

UTILIZACION DE UNA NARIZ ELECTRONICA TIPO QCM PARA LA EVALUACION DE LA CALIDAD AROMATICA EN PERA Y MANZANA

E.C. Correa, P. Barreiro, M. Ruiz-Altisent
Dpto. de Ingeniería Rural. E.T.S.I.
Agrónomos. Ciudad Universitaria, 28040
Madrid. España
eccorrea@iru.etsia.upm.es

R. Miró, G. Echeverria, J.Graell, M^a. L.López.
Area de Postcosecha. CeRTA.UdL-IRTA.
Alcalde Rovira Roure, 177. 5198
Lleida. España
mluisa@tecal.udl.es

Abstract

Use of a QCM electronic nose to evaluate the aromatic quality in pears and apples.

The “*Libra Nose*” electronic nose has eight Quartz Microbalance Sensors. When gas molecules are adsorbed onto the quartz crystal surface, the oscillation frequency changes in proportion to the amount of mass. The response of sensors depends on numerous factors that may be difficult to control, such as the temperature and the humidity of the carrier gas. All these factors cause changes in the selectivity of sensors affecting the reproducibility of measurements. In this paper additive a multiplicative corrections are proposed to be applied to the raw sensors’ signal in order to eliminate sources of variations. After these corrections, the sensors’ response gives useful information to distinguish between batch of apples and pears with different ripeness stage.

Palabras clave/Key words: aroma/aroma, sensores de cuarzo/quartz sensors, manzanas/apples, peras/pears.

1. Introducción

Las microbalanzas de cristal de cuarzo (QCM) son mecanismos piezoeléctricos; para transformarlos en sensores químicos es necesario recubrirlos con una capa de material capaz de capturar las moléculas del ambiente. Cuando una masa se adsorbe sobre la superficie del cristal de cuarzo, la frecuencia de oscilación cambia en proporción (Di Natale et al. 1997).

La respuesta de los sensores depende de numerosos factores que pueden ser difíciles de controlar, tales como la temperatura y la humedad del gas portador. Todos estos factores producen cambios en la selectividad de los sensores que afectan a la reproducibilidad de las medidas (Mielle and Marquis 1999). A pesar de la existencia de numerosos estudios con narices electrónicas, no existe ningún procedimiento establecido para la calibración de los QCM en relación a la medida de la calidad organoléptica en fruta. Los objetivos que se persiguen son estudiar la señal obtenida, identificar fuentes de variación no deseadas y determinar el procedimiento de calibración o corrección de la señal para su eliminación, así como la aplicación de las medidas correctoras sugeridas para la medida de calidad y madurez en peras y manzanas.

2. Materiales y Métodos

La nariz electrónica “*Libra Nose*” está formada por 8 sensores QCM recubiertos con láminas de macrociclos pirrólicos de estado sólido combinados para cada sensor con diferentes metales (Mn, Ru, Sn, Cr, Co, Cop-OCH₃ y Cop-NO₂). Los sensores se

encuentran localizados en el interior de una cámara de medida que tiene un volumen aproximado de 20 ml.

El programa de usuario del equipo *Libra Nose* establece como referencia interna la frecuencia de oscilación de los sensores QCM en el punto de inicio, es decir, a cada medida se sustrae el primer valor de frecuencia (Hz) obtenido tras el encendido del instrumento. La variable usada como respuesta del sensor ante una muestra volátil es asimismo el incremento entre las señales relativas estabilizadas (Δf). Uno de los problemas al evaluar los incrementos de frecuencia es el ruido de la línea base, por ello en este estudio se ha desarrollado un software de suavizado e integración de la señal.

La generación del espacio de cabeza para los experimentos realizados con fruta se llevó a cabo colocando un único fruto entero en el interior de un bote herméticamente cerrado de 0.75 l. Se instalaron sobre las tapas dos llaves de paso para facilitar la transferencia del espacio de cabeza a la nariz electrónica. El tiempo de generación del espacio de cabeza es de 1 hora de forma que cuando se alcanza el equilibrio entre la fase gaseosa y líquida, un flujo de 0.2 l/min, generado por succión por la microbomba que se encuentra en el interior de la nariz electrónica, lleva el efluente a través de una de las válvulas hacia los sensores. Al mismo tiempo la segunda válvula se abre entrando a través de ella el gas portador para evitar depresiones en el interior del recipiente. Una vez que la muestra llega a los sensores modificando su frecuencia de oscilación, la cámara de medida debe ser limpiada, para lo cual, es de nuevo la microbomba de la nariz electrónica la que genera un flujo por succión de 0.2 l/min haciendo que el gas portador arrastre y elimine la muestra de la cámara de los sensores haciendo que estos recuperen su nivel base de frecuencia de oscilación.

En este estudio se llevaron a cabo 2 experimentos para verificar la estabilidad de la respuesta del equipo *Libra Nose*:

- A. evaluación de la deriva de la señal entre secuencias de test o días de trabajo para una referencia seleccionada (1-propanol) durante un año de medidas (septiembre 99 – mayo 00, 400 horas de trabajo). La generación del espacio de cabeza se llevó a cabo en botes de 50 ml herméticos, con un 10 % de su volumen ocupado por el producto a analizar. Este estudio fue llevado a cabo junto con un experimento a gran escala con peras A.1,
- B. evaluación de la deriva de la señal dentro de cada secuencia midiendo el mismo fruto tres veces durante un día de trabajo: al principio, a la mitad y al final de cada secuencia. Este experimento se repitió durante 6 días no consecutivos empleando manzanas. No se usó la referencia (1-propanol) ya que la alta concentración a la que se encuentra su espacio de cabeza alteraría la señal de los sensores dentro de un experimento. Este estudio se llevó a cabo junto con un experimento a gran escala con manzanas B.1.

Simultáneamente a los experimentos A y B se realizaron extracciones de los aromas emitidos por los frutos intactos por espacio de cabeza dinámico y los análisis de los compuestos aromáticos por cromatografía gaseosa-espectrometría de masas, tal y como se describe en López y col. 1998 (A.1. y B.1. respectivamente) encaminado a:

- A.1. determinar la influencia del tiempo de almacenamiento en frío sobre la calidad aromática de las peras *Doyenne du comice*. Se consideró una sola fecha de recolección, tres periodos de almacenamiento en frío (5, 7 y 8 meses) y tres periodos de vida en estantería (1, 4 y 7 días). El tamaño de los lotes de fruta fue igual a 60 excepto uno de 15 frutos correspondiente al periodo de recolección. El número total de muestras analizadas fue 195 frutos, y

B.1. evaluar la influencia de la vida en estantería sobre la calidad aromática de manzanas *Fuji*. Se consideraron tres periodos de vida en estantería (1, 5 y 10 días) después de tres meses de almacenamiento en frío con dos fechas de recolección (temprana: 9/10/00 y tardía:19/10/00). Para cada fecha de recolección el lote fue de 60 frutos, ensayándose cada día de vida en estantería 20 frutos. Teniendo en cuenta que cada día de trabajo un fruto era medido tres veces el número total de muestras analizadas fue de 132 frutos.

En los experimentos A y A.1 el gas portador usado tanto para la transferencia del espacio de cabeza como para la limpieza de la cámara de los sensores fue aire ambiente desecado a través de un cartucho de Cl_2Ca , y en los experimentos B y B.1 el gas portador empleado tanto para la transferencia del espacio de cabeza como para la limpieza de la cámara de los sensores fue aire sintético seco C50 (Carburos metálicos), almacenado en bolsas herméticas de *Teflon* para evitar comunicar sobrepresiones a la microbomba de la nariz electrónica.

3. Resultados

3.1 Identificación de algunas fuentes de variación

La Figura 1 representa los resultados obtenidos en el experimento A, indicando que a pesar de utilizar los cartuchos desecadores de Cl_2Ca , existe un ciclo de variación en el nivel de respuesta de los sensores que está correlacionado (coeficiente de correlación, $r = 0.66$) con los cambios de la humedad relativa del ambiente afectando a la reproducibilidad de las medidas entre días de ensayo. Realizando la misma comparación pero con respecto a la temperatura externa se obtiene que esta no afecta a la respuesta de los sensores ($r = 0.2$), esto se debe a que la temperatura realmente influyente en esa respuesta es la temperatura interna de trabajo (TIT) de los sensores. Como se observa en la Figura 2, cuando la TIT asciende por encima de los 37°C se produce una clara inestabilidad en la señal de los sensores a lo largo de una secuencia de medidas.

Figura 1. Respuesta media diaria de todos los sensores hacia el 1- propanol vs. valor diario de HR(%)

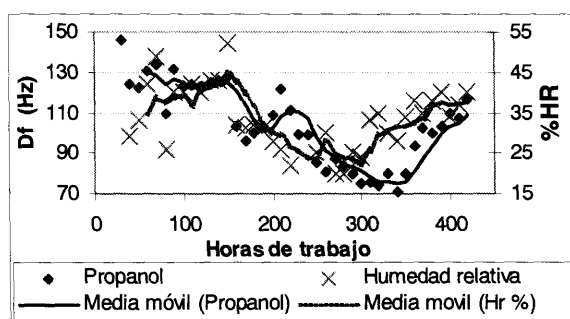
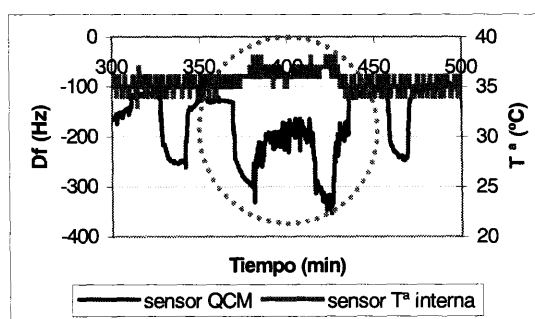


Figura 2. Evolución a lo largo de un día de trabajo de la señal de un sensor QCM vs. las variaciones de temperatura interna de trabajo de la nariz electrónica



La existencia de falta de reproducibilidad, entre secuencias o días de ensayo (efecto de la HR) y dentro de cada secuencia o día de ensayo (efecto de la T^a interna obliga a realizar una serie de calibraciones o correcciones de la señal de los sensores. Las fuentes de variación apuntadas probablemente no son las únicas existentes y están aún sujetas a investigación.

3.2 Corrección aditiva

Como se observa en la Figura 3 los datos correspondientes a la media de la respuesta diaria de todos los sensores hacia el 1-propanol (experimento A) presentan una baja reproducibilidad, estimada ésta como la desviación típica (STD) de las medidas. Aplicando una corrección aditiva la reproducibilidad mejora claramente pasando de ± 11.23 a ± 3.26 Hz.(Figura 4).

Figura 3. Datos no corregidos de la respuesta media diaria de todos los sensores hacia el 1-propanol.

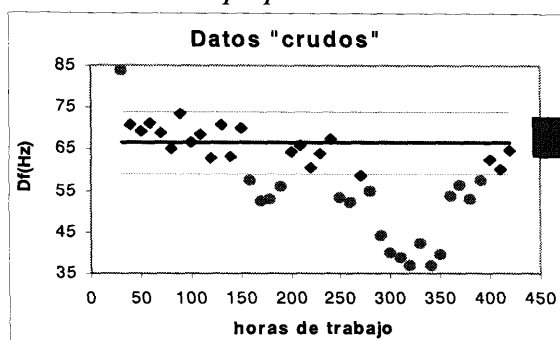
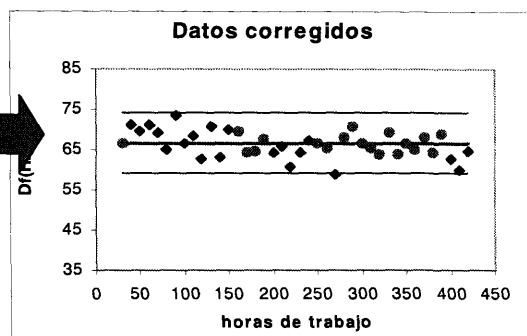


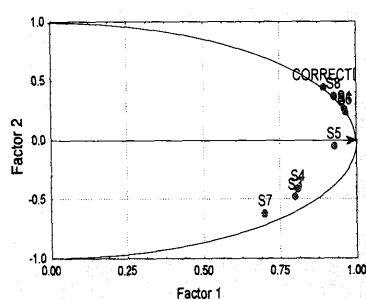
Figura 4. Datos después de aplicar la corrección aditiva.



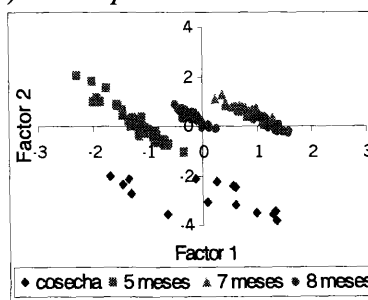
3.3. Aplicación de corrección aditiva

Sobre los datos de pera *Doyenne du Comice* (experimento A.1.), corregidos de forma aditiva, se ha aplicado un análisis de componentes principales (ACP) representado en la Figura 5. El Factor 1 está claramente correlacionado con el sensor 5 mientras que el Factor 2 está definido principalmente por el sensor 7 (Figura 5, izda, proyección de las variables). Debido a estudios previos sabemos que son los sensores 1, 6 y 8 los que presentan menor respuesta, siendo precisamente estos los que están más influidos por la corrección aplicada en relación con los sensores 3, 4 y 7.

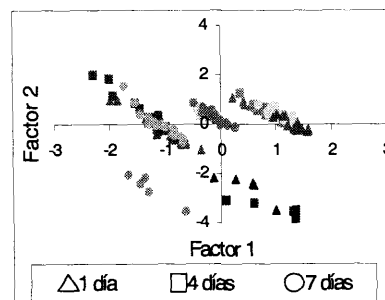
Figure 5. ACP sobre el experimento A.1 con peras *Doyenne du Comice* ($n=195$) en el que se evalúan tiempo de almacenamiento en cámara y días de vida en estantería (septiembre 99 – mayo 00). Se ha aplicado corrección aditiva.



Proyección de las variables



Proyección de los individuos: periodo de almacenamiento en frío



Proyección de los individuos: días de vida en estantería

La Figura 5 (centro) muestra la proyección de los individuos en el primer plano del ACP. A lo largo del almacenamiento frigorífico se produce un aumento de la respuesta del sensor 5 para disminuir tras los 7 meses de almacenamiento.

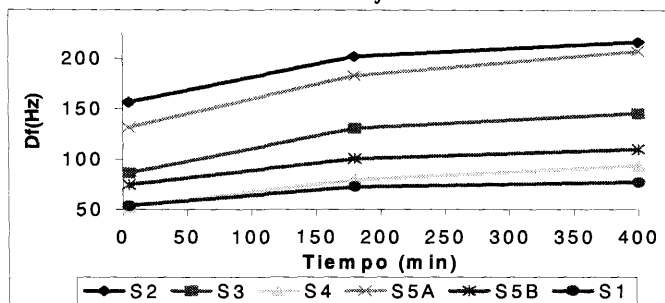
El Factor 2 permite segregar los lotes que han sufrido almacenamiento en frío de los frutos recién cosechados, lo que significa que el sensor 7 está reaccionando con algún volátil o volátiles que desaparecen durante el almacenamiento en frío. La Figura 5 (derecha) muestra de nuevo la representación de los individuos agrupados en este caso

por periodos de vida en estantería. Sólo para la fruta recién cosechada se puede observar una clara evolución de los volátiles a lo largo de la vida en estantería, como indica el sensor 5, sin embargo, este factor no explica la dispersión de los datos a lo largo del eje definido por el sensor 7, en este caso este sensor está reaccionando ante algún efecto desconocido y por tanto no controlado.

3.4. Corrección multiplicativa

La Figura 6 muestra el resultado obtenido del experimento B, indicando que existe un incremento de la respuesta media de todos los sensores desde el comienzo de la secuencia (0 min), a lo largo del tiempo (180 min) hasta alcanzar su máximo valor al final del día de trabajo (400 min).

Figura 6. Evolución media (n=6) del Δf para algunos sensores, con respecto al tiempo, para un mismo fruto y día de trabajo



En la Figura 6 cada punto de la gráfica es la media de 6 repeticiones y muestra que el incremento de la respuesta no es homogénea desde 0 a 400 minutos, sino que es posible diferenciar periodos de deriva diferentes. La deriva (d) se ha estimado de la siguiente manera:

$$d_{0-400}(\text{Hz}/\text{min}) = \frac{\Delta f_{400} - \Delta f_0}{400}; \quad d_{0-180}(\text{Hz}/\text{min}) = \frac{\Delta f_{180} - \Delta f_0}{180}; \quad d_{180-400}(\text{Hz}/\text{min}) = \frac{\Delta f_{400} - \Delta f_{180}}{220}$$

Para estar seguros de que estas derivas son estadísticamente significativas es preciso aplicar un análisis con los siguientes pasos:

primer paso: cuando d_{0-400} menos 1.96 el error típico (SE) es positivo, la deriva total es significativamente diferente de 0 (horizontal) y por tanto es necesario aplicar una corrección,

segundo paso: d_{0-180} y $d_{180-400}$ se pueden comparar por medio de un análisis de varianza (ANOVA) de forma que cuando el valor p está por debajo de 0.05 ambas derivas son significativamente diferentes entre sí y por tanto habrá que aplicar a cada periodo una corrección distinta, y

tercer paso: consiste en comparar cada una de las derivas parciales (d_{0-180} y $d_{180-400}$) con respecto a la situación de no deriva como se mencionó en el paso 1.

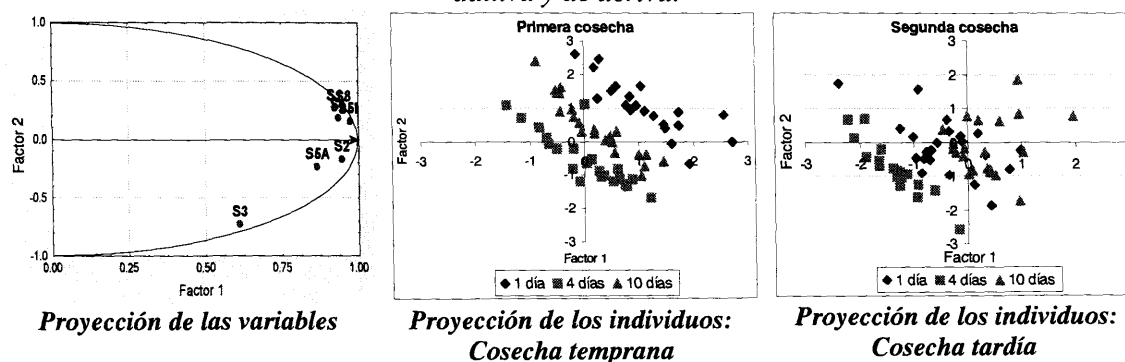
Del análisis realizado se extrae que la corrección multiplicativa (corrección de deriva) sólo debe aplicarse al primer periodo (d_{0-180}), al hacerlo la variabilidad media de los datos (estimada como la STD) disminuye de ± 24.1 Hz a ± 6.2 Hz.

3.5. Aplicación de corrección aditiva & multiplicativa

Aplicadas las correcciones descritas en los apartados 3.1 y 3.3 sobre los datos resultantes del experimento B.1 con manzanas *Fuji*, se ha realizado un ACP representado en la Figura 7. Este ACP muestra que todos los sensores aportan una información muy parecida, definiendo el Factor 1. Sólo el sensor 3 al aportar una información ligeramente diferente define el segundo factor principal. A lo largo del

Factor 1 es posible distinguir entre los tres tiempos de vida en estantería considerados, principalmente para el caso de cosecha temprana (Figura 7, centro). El comportamiento fisiológico de las manzanas *Fuji* suele asimilarse al de un fruto no climatérico, con apenas cambios a lo largo de su maduración; por ello quizás en la segunda cosecha no se obtienen claras segregaciones de los grupos a lo largo de la vida en estantería.

Figura 7. ACP sobre el experimento B.1 con manzanas *Fuji* (n=132). Se ha evaluado la vida en estantería para dos fechas de recolección (temprana y tardía). Se ha aplicado corrección aditiva y de deriva.



4. Conclusiones

- Este trabajo muestra que la estabilidad y reproducibilidad de la respuesta de los sensores es baja, debido a factores externos e internos, forzando a llevar a cabo correcciones aditivas entre secuencias y correcciones multiplicativas dentro de cada secuencia de ensayo. La humedad relativa y la temperatura interna de trabajo son algunos de estos factores aunque otros no están identificados.
- La aplicación de correcciones aditivas permite mejorar la reproducibilidad de las medidas estimada sobre el 1-propanol como referencia.
- La corrección multiplicativa permite eliminar la deriva o incremento de señal a lo largo de un día de trabajo, disminuyendo la variabilidad media de los datos.
- La aplicación de corrección aditiva permite en pera *Doyenne du Comice*, diferenciar entre 4 periodos: recolección y 5, 7 y 8 meses de almacenamiento en frío.
- Las correcciones aditivas y de deriva permiten en manzana *Fuji* detectar diferencias en la producción aromática del fruto a lo largo de 1, 5 y 10 días de vida en estantería.

5. Agradecimientos

La financiación de este trabajo ha sido realizada por la Universidad Politécnica de Madrid (beca FPI), por los proyectos nacionales CICYT (AROFRU ALI98-0960-CO2-01/02), INIA SC99-057 y por el proyecto europeo ASTEQ FAIR5 CT97-3516.

6. Referencias

1. Di Natale, C., A. Macagnano, F. Davide, A. D'Amico, R. Paolesse, T. Boschi, M. Faccio, and G. Ferri. 1997. An Electronic Nose for Food Analysis. *Sensors and Actuators B* 44: 521-26.
2. López M.L., Lavilla M.T., Recasens I., Riba M. and Vendrell M. 1998. Influence of Different Oxygen and Carbon Dioxide Concentration in Storage on Volatile Production by Starking Delicious Apples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 634-643.
3. Mielle, P., and F. Marquis. 1999. An Alternative Way to Improve the Sensitivity of Electronic Olfactometers. *Sensors and Actuators B*, no. 58: 526-35.