

UTILIZAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO PARA IDENTIFICAR PARÂMETROS DE QUALIDADE DA BAUNILHA MARCADORES QUÍMICOS PARA O DESENVOLVIMENTO¹

Fernanda Damasceno AGUILAR¹, Gustavo Lopes Gomes da SILVA², Jessica Sousa COQUEIRO³, Joane Cristina Costa FERREIRA⁴, Rafael Patury LINS⁵, Jaqueline Sandes ANUNCIÇÃO⁶, Leandro Soares SANTOS⁷

RESUMO

A baunilha é uma especiaria de alto valor agregado, amplamente utilizada nas indústrias alimentícia e de fragrâncias, cujo principal marcador químico é a vanilina. Este trabalho avaliou a qualidade de amostras de baunilha por meio da espectroscopia de infravermelho próximo (NIR) e médio (MIR) associadas a métodos quimiométricos, como Análise de Componentes Principais (ACP) e Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS). Foram analisadas 21 amostras de diferentes origens, considerando compostos fenólicos relevantes e parâmetros de qualidade estabelecidos pela literatura. Os resultados demonstraram que ambas as técnicas espectroscópicas foram capazes de discriminar as amostras e correlacioná-las com os padrões de referência, sendo o MIR mais preciso e robusto. Assim, confirma-se o potencial da espectroscopia de infravermelho como método rápido, não destrutivo e confiável para a autenticação e padronização da qualidade da baunilha.

PALAVRAS-CHAVE: Compostos voláteis, Cromóforos Naturais, Multivariada, Vanila

USE OF INFRARED SPECTROSCOPY TO IDENTIFY VANILLA QUALITY PARAMETERS CHEMICAL MARKERS FOR DEVELOPMENT¹

ABSTRACT

Vanilla is a high-value spice widely used in the food and fragrance industries, and its main chemical marker is vanillin. This study evaluated the quality of vanilla samples using near-infrared (NIR) and mid-infrared (MIR) spectroscopy combined with chemometric methods such as Principal Component Analysis (PCA) and Partial Least Squares (PLS) regression. Twenty-one samples from different origins were analyzed, considering relevant phenolic compounds and quality parameters established in the literature. The results demonstrated that both spectroscopic techniques were able to discriminate the samples and correlate them with reference standards, with MIR being the more accurate and robust. Thus, the potential of infrared spectroscopy as a rapid, non-destructive, and reliable method for authenticating and standardizing vanilla quality is confirmed.

KEYWORDS: Volatile Compounds, Natural Chromophores, Multivariate, *Vanilla*

1. INTRODUÇÃO

As favas de baunilha são utilizadas como importante matéria-prima para aromatizar diversos tipos de alimentos e fragrâncias. As vagens são colhidas das

videiras do gênero *Vanilla*, da família Orchidaceae. Embora cerca de 110 espécies de baunilha sejam atualmente conhecidas, apenas duas espécies (*V. planifolia* e *V. tahitensis*) são cultivadas comercialmente. A *V. planifolia* é cultivada em muitos lugares do mundo, como Madagascar e Indonésia. Em particular, a baunilha Bourbon, que compreende as cultivares de Madagascar, Comores e Reunião, é bem conhecida por ser um produto de alta qualidade. Já a *V. tahitensis*, que foi recentemente relatada como um híbrido de *V. planifolia* e *V. odorata* (Lubinsky et al., 2008), é cultivada principalmente no Taiti e em Papua-Nova Guiné.

A característica mais importante da fava de baunilha é seu aroma doce e atraente, que motivou inúmeros relatos sobre seus compostos voláteis. Mais de 500 compostos voláteis foram relatados para a baunilha (Toth et al., 2011), sendo a vanilina o principal composto.

A vanilina é a substância fenólica majoritária na baunilha de Madagascar (*V. planifolia*) e responsável pela nota aromática característica deste produto. A metilvanilina também é encontrada nas favas de baunilha. Já a etilvanilina é um derivado sintético usado largamente como a base do aroma artificial de baunilha. O aroma ou bouquet da baunilha natural é, entretanto, bem mais complexo, contendo mais de 200 outras substâncias (Ranadive, 2006).

A baunilha é caracterizada pelo seu alto valor comercial agregado, por esse fator é de extrema importância avaliar e padronizar os seus padrões de qualidade. Para a padronização da qualidade do produto, normas técnicas foram estabelecidas pela International Organization for Standardization (ISO). A norma ISO 5565-2 descreve os testes a serem realizados e as substâncias cujo teor deve ser monitorado, incluindo, além da própria vanilina, o ácido vanílico (ou ácido 4-hidroxi-3-metoxibenzoico) o 4-hidroxi-benzaldeído e o ácido 4-hidroxi-benzoico, (International Organization For Standardization, 1999).

Tendo em vista esses parâmetros, o estudo teve como objetivo associar técnicas de infravermelho com análise multivariada para determinar parâmetros de qualidade da baunilha.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho de iniciação científica foi desenvolvido no Laboratório de Identidade e Autenticidade de Alimentos (LIAA) na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, *campus* Itapetinga.

2.1 Coleta das Amostras

Para a realização do trabalho foram adquiridas 21 amostras de Baunilha provenientes de lugares distintos, sendo que 6 delas foram adquiridas na cidade de Una-BA e o restante proveniente de compras *online*. As favas pertencem a três variedades, sendo elas: *Vanilla planifolia*, *Vanilla bahiana* e *Vanilla chamissonis*.

2.2 Preparo das amostras

As favas de baunilha foram fracionadas em pedaços de aproximadamente 5mm e acondicionadas em tubos de Falcon de 50mL, posteriormente foram liofilizadas em um Liofilizador Alpha 1-2 LD plus Christ durante 48 horas. Em seguida, as favas foram maceradas em um almofariz de porcelana até a obtenção de um pó homogêneo. Os mesmos foram mantidos sob refrigeração até o momento do uso.

2.3 Análises espectroscópicas através do infravermelho Próximo (NIR)

Para a execução dessas análises foram coletados os espectros em um espectrômetro NIR (Spectra Star 2500XL, Unity Scientific, Brookfield, CT, EUA) equipado com uma lâmpada halógena-tungstênio como fonte de luz e um detector de arsenieto de índio-gálio (InGaAs). Os sinais foram gerados no modo de refletância (%R) e transformados em absorbância utilizando $\log 1/R$. Foram inseridas aproximadamente 5g de cada amostra no compartimento e digitalizadas na faixa de 1100 a 2500 nm em intervalos de 1 nm.

2.4 Análises espectroscópicas através do infravermelho médio (MIR)

Os espectros das amostras foram analisados em equipamento de infravermelho médio FTIR-ATR (Cary 630 FTIR, Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA), equipado com célula de reflectância total atenuada (ATR), utilizando região espectral com número de onda de 4000 cm^{-1} a 600 cm^{-1} , com os espectros obtidos no modo de absorbância. Cerca de 0,5g de amostra foi depositada na superfície do cristal de diamante, local onde os raios na faixa do infravermelho são incididos para a realização da leitura.

2.5 Preparo do extrato para análise cromatográfica

A extração dos compostos fenólicos foi conduzida a partir de favas de baunilha maceradas. Para tal, 1g do material foi extraído com 5 mL de solução etanol:água (1:1, v/v), sob agitação em centrífuga Modelo Universal 320R, a 4000 rpm por 15 minutos. Em seguida, o extrato líquido obtido foi filtrado com um filtro de membrana de $0,22\text{ }\mu\text{m}$ (Syringe Filter, PVDF03N0221) e armazenado sob refrigeração ($8\text{--}10\text{ }^{\circ}\text{C}$) até a realização das análises.

2.6 Análise cromatográfica

A quantificação e identificação dos padrões (**colocar o nome**) foram realizadas nas 21 amostras, utilizando a técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), seguindo a metodologia de Souza et al. (2022). Os extratos foram separados em um sistema HP Agilent 1260 Infinity II por uma coluna de fase reversa RP-LC (Zorbax SB-C18). A identificação dos compostos fenólicos foi confirmada comparando-se os espectros UV e os tempos de retenção com os padrões analíticos. A quantificação foi feita pelo método do padrão externo, baseando-se na área dos picos. As curvas de calibração foram preparadas a partir de diluições dos padrões (**colocar marca**).

2.7 Análise estatística

A análise estatística multivariada é fundamental para a interpretação de conjuntos de dados complexos gerados em análises químicas, como a CLAE, onde diversas variáveis são avaliadas simultaneamente. Dentro desse contexto, a Análise de Componentes Principais (ACP) e a Análise de Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS) foram essenciais para analisar este estudo.

2.7.1 Análise de componentes principais

A Análise de Componentes Principais (ACP) foi aplicada como etapa exploratória inicial. Seu objetivo principal foi identificar padrões e relações entre as amostras, detectar possíveis agrupamentos (*clusters*) e auxiliar na identificação e eliminação de *outliers*. Este processo foi crucial para a seleção adequada dos dados que seriam posteriormente utilizados na construção do modelo preditivo. O número de Componentes Principais (CPs) retidos foi definido com base na variância cumulativa, sendo selecionados aqueles que acumulavam um percentual de variância superior a 70%. Para a análise, foram utilizadas como variáveis os números de onda correspondentes às máximas absorbâncias dos picos espectrais das amostras. Todo o processamento foi executado no *software* Statistical Analysis System (SAS)®, versão SAS Academic OnDemand.

2.7.2 Análise de Regressão por Mínimos Quadrados Parciais

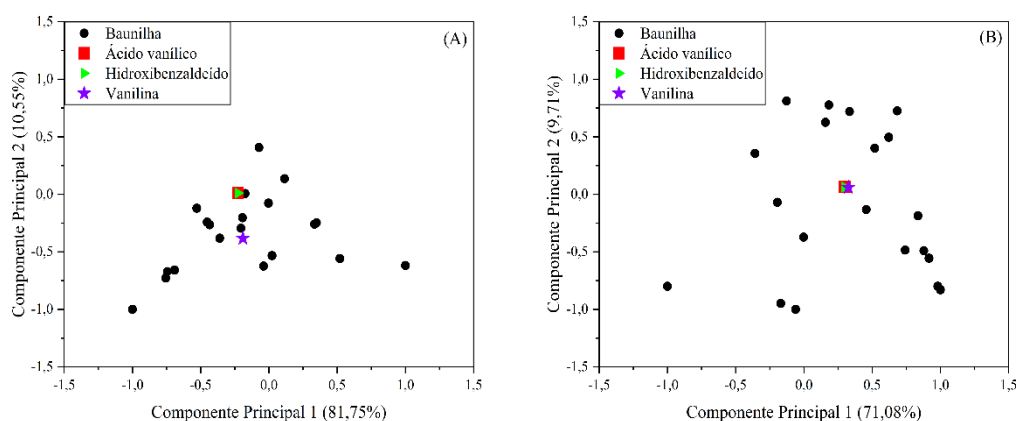
A Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS) foi empregada para estabelecer a relação direta entre os espectros (variáveis independentes, X) e as concentrações dos analitos (variáveis dependentes, Y). O processo começou com a aquisição padronizada dos espectros para assegurar a representatividade e reprodutibilidade dos dados. A seleção do número ótimo de variáveis latentes para a construção do modelo foi crítica, sendo determinada por meio de *cross-validation*. Os critérios de avaliação utilizados foram o erro quadrático médio de previsão e o

coeficiente de correlação do modelo. Por meio da aplicação do PLS, foi possível elaborar e validar modelos que proporcionam uma determinação clara e objetiva do parâmetro de qualidade presente nas amostras de baunilha, mediante resultados brutos obtidos na espectroscopia de Infravermelho próximo (NIR) e médio (MIR), os critérios utilizados para a validação foram a quantidade de variáveis latentes, o Coeficiente de Correlação (R), a Raiz do Erro Quadrático Médio da Calibração (RMSEC), Raiz do Erro Quadrático Médio da Validação Cruzada (RMSECV), Razão do Desvio Preditivo (RPD) e Razão da Faixa de Variação pelo Erro (RER).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através da figura 1, foi possível identificar a dispersão das amostras de baunilha em relação aos padrões analisados e obtidos por meio dos dados espectroscópicos de NIR e MIR.

FIGURA 1- Análise de componentes principais das amostras de baunilhas, utilizando dados do NIR (A) E MIR(B).



Fonte: Autoral,2025

A Figura apresenta a análise de componentes principais (ACP) obtida a partir dos espectros de infravermelho próximo (Figura A) e médio (Figura B) das amostras de baunilha em comparação aos padrões de ácido vanílico, hidroxibenzaldeído e vanilina. Na Figura A, referente ao infravermelho próximo (NIR), observa-se que o primeiro componente principal (CP1) explicou 81,75% da variância total dos dados, enquanto o segundo componente (CP2) contribuiu com 10,55%. As amostras de baunilha distribuíram-se em torno dos padrões avaliados, com sobreposição parcial em relação aos compostos fenólicos característicos. Esse resultado sugere que o NIR foi capaz de captar diferenças químicas relevantes, embora com maior

dispersão entre as amostras. Os principais picos corresponderam as regiões de 1204 a 2467 nm. Sendo que os principais grupos que se destacam nessas regiões são o CH₃, OH, C=O.

Por outro lado, na Figura B, correspondente ao infravermelho médio (MIR), a CP1 representou 71,08% da variância, seguida pela CP2 com 9,71%. Nessa análise, as amostras apresentaram maior proximidade e agrupamento em relação aos padrões de referência, destacando-se a correlação direta com a vanilina, ácido vanílico e hidroxibenzaldeído. Essa melhor definição dos agrupamentos sugere que o MIR possui maior sensibilidade para discriminar os marcadores químicos presentes na baunilha. O pico amplo em 3200–3550 cm⁻¹ é atribuído às vibrações de estiramento de O H principalmente devido ao etanol presente no extrato. O pico acentuado em 2980 cm⁻¹ é devido ao C C H, (como aqueles em fenóis e ácidos graxos), enquanto o pico do ombro em 2905 cm⁻¹ é o estiramento alifático de C H (metil, CH₃ e metileno, CH₂) de compostos orgânicos abundantes nos extratos (Moreno-Ley et al., 2019). O pico acentuado em 1645 cm⁻¹ é devido às vibrações de alongamento aromático C O e C C (aldeídos, cetonas, ésteres de baunilha, bem como pironas específicas (Brunschwig, Collard, Bianchini e Raharivelomanana, 2009).

A análise de Regressão por Mínimos Quadrados Parciais, permitiu a obtenção de modelos variados relacionados aos diferentes padrões analisados.

Tabela 1- Parâmetros de calibração de regressão PLS dos espectros NIR e MIR para predição de padrões de qualidade da baunilha.

		Variáveis	R	RMSEC	RCV	RMSECV	RPD	RER
		Latentes						
Ácido Vinílico	NIR	7	0,96	0,34	0,92	0,48	0,09	0,45
	MIR	3	0,99	0,19	0,98	0,23	0,19	0,95
4-Hidroxibenzaldeído	NIR	7	0,98	0,26	0,92	0,49	0,12	0,61
	MIR	6	0,98	0,10	0,98	0,11	0,56	2,74
Vanilina-4-O-β-D-glicose	NIR	3	0,98	0,35	0,97	0,38	6,58	19,04
	MIR	7	0,97	0,19	0,92	1,46	1,71	4,95

Fonte: Autoral, 2025

A calibração dos modelos de regressão por mínimos quadrados parciais (PLS), a partir dos espectros NIR e MIR, evidenciou elevada capacidade preditiva para os compostos marcadores de qualidade da baunilha. Os coeficientes de correlação (R), variando entre 0,96 e 0,99, confirmam forte ajuste entre os valores de referência e os previstos, enquanto os baixos valores de RMSEC e RMSECV demonstram consistência dos modelos, sem indícios relevantes de sobre ajuste. De modo geral, a Espectroscopia no Infravermelho Médio (MIR) apresentou desempenho superior, com menores erros de calibração e validação, além de índices mais robustos de RPD e RER, destacando-se na predição do 4-hidroxibenzaldeído e da vanilina-4-O- β -D-glicose, cujos parâmetros indicam aplicabilidade prática e confiabilidade analítica. Em contrapartida, o ácido vanílico, sobretudo pela calibração em NIR, apresentou limitações devido ao baixo valor de RPD, restringindo sua aplicabilidade para predições quantitativas de alta precisão. Dessa forma, os resultados confirmam o potencial das técnicas espectroscópicas como ferramentas rápidas e não destrutivas para o monitoramento da qualidade da baunilha, sendo o MIR a abordagem mais promissora para análises de rastreabilidade e autenticação.

4. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo evidenciam que a espectroscopia de infravermelho, aliada a métodos quimiométricos, constitui uma alternativa eficaz para a avaliação da qualidade da baunilha. Enquanto o NIR apresentou desempenho satisfatório, o MIR demonstrou maior sensibilidade e capacidade discriminatória para identificar marcadores químicos, especialmente a vanilina e o 4-hidroxibenzaldeído, fornecendo modelos mais consistentes e aplicáveis em rotinas analíticas. Embora tenham sido observadas limitações na predição do ácido vanílico pelo NIR, de modo geral, as duas técnicas se mostraram úteis como métodos complementares. Conclui-se, portanto, que o uso da espectroscopia de infravermelho, em especial do MIR, pode contribuir significativamente para o controle de qualidade, da baunilha, agregando valor e segurança ao produto destinado à indústria e ao consumidor final.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1.C. Brunschwig, F.X. Collard, J.P. Bianchini, P. Raharivelomanana Evaluation of chemical variability of cured vanilla beans (*Vanilla tahitensis* and *Vanilla planifolia*) *Natural Product Communications*, 4 (10) (2009)

- 2.C.M. Moreno-Ley, D.M. Hernández-Martínez, G. Osorio-Revilla, A.P. Tapia-Ochoategui, G. Dávila-Ortiz, T. Gallardo-Velázquez Prediction of coumarin and ethyl vanillin in pure vanilla extracts using MID-FTIR spectroscopy and chemometrics. *Talanta*, 197 (2019), pp. 264-269
3. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 5565-2: 1999. *Vanilla [Vanilla fragrans (Salisbury) Ames] — Part 2: Test methods*. Geneva: International Organization for Standardization, 1999. 11 p.
- Lubinsky, P., Cameron, K. M., Molina, M. C., Wong, M., Lepers, Andrzejewski, S., Gomez-Pompa, A., e Kim, S.-C. (2008) Raíces neotropicales de una especiaria polinésia: a origem híbrida da baunilha do Taiti, *Vanilla tahitensis* (Orchidaceae). *Sou. J. Bot.*, 95, 1040–1047.
4. RANADIVE, A. Chemistry and Biochemistry of Vanilla Flavor. *Perfumer & Flavorist*, v. 31, p. 38-44, 2006
5. Toth, S., Lee, K. J., Havkin-Frenkel, D., Belanger, F. C. e Hartman, T.G. (2011) 11. Compostos Voláteis em Baunilha. Em “*Handbook of Vanilla Science and Technology*”, primeira edição; Havkin-Frenkel, D.; Belanger, F. C., Editores; Blackwell Publishing Ltd.; pp. 183-219.