

ROSA MARIA RAMOS PIRES

**Determinação Não Destrutiva da Qualidade Interna de
‘Ortanique’
(*Citrus reticulata* Blanco x *Citrus sinensis* (L) Osbeck)**



2019

ROSA MARIA RAMOS PIRES

**Determinação Não Destrutiva da Qualidade Interna de
'Ortanique'
(*Citrus reticulata* Blanco x *Citrus sinensis* (L) Osbeck)**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em:

Hortofruticultura

Trabalho efetuado sob a orientação de:

Professor Doutor Rui Guerra

Professora Doutora Maria Dulce Antunes



2019

Determinação Não Destrutiva da Qualidade Interna de
‘Ortanique’
(*Citrus reticulata* Blanco x *Citrus sinensis* (L) Osbeck)

Declaração de autoria do trabalho:

Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

(Rosa Maria Ramos Pires – aluna nº 21562)

Copyright:

A Universidade do Algarve reserva para si o direito, em conformidade com o disposto no Código do Direito de Autor e dos Direitos Conexos, de arquivar, reproduzir e publicar a obra, independentemente do meio utilizado, bem como de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição para fins meramente educacionais ou de investigação e não comerciais, conquanto seja dado o devido crédito ao autor e editor respetivos.

Agradecimentos

Agradeço aos meus orientadores, Professor Doutor Rui Guerra e Professora Doutora Maria Dulce Antunes por toda a orientação, conhecimentos transmitidos e tempo disponibilizado, quer no trabalho de campo, laboratorial e na produção desta Dissertação.

Agradeço ao Professor Doutor Rui Guerra o tempo e dedicação despendido na minha aprendizagem de Matlab, aplicado ao tratamento de dados, e aos ensinamentos de espectroscopia e modelos de previsão.

À Professora Dulce Antunes tenho também a agradecer os conhecimentos transmitidos na área da Agronomia e da Pós-Colheita, pelo seu sentido prático e pela ajuda em descomplicar tudo aquilo que eu tendia a complicar!

À CACIAL, nomeadamente às Engenheiras Márcia Rosendo e Isabel Silva, e ainda ao dono do pomar de Vale Judeu, Sr. Ezequiel Pereira Negócio, pelo acesso aos pomares e apoio prestado.

À Doutora Ana M. Cavaco, agradeço todo o apoio laboratorial e de campo prestado e pela revisão desta Dissertação. Pela sua experiência e conhecimentos, mostrou-me os caminhos da Ciência, cultivou e aguçou o meu gosto pela Investigação. Sempre acreditou que eu era capaz!

À Doutora Sandra Cruz, por toda a ajuda, em especial à prestada na análise estatística dos dados. Agradeço a paciência e todo o tempo disponibilizado. É notório o gosto em ensinar!

Ao Professor Doutor Thomas Panagopoulos agradeço a georreferenciação das árvores dos pomares, tão importante neste trabalho!

À Professora Doutora Ana Cristina Coelho, agradeço a troca de alguns dias do trabalho dos sobreiros com as minhas idas ao campo, obviando assim os atrasos na concretização desta dissertação devido a condições meteorológicas adversas e aos inúmeros intervalos de segurança de tratamentos fitofarmacêuticos nos pomares.

Aos colegas do laboratório 3.38, *#DreamTeam*, António Brázio, Andreia Afonso, Dário Passos, Leonardo Silva (seguiste o teu caminho na Ciência, mas serás sempre da equipa) e Mariana Daniel, o meu agradecimento pelo acompanhamento, ajuda, companheirismo e bons momentos nos pomares e no trabalho de laboratório. Ao Marco Patrício, agradeço a ajuda no trabalho de campo e amizade.

Às Doutoras Adriana Guerreiro e Custódia Gago, agradeço o apoio no laboratório de pós-colheita e a boa disposição constantes.

Por último e não menos importantes, agradeço à minha família, em especial pais, avó e irmã por todo o apoio prestado e pelas oportunidades que me proporcionaram, em especial a de estudar, que tanto gosto me dá.

Ao *meu* João, agradeço a infinita paciência, ajuda prestada no decurso de todo o Mestrado e em particular na Dissertação bem como a compreensão pelo tempo que estive ausente em prol deste Mestrado.

A todos, o meu obrigado!

Este trabalho foi elaborado no âmbito do projeto estratégico do Centro de Eletrónica, Optoelectrónica e Telecomunicações (CEOT) com a referência ID/Multi/00631/2013 CEOT e do projeto de Pós-Doutoramento designado por "Smart tools for optimizing management in orchards" financiado pela Fundação para Ciência e a Tecnologia, Portugal (Post-Doc fellowship SFRH/BPD/101634/2014).

Resumo

A tângera ‘Ortanique’ (*Citrus reticulata* Blanco x *Citrus sinensis* (L) Osbeck) é um dos citrinos que consta da Norma “Citrinos do Algarve - IGP” e foi escolhida para desenvolver este estudo com vista à determinação não invasiva da sua qualidade interna. Os frutos foram recolhidos de vinte cinco árvores georreferenciadas em dois pomares, situados em Vale Judeu e Gambelas, em cinco amostragens que decorreram antes e depois do período comercial. Ainda no pomar e antes da recolha dos frutos para a determinação laboratorial dos parâmetros de qualidade através de métodos padronizados, efetuou-se a aquisição de espectros de refletância difusa. Utilizou-se um sistema portátil, que inclui um espectrómetro e uma sonda de interactância, para recolha dos espectros na região do visível-infravermelho próximo (Vis-IVP), na gama 680 – 1100 nm. Analisou-se a evolução temporal, em termos médios, de diversos parâmetros incluindo aqueles constantes da Norma (Acidez Titulável, Índice de Maturação, Teor de Sólidos Solúveis, Firmeza). A georreferenciação permitiu a elaboração de mapas para os vários parâmetros de qualidade e para os dois pomares, com vista a estudar a sua distribuição espacial, o que permitiu localizar zonas nos dois pomares responsáveis pela maior ou menor variabilidade biológica dos frutos. Mais, este mapeamento permitiu analisar, ainda que posteriormente, as taxas de variação dos parâmetros se alteravam nas diversas zonas do pomar, o longo da maturação. Definiram-se valores limite de interesse, nomeadamente os que constam da Norma, para diversos parâmetros o que permitiu comparar a sua evolução no tempo para os dois pomares desta mesma variedade. O método dos mínimos quadrados parciais ou *Partial Least Squares* (PLS) foi o método de regressão utilizado para a construção dos modelos de calibração dos parâmetros determinados laboratorialmente através dos espectros recolhidos com o fruto na árvore. A existência de dois pomares permitiu efetuar, para além da validação interna dos modelos, a validação externa com recurso à calibração do modelo com dados de um pomar e validação com dados de outro. Foram obtidos modelos para o índice de maturação, acidez titulável, teor de sólidos solúveis, sacarose, ácido ascórbico e firmeza. Os modelos com melhor previsão foram aqueles construídos e validados com dados do próprio pomar. Como descrito na literatura, os modelos pioraram o seu comportamento preditivo quando foram submetidos a amostras provenientes de outro pomar (validação externa). No entanto, este trabalho permitiu antever o potencial da utilização da espectroscopia de Vis-IVP como uma ferramenta valiosa na avaliação extensiva e em tempo real do estado de maturação dos pomares de ‘Ortanique’.

Palavras Chave: ‘Ortanique’, Espectroscopia Vis-IVP, Qualidade interna, ‘Citrios do Algarve -IGP’, Agricultura de Precisão.

Abstract

Tangerine ‘Ortanique’ (*Citrus reticulata* Blanco x *Citrus sinensis* (L) Osbeck) is a Protected Geographical Indication (PGI) fruit. The specific norm stipulates several quantitative and qualitative requirements, to commercialize this variety as “Citrimos do Algarve” - IGP.

The aim of this study was to determine non-invasively the internal quality of ‘Ortanique’. Fruits were assessed from twenty-five georeferenced trees in two orchards, located in Vale Judeu and Gambelas, in five samplings along ripening. In each orchard and before collecting the fruits for the laboratory standard determination of the quality parameters, diffuse reflectance spectra were acquired from fruits on-tree. A portable system, including a spectrometer and an interactance probe, were used to collect spectra in the near visible-infrared region (Vis-NIR), in the 680-1100 nm range. Internal quality parameters, including the ones stated in the PGI commodity were analyzed by standard methods. The georeference allowed elaborating maps for the several internal quality parameters, of both orchards and to study their spatial distribution along time. Several zones were found to induce biological variability in the orchard. Moreover, this mapping allowed to analyze which were the parameters rates of variation in the orchard, throughout ripening.

Threshold values were defined, namely those present in the Standard, for several parameters, which allowed to compare their evolution in time for the two orchards and the same variety. Partial Least Squares (PLS) was used to build the calibration models of the various internal quality parameters, by correlating those determined through the standard methods, with the spectra collected from the fruits on-tree.

The existence of two orchards allowed performing, in addition to the internal validation, the external validation of the models with data from one orchard and validation with data from another. Models were obtained for the maturation index, titratable acidity, soluble solids content, sucrose, ascorbic acid and firmness. The models with the best prediction performance were the ones built and validated with data from the same orchard. As described in the literature, the models worsened their predictive behavior when they were submitted to samples from another orchard (external validation). Yet, this work has shown a strong potential for the use of Vis-NIRs as a smart tool to provide an extensive and real-time assessment of ‘Ortanique’ orchards ripening stage.

Keywords: ‘Ortanique’, Vis-NIR Spectroscopy, Internal Quality, ‘Citrimos do Algarve’
-PGI, Precision Agriculture

Abreviaturas e acrónimos

ANOVA - *Analysis of variance*
AT - Acidez titulável
° C- grau Celsius
% cv - Coeficiente de variação
CACIAL - Cooperativa Agrícola de Citricultores do Algarve, C. R. L.
CCD - *Charge-coupled device*
CCI - *Citrus colour index*
CR - *Continuum Removal*
IGP - Indicação Geográfica Protegida
IM - Índice de maturação
INE - Instituto Nacional de Estatística
FAO - *Food and Agriculture Organization of the United Nation*
LSNV - *Local standard normal variate*
LV - *Latent variable*
mg - miligrama
mL - mililitro
% m/m - percentagem em massa
mm - milímetros
mm/s - milímetros por segundo
MSC - *Multiplicative scatter correction*
N - Newton
N - Normal
NaOH - Hidróxido de Sódio
nm - nanómetro
PAR - Photosynthetic active radiation
PLS - *Partial Least Squares*
R - Coeficiente de correlação
R- Refletância
R² - Coeficiente de determinação
% res - Resolução
RMSEC - *Root mean square error of calibration*
RMSECV - *Root mean square error of cross-validation*
RMSEP - *Root mean square error of prediction*
TSS - Teor de sólidos solúveis
SDR - *Standard deviation ratio*
SNV - *Standard normal variate*
Vis-IVP - Visível - Infravermelho próximo
µm - micrómetro

Índice	
Resumo.....	VI
Abstract.....	VIII
Abreviaturas e acrónimos	X
Índice de Figuras	XIII
Índice de Tabelas	XVI
1. Introdução	1
1.1. Objetivo	2
2. Revisão Bibliográfica	3
2.1. A cultura de Citrinos.....	3
2.2. “Citrinos do Algarve” IGP e Importância Económica.....	4
2.3. Caracterização da ‘Ortanique’	6
2.4. Qualidade dos citrinos	7
2.4.1. Parâmetros de qualidade externa dos citrinos.....	7
2.4.2. Parâmetros de qualidade interna dos citrinos e a sua determinação padronizada .	8
2.4.2.1. Teor de Sólidos Solúveis (TSS).....	9
2.4.2.2. Acidez Titulável e Índice de Maturação (IM)	9
2.4.2.3. Firmeza	10
2.4.3. Qualidade na perspetiva do consumidor.....	10
2.4.4. Fatores que influenciam a qualidade dos frutos	11
2.5. Medir a qualidade dos frutos de forma mais extensiva e abrangente– métodos não destrutivos.....	12
2.5.1. Espectroscopia de Visível – Infravermelho Próximo (Vis-IVP).....	14
2.5.2 Quimiometria.....	15
2.5.2.1 Pré-processamento.....	16
2.5.2.2 <i>Partial Least Squares</i> (PLS).....	16
2.5.2.3. Robustez e precisão dos modelos de previsão.....	18
3. Procedimento experimental	21
3.1. Frutos: Localização e caracterização dos pomares.....	21
3.2. Período em que decorreram as amostragens.....	22
3.3. Métodos não destrutivos: Espectroscopia – aquisição de espetros com o fruto na árvore	23
3.4. Análise padronizada: determinação dos parâmetros de qualidade	29
3.5. Análises bioquímicas	30
3.6. Provas organoléticas	30
3.7. Análise de dados.....	30
3.7.1. Construção de modelos de calibração para previsão de atributos de qualidade...	31
3.7.2. Eliminação de <i>outliers</i> e pré-processamento	31

3.7.3. Calibração e Validação dos modelos de previsão dos atributos de qualidade de ‘Ortanique’	32
3.7.4. Avaliação dos modelos: análise estatística	34
4. Resultados e Discussão	35
4.1. Análise comparativa dos pomares de Gambelas e Vale Judeu: parâmetros de qualidade obtidos de acordo com os métodos padrão	35
4.2. Análise comparativa da distribuição espacial dos parâmetros de qualidade determinados pelos métodos padrão nos pomares de Gambelas e Vale Judeu	42
4.2.1 - IM, AT e TSS nos frutos dos pomares	42
4.2.2 - Firmeza, peso do fruto e percentagem de sumo nos frutos	47
4.2.3- Teor de açúcares (glucose, frutose, sacarose e totais) nos frutos	49
4.2.4. Teor de ácido ascórbico nos frutos	54
4.3. Análise das diferenças espaciais, em termos médios, nos pomares de Gambelas e Vale Judeu	55
4.3.1. Fontes extrínsecas e intrínsecas de variabilidade biológica	58
4.3.2. Georreferenciação como ferramenta para a previsão da evolução dos parâmetros de qualidade no pomar	65
4.4. Métodos não destrutivos para determinação da qualidade interna de ‘Ortanique’	73
4.4.1 - Aquisição de espectros de refletância de ‘Ortanique’, com o fruto na árvore	73
4.5. Construção de modelos para a previsão não destrutiva de parâmetros de qualidade em ‘Ortanique’	74
4.5.1. Caso específico: a construção e análise detalhada do modelo para o Índice de Maturação	74
4.5.1.1 Validação Interna	78
4.5.1.2 Validação externa	82
4.5.2. Discussão dos resultados obtidos para os modelos dos demais parâmetros de qualidade	86
4.5.3 Comparação entre validação interna e externa	89
4.5.4 Comparação dos modelos obtidos com os resultados obtidos na literatura	97
5. Conclusões e Perspetivas futuras	98
6. Referências Bibliográficas	100
APÊNDICE I	106
ANEXO I	111

Índice de Figuras

Figura 2.1. Quadro de maturação de algumas variedades de Citrinos	4
Figura 2.2. Características mínimas para todas as categorias de Citrinos do Algarve, constante da norma IGP...	6
Figura 2.3. Árvore e fruto de ‘Ortanique’	7
Figura 2.4. Espectro eletromagnético e associação entre comprimentos de onda e ligações químicas.....	14
Figura 2.5. Esquema representativo da interação entre a luz e o fruto.....	15
Figura 3.1. Mapas do pomar localizado em Vale do Judeu.....	22
Figura 3.2. Mapa do pomar localizado na localidade de Biogal (Gambelas).....	22
Figura 3.3. Montagem experimental para aquisição dos espectros	24
Figura 3.4. Modo de aquisição dos espectros.....	24
Figura 3.5. Espectro de 25 laranjas, representados em contagens em bruto.....	25
Figura 3.6. Representação das contagens em bruto da referência principal.....	26
Figura 3.7. Exemplo de um espectro de contagens escuras (dark).....	27
Figura 3.8. Refletância direta de 25 laranjas.....	28
Figura 3.9. Refletância compensada, após subtração do <i>autodark</i>	29
Figura 3.10. Esquema explicativo dos procedimentos associados à da validação interna e externa dos modelos	33
Figura 4.1. Evolução esquemática de um desenvolvimento de um citrino	35
Figura 4.2. Evolução temporal do peso do fruto (a), diâmetro equatorial (b), firmeza (c) e espessura da casca (d).....	36
Figura 4.3. Evolução temporal do TSS (a), pH do sumo (b), AT (c) e IM (d).....	38
Figura 4.4. Evolução temporal da percentagem de sumo nos dois pomares.....	38
Figura 4.5. Evolução dos açúcares quantificados no sumo de ‘Ortanique’, provenientes dos dois pomares	39
Figura 4.6. Evolução temporal do ácido ascórbico nos pomares de Gambelas e Vale Judeu.....	40
Figura 4.7. Análise organolética de ‘Ortanique’ efetuada por um painel semi-treinado de 22 provadores.	41
Figura 4.8. Mapeamento do IM, para o pomar de Gambelas	43
Figura 4.9. Mapeamento do TSS, para o pomar de Gambelas	43
Figura 4.10. Mapeamento do AT para o pomar de Gambelas.....	44
Figura 4.11. Mapeamento do IM para o pomar de Vale Judeu	45
Figura 4.12. Mapeamento do TSS para o pomar de Vale Judeu	45
Figura 4.13. Mapeamento AT para o pomar de Vale Judeu.....	46
Figura 4.14. Mapeamento da firmeza, massa do fruto e percentagem de sumo para o pomar de Gambelas	48

Figura 4.15. Mapeamento da firmeza, peso do fruto e percentagem de sumo para o pomar de Vale Judeu.....	49
Figura 4.16. Mapeamento dos açúcares totais e sacarose para o pomar de Gambelas...	50
Figura 4.17. Mapeamento da glicose e frutose para o pomar de Gambelas	51
Figura 4.18. Mapeamento açúcares totais, sacarose, glicose e frutose para o pomar de Vale Judeu	52
Figura 4.19. Comparação entre a) açúcares totais e TSS b) AT e TSS c) AT e açúcares totais, para ambos os pomares	53
Figura 4.20. Mapeamento do ácido ascórbico para os pomares de Gambelas e Vale Judeu.....	55
Figura 4.21. Mapas das médias de valores estandardizados para IM, AT, TSS , açúcares totais, sacarose, glicose, frutose, ácido ascórbico, firmeza, peso do fruto e percentagem de sumo para o pomar de Gambelas	57
Figura 4.22. Mapas das médias de valores estandardizados para IM, AT, TSS , açúcares totais, sacarose, glicose, frutose, ácido ascórbico, firmeza, peso do fruto e percentagem de sumo para o pomar de Gambelas	58
Figura 4.23. Princípio da estimativa da variabilidade intrínseca a cada árvore, quanto ao índice de maturação	61
Figura 4.24. Caso particular do IM no pomar de Vale Judeu . a) ajuste linear dos valores de IM; b) regressão linear para os valores de IM obtidos na árvore 1; c) residuais de ajuste e estimativa de σ_{intra} (representado pela linha a tracejado) para a árvore 1.....	63
Figura 4.25. Representação gráfica da percentagem de variação intra- e inter-árvore para os dois pomares, ao longo dos cinco dias de amostragem para a) IM b) TSS c) Teor de Sumo d) peso e) açúcares totais f) sacarose g) glicose h) frutose	64
Figura 4.26. Regressão linear para o IM	66
Figura 4.27. Mapeamento da progressão do índice de maturação nos pomares de Vale Judeu e Gambelas	67
Figura 4.28. Mapeamento da progressão do TSS nos pomares de Vale Judeu e Gambelas	69
Figura 4.29. Mapeamento da progressão da AT nos pomares de Vale Judeu e Gambelas	70
Figura 4.30. Mapeamento da progressão da Firmeza nos pomares de Vale Judeu e Gambelas	71
Figura 4.31. Espectros de refletância, expressa em percentagem, de 25 laranjas.....	74
Figura 4.32. Transformação dos espectros para o IM do pomar de Vale Judeu (1) e de Gambelas (2); a) espectros transformados; b) perfil de correlação com o IM; c) IM vs. Valor do espectro transformado no comprimento de onda com maior correlação absoluta. d) valor do espectro transformado no comprimento de onda com maior correlação positiva vs. Valor do espectro transformado no comprimento de onda com maior correlação negativa.....	76
Figura 4.33. Gráfico do erro da validação cruzada em função do número de variáveis latentes, para o pomar de Vale Judeu.....	78

Figura 4.34. Representações gráficas da validação cruzada, calibração, validação interna e variáveis latentes para a) pomar de Vale Judeu, b) pomar de Gambelas e c) ambos os pomares.....	79
Figura 4.35. Representações gráficas da validação cruzada, calibração, validação externa e variáveis latentes. a) Calibração efetuada com frutos do pomar de Vale Judeu e validação com os frutos do pomar de Gambelas; b) Calibração efetuada com frutos do pomar de Gambelas e validação com os frutos do pomar de Vale Judeu.....	83
Figura 4.36. Representação gráfica da a) correlação, b) variância explicada, c) consistência dos perfis de correlação, d) vetor de regressão, todos em função do comprimento de onda.....	85
Figura 4.37. Espectro de refletância, absorvância e pré processamento para a acidez titulável.	87
Figura 4.38. Pré processamento para TSS, IM, Firmeza, pH do Sumo, Glicose e Frutose.....	88
Figura 4.39. Pré processamento para a Sacarose, Açúcares Totais e Ácido Ascórbico...	89

Índice de Tabelas

Tabela 2.1. Equação e definição dos parâmetros estatísticos utilizados na avaliação da precisão e robustez dos modelos de calibração de Vis-IVP	20
Tabela 3.1. Calendário de comercialização de ‘Ortanique’	23
Tabela 3.2. Tabela esquemática de validação interna e validação externa.....	34
Tabela 4.1. Média, desvio padrão e gama de variação dos conjuntos de dados utilizados para construção dos modelos para os diversos parâmetros.....	77
Tabela 4.2. Relação entre comprimentos de onda e os conjuntos de Vale Judeu (VJ), Gambelas (G) e ambos os pomares (todos).....	86
Tabela 4.3. Estatística descritiva dos modelos obtidos para os diversos parâmetros de qualidade.....	91
Tabela 4.4. Variância explicada para os comprimentos de onda mais importantes, nos modelos de previsão para o TSS.....	93
Tabela 4.5. Variância explicada para os comprimentos de onda mais importantes, nos modelos de previsão para os açúcares totais.....	93
Tabela 4.6. Variância explicada para os comprimentos de onda mais importantes, nos modelos de previsão para a sacarose.....	94
Tabela 4.7. Variância explicada para os comprimentos de onda mais importantes, nos modelos de previsão para a firmeza.....	94
Tabela 4.8. Variância explicada para os comprimentos de onda mais importantes, nos modelos de previsão para a Ácido Ascórbico.....	95
Tabela 4.9. Variância explicada para os comprimentos de onda mais importantes, nos modelos de previsão para o pH.....	95
Tabela 4.10. Variância explicada para os comprimentos de onda mais importantes, nos modelos de previsão para a acidez titulável.....	96

1. Introdução

O Algarve é a principal região produtora de citrinos em Portugal, tendo um peso de 75 % da produção total do Continente. A Estratégia Regional de Investigação e Inovação para a Especialização Inteligente (RIS3-Algarve 2014-2020) salienta a importância dos “Citrinos do Algarve”, como ponto forte do sector agroalimentar da região do Algarve, mas realça a necessidade de investigação e inovação na área. Pretende-se aumentar a competitividade à escala global e maximizar o valor acrescentado da região (CCDR Algarve, 2015).

Os “Citrinos do Algarve” estão sujeitos aos requisitos estipulados na norma de Indicação Geográfica Protegida (IGP) (Uniprofrutal, 2003) que determinam, para além das condições higiénico-sanitárias e aspeto exterior do fruto, os valores mínimos dos parâmetros de qualidade interna com vista à comercialização dos mesmos sob a designação de “*Citrinos do Algarve*” - IGP. Tais requisitos são os seguintes: o teor de sólidos solúveis (TSS), indicativo da doçura, o índice de maturação ($IM = TSS/Acidez\ Titulável$) e o teor de sumo, que deverão apresentar valores mínimos de 11 °Brix, 11 de IM e 35% de teor de sumo, respetivamente. Uma vez atingidos os referidos valores, há que ter em conta outros fatores que também têm peso preponderante na altura de colher os frutos, tais como os custos de colheita, os requisitos dos mercados ao nível organolético, preços e questões relacionadas com o armazenamento. Os citricultores debatem-se com três opções: 1) colher de imediato, o que pode resultar em fraca qualidade organolética e conseqüentemente, baixo preço; 2) armazenamento em frio, raramente usado pois os citrinos são suscetíveis a desordens causadas pelo frio (Schirra e Cohen, 1999; Ferreyra *et al.*, 2006); 3) atrasar a colheita, correndo riscos como a queda e deterioração dos frutos. De facto, se o fruto permanecer na árvore, o TSS continuará a aumentar e o teor de ácidos a diminuir ($IM > 20$), e têm início diversos processos fermentativos típicos da sobre-maturação do fruto, que levam à produção de compostos como o etanol e o aldeído, responsáveis pela degradação do sabor dos frutos (Seymour *et al.*, 1993).

Perante mercados altamente competitivos e constantemente aliciados por citrinos de outras proveniências, é de suma importância a determinação dos diversos parâmetros de qualidade interna do fruto ao longo do seu amadurecimento na árvore. É necessário garantir citrinos, e neste caso, ‘Ortanique’ de sabor e valor nutricional elevados, bem como assegurar que as suas condições exteriores e de firmeza sejam adequadas a todos

os processos de manipulação em pós-colheita, e chegada ao consumidor final em perfeitas condições.

Os atributos de qualidade interna variam ao longo da maturação dos frutos e devem ser avaliados quase semanalmente à medida que se aproxima o momento da colheita. Estes valores dependem do ano, do cultivar, do pomar, da localização da árvore no pomar e da localização do fruto na própria árvore. O procedimento habitual passa por recolher frutos de cada pomar desde o início da época de colheita e usá-los para determinar os parâmetros de qualidade através de métodos clássicos, demorados e alguns deles destrutivos. Geralmente o número de frutos recolhidos não é estatisticamente representativo do pomar, levando a uma avaliação pouco precisa e falível do seu estado de maturação e ainda a uma gestão deficiente do mesmo.

No geral, falta tecnologia rápida e fiável para determinação dos parâmetros/atributos de qualidade, das diferentes variedades que compõem os “Citros do Algarve”. A utilização da espectroscopia do visível – infravermelho próximo (Vis-IVP) permite avaliar a qualidade de forma não destrutiva mais rapidamente; por isso pode ser aplicada num número muito superior de frutos, tornando a amostra mais representativa do estado de maturação do pomar.

1.1. Objetivo

O trabalho desenvolvido teve como objetivo principal a avaliação não destrutiva da qualidade interna e determinação do estado de maturação do citrino ‘Ortanique’, híbrido de *Citrus reticulata* Blanco e *Citrus sinensis* (L) Osbeck, através de métodos espectroscópicos Vis-IVP. Até à data, a autora não tem conhecimento de nenhum estudo semelhante publicado, que faça uma descrição da evolução dos parâmetros de qualidade ao longo da maturação de ‘Ortanique’, como “Citrino do Algarve” - IGP aliado à espectroscopia Vis/IVP. Embora esteja incluída nos “Citros do Algarve” - IGP, e seja muito apreciada por consumidores, a determinação do estado de maturação de ‘Ortanique’ é, à semelhança de todos os outros citrinos incluídos naquela Norma, baseada numa avaliação destrutiva de uma amostragem de frutos muito limitada e de modo algum representativa dos pomares. Pretendeu-se assim estabelecer um protocolo de avaliação rápida e abrangente dos atributos de qualidade previstos na norma IGP e outros complementares. Trata-se de contribuir para uma melhor gestão dos pomares em termos de qualidade e do estado de maturação dos frutos e, eventualmente, permitir uma

determinação otimizada da data de colheita, numa perspetiva que se insere no contexto da agricultura de precisão.

2. Revisão Bibliográfica

2.1. A cultura de Citrinos

Os citrinos são a cultura com maior importância a nível mundial. Do ponto de vista taxonómico, o género *Citrus* pertence à tribo *Citreae* (subtribo *Citrinae*), família *Rutaceae* (subfamília *Aurantioideae*). Este género é ainda dividido nos subgéneros *Citrus* e *Papeda*. Um estudo publicado recentemente por Wu *et al.* (2018) indica que o centro de origem dos citrinos será no sopé dos Himalaias, na zona de fronteira de Assam (Índia), com Yunnan ocidental (China) e norte da Birmânia.

Segundo dados da FAO (2018) a produção mundial de citrinos (laranjas, tangerinas, clementinas, satsumas, limões e limas) estima-se em 123 milhões de toneladas (dados de 2016), sendo o Brasil o maior produtor mundial, seguido pelos Estados Unidos da América e Índia.

A cultura de citrinos está dispersa pelo nosso país, sendo que a produção de laranjas e tangerinas, para fins comerciais, está circunscrita ao Algarve, litoral Alentejano e algumas zonas do país com microclimas favoráveis. De acordo com as estatísticas do INE e informação constante na página oficial da Direção Regional de Agricultura e Pescas do Algarve, a área ocupada por citrinos em Portugal estima-se em cerca de 26 200 ha, dos quais 17 860 ha se localizam no Algarve, sendo a maior parte da área ocupada por laranjas, seguida de tangerinas. (INE, 2016; Tomás, 2016). A produção de laranjas, a nível nacional entre 2011 e 2015 teve o seu pico em 2014 com 250 000 toneladas, tendo um ligeiro decréscimo para 246-600 toneladas em 2015 (INE, 2016).

No que diz respeito às variedades, destacam-se no grupo das laranjas de umbigo (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck), também designadas por baías, a ‘Newhall’, ‘Navelina’ e ‘Lane late’. No grupo comum, destaca-se o clone Frost da ‘Valencia late’. As clementinas (*Citrus clementina* Hort. ex. Tanaka) mais representativas são a ‘Fina’, ‘Nules’, ‘Marisol’ e ‘Hernandina’ enquanto que nos híbridos se destacam a ‘Encore’, ‘Ortanique’, ‘Nova’ e ‘Fortune’ (Tomás, 2016).

Esta grande diversidade de variedades permite disponibilizar citrinos no mercado durante todo o ano, o que constitui um ponto forte da citricultura algarvia – Figura 2.1

(Tomás, 2016) Como exemplo, temos a ‘Valencia late’ que é uma cultivar serôdia, colhida no final da Primavera início do Verão e cuja época vai até Setembro, dependendo da zona do Algarve; as cultivares ‘Newhall’ e ‘Navelina’ são temporãs e são colhidas a partir de Outubro-Novembro (Duarte, 2012).

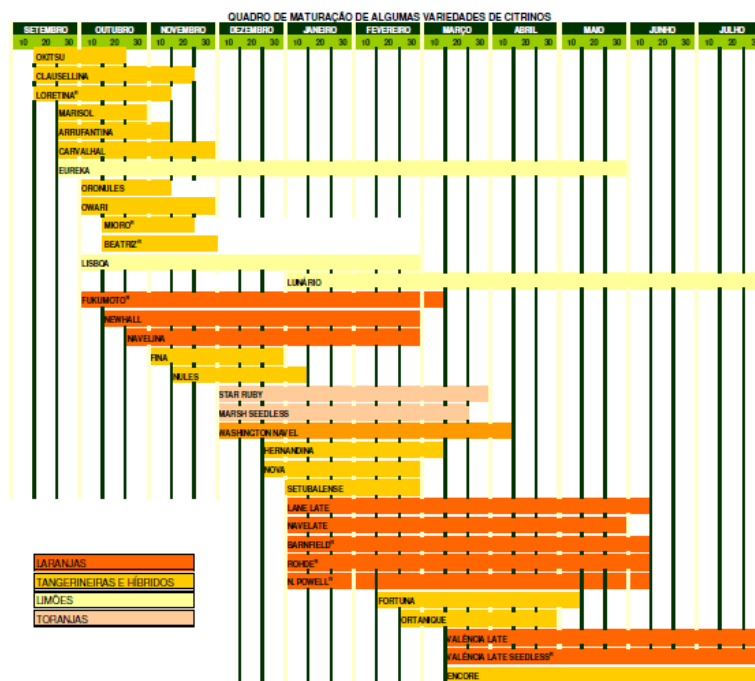


Figura 2.1. Quadro de maturação de algumas variedades de Citrinos (Tomás, 2016).

2.2. “Citrinos do Algarve” IGP e Importância Económica

Os “Citrinos do Algarve” beneficiam do estatuto de Indicação Geográfica Protegida (IGP) reconhecida pelo Estado Português e pela Comunidade Europeia, cabendo à Uniprofrutal – União dos Produtores Hortofrutícolas do Algarve - a gestão do uso da IGP (Uniprofrutal, 2003)

Conforme definição na página da Direção Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural (2018), “*Uma IGP é um nome geográfico ou equiparado que designa e identifica um produto originário desse local ou região, que possui uma determinada qualidade, reputação ou outras características que podem ser essencialmente atribuídas à sua origem geográfica e que, em relação ao qual pelo menos uma das fases de produção tem lugar na área geográfica delimitada.*”

O Manual de Utilizador da Indicação Geográfica Protegida “Citrinos do Algarve” contém um regulamento para os operadores que pretendam utilizar a IGP e a designação “Citrinos do Algarve” (Uniprofrutal, 2003). A IGP pretende ser um instrumento que

contribui para a diferenciação do produto, garantindo um determinado nível de qualidade, um valor acrescentado e sensibilizar o consumidor para o facto da qualidade do mesmo estar ligada à sua área geográfica de produção (Carvalho *et al*, 2010).

Assim, um estudo de mercado demonstrou que os consumidores associam aos “Citrinos do Algarve”, comparativamente com citrinos de outras proveniências, atributos de qualidade como uma maior doçura, maior quantidade de sumo e melhor sabor (Madeira, 2007). Apesar de tudo, numa outra publicação da responsabilidade do Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e Pescas, de 2007, foi referido que a quantidade de fruta vendida, sob a designação de “Citrinos do Algarve” ficou aquém das expectativas representando menos de 1% de vendas.

Em geral, para além da maior exigência desta norma relativamente à Europeia respeitante aos citrinos em geral (Madeira, 2007; Comissão Europeia, 2011), concluiu-se que a adoção da IGP poderá não ter sido uma mais-valia imediata para a citricultura algarvia, indicando os fatores que considerou relevantes para impedir o seu total sucesso. Um deles estará relacionado com as diferentes exigências dos diversos canais de distribuição: os mercados abastecedores dão menos relevância ao aspeto exterior do que as centrais de compras de grandes e médias superfícies, e maior à doçura e quantidade de sumo.

Embora os produtores e cooperativas de citrinos sigam na maioria dos casos a norma IGP na comercialização destes frutos, está cada vez mais patente, por parte dos operadores das cooperativas, produtores e estudos recentes, a necessidade de reformular a mesma (Pires *et al.*, 2016). Por exemplo, analisando a IGP, no que diz respeito aos valores mínimos dos parâmetros de qualidade e maturação dos citrinos para que possam ser referenciados como “Citrinos do Algarve” (Figura 2.2) verifica-se não haver nenhuma referência quanto ao valor mínimo concreto e adequado para a firmeza das diferentes espécies e variedades (Uniprofrutal, 2003). Este parâmetro é determinante do tempo de vida de pós-colheita do fruto e apresenta diferenças significativas entre as diversas variedades, para índices de maturação idênticos (Pires *et al.*, 2016). Assim, uma vez atingidos os valores mínimos dos outros parâmetros de qualidade previstos na norma IGP, a firmeza acaba por predominar como fator na decisão da colheita do fruto, com potencial prejuízo do seu sabor.

Quadro 1
Características mínimas para todas as categorias

CARACTERÍSTICAS	LARANJAS	TANGERINAS	LIMÕES E LIMAS
1. Visuais			
Forma	Característica da variedade		
Calibres ⁽¹⁾	62	46	45
Cor da casca	Característica da variedade		
Grossura da casca	Fina	Fina	Fina a Média
Dureza	Frutos com boa consistência sem sinais de envelhecimento		
2. Organolépticas			
Textura da polpa	Média	Fina a Média	Média
Teor de sumo (%)	35	35 ⁽²⁾	25
Índice de maturação	8	11	-
Açúcar (° Brix)	10	11 ⁽³⁾	-

(1) Calibre em mm. Tolerância de 10%, em n.º, ou peso, de frutos que correspondam a calibres imediatamente superior ou inferior.

(2) Excepto Clementinas em que o teor mínimo deve ser de 40%.

(3) Excepto Tangerinas "Encore" e "Setubalense" cujo grau mínimo deve ser de 12.

(4) As manchas próprias da "Encore" serão admitidas.

NOTA: Para as Toranjas são válidas todas as disposições referentes à Laranja, considerando como calibre mínimo 70 mm.

Figura 2.2. Características mínimas para todas as categorias de Citrinos do Algarve, constante da norma IGP (Uniprofrutal, 2003).

Notou-se ainda que, com base em provas organolépticas, os parâmetros de qualidade atualmente quantificados na norma não parecem ser consistentes com as preferências dos consumidores (Pires *et al.*, 2016). Isto segue a nova tendência de procura de parâmetros quantitativos de avaliação da qualidade dos frutos, que traduzam de forma mais precisa a sua avaliação qualitativa subjetiva levada a cabo pelo consumidor e que decide em última análise a sua aceitação e sucesso no mercado (Magwaza e Opara, 2015).

2.3. Caracterização da ‘Ortanique’

A ‘Ortanique’ é um híbrido originário da Jamaica (Massapina e Gonçalves, 1995), e resultante de um cruzamento entre laranjeira doce (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) e tangerina (*Citrus reticulada* Blanco) (Agustí, 2010). A designação de ‘Ortanique’ deriva da contração das palavras *orange*, *tangerine* e *unique* (Morton, 1987).

A árvore apresenta um vigor elevado, com tendência de crescimento aberto e folhagem densa e verde clara (Massapina e Gonçalves, 1995), também descrita como verde escura por Agustí (2010). Os ramos principais são densos, de crescimento disperso e as folhas são pequenas a médias, largas e com asas do pecíolo rudimentares (Tomás, 2016)

Os frutos são não-climatéricos e apresentam normalmente tamanho médio a grande, ligeiramente achatados na zona estilar, por vezes com um pequeno umbigo pouco proeminente (figura 2.3). A casca apresenta uma textura rugosa, de cor laranja intensa e brilhante, espessura média e aderente, tornando-se difícil descascar à mão.



Figura 2.3. Árvore e fruto de ‘Ortanique’ (Tomás, 2016)

Os frutos podem apresentar sementes, caso ocorra polinização cruzada. No que diz respeito à polpa, é sumarenta, tenra, de cor laranja e sabor muito agradável (Massapina e Gonçalves, 1995; Agustí, 2010). Num estudo levado a cabo por Simón-Grao *et al.* (2014), com o objetivo de caracterizar diversas cultivares espanholas, a ‘Ortanique’ foi descrita como tendo um sumo com boas características organoléticas, elevada concentração de ácido ascórbico e de potássio, e ainda uma elevada capacidade antioxidante.

Do ponto de vista edafo-climático, a ‘Ortanique’ adapta-se bem a climas secos e quentes (Morton, 1987). O seu crescimento e produtividade são ideais em condições de precipitação anual média de 1400-1500 mm e temperaturas médias de 21,1-26,6 °C. A ‘Ortanique’ apresenta ainda tolerância a temperaturas máximas de 35 °C e mínimas de 12,7 °C, e pouca tolerância a situações de excesso de humidade. O período de comercialização desta variedade de “Citrinos do Algarve” situa-se entre fevereiro e abril (CACIAL, 2015; Tomás, 2016).

2.4. Qualidade dos citrinos

2.4.1. Parâmetros de qualidade externa dos citrinos

Existem parâmetros associados à qualidade do fruto, mas que não são necessariamente indicadores do respetivo estado de maturação, embora tenham

importância na avaliação da qualidade do fruto feita pelo consumidor e, portanto, na comercialização dos citrinos. Podem ser facilmente mensuráveis, como o aspeto exterior, o peso ou o tamanho, e são característicos de uma terminada variedade e/ou dependentes de práticas culturais (Ladaniya, 2008)

No caso dos citrinos, também a cor não é um bom indicador do estado de maturação do fruto, sobretudo no que respeita à decisão da colheita. A cor sofre importantes variações ao nível dos países e regiões de cultivo, sendo notoriamente afetada por fatores como a luz e a temperatura (Lado *et al.*, 2014). Verifica-se que não existe uma coordenação entre a maturação da polpa e da casca, sendo fenómenos autónomos e independentes. O *citrus colour index* (CCI), determinado com recurso a um colorímetro (Lado *et al.*, 2014), é um parâmetro utilizado apenas como indicador da necessidade de recorrer ao processo de desverdização por ação do etileno antes de enviar os frutos para comercialização (Vidal *et al.*, 2015). Embora a cor não tenha relação com a palatabilidade, estado de maturação ou sabor dos citrinos, o consumidor espera encontrar no fruto, a sua cor característica e mostra-se relutante em comprar citrinos de casca verde, com exceção de limas e limões (Ladaniya, 2008).

2.4.2. Parâmetros de qualidade interna dos citrinos e a sua determinação padronizada

Na tentativa de prever a qualidade interna de frutos e em particular dos citrinos, importa perceber quais os parâmetros que, ao serem analisados, podem quantificar as características que mais influenciam o consumidor na altura da compra e que este mais aprecia.

A qualidade interna é determinada pelo sabor, pelo aroma, pela cor do sumo e da polpa e pelas sensações percecionadas na boca ao consumir um fruto. Estes são atributos influenciados pela composição química dos frutos: o sabor dos citrinos resulta do balanço entre açúcares e ácidos. A perceção na boca, resulta da viscosidade e da presença de sólidos insolúveis em água enquanto que a firmeza é afetada pela pectina e por sólidos e fibra insolúveis em água (Ladaniya, 2008). Os parâmetros mensuráveis que constituem indicadores de qualidade interna dos citrinos e, conseqüentemente do seu estado de maturação, são o teor de sólidos solúveis (TSS), a acidez titulável (AT), a razão entre estes dois (TSS/AT) que determina o índice de maturação (IM) e, ainda, a firmeza, embora esta última não apresente valores precisos definidos para os “Citrinos do

Algarve”, como se pode ver na Figura 2.2 (Lado *et al.*, 2014; Magwaza e Opara, 2015). Estes parâmetros de qualidade são determinados atualmente de forma padronizada como se descreve abaixo. Em muitos casos, essa determinação implica a destruição do fruto e limita a extensão da amostragem nos pomares, uma vez que são usados processos demorados e que exigem muita mão de obra.

2.4.2.1. Teor de Sólidos Solúveis (TSS)

A percepção de doçura provém da concentração de açúcares presentes num fruto (Magwaza e Opara, 2015). Os açúcares maioritários nas variedades de laranja e pequenos citrinos, são a glucose, frutose e sacarose (Lado *et al.*, 2014). Durante o desenvolvimento do fruto, os açúcares acumulam-se enquanto os ácidos diminuem; ao rácio entre estes compostos, designado como índice de maturação, vai assim sofrendo alterações ao longo do tempo. Se o fruto permanecer na árvore, a concentração de ácidos diminui marcadamente e ocorre uma acumulação de açúcares, perdendo-se assim o típico sabor do fruto, que se torna insípido (Lado *et al.*, 2014).

O TSS compreende maioritariamente açúcares (80-85%), ácidos e pequenas quantidades de vitaminas, fructanos, proteínas, pigmentos, compostos fenólicos e minerais (Magwaza e Opara, 2015). Para medir o TSS, recorre-se frequentemente a um refratómetro que mede o índice refrativo do sumo e o resultado dessa medição expressa-se em ‘‘graus Brix’’ (°Brix) (Magwaza e Opara, 2015). Uma vez que existem outros componentes, para além dos açúcares, a contribuir para o TSS, não é de esperar que este parâmetro esteja sempre em concordância com a doçura sensorial, percecionada pelo consumidor (Magwaza e Opara, 2015), mas continua a ser aceite como um bom indicador da mesma, a nível comercial.

2.4.2.2. Acidez Titulável e Índice de Maturação (IM)

A percepção do sabor é afetada por outros parâmetros, como a acidez, sendo que um TSS elevado pode não estar associado a um sabor particularmente doce uma vez que, como mencionado anteriormente, existem outros compostos que contribuem para o TSS. (Magwaza e Opara, 2015). O ácido cítrico é o ácido predominante nos citrinos, constituindo 80-95 % dos ácidos totais, seguido pelo ácido málico e oxálico (Ladaniya, 2008; Lado *et al.*, 2014). A determinação da acidez titulável (AT) é feita

laboratorialmente mediante titulação de um determinado volume de sumo com uma base forte, 0,1 N NaOH, até se atingir um pH de 8,2 (Ladaniya, 2008).

A razão AT/TSS é utilizada como índice de maturação comercial de citrinos, para consumo em fresco, com exceção de limas e limões (Ladaniya, 2008). Este índice de maturação varia consoante as espécies e variedades de citrinos e com a região onde são cultivados. (Lado *et al.*, 2014)

2.4.2.3. Firmeza

A firmeza dos citrinos é associada ao estado de maturação do fruto, ao conteúdo de pectina e à espessura da casca (Bizzani *et al.*, 2017). Os citrinos são moles, quando comparados com peras e maçãs, e têm componentes viscosos e propriedades elásticas que o consumidor percebe pelo tato (Ladaniya, 2008). Este parâmetro é medido com recurso a um texturómetro, equipado com um disco metálico que é colocado em contacto com o fruto e que o comprime 10 mm à velocidade de 1 mm/s. A firmeza é expressa pela força necessária para comprimir o fruto 10 mm e quanto maior a força aplicada, maior a firmeza do fruto (Ladaniya, 2008). Como se disse acima e estabelecido na Figura 2.2, não há valores quantitativos estabelecidos de forma precisa para as diferentes variedades de “Citrinos do Algarve”. A Norma Europeia que regulamenta a comercialização de Citrinos, também não quantifica a firmeza dos frutos (Comissão Europeia, 2011).

2.4.3. Qualidade na perspetiva do consumidor

A comercialização de todos os frutos é regulamentada por normas específicas e claras, onde são definidos valores mínimos para os diferentes parâmetros de qualidade interna e externa, e que servem de orientação aos produtores e mercados para a colheita e comercialização desses frutos. No entanto, e independentemente desta regulamentação baseada em parâmetros quantitativos e qualitativos, há ainda a considerar a forma subjetiva como o consumidor final avalia a “qualidade” de um fruto. E é esta perceção que irá definir o maior ou menor sucesso comercial e, conseqüentemente, o impacto comercial de um produto.

Assim, o conceito de qualidade pode ser definido como a combinação de atributos ou características determinantes para o grau de aceitação do consumidor, sendo que quanto melhor a qualidade, maior o grau de aceitação por parte deste. Esta perceção da

qualidade é obviamente subjetiva, ou seja, varia de pessoa para pessoa (Ladaniya, 2008) A decisão de compra de um determinado fruto por parte do consumidor é influenciada, normalmente, por atributos externos de qualidade como a aparência, a cor, a forma, o tamanho e a ausência de defeitos externos (Magwaza e Opara, 2015). Todos estes parâmetros são imediatamente visualizados pelo olho humano, levando a que muitos sistemas de qualidade, a nível comercial, sejam baseados nestas características (Sánchez, 2008; Nicolai *et al.*, 2014)

No entanto, a decisão de compras futuras está dependente da satisfação do consumidor que é baseada na perceção de outros parâmetros de qualidade interna, nomeadamente, o sabor, a firmeza, o aroma e a ausência de defeitos internos. Trata-se, portanto, da satisfação do consumidor do ponto de vista organolético ou sensorial que vai para além da visão. Poder-se-á ainda falar noutros atributos, estes mais difíceis de quantificar ou definir, que influenciam o conceito de qualidade por parte do consumidor ao nível mais abstrato e cerebral. Trata-se da frescura do produto, da segurança alimentar, do valor nutricional e das suas propriedades nutracêuticas, da presença de resíduos químicos, do sistema de produção e da conveniência do produto (Nicolai *et al.*, 2014).

2.4.4. Fatores que influenciam a qualidade dos frutos

A qualidade do fruto depende das características da variedade, das condições ambientais das zonas de implantação dos pomares, das práticas culturais aplicadas, e ainda de todos os procedimentos e cuidados observados na colheita e pós-colheita.

Relativamente aos fatores ambientais, temos por exemplo a temperatura, a intensidade luminosa, e ainda as propriedades estruturais, nutricionais e disponibilidade de água no solo (Tadeo *et al.*, 2008). Os “Citrinos do Algarve” crescem e desenvolvem-se numa região com um clima de forte influência mediterrânica. Nestas condições, com verões quentes e secos, e invernos que podem em alguns anos ser severos, com grandes diferenças entre as temperaturas diurnas (máximas) e noturnas (mínimas), o crescimento vegetativo é reduzido, quando comparado com regiões tropicais. Importa notar que os efeitos provocados pelo clima na qualidade dos frutos não podem ser totalmente compensados pelas práticas culturais. Isto pode explicar diferenças de qualidade observadas em frutos da mesma variedade que foram produzidos sob diferentes condições climáticas que se verificam existir por exemplo entre o litoral e o interior da região do Algarve (Lado *et al.*, 2018).

As práticas culturais têm uma grande influência na qualidade dos frutos. Plantações de citrinos de grande densidade propicia menores rendimentos e frutos mais pequenos em virtude do ensombramento das árvores. Os atributos de qualidade externa e interna são também condicionados pela seleção de porta enxertos. O porta enxerto tem um grande efeito no vigor que induz à variedade enxertada bem como à sua tolerância a fatores bióticos e abióticos, o que naturalmente influencia muitos parâmetros de qualidade como o tamanho do fruto, cor da casca e qualidade do sumo. (Tadeo *et al.*, 2008).

O vigor da árvore e a respetiva quantidade de frutos, também afetam a taxa de crescimento e a qualidade do fruto. Por outro lado, a posição do fruto na árvore tem uma influência menos relevante na qualidade do fruto, mas ainda assim, frutos no topo e nas zonas periféricas da copa, pela sua maior exposição à radiação solar podem conter maior concentração de sólidos solúveis e vitamina C (Tadeo *et al.*, 2008).

A nutrição e fertilização também influenciam a qualidade dos frutos, sobretudo o potássio, azoto e fósforo. O potássio é considerado indispensável para a produção de citrinos de boa qualidade, e um determinante do tamanho do fruto, espessura da casca, firmeza e teor de ácidos (Ladaniya, 2008). O azoto também afeta o tamanho do fruto, e a espessura da casca e ainda o teor de sumo, sólidos solúveis, acidez e ácido ascórbico. O fósforo também desempenha papel importante na espessura da casca, teor de ácidos e a sua carência poderá resultar na obtenção de frutos ocos. (Tadeo *et al.*, 2008).

2.5. Medir a qualidade dos frutos de forma mais extensiva e abrangente— métodos não destrutivos

O estilo de vida atual leva a que os consumidores prestem cada vez mais atenção aos atributos de qualidade interna e às suas propriedades nutracêuticas, pelo que os frutos que chegam aos mercados devem ir de encontro a estes requisitos. A espectroscopia do Visível – Infravermelho Próximo (Vis-IVP) tem vindo ao longo de diversos anos a desenvolver-se como uma ferramenta versátil na determinação de parâmetros de qualidade externa e interna em diversos frutos, incluído diversas variedades de citrinos (revisão de Nicolai *et al.*, 2007; Magwaza *et al.*, 2012; Cavaco *et al.*, 2018b). O desenvolvimento de equipamentos apropriados e destinados a essa finalidade, com o aperfeiçoamento de componentes eletrónicos e óticos, e a comercialização de sistemas de custo baixo e médio, contribuiu para a expansão da utilização e aplicabilidade da

espectroscopia Vis-IVP a diversas áreas, e em particular no sector agrícola e alimentar (ver revisão de Porep *et al.*, 2015).

Apesar de ainda apresentarem algumas limitações, referidas mais adiante, os métodos não destrutivos apresentam diversas vantagens para a determinação de parâmetros de qualidade interna dos frutos, nomeadamente de citrinos: não danificam a sua superfície; a rapidez e simplicidade da medição evita a destruição das amostras; não implicam pré-tratamentos complexos ou reações químicas; e apresentam ainda a capacidade de detetar diversos atributos internos simultaneamente (Wang *et al.*, 2015). Na pré-colheita, permitem a análise e monitorização dos frutos ainda nos pomares o que pode contribuir para uma gestão otimizada em termos de colheita, etc. Evita-se a recolha de amostras, transporte e análise laboratorial, poupando-se tempo e dinheiro. Nas centrais fruteiras, têm a vantagem de permitir separar os frutos automaticamente de acordo com parâmetros de qualidade de interesse. Por fim, ao nível da venda, permite uma melhor transparência e competitividade na formação do preço que passa a ser baseado na qualidade interna dos frutos (Sánchez, 2008). Demonstrou-se ainda a sua utilidade na determinação de desordens fisiológicas como é o caso do “*rind breakdown*”, conforme demonstraram Magwaza *et al.* (2014) em ‘Clementina de Nules’ (*Citrus reticulada* Blanco). Em termos práticos, permite a separação dos frutos, canalizando-os para o mercado local, onde são vendidos e consumidos mais rapidamente, ou para exportação onde irão demorar mais tempo até serem consumidos, pois selecionar-se-ão aqueles que têm menor suscetibilidade à desordem.

Estes métodos permitem assim, amostragens mais extensivas dos pomares e um maior controlo da produção, gestão dos recursos e acompanhamento em tempo real da evolução do estado de maturação dos frutos na árvore, bem como da respetiva qualidade, ao longo de toda a cadeia de produção, incluindo a fase de pós-colheita. Estes são pontos cruciais que os tornam ferramentas com elevado potencial no âmbito da agricultura de precisão que, por definição, “*pode ser entendida como a gestão da variabilidade temporal e espacial das parcelas com o objetivo de melhorar o rendimento económico da atividade agrícola, quer pelo aumento da produtividade e/ou qualidade, quer pela redução dos custos de produção, reduzindo também o seu impacte ambiental e risco associado*” (Braga, 2009). Para além das ferramentas abordadas nesta dissertação (Espectroscopia Vis-IVP e georreferenciação) existem outras que estão referidas na literatura com intuito de, por exemplo, avaliar o estado dos solos e das culturas, detetar doenças, infestantes e estimar a produtividade (Usha e Singh, 2013; Lee e Ehsani, 2015).

2.5.1. Espectroscopia de Visível – Infravermelho Próximo (Vis-IVP)

No espectro eletromagnético, a região do Visível situa-se entre os 380 e os 780 nm, enquanto a região infravermelha situa-se a comprimentos de onda superior a 780 nm. Dentro desta região, o infravermelho próximo (IVP) cobre os comprimentos de onda desde os 780 nm até ao 2,5 μm (Porep *et al.*, 2015)

A espectroscopia do infra-vermelho aplica-se a moléculas que têm a capacidade de absorver este tipo de radiação, o que se traduz na vibração das ligações químicas entre os átomos (Figura e Teixeira, 2007). São vários os movimentos possíveis: esticar ou contrair (os átomos de uma ligação aproximam-se ou afastam-se ao longo do eixo da ligação), torcer, balançar para a frente e para trás e ainda o movimento semelhante a uma tesoura a abrir e fechar, em que há alteração dos ângulos das ligações (Burns e Ciurczak, 2007; Figura e Teixeira, 2007). As oscilações básicas das moléculas são chamadas de fundamentais, que resultam da excitação do estado fundamental para o estado excitado de menor energia. Para além destas, ocorrem outras oscilações cuja frequência é múltipla da frequência das oscilações fundamentais e que são chamadas de sobretons ou harmónicos (*overtones*). Pode ainda acontecer que duas frequências vibracionais de uma molécula, quando acopladas/combinadas, deem origem a uma nova frequência de vibração. Se essa nova frequência for passível de ser excitada pela radiação infravermelha, temos o que se designa por bandas de combinação (Pavia *et al.*, 2009).

A absorvância na região do infravermelho próximo, ocorre maioritariamente devido às ligações OH, CH e NH, conforme figura abaixo (Aenugu *et al.*, 2011).

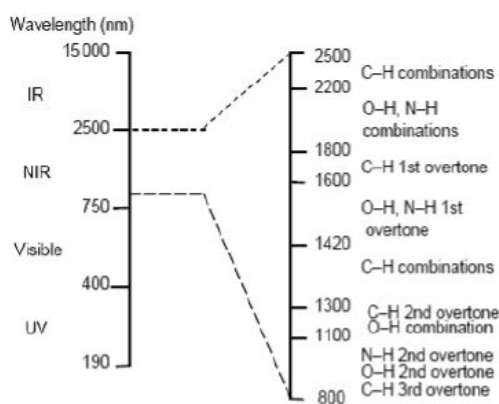


Figura 2.4. Espectro eletromagnético e associação entre comprimentos de onda e ligações químicas. Retirado de Aenugu *et al.* (2011).

De forma geral, a amostra é irradiada com um feixe de luz branca, podendo a radiação ser refletida, absorvida ou transmitida, sendo que a contribuição de cada fenômeno depende da constituição química e física da amostra. O espectro de refletância difusa de IVP é gerado como resultado da interação entre a radiação e o fruto (Figura 2.5), de modo a obter informação acerca da natureza dos grupos funcionais presentes nas moléculas pois, ao penetrar neste, as características espectrais da radiação alteram-se em função de processos de absorção e dispersão (*scattering*) (Nicolai *et al.*, 2007; Aenugu *et al.*, 2011).

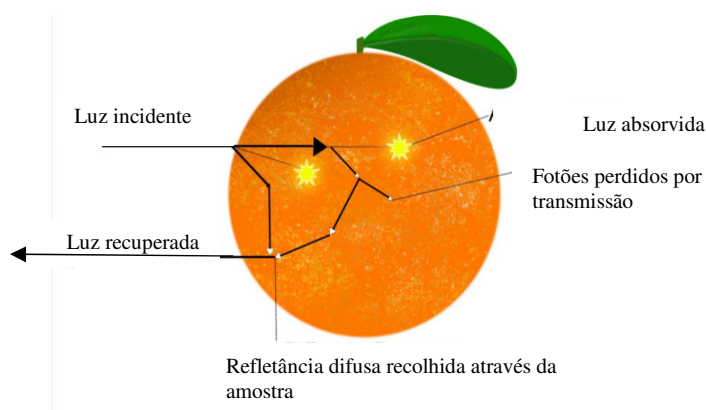


Figura 2.5. Esquema representativo da interação entre a luz e o fruto.

2.5.2 Quimiometria

Os tecidos biológicos são túrbidos na região do IVP (o que quer dizer que a dispersão domina a absorção, impedindo os fótons de seguirem trajetórias lineares), e por isso não é possível aplicar a Lei de Beer-Lambert, que relaciona diretamente a concentração de um composto, que absorve luz num comprimento de onda específico, permitindo assim, a sua quantificação. Isto só é possível em meios transparentes onde se pode excluir a dispersão da luz, não se aplicando, portanto, aos frutos (Porep *et al.*, 2015)

Para construir os modelos de calibração que permitem prever com base na espectroscopia de Vis-IVP um qualquer parâmetro de qualidade de um fruto, é necessário relacionar a informação espectral com os dados que traduzem os parâmetros de qualidade e que são medidos usando um método de referência. Após desenvolvimento e validação, o modelo pode ser utilizado em previsões futuras, para amostras desconhecidas. Através da quimiometria, geram-se modelos que relacionam os dados espectrais e a composição química e propriedade físicas das amostras testadas, através de procedimentos

matemáticos e estatísticos. Antes de abordar os ditos procedimentos, importa referir que os espectros recolhidos necessitam de sofrer uma série de transformações, designadas por pré-processamento, antes de serem utilizados na construção do modelo (Aenugu *et al*, 2011). Estes aspetos são descritos nas secções abaixo.

2.5.2.1 Pré-processamento

Normalmente, o espectro em bruto é submetido a transformações matemáticas antes do processamento final ou construção do modelo de calibração propriamente dito, pelo que se designa de pré-processamento. O objetivo é remover ou minimizar fontes de variabilidade espectral, incluindo o ruído do espetrómetro, variações de temperatura, densidade e tamanho das partículas da amostra, que está potencialmente presente nos dados espectrais, e que iria pôr em causa a qualidade do modelo. Estas fontes de variabilidade provocam efeitos como alterações à linha de base (*baseline*) dos espectros, efeitos multiplicativos e ruído. O pré-processamento não deverá gerar informação, devendo apenas “resgatar” a informação que se remete unicamente ao fruto, eliminando fontes não desejadas de variação presentes no espectro inicial. No entanto, ressalva-se, que o uso incorreto das transformações pode aumentar o risco de perder informação útil (Porep *et al*, 2015; Pasquini, 2018).

Para contornar as alterações da *baseline* dos espectros recorre-se ao *Multiplicative Scatter Correction* (MSC) (Isaksson e Kowalski, 1993; Wang *et al.*, 2015), ao *Standard Normal Variate* (SNV) (Wang *et al.*, 2015) e ao *Local Standard Normal Variate* (LSNV), que é uma variação do SNV, em que o utilizador define a largura de uma janela deslizante ao longo do espectro onde aplica o SNV. No caso de haver espectros sobrepostos ou bandas escondidas, é possível usar métodos baseados em derivações, como é o caso da Spline (de Boor, 1980) do filtro de Savitzky-Golay (Wang *et al.*, 2015) e a derivada de Norris (Norris, 2001; Pasquini, 2018). Nesta fase de pré-processamento também podem ser removidos *outliers*, resultantes de contaminação solar e/ou de deficiente manipulação da sonda utilizada para aquisição dos espectros.

2.5.2.2 Partial Least Squares (PLS)

Efetuada o pré-processamento, pretende-se então construir um modelo matemático que estabeleça uma relação entre os dois conjuntos de dados: espectros e

parâmetros de qualidade determinados segundo métodos padronizados. Para isso recorre-se à estatística multivariada, nomeadamente ao *Partial Least Squares* (PLS) (Wold *et al*, 2001). Existem outros métodos, mas nesta dissertação será apenas abordado este, na medida em que é o mais utilizado para a obtenção dos modelos de calibração, e foi o escolhido no presente estudo.

Os dados espectrais e os dados provenientes do método de referência ou padrão, para os diferentes parâmetros de qualidade, são escritos sob a forma de matrizes, que se designam por X e Y, respetivamente. Cada linha na matriz corresponde a uma amostra e cada coluna a uma variável. Assim, cada linha da matriz X contém um espectro de uma dada amostra. O número de variáveis é muito elevado, pelo que se pretende uma redução desse número, mas que condense a variabilidade essencial de X (espectros) e que preserve a correlação com Y (parâmetro de qualidade obtido destrutivamente). Isso é conseguido através de técnicas de análise multivariada que recorrem ao conceito de variáveis latentes, como é o caso do PLS. Neste tipo de técnicas a maior percentagem da variabilidade é explicada pela primeira variável latente. Esta primeira variável está associada a uma direção, no espaço das variáveis originais, onde se verifica a maior correlação de X com Y (Kumar *et al*, 2017). No entanto, há sempre variância residual não captada pela primeira variável latente e associada a outras direções. Assim, a segunda variável latente é associada a uma direção perpendicular à primeira, na direção que capta o máximo de variação residual. E assim sucessivamente para as variáveis latentes de ordem superior. As direções associadas às variáveis latentes adicionam um novo sistema de eixos, já que são todas perpendiculares entre si. Para exemplificar, consideremos um conjunto de dados em que as amostras são caracterizadas por três variáveis, x, y e z. Podemos imaginar que estas três variáveis definem um sistema de eixos cartesiano habitual, ou seja, a primeira amostra é caracterizada, neste sistema de eixos, pelas coordenadas (x_1, y_1, z_1) , a segunda amostra é caracterizada, neste sistema de eixos, pelas coordenadas (x_2, y_2, z_2) , e assim sucessivamente. De uma forma geral, a direção associada à primeira variável latente, LV1, não vai coincidir com nenhum dos eixos x, y ou z. Como LV2 e LV3 lhe são perpendiculares e perpendiculares entre si, vão definir outro sistema de eixos que se obtém do primeiro através de uma rotação em torno da origem. Também podemos caracterizar cada amostra neste novo sistema de eixos. As coordenadas vão ser diferentes, pois os eixos são diferentes. Assim, as novas coordenadas da amostra 1 serão (LV1₁, LV2₁, LV3₁), as novas coordenadas da amostra 2 serão (LV1₂, LV2₂, LV3₂), e assim sucessivamente. Estas novas coordenadas são chamadas, na literatura, de *scores* (Wold *et*

al., 2001; Dunn,2018). No caso das medições espectroscópicas o número N de variáveis iniciais é da ordem das centenas ou mesmo milhares (isto é, as refletâncias a cada comprimento de onda medidas pelo espectrómetro), em vez das três (x, y e z) do exemplo dado. O PLS, reduz o número de variáveis a, tipicamente, menos de uma dezena de variáveis latentes que conseguem descrever de uma forma compacta a quase totalidade da variância dos dados. A intuição geométrica falha agora, porque não conseguimos representar mais do que três eixos perpendiculares entre si. No entanto a ideia é formalmente a mesma: o sistema original de N eixos num espaço de N dimensões é reduzido a um sistema de Q eixos ($Q \ll N$) e neste sistema as coordenadas das amostras são os *scores*.

O algoritmo do PLS envolve a construção de várias matrizes. Além da matriz X inicial, envolve também as matrizes dos *scores*, dos *weights* e dos *loadings*; e ainda o vetor de regressão. Consideremos então a matriz X de dimensão n amostras por m variáveis. Esta é substituída pela matriz T, que condensa os *scores*, composta por n amostras e A variáveis latentes, sendo que $A \ll m$. Cada *score* t é igual à matriz X multiplicada por w (de *weights*), que são os “projetores” de X nas novas variáveis latentes. Assim, a matriz W tem as dimensões de m amostras e A variáveis latentes.

Para ser definida, cada variável latente “recebe” um contributo de cada variável antiga, ou seja, a refletância a cada comprimento de onda, constituindo uma matriz P com m amostras e, mais uma vez, A variáveis latentes. Por fim, e efetuada a regressão, é obtido um vetor b , de tamanho 1 por m amostras, que contém os coeficientes de regressão e que permite prever o valor de Y (ou seja, o atributo de qualidade) de uma amostra desconhecida, a partir de um qualquer X (quaisquer novos espetros) (Dunn, 2018).

2.5.2.3. Robustez e precisão dos modelos de previsão

Após obtenção da equação matemática do modelo de calibração através do PLS, a sua capacidade preditiva face a novas amostras deve ser avaliada, o que pode ser conseguido de duas formas. i) Através da validação interna, em que as amostras a prever são provenientes do mesmo pomar e do mesmo ano, sem que tenham sido incluídas no conjunto de calibração. Ou ii) Por validação externa, situação em que o modelo é utilizado em frutos, da mesma variedade, mas que podem ser provenientes de outros pomares e outras épocas de cultivo.

Nicolai *et al.* (2007) definem que um modelo de calibração é robusto quando a sua precisão de previsão é relativamente insensível face a alterações desconhecidas de fatores externos. Dito de outra forma, um modelo de calibração robusto mantém-se válido para previsões futuras de outras amostras, independentes daquelas que foram usadas para a construção do modelo, de diferentes anos de colheita e/ou origem geográfica. A validade do modelo de calibração para previsões futuras depende significativamente da qualidade e variabilidade incluídas no conjunto de calibração, representando assim, as novas amostras a serem testadas (Sánchez, 2008).

O desempenho dos modelos é afetado por fatores como a idade da árvore, a quantidade de frutos na árvore, a posição do fruto na copa e conseqüentemente a quantidade de luz a que está exposto, a localização da árvore no pomar, variabilidade inerente ao próprio pomar (localização, tipo de solo onde está implantado, etc.) e a variabilidade sazonal (Nicolai *et al.*, 2007). Diferentes condições de crescimento podem resultar em diferenças nos frutos a nível físico-químico, e conseqüentemente em alterações óticas, especificamente ao nível das respetivas bandas espectrais (Magwaza *et al.*, 2012).

A precisão dos modelos é avaliada através de vários parâmetros estatísticos e que estão compilados na Tabela 2.1. Os símbolos usados são os seguintes:

y_i – valores medidos para os parâmetros de qualidade pelos métodos clássicos

z_i – valores previstos para os parâmetros de qualidade pelos modelos de PLS.

n – é o número total de amostras previstas

i – é o índice da amostra: $i=1, \dots, n$.

\bar{y}_i, \bar{z}_i – valores médios dos y_i e z_i respetivamente.

σ_y – é o desvio padrão associado aos y_i .

σ_z – é o desvio padrão associado aos z_i .

\sum – todas as somas são feitas no conjunto das amostras que foram previstas, $\sum(\dots) \equiv \sum_{i=1}^n(\dots)$

Tabela 2.1 - Equação e definição dos parâmetros estatísticos utilizados na avaliação da precisão e robustez dos modelos de calibração de Vis-IVP (Nicolai *et al.*, 2007).

Parâmetro	Equação	Significado
Coeficiente de correlação (R)	$R = \frac{\sum(y_i - \bar{y}_i)(z_i - \bar{z}_i)}{(n - 1)\sigma_y\sigma_z}$	Medida da força da relação, normalmente linear entre duas variáveis.
Coeficiente de determinação (R ²)	R^2	Fração da variância dentro dos valores previstos, explicada pelo modelo de calibração.
Erro da validação cruzada (RMSECV – <i>Root mean square error of cross-validation</i>)	$\text{RMSEC}(\text{CV}, \text{C}, \text{P}) = \sqrt{\frac{\sum(y_i - z_i)^2}{n}}$	Neste caso y_i e z_i referem-se às amostras deixadas de fora do conjunto de calibração durante a validação cruzada.
Erro da calibração (RMSEC – <i>Root mean square error of calibration</i>)		Neste caso y_i e z_i referem-se à totalidade das amostras. Após a calibração do modelo (por validação cruzada), este é aplicado a todas as amostras para se obter o RMSEC.
Erro de previsão (RMSEP – <i>Root mean square error of prediction</i>)		Neste caso y_i e z_i referem-se às amostras de validação, ou seja, amostras que não entraram no processo de validação cruzada.
SDR (<i>Standard deviation ratio</i>)	$\text{SDR} = \frac{\sigma_y}{\text{RMSEP}}$	Razão entre desvio padrão dos dados obtidos destrutivamente e RMSEP.
Viés (<i>Bias</i>)	$\text{Viés} = \sum_{i=1}^n \frac{(y_i - z_i)}{n}$	Medida da diferença entre a média ou valor esperado da distribuição dos valores previstos e o valor médio obtido pelo método de referência.
Coeficiente de variação (% cv)	$\% \text{CV} = \frac{\text{RMSEP}}{\bar{y}} \times 100$	Erro da previsão, calibração ou validação cruzada a dividir pela média do parâmetro, expresso em percentagem.
Resolução (% res)	$\% \text{RES} = \frac{\text{RMSEP}}{\max(z) - \min(z)} \times 100$	Erro da previsão, calibração ou validação cruzada a dividir pela gama de valores do parâmetro, expresso em percentagem.

Idealmente, um modelo tem uma boa capacidade de previsão quando apresenta valores baixos de RMSECV, RMSEC, RMSEP e enviesamento. Por outro lado, a variância explicada (R^2) e o coeficiente de correlação (R) deverão ser elevados. Também deverão existir pequenas diferenças entre RMSEC e RMSEP (Magwaza *et al.*, 2012).

Apesar das vantagens destes métodos relativamente aos métodos padrão em vigor, e que em muitos casos, implicam a destruição dos frutos, apresentados no início desta secção, há algumas limitações da sua aplicabilidade nas rotinas diárias de gestão dos pomares. Para além da manipulação destes equipamentos ainda requererem uma formação especializada, e do preço de mercado ainda ser nalguns casos, incomportável para muitos produtores e/ou cooperativas, algumas das limitações estão, como se percebe pelo descrito anteriormente, relacionadas com as diversas fases necessárias à construção dos modelos. São de esperar previsões fracas quando o conjunto de calibração é composto por amostras com pouca variabilidade. Um conjunto de calibração de tamanho ótimo, deve ser composto por amostras que cubram uma gama muito alargada de variação do parâmetro a medir. Além disso, as amostras devem distribuir-se homoganeamente dentro dessa gama (Kumar *et al.*, 2017).

3. Procedimento experimental

3.1. Frutos: Localização e caracterização dos pomares

O estudo decorreu em dois pomares localizados em Vale Judeu (Loulé) (37°7'8,52"N, 8°6'56,19"W) e em Gambelas (Faro) (37°3'24,22"N, 7°58'7,19"W) com características distintas. De acordo com a informação prestada pela CACIAL (Cooperativa Agrícola de Citricultores do Algarve, C. R. L., Vale da Venda, 8001-902 Faro), que efetua o acompanhamento técnico e gestão dos pomares, o solo do pomar de Gambelas tem textura franco-arenosa e é não calcário, enquanto que o pomar de Vale Judeu apresenta solo com textura franco-argilosa e é pouco calcário. Em comum, estes pomares apresentam solo com salinidade nula, matéria orgânica muito baixa e o pH é pouco alcalino. O compasso de plantação no pomar de Gambelas é de 6x3x3 e no de Vale Judeu é de 5x3.



Figura 3.1. Mapas do pomar localizado em Vale do Judeu.



Figura 3.2. Mapa do pomar localizado na localidade de Biogal (Gambelas).

3.2. Período em que decorreram as amostragens

Importa, antes de mais, referir que a amostragem decorreu segundo o calendário abaixo indicado (Tabela 3.1), que se reporta ao período comercial para a cultivar em questão, da época de colheita 2016/2017. Efetuaram-se amostragens em 28 de novembro de 2016, 24 de janeiro, 15 de fevereiro, 14 de março e 9 maio do ano de 2017, totalizando assim 125 frutos por cada pomar.

Colheram-se os frutos de 25 árvores geo-referenciadas em cada um desses pomares, previamente marcadas de modo a cobrir o máximo de espaço na parcela, conforme consta das figuras 3.1 e 3.2.

Tabela 3.1. Calendário de comercialização de ‘Ortanique’. (adaptado do Calendário de Comercialização Citrinos, CACIAL. Consultado em 11-07-2017 no link <http://cacial.com/calendario-de-comercializacao-de-citrinos/>. A cor roxa indica o início da avaliação antes do período comercial enquanto que a cor amarela indica o período comercial.

	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago
Algarve Citrus												
‘Ortanique’												

3.3. Métodos não destrutivos: Espectroscopia – aquisição de espectros com o fruto na árvore

Efetuarão-se medições espectrométricas, no mesmo dia para ambos os pomares, utilizando um sistema de Vis-IVP portátil (Jaz, Ocean Optics, EUA), abrangendo a gama de 680-1100 nm. O sistema é composto por um espectrómetro, uma fonte de luz de tungsténio e uma sonda de interactância customizada com fibra ótica bifurcada. Esta sonda de interactância é constituída por uma fibra recetora central, ligada ao espectrómetro e seis fibras emissoras - ligadas à fonte de luz - que se distribuem num círculo de 5 mm à volta da fibra recetora. Como referência absoluta, utilizou-se um disco Spectralon com a superfície branca (WS-1, Ocean Optics, EUA) e como referência auxiliar recorreu-se a um disco de Teflon branco (Cavaco *et al.*, 2018b). Na prática, verificou-se posteriormente que a utilização da referência auxiliar é desnecessária pois piora os resultados, pelo que não se consideraram no tratamento dos resultados.

Recolherão-se os espectros de refletância difusa dos frutos na árvore, em condições de campo e na escuridão, providenciada por um copo de alumínio adaptado para o efeito (ver Figuras 3.3 e 3.4). Cada espectro é o resultado da média de 40 *scans* e de um tempo de integração conveniente para se ter uma razão de sinal/ruído adequada. Para a aquisição dos espectros utilizou-se um software específico (Spectra Suite, Ocean Optics, EUA) (Cavaco *et al.*, 2018b).

As Figuras 3.3 e 3.4 reportam-se ao sistema e ao protocolo seguido. Assim, o espectro é adquirido sensivelmente na zona equatorial do fruto.



Figura 3.3. Montagem experimental para aquisição dos espectros: a) Referência principal e referência auxiliar; b) modo de efetuar a referência principal; c) detalhe da sonda de interatância; d) Espectrómetro Jaz (Ocean Optics, EUA)

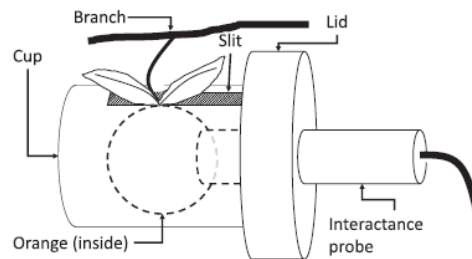


Figura 3.4. Modo de aquisição dos espectros: detalhe da utilização da sonda em condições de escuridão. O fruto fica protegido dentro do recipiente de alumínio, de acordo com o descrito por Cavaco *et al.* (2018b) e apresentado na figura da direita.

Antes de cada medição, registou-se a temperatura de cada fruto (termómetro Fluke FoodPro Plus, E.U.A.) e mediu-se a radiação fotossinteticamente ativa – PAR (Quantum meter, model MQ-200, Apogee Instruments, E.U.A) em espaço aberto, na entrelinha e junto à folhagem. De referir que esta medição foi efetuada à chegada e à saída do pomar, após término da aquisição dos espectros. Escolheram-se os frutos aleatoriamente, localizados ao nível do olhar da copa de cada árvore marcada.

Na literatura, constam apenas alguns estudos efetuados com espectrômetros portáteis, efetuando medições com os frutos na árvore (*on-tree*), para o desenvolvimento de modelos universais para a previsão dos parâmetros de qualidade externa (Torres *et al.*, 2017) e interna (Sánchez *et al.*, 2013). Cayuela e Weiland (2010) e Antonucci *et al.* (2011) testaram espectrômetros portáteis para prever a qualidade de laranjas intatas, contudo a aquisição dos espectros foi efetuada em laboratório e não em condições de campo. Cavaco *et al.* (2018b) publicou um estudo em que se utiliza um sistema portátil customizado e de gama de comprimentos de onda mais baixa, mas que permitiu a construção de modelos de qualidade mediana para diversos parâmetros de qualidade interna de laranja ‘Newhall’.

Os espectros aqui representados foram recolhidos no pomar de Gambelas, no dia 09-05-2017 e são suficientes para demonstrar os procedimentos seguidos quando se trata de medições feitas no campo, em condições de ambiente não controlado, ao contrário das efetuadas em ambiente laboratorial. Cavaco *et al.* (2018a) demonstraram de forma sistemática, algumas das questões que têm de ser acauteladas, quando da utilização do Vis-IVP em condições de campo e em frutos na árvore.

A figura 3.5, abaixo, mostra os espectros de 25 laranjas representando as contagens em bruto em função do comprimento de onda.

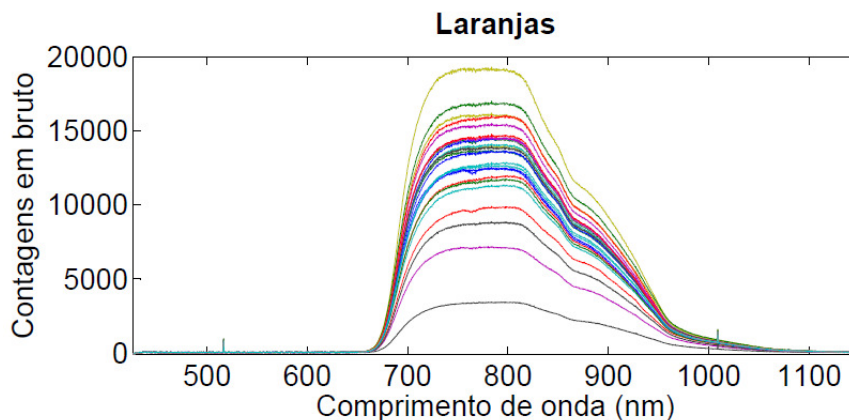


Figura 3.5. Espectro de 25 laranjas, representados em contagens em bruto.

Antes de prosseguir, é necessário explicar o modo de funcionamento do espectrômetro para explicar o que são contagens e em que diferem da refletância. A refletância (R) é calculada pela equação $R = \frac{A-D}{Ref-D}$ em que A são as contagens das

amostras (fruto), D as contagens escuras e Ref as contagens da referência principal. Recordando os procedimentos para obtenção dos espectros, a luz incide no fruto conduzida pela fibra que a emite, interage com os tecidos e regressa ao espectrometro pelas fibras que recolhem a luz que foi refletida. O espectrómetro utilizado está aquipado com um sensor CCD (*Charged-coupled device*) linear, com 1024 pixeis que recebe os fotões vindos do fruto e converte-os em electrões que se vão acumulando no pixel durante o tempo de integração (Duke University, 2018).

Sucede que nem todos os fotões serão convertidos em electrões. A eficiência quântica refere-se à percentagem de fotões que são efectivamente detectados e esta varia com o comprimento de onda. Importa agora medir a carga que ficou “depositada” em cada pixel. Através de um amplificador, a carga em cada pixel é medida, convertida em voltagem (Mullard Space Science Laboratory, 2018) e discretizada em 16 bits ($2^{16} = 65\,536$), que correspondem às contagens devolvidas pelo instrumento.

Um maior número de contagens significará que foram recuperados mais fotões que, conseqüentemente, foram convertidos em electrões, sobretudo entre 700 e 800 nm. Pelo contrário, menores contagens significam que mais fotões foram absorvidos, na casca e/ou polpa, resultando numa menor reflectância difusa e numa menor recuperação de fotões provenientes dos frutos.

A referência principal é efetuada com um disco branco designado por Spectralon (WS-1, Ocean Optics, USA) e o espectro resultante é o que consta na figura 3.6. Em termos práticos é mais demorada e é sempre efetuada antes de se dar início à aquisição dos espectros.

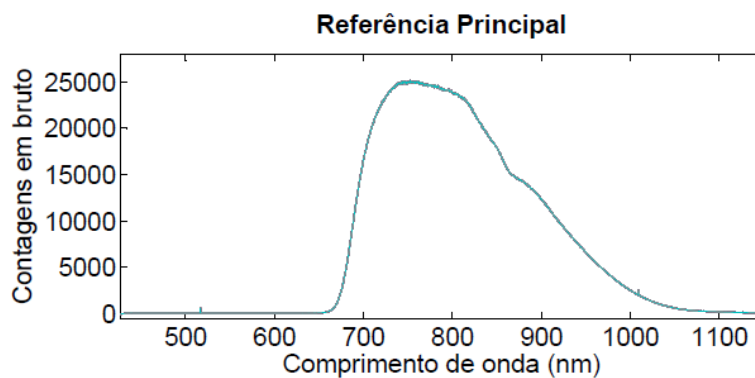


Figura 3.6. Representação das contagens em bruto da referência principal.

Os electrões que se acumulam dentro de cada pixel durante o tempo de aquisição dos espectros não provêm apenas dos fotões que incidem nos pixéis, originários dos frutos.

Existem alguns elétrons que resultam do ruído térmico gerado pelo funcionamento do espectrómetro. Se a temperatura aumentar muito, poderá causar a saturação do pixel, ou seja, existe um forte contributo de elétrons provenientes do ruído térmico. Em condições de campo, em especial na Primavera-Verão, o aquecimento do espectrómetro leva à saturação dos espectros e conseqüentemente à necessidade de desligar o aparelho, aguardar que arrefeça e que a luz estabilize, após ser ligado novamente.

Assim, o espectro abaixo (figura 3.7) resultou da medição do *dark* (ou contagens escuras) para que seja possível ter em conta os elétrons que não são resultado da interação luz-fruto, descontando o seu contributo na medição. Numa medição habitual, fecha-se o diafragma (também designado por *shutter*) durante esta medição, contudo este procedimento pode ser simplificado conforme se descreve de seguida.

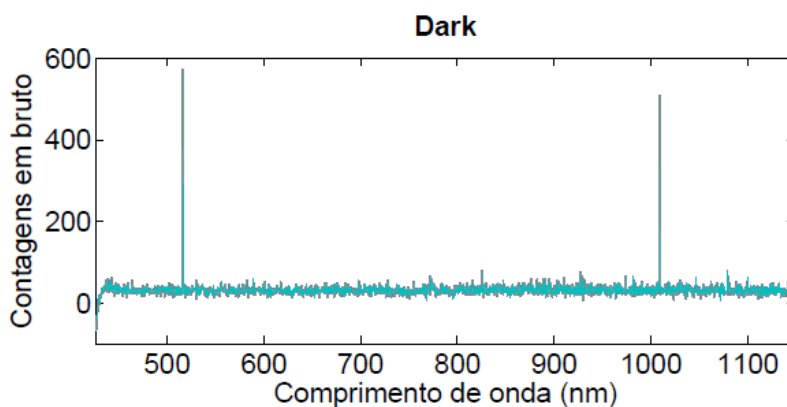


Figura 3.7. Exemplo de um espectro de contagens escuras (*dark*). Observam-se dois pixéis “quentes”, ou seja, que têm contagens muito acima dos restantes.

O espectrómetro utilizado para a aquisição dos espectros dos frutos foi customizado à medida das necessidades do utilizador, conforme referido por Cavaco *et al.* (2018a). Uma característica importante é o facto do sensor CCD ter pixéis “cegos”, graças a um filtro que previne que a luz os atinja. Assim, estes pixéis vão contabilizar os elétrons gerados pelo ruído do aparelho e não pelos fótons provenientes do fruto, sendo que esta contabilização é efetuada numa só medida, ou seja, aquando da aquisição do espectro do fruto. Poder-se-á assim denominar de *autodark*, dado que o ruído escuro é automaticamente medido quando se mede a amostra. Os valores médios resultantes dos pixéis “cegos” foram subtraídos aos valores reportados pelos restantes pixéis do sensor do espectrómetro, o que corresponde efetivamente à subtração da corrente escura.

Importa discutir a importância de medidas auxiliares, como é o caso da referência auxiliar e o papel do *dark* e do *autodark* em todo o procedimento efetuado no campo. A

figura 3.8 mostra os espectros de refletância de 25 frutos, denominada por refletância direta pois mostra o espectro obtido pelo aparelho, mas sem a subtração da informação reportada pelos pixels "cegos". Neste caso a refletância é calculada pelo espectrômetro com base num espectro escuro medido no início das medições. De notar que a subtração dos pixels não é efetuada automaticamente pelo aparelho, mas sim posteriormente aquando do tratamento dos dados.

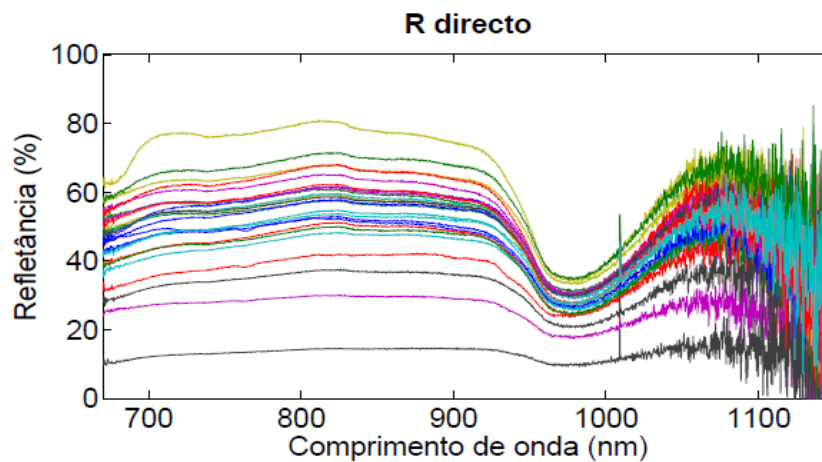


Figura 3.8. Refletância direta de 25 laranjas

Concretizando-se a subtração dos valores reportados pelo *autodark*, obtém-se o espectro de refletância compensado com o *autodark* (R compensado). Poder-se-á dizer que à primeira vista não há grande alteração, mas o efeito essencial é o reajuste dos níveis, que é importante para a consistência dos resultados. Adicionalmente, é clara a eliminação do efeito do pixel "quente" aos 1010 nm (assim designado por apresentar sistematicamente valores bastante acima dos pixels vizinhos) e na ligeira redução da gama em que se verifica mais ruído. No espectro direto essa zona começa pelos 1010 nm, enquanto no espectro compensado começa um pouco mais tarde, pelos 1030 nm. conforme se pode verificar na figura 3.9.

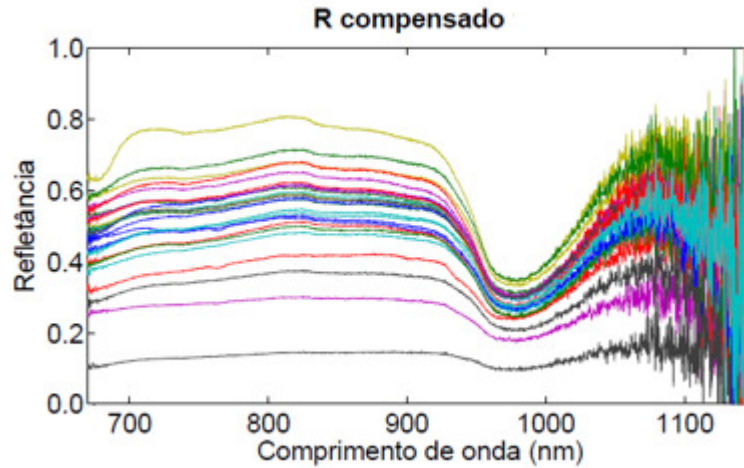


Figura 3.9. Refletância compensada, após subtração do *autodark*.

Em conclusão, o processo do *autodark* tem a grande vantagem de não requerer uma medida adicional de ruído escuro e permitir a utilização do espectro *dark* mais adequado a cada espectro individual do fruto.

3.4. Análise padronizada: determinação dos parâmetros de qualidade

Após aquisição dos espectros nos pomares, numeração e recolha dos frutos submetidos à medição espectroscópica, deu-se continuidade à avaliação dos frutos no laboratório, neste caso com a determinação padronizada dos parâmetros de qualidade.

Pesaram-se os frutos numa balança digital RADWAG PS 3500.R2 (Radwag Balances and Scales, Radom, Polónia) e mediu-se o diâmetro equatorial máximo (craveira digital Dexter, Leroy Merlin, Lille, França). Determinou-se a firmeza pela compressão do fruto com um texturómetro digital Chatillon Force TCD200, Digital Force Gauge Dfis50 (Chatillon, EUA) equipado com um disco de 65 mm de diâmetro, com uma velocidade de 1 mm/s para comprimir o fruto 10 mm a partir do ponto de contacto.

De seguida, espremeram-se os frutos individualmente num espremedor automático e determinou-se a percentagem total de sumo (% m/m). Utilizou-se uma fração do sumo para a determinação do teor de sólidos solúveis (TSS), com um refratómetro digital (Atago Co. Ltd., Tóquio, Japão).

Para a determinação da acidez titulável (AT), titulou-se 5 mL de sumo de laranja diluído de forma adequada com água destilada com 0.1 N NaOH até ao pH de 8,2, recorrendo a um titulador automático (TitroLine® 6000, SI Analytics GmbH, Alemanha).

Por fim, determinou-se o Índice de Maturação (IM), através do cálculo da razão TSS/AT.

3.5. Análises bioquímicas

No decurso das análises destrutivas descritas na secção anterior, procedeu-se à recolha de amostras de sumo para posterior quantificação enzimática de glúcidos solúveis (glucose, frutose e sacarose) e ácido L-ascórbico. Estas amostras de sumo foram imediatamente congeladas em azoto líquido e mantidas a -80 °C até utilização. Pretendeu-se assim efetuar uma análise mais abrangente, não só do ponto de vista nutricional, mas também da evolução da maturação, perspetivando-se encontrar uma relação destes compostos determinantes da qualidade dos frutos com os espectros.

Foram utilizados os Kits K-SUFRG - Sucrose/D-Fructose/D- Glucose para glúcidos solúveis e K-ASCO para ácido L-Ascórbico, todos da Megazyme® (Megazyme International Ireland Limited, Irlanda).

3.6. Provas organoléticas

Realizaram-se provas organoléticas de frutos colhidos para o efeito das árvores marcadas para este estudo, no mesmo dia da recolha. As provas efetuaram-se no mesmo período em que, conforme informação cedida pela cooperativa, os frutos foram colhidos para seguirem para o circuito comercial. Foram avaliados por um painel semi-treinado com 22 provadores. Os parâmetros analisados foram a aparência do fruto, a aparência da polpa, aroma, textura, doçura, acidez e sabor em geral e foram classificados de acordo com as seguintes opções: (1) não gosto definitivamente, (2) não gosto, (3) não gosto ligeiramente, (4) não gosto nem desgosto, (5) gosto ligeiramente, gosto (6) e gosto definitivamente (7).

3.7. Análise de dados

Analisou-se o efeito do tempo e do pomar na evolução dos parâmetros de qualidade resultantes da aplicação dos métodos padronizados e das análises bioquímicas, através de uma análise ANOVA de medidas repetidas, em cada pomar ao longo do tempo (SPSS 24, IBM SPSS Inc., NY, E.U.A.). Efetuou-se um teste t-Student para análise comparativa das médias dos referidos parâmetros. A análise comparativa dos resultados

obtidos nas provas organoléticas, para os dois pomares avaliados foi efetuada através do teste não-paramétrico de Mann-Whintney (SPSS 24, IBM SPSS Inc., NY, E.U.A).

Uma vez que as árvores do pomar foram geo-referenciadas, foram construídos mapas da evolução dos parâmetros obtidos destrutivamente com recurso ao programa de Matlab R2014a (The MathWorks, Inc., Natick, MA, E.U.A). A partir das coordenadas de cada árvore construiu-se uma matriz a que se fez corresponder os valores dos parâmetros obtidos através das análises padronizadas.

Nas subsecções seguintes, descrevem-se os passos necessários com vista à construção dos modelos de calibração baseados na espectroscopia de Vis - IVP para a previsão não destrutiva dos diversos parâmetros de qualidade.

3.7.1. Construção de modelos de calibração para previsão de atributos de qualidade

Pretendeu-se construir modelos de previsão de diversos indicadores de qualidade a partir de espectros de refletância, nomeadamente para TSS (°Brix), AT, IM e firmeza (F). Para além destes parâmetros, tentou-se ainda construir modelos para os teores de glucose, frutose, sacarose, açúcares totais e ácido ascórbico.

Para a construção dos modelos, recorreu-se a técnicas de análise estatística multivariada, especificamente de quimiometria, que engloba técnicas de análise especialmente adaptadas à quantificação em espectroscopia. O método fundamental empregue neste trabalho foi o PLS (*Partial Least Squares*). Os cálculos foram efetuados em Matlab R2014a (The MathWorks, Inc., Natick, MA, E.U.A.) (Wold *et al.*, 2001). Para implementar alguns dos filtros, utilizou-se o PLS Toolbox for MATLAB (Eigenvector Research, Manson, WA, USA).

3.7.2. Eliminação de outliers e pré-processamento

Durante aquisição dos espectros, conforme o esquema da figura 3.4 pode nalguns casos ocorrer entrada de luz por má colocação da tampa que protege o fruto no interior do copo. Os espectros defeituosos identificaram-se por uma anomalia por volta dos 760-765 nm, visualmente identificada por um “poço” e que é induzida pela absorção do oxigénio molecular (banda A telúrica do espectro solar). Removeram-se 15 espectros adquiridos no pomar de Vale Judeu e 7 espectros respeitantes ao pomar de Gambelas.

O pré-processamento incluiu a eliminação de comprimentos de onda abaixo de 700 nm para evitar informação proveniente do pico da clorofila (aos 680 nm). O rácio entre o teor de clorofila e de carotenóides nos frutos, responsável pela cor verde ou laranja, não é um bom indicador de parâmetros de qualidade de citrinos (Lado *et al.*, 2014). Com esta exclusão, evitou-se que os modelos de previsão sejam construídos com o contributo dos comprimentos de onda da clorofila, que apresentariam assim uma boa correlação entre o atributo cor da casca e o espectro medido. Submeteram-se os espectros a diversas transformações, que incluem suavizações como é o caso da SNV, LSNV e MSC, derivações (Norris, Savtzy-Golay, Spline) e standardizações (de Boor, 1980; Isaksson e Kowalski, 1993, Hopkins, 2001; Norris, 2001; Wang *et al.*, 2015).

3.7.3. Calibração e Validação dos modelos de previsão dos atributos de qualidade de ‘Ortanique’

Um modelo de previsão deve ser sempre validado por um conjunto de amostras independentes, ou seja, as amostras usadas para construir o modelo não podem ser usadas para uma validação rigorosa (Nicolai *et al.*, 2007). Nesta perspetiva há duas abordagens principais. A abordagem mais comum é tomar o universo de todas as amostras disponíveis e seleccionar, de forma aleatória, uma fração das amostras para calibração (para construir o modelo) e outra para validação. Geralmente escolhe-se a proporção 80% calibração – 20% validação. Desta forma as amostras nos dois conjuntos são distintas, mas homogéneas porque foram retiradas a partir do mesmo universo. Neste trabalho chamamos a este processo, validação interna, precisamente por causa do fator de homogeneidade entre conjuntos de calibração e validação.

No entanto este tipo de validação não é realista tendo em conta uma aplicação real. Por exemplo, se se construir um modelo em 2018, como será validado pelos dados de 2019? As amostras de 2019 e 2018 terão necessariamente algum grau de heterogeneidade entre si. Portanto, usar os dados de 2018 para construir o modelo (conjunto de calibração) e validá-los no ano seguinte, com os dados de 2019 (conjunto de validação), constitui uma validação muito mais exigente, precisamente por causa do fator de heterogeneidade. Neste trabalho chamamos a este processo validação externa. Em resumo, no contexto da validação interna, as amostras dos dois anos seriam misturadas e que tanto o conjunto de calibração como o de validação conteriam amostras dos dois anos, enquanto na validação externa se usa os dados de um ano na construção do modelo e os de outro ano na validação

do mesmo. No nosso caso a validação externa não provém de anos diferentes, mas de pomares diferentes.

A construção dos modelos de calibração (usando apenas as amostras de calibração) requer, por sua vez, processos de validação cruzada. A validação cruzada consiste em dividir de o conjunto de calibração em calibração e validação, a que vamos chamar, para maior exatidão da descrição, de conjunto de calibração cruzada e conjunto de validação cruzada, conforme representado na figura 3.10 (Cavaco *et al.*, 2018b). E também aqui a proporção habitual é 80% para o primeiro e 20% para o segundo.

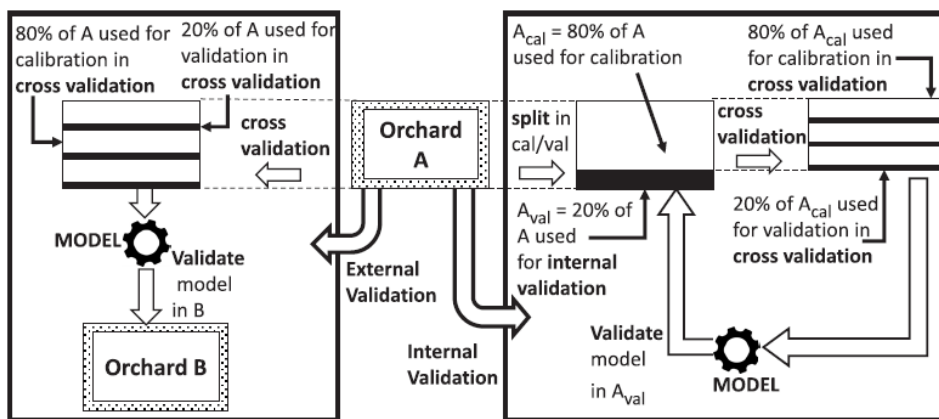


Figura 3.10 - Esquema explicativo dos procedimentos associados à validação cruzada, interna, externa dos modelos (Cavaco *et al.*, 2018b)

Modelos de complexidade crescente são construídos a partir das amostras de calibração cruzada e testados/validados com as amostras de validação cruzada (ou seja, cada modelo gera as previsões para as amostras de validação cruzada e calcula-se de seguida o seu erro de previsão). De seguida escolhem-se outros 20% das amostras para validação cruzada (e os restantes 80% para calibração cruzada), recalculam-se os modelos e os respetivos erros de previsão. E assim sucessivamente até que todas as amostras do conjunto de calibração tenham feito parte de um dos conjuntos de validação cruzada, situação esta que foi alcançada pela adoção de um esquema de “janelas venezianas” (*Venetian Blinds*). Este procedimento implicou a normalização e a pré-ordenação dos conjuntos para assegurar que a gama das amostras do conjunto de calibração englobasse as amostras do conjunto de validação cruzada. Garantiu-se assim que amostras com valores extremos (quer mínimos quer máximos) figurassem nos sucessivos conjuntos de calibração cruzada.

Pode então calcular-se o erro de validação cruzada (RMSECV), para todas as amostras e todos os modelos testados. A normalização dos erros de previsão da calibração cruzada permitiu a deteção de *outliers*, ou seja, amostras com um desvio de zero superior a 3σ foram eliminadas da matriz de dados. O ciclo foi repetido até à eliminação de *outliers*. O modelo com menor erro de previsão será, em princípio, aquele que tem o grau adequado de complexidade para prever outras amostras. No caso do PLS, é o modelo com o número ideal de variáveis latentes.

Só depois do modelo ter sido construído com base no processo de validação cruzada é que então é usado na validação, quer interna, quer externa, nos moldes constantes da tabela 3.2.

Tabela 3.2. Tabela esquemática de validação interna e validação externa

Validação interna		Validação externa	
Calibração com...	Validação com...	Calibração com...	Validação com...
G (80%)	G (20%)	G (100%)	VJ (100%)
VJ (80%)	VJ (20%)	VJ (100%)	G (100 %)
G + VJ (80%)	G + VJ (20%)	-	-

G – Frutos do pomar de Gambelas; VJ – Frutos do pomar de Vale Judeu; G+VJ – Frutos de ambos os pomares

3.7.4. Avaliação dos modelos: análise estatística

Obtidos os modelos, pode avaliar-se o seu desempenho através dos parâmetros estatísticos (Nicolai *et al.*, 2007; Cavaco *et al.*, 2018b) que constam na tabela 2.1 da Secção 2.5.2.3., e ainda os abaixo indicados.

- % OK – percentagem de amostras corretamente colocadas abaixo ou acima da média da população;
- % TN – percentagem de amostras colocadas abaixo da média da população;
- %TP – percentagem de amostras colocadas acima da média da população;

4. Resultados e Discussão

4.1. Análise comparativa dos pomares de Gambelas e Vale Judeu: parâmetros de qualidade obtidos de acordo com os métodos padrão

A determinação padronizada dos parâmetros de qualidade dos frutos recolhidos entre dezembro de 2016 e maio de 2017, necessária para a construção dos modelos de calibração não destrutivos de Vis-IVP, resultou num conjunto de dados que permite efetuar *per se*, a sua caracterização ao longo do tempo nos pomares de Gambelas e Vale Judeu. Assim, nesta secção comparam-se diversos parâmetros de qualidade, alguns deles presentes na norma IGP “Citrinos do Algarve” (Fig. 2.2).

O crescimento dos citrinos traduz-se em três fases bem definidas (I, II e III), conforme representado na Figura 4.1.

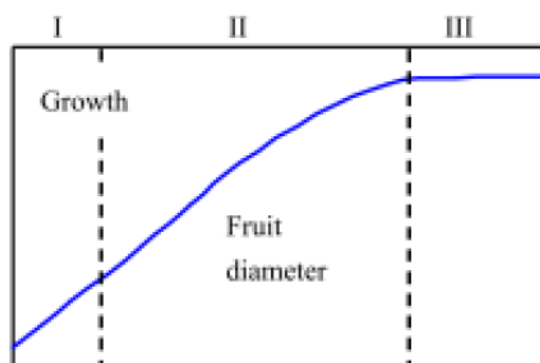


Figura 4.1. Evolução esquemática do crescimento de um citrino (Iglesias *et al.*, 2015)

De forma resumida, a fase I caracteriza-se por um rápido crescimento do fruto provocado pela intensa divisão celular nos tecidos em desenvolvimento e ocorre até à queda de junho. Na fase II, período de duração variável de acordo com as variedades de citrinos (consoante temporãs ou serôdias), ocorre evidente expansão dos tecidos. O aumento do tamanho do fruto é devido, principalmente ao aumento das vesículas de sumo. Por último, a fase III caracteriza-se por uma reduzida taxa de crescimento enquanto o fruto se mantém na árvore e compreende todas as alterações associadas à maturação. O teor de sólidos solúveis aumenta enquanto que o dos ácidos diminuem progressivamente, podendo ocorrer também uma diminuição da percentagem de sumo (Bain, 1957; Agustí, 2010).

A análise de qualidade efetuada de acordo com os métodos padronizados, decorreu em 28/11/2016 (tempo 0), 24/01/2017 (57 dias), 15/02/2017 (79 dias), 14/03/2017 (106 dias) e 09/05/2017 (162 dias). A colheita dos frutos, para o circuito comercial, decorreu na última semana de março de 2017. Os frutos das árvores georreferenciadas não foram alvo de colheita face à necessidade de dar continuidade a este estudo para além daquela data.

Note-se pela análise da Figura 4.2 a) e b) (e tabela 1 no Apêndice I) que, a partir do início do acompanhamento dos pomares, os frutos apresentavam já um peso na ordem dos 200 g e um diâmetro equatorial a rondar os 80 mm, parâmetros que apenas aumentam significativamente ($p < 0,05$) em Vale Judeu. Aos 106 dias o diâmetro equatorial e aos 162 dias ambos os parâmetros, apresentavam valores significativamente maiores ($p < 0,05$) em Vale Judeu. Face à estabilização diâmetro equatorial, a partir dos 79 dias, representou-se na Figura 4.2 uma linha a tracejado que marca, aproximadamente, a transição entre as fases II e III. A transição entre as fases é mais notória no pomar de Vale Judeu e mais subtil no pomar de Gambelas.

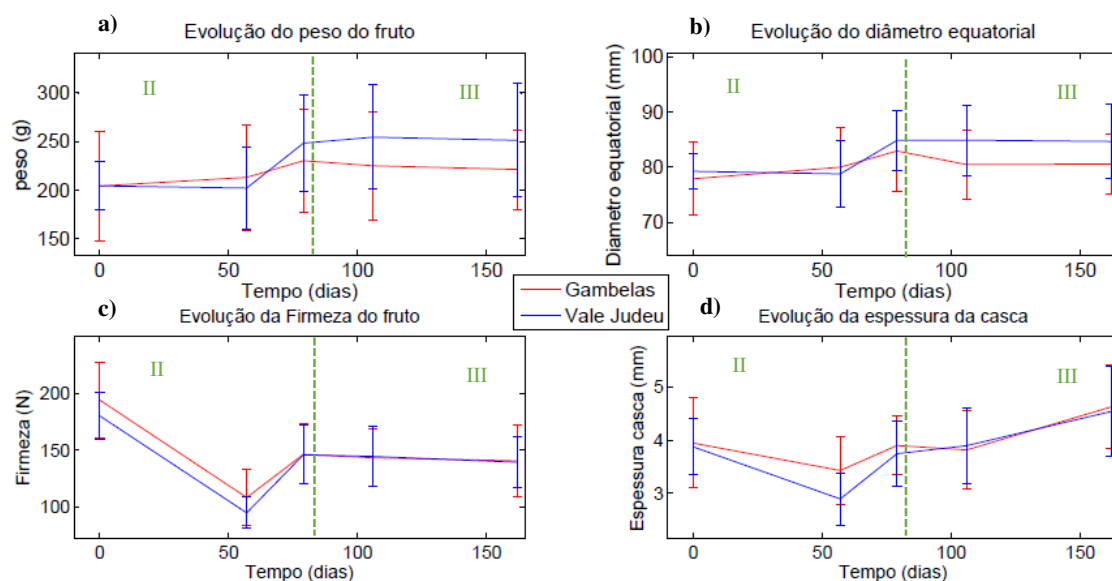


Figura 4.2. Evolução temporal do peso do fruto (a), diâmetro equatorial (b), firmeza (c) e espessura da casca (d) nos dois pomares. A linha a tracejado representa a divisão entre a fase II e III de desenvolvimento do fruto (Bain, 1957; Agustí, 2010).

No que diz respeito à firmeza dos frutos (figura 4.2.c e tabela 1 no apêndice I), esta decresceu significativamente ao longo do tempo com o avanço da maturação, sendo o comportamento similar nos dois pomares, mesmo na diminuição que ocorreu aos 57

dias, altura em que se verificam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os dois pomares, quando os frutos apresentavam valores de firmeza superiores em Gambelas. A firmeza aumentou em seguida até aos 79 dias para depois decrescer ligeiramente durante a fase III.

A evolução da firmeza, nomeadamente o seu decréscimo, é explicada por diversos mecanismos e processos metabólicos que ocorrem no fruto à medida que a sua maturação progride. Daqui resultam, por exemplo, alterações ultra-estruturais das paredes celulares, nomeadamente a dissolução da lamela média e disrupção da parede celular; alterações estruturais na pectina, hemicelulose e celulose devido ao aumento da atividade de enzimas como, a pectina esterase, pectina metilesterase e poligalacturonase (Ladaniya, 2008), e que se traduzem todas elas na perda de firmeza associada ao processo de amadurecimento do fruto (Goulao e Oliveira, 2008; Paniagua *et al.*, 2014).

Como se pode observar na Figura 4.2 d) a espessura da casca variou significativa ($p < 0,05$) e concordantemente com o descrito na literatura, ao longo das fases de desenvolvimento dos frutos compreendidas neste estudo. Assim, vai diminuindo até atingir um valor mínimo durante a fase II, em virtude do crescimento da polpa que pressiona a casca, e a obriga a “esticar” e a perder espessura (Bain, 1957). Na fase III a casca aumentou ligeiramente em espessura

Para além dos parâmetros mencionados acima, analisaram-se ainda o pH do sumo, TSS, AT e IM, cuja evolução temporal consta da figura 4.3. Foram registadas alterações significativas ($p < 0,05$) dos níveis de todos os parâmetros referidos, ao longo do decurso da amostragem, que a seguir se descrevem, e que estão conforme a tabela 2 do Apêndice I (análise estatística). Assim, o TSS (figura 4.3.a) apresentou o comportamento descrito na literatura, ou seja, aumentou ao longo do processo de maturação. O pomar de Vale Judeu apresentou frutos com TSS superior ao de Gambelas, em todas as datas de amostragem.

O pH aumentou, como seria de esperar dada a diminuição dos ácidos, com a progressão da maturação, conforme figura 4.3 b). Por outro lado, a AT (figura 4.3.c) apresentou valores mais elevados no pomar de Vale Judeu, sendo tal diferença significativa em todos os momentos da amostragem. Como descrito na literatura, a acidez medida nos dois pomares decresceu à medida que a maturação progrediu, devido ao efeito de diluição que ocorre com o aumento do tamanho de fruto e do conteúdo em água

(Seymour *et al.*, 1993), mas sobretudo devido ao catabolismo do ácido cítrico (Ciclo de Krebs) (Iglésias, 2007)

Por último, com exceção do segundo dia de amostragem (57 dias), o IM apresentou sempre níveis superiores em Gambelas, à custa da menor acidez titulável deste pomar, e foi aumentando ao longo do tempo (figura 4.3 d).

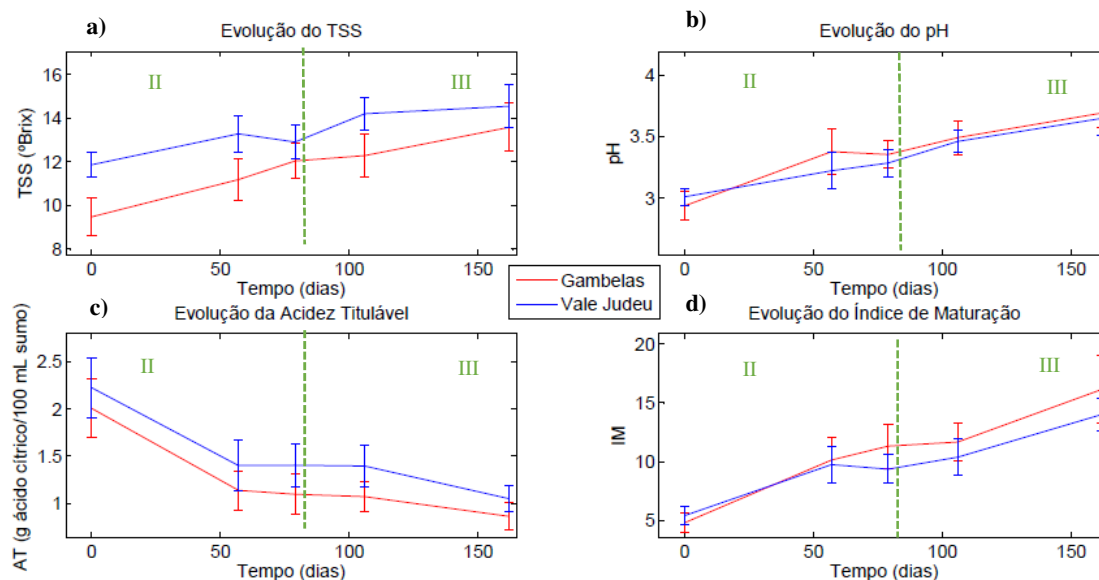


Figura 4.3. Evolução temporal do TSS (a), pH do sumo (b), AT (c) e IM (d) nos dois pomares. A linha a tracejado representa a divisão entre a fase II e III de desenvolvimento do fruto (Bain, 1957; Agustí, 2010).

Importa ainda referir outro parâmetro de qualidade, com valores mínimos exigidos na Norma IGP, a percentagem de sumo, cuja evolução consta da Figura 4.4.

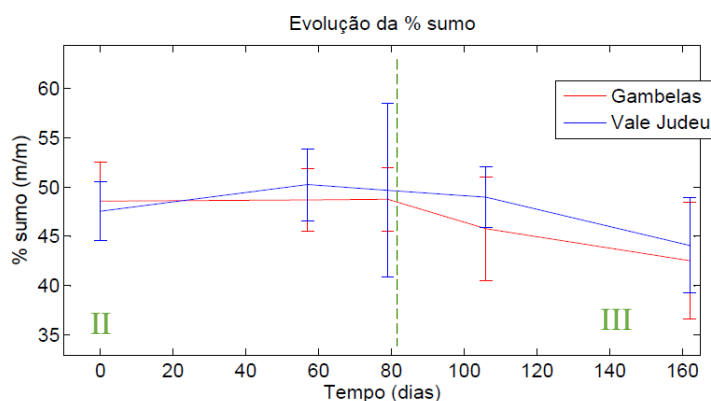


Figura 4.4. Evolução temporal da percentagem de sumo nos dois pomares. A linha a tracejado representa a divisão entre a fase II e III de desenvolvimento do fruto (Bain, 1957; Agustí, 2010).

A percentagem de sumo, nos dois pomares, ronda os 50% da massa do fruto. Este valor está de acordo com um estudo de Teixeira *et al.* (2017), que apurou que em ‘Ortanique’, 51,50 % da massa total do fruto é sumo.

Estatisticamente, a percentagem de sumo apresentou diferenças significativas ao longo do tempo (conferir Tabela 2, Apêndice I) e aos 106 dias entre os pomares. A partir da transição da fase II para a III, a percentagem de sumo começa a decrescer nos dois pomares, embora se mantenha sempre acima do valor exigido comercialmente, que é de 35% (*vide* Quadro I da Norma IGP Uniprofrutal, 2003).

Uma vez que o TSS, inclui cerca de 80-85% de açúcares solúveis, para além de ácidos orgânicos, e outros compostos (Ladaniya, 2008; Magwaza *et al.*, 2015), procedeu-se à quantificação do teor dos açúcares predominantes no sumo dos frutos, nomeadamente, sacarose, glucose e frutose, de modo a providenciar uma avaliação bioquímica da ‘Ortanique’ nestes dois pomares ao longo da maturação. Os resultados constam na figura 4.5 e a respetiva análise estatística pode ser consultada na tabela 3 do apêndice I, demonstrando-se que existiram diferenças significativas ao longo da maturação. A frutose e a glucose apresentam valores superiores em Vale Judeu, em todos as datas de amostragem. No caso da sacarose as diferenças foram significativas aos 57 e 106 dias; nos açúcares totais, as diferenças ocorreram no tempo 0, 57 e 106 dias, também superiores em Vale Judeu. Confirmou-se a proporção de 2:1:1 de sacarose:glucose:frutose, como descrito noutras variedades de citrinos (Iglésias *et al.*, 2007).

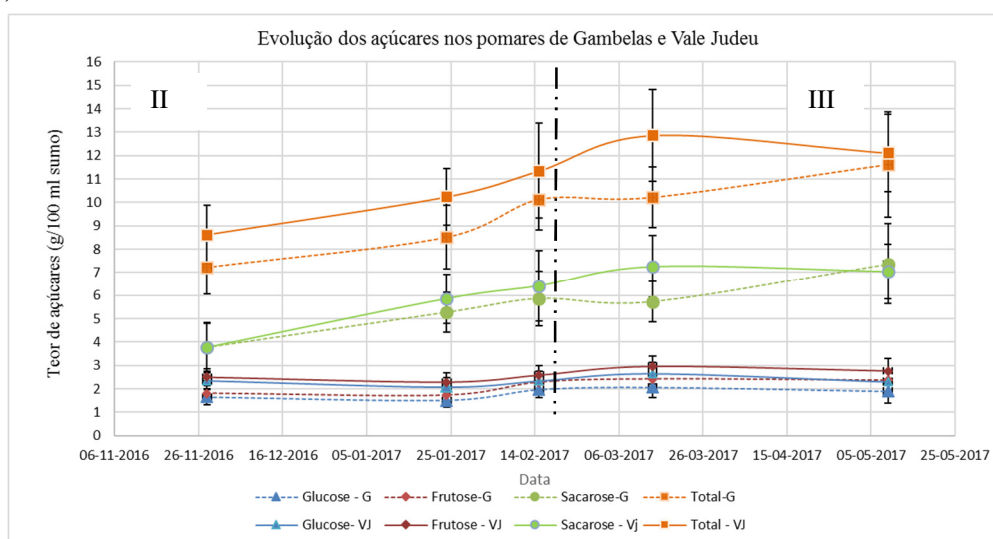


Figura 4.5. Evolução dos açúcares quantificados no sumo de ‘Ortanique’, provenientes dos dois pomares. A linha a tracejado representa a divisão entre a fase II e III de desenvolvimento do fruto (Bain, 1957; Agustí, 2010).

O facto de o pomar de Vale Judeu estar sujeito a uma maior exposição solar, poderá justificar o facto dos frutos apresentarem valores mais elevados de TSS e do teor de açúcares naquele pomar. As linhas de cultura em Vale Judeu, orientadas no sentido Norte-Sul, privilegiam uma maior exposição solar e uma diminuição do ensombramento. (Eliard,1979). No pomar de Gambelas, as linhas estão orientadas no sentido Noroeste – Sudeste e a distância entre linhas é inferior.

Os citrinos são também ricos em compostos nutracêuticos, cujo consumo apresenta benefícios para a saúde (Iglésias *et al*, 2007). Neste estudo desenvolvido para caraterizar a ‘Ortanique’, procedeu-se à quantificação de ácido ascórbico (Vitamina C), conforme Figura 4.6 e tabela 3 no apêndice I.

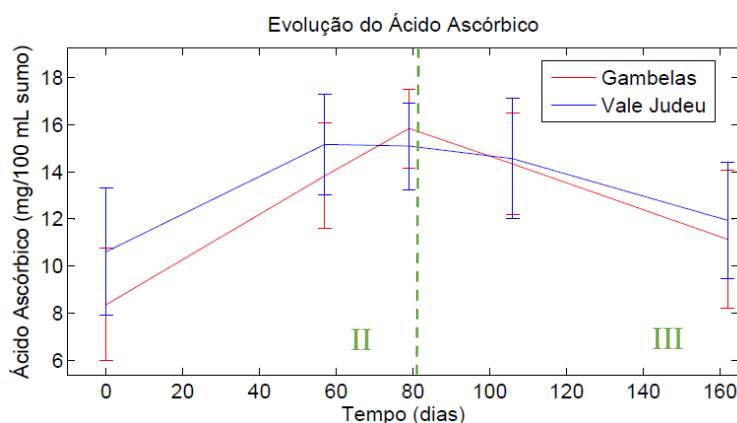


Figura 4.6. Evolução temporal do ácido ascórbico nos pomares de Gambelas e Vale Judeu.

De acordo com Nagy (1980), os frutos imaturos de citrinos contêm maior concentração de vitamina C a qual diminui com a progressão da maturação, facto que está de acordo com resultados obtidos. De facto, existem diferenças significativas para a evolução deste parâmetro ao longo do tempo e entre pomares no tempo 0 e aos 57 dias, altura em que apresenta tores mais elevados em Vale Judeu. Observou-se um pico máximo de vitamina C primeiro em Vale Judeu (57 dias) e depois em Gambelas (79 dias), contudo o decaimento do parâmetro é mais lento em Vale Judeu. A maior exposição solar do pomar de Vale Judeu, face à orientação Norte-Sul das linhas de cultura, poderá justificar esta tendência (embora nem sempre significativa, como referido) para o maior conteúdo de vitamina C neste pomar (Nagy, 1980). Aliás, existe uma correlação positiva entre o teor de sacarose e glucose e o teor de ácido ascórbico, uma vez que a glucose é o

substrato primário da sua síntese (Magwaza *et al.*, 2017), como se pode observar na figura 4.6 (acima) referente à evolução daqueles açúcares nos dois pomares.

A colheita e envio destes frutos para o consumidor ocorreu no final de março (por volta do dia 126), já quando o teor deste composto está em decaimento.

Analizados os diversos parâmetros de qualidade, em particular aqueles que constam da norma IGP e que têm papel preponderante para a comercialização de ‘Ortanique’, importa referir que no pomar de Gambelas, os valores mínimos de IM, TSS e teor de sumo, já tinham sido atingidos 79 dias após o início da amostragem, a 15-02-2018. No pomar de Vale Judeu, a satisfação dos valores mínimos só foi verificada na análise de 14-03-2018 (106 dias). A colheita do pomar ocorreu na última semana de março, um mês e meio depois do pomar de Gambelas ter atingido os valores mínimos de IM, TSS e teor de sumo, e cerca de duas semanas, no caso do pomar de Vale Judeu.

Na Figura 4.7 constam os resultados da prova sensorial efetuada com frutos de ambos os pomares, recolhidos na altura da colheita.

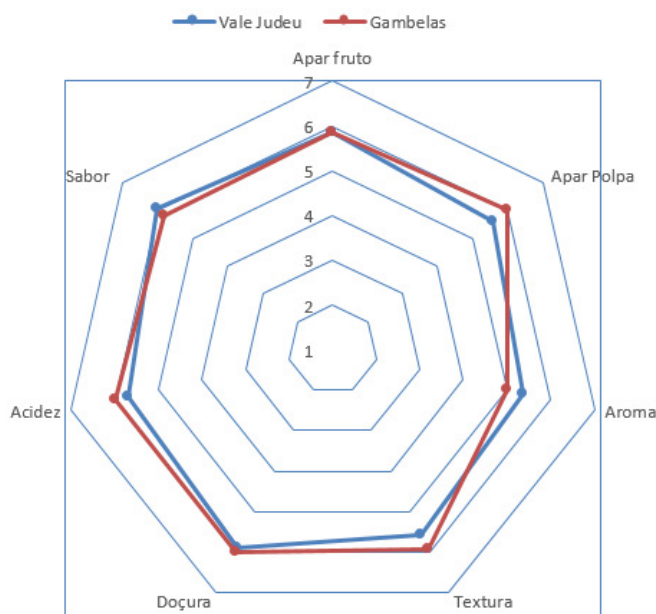


Figura 4.7. Análise organolética de ‘Ortanique’ dos dois pomares, efetuada por um painel semi-treinado de 22 provadores. Chave de classificação: (1) não gosto definitivamente, (2) não gosto, (3) não gosto ligeiramente, (4) não gosto nem desgosto, (5) gosto ligeiramente, gosto (6) e gosto definitivamente (7).

Da análise estatística efetuada, verificou-se que o painel de 22 provadores não encontrou diferenças significativas (verificar Figura 1 do apêndice I) entre os frutos provenientes dos dois pomares, para os diversos atributos que tiveram a oportunidade de classificar. Pela análise padronizada efetuada, verificou-se anteriormente que em

14/03/2017 havia diferenças significativas entre os dois pomares, superiores em Vale Judeu, no TSS, IM, percentagem de sumo e açúcares (totais, glucose, frutose e sacarose), mas que não foram detetadas pelo painel. Assim sendo, a maioria atributos que refletem a qualidade organolética foram classificados pelos provadores com o nível “ (6) gosto “.

4.2. Análise comparativa da distribuição espacial dos parâmetros de qualidade determinados pelos métodos padrão nos pomares de Gambelas e Vale Judeu

As vinte e cinco árvores de cada pomar encontravam-se georreferenciadas, possibilitando assim a construção de mapas com a evolução espacial e temporal dos vários parâmetros de qualidade obtidos pelos métodos padronizados.

4.2.1 - IM, AT e TSS nos frutos dos pomares

As Figuras 4.8-4.10 apresentam os mapas da evolução do IM, AT e TSS resultantes da análise padronizada, e neste caso, destrutiva efetuada aos frutos recolhidos nas cinco amostragens. É importante referir que os mapas que se apresentam a seguir são construídos a partir de uma média dos valores sobre os 5 vizinhos mais próximos. Desta forma os gráficos têm um aspeto mais suave sem, no entanto, comprometer a visualização dos padrões espaciais. A escala de cor adotada varia entre o azul para os valores mais baixos e o vermelho para os valores mais altos. As árvores medidas são identificadas por pontos brancos e a linha poligonal branca delimita a área do pomar medida. Os valores obtidos fora desta linha branca correspondem a extrapolações numéricas, que não consideramos na nossa análise.

Verificou-se que em Gambelas, onde o pomar tem as linhas de cultura orientadas no sentido Nordeste-Sudoeste, no início das amostragens (28-11-2016), o IM se distribuía homogeneamente em toda a área avaliada. Na amostragem seguinte, de 24-01-2017, existem duas zonas com IM diferente situadas a Nordeste e a Sudoeste, sendo que o sentido da seta indica que este aumenta de Nordeste para Sudoeste. Esta tendência inverte-se nas amostragens seguintes. O IM é superior na zona Este do pomar e inferior a Oeste.

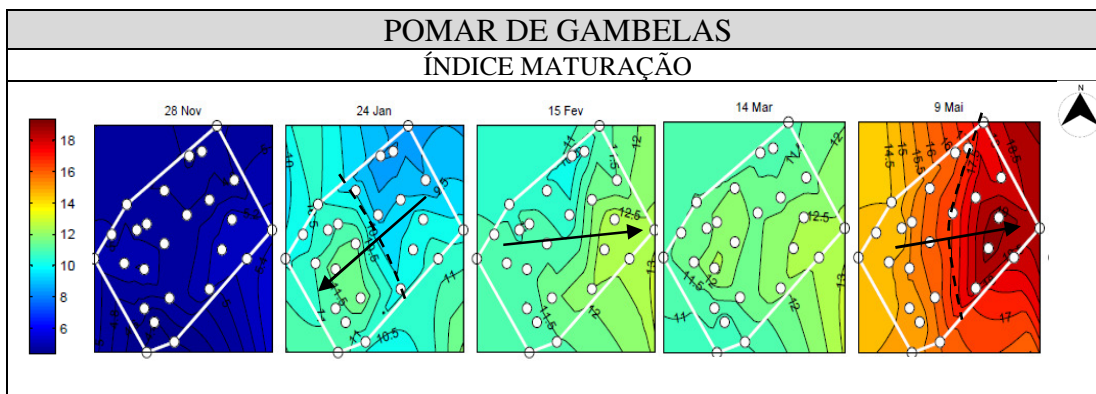


Figura 4.8. Mapeamento do IM para o pomar de Gambelas. Os pontos brancos nos gráficos representam as árvores. Os detalhes para interpretação dos mapas estão especificados no início da secção 4.2.1.

O TSS (Figura 4.9) é mais baixo e homogéneo no início das amostragens (28-11-2016), aumenta em 24-01-2017 de Oeste para Este e em 15-02-2017 observa-se uma faixa central de menor TSS, relativamente aos extremos Este e Oeste. A 14-03-2017, o TSS está praticamente distribuído de forma uniforme no pomar, com exceção de um extremo no Sul. A 09-05-2017, o TSS é superior a Oeste.

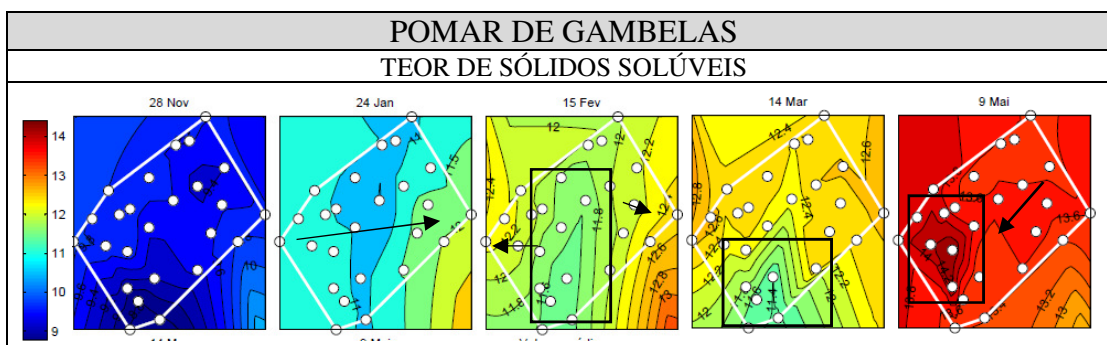


Figura 4.9. Mapeamento do TSS para o pomar de Gambelas. Os pontos brancos nos gráficos representam as árvores. Os detalhes para interpretação dos mapas estão especificados no início da secção 4.2.1.

A Acidez Titulável, a 28-11-2016 encontrava-se, como esperado, elevada em todo pomar (Figura 4.10) e a partir de 24-01-2017 diminuiu (no sentido indicado pelas setas), na mesma direção do IM (Fig. 4.8). Nas datas de amostragem subsequentes esta diminuição acontece em várias direções do pomar, apresentando na última um perfil oposto ao do IM (Fig. 4.8), pois o IM depende inversamente da AT. Ressalva-se que o sentido das setas é da maior para a menor acidez.

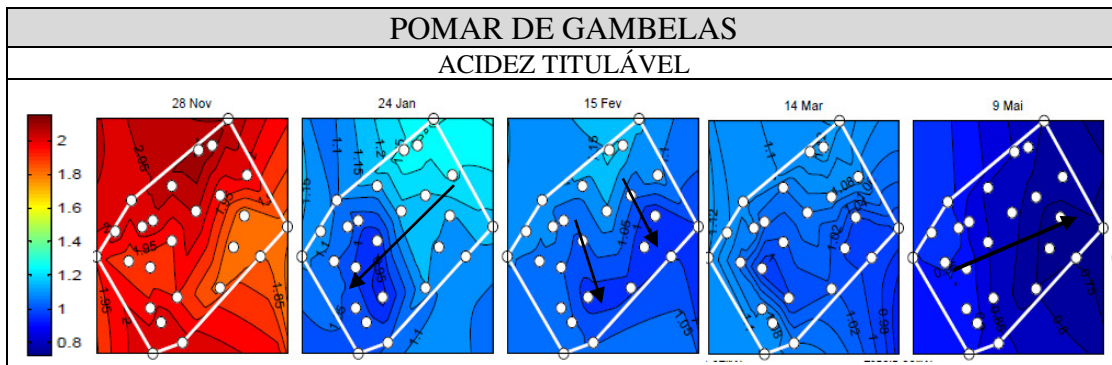


Figura 4.10. Mapeamento da AT para o pomar de Gambelas. Os pontos brancos nos gráficos representam as árvores. Os detalhes para interpretação dos mapas estão especificados no início da secção 4.2.1.

Apesar do IM ser definido pela razão de TSS e AT, observa-se que a variação espaço-temporal do IM assemelha-se mais à variação da AT do que do TSS, muito provavelmente porque em termos percentuais, este parâmetro varia mais do que o TSS. Uma característica dos três mapas é a inversão da seta de evolução espacial entre 24 de janeiro e 9 de maio, o que sugere que os frutos mais atrasados no início acabam por evoluir mais rapidamente na parte final do período de amadurecimento.

Procedeu-se à mesma análise para o pomar de Vale Judeu, conforme consta das Figuras 4.11 a 4.13. Este pomar tem as linhas de cultura orientadas no sentido Norte-Sul. À semelhança do que acontecia em Gambelas, o IM encontrava-se homogeneamente distribuído no pomar em 27-11-2016. Em 24-01-2017, o IM tende a aumentar de Nordeste para Sudoeste (no sentido da seta), depois em 15-02-2017 progride de Norte para Sul e em 14-03-2017 aumenta de Noroeste para Sudeste. A 09-05-2017 a distribuição do índice de maturação tende a ficar homogênea, com dois focos de IM mais elevado, conforme assinalado. Como previamente indicado na figura 4.3 d), os valores de IM são inferiores neste pomar relativamente ao de Gambelas, a partir da segunda amostragem, mantendo-se assim, ao longo do tempo.

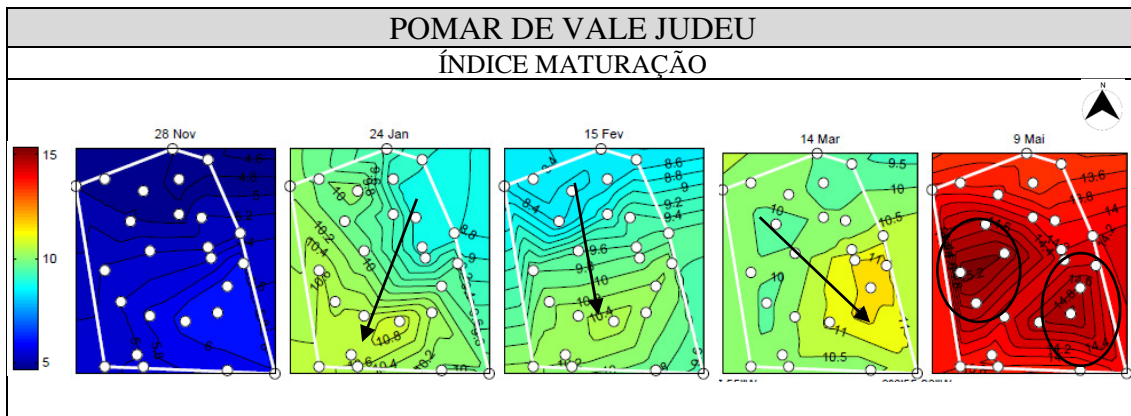


Figura 4.11. Mapeamento do IM para o pomar de Vale Judeu. Os pontos brancos nos gráficos representam as árvores. Os detalhes para interpretação dos mapas estão especificados no início da secção 4.2.1.

O TSS era inicialmente (28-11-2017) mais elevado a Norte, mantendo esta tendência nas três amostragens subsequentes (24-01-2017, 15-02-2017 e 14-03-2017). Em 09-05-2017 o TSS era superior a Este (figura 4.12)

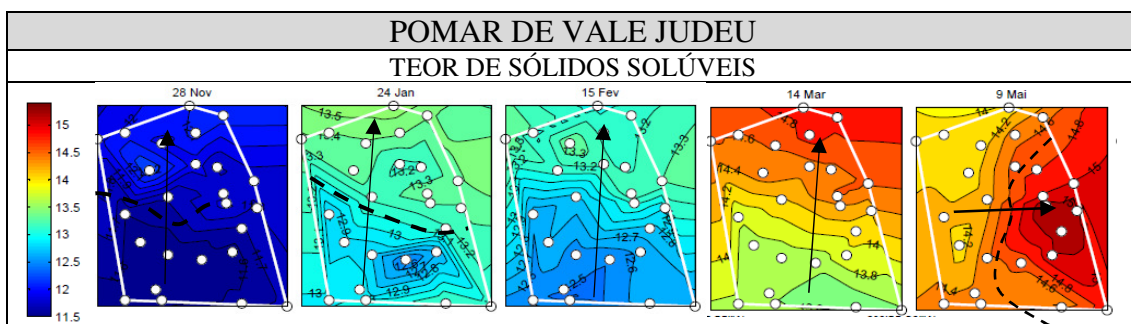


Figura 4.12. Mapeamento do TSS para o pomar de Vale Judeu. Os pontos brancos nos gráficos representam as árvores. Os detalhes para interpretação dos mapas estão especificados no início da secção 4.2.1.

A AT, apresentou em geral valores superiores a Norte desde o início das amostragens até 14-03-2017, (figura 4.13). Em 09-05-2017, observou-se um foco com valores mínimo de AT na zona Este do pomar. À semelhança do que acontecia em Gambelas, a tendência de variação espacial deste parâmetro no pomar é praticamente oposta da do IM.

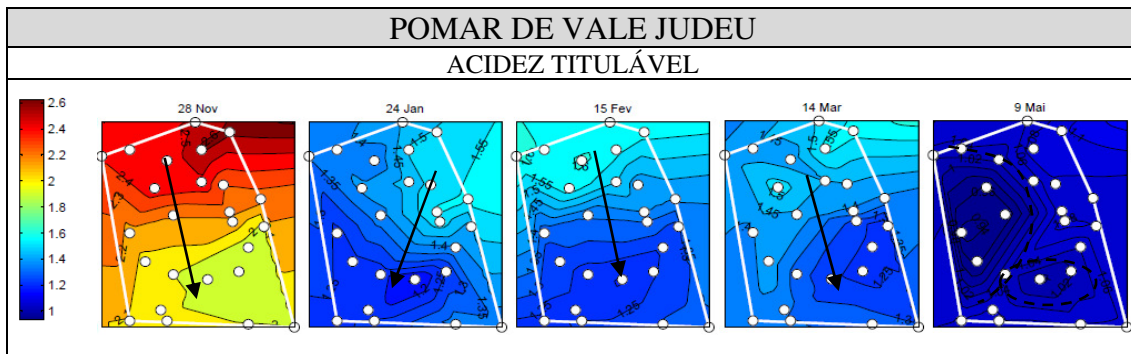


Figura 4.13. Mapeamento da AT para o pomar de Vale Judeu. Os pontos brancos nos gráficos representam as árvores. Os detalhes para interpretação dos mapas estão especificados no início da secção 4.2.1.

No pomar de Vale Judeu os gradientes seguem aproximadamente as linhas de cultura e em Gambelas são aproximadamente oblíquos ou perpendiculares. Isto mostra que não há evidência de dependência forte na orientação das linhas de cultura.

Como se constata, o comportamento dos dois pomares é diferente. A explicação mais plausível é que os dois pomares são radicalmente diferentes do ponto de vista da orientação solar relativamente às linhas e ao declive do terreno, com consequências importantes ao nível da iluminação da exposição solar e, em última análise da temperatura dos frutos na copa das árvores.

O pomar de Vale Judeu situa-se numa encosta de ligeira inclinação virada a Sul, com cota superior a Norte sem que em redor da parcela haja vegetação ou formações geológicas que causem ensombramento. Ao invés, o pomar de Gambelas está delimitado em parte do seu perímetro (a Noroeste e Sudoeste) por vegetação situada numa cota superior ao do pomar, o que pode levar a fenómenos de ensombramento. Mais, este pomar tem linhas de cultura duplas, o que potencia o ensombramento entre copas.

Assim, a orientação Norte-Sul do pomar de Vale Judeu privilegia as árvores do topo Sul e os raios solares penetram ao longo das linhas durante a maior parte do dia. Do ponto de vista da iluminação solar a orientação Norte-Sul é a ideal, pois maximiza-a. Ao contrário, a disposição Nordeste - Sudoeste do pomar de Gambelas origina um ensombramento das entrelinhas na maior parte do dia. Assim, há uma assimetria clara relativamente à disponibilidade solar em Vale Judeu, mas que não é tão marcada em Gambelas. No primeiro caso, o acesso à luz solar diminui ao longo da direção das linhas; no segundo caso, a disponibilidade solar varia tendencialmente de linha para linha.

Adicionalmente, no pomar de Gambelas houve uma inversão do gradiente (de Sudoeste-Nordeste para Nordeste-Sudoeste) mais evidente no IM e na AT, enquanto tal não se verificou no pomar de Vale Judeu. Este facto, interpretado de forma isolada, sugere que as árvores mais atrasadas no início das medições acabam por fazer evoluir os seus frutos de forma mais rápida. Mas, na ausência de uma explicação fisiológica para este facto, a causa pode também ser a exposição solar: a orientação Nordeste-Sudoeste das linhas em conjugação com o ligeiro declive do terreno pode originar a rotação da direção privilegiada de iluminação ao longo do ano, por causa da variação da altura do Sol.

Evidentemente, haverá outros efeitos a incluir. Por exemplo, as árvores do extremo Sul de Vale Judeu estão numa cota mais baixa e devem reter mais humidade, o que ainda reforça mais a sua posição privilegiada. No entanto não dispomos de dados sobre a humidade no solo que nos permita avançar na discussão.

Como nota final relativa à análise dos parâmetros mais importantes, IM, AT e TSS, é importante frisar que as explicações dadas são ainda muito preliminares, dado o conjunto restrito de dados.

4.2.2 - Firmeza, peso do fruto e percentagem de sumo nos frutos

Outro parâmetro importante para a colheita dos frutos e que já deu origem a uma sugestão de alteração da Norma IGP (Pires *et al.*, 2016), no sentido de ser quantificado, é a firmeza.

No pomar das Gambelas (Figura 4.14), em todas as datas analisadas, este parâmetro é sempre superior no extremo Oeste do pomar, em oposição ao IM (Fig. 4.8.). O sentido das setas no mapa indica um aumento de Este para Oeste. A subida de firmeza de 24-01-2017 para 15-02-2017 pode eventualmente ser explicada pela pluviosidade registada quatro dias antes da amostragem de fevereiro, com um acumulado de 98,4 mm, segundo dados obtidos através da Direção Regional de Agricultura e Pescas do Algarve (2018), na estação meteorológica do Patacão (conferir Anexo I). Não existem padrões óbvios na distribuição espacial do peso do fruto e da percentagem de sumo, neste pomar.

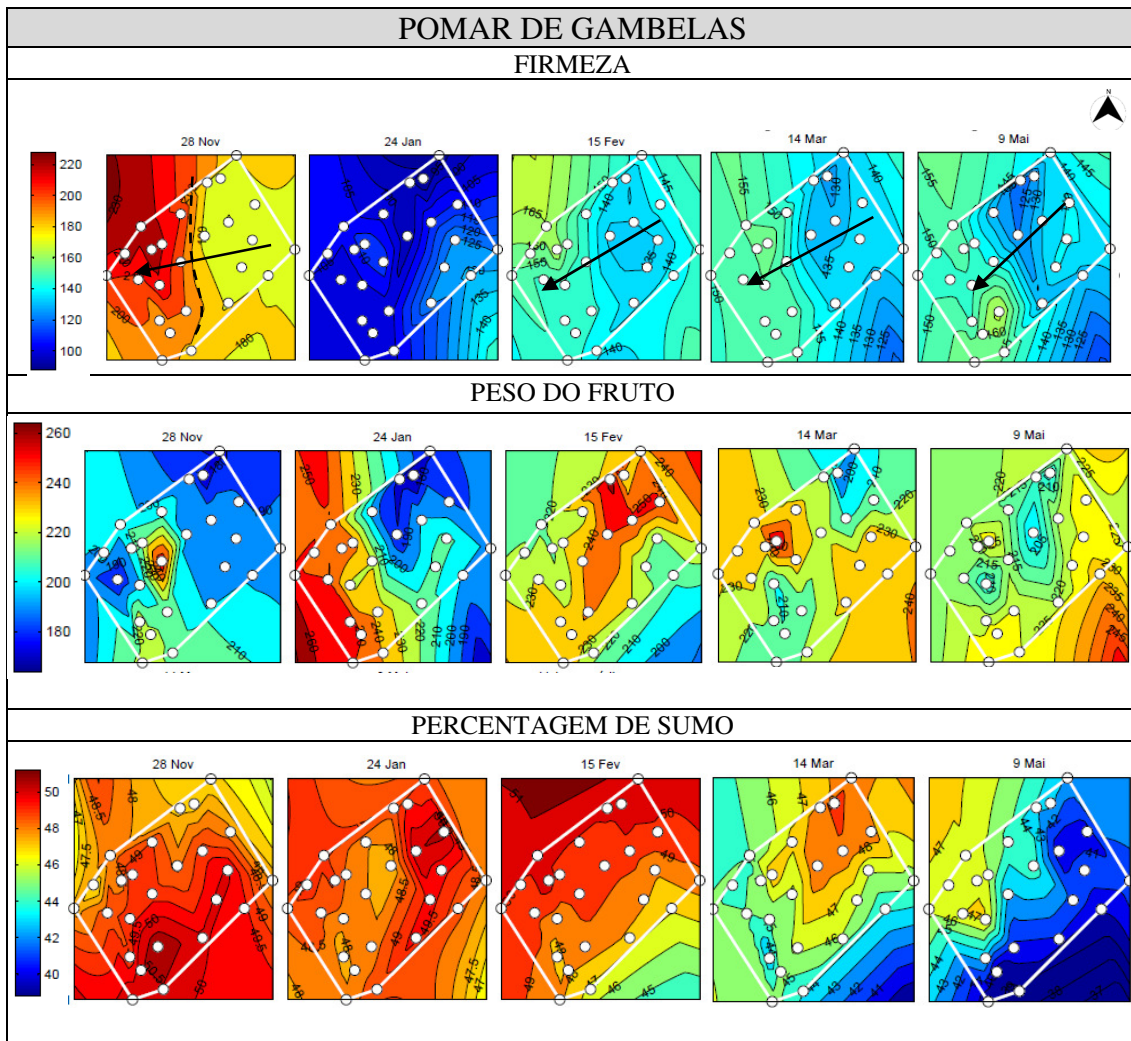


Figura 4.14. Mapeamento da firmeza, massa do fruto e percentagem de sumo para o pomar de Vale Judeu. Os pontos brancos nos gráficos representam as árvores. Os detalhes para interpretação dos mapas estão especificados no início da secção 4.2.1.

Na Figura 4.15, referente ao pomar de Vale Judeu, verificou-se que relativamente à firmeza, há mais uma vez uma estratificação clara Norte-Sul, com as laranjas a Norte mais firmes e um gradiente sensivelmente oposto do IM (Fig 4.11), pelo menos até março. Os mapas para o peso do fruto não apresentam, tal como em Gambelas, um padrão claro. A percentagem de sumo apresenta, no último dia, a estratificação Norte-Sul.

À semelhança do que aconteceu no pomar de Gambelas, também no de Vale Judeu ocorreu o aumento da firmeza após a ocorrência de precipitação, acima referida.

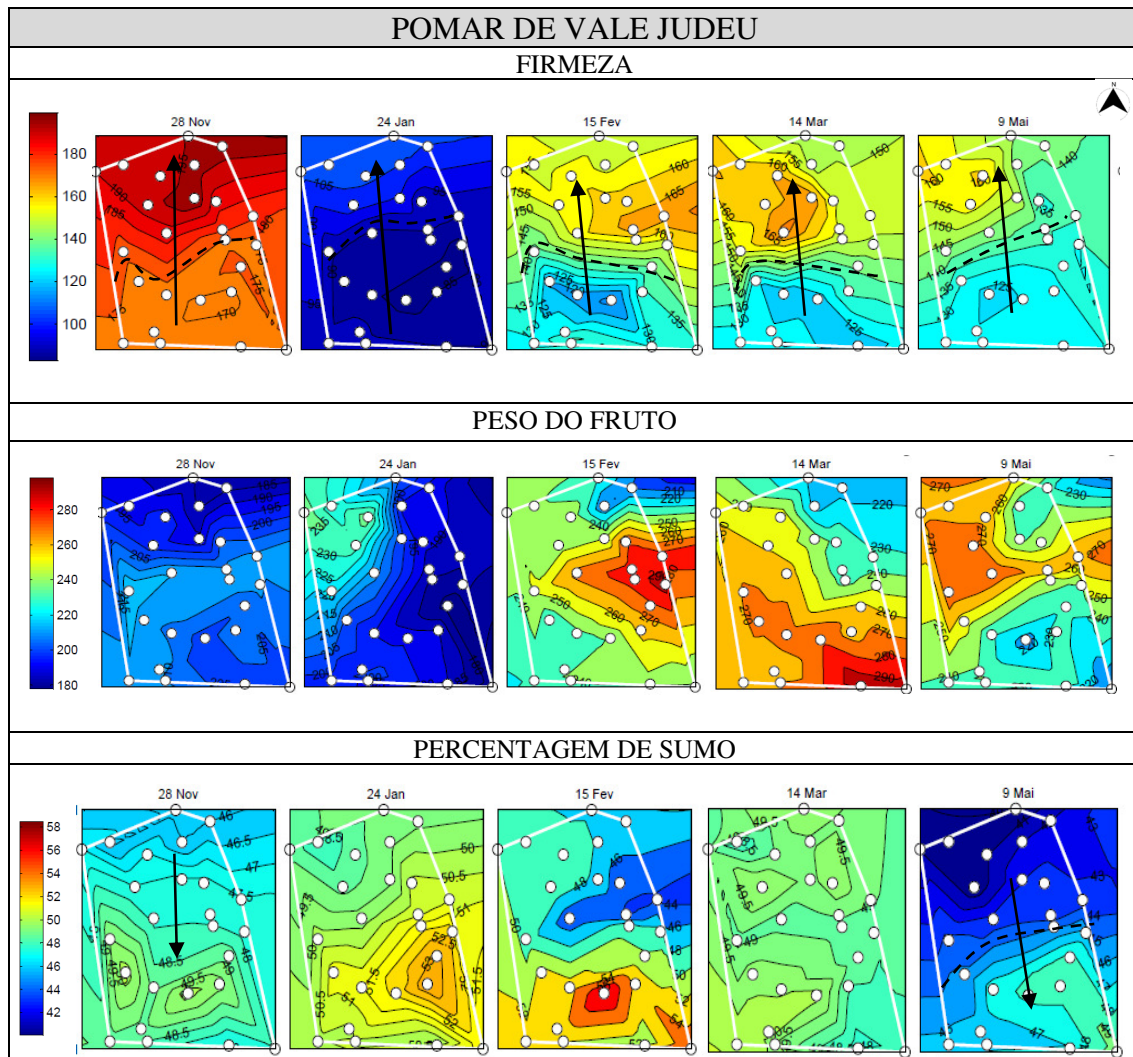


Figura 4.15. Mapeamento da firmeza, peso do fruto e percentagem de sumo para o pomar de Vale Judeu. Os detalhes para interpretação dos mapas estão especificados no início da secção 4.2.1.

4.2.3- Teor de açúcares (glucose, frutose, sacarose e totais) nos frutos

Nas Figuras 4.16 e 4.17 são apresentados os mapas do teor açúcares totais e sacarose, glucose e frutose, respetivamente, relativos ao pomar de Gambelas. Observou-se assim, similaridade entre os mapas dos açúcares totais e o da sacarose ao longo das cinco amostragens, dada a predominância deste glícido em ‘Ortanique’.

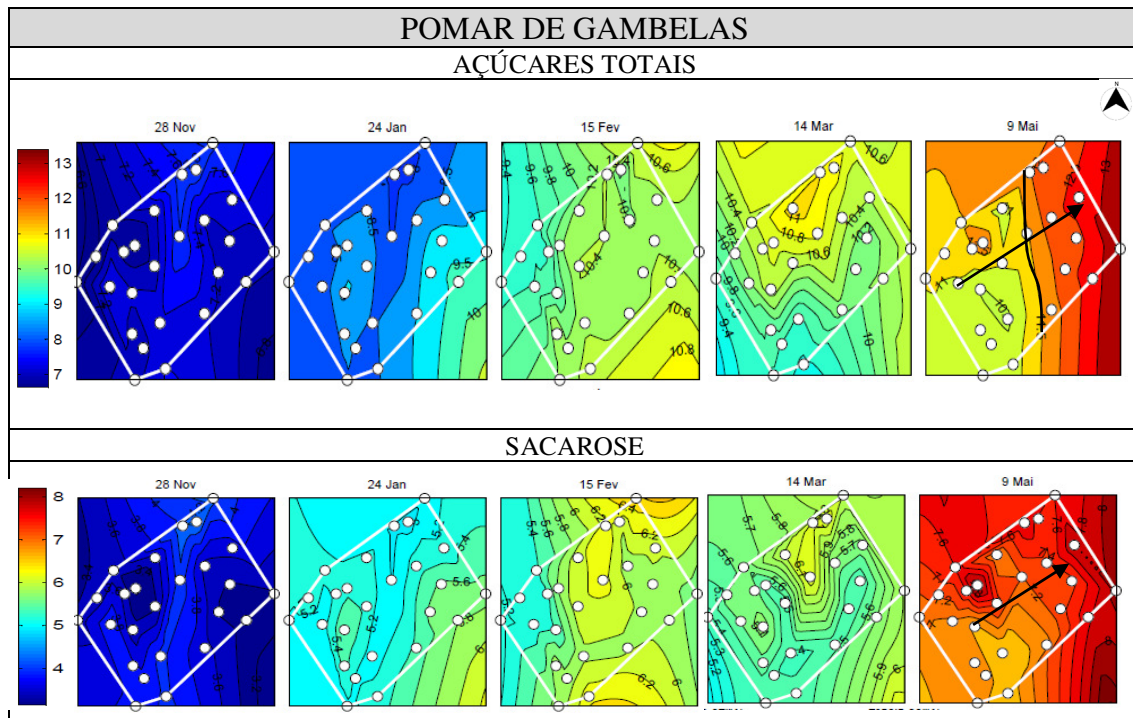


Figura 4.16. Mapeamento dos açúcares totais e sacarose para o pomar de Gambelas. Os pontos brancos nos gráficos representam as árvores. Os detalhes para interpretação dos mapas estão especificados no início da secção 4.2.1.

O mesmo é válido para a frutose e glucose uma vez que são notórias as semelhanças entre os mapas, conforme Figura 4.17. As setas demonstram as várias direções tomadas pelo gradiente em cada dia de amostragem, sendo também comuns aos dois parâmetros.

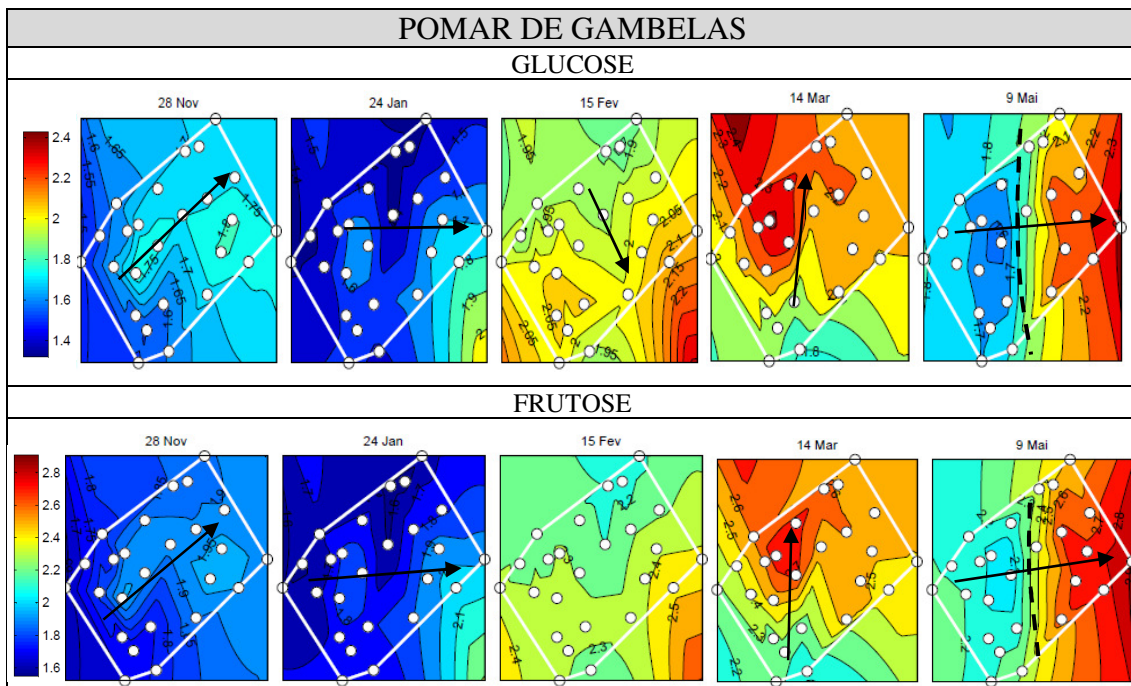


Figura 4.17. Mapeamento da glucose e frutose para o pomar de Gambelas. Os pontos brancos nos gráficos representam as árvores. Os detalhes para interpretação dos mapas estão especificados no início da secção 4.2.1.

Pode verificar-se ainda que nos casos da frutose e glucose o mapa mais escuro é o do segundo dia, de acordo com a pequena diminuição do seu conteúdo. Por outro lado, embora durante o processo de amadurecimento não se detete um padrão espacial muito óbvio, esse padrão surge muito claro no último dia tanto para os açúcares totais (Sudoeste - Nordeste) como para a glucose e frutose (Este-Oeste), conforme assinalado nos respetivos mapas.

O padrão espacial continua a ser mais consistente em Vale Judeu do que em Gambelas e, tal como nos parâmetros anteriores, sempre com uma tendência geral quanto à estratificação Norte-Sul. Mais uma vez, os açúcares totais e a sacarose apresentaram um padrão semelhante e comum no gradiente dos parâmetros no espaço, consistente em cada dia de amostragem. O mesmo acontece entre a glucose e a sacarose: verificou-se a ocorrência de inversões dos gradientes a partir de 14 de março.

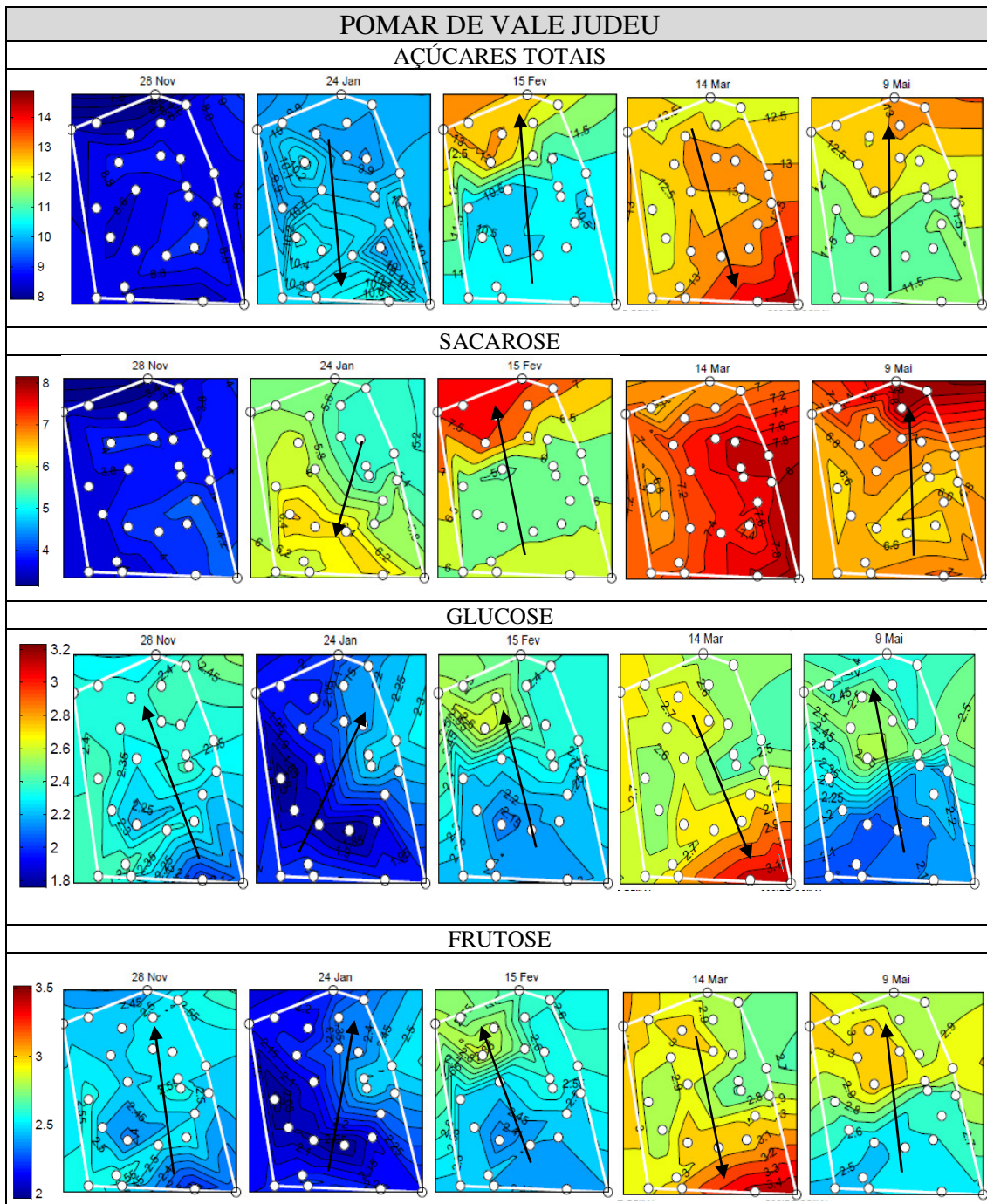


Figura 4.18. Mapeamento açúcares totais, sacarose, glucose e frutose para o pomar de Vale Judeu. Os pontos brancos nos gráficos representam as árvores. Os detalhes para interpretação dos mapas estão especificados no início da secção 4.2.1.

Embora o TSS seja tomado como um indicador da doçura do fruto, não mede apenas açúcares, mas também ácidos orgânicos, sais e outros compostos (Ladaniya, 2008; Magwaza e Opara, 2015) o que poderá “distorcer” o aspeto dos mapas e diluir algumas semelhanças e acrescentar diferenças significativas relativamente aos mapas dos açúcares. É o que verificamos acontecer em ambos os pomares (Figs 4.9 e 4.12).

A comparação temporal de AT com TSS e AT com o teor de açúcares totais (Figura 4.19 b, c), em ambos os pomares, mostra o mesmo comportamento: subida de TSS e de açúcares totais com a descida da AT, como já verificado anteriormente. No entanto, feita a comparação entre os açúcares totais e o TSS (figura 4.19 a), verificou-se que o TSS é superior aos açúcares, até aos 79 dias nos dois pomares. Após esse momento, os dois parâmetros são praticamente coincidentes no pomar de Gambelas. A diminuição relativa do TSS face aos açúcares deve-se à diminuição dos ácidos que ocorreu e que o TSS também quantifica enquanto que a inversão final, poderá resultar do decréscimo que se verificou nos açúcares totais no final das amostragens.

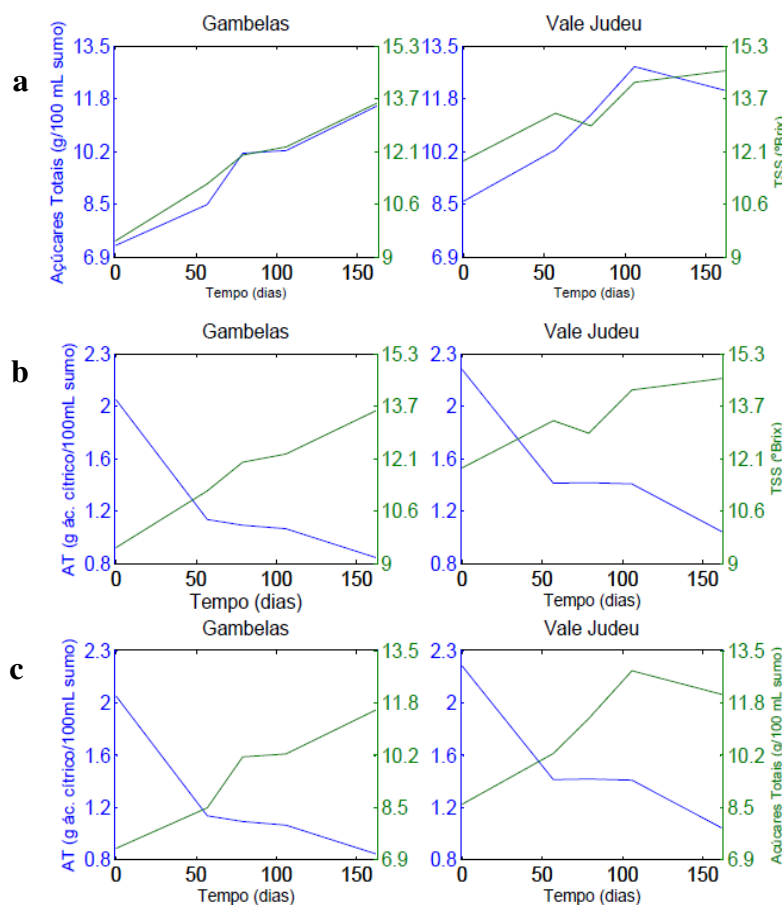


Figura 4.19. Comparação entre a) açúcares totais e TSS; b) AT e TSS; c) AT e açúcares totais, para ambos os pomares. A análise estatística, para cada um dos parâmetros, ao longo do tempo, consta na tabela 2 do apêndice I.

E mais uma vez surge a questão sobre até que ponto o TSS é um bom indicador de qualidade para representar a doçura do fruto. Magwaza e Opara (2015) perspetivaram que o TSS deve ser complementado com dados provenientes da determinação da frutose,

sacarose e glucose, proporcionando uma melhor descrição bioquímica da maturação e uma melhor concordância com a percepção que o ser humano tem da doçura. Aliás, sendo o IM a razão entre TSS e AT, o contributo dos ácidos para o IM está tanto no numerador como no denominador, pelo que já consta da literatura outro índice que pretende descrever melhor a doçura, designado por BrimA e que significa subtrair os ácidos ao TSS (do inglês *Brix minus Acids*) (Magawza e Opara, 2015).

4.2.4. Teor de ácido ascórbico nos frutos

O ácido ascórbico, no pomar de Gambelas apresentou uma distribuição inicial uniforme, depois em 24 de janeiro tem uma faixa central de menor concentração, aumentando em 15 de fevereiro de Norte para Sul (Figura 4.20). Nas últimas duas datas, o teor deste ácido começa a diminuir, sendo que os frutos com menor concentração vão ser encontrados a Sul (9 de maio). No pomar de Vale Judeu, inicialmente há uma divisão Norte-Sul, onde o conteúdo de ácido ascórbico é superior a Sul. Antes de decrescer nas últimas amostragens, o ácido ascórbico distribui-se de forma uniforme no pomar.

Remetendo agora esta análise à figura 4.6, na qual se verificou o decréscimo deste parâmetro, bem como à tabela 3 do apêndice I, constatou-se que aos 162 dias a dispersão em relação à média do pomar, do teor de ácido ascórbico medido pelo método padronizado é 2,93 mg/100 mL de sumo. Este é o maior valor obtido para o pomar de Gambelas. Verificou-se aqui a importância da análise espacial, pois o parâmetro medido pode estar a diminuir em termos médios, mas em virtude do decréscimo do parâmetro em zonas localizadas do pomar. Efetivamente, existia uma zona a Sul, assinalada no mapa de 9 de maio, com um valor mais baixo de ácido ascórbico em relação ao restante pomar.

No caso do pomar de Vale Judeu foi em 28 de novembro que se obteve uma maior dispersão do valor medido (2,69 mg/100 mL ácido ascórbico, conforme tabela 3 do apêndice I). Atendendo ao mapa, verificou-se a já comum estratificação espacial Norte-Sul característica deste pomar e a Norte valores mais baixos de ácido ascórbico relativamente à zona Sul.

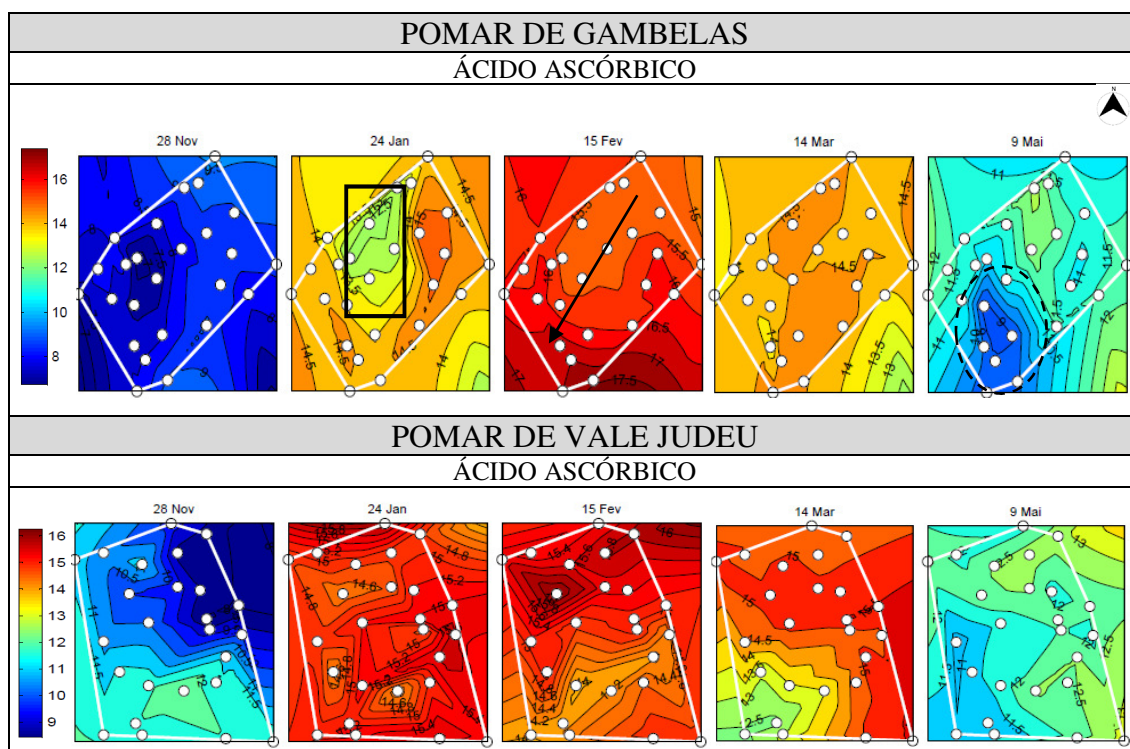


Figura 4.20. Mapeamento do ácido ascórbico para os pomares de Gambelas e Vale Judeu. Os pontos brancos nos gráficos representam as árvores. Os detalhes para interpretação dos mapas estão especificados no início da secção 4.2.1.

4.3. Análise das diferenças espaciais, em termos médios, nos pomares de Gambelas e Vale Judeu

Os mapas que foram mostrados até agora contêm muita informação espacial que é ainda é difícil de interpretar na sua totalidade. Identificaram-se as tendências globais mais óbvias nos pomares de Gambelas e Vale Judeu, mas outras variações mais subtis poderão ter passado despercebidas. Evidentemente, grande parte da topologia exibida pelos mapas é também originada por ruído, isto é, pela variabilidade biológica das amostras.

Nesta secção propôs-se um método simples para condensar a informação dos mapas num só e assim inferir informação de uma forma mais direta. A questão a responder é a seguinte: existem zonas do pomar que fornecem sistematicamente valores acima ou abaixo da média? Ou seja, que possam explicar a variabilidade observada em cada ponto de amostragem quando se representam os níveis médios dos vários parâmetros ao longo do tempo.

Os mapas das Figuras 4.21 e 4.22, para Gambelas e Vale Judeu respetivamente, representam a o desvio médio de cada árvore relativamente à média registada, em cada dia, para cada parâmetro de qualidade sendo esse afastamento medido em unidades de

desvio-padrão. Particularizando, melhor: em cada dia as árvores têm um certo desvio relativamente à média do pomar. Os referidos mapas apresentam a média dos cinco desvios. Logo, uma zona com um desvio positivo em todos os dias aparecerá neste mapa também com um desvio médio positivo. Assim sendo, é possível identificar nos mapas zonas com maior ou menor desvio, relativamente à média do pomar.

No pomar de Gambelas verificou-se um padrão comum nos mapas do IM, AT, glucose e frutose, devidamente assinalado a tracejado nos mesmos, correspondente a uma zona Este do pomar e que é mais extensa no IM e na AT. Ali, encontram-se frutos com um desvio padrão entre 1 e 1,5 acima da média dos cinco dias de amostragem do pomar, para os parâmetros referidos ou de -1 no caso da AT. A pequena zona Este do pomar, proporcionou condições aos frutos que se traduziram num maior IM, maior teor de glucose e frutose e uma menor AT (que assim justifica também o maior IM). Assinalou-se no mapa do TSS uma zona no extremo Sul do pomar, onde os frutos apresentam valores de desvio padrão de 1 abaixo da média do pomar, zona essa coincidente com a assinalada no mapa de 14 de março da figura 3.3. É a zona do pomar que favoreceu o desenvolvimento de frutos com TSS inferior à média do pomar.

Por último, destaca-se no mapa da firmeza uma zona a Norte onde os frutos têm uma firmeza de 1 desvio padrão abaixo da média do pomar. Comparando o referido mapa com os cinco mapas da firmeza constantes da figura 4.14, é neste mapa de desvios estandardizados (da Figura 4.21) que fica mais evidente a zona de menor firmeza.

Para os demais parâmetros de qualidade de Gambelas, não referidos anteriormente, constatou-se que apresentam dispersões inferiores a um desvio padrão, acima ou abaixo da média do pomar.

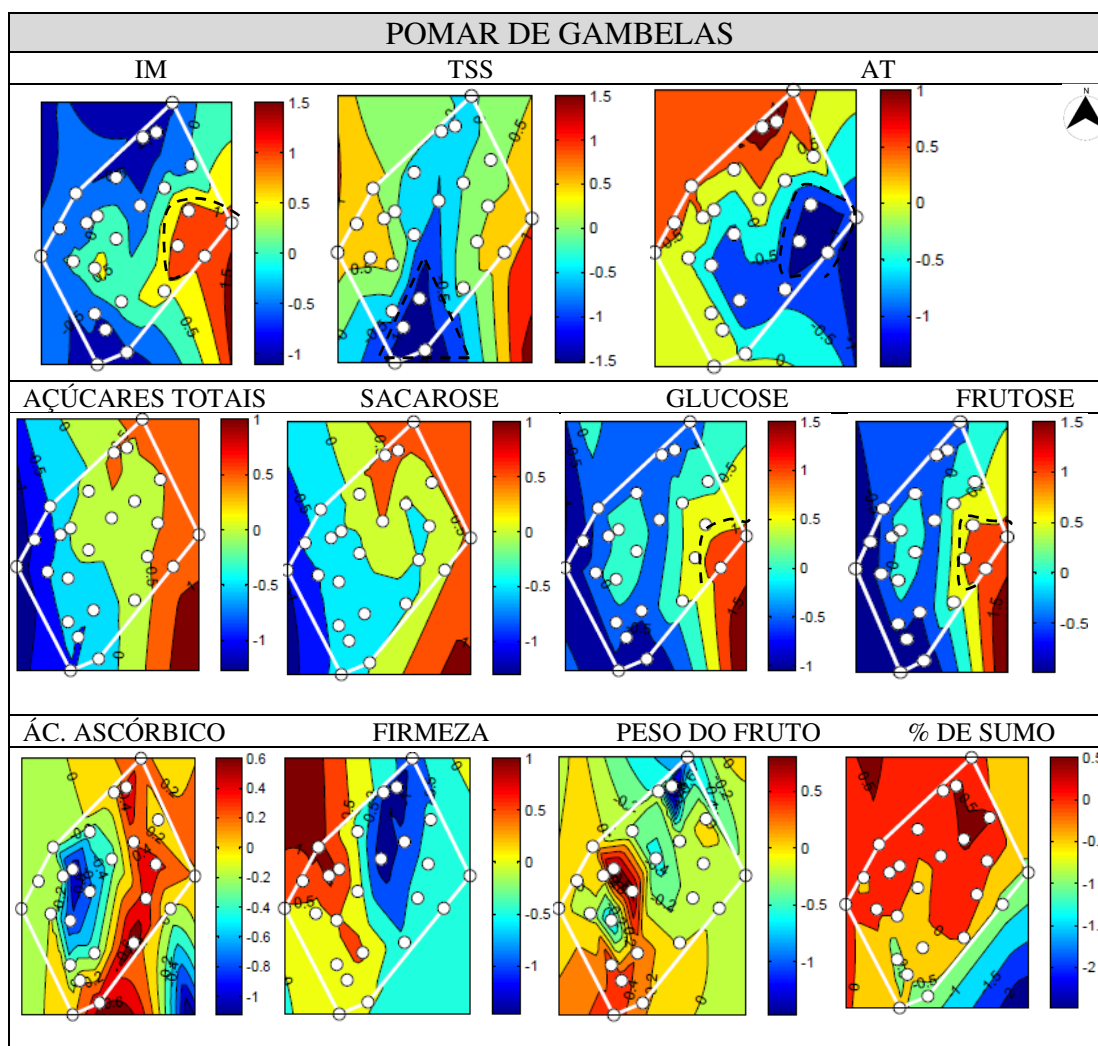


Figura 4.21. Mapas das médias de valores de desvio padrão estandardizados para IM, AT, TSS, açúcares totais, sacarose, glucose, frutose, ácido ascórbico, firmeza, peso do fruto e percentagem de sumo para o pomar de Gambelas. Os pontos brancos nos gráficos representam as árvores. Os detalhes para interpretação dos mapas estão especificados no início da secção 4.2.1.

Analisando agora o pomar de Vale Judeu (Fig. 4.22) constatou-se uma clara estratificação Norte-Sul para a AT, IM, TSS, glucose, frutose, firmeza e percentagem de sumo, conforme assinalados nos mapas. Nos restantes parâmetros, não é evidente o mesmo padrão.

Verificou-se que na zona Norte os valores de TSS, AT, frutose, glucose e firmeza mostram um padrão superior à média do pomar enquanto que a Sul o padrão é inferior. O IM por sua vez é inferior a Norte (onde os teores de ácidos são superiores) e superior a Sul. A percentagem de sumo mostra um padrão inferior à média do pomar a Norte e superior a Sul.

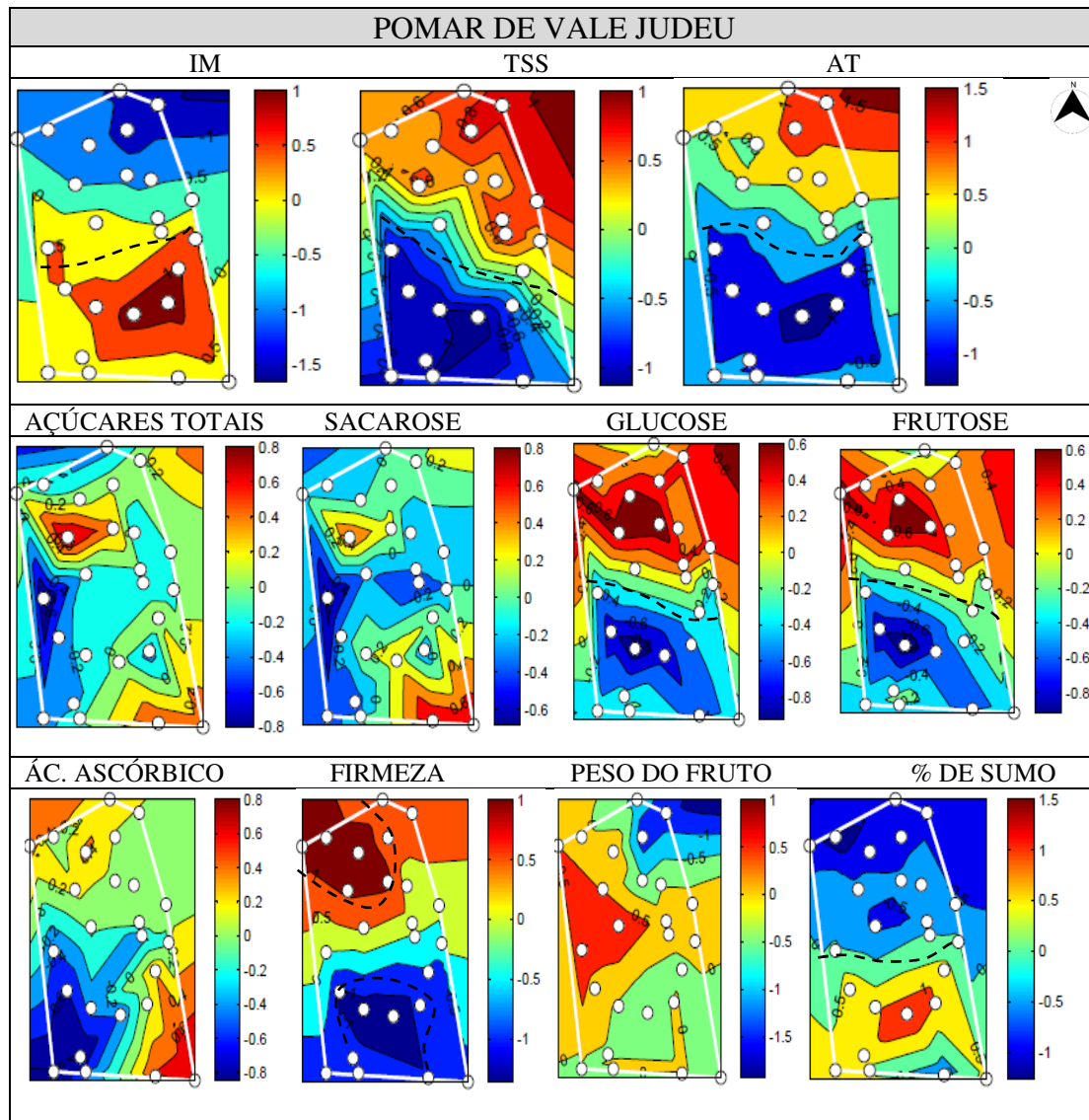


Figura 4.22. Mapas das médias de valores do desvio padrão estandardizados para IM, AT, TSS, açúcares totais, sacarose, glucose, frutose, ácido ascórbico, firmeza, peso do fruto e percentagem de sumo para o pomar de Vale Judeu. Os pontos brancos nos gráficos representam as árvores. Os detalhes para interpretação dos mapas estão especificados no início da secção 4.2.1.

Face à análise efetuada nesta secção, foi possível destacar zonas do pomar onde a variabilidade biológica é maior. Essas zonas terão sido responsáveis pela variância dos valores médios obtidos para os diversos parâmetros de qualidade.

4.3.1. Fontes extrínsecas e intrínsecas de variabilidade biológica

Todas os conjuntos de medidas obtidos em amostras biológicas revelam variabilidade a que, justamente se chama de variabilidade biológica. Por exemplo, os frutos de uma mesma árvore, medidos no mesmo dia, apresentam uma dispersão de

valores para o IM ou qualquer outro parâmetro de qualidade. Esta é a variabilidade intrínseca à própria árvore. Mas uma outra árvore do pomar, localizada num sítio mais vantajoso em termos de algum fator ambiental, pode exibir, em média, valores de IM ligeiramente superiores. Esta diferença não se explica apenas pela variabilidade intrínseca da árvore, mas pela variabilidade associada às condições do terreno. Assim, a dispersão estatística dos valores medidos para os parâmetros de qualidade terá duas causas: uma inerente apenas a cada árvore, que designaremos por variação intra-árvore e a outra, que designaremos por variação inter-árvore, ou seja, inerente ao terreno (solo, inclinação, orientação, luminosidade, nutrição, etc.).

Os mapas que se apresentaram nas secções anteriores apenas ilustram de forma explícita a variação inter-árvore, associada à sua distribuição espacial: por exemplo, podemos ler que, num dado dia, a diferença de IM entre duas árvores do pomar é 1,2 mas não temos forma de saber qual será a dispersão de valores associados a cada uma dessas árvores. Esta secção tenta resolver essa questão.

Para perceber o procedimento escolhido é preciso fazer uma pequena explicação com base na expressão do desvio padrão de uma distribuição de valores. Para facilitar a explicação tomou-se o IM como o parâmetro a medir. Naturalmente, a explicação que se segue aplica-se a qualquer outro parâmetro. O desvio padrão para os 25 valores do IM obtidos num dia específico de medição é dado por

$$\sigma_{tot}^2 = \frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2$$

em que $N=25$, x_i representa o valor do IM da árvore i ($i=1, \dots, 25$), e \bar{x} representa o valor médio do IM no pomar, nesse dia. Fazemos então a seguinte hipótese: os valores de x_i correspondem ao valor médio do IM de cada árvore (que pode ser diferente de árvore para árvore, se realmente houver variação inter-árvore) adicionado de um valor aleatório:

$$x_i = p_i + \delta_i$$

em que p_i representa o valor médio do IM da árvore i e δ_i representa uma variação aleatória em torno desse valor. Assim, a variação inter-árvore está contida em p_i e a variação intra-árvore está contida em δ_i . Note-se que δ_i é uma variável aleatória centrada em zero. Assumimos ainda que a distribuição de δ_i é igual para todas as árvores.

Se substituirmos a expressão de x_i na expressão de σ_{tot}^2 obtemos

$$\sigma_{tot}^2 = \frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N [(p_i + \delta_i) - \bar{x}]^2$$

Podemos expandir esta expressão, para obter

$$\sigma_{tot}^2 = \frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (p_i - \bar{x})^2 + \frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N \delta_i^2 + \frac{2}{N-1} \sum_{i=1}^N \delta_i (p_i - \bar{x})$$

O primeiro termo corresponde a σ_{inter}^2 , pois dá conta da variabilidade induzida por causa da localização no terreno. O segundo termo corresponde a σ_{intra}^2 , pois corresponde ao desvio padrão de uma variável aleatória de média zero. Quanto ao terceiro termo, ele deve ser muito aproximadamente nulo. Para ver isso basta notar que a variável $p_i - \bar{x}$ toma valores positivos e negativos, já que se espera que os valores médios das árvores, p_i , se distribuam acima e abaixo da média do pomar, \bar{p} . Por outro lado, a variável aleatória δ_i também toma valores positivos e negativos. Assim, o produto $\delta_i (p_i - \bar{x})$ vai tomar aleatoriamente valores positivos e negativos e a sua soma sobre as 25 árvores vai dar um valor próximo de zero. Portanto podemos escrever

$$\sigma_{tot}^2 = \sigma_{intra}^2 + \sigma_{inter}^2.$$

Como estimar então estes desvios padrão? A técnica proposta baseia-se na análise dos gráficos dos parâmetros de qualidade ao longo dos 5 dias e para cada uma das árvores. De uma forma geral, o IM varia de uma forma aproximadamente linear com o tempo. Podemos então fazer uma regressão linear entre IM e o tempo (contado em dias, a partir da primeira medição). Para cada árvore temos assim 5 pontos, que definem uma reta de regressão. Evidentemente, estas 25 retas de regressão são próximas umas das outras, mas todas diferentes. A variabilidade destas retas é também uma manifestação da variabilidade biológica. Usaremos então a variabilidade das retas para estimar σ_{intra} .

Como se pode então aferir essa variabilidade? A variabilidade total em cada dia é simplesmente dada pelo desvio padrão dos 25 valores medidos nesse dia:

$$\sigma_{tot}(\text{dia } i) = \sigma(25 \text{ valores do dia } i), \dots, i = 1, \dots, 5$$

E como se pode estimar a variabilidade do IM atribuível apenas à variabilidade intrínseca das árvores, num dado dia? Só se recolhe um fruto por árvore e por dia, pelo que a tarefa parece impossível à primeira vista. No entanto essa estimativa é possível se assumirmos: *i*) a homocedasticidade dos valores de IM para os 5 dias e *ii*) que é possível

fazer um ajuste linear entre os valores de IM e o tempo. A hipótese da homocedasticidade é a premissa que está sempre subentendida numa regressão linear simples. Neste caso quer dizer que a dispersão dos valores de IM, que obteríamos se pudéssemos medir muitos frutos da árvore, seria igual para todos os dias. Por exemplo, poderíamos obter para o primeiro dia $IM(1) = 4.4 \pm 1.5$, no segundo dia $IM(2) = 6.3 \pm 1.5$, no terceiro dia $IM(3) = 7.7 \pm 1.5$, e assim sucessivamente. Na verdade, porque o número de amostras é finito, obteríamos dispersões parecidas, mas não iguais, por exemplo, $IM(1) = 4.4 \pm 1.5$, $IM(2) = 6.3 \pm 1.4$, no terceiro dia $IM(3) = 7.7 \pm 1.8$, etc. Se assumirmos então esta hipótese, a estimativa da variabilidade intrínseca a cada árvore, em cada dia, faz-se de acordo com o princípio que está ilustrado na Figura 4.23 abaixo:

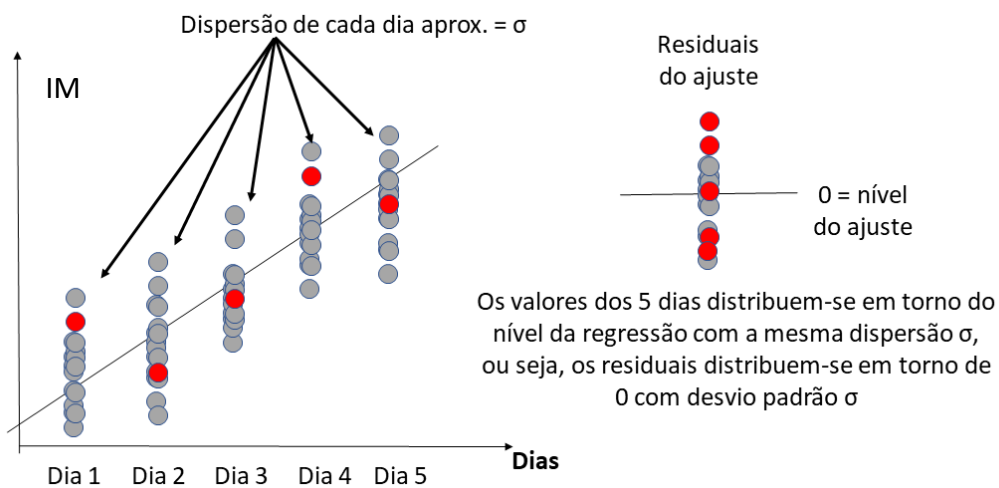


Figura 4.23. Princípio da estimativa da variabilidade intrínseca a cada árvore, referente ao índice de maturação.

A vermelho estão representados os valores medidos para uma dada árvore em cada um dos 5 dias. A cinzento estão ilustrados exemplos possíveis de amostragens da população de todos os frutos (a que não temos acesso). A hipótese da homocedasticidade é que os valores do IM vão evoluindo ao longo do tempo, mas que a dispersão dos valores em torno do valor médio se mantém constante. Por hipótese essa dispersão é caracterizada pelo desvio padrão σ . Assim, as nuvens de pontos a cinzento são aproximadamente iguais ao longo dos dias, todas com desvio padrão aproximadamente igual a σ . Resulta então da Figura 4.23 que os 5 residuais do ajuste se distribuem em torno de zero com o mesmo desvio padrão σ . Portanto, é possível estimar a variabilidade intrínseca de cada árvore calculando o desvio padrão dos residuais. Este valor será identificado com σ_{intra} . Na prática, calculou-se este valor para cada uma das 25 árvores, após o respetivo ajuste, e

depois fez-se a média dos 25 valores obtidos, para ter a estimativa mais robusta possível de σ_{intra} . Após o cálculo deste parâmetro é imediato calcular σ_{inter} :

$$\sigma_{inter}^2 = \sigma_{tot}^2 - \sigma_{intra}^2$$

As percentagens explicativas da variabilidade são calculadas com base nas variâncias ($s = \sigma^2$):

$$\begin{aligned} \%inter &= \frac{S_{inter}}{S_{tot}} \times 100 \\ \%intra &= \frac{S_{intra}}{S_{tot}} \times 100 \\ \%inter + \%intra &= 100 \end{aligned}$$

É importante ainda referir a validade das estimativas apresentadas:

- Se a hipótese da homocedasticidade não se verificar (isto é, se se verificar heterocedasticidade), então é de esperar que as estimativas para σ_{intra} se afastem da realidade, pois σ_{intra} variará de dia para dia, inviabilizando o raciocínio apresentado. No entanto, é de esperar que pequenos afastamentos da homocedasticidade não afetem muito os resultados;
- Há também a assunção da linearidade dos resultados (isto é, a linearidade dos parâmetros em ordem ao tempo). Se os resultados se afastarem muito desta hipótese, então, em certos dias, a reta de regressão poderá não passar pela nuvem de pontos cinzentos, implicando o aumento significativo dos residuais e a sobrestimação do valor de σ_{intra} . Pode mesmo verificar-se $\sigma_{intra} > \sigma_{tot}$ (ou seja, $\%intra > 100\%$), o que é absurdo face às nossas premissas. Assim, valores de $\%intra$ iguais a 100% podem revelar desvios importantes à linearidade, pelo menos num dos pontos.

Na Figura 4.24 ilustra-se o método acima descrito com um exemplo para o IM no pomar de Vale Judeu, onde o gráfico a) corresponde ao ajuste linear dos dados obtidos. As árvores que tiveram IM extremo num dos dias (mais alto ou mais baixo) são indicadas com pontos a vermelho e verde, respetivamente. As retas de regressão correspondentes estão marcadas da mesma forma. Pode assim verificar-se que há árvores que dão consecutivamente valores mais elevados (a vermelho) e outras que dão consecutivamente valores mais baixos (a verde). Isto é uma clara indicação de que há variabilidade inter-árvore significativa. No painel da esquerda (b) mostra-se a regressão aos valores do IM para a árvore 1 (aleatoriamente escolhida para esta demonstração) enquanto que no da

direita (c) mostram-se os residuais do ajuste e a estimativa de σ_{intra} para a árvore 1 através da linha a tracejado.

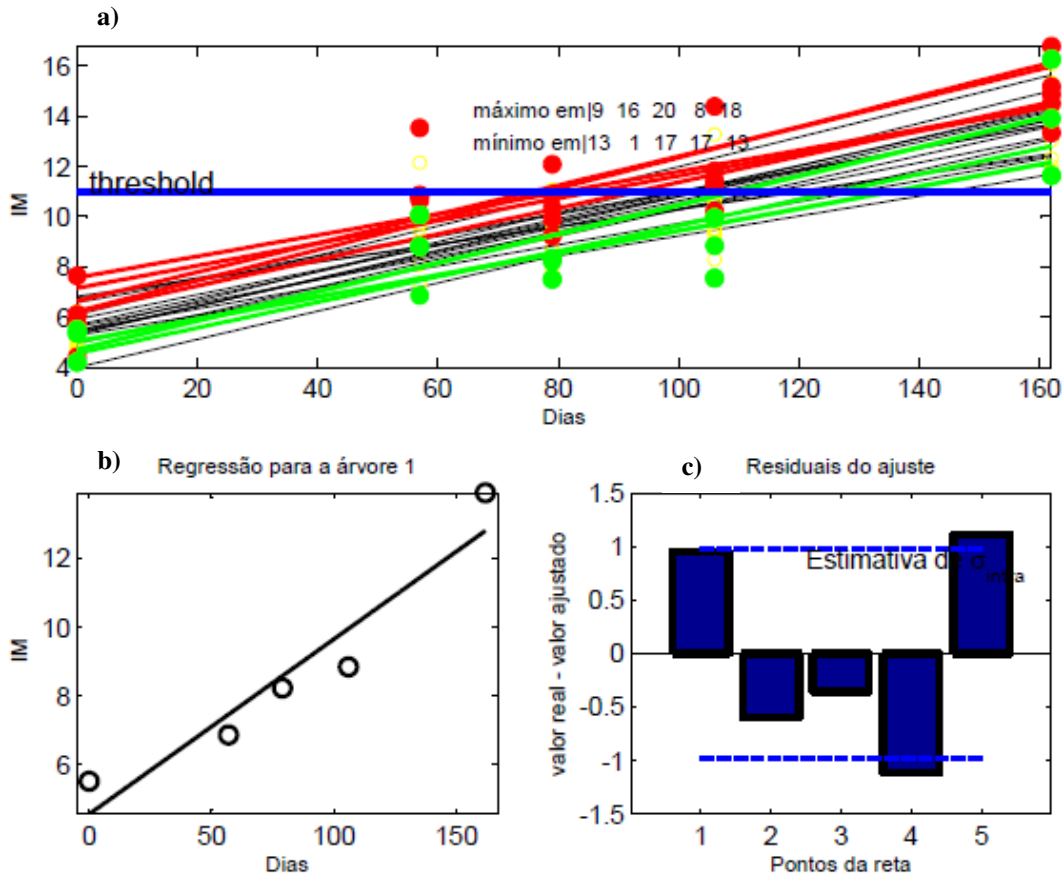


Figura 4.24. Caso particular do IM no pomar de Vale Judeu. a) ajuste linear dos valores de IM; b) regressão linear para os valores de IM obtidos na árvore 1; c) residuais de ajuste e estimativa de σ_{intra} (representado pela linha a tracejado) para a árvore 1.

A estimativa de σ_{intra} e $\sigma_{inter} = \sqrt{\sigma_{tot}^2 - \sigma_{intra}^2}$ foi efetuada para todos os parâmetros de qualidade em análise, estando representado na Figura 4.25 os resultados obtidos.

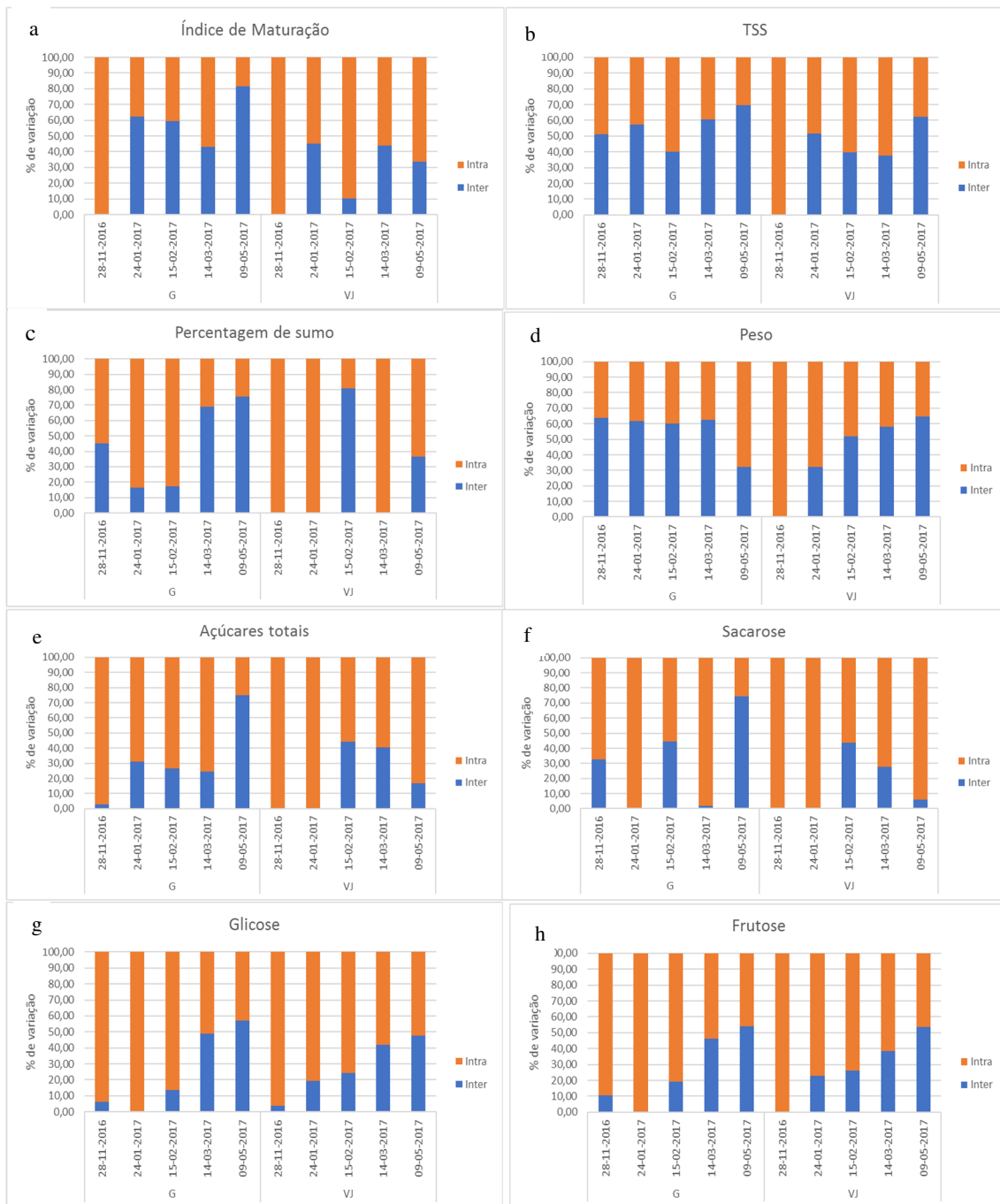


Figura 4.25. Representação gráfica da percentagem de variação intra- e inter-árvore para os dois pomares, ao longo dos cinco dias de amostragem para a) IM; b) TSS; c) Teor de Sumo; d) peso; e) açúcares totais; f) sacarose; g) glicose; h) frutose.

Em primeiro lugar é importante realçar que as estimativas apresentadas servem apenas para tirar conclusões muito gerais, pois a análise dos dados revela que há sempre desvios à homocedasticidade e/ou linearidade, embora pareçam pequenos nalguns casos. Assim, a conclusão principal a retirar é que a causa da variabilidade dos parâmetros é aproximadamente repartida entre fatores intra-árvore e inter-árvore. Isto é, no entanto,

informação adicional à que se pode ler diretamente dos mapas pois, como já se referiu, desta leitura não é possível extrair conclusões relativamente à distribuição intra/inter da variabilidade.

Em quase todos os parâmetros representados surge pelo menos um dia de amostragem que o σ_{intra} toma o valor de 100% o que indicará, portanto, um desvio à linearidade e/ou homocedasticidade para esse dia, resultando num σ_{intra} sobrestimado. Mesmo com a reserva já feita relativamente à precisão destes resultados, há casos em que emerge um padrão consistente. É o caso das figuras 4.25 g) e h), em que a glucose e a frutose demonstram um comportamento crescente da variância inter-árvore ao longo do tempo e que ainda por cima é comum aos dois pomares. Este padrão sugere que a acumulação destes açúcares ao longo do tempo se torna mais dependente das características do terreno à medida que o tempo avança. Colocado de outra forma: a acumulação inicial depende pouco do terreno, mas a acumulação final sim. Contudo, nem os açúcares totais nem a sacarose seguem tal comportamento

Ao nível dos mapas, se a variabilidade intra-árvore for importante, então espera-se que as isolinhas se tornem mais irregulares, com pequenas ilhas e contornos sinuosos. Isto será o efeito da variação errática do parâmetro de árvore para árvore. À medida que a variabilidade inter-árvore se torna mais importante as isolinhas tornam-se mais simples. Isto permite também que o padrão espacial se note melhor. Para exemplificar este ponto tomemos os mapas de frutose de Vale Judeu (figura 4.18). É possível ver que as linhas eram mais apertadas em 24 janeiro e 15 de fevereiro e mais largas em 14 março e 9 de maio. Assim, o padrão espacial emergiu de forma mais simples e direta nos dois últimos dias. Mesmo dentro dos dois últimos dias, as duas ilhas observadas em 14 de março esbatem-se para um contínuo em 9 de maio.

Na maior parte dos outros parâmetros, no entanto, não se observa um padrão tão interpretável. Resta apenas a indicação que as variabilidades se repartem tipicamente em 50/50 % no que diz respeito às causas intra-árvore e inter-árvore.

4.3.2. Georreferenciação como ferramenta para a previsão da evolução dos parâmetros de qualidade no pomar

As regressões que usámos na última secção podem ser usadas de outra forma. Na figura 4.26 representam-se simultaneamente as regressões relativas às 25 árvores.

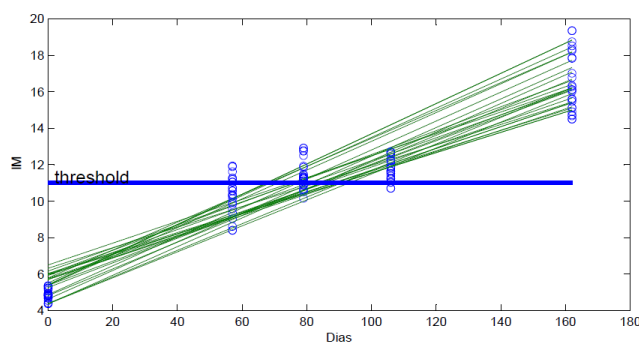


Figura 4.26. Regressão linear para o IM.

O valor da ordenada na origem tem o significado de valor médio da árvore no dia inicial das medidas. É uma extrapolação a partir da regressão linear que pode estar um pouco sobrestimada no caso do gráfico apresentado acima (Figura 4.26). O declive das retas têm significado de taxa de variação dos parâmetros (em unidade de parâmetro/dia, exemplo, IM/dia, °Brix/dia), o que permitiu a construção dos mapas que se apresentam de seguida. Dos quatro mapas que são apresentados, o primeiro representa os valores médios do parâmetro estimados ao tempo zero (início do acompanhamento do pomar), a taxa de variação (obtido como explicado anteriormente), o número de dias para atingir o limiar definido e por fim atraso do parâmetro em estudo (representado por *time shift* nos mapas) relativamente à média, para várias zonas do pomar. De notar que o tempo zero, corresponde ao final do mês de novembro e que a época comercial para esta variedade é de fevereiro a abril.

Podem ser definidos outros limiares (*thresholds*) que se considerem adequados para a análise que se pretenda efetuar. Com estes mapas, é possível acompanhar a evolução espacial dos parâmetros de maturação, ao longo do tempo, num pomar com vista a adequar práticas culturais e até estratégias de colheita. A definição de outros limiares vai modificar o aspeto dos mapas indicativos dos dias para atingir o limiar definido bem como os tempos de atraso/adiantamento do parâmetro de qualidade em causa. Nesta secção, de todos os parâmetros estudados, optou-se por analisar que se consideram decisivos para a data ótima de colheita, sendo o índice de maturação, o teor de sólidos solúveis, a acidez titulável e a firmeza.

Assim, a Figura 4.27, mostra a evolução do Índice de Maturação nos pomares tendo sido definido o limiar de 11, que corresponde ao valor indicado na Norma IGP (Uniprofrutal, 2003).

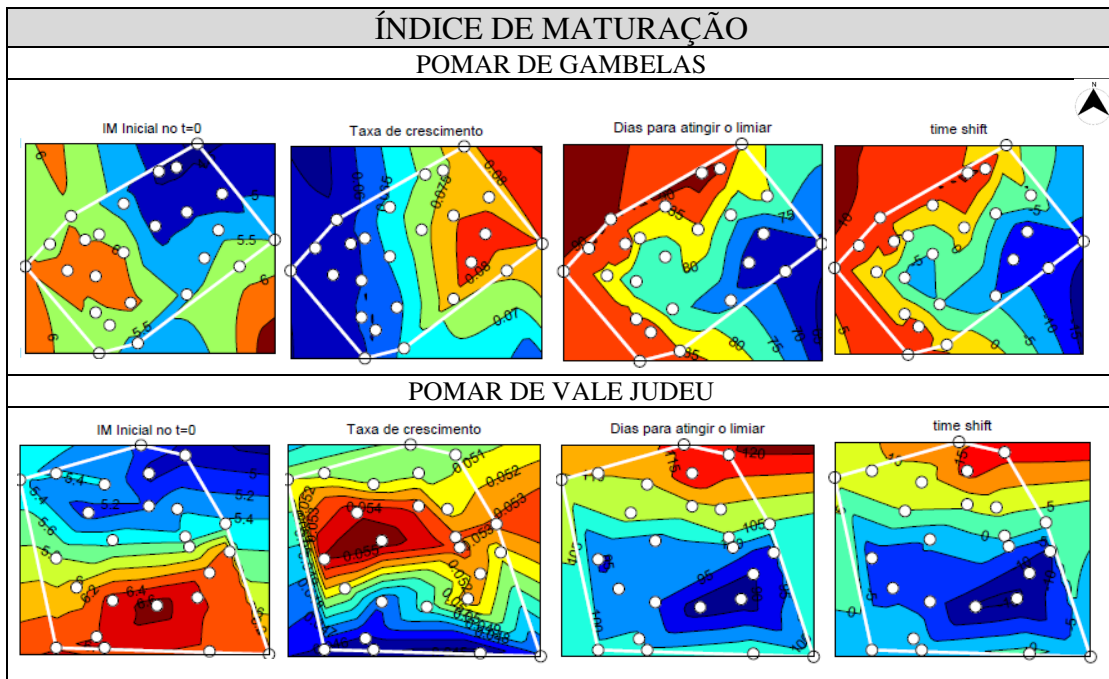


Figura 4.27. Mapeamento da progressão do IM nos pomares de Vale Judeu e Gambelas. Os pontos brancos nos gráficos representam as árvores. Os detalhes para interpretação dos mapas estão especificados no início da secção 4.2.1.

No tempo zero, ou seja na data em que se iniciou a amostragem, verificou-se que o IM é superior a Oeste e inferior a Este em Gambelas enquanto que em Vale Judeu seguia uma divisão Norte-Sul, sendo o parâmetro superior a Sul. Quanto à taxa de evolução, esta tende a ser superior onde o parâmetro era inicialmente mais baixo, como se fosse um modo de “compensar” a área do pomar onde o IM era inferior. Isto significa que no pomar de Gambelas o IM progrediu mais rapidamente a Este e no de Vale Judeu tende mais rapidamente a Norte. Definido o limiar de 11, por ser um valor de interesse para esta variedade incluída nos ‘Citricos do Algarve’ IGP, ou outro que se mostre conveniente, é possível verificar onde é que é atingido mais cedo ou mais tarde (mapa “dias para atingir o limiar”) e, finalmente, quantos dias de atraso/adiantamento é que os frutos vão ter em relação à média do pomar.

O índice de maturação é atingido mais cedo na zona Este do pomar de Gambelas, demorando 70-75 dias após o início das amostragens, tendo os frutos desta zona um avanço de 5 a 10 dias relativamente à média. Por outro lado, é no perímetro Norte e Oeste do pomar onde o limiar é atingido mais tarde (90-80 dias), pois a taxa de crescimento também é menor com um atraso que pode ir até 5 a 10 dias. Em Vale Judeu, verifica-se que as árvores situadas a Sul demoram entre 90 e 100 dias até atingir aquele IM enquanto que a Norte demoram 105 a 115 dias. No mapa do atraso, verifica-se que a Sul os frutos

estão adiantados entre 5 a 15 dias enquanto que a Norte estão atrasados no mesmo número de dias.

Esta análise permite acompanhar dois pomares da mesma variedade e perceber a evolução espacial dos parâmetros com vista à tomada de decisão de operações culturais, como é o caso da colheita. Neste caso em particular, o IM é atingido em primeiro lugar no pomar de Gambelas, prevendo-se à partida a possibilidade de uma colheita antecipada neste pomar.

O conhecimento dos dias de atraso e adiantamento do parâmetro bem como valor da taxa de variação, permitirá aguardar um determinado número de dias com vista à melhor homogeneização do IM no espaço. Isto significa que se o parâmetro ainda está muito atrasado num determinado ponto, aguardar algum tempo poderá não prejudicar a qualidade dos frutos noutra ponto onde o IM esteja mais adiantado. Melhor, poderá ajudar a prever se determinada área do pomar pode aguardar por outra mais atrasada e, se sim, por quanto tempo. É também importante perceber se a área da parcela ocupada por essa zona mais atrasada justifica o adiamento da colheita. Isto parece ser útil em parcelas de menor área onde não se justifique uma colheita faseada tendo em conta os custos inerentes com toda a logística e mão de obra associada. Em parcelas maiores, poderá ajudar na tomada de decisão de uma colheita faseada com a devida ponderação dos custos associados.

No entanto, é importante referir que o exercício de previsão realizado é apenas uma simulação, *a priori*, com os dados recolhidos. Para fazer uma previsão seria necessário ter mais dados antes do período esperado para a colheita. No nosso caso, os primeiros dados foram colhidos aos 0 e 60 dias. Seria necessário ter dados aos 20 e 40 dias também, fazer a regressão aos pontos e extrapolá-las até ao valor de limiar. Os resultados obtidos sugerem que este programa é exequível e que pode gerar mapas de maturação com a antecedência adequada.

À semelhança do IM e baseado no que já foi anteriormente explicado, para o TSS foi definido o limiar de 11° Brix, por ser o valor constante da norma IGP (Uniprofrutal,2003). Na Figura 4.28 constam os mapas para ambos os pomares. À semelhança do que foi afirmado para o índice de maturação, as zonas do pomar com maior taxa de variação são aquelas onde o TSS era inicialmente mais baixo. Os frutos do pomar de Gambelas demoram entre 50 a 70 dias para atingir o limiar, o que se traduz num adiantamento em relação à média de 10 dias para os frutos que o atingem mais rapidamente e um atraso entre 10 a 20 dias, para os frutos que progredem mais lentamente.

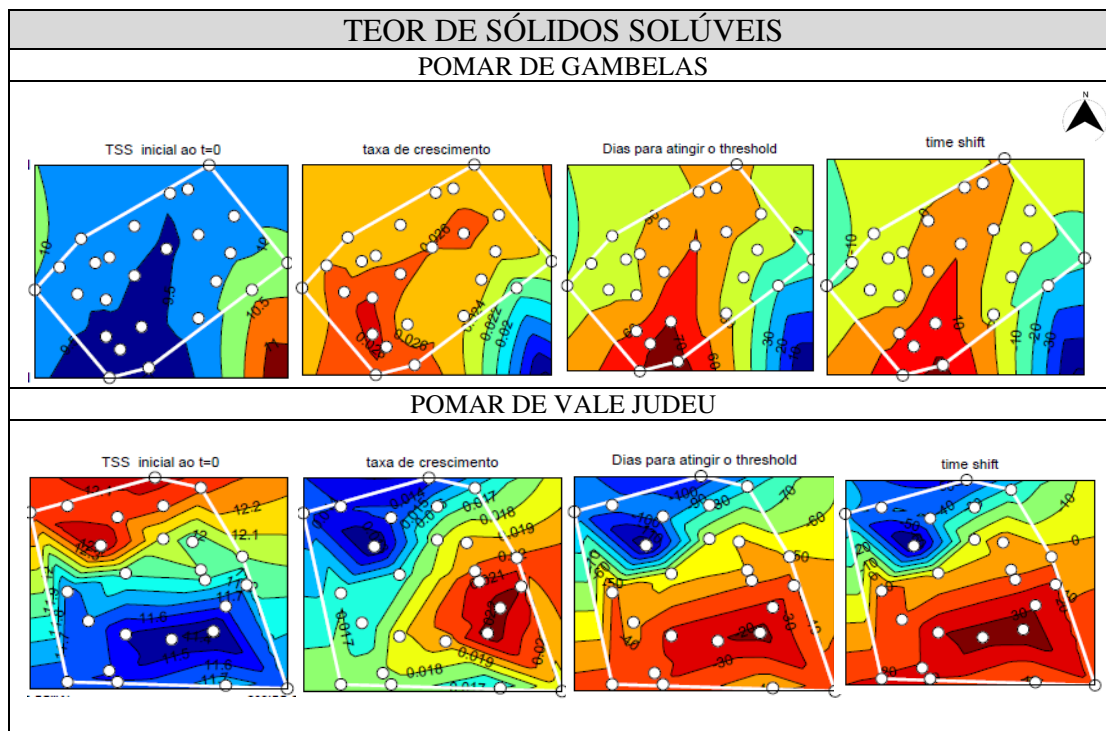


Figura 4.28. Mapeamento da progressão do TSS nos pomares de Vale Judeu e Gambelas. Os pontos brancos nos gráficos representam as árvores. Os detalhes para interpretação dos mapas estão especificados no início da secção 4.2.1.

Verificou-se que desde o início das análises, os frutos do pomar de Vale Judeu já tinham atingido o valor de 11 °Brix, ao contrário do que aconteceu em Gambelas, onde o TSS estava entre 9.5 e 10 °Brix. Como o limiar já tinha sido atingido, todos os números de dias para o limiar são negativos. Isto implica que a escala de cores surge invertida nos dois mapas da direita de Vale Judeu. A zona norte terá então atingido primeiro o limiar, pois os números de dias para atingir o limiar são aqui mais negativos.

No pomar de Gambelas, a taxa de variação é mais uniforme no espaço e varia entre 0.024 e 0.028 °Brix/dia enquanto que em Vale Judeu varia entre 0.013 e 0.022 °Brix/dia. Apesar da taxa superior em Gambelas, este pomar parte de valores de TSS inferiores, conforme já referido, o que se traduz num maior atraso deste pomar para este parâmetro.

Prosseguindo na análise com a Acidez Titulável, o limiar foi estipulado como 1 g de ácido cítrico por 100 ml de sumo, atendendo aos valores do IM e do TSS (11 e 11° Brix, respetivamente). Os mapas estão representados na Figura 4.29.

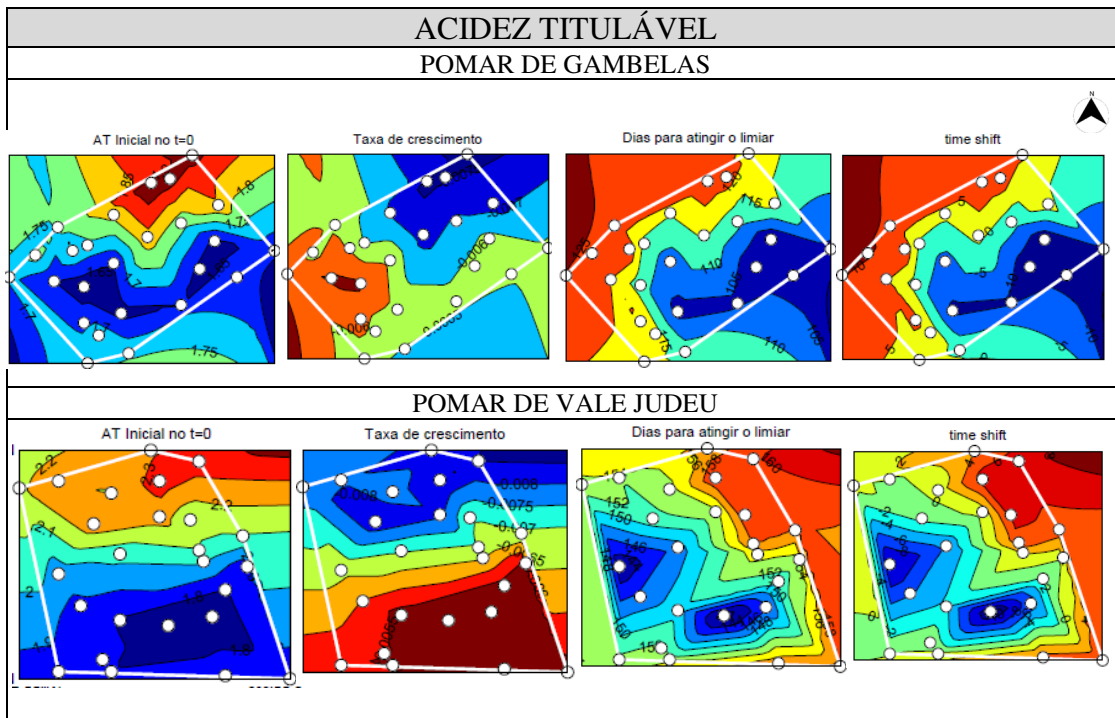


Figura 4.29. Mapeamento da progressão da AT nos pomares de Vale Judeu e Gambelas. Os pontos brancos nos gráficos representam as árvores. Os detalhes para interpretação dos mapas estão especificados no início da secção 4.2.1.

No pomar de Gambelas, a AT no tempo zero é superior no extremo Norte do pomar e inferior no restante na restante área. Como o AT diminui, a taxa de variação é negativa. Os valores a azul correspondem a taxas mais negativas, ou seja, com decréscimo mais intenso, o que acontece no extremo Norte onde a AT era inicialmente superior. Analisando o número de dias até ser atingido o valor de 1 g de ácido cítrico por 100 ml de sumo, verifica-se que na área assinalada a tracejado, em tons de azul, 115 a 120 dias. Na restante área, são necessários 105 a 110 dias até ser atingido o limiar, com 10 dias de adiantamento relativamente à outra área identificada, em que só é atingido 5 dias depois.

Em Vale Judeu, a acidez titulável é menor a Sul e superior na zona Norte do pomar sendo que a taxa de progressão do parâmetro é superior a Norte. Verifica-se a tendência, já constatada nos dois parâmetros analisados acima, TSS e IM, que a taxa de evolução do parâmetro tende a ser superior na zona onde este é inicialmente menor, no $t=0$. Existem dois pontos no mapa, a Sul e a Oeste onde o limiar é atingido mais cedo (cerca de 144-146 dias) e existe uma zona a Nordeste que demora 156 -158 dias a atingir aquele limiar. Representa até 8 dias de adiantamento nas zonas Sul e Oeste e até 6 dias de atraso na zona Nordeste.

Para a AT, os dois pomares apresentam taxas de crescimento semelhantes, contudo em Vale Judeu são necessários mais dias para atingir o valor definido como limiar tendo em conta que inicialmente este pomar apresentava valores superiores de acidez titulável.

Comparando mais uma vez as Figuras 4.27 (IM), 4.28 (TSS) e 4.29 (AT), verificaram-se semelhanças entre os mapas do IM e da AT, para os respetivos pomares, uma vez que já foi verificado na secção 4.2.1 onde se analisou a distribuição destes parâmetros no espaço, ao longo dos cinco momentos analisados.

Na Norma IGP constam as características mínimas para que os frutos sejam comercializados sob a designação de ‘‘Citrinos do Algarve’’. A firmeza, ou dureza como lá é referido, não assume um valor quantificável, mas sim que os frutos devem ter, e cita-se ‘‘...boa consistência...’’ (Uniprofrutal, 2003), pelo que para esta análise definiu-se o valor de 150 N para o limiar. Desconhece-se se será um valor adequado ou que deva figurar da Norma, aliás como já sugerido (Pires *et al.*, 2016), uma vez que não foram efetuados estudos para tal. Assim, foi o valor considerado para prosseguir com esta análise, para este parâmetro, cujos mapas constam na Figura 4.30.

Antes de mais, importa ressaltar o segundo dia de amostragem (24-01-2017, correspondente aos 57 dias) não foi considerado no cálculo das taxas de crescimento em virtude de se ter desviado da tendência natural da evolução da maturação.

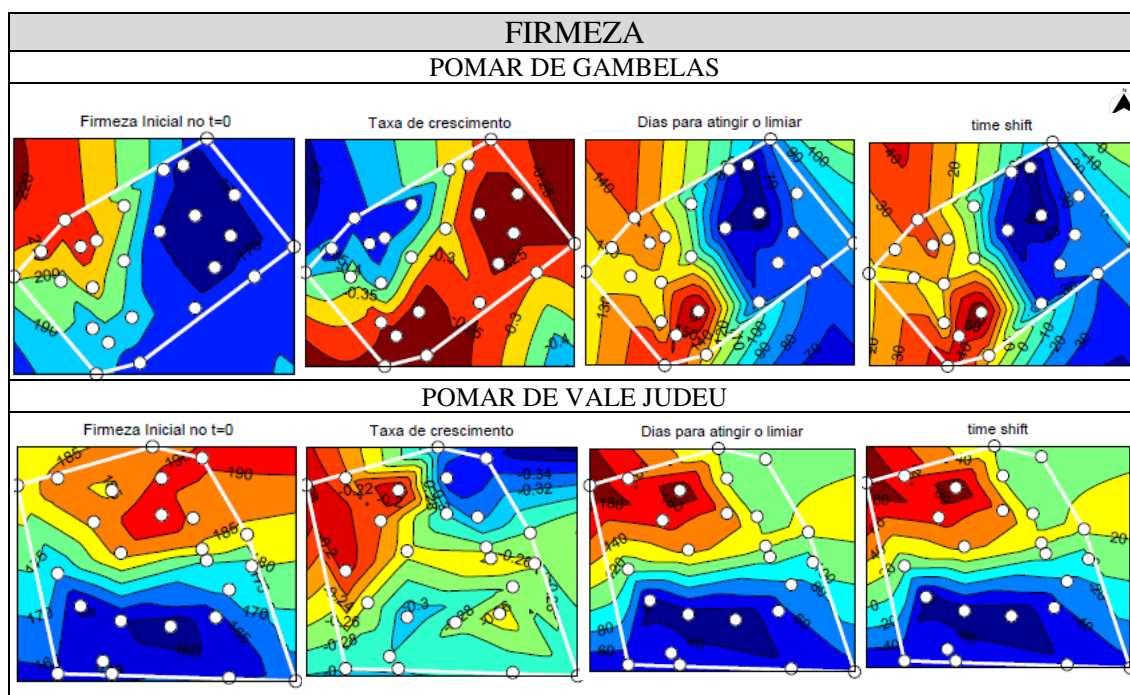


Figura 4.30. Mapeamento da progressão da Firmeza nos pomares de Vale Judeu e Gambelas. Os pontos brancos nos gráficos representam as árvores. Os detalhes para interpretação dos mapas estão especificados no início da secção 4.2.1.

Nos parâmetros anteriormente descritos, constatou-se que nos mapas de Vale Judeu existe sempre uma maior heterogeneidade de isolinhas, isto é, tende a haver uma divisão em mais zonas com diferentes valores atribuídos. A firmeza no pomar de Gambelas parece fugir a esta tendência, sobretudo nos últimos dois mapas.

Verificou-se no mapa do pomar de Gambelas, da figura 4.30 que é na zona Oeste e Sul do pomar que o decréscimo da firmeza tem uma taxa inferior. Para atingir o limiar de 150 N, é mais demorado na zona Oeste (podendo chegar a 100 dias após o início das amostragens) do que na zona Sul do pomar (cerca de 120-150 dias), onde os frutos já eram inicialmente menos firmes. A zona Oeste apresenta um atraso de 20 a 40 dias enquanto que a zona Sul do pomar apresenta um adiantamento que pode atingir 60 dias em relação à média.

A firmeza dos frutos em Vale Judeu é inicialmente superior a Norte e inferior a Sul, conforme assinalado no mapa da Figura 4.30. As zonas de menor e maior taxa de crescimento surgem na zona Norte do pomar, sendo na zona Sul demora 40 a 80 dias, após início das amostragens, até que a firmeza atinja 150 N, representando um adiantamento que vai até 60 dias, sendo que a Norte demora 120 a 180 dias, o que se traduz num atraso que pode ir até 60-80 dias.

Analisados os mapas do IM, AT, TSS e firmeza, importa destacar:

- No pomar de Vale Judeu, no tempo inicial (ou seja, final de novembro, dois meses antes da época comercial) já o TSS tinha atingido o valor mínimo indicado na Norma IGP, pelo que dali em diante é a acidez titulável que vai definir o tempo que demora a atingir o valor mínimo do índice de maturação.

- O pomar de Gambelas atinge o IM e TSS mínimos para comercialização da ‘Ortanique’ sob designação de ‘Citricos do Algarve’” mais cedo, apesar de o TSS ser inferior ao do pomar de Vale Judeu no tempo zero pois a AT demora menos tempo a diminuir.

- Importa considerar a firmeza dos frutos. Os dois pontos anteriores podem perder importância caso haja uma perda de firmeza dos frutos. Em Gambelas o valor de firmeza indicado (150 N), é atingido logo ao fim de 70-90 dias após início das amostragens enquanto que em Vale Judeu é de 90-100 dias, o que reforça a importância de colher os frutos primeiro em Gambelas, sobretudo se o tempo a aguardar pelo IM e/ou TSS for próximo daquele número de dias. Uma perda abrupta de firmeza pode levar a que os frutos

sejam colhidos antes de atingidos os índices mínimos, levando a perdas de qualidade organoléptica e económica, dado que já não são passíveis de ser comercializados sob a insígnia da Norma IGP. Menciona-se ainda que poderão ter uma menor aceitação por parte do consumidor dado que associará a perda de firmeza a uma menor qualidade interna, situação esta que levará a uma diminuição do preço de comercialização. Esta questão da firmeza releva, mais uma vez, a importância de quantificar a firmeza e de alterar a Norma IGP no sentido de incluir um valor que com certeza variará com as variedades de citrinos (Pires *et al.*, 2016).

4.4. Métodos não destrutivos para determinação da qualidade interna de ‘Ortanique’

No capítulo 3 ficou patente a variabilidade dos frutos que existe dentro da mesma variedade, pomar e árvore. Diferentes zonas do pomar e a mesma árvore, produzem frutos com diferentes níveis para os diversos parâmetros de qualidade avaliados. Toda esta variabilidade depende de um grande número de fatores, como o período de floração, a posição do fruto na copa, o tipo de inflorescências que alimentam o fruto, etc. Uma análise não destrutiva permitirá selecionar frutos de forma mais extensiva e rápida, de acordo com as suas características de qualidade, reais e individuais, para que vão de encontro aos padrões de qualidade interna que o consumidor procura.

4.4.1 - Aquisição de espectros de refletância de ‘Ortanique’, com o fruto na árvore

A figura 4.31 mostra os espectros típicos de refletância difusa (expressa em percentagem) de 25 frutos obtidos na árvore e no pomar.

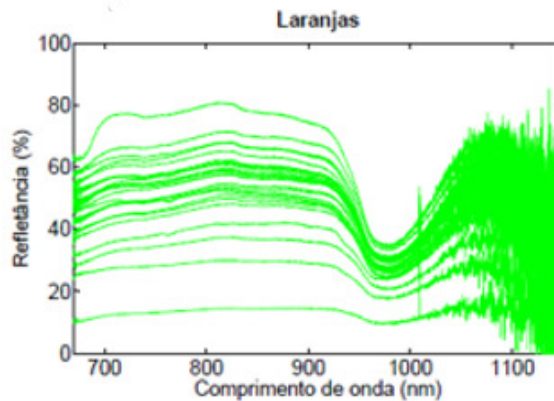


Figura 4.31. Espectros de refletância, expressa em percentagem, de 25 laranjas.

Observou-se um patamar até cerca 950 nm em que a refletância varia de cerca de 10% a 80%. Depois, surgiu uma zona de diminuição abrupta da refletância, comum a todos os frutos e que se situa perto dos 980 nm onde ocorre uma maior absorção de luz, devido a uma banda de absorção de água (Golic *et al.*, 2003).

4.5. Construção de modelos para a previsão não destrutiva de parâmetros de qualidade em ‘Ortanique’

Dos vários parâmetros de qualidade a prever com recurso à espectroscopia Vis-IVP, optou-se por ilustrar em pormenor as fases para a construção de um modelo para o Índice de Maturação, com as devidas representações gráficas. Para os demais parâmetros, a informação foi reunida sob a forma de tabela para facilitar a interpretação dos resultados.

4.5.1. Caso específico: a construção e análise detalhada do modelo para o Índice de Maturação

Na secção 4.4.1 discutiu-se a metodologia para a aquisição dos espectros com o fruto na árvore. Uma vez recolhidos os espectros, importa retirar deles a informação necessária para a previsão dos parâmetros de qualidade e esse procedimento não é imediato. Inicialmente, o espectro passa por alguns tratamentos prévios, designados por pré-processamento e que são essenciais para remover informação não relevante para a regressão, tal como efeitos de dispersão da luz (*scattering*), ruído instrumental ou efeitos ambientais (Nicolai *et al.*, 2007). Recorde-se que, tal como foi descrito, na secção dos

procedimentos experimentais, foram eliminados espectros que demonstraram ter sido contaminados com a luz solar durante a aquisição dos mesmos.

A transformação mais habitual é a absorvância (ABS) que é $\log \frac{1}{R}$. No caso específico do modelo para IM, o pré-processamento do espectro incluiu o MSC, um algoritmo de normalização para compensar efeitos aditivos e multiplicativos dos espectros causados por efeitos físicos, como é o caso da dispersão da luz, que é não uniforme, pois depende do comprimento de onda da radiação e do índice de refração do meio. Com esta metodologia, assegurou-se que os espectros são centrados ao valor médio do conjunto das amostras através de uma transformação linear. As derivações de segunda ordem também são utilizadas para remover variações da linha de base (*baseline*) ou picos sobrepostos e também podem corrigir efeitos multiplicativos e aditivos. Neste caso particular, utilizou-se a derivada de Norris (Norris, 2001; Pasquini, 2018). Existem outras, como a *Spline* e a *Savitzky-Golay* (SAVGOL) (de Boor, 1980; Wang *et al.*, 2015). Contudo, a derivação teve efeitos indesejáveis, que podem ser vistos perto dos 700 e dos 900 nm. Trata-se de uma amplificação do ruído nessas franjas do espectro (Nicolăi *et al.*, 2007). Utilizou-se ainda a transformação de remoção do contínuo (CR - *continuum removal*). Esta transformação destina-se a aumentar o contraste relativo à informação de picos de absorção pouco intensos e estreitos quando estão inseridos em picos mais largos e intensos. Para isso, o algoritmo estima o provável fundo na ausência dos picos mais intensos e referencia os picos menos intensos a esse fundo (Mutanga *et al.*, 2004).

Para avaliar a potencialidade das transformações testadas contruíram-se figuras como 4.32. O gráfico 4.32 a) mostra os gráficos transformados. Neste gráfico, tal como nos gráficos inferiores, as curvas/pontos a verde representam as amostras com IM mais baixo, o vermelho está reservado para as amostras com IM mais elevado e o azul para as amostras com valores intermédios. O gráfico 4.32 b) mostra a correlação entre os valores do IM e os espectros transformados em função do comprimento de onda. A curva a vermelho representa a habitual correlação de Pearson e a curva a azul representa a correlação de Spearman, ou de *rank*, que é baseada apenas na relação entre os valores de x e y ordenados de forma crescente, e que é mais robusta face a relações não-lineares (embora neste trabalho não se tenha detetado qualquer vantagem no seu uso). O gráfico 4.32 c) mostra a relação entre o IM (ordenadas) e o espectro transformado, no comprimento de onda onde se verifica maior correlação de Pearson (abscissas). Neste caso a maior

correlação (em módulo) é negativa, nomeadamente, -0.84 aos 788 nm em Vale Judeu, e -0.83 aos 791 nm em Gambelas. A pequena variação de comprimento de onda (3 nm apenas) não é significativa, e esse foi também um critério para escolher uma dada transformação: tem de originar um perfil de correlação consistente os dois pomares. Finalmente, a figura 4.32 d) mostra o gráfico das refletâncias transformadas no comprimento de onda com correlação mais negativa (ordenadas) versus as refletâncias transformadas no comprimento de onda com correlação mais positiva (abscissas). Se a transformação originar correlações significativas com os valores de IM, os gráficos inferiores tendem a mostrar uma separação clara entre os valores de IM altos e baixos. Com efeito, verifica-se que os pontos verdes e vermelhos estão, de uma forma geral, relativamente bem separados.

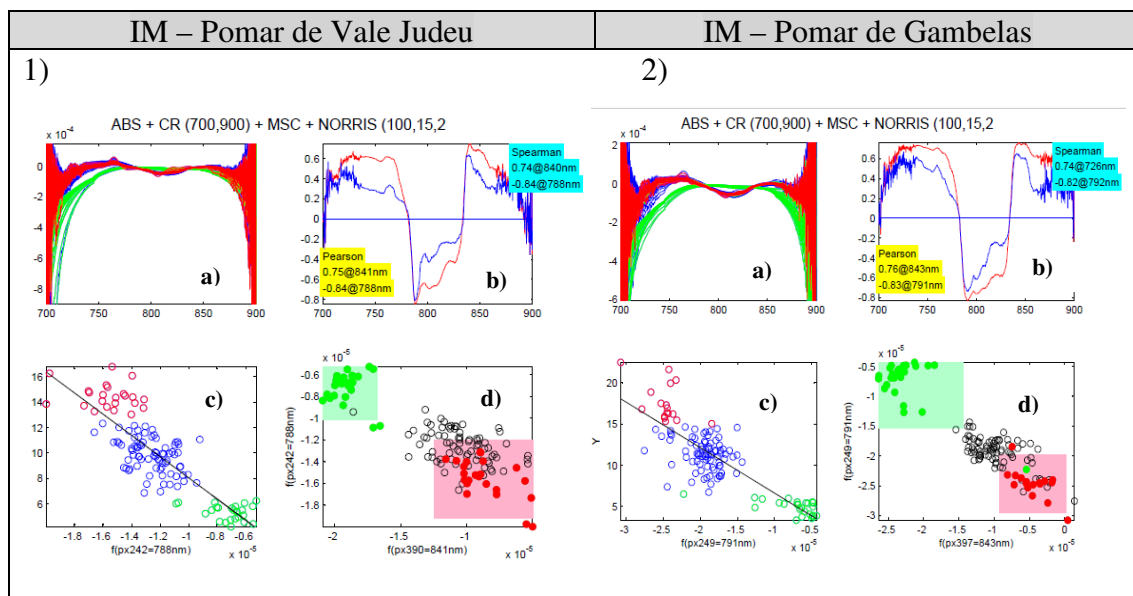


Figura 4.32. Transformação dos espectros para o IM do pomar de Vale Judeu (1) e de Gambelas (2); a) espectros transformados; b) perfil de correlação com o IM; c) IM vs. Valor do espectro transformado no comprimento de onda com maior correlação absoluta; d) valor do espectro transformado no comprimento de onda com maior correlação positiva vs. valor do espectro transformado no comprimento de onda com maior correlação negativa. O título dos gráficos indica o pré-processamento usado. As abreviaturas estão indicadas no texto.

Escolhida a transformação dos espectros medidos, seguiu-se a construção do modelo com recurso ao PLS. A tabela 4.1, apresenta os valores médios, desvio padrão e gama de variação para os vários parâmetros, obtidos destrutivamente, para os conjuntos

de dados utilizados na construção dos modelos. Estes parâmetros estatísticos são úteis para análise dos modelos que se seguem.

Apresentam-se os resultados dos modelos em duas etapas. Em primeiro lugar apresentam-se os resultados obtidos com base na habitual validação interna, em que os frutos usados na calibração e validação vêm do mesmo pomar. Seguem-se os resultados obtidos através de validação externa, em que calibração e validação provêm respetivamente de pomares diferentes (Fig. 3.5).

Tabela 4.1. Média, desvio padrão e gama de variação dos conjuntos de dados utilizados para construção dos modelos para os diversos parâmetros.

Parâmetro	Pomar	Média	Desvio-Padrão	Gama
AT (g Ácido Cítrico/100 mL sumo)	Gambelas	1,24	0,46	0,60-2,68
	Vale Judeu	1,52	0,47	0,86-2,83
	Gambelas + Vale Judeu	1,38	0,49	0,60-2,83
TSS (%)	Gambelas	11,6	1,6	7,3-15,1
	Vale Judeu	13,3	1,2	10,4-16,8
	Gambelas + Vale Judeu	12,4	1,6	7,3-16,8
IM	Gambelas	10,7	4,1	3,3-22,5
	Vale Judeu	9,5	3,1	4,2-16,8
	Gambelas + Vale Judeu	10,2	3,7	3,3-22,5
Firmeza (N)	Gambelas	146,0	39,4	63,8-300,0
	Vale Judeu	142,3	35,7	69,0-234,4
	Gambelas + Vale Judeu	144,2	37,6	63,8-300,0
pH do sumo	Gambelas	3,4	0,3	2,7-3,9
	Vale Judeu	3,3	0,2	2,9-3,9
	Gambelas + Vale Judeu	3,3	0,3	2,7-3,9
[Sacarose] (g/100 mL sumo)	Gambelas	5,55	1,60	1,64-10,44
	Vale Judeu	6,01	1,78	2,12-11,23
	Gambelas + Vale Judeu	5,77	1,70	1,64-11,23
[Açúcares totais] (g/100 mL sumo)	Gambelas	9,44	2,04	4,65-15,23
	Vale Judeu	10,97	2,25	6,68-17,72
	Gambelas + Vale Judeu	10,18	2,27	4,65-17,72
[Ácido Ascórbico] (mg/100 mL sumo)	Gambelas	12,70	3,53	2,34-20,22
	Vale Judeu	13,29	3,09	3,97-19,46
	Gambelas + Vale Judeu	12,98	3,33	2,34-20,22

4.5.1.1 Validação Interna

Iniciaremos agora a apresentação dos modelos. O primeiro passo consiste em fazer a validação cruzada do conjunto de calibração. A figura 4.33 representa o número de variáveis latentes para o modelo de validação interna para o pomar de Vale Judeu, que neste caso são 4, pois é com este número que se minimiza o erro da validação cruzada. O modelo para Gambelas tem 3 variáveis latentes e o modelo no caso global precisa de 5 variáveis latentes para captar a variância máxima dos dados.

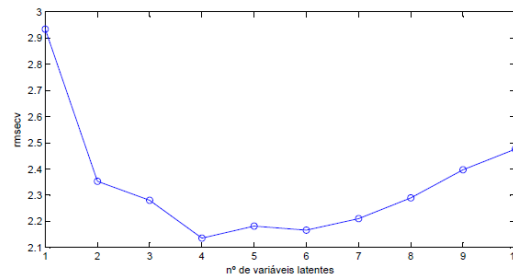


Figura 4.33. Gráfico do erro da validação cruzada em função do número de variáveis latentes, para o pomar de Vale Judeu.

A figura 4.34 apresenta os resultados para a previsão do IM, quando se recorreu à validação interna em cada pomar. Após a obtenção do modelo, este foi validado com os restantes 20% de dados que não entraram na calibração, mas que pertencem ao mesmo pomar e foram recolhidos na mesma altura/época de colheita (Cozzolino *et al.*, 2011) Testou-se ainda a validação interna para previsão do IM de ‘Ortanique’ utilizando nos conjuntos de calibração e validação dados de ambos os pomares, para verificar qual o comportamento do modelo quando submetido a frutos provenientes de Gambelas e de Vale Judeu.

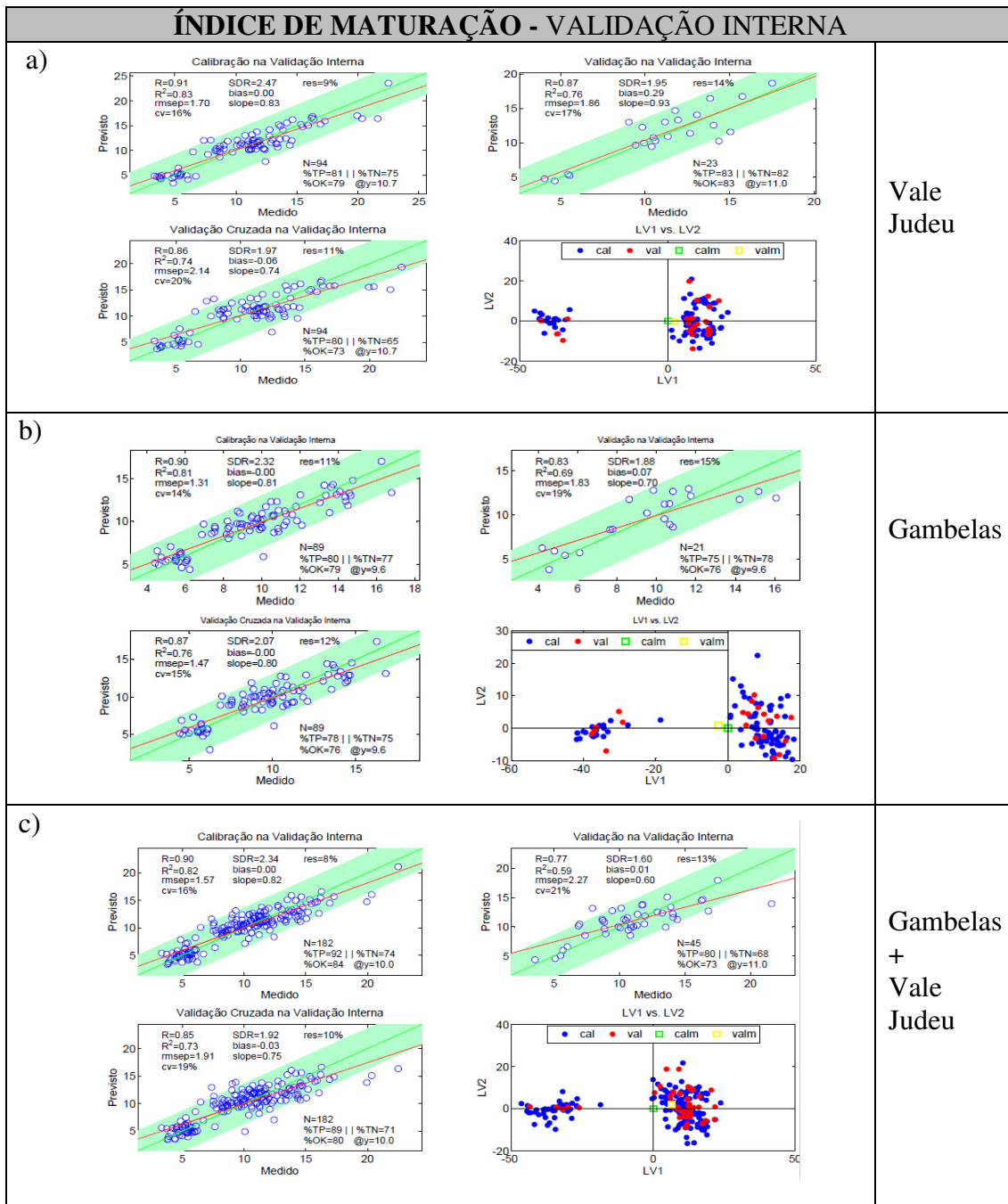


Figura 4.34. Representações gráficas da validação cruzada, calibração, validação interna e variáveis latentes para a) pomar de Vale Judeu, b) pomar de Gambelas e c) ambos os pomares. calm – ponto médio do conjunto de calibração; valm – ponto médio do conjunto de validação

Nos gráficos da figura 4.41, no eixo das ordenadas está representado o valor de IM previsto pelo modelo e nas abcissas o valor de IM calculado pelos métodos padronizados. A linha a verde representa o caso ideal, ou seja, em que o valor previsto do IM é igual ao valor medido enquanto que a zona sombreada, também a verde, corresponde a +/- 1 desvio padrão relativamente à média. Nos gráficos, constam ainda os parâmetros

estatísticos que permitem analisar a precisão do modelo. Os três gráficos “previsto” vs “medido” correspondem às três etapas da construção/validação de um modelo: a) validação cruzada no conjunto de calibração, para determinar os parâmetros do modelo (figura inferior esquerda); b) calibração, que consiste na aplicação do modelo determinado na validação cruzada a todo o conjunto de calibração (figura superior esquerda); c) validação, que é a aplicação do modelo ao conjunto de validação (figura superior direita).

A validação interna de Vale Judeu é a que apresenta a melhor correlação entre os dados previstos e medidos ($r=0,87$) e também a maior variância explicada ($R^2=0,76$). O declive da reta de regressão é muito próximo de 1 (0,93), sendo das três validações a que apresenta melhor declive. O erro de previsão da validação (RMSEP) do modelo para o pomar de Vale Judeu é de 1,86, ligeiramente superior ao de Gambelas (1,83), enquanto que o RMSEP do modelo para o IM calibrado com os frutos dos dois pomares é o maior, de 2,27. Ainda assim, é no pomar de Vale Judeu que o modelo apresenta um maior enviesamento dos valores previstos, mas de apenas 0,29, pelo que é pequena a diferença entre a média medida e a média prevista.

A calibração com dados de Gambelas e a calibração com dados de Gambelas + Vale Judeu têm em comum a mesma gama de valores de IM (conforme tabela 4.1) contudo a previsão dos frutos de Gambelas é mais precisa do que a previsão dos frutos do conjunto dos dois pomares. Este facto poder-se-á dever à heterogeneidade existente entre os frutos dos dois pomares, sugerindo que, de futuro, o conjunto de calibração deverá ter um maior número de dados provenientes de Gambelas e de Vale Judeu. É importante que a gama de calibração do parâmetro a medir seja homogénea.

Cv e res medem a resolução do modelo, isto é, a relação entre a magnitude do erro previsão e o valor médio (cv) ou a gama (res) do parâmetro a prever. Não se observam diferenças significativas nestes quantificadores.

Por último, analisa-se o parâmetro SDR que, de acordo com Nicolai *et al.* (2007), se estiver entre 1.5 e 2 significa que o modelo é capaz de diferenciar valores mínimos e máximos do parâmetro; o SDR entre 2 e 2,5 indicam que é possível efetuar quantificações grosseiras do parâmetro e, finalmente, valores entre 2,5 e 3 (ou acima) correspondem a precisões boas a excelentes do parâmetro. O SDR registado nos gráficos de validação interna, nunca ultrapassa o valor de 2 em nenhum modelo, sendo o do pomar de Vale Judeu o melhor dos três casos. No entanto, o SDR deverá ser analisado com alguma cautela se se pretender avaliar a precisão do modelo apenas com o recurso a este

parâmetro, que é a razão entre o desvio dos dados obtidos destrutivamente (σ_y) e o erro da previsão (RMSEP). Pode obter-se um SDR que indique uma boa precisão do modelo, mas ainda assim isso pode ter-se devido a um erro de previsão muito elevado compensado por valor igualmente elevado de σ_y .

Resta ainda analisar os gráficos das variáveis latentes para cada caso de validação interna apresentada (figura inferior direita). A variância captada pelas variáveis latentes vai diminuindo sucessivamente à medida que a ordem da variável aumenta. Assim, as variáveis latentes 1 e 2 (LV1 e LV2) são as mais importantes. São as que captam a maior variância dos dados, com o menor erro, neste caso, o menor erro da validação cruzada (RMSECV), pelo que são representadas graficamente, definindo assim um novo plano onde se representam as amostras. Neste plano, cada amostra é caracterizada pelo primeiro e segundo *score*, ou seja, (LV1₁, LV2₁) para a primeira amostra, (LV1₂, LV2₂) para a segunda amostra, e assim sucessivamente. Assim, especialmente, verificou-se que os *scores* das amostras no conjunto de calibração e validação são quase coincidentes (verifique-se os centros de massa (a média espacial) dos dois conjuntos - calm e valm - representados no gráfico). Significa então que as populações de calibração e validação têm, basicamente, as mesmas características. Não só os pontos médios são muito próximos como as próprias nuvens de pontos se misturam entre si. Dito de outra forma, as duas populações parecem equivalentes, pelo menos ao nível dos dois primeiros e mais importantes *scores*. Esta é a situação ideal, pois se o modelo foi treinado na população de calibração, com uma certa morfologia no espaço dos primeiros *scores*, só há boas probabilidades de fazer boas previsões se a população de validação tiver uma morfologia semelhante.

Após análise dos modelos validados internamente, verificou-se que a melhor capacidade de previsão do IM, numa perspetiva binária, isto é, acima e abaixo da média, é obtida no pomar de Vale Judeu. O modelo de Vale Judeu, irá ter 83% de sucesso em classificar os frutos acima e abaixo da média do IM para aquele pomar, contra 76% dos frutos do pomar de Gambelas e 73% dos frutos provenientes dos dois pomares. Isto significa que é em Vale Judeu que se obtém o menor número de falsos negativos e falsos positivos, constatação esta que se verifica nos respetivos gráficos de validação interna, pela percentagem de positivos (83%) e negativos (82%), que são ‘‘verdadeiros’’.

4.5.1.2 Validação externa

Prossegue-se com a análise da validação externa do modelo (figura 4.43), em que o conjunto de calibração provém de um pomar e o de validação de outro pomar, de forma a testar a robustez dos modelos (Cozzolino *et al.*, 2011), verificando-se qual a sua resposta face a amostras provenientes de um pomar diferente. O significado das figuras é o mesmo que o anteriormente: calibração e validação cruzada no pomar A (esquerda) e validação externa no pomar B (à direita, em cima); o mapa dos *scores* das amostras de validação e calibração, à direita em baixo.

Pela mera análise visual dos gráficos da validação externa, verificou-se um declive pior da reta de ajuste quando comparados com os declives das regressões dos gráficos da validação interna e os erros de previsão são mais elevados. A correlação e a variância explicada são superiores na validação externa com Vale Judeu (mas onde o erro de previsão é superior).

À partida, a situação que deveria resultar em melhores resultados seria aquela em que a gama de calibração engloba a gama de validação. Neste caso, Gambelas tem uma gama de IM de 3,3 - 22,5 e Vale Judeu tem uma gama de IM de 4,2 - 16,8. Esperar-se-ia então que a previsão de Vale Judeu a partir do modelo de Gambelas fosse melhor do que no caso inverso. Na verdade, observa-se o contrário: é a previsão de Gambelas a partir do modelo de Vale Judeu que dá o melhor resultado em termos de RMSEP. No entanto, ambas as previsões são relativamente desajustadas, com viés significativo. Isto quer dizer que os modelos de previsão se baseiam em características espectrais que não se reproduzem por completo ao passar de um pomar a outro.

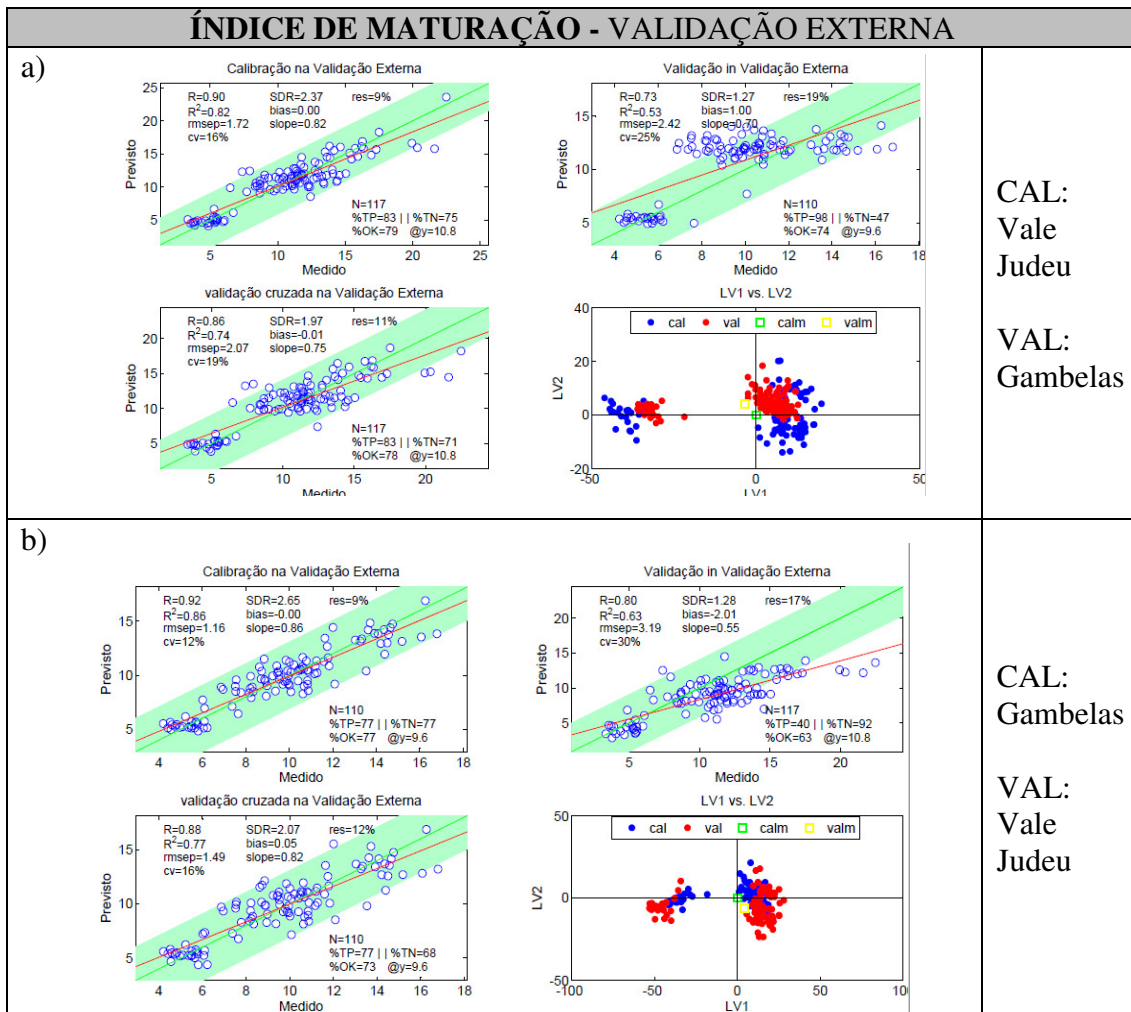


Figura 4.35. Representações gráficas da validação cruzada, calibração, validação externa e variáveis latentes. a) Calibração efetuada com frutos do pomar de Vale Judeu e validação com os frutos do pomar de Gambelas; b) Calibração efetuada com frutos do pomar de Gambelas e validação com os frutos do pomar de Vale Judeu.

O SDR é semelhante nos dois casos de validação externa (Figura 4.43) Esta previsão do IM de frutos provenientes de um outro pomar é um exemplo do que já foi referido quando se discutiu o SDR na validação interna, nomeadamente que se trata de parâmetro que não deve ser analisado isoladamente dos outros. Para valores de SDR semelhantes, verificou-se que o erro de previsão RMSEP é superior quando a validação externa é feita com os frutos do pomar de Vale Judeu.

Comparando agora os dois gráficos das variáveis latentes, verifica-se que as médias espaciais entre os conjuntos de calibração e validação são muito próximas, para ambas as validações. A distribuição dos *scores* dos dois conjuntos é reveladora de características comuns entre as populações, sendo à partida um bom indicador de um bom desempenho do modelo. Note-se ainda que neste gráfico se identificam claramente dois

aglomerados, que são separados pela primeira variável latente. O aglomerado da esquerda corresponde aos frutos com IM baixo. Como a estrutura dos aglomerados é respeitada pelos conjuntos de calibração e validação, isto explica porque é que a distinção entre frutos com IM baixo e os restantes se verifica ainda na validação externa. É este facto que permite que os gráficos de validação externa tenham alguma estrutura.

Quando se tentou prever o IM dos frutos de Gambelas com o modelo calibrado com os de Vale Judeu, verificou-se que este consegue colocar 74% dos frutos corretamente acima e abaixo da média. Na outra situação, ou seja, prever o IM de Vale Judeu com o modelo calibrado com frutos de Gambelas, o modelo apenas conseguiu classificar 63% dos frutos corretamente. Note-se que para a validação externa com Vale Judeu os dados estão mais enviesados (viés= -2,01) no sentido de subestimar os valores reais, sendo que o valor médio medido, isto é determinado destrutivamente, é superior ao valor previsto pelo modelo. Isto refletir-se-á num aumento dos falsos positivos (temos que a percentagem de positivos verdadeiros é apenas de 40%).

Em resumo, comparativamente à validação interna, verificou-se que as previsões pioraram quando os modelos são submetidos a amostras provenientes do outro pomar, com o aumento dos RMSEP bem como do enviesamento das previsões.

A figura 4.36 apresenta mais uma forma de analisar os dados. A figura 4.36 a) mostra de novo a correlação entre o IM e os espectros transformados. Relativamente à figura 4.36, a diferença é que agora se mostram os três perfis juntos (Gambelas, Vale Judeu e os dois em conjunto). A figura 4.36 b) mostra a variância explicada, que é simplesmente o quadrado da correlação. Em ambas as figuras superiores há consistência entre os resultados obtidos para os três conjuntos de amostras. A figura 4.36 c) ilustra a consistência dos perfis de correlação. Neste caso calculou-se simplesmente a média dos perfis de Gambelas e Vale Judeu. Se os perfis são concordantes, a forma dos perfis individuais mantém-se aproximadamente igual. Mas quando há discordância (o que quer dizer que uma correlação num pomar não se verifica noutro), então o resultado afasta-se dos valores individuais. Neste caso verifica-se que nas bandas laterais a concordância é fraca. Finalmente, o gráfico da figura 4.36 d) mostra os vetores de regressão. Pode verificar-se que os comprimentos de onda com maior peso nos vetores de regressão correspondem aproximadamente aos comprimentos de onda com maior correlação. Os gráficos não são, no entanto, iguais porque o vetor de regressão não tem uma

correspondência direta com a correlação. Neste gráfico pode observar-se uma maior discordância entre as linhas. Assim, por exemplo, por volta dos 840 nm verifica-se que o vetor de regressão obtido a partir da calibração com Vale Judeu toma valores positivos, enquanto se verifica o contrário quando a calibração é feita a partir de Gambelas ou a partir do conjunto dos dois pomares. Os dois modelos tratam assim de forma diferente a banda dos 840 nm, que é uma das principais fontes de informação. Naturalmente, isto vai originar más previsões externas.

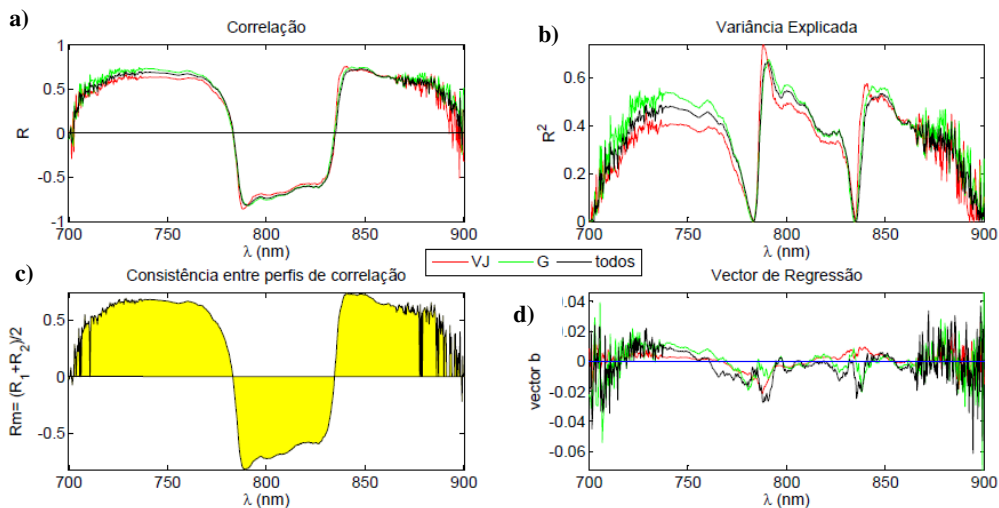


Figura 4.36. Representação gráfica da a) correlação; b) variância explicada, c) consistência dos perfis de correlação; d) vetor de regressão, todos em função do comprimento de onda.

Na tabela 4.2 estão representados os comprimentos de onda e as respetivas correlações, complementados com a informação encontrada na literatura. Note-se que cada pomar (Gambelas e Vale Judeu), pode tomar a função de calibração ou de validação consoante o tipo de validação que se efetuou.

Tabela 4.2. Relação entre comprimentos de onda e os conjuntos de Vale Judeu (VJ), Gambelas (G) e ambos os pomares (todos). A cor verde pretende realçar um R² superior a 0,60 e o amarelo um R² entre 0,40 e 0,60.

IM			
Pomar	c.d.o (nm)	R ²	Observações
G	760	0,50	730 a 780 nm – 3º sobretom da ligação OH 740 nm se H está menos ligado 770 nm se H está mais ligado
VJ	760	0,50	
todos	760	0,50	
G	791	0,66	772 nm – 4º sobretom CH 730 -740 nm Ligação CH ₂ (Golic <i>et al</i> , 2003)
VJ	788	0,72	
todos	791	0,66	
G	801	0,57	---
VJ	801	0,49	
todos	801	0,53	
G	826	0,37	---
VJ	826	0,33	
todos	826	0,37	
G	843	0,56	840 nm 2º sobretom da banda de combinação OH (<i>stretching</i> e <i>bending</i>) (Golic <i>et al</i> , 2003)
VJ	841	0,57	
todos	848	0,53	

Verificou-se que as melhores variâncias explicadas foram obtidas para os comprimentos de onda de 788 nm e 791 nm destacado a verde na tabela. Conforme consta nas observações, a banda dos 730 aos 780 nm corresponde ao 3º sobretom da ligação OH, relacionada com os açúcares (Golic *et al*, 2003). Os picos aos 788 e 791 nm poderão ter sofrido um desvio, mas efetivamente relacionam-se com os açúcares, dado que o IM é multiparamétrico. Aos 840 nm surgem outros picos com R² superior a 0,5, neste o caso o 2º sobretom da banda de combinação da ligação OH (relacionados com os movimentos vibracionais *stretching* e *bending*).

4.5.2. Discussão dos resultados obtidos para os modelos dos demais parâmetros de qualidade

Analisado o modelo para o caso específico do índice de maturação de ‘Ortanique’, apresentam-se os resultados obtidos para os restantes parâmetros. Nas figuras 4.45 a 4.47, constam os vários gráficos do pré-processamento dos espetros. Todos os espetros de refletância, para os conjuntos de calibração e validação, foram transformados em absorvância e restringiram-se os espetros de modo a evitar o pico da clorofila. Os intervalos de comprimento de onda em que se aplicou Continuum Removal (CR) e Range

(a transformação “Range” consiste simplesmente em comutar o princípio e o fim dos espectros a comprimentos de onda definidos) foram aqueles que apresentaram as melhores correlações. Aplicaram-se ainda suavizações SNV, MSC e LSNV e em seguida os filtros de Savitzky- Golay, Norris e Spline, com a segunda derivada.

Atente-se nas semelhanças entre as transformações efetuadas para o IM e TSS em que se verificam dois conjuntos de espectros com comportamento diverso.

Refira-se ainda que, ao contrário do que se fez na apresentação dos espectros transformados para analisar o IM, aqui, por uma questão de economia de espaço, não se marcam os espectros correspondentes a parâmetros mais baixos (altos) a verde (vermelho). Para poupar espaço, os espectros de Gambelas e Vale Judeu estão representados simultaneamente no mesmo gráfico. Os espectros de Gambelas a azul e os de Vale Judeu a vermelho.

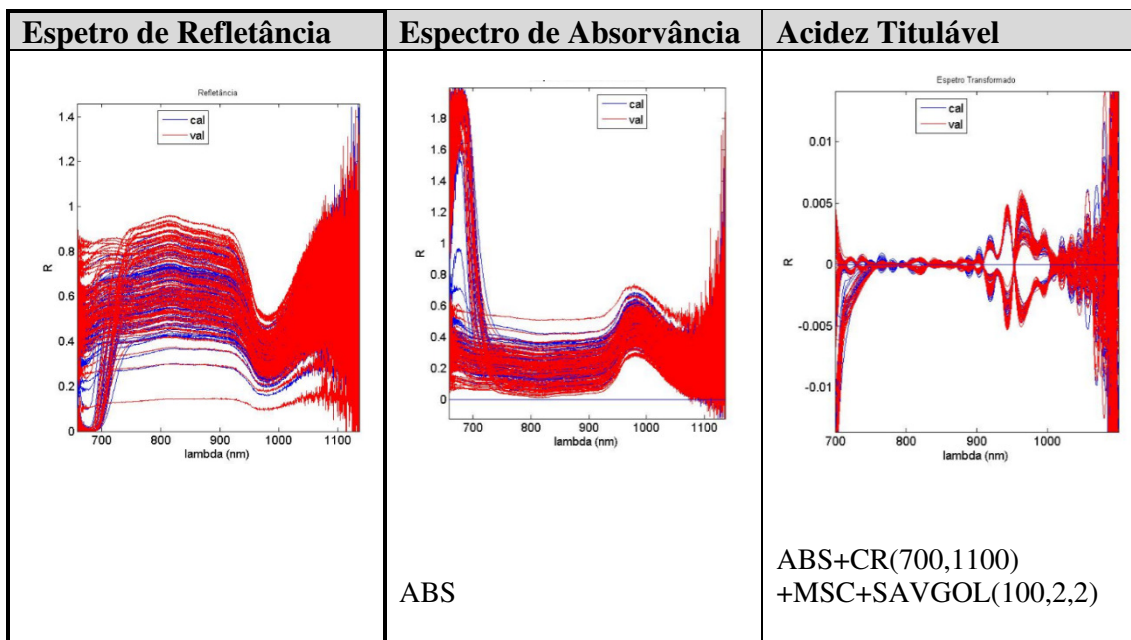


Figura 4.37. Espectro de refletância, absorvância e pré processamento para a acidez titulável.

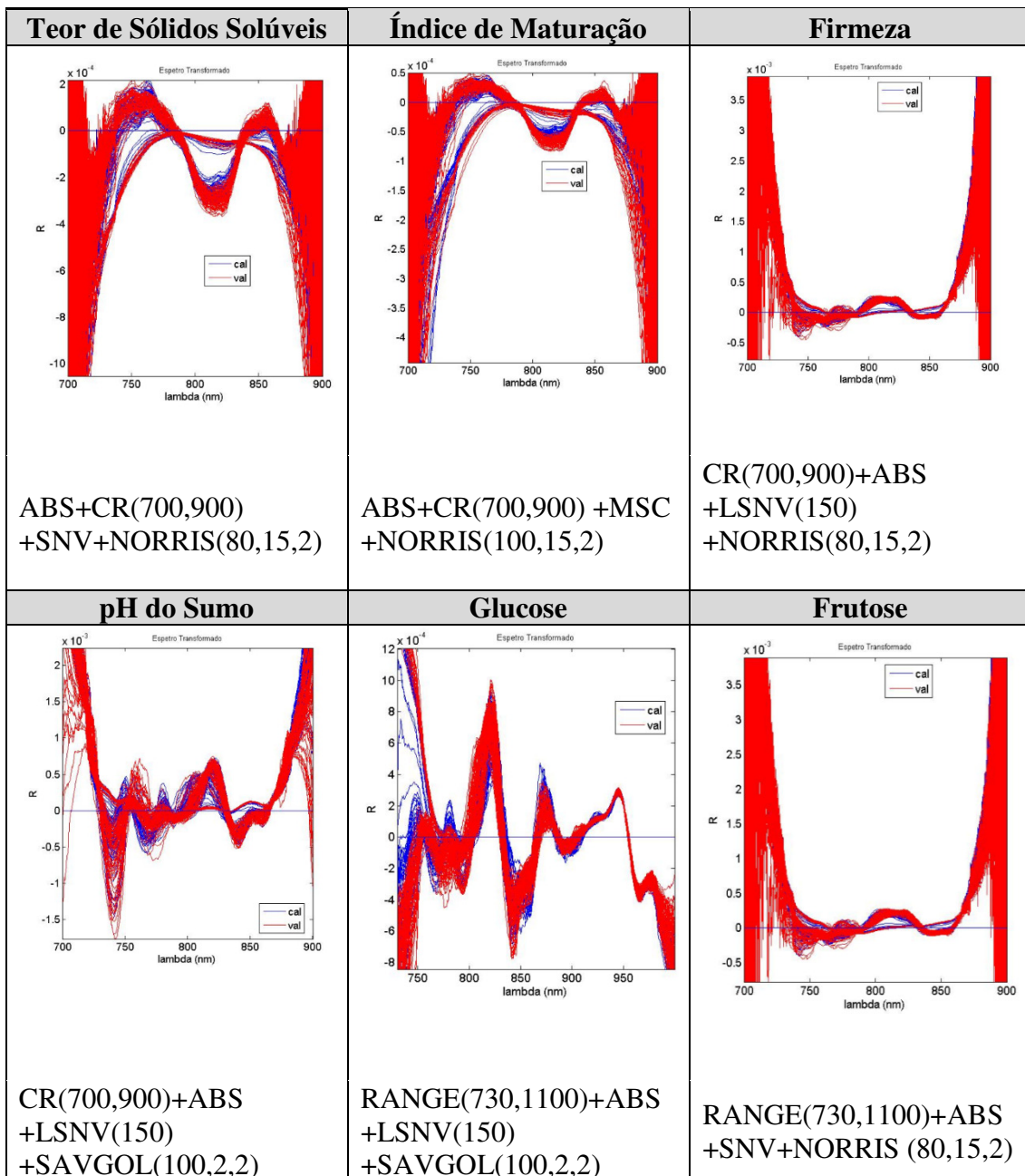


Figura 4.38. Pré processamento para TSS, IM, Firmeza, pH do Sumo, glucose e frutose

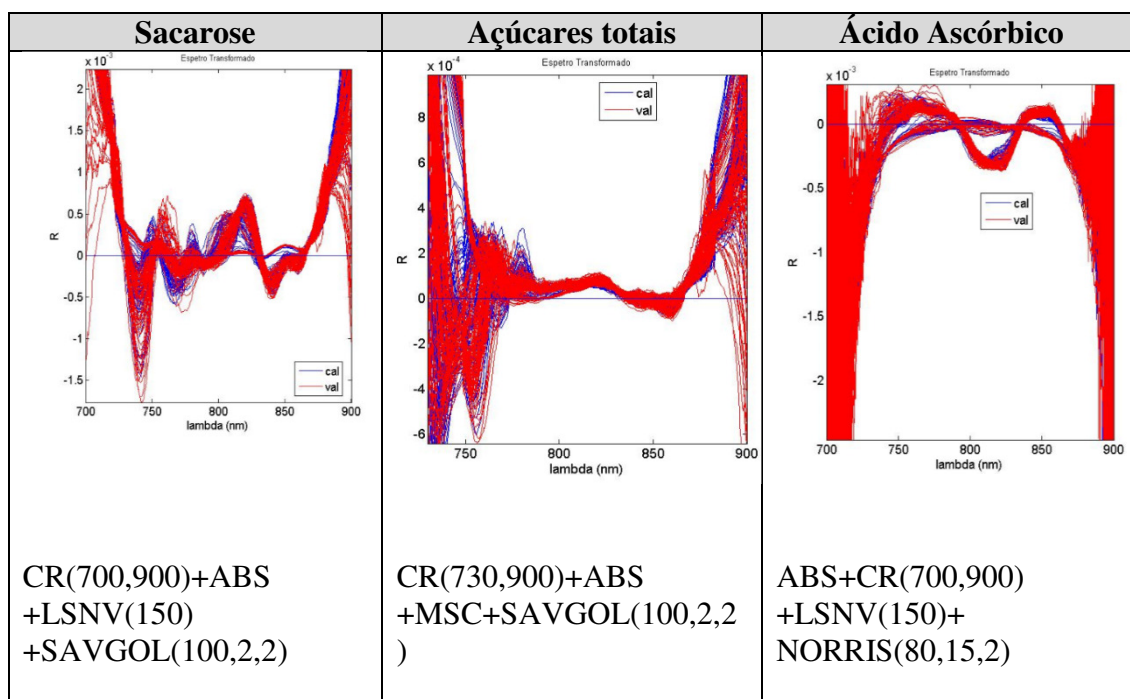


Figura 4.39. Pré processamento para a sacarose, açúcares totais e Ácido Ascórbico.

4.5.3 Comparação entre validação interna e externa

A tabela 4.3 reúne os parâmetros estatísticos dos modelos obtidos para os parâmetros de qualidade, exceto o Índice de Maturação que já foi anteriormente analisado. Dela não constam os modelos para a previsão da frutose e glucose por não ter sido possível obter o modelo.

Assim, como seria de esperar, pela análise da tabela 4.3 verificou-se que os modelos para a calibração interna tendem a apresentar um erro de previsão menor (RMSEP) do que na calibração externa.

Os melhores modelos foram obtidos para o TSS, IM e AT para o pomar de Vale Judeu (validação interna – destacado a negrito na tabela 4.3) e para o pH do sumo, também com validação interna, mas quando os conjuntos de calibração e validação contêm dados de ambos os pomares.

O modelo do TSS no pomar de Vale Judeu atinge um SDR de 2,27 e o do pH do sumo, com o conjunto de dados de ambos os pomares, apresenta um SDR de 2,23. Os modelos do IM e AT, para a validação interna de Vale Judeu, apresentam SDR de 1,95 e 1,54, respetivamente, pelo que segundo Nicolai *et al.* (2007), apenas são capazes de diferenciar valores mínimos e máximos destes parâmetros.

No caso dos modelos de previsão que foram submetidos a validação externa, os melhores resultados foram obtidos quando se usam os modelos construídos com base nos frutos de Gambelas para prever os parâmetros dos frutos do pomar de Vale Judeu, no caso do TSS, sacarose, açúcares totais e ácido ascórbico. Estes resultados são corroborados pelo maior declive, a melhor variância explicada e o menor RMSEP que se verificou na tabela 4.3, para aqueles parâmetros

O modelo para previsão da acidez titulável, pelos parâmetros constantes da tabela 4.3, não parece ter apresentado muitas diferenças entre os dois tipos de validação externa, dado que o RMSEP é menor na validação externa com Gambelas, o SDR é superior, o R^2 é o mesmo entre as duas situações, mas o % cv é inferior. A gama de variação medida para o AT entre os dois pomares não é muito díspar (conferir tabela 4.1) o que poderá neste caso favorecer o modelo de previsão calibrado com dados de Vale Judeu e validado externamente com Gambelas. No caso do pH do sumo, os dados também sugerem que o modelo calibração com os dados de Vale Judeu favoreceu a previsão externa para Gambelas, face sobretudo ao melhor declive do ajuste linear, e a RMSEP, R^2 e a % cv idênticos.

Tabela 4.3. Estatística descritiva dos modelos obtidos para os diversos parâmetros de qualidade.

Parâmetro	CAL→VAL	RMSECV										
		nVL	RMSECV	RMSEC	RMSEP	SDR	R ²	Viés	Declive	%cv	%res	% class
AT (g Ác. Cítrico/100 mL sumo)	VJ→G	2	0,25	0,24	0,38	1,24	0,69	-0,28	0,68	25	19	81
	G→VJ	5	0,27	0,24	0,39	1,17	0,69	0,30	0,80	32	19	52
	VJ→VJ	2	0,25	0,24	0,22	1,54	0,62	0,02	0,85	19	16	73
	G→G	2	0,26	0,25	0,31	1,44	0,58	-0,09	0,76	20	21	71
	(G+VJ)→(G+VJ)	2	0,30	0,29	0,27	1,59	0,61	-0,02	0,71	20	14	70
TSS (%)	VJ→G	6	0,87	0,58	1,61	0,76	0,43	-1,17	0,77	12	25	63
	G→VJ	6	0,88	0,75	0,60	1,83	0,60	1,53	0,57	16	24	73
	VJ→VJ	3	0,91	0,58	0,75	2,27	0,79	-0,03	0,84	7	13	86
	G→G	3	0,89	0,73	0,86	1,38	0,50	0,32	0,56	7	19	71
	(G+VJ)→(G+VJ)	6	0,98	0,80	0,96	1,60	0,60	0,00	0,67	8	15	80
Firmeza (N)	VJ→G	4	30,68	25,70	29,44	1,22	0,38	7,83	0,45	21	18	67
	G→VJ	6	25,19	20,22	31,94	1,24	0,34	0,24	0,35	22	14	69
	VJ→VJ	1	29,63	26,77	39,76	1,39	0,46	-1,95	0,36	26	17	70
	G→G	2	29,05	19,80	20,91	1,85	0,69	-4,26	0,72	15	16	71
	(G+VJ)→(G+VJ)	5	27,76	24,15	34,43	1,20	0,29	-4,12	0,31	23	15	67
pH do Sumo	VJ→G	5	0,16	0,14	0,19	1,27	0,59	0,09	0,83	6	18	69
	G→VJ	4	0,14	0,12	0,20	1,42	0,60	-0,09	0,54	6	16	68
	VJ→VJ	3	0,16	0,15	0,19	1,59	0,63	-0,07	0,59	6	16	68
	G→G	7	0,12	0,09	0,19	1,29	0,40	0,00	0,55	6	23	81
	(G+VJ)→(G+VJ)	4	0,16	0,15	0,10	2,23	0,80	0,01	0,89	3	12	75
[Sacarose] (g/100 mL sumo)	VJ→G	2	1,22	1,15	1,36	1,32	0,43	-0,21	0,43	23	15	72
	G→VJ	4	1,41	1,26	1,22	1,32	0,45	0,24	0,52	23	15	72
	VJ→VJ	5	1,22	1,06	1,04	1,38	0,51	0,13	0,72	19	16	73
	G→G	3	1,36	1,24	1,47	1,30	0,38	-0,31	0,42	19	31	71
	(G+VJ)→(G+VJ)	3	1,24	1,16	1,49	1,23	0,34	-0,14	0,42	26	17	68
[Açúcares Totais] (g/100 mL sumo)	VJ→G	2	1,46	1,40	2,05	1,11	0,37	-1,00	0,35	20	20	58
	G→VJ	2	1,77	1,71	1,86	1,09	0,50	1,19	0,53	20	18	76
	VJ→VJ	2	1,49	1,45	1,22	1,62	0,59	0,12	0,58	16	20	77
	G→G	2	1,74	1,60	2,15	1,19	0,30	-0,62	0,25	19	31	52
	(G+VJ)→(G+VJ)	2	1,69	1,64	1,74	1,33	0,41	-0,04	0,44	15	14	84
[Ácido Ascórbico] (mg/100 mL sumo)	VJ→G	2	2,25	2,19	3,14	0,99	0,28	-1,70	0,36	24	20	57
	G→VJ	2	2,60	2,46	2,74	1,29	0,56	1,33	0,43	21	15	80
	VJ→VJ	2	2,29	2,14	2,31	1,62	0,59	-0,09	0,57	17	14	91
	G→G	1	2,78	2,70	2,29	1,29	0,34	0,16	0,29	17	23	62
	(G+VJ)→(G+VJ)	3	2,60	2,36	2,40	1,25	0,49	-0,06	0,37	17	14	62

Por uma questão de facilidade de interpretação, compilou-se sob a forma de tabelas, que se seguem (4.4 a 4.10), os comprimentos de onda com maior contributo para os modelos dos restantes parâmetros de qualidade. Para uma leitura mais fácil, as correlações estão representadas a cores, sendo que $R^2 > 0,60$ verde, $0,60 > R^2 > 0,40$ amarelo, $0,40 > R^2 > 0,20$ laranja, $R^2 < 0,20$ vermelho.

Comparando os resultados obtidos com os apresentados na literatura, no caso do modelo do TSS (tabela 4.4), estão representadas as bandas entre os 730 -780 nm, correspondente ao 3º sobretom da ligação OH, com a melhor correlação associada ao conjunto de Gambelas. Encontra-se também representada a banda dos 840 nm com melhor correlação também no conjunto de Gambelas.

Nos modelos dos açúcares totais (tabela 4.5) também estão representadas as bandas acima referidas para o TSS, mas pela escala de cores, verifica-se uma melhor correlação no caso do TSS. Para a sacarose (tabela 4.6), a banda 730-780 nm apresenta um menor contributo para o modelo, quando comparada com o TSS e os açúcares totais. No entanto, a banda dos 840 nm apresenta uma melhor correlação do que aqueles.

Na firmeza (tabela 4.7) e no ácido ascórbico (tabela 4.8), a banda identificada é a dos 840 nm, com melhor correlação no caso do ácido ascórbico.

Para o caso do pH (tabela 4.9), Wang (2015) refere a existência de uma banda aos 768 nm correspondente à ligação CH, mas que no caso deste modelo apresenta uma correlação muito baixa. Ao invés, a banda dos 840 nm apresenta uma variância explicada superior a 0,55, a melhor dos vários parâmetros aqui apresentados. Os modelos da acidez titulável (tabela 4.10), o 2º sobretom da ligação OH apresenta uma variância explicada muito baixa, mas o 3º sobretom daquela mesma ligação apresenta melhores resultados (entre 0,45 e 0,66).

Face a esta análise, verificou-se que as bandas 730-780 nm (correspondente ao 3º sobretom da ligação OH) e 840 nm (banda de combinação OH) são comuns a todos os modelos. Não foi possível detetar a banda específica 910 - 930 nm, correspondente às ligações CH e CH_2 *stretching*, respetivamente, específicas dos açúcares (Golic *et al.*, 2003)

Tabela 4.4. Variância explicada para os comprimentos de onda mais importantes, nos modelos de previsão para o TSS.¹

TSS			
Pomar	c.d.o (nm)	R ²	Referência Bibliográfica
G	733	0,48	730 a 780 nm - 3° sobretom da ligação OH (<i>stretching</i>)
VJ	733	0,36	
todos	733	0,25	
G	739	0,50	740 nm se H está menos ligado 770 nm se H está mais ligado
VJ	739	0,35	
todos	739	0,27	
G	760	0,42	772 nm - 4° sobretom CH
VJ	760	0,32	
todos	760	0,26	
G	792	0,62	730 -740 nm Ligação CH ₂
VJ	789	0,45	
todos	789	0,53	
(Golic et al, 2003)			
G	843	0,31	840 nm 2° sobretom da banda de combinação OH (<i>stretching e bending</i>) (Golic et al, 2003)
VJ	847	0,28	
todos	841	0,21	
G	851	0,34	--
VJ	851	0,24	
todos	851	0,16	

Tabela 4.5. Variância explicada para os comprimentos de onda mais importantes, nos modelos de previsão para os açúcares totais.¹

Açúcares totais			
Pomar	c.d.o (nm)	R ²	Observações
G	739	0,26	730 a 780 nm - 3° sobretom da ligação OH
VJ	740	0,30	
todos	748	0,30	
G	777	0,39	740 nm se H está menos ligado 770 nm se H está mais ligado
VJ	777	0,22	
todos	777	0,31	
G	786	0,25	772 nm - 4° sobretom CH
VJ	786	0,27	
todos	786	0,25	
(Golic et al, 2003)			
G	838	0,39	840 nm 2° sobretom da banda de combinação OH (<i>stretching e bending</i>) (Golic et al, 2003)
VJ	846	0,31	
todos	838	0,29	
G	873	0,34	--
VJ	873	0,38	
todos	873	0,38	
G	878	0,31	--
VJ	878	0,35	
todos	878	0,37	

¹Para uma leitura mais fácil, as correlações estão representadas a cores, sendo que R²>0,60 verde, 0,60>R²>0,40 amarelo, 0,40>R²>0,20 laranja, R²<0,20 vermelho.

Tabela 4.6. Variância explicada para os comprimentos de onda mais importantes, nos modelos de previsão para a sacarose.¹

Sacarose			
Pomar	c.d.o (nm)	R ²	Referências Bibliográficas
G	720	0,19	--
VJ	720	0,16	
todos	720	0,16	
G	731	0,32	730 a 780 nm - 3° sobretom da ligação OH 740 nm se H está menos ligado 770 nm se H está mais ligado 772 nm - 4° sobretom CH 730 -740 nm Ligação CH ₂ (Golic <i>et al</i> , 2003)
VJ	733	0,37	
todos	731	0,33	
G	763	0,02	
VJ	763	0,16	
todos	763	0,09	
G	780	0,23	
VJ	780	0,20	
todos	780	0,23	
G	791	0,12	
VJ	791	0,04	
todos	791	0,04	
G	815	0,40	--
VJ	815	0,39	
todos	815	0,35	
G	840	0,46	840 nm 2° sobretom da banda de combinação OH (<i>stretching</i> e <i>bending</i>) (Golic <i>et al</i> , 2003)
VJ	840	0,41	
todos	840	0,42	
G	870	0,14	--
VJ	870	0,26	
todos	870	0,19	

Tabela 4.7. Variância explicada para os comprimentos de onda mais importantes, nos modelos de previsão para a firmeza.¹

Firmeza			
Pomar	c.d.o (nm)	R ²	Observações
G	759	0,31	730 a 780 nm 3° sobretom da ligação OH 740 nm se H está menos ligado (Golic <i>et al</i> , 2003)
VJ	759	0,31	
todos	759	0,31	
G	797	0,35	--
VJ	791	0,27	
todos	793	0,30	
G	807	0,41	--
VJ	804	0,33	
todos	805	0,36	
G	814	0,39	840 nm - 2° sobretom da banda de combinação OH (<i>stretching</i> e <i>bending</i>) (Golic <i>et al</i> , 2003)
VJ	814	0,29	
todos	814	0,33	
G	840	0,35	--
VJ	838	0,32	
todos	840	0,34	
G	848	0,35	--
VJ	851	0,34	
todos	858	0,31	

¹Para uma leitura mais fácil, as correlações estão representadas a cores, sendo que R²>0,60 verde, 0,60>R²>0,40 amarelo, 0,40>R²>0,20 laranja, R²<0,20 vermelho.

Tabela 4.8. Variância explicada para os comprimentos de onda mais importantes, nos modelos de previsão para o ácido ascórbico.¹

Ácido Ascórbico			
Pomar	c.d.o (nm)	R ²	Observações
G	746	0,43	--
VJ	740	0,29	
todos	747	0,35	
G	750	0,43	--
VJ	750	0,35	
todos	750	0,29	
G	789	0,51	--
VJ	787	0,20	
todos	787	0,32	
G	822	0,50	--
VJ	823	0,27	
todos	823	0,37	
G	832	0,50	~ 840 nm 2° sobretom da banda de combinação OH (<i>stretching</i> e <i>bending</i>) (Golic <i>et al</i> , 2003)
VJ	830	0,33	
todos	830	0,42	
G	865	0,55	--
VJ	865	0,27	
todos	865	0,40	

Tabela 4.9. Variância explicada para os comprimentos de onda mais importantes, nos modelos de previsão para o pH.¹

pH			
Pomar	c.d.o (nm)	R ²	Referência Bibliográfica
G	721	0,23	--
VJ	719	0,08	
todos	721	0,16	
G	731	0,32	--
VJ	731	0,29	
todos	731	0,29	
G	760	0,09	Ligação CH 768 nm (Wang <i>et al</i> , 2015)
VJ	766	0,19	
todos	766	0,06	
G	817	0,62	--
VJ	814	0,62	
todos	813	0,54	
G	840	0,66	840 nm - 2° sobretom da banda de combinação OH (<i>stretching</i> e <i>bending</i>) (Golic <i>et al</i> , 2003)
VJ	834	0,55	
todos	837	0,58	
G	869	0,32	--
VJ	869	0,40	
todos	869	0,32	
G	882	0,39	--
VJ	884	0,09	
todos	881	0,18	

¹Para uma leitura mais fácil, as correlações estão representadas a cores, sendo que R²>0,60 verde, 0,60>R²>0,40 amarelo, 0,40>R²>0,20 laranja, R²<0,20 vermelho.

Tabela 4.8. Variância explicada para os comprimentos de onda mais importantes, nos modelos de previsão para a acidez titulável.¹

Acidez titulável			
Pomar	c.d.o (nm)	R ²	Referência Bibliográfica
G	711	0,66	--
VJ	712	0,57	
todos	712	0,57	
G	733	0,66	730 a 780 nm - 3° sobretom da ligação OH 740 nm se H está menos ligado 770 nm se H está mais ligado (Golic <i>et al</i> , 2003)
VJ	733	0,60	
todos	733	0,57	
G	747	0,58	
VJ	744	0,48	
todos	746	0,45	
G	833	0,20	
VJ	833	0,01	
todos	833	0,07	
G	952	0,48	~960 nm - 2° sobretom OH <i>stretching</i> (Golic <i>et al</i> , 2003)
VJ	952	0,30	
todos	952	0,38	
G	1013	0,31	--
VJ	1013	0,25	
todos	1013	0,24	
G	1027	0,42	--
VJ	1027	0,33	
todos	1027	0,32	
G	1057	0,47	--
VJ	1057	0,19	
todos	1057	0,30	
G	1072	0,41	--
VJ	1072	0,40	
todos	1072	0,38	

¹Para uma leitura mais fácil, as correlações estão representadas a cores, sendo que R²>0,60 verde, 0,60>R²>0,40 amarelo, 0,40>R²>0,20 laranja, R²<0,20 vermelho.

4.5.4 Comparação dos modelos obtidos com os resultados obtidos na literatura

Nesta secção, pretendeu-se comparar os modelos obtidos, cuja estatística está representada na tabela 4.3., com os que se encontram descritos na literatura. Desconhecendo-se modelos de previsão de parâmetros de qualidade em ‘Ortanique’, esta comparação incidirá nos melhores modelos descritos para tangerinas e é independente do pré-processamento e metodologia empregue na quimiometria.

No caso de modelos de previsão para TSS, em tangerina ‘Clemenvila’, Sánchez *et al* (2013) recolheram os espectros com o fruto na árvore, tal como neste estudo, mas com um espectrómetro que abrange o intervalo 1600- 2400 nm. Os autores também referem que efetuaram uma validação externa dos modelos, embora não tenha ficado explícito se o conjunto de validação provém de outro pomar ou de outra época. O modelo obtido apresenta um $R^2=0,50$, viés=0,03 e declive da regressão de 0,94. No presente, caso da ‘Ortanique’ os dois modelos de previsão construídos com base em validação externa, apresentam piores declives das regressões (0,77 e 0,57). Apenas o R^2 na validação externa de Vale Judeu com Gambelas ($R^2=0,60$) supera o indicado para aquele estudo de Sánchez *et al.* (2013). Note-se que não se compararam os RMSEP aqui obtidos com os daquela autora, em virtude desta calcular o erro de previsão corrigido pelo viés. Liu *et al.* (2010) em tangerinas ‘Nanfeng’, obtiveram um RMSEP=0,65 e $R=0,92$, mas com validação interna e utilizando um espectrómetro na gama 600-900 nm. O erro de previsão foi inferior ao obtido em ‘Ortanique’ para a calibração interna de Gambelas (RMSEP=0,75 ° Brix) e a correlação também é inferior no nosso modelo ($R=0,88$).

Antonucci *et al* (2011), construíram um modelo de previsão para a AT com um espectrómetro portátil (310-1100 nm), mas em condições de laboratório para tangerina ‘Miho’, no qual obteve um RMSEP=0,06, $R=0,81$ e % cv =8,3 (validação interna). Este modelo supera o modelo obtido para AT em ‘Ortanique’, para Gambelas, com um % cv=19 e um RMSEP=0,22. Sánchez *et al.* (2013), por sua vez, obteve um viés de 0,02, R^2 de 0,56 e um declive de 0,94 (em validação externa). No modelo da AT em ‘Ortanique’, num dos casos de validação externa, o declive obtido foi de 0,80, viés de 0,30 e um R^2 de 0,69.

No caso do pH do sumo, Gómez *et al.* (2006) utilizaram um espectrómetro na gama 350-2500 nm, sendo que o modelo de previsão foi sujeito a validação interna e obteve um $R=0,81$, RMSEP=0,18 e o declive da regressão de 0,64. Em ‘Ortanique’, o melhor modelo obtido foi o que utilizou frutos dos dois pomares e após validação interna

demonstrou um melhor comportamento na previsão do pH do sumo, com erro inferior (RMSEP=0,10), declive da regressão de 0,89, superior ao obtido por aqueles autores e R de 0,89 (note-se que o R^2 obtido foi de 0,80). Para a situação de validação externa, novamente Sánchez *et al.* (2013) obteve um declive de regressão de 1, viés de -0,004 e R^2 de 0,61, melhor do que o modelo obtido para ‘Ortanique’, na validação externa com frutos de Gambelas (viés=0,09, declive=0,83 e $R^2=0,59$).

Da pesquisa bibliográfica efetuada, constatou-se que Sánchez *et al.* (2013) construíram um modelo de previsão para firmeza (validação externa). Obteve um declive de 0,67, R^2 de 0,15 e viés de -0,52. O modelo aqui construído, com os dados de Vale Judeu utilizados para prever os de Gambelas, apresentou um declive inferior (0,45), melhor correlação ($R^2=0,38$), mas pior viés (7,83).

Das referências encontradas na literatura, a autora não encontrou modelos de previsão que pudesse comparar com os que obteve para o ácido ascórbico, açúcares totais e sacarose.

5. Conclusões e Perspetivas futuras

Este estudo permitiu efetuar uma caracterização da maturação de ‘Ortanique’, uma das variedades de pequenos “Citrinos do Algarve”, a partir de dados obtidos através de métodos padronizados não destrutivos e alguns deles destrutivos. Verificou-se que a evolução da maturação da mesma cultivar em dois pomares diferentes, seguiu um comportamento temporal distinto, com os níveis mínimos dos parâmetros de qualidade indicados na Norma IGP a serem atingidos primeiro no pomar de Gambelas. Os frutos foram colhidos na mesma altura, já maduros, para colocação nos mercados consumidores, sem que a prova organolética indicasse diferenças significativas, entre os dois pomares, para os parâmetros analisados.

Adicionalmente, foi feita uma avaliação da distribuição ainda da distribuição espacial dos parâmetros de qualidade nos pomares ao longo do tempo. Com a georreferenciação das árvores, foi possível verificar que existiram zonas dos pomares com um comportamento sistemático, como foi o caso da estratificação Norte-Sul de alguns parâmetros no pomar de Vale Judeu, cujas linhas de cultura apresentam orientação espacial mais favorável, especialmente ao nível da exposição solar. O estudo da variação espacial, permitiu decompor a evolução temporal média dos parâmetros de maturação tendo-se verificado que certas zonas do pomar, ao apresentarem valores muito baixos ou

muito altos influenciaram os valores médios medidos. Com a análise espacial, ficou explicado o desvio padrão que se encontrou na evolução temporal média dos parâmetros, tendo sido ainda proposto, de forma simples, uma estimativa da variabilidade biológica intra e inter-árvore. Ainda dentro da temática da evolução espacial, a taxa de variação dos parâmetros de qualidade no pomar permitiu, ainda que à posteriori, dar boas indicações no que diz respeito à gestão dos pomares, em especial ao nível da data ótima de colheita.

A espectroscopia do Vis-IVP permitiu a construção de modelos de previsão de qualidade, pela primeira vez em ‘Ortanique’, como ‘Citrino do Algarve’ IGP. A validação interna dos modelos mostrou melhores resultados do que a validação externa. Os melhores modelos foram conseguidos com os dados provenientes do pomar de Vale Judeu, tanto nos casos de validação interna como na externa. Não foi possível construir um modelo de previsão para a glucose nem para a frutose. De um modo geral, e apesar destes modelos apresentarem uma precisão e robustez que ainda têm de ser largamente melhoradas, por exemplo, introduzindo a correção do efeito da temperatura do fruto, e com mais lotes de frutos de outras épocas de colheita, em termos de validação interna, estão quase ao nível de modelos construídos para outros citrinos com equipamentos de maior alcance espectroscópico, e, portanto, mais caros.

Numa perspetiva de continuidade futura, este trabalho deverá ser complementado com determinações bioquímicas de aldeído e etanol, produtos fermentativos, consequência da sobre-maturação dos frutos. Estes compostos promovem o aparecimento de sabores desagradáveis no fruto, e resultando na perda do sabor original e da respetiva qualidade.

A utilização do TSS como medida da doçura dos frutos, neste caso da ‘Ortanique’, não é de todo precisa, a avaliar pela discrepância entre os mapas de distribuição espacial e sua evolução ao longo do tempo, desse parâmetro e dos principais açúcares presentes no sumo deste fruto. Esta questão merece uma atenção mais direcionada no futuro. Aqui, apenas interessou a descrição do processo e não se dispunha de dados suficientes para uma análise mais profunda.

6. Referências Bibliográficas

Aenugu, H.P.R., Srisudharson, D.S.K., Parthiban, N., Ghosh, S.S., Banji, D. (2011) “*Near infrared spectroscopy-an overview*”. International Journal of ChemTech Research, vol. 3, pp. 825-836

Agusti, M. (2010). *Citricultura*. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid pp.422

Antonucci, F., Pallottino, F., Paglia, G., Palma, A., D’Aquino, S., Menesatti, P. (2011) *Non-destructive Estimation of Mandarin Maturity Status Through Portable VIS-NIR Spectrophotometer*. Food Bioprocess Technol 4:809-813

Bizzani, M.; Flores, D.W.M.; Colnago, L.A.; Ferreira, M.D. (2017) *Noninvasive spectroscopic methods to estimate orange firmness, peel thickness, and total pectin content*. Microchemical Journal 133: 168–174.

Braga, R. (2009) *Viticultura de Precisão*. Inovação e Tecnologia na Formação Agrícola. Associação dos Jovens Agricultores de Portugal. 1ª Edição. Lisboa, pp.83

Burns, D.A., Ciurczak, E.W. (2007) *Handbook of Near-Infrared Analysis, Third Edition*, CRC Press, New York pp.807

Cacial - Cooperativa Agrícola de Citricultores do Algarve, C. R. L. | Calendário de comercialização de Citrinos (2015). <http://cacial.com/calendario-de-comercializacao-de-citrinos/> acessado em 22-02-2018

Carvalho, A., Madeira, E., Guerreiro, J., Duque, J.A.G., Finus, M, Pintassilgo, P., O’Dor, R.K., Borges, T., Panagopoulos,T., (2010) *Discussion Papers N°4: Spatial and Organizational Dynamics, Environment and Land Use Management – Estratégias Técnicas e Institucionais para o Desenvolvimento da Citricultura Algarvia – O caso da IGP “Citrinos do Algarve”* CIEO – Centro de Investigação sobre o Espaço e as Organizações, Universidade do Algarve, Faro

Cavaco, A.M., Antunes, M.D., Panagopoulos, T., Rosendo, M., Pires, R., Brázio, A., Silva, L., Afonso, A.M. and Guerra, R. (2018a). *Upgrading current practices in Vis/NIR spectroscopy for in situ orchard monitoring*. Acta Hort. 1194, 745-752 DOI: 10.17660/ActaHortic.2018.1194.106

Cavaco, A. M., Pires, R., Antunes, M. D., Panagopoulos, T. Brázio, A, Afonso, A. M., Silva, L., Lucas, M. R., Cadeiras, B., Cruz, S. P., Guerra, R. (2018 b) *Validation of short wave near infrared calibration models for the quality and ripening of ‘Newhall’ orange on tree across years and orchards*. Postharvest Biology and Technology 141, 86–97

Cayuela, J.A., Weiland, C. (2010) *Intact orange quality prediction with two portable NIR spectrometers*. Postharvest Biology and Technology 58, 113–120

CCDR Algarve (2015) *Estratégia regional de investigação e inovação para a especialização inteligente (RIS3-Algarve 2014-2020)*. Pp. 148

Comissão Europeia (2011), *Anexo I, parte B, do Reg. de Execução (UE) n.º 543/2011* - Jornal Oficial da União Europeia, L 157/54 de 15-06-2011

Cozzolino, D., Cynkar, W. U., Shah, N., Smith, P. (2011) *Multivariate data analysis applied to spectroscopy: Potential application to juice and fruit quality*. Food Research International 44, 1888–1896

de Boor, C. (1980). *A Practical Guide to Splines. Mathematics of Computation*, 34(149), 325. <https://doi.org/10.2307/2006241>

Direção-Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural (2018) *Produtos Tradicionais Portugueses – IGP – Indicação Geográfica Protegida*. Acedido em <https://tradicional.dgadr.gov.pt/pt/produtos-por-regime-de-qualidade/igp-indicacao-geografica-protegida> , consultado em 22-02-2018

Direção Regional de Agricultura e Pescas do Algarve (2014) *Citricultura Algarvia*. Acedido em http://www.drapalg.minagricultura.pt/index.php?option=com_content&task=view&id=23&Itemid=34 atualizado em 29-12-2014, consultado em 22-02-2018.

Duarte, A., (2012) *Breves Notas sobre a Citricultura Portuguesa*. Agrotec – Revista Técnico-Científica Agrícola, número 3, Junho: 40-44, disponível em http://www.agrotec.pt/wp-content/uploads/2012/05/AGROTEC-3_2012.pdf

Duke University (2018) The "counts" value: how it's measured and what it means <http://webhome.phy.duke.edu/~kolena/hou/counts.html>, consultado em 21-08-2018

Duun, K. (2018) *Process Improvement Using Data -Version Release 419-67d*. Acedido em <https://learnche.org/pid/> , consultado em 01-09-2018

Eliard, J.L. (1979) Manual Geral de Agricultura. Publicações Europa-América pp 280

Ferreira, M.L.F.; Perotti, V.; Figueroa, C.M.; Garrán, S.; Anderson, P.C.; Vázquez, D.; Iglesias, A.A.; Podestá, F.L. (2006) *Carbohydrate metabolism and fruit quality are affected in frost-exposed Valencia orange fruit*. *Physiol. Plant.* 128 (2):224-236.

Figura, L., Teixeira, A. A. (2007) *Food Physics - Physical Properties - Measurement and Applications*. 1st Edition, New York, Springer-Verlag Berlin Heidelberg pp 517

Food and Agriculture Organization of the United Nation (FAO) - <http://www.fao.org/faostat/> consultado em 10-02-2018

Golic, M., Walsh, K., Lawson, P. (2003) *Short-Wavelength Near-Infrared Spectra of Sucrose, Glucose, and Fructose with Respect to Sugar Concentration and Temperature*. *Appl. Spectrosc.* 57: 139-145

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.

Goulao, L.F., Oliveira, C.M. (2008) *Cell wall modifications during fruit ripening: when a fruit is not the fruit*. Trends in Food Science & Technology 19:4-25

Hopkins, D. (2001). What is a Norris derivative? *NIR News*, 12(1), 3. <https://doi.org/10.1255/nirn.611>

Iglesias, D.J., Cercós, M., Colmenero-Flores, J.M., Naranjo, M.A., Ríos, G., Carrera, E. Ruiz-Rivero, O., Lliso, I., Morillon, R., Tadeo, F.R., Talon, M. (2007). *Physiology of citrus fruiting*. Braz. J. Plant Physiol., 19(4): 333-362

INE - Instituto Nacional de Estatística, I.P. (2016) *Estatísticas Agrícolas 2015*, Lisboa – Portugal, pp 163 Acedido em 05-02-2018

Isaksson, T., & Kowalski, B. (1993). *Piece-wise multiplicative scatter correction applied to near-infrared diffuse transmittance data from meat products*. Applied Spectroscopy. <https://doi.org/10.1366/0003702934066839>

Kumar, S., Singh, R., Dhanani, T. (2017) *Rapid Estimation of Bioactive Phytochemicals in Vegetables and Fruits Using Near Infrared Reflectance Spectroscopy*. In Yahia, E.M - Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry and Human Health, Volume I&II, 2nd Edition, John Wiley & Sons, Ltd, UK (pp 791-801) <https://doi.org/10.1002/9781119158042.ch35>

Ladaniya, M. (2008) *Citrus fruit biology, technology and evaluation*, Academic press, Oxford, UK pp 558

Lado, J., Rodrigo, M. J., Zacarías, L. (2014). *Maturity indicators and citrus fruit quality*. Stewart Postharvest Review 10:1-6.

Lado J., Gambetta, G., Zacarias, L. (2018) *Key determinants of citrus fruit quality: Metabolites and main changes during maturation*. Scientia Horticulturae 233: 238–248

Lee, W.S., Ehsani, R. (2015) *Sensing systems for precision agriculture in Florida*. Computers and Electronics in Agriculture 112:2–9

Liu, Y.; Sun, X.; Zhang, H.; Aiguo, O. (2010) *Nondestructive measurement of internal quality of Nanfeng mandarin fruit by charge coupled device near infrared spectroscopy*. Comput. Electron. Agric, 71S:S10–S14

Madeira, E. (2007) *A Citricultura Algarvia, Estratégias Técnicas e Institucionais para o início do séc. XXI*, Tese de Doutoramento em Economia, Universidade do Algarve, Faculdade de Economia, Faro

Mullard Space Science Laboratory (2018) *An introduction to CCD operation*. http://www.mssl.ucl.ac.uk/www_detector/ccdgroup/opttheory/ccdoperation.html consultado em 21-08-2018

Mutanga, O., Skidmore, A. K., Prins, H. H. T. (2004). *Predicting in situ pasture quality in the Kruger National Park, South Africa, using continuum-removed absorption*

features. *Remote Sensing of Environment*, 89(3), 393–408.
<https://doi.org/10.1016/j.rse.2003.11.001>

Magwaza, L.S., Opara, U.L., Nieuwoudt, H., Cronje, P.J.R., Saeys, W., Nicolaï, B. (2012) *NIR Spectroscopy Applications for Internal and External Quality Analysis of Citrus Fruit - A Review*. *Food Bioprocess Technol* 5: 425–444

Magwaza, L.S., Landahl, S., Cronje, P.J.R., Nieuwoudt, H., Mouazen, A.M., Nicolaï, B., Terry, L.A. and Opara, U.L. (2014) *The use of Vis/NIR and chemometric analysis to predict fruit defects and postharvest behaviour of 'Nules Clementine' mandarin fruit*. *Food Chemistry* 163: 267–274

Magwaza, L.S.; Opara, U.L. (2015) *Analytical methods for determination of sugars and sweetness of horticultural products - A review*. *Scientia Horticulturae* 184:179–192

Magwaza, L.S., Mditshwa, A., Tesfay, S.Z. Opara, L.U. (2017) *An overview of preharvest factors affecting vitamin C content of citrus fruit – Review*. *Scientia Horticulturae* 216:12–21

Massapina, J. F.; Gonçalves, F. N. (1995). *Citricultura Guia Ilustrado*. Direção Regional de Agricultura do Algarve. Portugal. 392pp, 1ª edição

Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas (2007) *Citrinos*. Acedido em www.drapalg.min-agricultura.pt/downloads/pdralgarve/fileira.../pdrfileircitrinos.pdf , consultado em 19-08-2017

Morton, Julia F., (1987) *Fruits of warm climates*. Miami, 1987. p. 145-146.

Nagy, S. (1980) *Vitamin C Contents of Citrus Fruit and Their Products: A Review*. *J Agrc Food Chem.*, Vol. 28, No. 1

Nicolaï, 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.

Nicolaï, B.M., Defraeye, T., Ketelaere, B., Herremans, E., Hertog, M L.A.T.M., Saeys, W., Torricelli, A., Vandendriessche, T. and Verboven, P. (2014) *Nondestructive Measurement of Fruit and Vegetable Quality*. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* 5:285–312

Norris, K. (2001). *Applying Norris Derivatives. Understanding and correcting the factors which affect diffuse transmittance spectra*. *NIR News*, 12(1), 6. <https://doi.org/10.1255/nirn.613>

Paniagua, C., Posé, S., Morris, V.J., Kirby, A.R., Quesada, M.A., Mercado, J.A. (2014) *Fruit softening and pectin disassembly: an overview of nanostructural pectin modifications assessed by atomic force microscopy*. *REVIEW: PART OF A SPECIAL ISSUE ON PLANT CELL WALLS*. *Annals of Botany* 114: 1375–1383

Pasquini, C. (2018) *Near infrared spectroscopy: A mature analytical technique with new perspectives - A review*. *Analytica Chimica Acta* 1026:8-36

Pavia, D.L., Lampman, G.M., Kriz, G.S., Vyvyan, J.R. (2009) *Introduction to Spectroscopy – Fourth Edition*, Brooks/Cole Cengage Learning, USA pp.702

Pires, R.; Afonso, A.M.; Cavaco, A.M., Panagopoulos, T.; Guerra, R.; Brázio, A.; Silva, L.; Rosendo, M. Cadeiras, B.; Antunes, M.D. (2016) *A possible upgrade of the Algarve Citrus protected geographical indication norm*. *Actas Portuguesas de Horticultura* 28: 160-167.

Porep, J.U., Kammerer, D.R., Carle, R. (2015) *On-line application of near infrared (NIR) spectroscopy in food production*. *Trends in Food Science & Technology* 46:211-230

Sánchez, J.A.C. (2008) *Citrus Internal Quality Predictions by NIR spectroscopy*. *Tree and Forestry Science and Biotechnology* 2 (Special Issue 1),77-82

Sánchez, M.-T., De la Haba, M.-J., Pérez-Marín, D. (2013) *Internal and external quality assessment of mandarins on-tree and at harvest using a portable NIR spectrophotometer*. *Computers and Electronics in Agriculture* 92, 66–74

Seymour, G., Taylor, J. and G. Tucker, G (1993) *Biochemistry of fruit ripening* - 1st ed. Springer Science+Business Media Dordrecht, Pp 107-137

Simón-Grao, V. Gimeno, I. Simón, V. Lidón, M. Nieves, R.M. Balal, A.A. Carbonell-Barrachina, F.J. Manera, Fca. Hernández, F. García-Sánchez (2014) *Fruit quality characterization of eleven commercial mandarin cultivars in Spain*. *Scientia Horticulturae* 165:274–280

Schirra, M.; Cohen, E. (1999). *Long-term storage of Olinda oranges under chilling and intermittent warming temperatures*. *Postharvest Biol. Technol.* 16 (1): 63-69

Tadeo F., Cercos M., Colmenero-Flores J.M., Iglesias D., Naranjo M.A., Rios G., Carrera E., Ruiz-Rivero O., Lliso I., Morillon R., Ollitrault P., Talon M.. (2008) *Molecular Physiology of Development and Quality of Citrus*. *Advances in Botanical Research* Volume 47, Pages 147-223

Teixeira, P.T.L, Giacomelli, S.R., Piton, R. (2017) *Caracterização morfológica e físico-químico dos frutos das tangerineiras ‘Okitsu’, ‘Marisol’ e do tangoreiro ‘Ortanique’* *Investig. Agrar.* 19(1):1-8 1

Tomás, J.C.C (2016) *Variedades e Porta enxertos de Citrinos*. Direção Regional de Agricultura e Pescas do Algarve. Acedido em http://www.drapalg.min-agricultura.pt/downloads/mediateca/Citrinos/Variedades_PortaEnxertos_Citrinos.pdf consultado em 05-02-2018

Torres, I., Pérez-Marín, D., De la Haba, M.-J., Sánchez,M.-T. (2017) *Developing universal models for the prediction of physical quality in citrus fruits analysed on-tree using portable NIRS sensors*. *Biosystems Engineering*, 153: 140 -148

Uniprofrutal (2003) *Manual do Utilizador, IGP “Citrinos do Algarve”*, Faro, Uniprofrutal. APAGAL. Pp. 12

Usha, K., Singh, B. (2013) *Potential applications of remote sensing in horticulture - A review*. *Scientia Horticulturae* 153:71–83

Vidal, A., Blasco, J., Prats, J.M., Cubero, S., Aleixos, N., Juste, F., Talens, P. (2015) *Measurement of the colour index of early-season citrus fruits using computer vision*. <http://www.researchgate.net/publication/267961768>

Wang, H., Peng, J., Xie, C., Bao, Y., He, Y. (2015) *Fruit Quality Evaluation Using Spectroscopy Technology: A Review*. *Sensors* 15: 11889-11927

Wold, S., Sjöström, M., & Eriksson, L. (2001). *PLS-regression: A basic tool of chemometrics*. In *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* (Vol. 58, pp. 109–130). [https://doi.org/10.1016/S0169-7439\(01\)00155-1](https://doi.org/10.1016/S0169-7439(01)00155-1)

Wu, G., Terol, J., Ibanez, V., López-García, A., Pérez-Román, E., Borredá, C., Domingo, C., Tadeo, F., Carbonell-Caballero, J., Alonso, R., Curk, F. Du, D., Ollitrault, P., L. Roose, M., Dopazo, J., Gmitter, F., Rokhsar, D., Talon, M. (2018). *Genomics of the origin and evolution of Citrus*. *Nature* 554: 311–316

APÊNDICE I

Resumo de Teste de Hipótese

	Hipótese nula	Teste	Sig.	Decisão
1	A distribuição de Aparfruto é a mesma entre as categorias de VAR00008.	Teste U de Mann-Whitney de amostras independentes	822,000	Reter a hipótese nula.
2	A distribuição de AparPolpa é a mesma entre as categorias de VAR00008.	Teste U de Mann-Whitney de amostras independentes	170,000	Reter a hipótese nula.
3	A distribuição de Aroma é a mesma entre as categorias de VAR00008.	Teste U de Mann-Whitney de amostras independentes	327,000	Reter a hipótese nula.
4	A distribuição de Textura é a mesma entre as categorias de VAR00008.	Teste U de Mann-Whitney de amostras independentes	162,000	Reter a hipótese nula.
5	A distribuição de Doçura é a mesma entre as categorias de VAR00008.	Teste U de Mann-Whitney de amostras independentes	852,000	Reter a hipótese nula.
6	A distribuição de Acidez é a mesma entre as categorias de VAR00008.	Teste U de Mann-Whitney de amostras independentes	691,000	Reter a hipótese nula.
7	A distribuição de geral é a mesma entre as categorias de VAR00008.	Teste U de Mann-Whitney de amostras independentes	508,000	Reter a hipótese nula.

São exibidas significâncias assintóticas. O nível de significância é ,05.

Figura 1 - Teste não-paramétrico de Mann-Whitney para as provas organolélicas.

Tabela 1. Estatística descritiva da temperatura do fruto, peso, diâmetro equatorial, firmeza, espessura da casca para os pomares de Gambelas e Vale Judeu, nas cinco datas analisadas. Os valores indicados, são a média \pm desvio padrão de todos os frutos analisados (25 por pomar e por data). A letra maiúscula representa a existência de diferenças significativas ($p < 0,05$) ao longo do tempo para cada pomar e o asterisco representa diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os pomares.

Data	Pomar	Temperatura do fruto (°C)	Peso (g)	Diâmetro Equatorial (mm)	Firmeza (N)	Espessura da casca (mm)
28/11/2016 (Tempo 0)	<i>Gambelas</i>	14,6 \pm 2,1 ^{C*}	204,0 \pm 56,1 ^A	77,9 \pm 6,6 ^A	189,6 \pm 25,3 ^A	3,94 \pm 0,85 ^{AB}
	<i>Vale Judeu</i>	21,5 \pm 2,8 ^{AB}	204,3 \pm 24,5 ^B	79,2 \pm 3,2 ^B	180,1 \pm 21,2 ^A	3,87 \pm 0,83 ^B
24/01/2017 (57 dias)	<i>Gambelas</i>	7,6 \pm 3,0 ^{D*}	213,1 \pm 54,5 ^A	80,0 \pm 7,3 ^A	108,4 \pm 24,5 ^{C*}	3,42 \pm 0,64 ^{B*}
	<i>Vale Judeu</i>	16,4 \pm 3,6 ^C	201,9 \pm 42,3 ^B	78,7 \pm 6,0 ^B	94,8 \pm 13,8 ^C	2,89 \pm 0,49 ^C
15/02/2017 (79 dias)	<i>Gambelas</i>	17,8 \pm 2,1 ^{B*}	230,2 \pm 53,6 ^A	82,9 \pm 7,4 ^A	146,3 \pm 26,3 ^B	3,90 \pm 0,55 ^B
	<i>Vale Judeu</i>	20,3 \pm 2,0 ^B	248,2 \pm 50,2 ^A	84,8 \pm 5,5 ^A	145,8 \pm 25,7 ^B	3,74 \pm 0,62 ^B
14/03/2017 (106 dias)	<i>Gambelas</i>	13,8 \pm 0,8 ^{C*}	224,9 \pm 55,4 ^A	80,5 \pm 6,2 ^{A*}	143,2 \pm 25,4 ^B	3,81 \pm 0,74 ^B
	<i>Vale Judeu</i>	18,5 \pm 1,6 ^{BC}	254,4 \pm 53,7 ^A	84,8 \pm 6,4 ^A	144,5 \pm 26,6 ^B	3,89 \pm 0,71 ^{AB}
09/05/2017 (162 dias)	<i>Gambelas</i>	24,5 \pm 1,5 ^{A*}	221,1 \pm 41,0 ^{A*}	80,5 \pm 5,5 ^{A*}	140,6 \pm 31,9 ^B	4,62 \pm 0,79 ^A
	<i>Vale Judeu</i>	23,1 \pm 1,9 ^A	251,1 \pm 58,4 ^{A*}	84,6 \pm 6,8 ^A	139,4 \pm 21,9 ^B	4,54 \pm 0,84 ^A

¹Para uma leitura mais fácil, as correlações estão representadas a cores, sendo que $R^2 > 0,60$ verde, $0,60 > R^2 > 0,40$ amarelo, $0,40 > R^2 > 0,20$ laranja, $R^2 < 0,20$ vermelho.

Tabela 2. Estatística descritiva do teor de sumo, pH do sumo, TSS, AT e IM para os pomares de Gambelas e Vale Judeu, nas cinco datas analisadas. Os valores indicados, são a média \pm desvio padrão de todos os frutos analisados (25 por pomar e por data). A letra maiúscula representa a existência de diferenças significativas ($p < 0,05$) ao longo do tempo para cada pomar e o asterisco representa diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os pomares.

Data	Pomar	Teor de sumo % (m/m)	pH do sumo	TSS (° Brix)	AT (g ácido citríco/100mL sumo)	Índice de Maturação (IM) (TSS/AT)
28/11/2016 (Tempo 0)	Gambelas	48,6 \pm 4,0 ^A	2,94 \pm 0,12 ^{D*}	9,5 \pm 0,9 ^{D*}	2,0 \pm 0,3 ^{A*}	4,8 \pm 0,8 ^{D*}
	Vale Judeu	47,5 \pm 3,0 ^{BC}	3,01 \pm 0,07 ^D	11,9 \pm 0,6 ^C	2,2 \pm 0,3 ^A	5,4 \pm 0,8 ^C
24/01/2017 (57 dias)	Gambelas	48,7 \pm 3,2 ^A	3,38 \pm 0,18 ^{C*}	11,2 \pm 0,9 ^{C*}	1,1 \pm 0,2 ^{B*}	10,1 \pm 2,0 ^C
	Vale Judeu	50,2 \pm 3,6 ^A	3,22 \pm 0,15 ^C	13,3 \pm 0,8 ^B	1,4 \pm 0,3 ^B	9,8 \pm 1,5 ^B
15/02/2017 (79 dias)	Gambelas	48,8 \pm 3,2 ^A	3,35 \pm 0,11 ^{C*}	12,0 \pm 0,8 ^{B*}	1,1 \pm 0,2 ^{B*}	11,3 \pm 1,9 ^{BC*}
	Vale Judeu	49,7 \pm 8,8 ^{ABC}	3,29 \pm 0,11 ^C	12,9 \pm 0,8 ^B	1,4 \pm 0,2 ^B	9,4 \pm 1,2 ^B
14/03/2017 (106 dias)	Gambelas	45,8 \pm 5,2 ^{AB*}	3,49 \pm 0,14 ^B	12,3 \pm 1,0 ^{B*}	1,1 \pm 0,2 ^{B*}	11,7 \pm 1,6 ^{B*}
	Vale Judeu	49,0 \pm 3,1 ^{AB}	3,46 \pm 0,09 ^B	14,2 \pm 0,7 ^A	1,4 \pm 0,2 ^B	10,4 \pm 1,5 ^B
09/05/2017 (162 dias)	Gambelas	42,5 \pm 5,9 ^B	3,69 \pm 0,12 ^A	13,6 \pm 1,1 ^{A*}	0,9 \pm 0,1 ^{C*}	16,2 \pm 2,8 ^{A*}
	Vale Judeu	44,1 \pm 4,8 ^C	3,65 \pm 0,14 ^A	14,5 \pm 1,0 ^A	1,0 \pm 0,1 ^C	14,0 \pm 1,4 ^A

Tabela 3. Estatística descritiva dos parâmetros bioquímicos (glucose, frutose, sacarose, açúcares totais e ácido ascórbico) para os pomares de Gambelas e Vale Judeu, nas cinco datas analisadas. Os valores indicados, são a média \pm desvio padrão de todos os frutos analisados (25 por pomar e por data). A letra maiúscula representa a existência de diferenças significativas ($p < 0,05$) ao longo do tempo para cada pomar e o asterisco representa diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os pomares.

Data	Pomar	Glucose (g/100 mL sumo)	Frutose (g/100 mL sumo)	Sacarose (g/100 mL sumo)	Açúcares Totais (g/100 mL sumo)	Ácido Ascórbico (mg/100 mL sumo)
28/11/2016 (Tempo 0)	Gambelas	1,64 \pm 0,33 ^{BC*}	1,81 \pm 0,36 ^{B*}	3,76 \pm 1,07 ^C	7,21 \pm 1,14 ^{C*}	8,36 \pm 2,38 ^{D*}
	Vale Judeu	2,35 \pm 0,35 ^{AB}	2,50 \pm 0,35 ^{BC}	3,77 \pm 1,01 ^C	8,62 \pm 1,26 ^C	10,60 \pm 2,69 ^B
24/01/2017 (57 dias)	Gambelas	1,51 \pm 0,30 ^{C*}	1,73 \pm 0,31 ^{B*}	5,27 \pm 0,87 ^{B*}	8,51 \pm 1,35 ^{B*}	13,83 \pm 2,22 ^{B*}
	Vale Judeu	2,08 \pm 0,39 ^B	2,29 \pm 0,41 ^C	5,86 \pm 1,06 ^B	10,24 \pm 1,22 ^B	15,16 \pm 2,15 ^A
15/02/2017 (79 dias)	Gambelas	1,97 \pm 0,34 ^{A*}	2,28 \pm 0,38 ^{A*}	5,87 \pm 1,17 ^B	10,13 \pm 1,31 ^A	15,84 \pm 1,67 ^A
	Vale Judeu	2,35 \pm 0,39 ^{AB}	2,58 \pm 0,42 ^{AB}	6,42 \pm 1,51 ^{AB}	11,35 \pm 1,31 ^{AB}	15,09 \pm 1,84 ^A
14/03/2017 (106 dias)	Gambelas	2,07 \pm 0,45 ^{A*}	2,42 \pm 0,47 ^{A*}	5,74 \pm 0,88 ^{B*}	10,22 \pm 1,30 ^{A*}	14,33 \pm 2,16 ^{AB}
	Vale Judeu	2,66 \pm 0,47 ^A	2,96 \pm 0,46 ^A	7,25 \pm 1,34 ^A	12,87 \pm 1,96 ^A	14,56 \pm 2,54 ^A
09/05/2017 (162 dias)	Gambelas	1,89 \pm 0,49 ^{AB*}	2,36 \pm 0,51 ^{A*}	7,36 \pm 1,72 ^A	11,62 \pm 2,26 ^A	11,14 \pm 2,93 ^C
	Vale Judeu	2,31 \pm 0,48 ^{AB}	2,77 \pm 0,53 ^{AB}	7,04 \pm 1,17 ^A	12,11 \pm 1,66 ^A	11,94 \pm 2,45 ^B

ANEXO I

Nota: A entidade obtentora dos dados apresentados neste anexo é a Direção Regional de Agricultura e Pescas do Algarve

¹Para uma leitura mais fácil, as correlações estão representadas a cores, sendo que $R^2 > 0,60$ verde, $0,60 > R^2 > 0,40$ amarelo, $0,40 > R^2 > 0,20$ laranja, $R^2 < 0,20$ vermelho.

Fevereiro de 2017



ESTAÇÃO METEOROLÓGICA AUTOMÁTICA DE PATAÇÃO / FARO

Data	Hora	T md	T mx	T mn	HR md	HR mx	HR mn	RG Int	DV md	VV md	VV mx	P	Ts md	Ts mx	Ts mn	Tr md	Tr mx	Tr mn	ET0	EMA	Ins	HF>75	HF=75	T<7 ac	Ev	
(dd-mm-aaaa)	(hh:mm-ss)	(°C)	(°C)	(°C)	(%)	(%)	(%)	(KJ.m ⁻²)	(graus)	(m.s ⁻¹)	(m.s ⁻¹)	(mm)	(°C)	(°C)	(°C)	(°C)	(°C)	(°C)	(mm)			R<-120	T>15 R<-120	(nh)	(nh)	(mm)
01-02-2017	23:59:00	12.9	18.0	5.4	89	100	68	10813	258	0.3	3.0	0.2	13.9	16.5	11.5	11.5	22.7	3.3	2.2	1102	7.3	0.0	8.7	339.4		
02-02-2017	23:59:00	14.1	18.9	6.9	90	100	62	7215	262	1.3	5.0	13.2	15.4	17.5	13.9	13.0	20.9	5.4	1.4	1102	6.4	0.1	6.3	339.6		
03-02-2017	23:59:00	14.7	18.2	6.9	86	100	69	8390	254	1.0	5.0	0.0	15.0	16.9	13.5	13.1	21.4	5.2	1.8	1102	7.7	0.0	9.6	340.0		
04-02-2017	23:59:00	16.1	18.9	15.0	91	99	78	7782	245	2.0	5.8	1.6	16.2	17.8	15.1	15.2	24.2	12.1	1.6	1102	5.7	0.0	7.9	340.0		
05-02-2017	23:59:00	13.9	19.0	5.4	79	100	47	11777	294	1.1	5.8	0.4	16.0	17.9	14.1	12.4	23.7	3.8	2.5	1102	8.4	0.0	1.7	341.7		
06-02-2017	23:59:00	10.4	18.6	3.4	85	100	44	13789	317	0.3	3.0	0.0	14.2	17.1	11.9	9.3	23.9	1.5	2.8	1102	8.8	0.0	4.7	350.4		
07-02-2017	23:59:00	11.3	18.0	3.8	87	100	62	9925	334	0.6	4.7	0.2	14.2	16.5	12.1	10.3	22.4	2.0	2.0	1102	8.5	0.0	1.1	356.6		
08-02-2017	23:59:00	9.6	20.8	2.7	76	100	26	14530	101	0.3	5.8	0.0	13.5	16.4	11.2	7.6	26.1	-0.3	3.0	1102	9.1	0.0	0.8	369.1		
09-02-2017	23:59:00	9.5	16.3	2.5	75	99	39	11719	85	0.7	4.8	0.2	12.6	14.9	10.4	7.8	21.2	-1.7	2.4	1102	8.9	0.0	1.8	377.4		
10-02-2017	23:59:00	8.6	13.2	3.5	90	100	66	6281	184	0.3	3.6	7.2	12.9	14.5	11.3	7.5	15.9	0.5	1.1	1102	6.1	0.0	12.1	385.5		
11-02-2017	23:59:00	10.3	13.4	7.6	94	100	83	2126	96	1.6	7.1	45.2	12.9	13.4	12.4	8.9	12.1	6.3	0.4	1102	0.8	0.0	11.3	385.5		
12-02-2017	23:59:00	12.9	16.0	10.1	92	100	78	4025	188	1.2	6.6	27.6	13.8	15.0	13.0	11.3	17.3	8.5	0.9	1102	3.6	0.0	3.6	385.5		
13-02-2017	23:59:00	11.9	18.1	5.4	90	100	61	12248	271	0.6	4.9	4.8	14.4	17.1	12.2	11.0	23.7	3.6	2.4	1102	7.8	0.0	2.6	387.4		
14-02-2017	23:59:00	13.1	18.6	9.5	94	100	77	8829	94	0.5	3.5	20.8	14.8	17.1	13.3	12.2	23.0	7.0	1.7	1102	7.0	0.0	10.5	387.4		
15-02-2017	23:59:00	13.7	19.0	7.9	78	100	55	12990	79	1.3	5.9	0.0	14.8	17.2	13.1	12.1	23.3	5.4	2.8	1102	7.3	0.0	7.2	387.4		
16-02-2017	23:59:00	13.7	18.8	7.9	75	100	60	11856	85	1.5	5.5	0.0	15.0	17.1	13.6	12.1	23.5	5.0	2.6	1102	8.6	0.0	0.0	387.4		
17-02-2017	23:59:00	12.1	19.8	6.8	86	100	55	13751	77	0.5	4.3	0.2	14.6	17.5	12.2	10.7	25.6	3.0	2.8	1102	8.7	0.1	6.7	388.4		
18-02-2017	23:59:00	12.5	20.2	4.7	83	100	46	11520	294	0.6	4.2	0.2	14.5	16.8	12.2	11.4	26.3	2.0	2.4	1102	9.0	0.0	3.2	393.1		
19-02-2017	23:59:00	13.0	18.7	9.3	78	96	54	11951	48	1.1	5.8	0.0	15.1	17.0	13.6	12.2	26.7	5.9	2.4	1102	7.2	0.0	2.3	393.1		
20-02-2017	23:59:00	12.6	16.8	8.1	70	96	46	7330	55	1.0	5.6	0.2	14.2	15.6	13.0	10.6	19.1	4.7	1.8	1102	7.5	0.0	0.0	393.1		
21-02-2017	23:59:00	14.5	19.6	8.9	68	100	47	13693	81	1.3	5.4	0.0	15.0	17.3	13.3	13.3	26.1	5.5	3.2	1102	8.1	0.0	0.0	393.1		
22-02-2017	23:59:00	13.7	21.6	6.5	79	100	48	14158	63	0.5	4.9	0.0	15.1	17.8	12.9	12.5	29.4	3.5	3.0	1102	8.7	0.3	6.5	394.5		
23-02-2017	23:59:00	14.3	18.3	11.0	90	100	75	5701	101	0.2	4.0	0.2	15.7	17.2	14.6	13.4	21.9	8.6	1.2	1102	6.7	0.0	10.4	394.5		
24-02-2017	23:59:00	13.8	21.4	8.6	86	100	53	11960	8	0.4	3.9	0.0	15.9	18.2	14.0	13.0	28.8	5.1	2.5	1102	8.8	0.0	14.9	394.5		
25-02-2017	23:59:00	12.5	18.0	6.8	91	100	68	5063	354	0.1	2.5	0.2	15.2	16.8	13.6	11.9	23.1	3.1	1.0	1102	5.9	0.0	10.2	394.8		
26-02-2017	23:59:00	13.4	19.5	8.1	81	100	52	11769	329	0.4	3.4	0.0	16.2	18.2	15.0	13.9	29.2	4.3	2.5	1102	8.0	0.0	5.6	394.8		
27-02-2017	23:59:00	11.7	17.9	5.6	86	100	63	9555	280	0.7	4.6	0.2	15.2	17.2	13.4	11.2	25.4	2.3	1.9	1102	8.2	0.0	9.6	400.1		
28-02-2017	23:59:00	11.7	17.7	4.9	86	100	58	5480	332	0.4	3.6	0.0	15.0	16.3	13.8	10.8	23.1	2.0	1.2	1102	4.8	0.0	10.1	403.1		

MÉDIAS		12.6	18.3	6.9	84	100	59	9865	15	0.8	4.7		14.7	16.7	13.0	11.4	23.2	4.2	2.1		7.3	0.0	6.0	
SOMAS								276224				122.6							57.4		203.7	0.5	169.3	
MÁXIMOS			21.6					14530			7.1	45.2		18.2			29.4				9.1	0.3	14.9	
MÍNIMOS				2.5				2126								10.4					0.8			
													nº dias	8										

¹Para uma leitura mais fácil, as correlações estão representadas a cores, sendo que R²>0,60 verde, 0,60>R²>0,40 amarelo, 0,40>R²>0,20 laranja, R²<0,20 vermelho.

T	temperatura do ar em °C, a 1.5 metros de altura (md, mx, mn- médias, máximas e mínimas diárias)
HR	humidade relativa do ar em %, a 1.5 metros de altura (md, mx, mn- médias, máximas e mínimas diárias)
RG int	energia acumulada diariamente(integral) em $KJ.m^{-2}$, proveniente da medição da radiação solar global em $W.m^{-2}$
DV	média geométrica diária da direcção do vento a 2.0 metros de altura (0° ou 360°-Norte; 90°-Este; 180°-Sul; 270°-Oeste)
VV	velocidade do vento em $m.s^{-1}$ a 2.0 metros de altura (md, mx- médias e máximas diárias)
P	precipitação acumulada diariamente em mm ou litros. m^{-2} e número de dias em que se verificou a ocorrência da mesma
Ts	temperatura do solo em °C a 15cm de profundidade (md, mx, mn- médias, máximas e mínimas diárias)
Tr	temperatura da relva ou à superfície em °C (md, mx, mn- médias, máximas e mínimas diárias)
ET0	acumulado diário da evapotranspiração potencial em mm (calculada pelo método de Penman-Monteith)
Ins	insolação - acumulado diário do número de horas em que a radiação solar global é superior a $120W.m^{-2}$
HF>75 & T>15 & R>120	somas diárias do número de horas em que se verifica a condição (HF - humidade da folha em %; T - temperatura do ar em °C; R - radiação solar global em $W.m^{-2}$)
HF>75	acumulado diário do número de horas em que a humidade da folha é superior a 75%
T<7 ac	acumulado anual do número de horas, desde o início de Outubro até ao final Abril, em que a temperatura do ar é inferior a 7°C
Ev	acumulado diário da evaporação em mm medida numa tina evaporimétrica

Nota: Os dados apresentados podem ser utilizados, desde que seja feita referência à Direcção Regional de Agricultura e Pescas do Algarve, como entidade obtentora dos mesmos.

Endereço de correio eletrónico para fornecimento de dados: agrometeorologia@drapalg.mtin-agricultura.pt