% adulterantes, (b) 4% adulterantes; (c) 6% adulterantes.

Apesar das PC1 e PC2 conseguirem explicar uma grande quantidade dos dados originais (>90%), não é claro a formação de *clusters*. É possível ver, para a concentração de 2% contaminantes (Fig. 8 a), o começo de um agrupamento das amostras que continham liga neutra (amostra 3). É também claro, para as concentrações de 2% e 4%, a formação de pequenos aglomerados para as amostras adulteradas com amido de milho (amostra 1) e farinha de trigo (amostra 2) respectivamente. De modo geral, as amostras estão espalhadas pelo mapa de scores, sem um ordenamento particular.

Uma maneira de melhorar a separação/identificação das amostras é performar um algoritmo que analise o mapa de scores. Para tal, foi utilizado o método LDA (*Linear Discriminant Analysis*) para modelar a classificação das amostras. Esse método foi aplicado no espaço do PCA para encontrar melhores resultados, utilizando uma rotina computacional em Python, ver Figura 9.

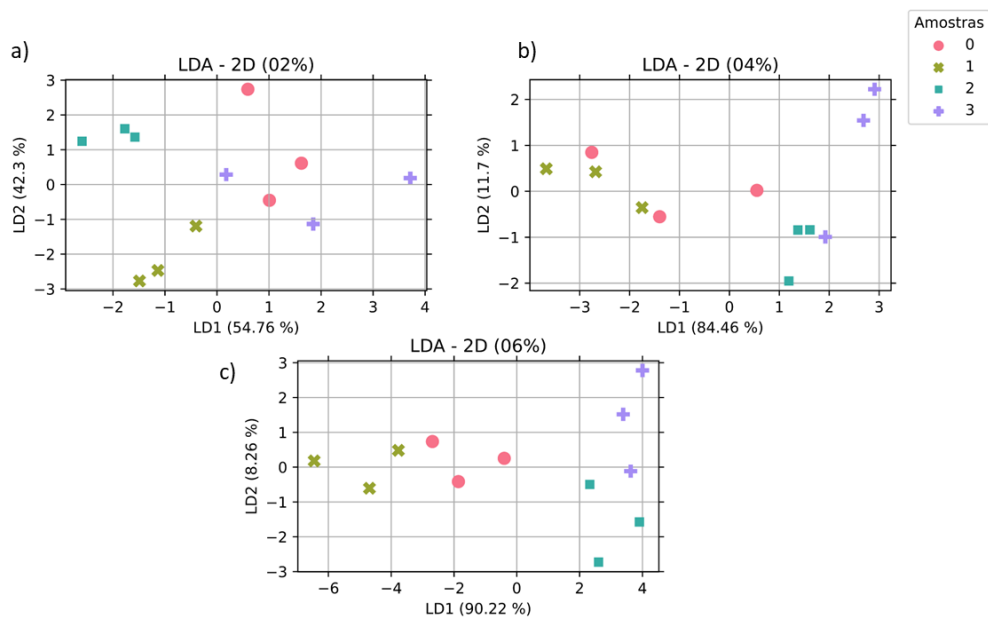


Figura 9 - Mapa de scores do LDA 2D para as amostras com (a) 2% adulterantes, (b) 4% adulterantes; (c) 6% adulterantes.

Na figura 9, as duas primeiras componentes do LDA (LD1 e LD2) foram apresentadas para analisar a dispersão das amostras. Os gráficos (a, b e c) mostram uma melhora significativa na separação dos diferentes tipos de amostras quando comparado

ao método PCA (ver Figura 8). O LDA foi capaz de representar uma grande parte dos dados (> 90%) e é possível observar a formação de *clusters*.

É possível observar que, para as amostras de concentração 2% (Fig. 9 a), o método LDA não foi capaz de separar/diferenciar as amostras. Uma possível formação de clusters pode ser vista na parte superior esquerda (componente LD1 negativa e LD2 positiva) para as amostras 3 (adulteradas com liga neutra). Contudo, as demais amostras aparecem espalhadas pelo plot e representam uma fraca separação provida pelo método.

Para a concentração de 4% dos adulterantes (Fig. 8 b), o método performou uma clara separação entre as amostras 2 (adulteradas com farinha de trigo) e 1 e 3 (adulterados com amido de milho e liga neutra, respectivamente) pois o LD1 de suas componentes possui polaridades opostas (negativo para a amostra 2 e positivo para as amostras 1 e 3). Contudo, as amostras 0 (contendo açaí puro) não formam um aglomerado e o método não foi capaz de distinguir as amostras do tipo 1 e do tipo 3 pois estas se encontram localizadas na mesma região do score plot do LDA (lado direito).

A melhor performance do método em separar/identificar as diferentes amostras se deu com as amostras de 6% de concentração de contaminantes (ver Figura 8 c). Amostras 0 e 2 (açaí puro e adulteradas com farinha de trigo, respectivamente) apresentam o LD1 negativo, com pequenos valores para a amostra 2. Porém, para as amostras 1 e 3 (contaminadas com amido de milho e liga neutra, respectivamente) apresentam a componente LD1 positiva com uma clara separação entre elas que resulta da componente LD2 (positiva para a amostra 1 e negativa para a amostra 3). A separação entre as amostras 0 e 2 não se mostrou totalmente clara por conta de suas componentes LD2 que apresentam valores similares, que variam de -1 a 1.

5.2 Análise LIBS

A figura 10 representa os espectros LIBS médios obtidos para cada concentração de adulterante, juntamente com o açaí puro. É possível notar inúmeras transições eletrônicas pelo espectro. Nota-se, também, uma grande similaridade entre os diferentes espectros, de forma que é impossível distingui-los apenas ao olhar para eles.

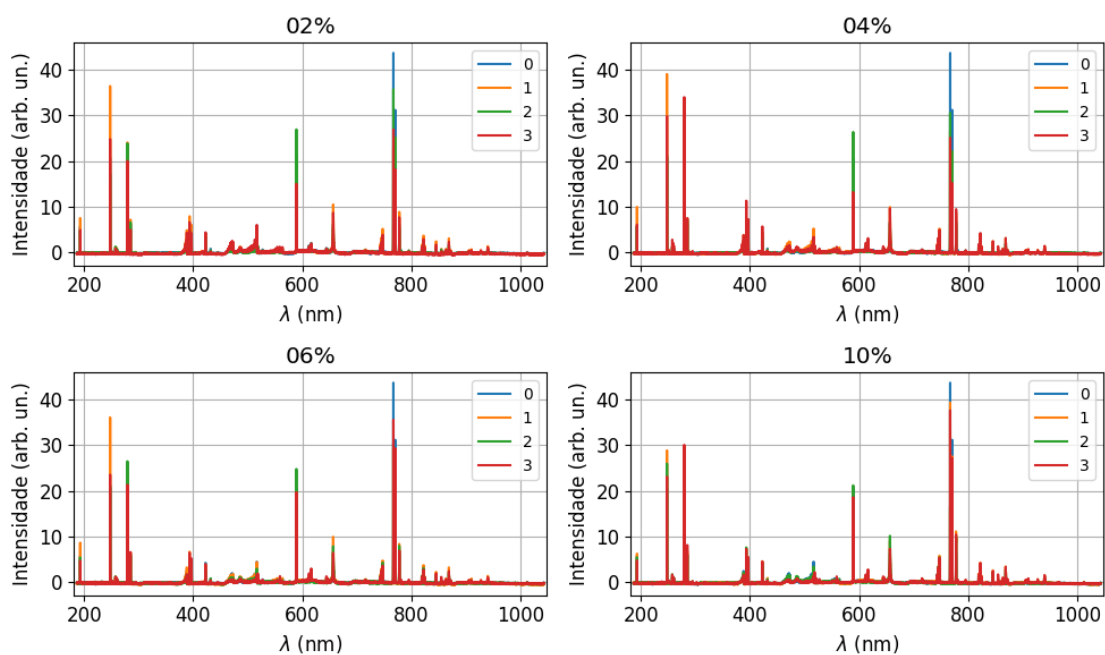


Figura 10 - Espectro LIBS médio para as amostras de cada concentração.

Primeiramente foi realizada a identificação de alguns dos picos de transição relacionados a determinados elementos químicos. A Figura 11 representa o espectro médio assim como o nome do elemento químico associado àquela específica transição eletrônica. As informações sobre as transições eletrônicas foram obtidas utilizando o banco de dados NIST [30].

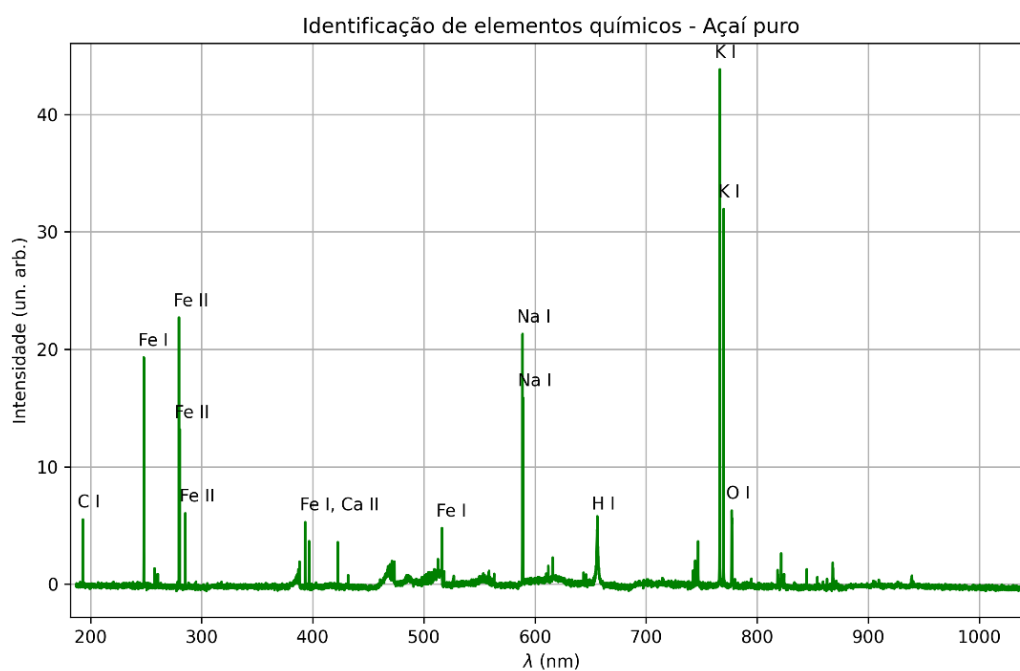


Figura 11 - Identificação dos picos de transição de alguns dos elementos presentes no espectro médio da amostra de açaí puro.

É notável a presença de elementos como o Carbono (C I), o Ferro (Fe I, Fe II), Potássio (K I), Sódio (Na I) e Hidrogênio (H I) na amostra, que contribuem em maior parte para sua composição.

Os espectros passaram primeiramente por um pré-processamento envolvendo a remoção de outliers (ou valores atípicos) seguidos da normalização pela técnica SNV (*Standard Normal Variate*). Os outliers foram removidos por meio da análise da matriz de correlação entre os espectros dos disparos do laser nas amostras. Foi seguido um procedimento onde os espectros que possuíam baixa correlação entre si foram removidos. Após essa etapa foi performedo o SNV utilizando uma rotina computacional em Python. Em seguida, os contaminantes de mesma concentração foram agrupados e foram feitas as médias dos espectros de 3 em 3.

Após a etapa de pré-processamento, os métodos discutidos anteriormente, PCA e LDA, foram performados. A Figura 12 representa o mapa de *scores* obtido das duas primeiras componentes (PC1 e PC2) do PCA. A princípio é difícil distinguir as diferentes amostras, elas se encontram dispersas por todo o plano e não resultam em uma formação clara de aglomerados. Deve-se notar, também, que somente as duas primeiras componentes explicam uma pequena parte dos dados (~ 15%). A Figura 13 demonstra a soma cumulativa da variância explicada, e é constatado que algo próximo de 40 componentes é necessário para explicar grande parte dos dados (> 90%).

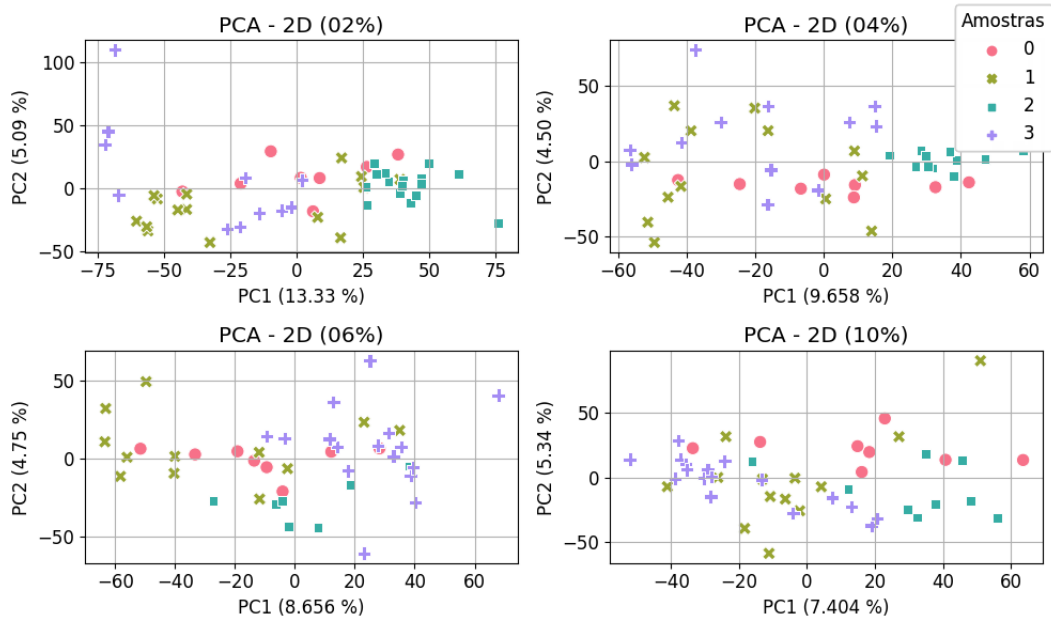


Figura 12 - Mapa de scores do PCA para as diferentes concentrações de contaminantes.

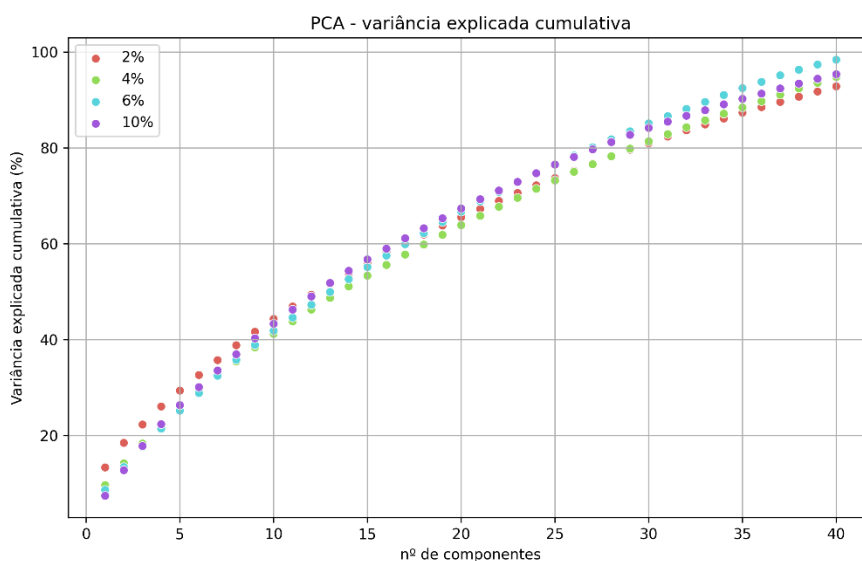


Figura 13 - Variância explicada cumulativa pelo número de componentes - PCA.

A partir dos resultados obtidos, os dados foram reduzidos a 40 componentes. Esse número foi escolhido para fins de padronização, além do fato de que esse número de componentes conseguiria explicar uma grande parte dos dados, como mostra a Tabela 2.

Tabela 2: Variância cumulativa explicada das 40 componentes do PCA para as diferentes concentrações de contaminantes.

Amostras	Var. Cum. Exp. (%)
2%	92.83
4%	94.79
6%	98.43
10%	95.4

Essas componentes foram, então, utilizadas para alimentar o método LDA. Os resultados das duas primeiras componentes do LDA (que explicam mais de 90% dos dados) se encontram nas figuras seguintes. É possível observar uma clara formação de clusters desde a mais baixa concentração (2%) até a mais elevada (10%). Como mostram as figuras abaixo.

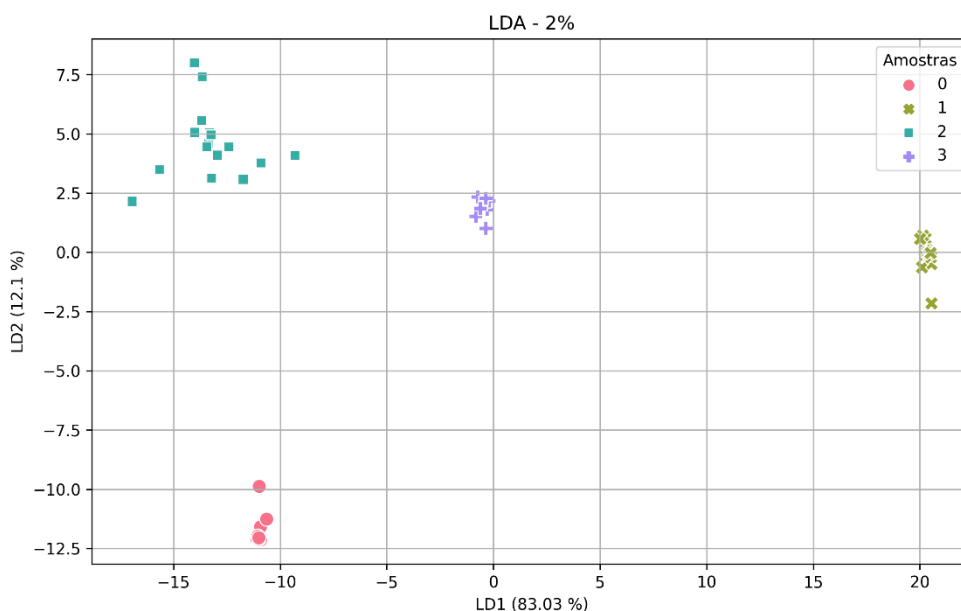


Figura 14 - Score plot do LDA para as amostras de concentração 2%.

A Figura 14 representa uma clara separação entre 4 diferentes clusters. Há uma região de aglomeração para as amostras 0 que possuem LD1 e LD2 negativos. Há, também, um conjunto formado pelas amostras 1. Elas possuem LD1 positivos e LD2 próximo de zero. Há um terceiro conjunto formado pelas amostras 3 que se situam próximas da origem. Por fim, existe uma região em que as amostras 2 estão situadas, possuindo LD1 negativo e LD2 positivo. Embora não há uma junção tão significativa destas amostras, é notável a formação de uma região em que elas se encontram.

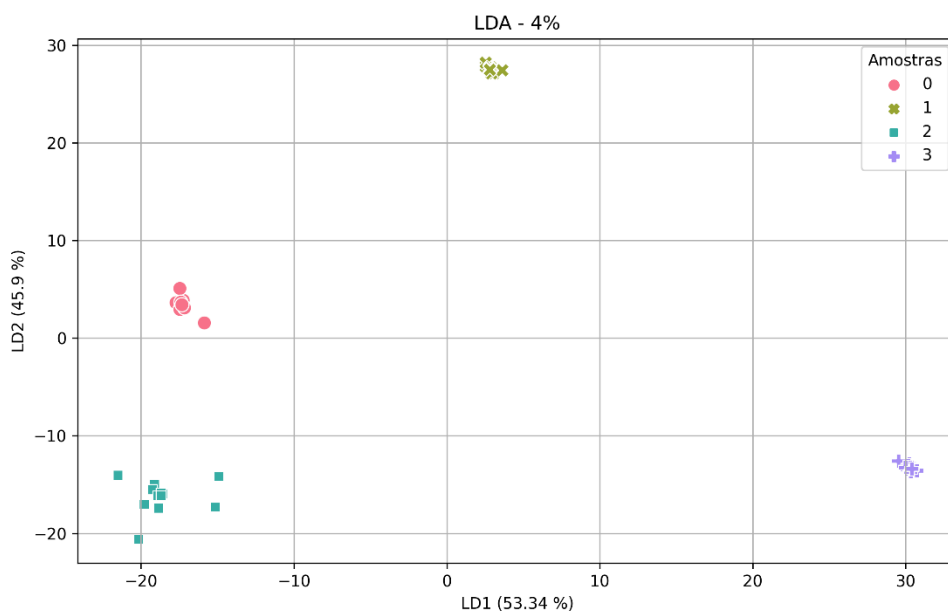


Figura 15 - Score plot do LDA para as amostras de concentração 4%.

A figura 15 mostra uma clara separação entre as amostras cuja concentração era de 4% de contaminantes. Há uma definida distinção, por exemplo, entre as amostras do tipo 1, que possuem LD1 e LD2 positivos; e as amostras do tipo 3 que possuem LD1 positivo e LD2 negativo. As amostras do tipo 0 também se mostraram separadas das demais, possuindo LD1 negativo e LD2 positivo. Finalmente, para as amostras do tipo 2, há uma região do gráfico onde estas se aglomeram, embora não se mostrem tão juntas como as demais. Estas possuem LD1 e LD2 negativos.

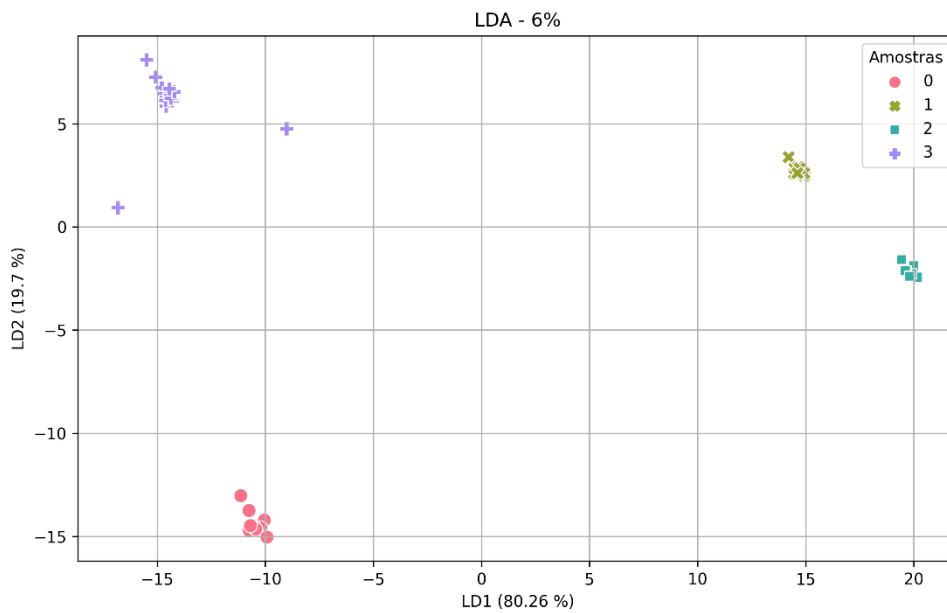


Figura 17 - Score plot do LDA para as amostras de concentração 6%.

Já a Figura 16, que mostra o mapa de scores para as concentrações de 6%, demonstra uma separação evidente entre as amostras distintas. As amostras do tipo 0 possuem LD1 e LD2 negativos, enquanto as amostras do tipo 1 possuem LD1 e LD2 positivos. Já as amostras 2 estão localizadas na região do LD1 positivo e LD2 negativo. Por último, as amostras do tipo 3 estão no canto superior esquerdo, com LD1 negativo e LD2 positivo.

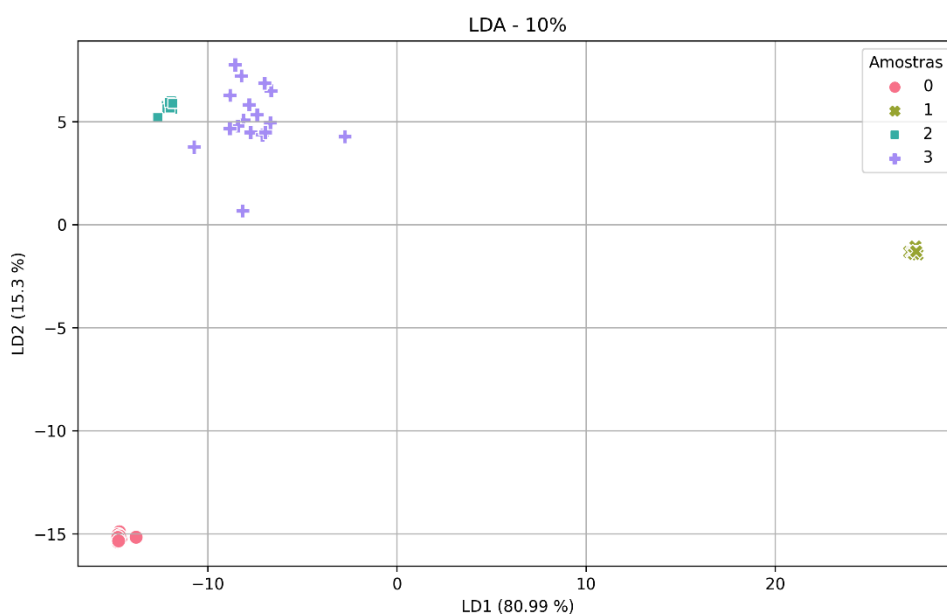


Figura 16 - Score plot do LDA para as amostras de concentração 10%.

Finalmente, para a concentração de 10%, há uma distinta separação entre as amostras do tipo 0, que possuem LD1 e LD2 negativos; e as amostras do tipo 1 que, por sua vez, possuem LD1 positivo e LD2 negativo. Há um aglomerado de amostras do tipo 2 que se encontra na região superior direita (LD1 negativo, LD2 positivo) e, próximo a ela encontra-se um aglomerado mais disperso de amostras do tipo 3.

Então, para os contaminantes com 10% de concentração, houve uma proximidade entre as amostras de liga neutra (tipo 2) e maisena (tipo 3) no mapa de scores. A separação pode ser observada, contudo, ao olhar o gráfico das 3 componentes do LDA (Figura 18).

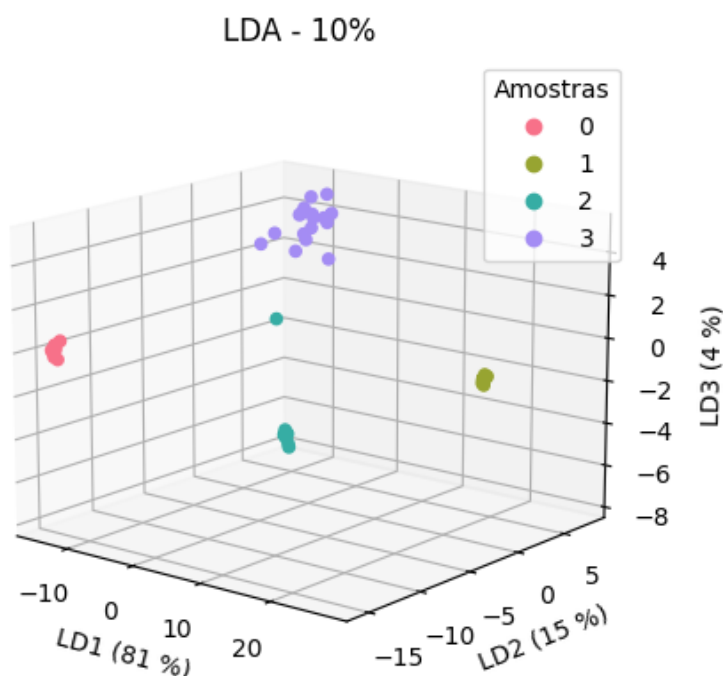


Figura 18 - Mapa de scores em três dimensões do LDA para as amostras de 10%.

Logo, é possível constatar que a associação de ferramentas quimiométricas com métodos espectroscópicos (como o LIBS) forma uma poderosa ferramenta para a identificação e separação de amostras contaminadas de açaí. Neste trabalho foi observada a separação entre diferentes amostras desde a mais baixa concentração analisada (2%).

5.2.1 Loadings - PCA

Outra análise interessante é verificar os *loadings* (ou autovetores) que são obtidos do PCA. A Figura 19 representa os três primeiros, assim como sua porcentagem explicada dos dados. Esse gráfico nos traz informações sobre quais picos associados a cada um dos elementos são responsáveis pela maior variância entre as amostras.

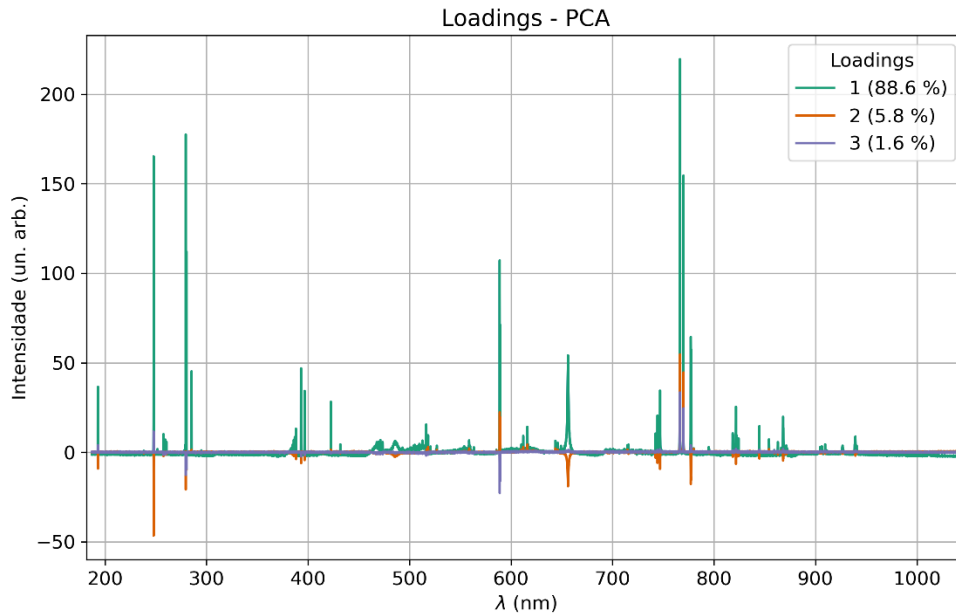


Figura 19 – Gráfico dos três primeiros *loadings* do PCA para a concentração de 10% de contaminantes.

Então, é necessário identificar alguns picos para observar quais elementos mais contribuem para a diferenciação entre as amostras. A figura 20 representa esta identificação para o primeiro *loading*.

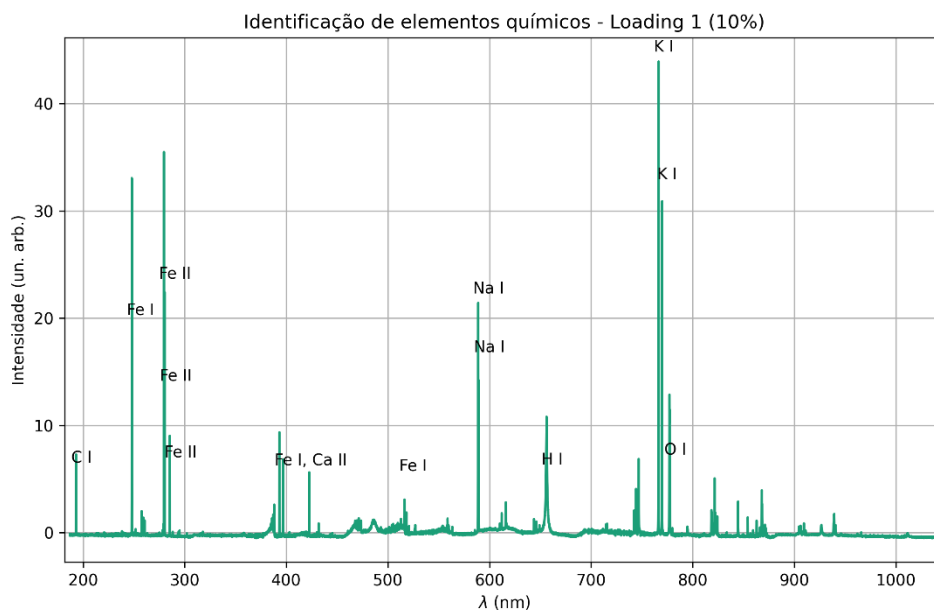


Figura 20 - Identificação de alguns picos do primeiro *loading* da amostra de 10%.

Note que os elementos presentes na Figura 20 são os que contribuem em maior parte para a composição do açaí, como mostra a Figura 11.

6 Conclusão

A partir dos resultados obtidos é possível concluir que a técnica LIBS se mostrou superior em relação à espectroscopia de fluorescência em identificar e separar os diferentes adulterantes presentes na polpa de açaí. Enquanto os resultados obtidos para a fluorescência mostram o começo de uma formação de *clusters* somente para a mais alta concentração (6%), a técnica LIBS foi capaz de diferenciar as amostras desde a mais baixa concentração analisada (2%).

É possível, também, constatar que a associação de técnicas de espectroscopia óptica com métodos quimiométricos, como o PCA e o LDA, constitui uma poderosa ferramenta para a classificação e identificação de amostras distintas.

7 Perspectivas futuras

A partir das investigações apresentadas neste trabalho é possível propor diferentes segmentos que poderão ser, no futuro, abordados. Uma possível análise se baseia na utilização de métodos mais robustos para a remoção de outliers. Outra análise a ser realizada é a aplicação da técnica LIBS em outras amostras em busca de mostrar a possível capacidade de distinção do método.

8 Referências

- [1] E. M. da S. Menezes, A. T. Torres, and A. U. Sabaa Srur, “Valor nutricional da polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Mart) liofilizada,” *Acta Amaz.*, vol. 38, no. 2, pp. 311–316, 2008, doi: 10.1590/S0044-59672008000200014.
- [2] A. K. O. ; M. A. A. ; M. C. H. ; Homma, “Acai Production Systems.,” *Embrapa*

- Amaz. Orient. - Prod. Syst.*, vol. 4, p. 137, 2005.
- [3] K. K. D. L. Yamaguchi, L. F. R. Pereira, C. V. Lamarão, E. S. Lima, and V. F. da Veiga-Junior, “Amazon acai: Chemistry and biological activities: A review,” *Food Chem.*, vol. 179, pp. 137–151, Jul. 2015, doi: 10.1016/j.foodchem.2015.01.055.
- [4] V. Saldanha Bezerra, O. Freitas-Silva, and L. Fernandes Damasceno, “Açaí: produção de frutos, mercado e consumo.”
- [5] M. Manley and V. Baeten, “Spectroscopic Technique: Near Infrared (NIR) Spectroscopy,” in *Modern Techniques for Food Authentication*, Elsevier, 2018, pp. 51–102.
- [6] J. A. L. Lobato, Kleidson Brito de Sousa; Pallone, “Infrared spectroscopy in UHT milk and freeze-dried açaí pulp: quality parameters, detection and identification of adulterants,” UNICAMP, Campinas, SP, 2018.
- [7] A. Schieber, “Introduction to Food Authentication,” in *Modern Techniques for Food Authentication*, Elsevier, 2018, pp. 1–21.
- [8] R. Karoui and C. Blecker, “Fluorescence Spectroscopy Measurement for Quality Assessment of Food Systems—a Review,” *Food Bioprocess Technol.*, vol. 4, no. 3, pp. 364–386, Apr. 2011, doi: 10.1007/s11947-010-0370-0.
- [9] G. M. Strasburg and R. D. Ludescher, “Theory and applications of fluorescence spectroscopy in food research,” *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 6, no. 3, pp. 69–75, Mar. 1995, doi: 10.1016/S0924-2244(00)88966-9.
- [10] J. Christensen, E. M. Becker, and C. S. Frederiksen, “Fluorescence spectroscopy and PARAFAC in the analysis of yogurt,” *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, vol. 75, no. 2, pp. 201–208, 2005, doi: 10.1016/j.chemolab.2004.07.007.
- [11] C. M. Andersen and G. Mortensen, “Fluorescence Spectroscopy: A Rapid Tool for Analyzing Dairy Products,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 56, no. 3, pp. 720–729, Feb. 2008, doi: 10.1021/jf072025o.
- [12] E. M. Carstea, J. Bridgeman, A. Baker, and D. M. Reynolds, “Fluorescence spectroscopy for wastewater monitoring: A review,” *Water Res.*, vol. 95, pp. 205–219, May 2016, doi: 10.1016/j.watres.2016.03.021.
- [13] H. E. Giana, L. Silveira, R. A. Zângaro, and M. T. T. Pacheco, “Rapid identification of bacterial species by fluorescence spectroscopy and classification through principal components analysis,” *J. Fluoresc.*, vol. 13, no. 6, pp. 489–493,

- 2003, doi: 10.1023/B:JOFL.0000008059.74052.3c.
- [14] V. V. Grigor'ev, T. A. Ivanova, E. A. Kustova, L. N. Petrova, T. P. Serkova, and S. O. Bachurin, "Effects of delta sleep-inducing peptide on pre-and postsynaptic glutamate and postsynaptic GABA receptors in neurons of the cortex, hippocampus, and cerebellum in rats," *Bull. Exp. Biol. Med.*, vol. 142, no. 2, pp. 186–188, Aug. 2006, doi: 10.1007/s10517-006-0323-9.
- [15] Y. G. M. Kongbonga *et al.*, "Characterization of Vegetable Oils by Fluorescence Spectroscopy," *Food Nutr. Sci.*, vol. 02, no. 07, pp. 692–699, 2011, doi: 10.4236/fns.2011.27095.
- [16] V. C. Costa *et al.*, "Laser Induced-Breakdown Spectroscopy (Libs): Histórico, Fundamentos, Aplicações E Potencialidades," *Quim. Nova*, vol. 42, no. 5, pp. 527–545, 2019.
- [17] T. C. Zanetti, "Utilização de espectroscopia libs para análise elementar de fármacos," UFU, 2017.
- [18] T. H. T. Rosa, "Estudo e Caracterização da Dinâmica de Plasma Gerado por Espectroscopia LIBS," UFU, 2020.
- [19] J. Stetzler, S. Tang, and R. C. Chinni, "Plasma Temperature and Electron Density Spectroscopy (LIBS) in Earth ' s and Mars ' s Atmospheres," *Atoms*, vol. 8, no. 50, 2020.
- [20] D. W. Hahn and N. Omenetto, "Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS), Part II: Review of Instrumental and Methodological Approaches to Material Analysis and Applications to Different Fields," *Appl. Spectrosc.*, vol. 66, no. 4, pp. 347–419, Apr. 2012, doi: 10.1366/11-06574.
- [21] G. S. Senesi, J. Cabral, C. R. Menegatti, B. Marangoni, and G. Nicolodelli, "Recent advances and future trends in LIBS applications to agricultural materials and their food derivatives: An overview of developments in the last decade (2010–2019). Part II. Crop plants and their food derivatives," *TrAC Trends Anal. Chem.*, vol. 118, pp. 453–469, Sep. 2019, doi: 10.1016/j.trac.2019.05.052.
- [22] G. Nicolodelli, J. Cabral, C. R. Menegatti, B. Marangoni, and G. S. Senesi, "Recent advances and future trends in LIBS applications to agricultural materials and their food derivatives: An overview of developments in the last decade (2010–2019). Part I. Soils and fertilizers," *TrAC Trends Anal. Chem.*, vol. 115, pp. 70–82, Jun. 2019, doi: 10.1016/j.trac.2019.03.032.

- [23] I. Gaubeur, M. Á. Aguirre, N. Kovachev, M. Hidalgo, and A. Canals, “Speciation of chromium by dispersive liquid-liquid microextraction followed by laser-induced breakdown spectrometry detection (DLLME-LIBS),” *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 30, no. 12, 2015, doi: 10.1039/c5ja00325c.
- [24] S. Chatterjee, M. Singh, B. P. Biswal, U. K. Sinha, S. Patbhaje, and A. Sarkar, “Application of laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) coupled with PCA for rapid classification of soil samples in geothermal areas,” *Anal. Bioanal. Chem.*, pp. 2855–2866, 2019, doi: 10.1007/s00216-019-01731-3.
- [25] M. C. D. S. RIBEIRO, “Diferenciação entre grãos de milho transgênicos e convencionais utilizando espectroscopia óptica,” Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 2019.
- [26] J. Shlens, “A Tutorial on Principal Component Analysis,” 2014.
- [27] A. G. I. S. Balakrishnama, “LINEAR DISCRIMINANT ANALYSIS - A BRIEF TUTORIAL,” *Mikrobiyol. Bul.*, vol. 38, no. 4, pp. 421–427, 2004.
- [28] Great Learning Team, “What is LDA (Linear Discriminant Analysis) in Python,” 2022. [Online]. Available: <https://www.mygreatlearning.com/blog/linear-discriminant-analysis-or-lda/>. [Accessed: 17-Oct-2022].
- [29] D. G. Chen, “Fisher Discriminant Analysis (FDA),” 2016. [Online]. Available: <https://www.sjsu.edu/faculty/guangliang.chen/Math285S16.html>.
- [30] A.~Kramida, Yu.~Ralchenko, and J.~Reader, “No Title.” 2022.
- [31] A. H. Vieira *et al.*, “Cultivo do Açaizeiro (*Euterpe oleracea* Martius) no Noroeste do Brasil,” *Embrapa*, 2018.

9 Anexos

9.1 Rotina computacional - PCA

```
import matplotlib.pyplot as plt
import numpy as np
import pandas as pd
from matplotlib.pyplot import figure
import os
from sklearn import preprocessing
from sklearn.decomposition import PCA

def pca(path_from, path_to, rank):

    path = path_from

    files = []
    for fname in os.listdir(path): # Read file's names
        if fname.endswith(".xlsx"):
            files.append(fname)

    names = files
    print(names)

    d = {}
    l = []
    for x in range(0, len(names)): # read data

        d["{}".format(names[x])] = pd.read_excel(path
+ '/' + "{}".format(names[x]))
        d["{}".format(names[x])] = pd.DataFrame(data =
d["{}".format(names[x])].dropna().values)
        d["{}".format(names[x])] =
d["{}".format(names[x])].apply(pd.to_numeric, errors='coerce')

    data = pd.DataFrame(data = [d["{}".format(f)]] for f in names) #
collect data

    for j in range(0, len(names)):
        if names[j].endswith('.xlsx'):
            names[j] = names[j][:-4]

    X_scaled = preprocessing.scale(data) # scale data
    pca = PCA(n_components=rank)
    principalComponents = pca.fit_transform(X_scaled) # apply PCA
```

9.2 Rotina computacional – LDA

```
import numpy as np
import pandas as pd
from sklearn import preprocessing
from sklearn.discriminant_analysis import LinearDiscriminantAnalysis
import matplotlib.pyplot as plt
import seaborn as sns
import matplotlib

def f(inp, out, inf, per):
    data = pd.read_excel(rf'{inp}')

    y = data['Samples'] # categories
    X = data.iloc[:, :-1].values # data

    lda = LinearDiscriminantAnalysis()
    linear_discriminant_analysis = lda.fit(X, y).transform(X) #Apply
LDA

    LDA_data = pd.DataFrame(data=linear_discriminant_analysis)
    LDA_data['Samples'] = y

    variance = lda.explained_variance_ratio_

    list = [lda.explained_variance_ratio_[f]*100 for f in range(0,
len(lda.explained_variance_ratio_))]

    LDA_data.to_excel(rf'{out}', index = False)

    f = open(rf"{inf}.txt", "w+") #write out info
    f.write(str(list))
    f.close()

    data = LDA_data
    mylabels = ['0', '1', '2', '3']
    print(variance)

#Plot LDA

    line = sns.scatterplot(data = data, x = 0, y = 1, hue =
'Samples', style='Samples', s = 80,palette = palette)
    plt.xlabel('LD1 ' + f'({100*np.round(variance[0],2)}' + ' %)')
    plt.ylabel('LD2 ' + f'({100*np.round(variance[1],2)}' + ' %)')
    handles, labels = line.get_legend_handles_labels()
    by_label = dict(zip(labels, handles))
    fig.legend(handles = by_label.values(), labels = mylabels, loc=
'upper right', title = 'Amostras', bbox_to_anchor=(1, 1))
    plt.title(fr'LDA - {per}%')
```


9.3 Artigo submetido à International Journal of Food Science & Technology

Identification of adulterants in Açai pulp samples using Laser-Induced Fluorescence spectroscopy combined with Linear Discriminant Analysis (LDA)

Method

Marcus Vinícius da Silva Farias¹, Gustavo Nicolodelli*², Carlos Renato Menegatti³ and Jader S. Cabral¹.

¹Physics Institute, Federal University of Uberlândia, P.O. Box 593, Uberlândia, 38400-902, Brazil

²Department of Physics, Federal University of Santa Catarina, P.O. Box 476, Florianópolis, 88040-900, Brazil

³School of Engineering of Lorena, São Paulo University, P.O. Box 116, Lorena, SP 12602-810, Brazil

Correspondent author: *gustavo.nicolodelli@ufsc.br

Abstract

Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.), a fruit from the açai tree, is very common in the Amazon biome and is considered a food of high nutritional value. The growing increase in the production and consumption of açai pulp, including abroad, has led to greater product quality control. Laser-induced fluorescence spectroscopy (LIF) combined with Linear Discriminant Analysis (LDA) was used in this study to identify adulterants in açai samples. All the samples were produced using commercial frozen pure açai pulp. One pure açai sample was used as standard, and three samples with the addition of specific adulterants: (i) maize starch, (ii) wheat flour and (iii) ice cream stabilizer was made for three different concentrations. After obtaining the fluorescence spectra, the Principal Component Analysis (PCA) was performed, and the clustering of the samples was analyzed. Finally, it was used the LDA method for modeling the classification of the samples. The best performance of the method to discriminate the samples was achieved in samples with a 6% concentration of adulterants.

Introduction

The açai fruit, derived from the açai tree (*Euterpe oleracea*, Mart.), holds great economic significance, and is considered a highly nutritious food. Over the past few decades, it has become a staple in the diets of those living in the State of Pará and the Brazilian Amazon region, and its popularity has since spread to urban areas. As a result, Pará has become a leader in both exploring and consuming this fruit [31]. As the demand for açai grew, entrepreneurs began exporting the product to other parts of Brazil and abroad, resulting in a significant increase in demand. In 2021, the IBGE Automatic Recovery System (SIDRA) reported that 227,251 tons of açai were produced through plant extraction, with 95% of this production originating from the state of Pará. Of the total açai pulp produced in Pará, 60% is consumed within the state, 35% is shipped to other regions of Brazil, and 5% is exported to the international market, with the United States being the largest buyer, accounting for 40% of the exports. In terms of the value of production in food plant extraction, the value of açai accounts for roughly 50% of the total, equivalent to approximately 154 million dollars [32].

The composition of açai is characterized by a high content of polyunsaturated fatty acids, fibers, and antioxidant compounds [33]. However, the açai pulp production chain is deficient in terms of hygienic practices, from fruit harvesting to transportation, storage, and processing [34]. In 2007, industries in Pará were required to sign a Term of Conduct Adjustment (TAC) when inspected by the Ministry of Agriculture, Livestock, and Supply (MAPA) and the State Health Department, committing to pasteurizing their products. This was an attempt by the Federal and State governments to ensure the safety of the product for the population. However, most industries that produce frozen açai do not pasteurize their product [34]. Another issue is the fraud or adulteration of the composition of commercialized açai pulp by some suppliers, as an illegal way to increase their revenue [5]. Adulterants with a low cost, such as wheat flour, maize starch, ice-cream stabilizers, artificial dyes, or natural ones that may come from fruits and vegetables, are added to açai pulp as a thickening material [6]. Unfortunately, these practices are a recurrent phenomenon in the market of high-value foods [7]. Currently, these issues have not yet been resolved, and the quality of açai consumed in the country needs to be strictly monitored.

In recent years, there has been a growing interest in developing optical and photonics instrumentation and methods for fast and environmentally-friendly analysis, with the potential for portability [35]. This research has the potential to positively

impact not only the research field but also the agricultural and industrial sectors. Several studies have investigated the use of optical techniques for quality control in açai production, with most researchers reporting the use of Near-infrared spectroscopy (NIR). For example, Sandra, K. L. et al. quantified the soluble solids (SS) in reconstituted açai pulp [36], while Inácio, M. R. C. et al. predicted the total amount of anthocyanin (TA) in intact açai and juçara fruits [37]. To analyze the spectroscopy data, various chemometric methods were used, including Partial Least Squares Regression (PLSR), Partial Least Squares-Discriminant Analysis (PLS-DA), and Principal Component Analysis Discriminant Analysis (PCA-DA) [38]–[41]. Additionally, photoacoustic spectroscopy and digital imaging have been applied to açai samples to investigate fungal infections on açai seeds [42]–[44]. Despite these advances, issues regarding the quality of açai production and adulteration continue to persist, highlighting the need for strict monitoring and regulation.

This study aims to utilize laser-induced fluorescence spectroscopy (LIF), an established optical technique, in combination with Linear Discriminant Analysis (LDA) to detect the presence of adulterants in açai samples. LIF has been previously used in fruit analysis, such as the non-destructive determination of native phenolic compounds in strawberries [45]. In recent research, LIF spectra of papaya fruits were analyzed to assess their quality at various maturation stages, while a fluorescence method using a portable sensor was employed to investigate the antioxidant phenolic and chlorophyll content of kiwi and plum in situ [46]. The main text of the article should appear here with headings as appropriate.

Experimental Procedure

Sample Preparation

All the samples were produced using commercial frozen pure açai pulp. Using an analytic scale with a precision of 0.01%, a set of 10 g of açai was measured. To prepare the samples with adulteration in their composition, the addition of specific adulterants: (i) maize starch, (ii) wheat flour and (iii) ice cream stabilizer was made. The percentage of adulterants used in this study was 2%, 4%, and 6% by mass. Table 1 summarizes the samples used and their composition.

Table 1: Composition of the samples.

Label	Composition
Sample 0	Pure açai pulp.
Sample 1	Pure açai pulp + maize starch (2%, 4%, and 6% by mass).
Sample 2	Pure açai pulp + wheat flour (2%, 4%, and 6% by mass).
Sample 3	Pure açai pulp + ice cream's stabilizer (2%, 4%, and 6% by mass).

Optical Spectroscopy Measurements – Absorbance, Fluorescence 3D, and FIL

The absorbance measurements were performed by a UV-VIS spectrometer, model Evolution 201 from Thermo Fisher Scientific, from 250 to 900 nm. It was used a 1 cm quartz cuvette and the sample was diluted 5x to prevent the saturation of the detection. The 3D scanning of fluorescence was performed by a spectrofluorometer, model FluoroMax-4 from Horiba Scientific, with an excitation range from 300 to 530 nm with a 5 nm entrance slit and a detection range from 550 to 800 nm with a 10 nm exit slit. The steps of scanning were 2 nm for excitation and 0.5 nm for detection (emission).

All the fluorescence-induced-laser spectroscopy measurements were realized using a Raman spectrometer, model LabRAM HR Evolution from Horiba Scientific, coupled to a microscope (model Olympus BX41) covering the spectral range from 200 nm to 2200 nm with a spectral resolution down to 10 nm. An objective magnification lens with 10x amplification and a diffraction grading of 600 gr/mm was used. The excitation of the samples was performed by a red laser source (633 nm), with 18 mW. To achieve better accuracy and reduce the standard error deviation, the average spectrum (per sample) was obtained from 4 scanning and each sample was measured in triplicate.

Linear Discriminant Analysis

Linear Discriminant Analysis (LDA) is a supervised method used for data classification and dimensionality reduction. This technique maximizes the ratio between the variance of different classes (that are previously defined) and the variance of the same class. LDA aims to differentiate classes in a reduced dimensional space while maintaining the original information. [27], [28]

It's relevant to define the parameters S_{ω} and S_b , which represents the in-class variance and the variance between different classes, respectively. They are given by:

$$S_{\omega} = \sum_i \sum_{x \in \text{class } i} (x - \mu_i)(x - \mu_i)^T \quad \text{Eq.(1)}$$

$$S_b = \sum_i n_i (\mu_i - \mu)(\mu_i - \mu)^T \quad \text{Eq.(2)}$$

where μ is the mean of the data set x .

The problem that LDA solves is represented by the eigenvalues and eigenvectors problem, as follows:

$$S_{\omega}^{-1} S_b v = \lambda_1 v \quad \text{Eq.(3)}$$

And the method returns the non-null eigenvectors of dimension k , which satisfies $k \leq c - 1$, where c is the number of classes in the training stage.

In this work, the LDA method was implemented using a homemade Python script. For that, it was used the LDA class from the sklearn library [47]. The LDA was performed in the PCA-reduced space. For standardization purposes, it was performed on the first 5 components from PCA (which could explain, altogether, more than 99 % of the original data). The results came in the form of the first and the second components of LDA. Each sample was, then, represented by a point in 2-d space (score map). The correlation between samples was, then, evaluated by their position.

Results and Discussions

UV-VIS Measurement and Fluorescence 3D

In Figure 1, the absorbance spectrum of açai sample is shown. It is clear that in the UV region (approx. 250 nm) the signal is saturated with too much noise, which indicates a great absorption of the sample. In regions near 300 nm, an absorption band can be identified. To better understand the absorption and the fluorescence of açai, a 3D scanning fluorescence plot is provided in Figure 2. The excitation source ranges from 300 to 500 nm and the emission detection of fluorescence ranges from 500 nm to 750 nm.

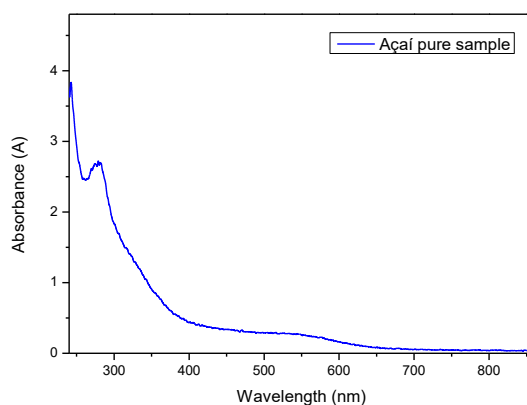


Figure 1: Absorbance spectrum of açai pure sample. The samples were diluted 5X to avoid saturated detection.

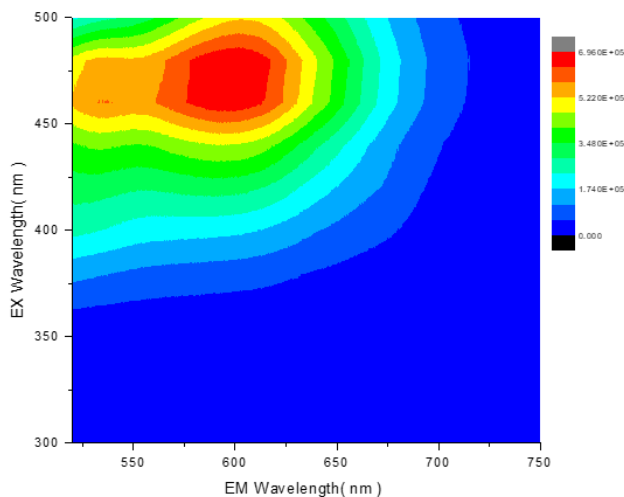


Figure 2: Color map of the 3D Scanning fluorescence measurement of açai pure sample.

Analyzing the color map in Figure 2, an intense fluorescence signal was detected in the region around 600 nm (red and orange regions) of the açai pure sample. The highest fluorescence signal was achieved when the excitation source was near 470 nm (center of the red region). In the next section, a fluorescence measurement of all the

adulterated samples is presented and a computational method is asked to identify/separate the different types of adulterants in the açai sample.

Analysis of adulterated açai samples via Fluorescence Measurements

The fluorescence spectra obtained for the samples with different concentrations of adulterants are shown in Figure 3 (a, b, and c) for a 633 nm excitation laser source. (Particularly, the choice for showing the data from samples with 6% of adulterants is justified by their highest percentage of adulterants in this study, which makes us suspect that the possible differences could be observed in their spectra set. The same analysis was performed with the samples containing 2% and 4%.)

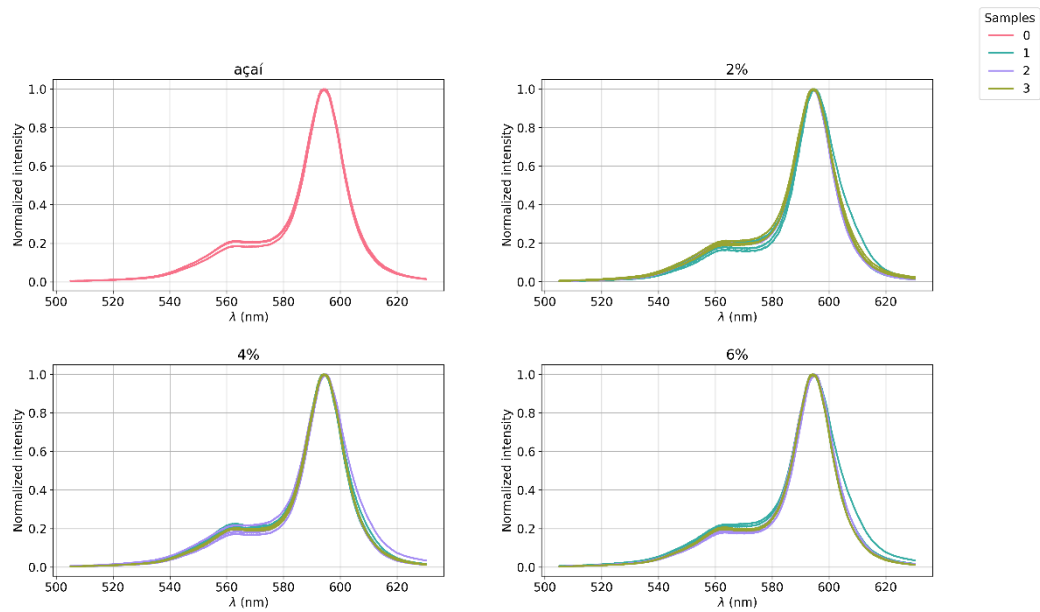


Figure 3: Fluorescence spectra for all the samples. (a) Açai pure sample, (b) açai blended with 2% of adulterants, (c) açai blended with 4% of adulterants, and (d) açai blended with 6% of adulterants.

By simply viewing the spectra, the difference between the adulterants and açai pure sample used in this study is not clear. It's also very difficult to identify a specific transition that allows certain differentiation between the results. To extract valuable information from those spectra, a reduction of the dimensionality of the data, using the

Principal Component Analysis (PCA), was performed and its capacity of separation/identification among the samples was analyzed. Figure 4 (a, b, and c) shows 2D score plots obtained from each concentration of adulterants, using a homemade computation routine implemented in Python language.

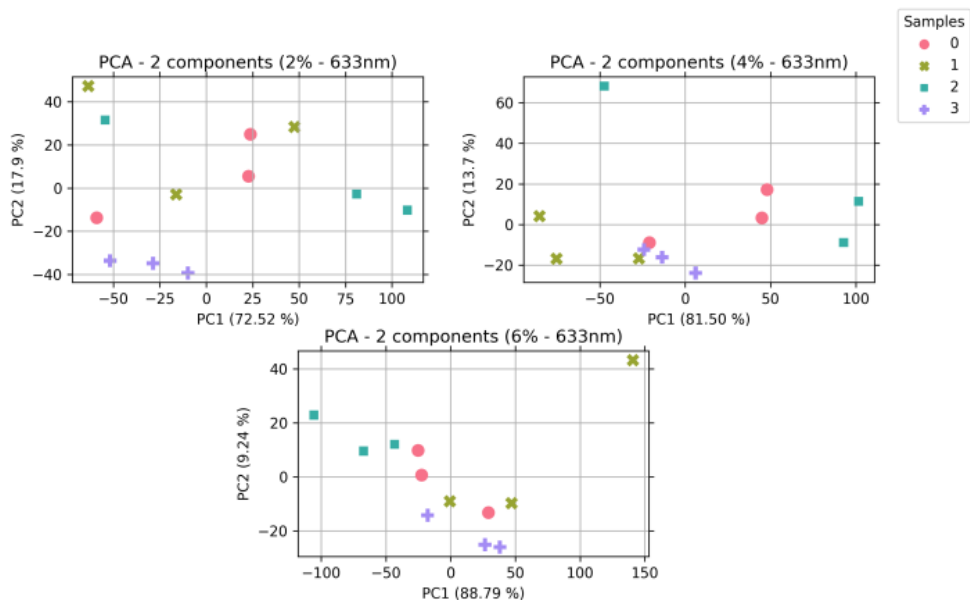


Figure 4: 2D PCA Score Plot from all the samples with (a) 2% of adulterant; (b) 4% of adulterant and (c) 6% of adulterant. The red circles represent the açaí pure sample in all the plots.

Although PC1 and PC2 can explain a great amount of the data (> 90%), it's not very clear the cluster formation. It's possible to see, for the 2% of adulterant (Fig 4. a), the beginning of a certain aggrupation for the samples adulterated with ice cream's stabilizer (sample 3). It's also clear, for 2 and 4% of adulterants, the formation of small clusters for the samples adulterated with maize starch (sample 1) and with wheat flour (sample 2) respectively. Overall, the samples are scattered across the score plot, with no particular order.

One way to try the improvement of the separation/identification of the samples is to perform a supervised algorithm to analyze the samples even further in the scores map. For this, it was used the LDA method for modeling the classification of the samples. This method was applied to the PCA space to achieve even better results, using a homemade computation routine written in Python language.

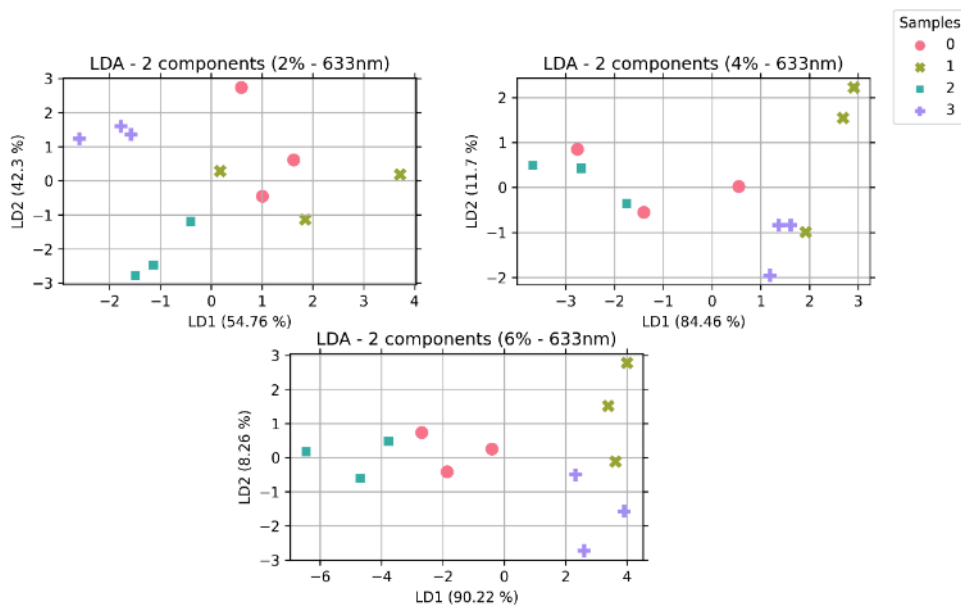


Figure 5: 2D LDA Score Plot from all the samples with (a) 2% of adulterant; (b) 4% of adulterant and (c) 6% of adulterant. The red circles represent the açai pure sample in all the plots.

In Figure 5, the two first LDA components (LD1 and LD2) were plotted to analyze the dispersion of the sample types. The plots (a, b, and c) show a relevant improvement in the separation performance of the types of samples, when compared to the PCA score plots (see Figure 4). The Linear Discriminant Analysis was able to, notoriously, represent a big part of the data ($> 90\%$), and it's possible to observe cluster formation.

We observe in samples with 2% of the concentration of adulterants (Fig 5. a) that the LDA method was not able to separate/differentiate the samples. A possible cluster formation can be seen in the top left (LD1 component negative and LD2 component positive) from sample 3 (adulterated with ice cream's stabilizer, purple cross), however, the other samples appear scattered in the plot, which represents a weak separation by the method.

With a 4% concentration of adulterants (Fig 4. b), the method performed a clear separation/differentiation between samples 2 (adulterated with wheat flour, green square) and samples 1 and 3 (maize starch, green x, and ice's cream stabilizer, purple cross, respectively) since the LD1 component of them has opposite polarity (negative for sample 2 and positive for samples 1 and 3). However, sample 0 (açai pure, red circles)

does not form a cluster and the method was not successful to distinguish sample 1 from sample 3 since they are localized in the same region of the LDA score plot (right side).

The best performance of the method to separate/differentiate the samples was achieved in samples with 6% of the concentration of adulterants (see Fig 4. c). Samples 0 and 2 (açai pure, red circles and adulterated with wheat flour, green square, respectively) present LD1 component negative, with small values for sample 2. On the other hand, samples 1 and 3 (maize starch, green x, and ice cream stabilizer, purple cross, respectively) present LD1 component positive with a clear separation between them that results from the LD2 component (positive for sample 1 and negative for sample 3). The separation between samples 0 and 2 was not so clear because of their LD2 component which presents similar values, it ranges from -1 to 1.

Conclusions

In conclusion, this study has shown the potential of fluorescence measurements combined with chemometrics methods such as PCA and LDA to identify and differentiate the presence of adulterants in açai samples. Although the differentiation of some samples was challenging, the LDA method showed promising results, particularly in samples with a 6% concentration of adulterants. Further studies could aim to investigate other statistical methods to improve the differentiation of adulterated samples and to test the method in a larger dataset. Overall, these findings highlight the importance of developing reliable methods to ensure the authenticity and quality of food products in the market.

Author Contributions

MVSF: conceptualization, methodology, resources, formal analysis, writing – original draft; GN: validation, writing – review & editing; CRM: original draft, writing – review & editing; JSC: conceptualization, writing – review & editing.

Compliance with ethical standards: Not applicable

Conflicts of interest: There are no conflicts to declare.

Funding

This research was funded in part by grants from Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais – FAPEMIG (grant number: APQ-00057-18).

Data Availability Statements

The datasets generated during and/or analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

References

- [1] E. M. da S. Menezes, A. T. Torres, and A. U. Sabaa Srur, “Valor nutricional da polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Mart) liofilizada,” *Acta Amaz.*, vol. 38, no. 2, pp. 311–316, 2008, doi: 10.1590/S0044-59672008000200014.
- [2] A. K. O. ; M. A. A. ; M. C. H. ; Homma, “Acai Production Systems,” *Embrapa Amaz. Orient. - Prod. Syst.*, vol. 4, p. 137, 2005.
- [3] K. K. D. L. Yamaguchi, L. F. R. Pereira, C. V. Lamarão, E. S. Lima, and V. F. da Veiga-Junior, “Amazon acai: Chemistry and biological activities: A review,” *Food Chem.*, vol. 179, pp. 137–151, Jul. 2015, doi: 10.1016/j.foodchem.2015.01.055.
- [4] V. Saldanha Bezerra, O. Freitas-Silva, and L. Fernandes Damasceno, “Açaí: produção de frutos, mercado e consumo.”
- [5] M. Manley and V. Baeten, “Spectroscopic Technique: Near Infrared (NIR) Spectroscopy,” in *Modern Techniques for Food Authentication*, Elsevier, 2018, pp. 51–102.
- [6] J. A. L. Lobato, Kleidson Brito de Sousa; Pallone, “Infrared spectroscopy in UHT milk and freeze-dried açaí pulp: quality parameters, detection and identification of adulterants,” UNICAMP, Campinas, SP, 2018.
- [7] A. Schieber, “Introduction to Food Authentication,” in *Modern Techniques for Food Authentication*, Elsevier, 2018, pp. 1–21.
- [8] R. Karoui and C. Blecker, “Fluorescence Spectroscopy Measurement for Quality Assessment of Food Systems—a Review,” *Food Bioprocess Technol.*, vol. 4, no. 3, pp. 364–386, Apr. 2011, doi: 10.1007/s11947-010-0370-0.
- [9] G. M. Strasburg and R. D. Ludescher, “Theory and applications of fluorescence spectroscopy in food research,” *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 6, no. 3, pp. 69–75, Mar. 1995, doi: 10.1016/S0924-2244(00)88966-9.
- [10] J. Christensen, E. M. Becker, and C. S. Frederiksen, “Fluorescence spectroscopy and PARAFAC in the analysis of yogurt,” *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, vol. 75, no. 2, pp. 201–208, 2005, doi: 10.1016/j.chemolab.2004.07.007.
- [11] C. M. Andersen and G. Mortensen, “Fluorescence Spectroscopy: A Rapid Tool for Analyzing Dairy Products,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 56, no. 3, pp. 720–729, Feb. 2008, doi: 10.1021/jf072025o.
- [12] E. M. Carstea, J. Bridgeman, A. Baker, and D. M. Reynolds, “Fluorescence spectroscopy for wastewater monitoring: A review,” *Water Res.*, vol. 95, pp. 205–219, May 2016, doi: 10.1016/j.watres.2016.03.021.
- [13] H. E. Giana, L. Silveira, R. A. Zângaro, and M. T. T. Pacheco, “Rapid identification of bacterial species by fluorescence spectroscopy and classification

- through principal components analysis,” *J. Fluoresc.*, vol. 13, no. 6, pp. 489–493, 2003, doi: 10.1023/B:JOFL.0000008059.74052.3c.
- [14] V. V. Grigor’ev, T. A. Ivanova, E. A. Kustova, L. N. Petrova, T. P. Serkova, and S. O. Bachurin, “Effects of delta sleep-inducing peptide on pre-and postsynaptic glutamate and postsynaptic GABA receptors in neurons of the cortex, hippocampus, and cerebellum in rats,” *Bull. Exp. Biol. Med.*, vol. 142, no. 2, pp. 186–188, Aug. 2006, doi: 10.1007/s10517-006-0323-9.
- [15] Y. G. M. Kongbonga *et al.*, “Characterization of Vegetable Oils by Fluorescence Spectroscopy,” *Food Nutr. Sci.*, vol. 02, no. 07, pp. 692–699, 2011, doi: 10.4236/fns.2011.27095.
- [16] V. C. Costa *et al.*, “Laser Induced-Breakdown Spectroscopy (Libs): Histórico, Fundamentos, Aplicações E Potencialidades,” *Quim. Nova*, vol. 42, no. 5, pp. 527–545, 2019.
- [17] T. C. Zanetti, “Utilização de espectroscopia libs para análise elementar de fármacos,” UFU, 2017.
- [18] T. H. T. Rosa, “Estudo e Caracterização da Dinâmica de Plasma Gerado por Espectroscopia LIBS,” UFU, 2020.
- [19] J. Stetzler, S. Tang, and R. C. Chinni, “Plasma Temperature and Electron Density Spectroscopy (LIBS) in Earth ’ s and Mars ’ s Atmospheres,” *Atoms*, vol. 8, no. 50, 2020.
- [20] D. W. Hahn and N. Omenetto, “Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS), part II: Review of instrumental and methodological approaches to material analysis and applications to different fields,” *Appl. Spectrosc.*, vol. 66, no. 4, pp. 347–419, 2012, doi: 10.1366/11-06574.
- [21] G. S. Senesi, J. Cabral, C. R. Menegatti, B. Marangoni, and G. Nicolodelli, “Recent advances and future trends in LIBS applications to agricultural materials and their food derivatives: An overview of developments in the last decade (2010–2019). Part II. Crop plants and their food derivatives,” *TrAC - Trends Anal. Chem.*, vol. 118, pp. 453–469, 2019, doi: 10.1016/j.trac.2019.05.052.
- [22] G. Nicolodelli, J. Cabral, C. R. Menegatti, B. Marangoni, and G. S. Senesi, “Recent advances and future trends in LIBS applications to agricultural materials and their food derivatives: An overview of developments in the last decade (2010–2019). Part I. Soils and fertilizers,” *TrAC - Trends Anal. Chem.*, vol. 115, pp. 70–82, 2019, doi: 10.1016/j.trac.2019.03.032.
- [23] I. Gaubeur, M. Á. Aguirre, N. Kovachev, M. Hidalgo, and A. Canals, “Speciation of chromium by dispersive liquid-liquid microextraction followed by laser-induced breakdown spectrometry detection (DLLME-LIBS),” *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 30, no. 12, 2015, doi: 10.1039/c5ja00325c.
- [24] S. Chatterjee, M. Singh, B. P. Biswal, U. K. Sinha, S. Patbhaje, and A. Sarkar, “Application of laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) coupled with PCA for rapid classification of soil samples in geothermal areas,” *Anal. Bioanal. Chem.*, pp. 2855–2866, 2019, doi: 10.1007/s00216-019-01731-3.
- [25] M. C. D. S. RIBEIRO, “Diferenciação entre grãos de milho transgênicos e convencionais utilizando espectroscopia óptica,” Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 2019.
- [26] J. Shlens, “A Tutorial on Principal Component Analysis,” 2014.
- [27] A. G. I. S. Balakrishnama, “LINEAR DISCRIMINANT ANALYSIS - A BRIEF TUTORIAL,” *Mikrobiyol. Bul.*, vol. 38, no. 4, pp. 421–427, 2004.
- [28] Great Learning Team, “What is LDA (Linear Discriminant Analysis) in Python,” 2022. [Online]. Available: <https://www.mygreatlearning.com/blog/linear->

- discriminant-analysis-or-lda/. [Accessed: 17-Oct-2022].
- [29] D. G. Chen, “Fisher Discriminant Analysis (FDA),” 2016. [Online]. Available: <https://www.sjsu.edu/faculty/guangliang.chen/Math285S16.html>.
- [30] A.~Kramida, Yu.~Ralchenko, and J.~Reader, “No Title.” 2022.
- [31] J. D. C. P. G. H. de A. Teixeira, *Tecnologias para inovação nas cadeias euterpe*. Brasília: Embrapa, 2012.
- [32] “Sistema IBGE de Recuperação Automática - SIDRA,” 2021. [Online]. Available: <https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/pevs/quadros/brasil/2021>.
- [33] N. Sanabria and E. Sangronis, “Caracterización del açai o manaca (Euterpe oleracea Mart.): Um fruto del Amazonas,” *Arch. Latinoam. Nutr.*, vol. 57, pp. 1–6, 2007.
- [34] C. E. de F. Silva *et al.*, “Acceptability of tropical fruit pulps enriched with vegetal/microbial protein sources: viscosity, importance of nutritional information and changes on sensory analysis for different age groups.,” *J. Food Sci. Technol.*, vol. 56, no. 8, pp. 3810–3822, Aug. 2019, doi: 10.1007/s13197-019-03852-0.
- [35] S. Shin, B. Dowden, I.-J. Doh, B. Rajwa, E. Bae, and J. P. Robinson, “Surface Environment and Energy Density Effects on the Detection and Disinfection of Microorganisms Using a Portable Instrument,” *Sensors*, vol. 23, no. 4, 2023, doi: 10.3390/s23042135.
- [36] K. L. Sandra, T. C. Luís, P. D. C. José, C. J. C. Luís, and T. H. De Almeida Gustavo, “Quantification of soluble solids in reconstituted açai (Euterpe oleracea Mart.) pulp using near-infrared spectroscopy,” *Int. J. Food Sci. Technol.*, vol. 48, no. 12, pp. 2514–2520, 2013, doi: 10.1111/ijfs.12243.
- [37] M. R. C. Inácio, K. M. G. De Lima, V. G. Lopes, J. D. C. Pessoa, and G. H. De Almeida Teixeira, “Total anthocyanin content determination in intact açai (Euterpe oleracea Mart.) and palmitero-juçara (Euterpe edulis Mart.) fruit using near infrared spectroscopy (NIR) and multivariate calibration,” *Food Chem.*, vol. 136, no. 3–4, pp. 1160–1164, 2013, doi: 10.1016/j.foodchem.2012.09.046.
- [38] G. H. d. A. Teixeira, V. G. Lopes, L. C. C. Junior, and J. D. C. Pessoa, “Total anthocyanin content in intact açai (euterpe oleracea mart.) and juçara (euterpe edulis mart.) fruit predicted by near infrared spectroscopy,” *HortScience*, vol. 50, no. 8, pp. 1218–1223, 2015, doi: 10.21273/hortsci.50.8.1218.
- [39] E. T. dos S. Caramês, M. R. Baqueta, D. A. Conceição, and J. A. L. Pallone, “Near infrared spectroscopy and smartphone-based imaging as fast alternatives for the evaluation of the bioactive potential of freeze-dried açai,” *Food Res. Int.*, vol. 140, no. June 2020, pp. 1–8, 2021, doi: 10.1016/j.foodres.2020.109792.
- [40] L. C. Cunha Júnior, G. H. de A. Teixeira, V. Nardini, and K. B. Walsh, “Quality evaluation of intact açai and juçara fruit by means of near infrared spectroscopy,” *Postharvest Biol. Technol.*, vol. 112, pp. 64–74, 2016, doi: 10.1016/j.postharvbio.2015.10.001.
- [41] L. C. Cunha Junior, V. Nardini, B. P. Khatiwada, G. H. de A. Teixeira, and K. B. Walsh, “Classification of intact açai (Euterpe oleracea Mart.) and juçara (Euterpe edulis Mart) fruits based on dry matter content by means of near infrared spectroscopy,” *Food Control*, vol. 50, pp. 630–636, 2015, doi: 10.1016/j.foodcont.2014.09.046.
- [42] F. L. Brum, G. R. Martins, R. Mohana-Borges, and A. Sant’Ana da Silva, “The acquisition of thin sections of açai (Euterpe oleracea Mart.) seed with elevated potassium content for molecular mapping by mass spectrometry imaging,” *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, no. September 2022, 2023, doi: 10.1002/rcm.9474.

- [43] A. Araújo, W. Marinho, and A. de Araújo Gomes, “A Fast and Inexpensive Chemometric-Assisted Method to Identify Adulteration in Acai (*Euterpe oleracea*) Using Digital Images,” *Food Anal. Methods*, vol. 11, no. 7, pp. 1920–1926, 2018, doi: 10.1007/s12161-017-1127-4.
- [44] D. V. Rezende, O. A. C. Nunes, and A. C. Oliveira, “Photoacoustic study of fungal disease of Acai (*Euterpe oleracea*) seeds,” *Int. J. Thermophys.*, vol. 30, no. 5, pp. 1616–1625, 2009, doi: 10.1007/s10765-009-0655-6.
- [45] J. S. Wulf, S. Rühmann, I. Rego, I. Puhl, D. Treutter, and M. Zude, “Nondestructive Application of Laser-Induced Fluorescence Spectroscopy for Quantitative Analyses of Phenolic Compounds in Strawberry Fruits (*Fragaria x ananassa*),” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 56, no. 9, pp. 2875–2882, May 2008, doi: 10.1021/jf072495i.
- [46] E. Fierini, L. Banelli, P. Pinelli, A. Romani, D. Remorini, and G. Agati, “In situ assessment of quality-related compounds in fruits by using fluorescence sensors,” 2015, pp. 1–4, doi: 10.1109/BioPhotonics.2015.7304050.
- [47] F. Pedregosa *et al.*, “Scikit-learn: Machine Learning in {P}ython,” *J. Mach. Learn. Res.*, vol. 12, pp. 2825–2830, 2011.
- [48] A. H. Vieira *et al.*, “Cultivo do Açaizeiro (*Euterpe oleracea* Martius) no Noroeste do Brasil,” *Embrapa*, 2018.