

Alba Vega Mañas

Optimització d'un mètode de mesura per a la diferenciació de diferents farines d'insectes mitjançant NIR portàtils i anàlisi multivariant

Treball de fi de grau

Dirigit pel Dr. Jordi Riu Rusell



UNIVERSITAT
ROVIRA I VIRGILI



Facultat de
Química
Tarragona

Departament de Química Analítica i Química Orgànica

Agraïments

M'agradaria dedicar un petit espai del meu treball de fi de grau, a totes aquelles persones que han estat acompanyant-me durant aquesta última etapa del grau que m'han ajudat durant aquestes setmanes.

En primer lloc m'agradaria agrair enormement al meu tutor Jordi Riu per ajudar-me durant tot aquest projecte, per donar-me l'oportunitat de poder treballar al seu costat i acompanyar-me durant tot aquest estudi. Per poder aprendre i posar en pràctica tots els coneixements assolits durant la carrera, adquirir de nous i aprofundir sobre el món de la Quimiometria i els espectròmetres. Donar-li les gràcies perquè ha fet que aquesta etapa acabi de la millor manera possible.

A continuació colia agrair la col·laboració de la Barbara Giaussani en aquest treball, per compartir amb mi els seus coneixements, ajudar-me a entendre més sobre els conceptes i per formar part d'aquesta etapa.

També vull agrair a la meua companya d'instruments per tot el temps invertit en les discussions sobre variables, gràfics estranys i els dubtes que sorgien i, també per l'ajuda en alguns moments del treball i en els moments d'estrès.

Per últim també volia donar les gràcies a tots els companys i integrants del departament. En concret als meus companys de laboratori per l'ajuda i els ànims que m'han donat, i per tants bons moments que hem passat junt durant tota la meua estada.

Estic molt agraïda a totes aquestes persones que han fet el meu final d'etapa un moment inoblidable.

Índex

Resum.....	6
Abstract	6
1. Objectiu	7
2. Introducció	7
2.1. Farines d'insectes	7
2.2. Instruments NIR Portàtils	8
2.3. Anàlisi Multivariant	10
3. Part Experimental.....	11
3.1. Mostres	11
3.2. Instrumentació	12
3.3. Programes	14
3.4. Estudi del mètode amb farines vegetals	15
3.4.1. Anàlisi variables amb farina vegetal.....	15
3.4.2. Quantitat	17
3.4.3. Reflector	19
3.4.4. Temps d'anàlisi.....	21
3.4.5. Variables Optimitzades	22
3.5. Optimització farines d'insectes	23
3.5.1. Primera mesura de la farina d'insectes	23
3.5.2. Nombre d'espectres per mitjana de la mostra	25
3.5.3. Distància SCiO mostra	26
3.5.4. Mida suport de la mostra	27
4. Agrupacions de les farines d'insectes	28
4.1. NeoSpectra	30
4.2. SCiO	33
5. Degradació	36
5.1. Primera setmana	37
5.1.1. NeoSpectra	37
5.1.2. SCiO	37
5.2. Segona setmana	38
5.2.1. NeoSpectra	38
5.2.2. SCiO	39
5.3. Tercera Setmana	40

5.3.1. NeoSpectra	40
5.3.2. SCiO	41
5.4. Últimes dues setmanes.	41
5.4.1. NeoSpectra	42
5.4.2. SCiO	43
6. Conclusions	45
Bibliografia	46

Resum

Avui en dia la població està en continu creixement pel que els problemes de sobrepoblació i la demanda d'aliments estan cada cop més a prop, pel que s'intenta resoldre aquests problemes mitjançant altres fonts d'alimentació com ara els insectes.

A poc a poc el comerç d'aquests petits animals, que contenen una gran font de proteïnes, s'ha fet més i més gran pel que, fins i tot, es poden trobar granges i molts derivats alimentaris d'aquests animals.

Però en els últims anys a Europa s'ha controlat molt la venda d'insectes per al consum humà perquè van aprovar una nova llei que implica aquest comerç, pel que la preocupació per la seguretat i la qualitat d'aquests aliments fets d'insecte s'ha notat a l'indústria alimentària.

Pel que estan aplicant tècniques espectroscòpiques d'infraroig proper amb la utilització d'instruments portàtils que presenta una tecnologia innovadora en procés de desenvolupament de millora per a l'experimentació dels estudis d'aquests aliments, per al possible control de qualitat en el camp de les farines d'insecte. Gràcies al fet que els NIR són mètodes analítics no destructius, ràpids i senzills per al control de qualitat i classificació d'aliments.

Abstract

Nowadays the people are increasing so they have some problems of the over population and the food demanding they are getting closer, so it tries to solve this problem by other types of food like insects.

A little by little, the trade of these little animals, which have a big quantity of proteins, they did much bigger, that now we can find farms and a lot of derivatives of the insects.

But in the last few years at Europe has been controlled the sale of insects for the human's consume because there is a new law that involve the trade of the insects, so concern for safety and the quality of this food made by insects have been noticed in the food industry.

So, some people have been using near infrared spectrum portable techniques that presents new Technology in developing process to improve these experiment NIR spectrometer is an analytical methodology non-destructive, with fast analysis and easy to use to do the quality control and a classification.

1. Objectiu

En aquest treball es vol estudiar l'optimització d'un mètode de mesura per a analitzar diverses farines d'insectes mitjançant instruments NIR miniaturitzats. S'utilitzen dos instruments portàtils complementaris i tècniques d'anàlisi multivariant per a analitzar les dades per a estudiar i identificar relacions entre les diferents farines per a la distinció d'elles.

2. Introducció

El treball es realitza a la Universitat Rovira i Virgili en el grup de recerca de Quimiometria, Qualimetria i Nanosensors amb la col·laboració d'una professora de la Università Degli Studi Dell'Insubria (Como, Itàlia). En aquest grup desenvolupen nous sensors basats en materials nano estructurats i apliquen nous instruments portàtils miniaturitzats juntament amb l'aplicació i desenvolupament de tècniques quimiomètriques i qualimètriques per extreure la informació útil de les dades obtingudes i així millorar la qualitat dels resultats de les mesures.

Aquest treball se centrarà en el desenvolupament i optimització d'un mètode de mesura mitjançant dos instruments miniaturitzats portàtils d'infraroig proper anomenat SCiO i NeoSpectra, dos instruments NIR complementaris, ja que mesuren dos intervals de longituds d'ona diferent, per a la classificació i identificació de diferents tipus de farines/molturats d'insectes a partir d'eines multivariants com el PCA (Components Principals)

2.1. Farines d'insectes

La recerca d'aliments per una dieta equilibrada és una de les preocupacions per a la humanitat, ja que un estudi estima que en 2050 la població mundial augmentarà a uns 9.600 milions de persones¹ i com a conseqüència creix la demanda d'aliments i especialment el consum de proteïnes, com la carn d'alguns animals, per una dieta equilibrada².

Aquesta necessitat de proporcionar una solució comporta la possibilitat d'introduir insectes en la dieta, pel seu valor nutritiu que pot equivaldre a la carn perquè conté un 70% de proteïna, a més, d'aminoàcids essencials, vitamines (B12), minerals (ferro, cinc, calci...) i fibra³. També és molt més ecològic obtenir un quilogram de proteïnes d'insecte que de carn pel que fa a el consum d'aigua i l'efecte hivernacle que produeixen les granges de producció càrnica, com veu a la taula 1.

Per algunes persones aquest producte pot ser impossible visualitzar-lo en la seva dieta actual, però a poc a poc s'obre pas globalment, no només en uns pocs països com Tailàndia, també es pot trobar moltes receptes, snacks pel consum humà i suplements de proteïnes⁴.

Tot i això, des del 1 de gener del 2018, la UE va aplicar un nou reglament⁵ que afegeix a l'insecte com nou aliment, però la Comissió Europea va sol·licitar a l'Autoritat Europea de Seguretat

Alimentaria el control dels possibles perill microbiològics, químics i ambientals associats amb l'alimentació dels humans i animals a partir d'aquests insectes, pel qual, a causa de la desconexió dels possibles riscos es va iniciar una investigació sobre la producció dels insectes⁶.

Posteriorment, el gener de 2021 l'Agència Europea de Seguretat Alimentaria va decidir incloure el consum del cuc de la farina com a aliment per al consum humà.

A Espanya, el reglament no permet la venda d'insectes per al consum humà, però segurament la situació canviï aviat.

La producció de derivats d'insectes a més de ser ric en compostos saludables i beneficiosos per als humans també és recurs sostenible i ecològic⁷.

Taula 1. Diferents factors que afecten al cultiu d'insectes comprant-lo amb altres productes animals (Proteinsecta, 2021)

Espècie	Insecte	Gallina	Porc	Vaca
Gasos efecte hivernacle per quilogram de pes (g)	2	0	1130	2850
Aliment necessari per quilogram de pes (g)	1,7	2,5	5	10
Terreny necessari per cada gram de proteïna (m ²)	18	51	63	254
Aigua necessària per cada gram de proteïna (L)	23	34	57	112

2.2. Instruments NIR Portàtils

L'espectroscòpia NIR (IR proper) ha guanyat veu com una tècnica analítica no destructiva. Aquesta tècnica es basa en l'estudi de l'emissió i absorció d'energia que es provoca la llum inserida que proporciona una vibració de la molècula, bàsicament l'espectròmetre produeix una radiació que és inserida a la mostra i amb un detector rep l'energia restant de la mostra amb el qual es pot interpretar mitjançant un espectre d'infraroig.

El rang del infraroig està entre 100000 nm fins a 800 nm que es distribueixen en tres zones: IR llunya (FIR) 1000000 – 25000 nm, IR mitjà (MIR) 25000 – 4000 nm i IR proper (NIR) 4000 – 800 nm.

Taula 2. Taula de longituds d'ona de la regió IR i enllaços que es troben en aquella regió.

	FIR	MIR	NIR
Longitud d'ona (cm⁻¹)	10 – 400	400 – 4000	4000 – 12500
Enllaços	Enllaç homonuclear C – C, C = C, S – S	Enllaços polars C = O, C – O, C – F	Enllaços que contenen H C – H, O – H, N – H, S – H

La regió del NIR es caracteritza per bandes aromàtiques i de combinació s'utilitza àmpliament per a anàlisis de composició de productes alimentaris⁸.

Taula 3. Bandes assignades a la longitud d'ona de la regió del NIR⁹.

Longitud d'ona (nm)	Grups funcionals	Assignació
1167	CH ₃ –	C – H stretch second overtone
1237	– CH ₂ –	C – H stretch second overtone
1373	CH ₃ –	2C – H stretch + C – H deformation
1423	– CH ₂ –	2C – H stretch + C – H deformation
1462	– CH ₂ –	2C – H stretch + C – H deformation
1724	– CH ₂ –	C - H first overtone
1828	– CH ₂ –	C - H first overtone
1830	– CH ₂ –	C - H first overtone
1844	– CH ₂ –	C - H first overtone
2022	– COOR	C - H srt. + C = O str
2049	– COOR	C - H srt. + C = O str
2152	– HC = CH –	=CH str. + C=O str.

Els instruments per la mesura de l'espectroscòpia infraroja estan en constant evolució i estan molt demandades per la indústria alimentària, ja que es una mesura no destructiva, amb alta precisió, que no requereix en molts casos de cap pretractament previ a la mostra i és una anàlisi ràpid per garantir la qualitat i seguretat del aliments. A més pot analitzar tant mostres líquides, sòlides i en estat gasós sense cap perill per al medi ambient, ja que no necessita cap solvent tòxic i contaminant.

En els darrers anys, gràcies als avenços en tecnologies com el MEMS, s'ha posat al mercat una sèrie d'instruments NIRs miniaturitzats i portàtils, que permeten portar el laboratori a la mostra en lloc de la mostra al laboratori. Aquesta evolució es graciés bàsicament en el disseny d'aquests espectròmetres miniaturitzats perquè estan en constant evolució per tal de millorar les limitacions que van trobant.¹⁰

El disseny d'un espectròmetre NIR miniaturitzat està compost per una font de llum, que pot estar formada per una bombeta d'halògens, com s'utilitza al NeoSpectra. Aquest és una font de radiació tèrmica de tungstè que produeix una llum amb una intensitat, una font de radiació com aquesta és fiable, barata i dona una sortida estable un cop s'ha assolit l'equilibri. Encara que té alguns problemes, ja que els NIRs portàtils són propensos a les variacions de temperatura pel que pot perjudicar a l'anàlisi, però es troben diferents solucions com correcció de temperatura o utilitzar díodes de llum LED, com el SCiO. La llum LED és un element conductor, en el qual al flux de corrent es combina electrons i forats d'electrons el que produeix un excés d'energia provocant una emissió de fotons. Té avantatge respecte a l'altra font, però també limitacions com que la banda ampla d'emissió és reduïda i els LEDs que emeten a aquella regió no es troben amb molta facilitat⁸.

Per altra part el NIRs portàtils, contenen un selector de longitud d'ona que es poden diferenciar entre dues classes els selectors dispersius, per exemple el que utilitza un interferòmetre MEMS (sistemes microopto-electromecànics), com el NeoSpectra, els instruments que només les longituds d'ona escollides arriben al mateix temps al detector. Aquests instruments han estat infravalorats a causa d'altres instruments que utilitzen transformada de Fourier (FTIR). Els

instruments FTIR que són aquells instruments que tota la longitud d'ona arriba al detector en forma d'interferograma, això millora el rendiment òptic de l'espectròmetre provocant un progrés en la relació senyal-soroll.

Per últim els detectors, on hi ha de dues classes, un és de díodes fotovoltaics de silici que mantenen una sensibilitat adequada sobre la regió de 700 a 1100 nm, com el que s'utilitza al SCiO, el qual és econòmic i compacte. Siuament els detectors de InGaAs (Indi Gal·li i Arsènic) que treballen sobre longituds d'ona a 900 a 1700 nm, aquest detector té resposta ràpida, bona eficiència quàntica i permet temps d'escaneig curts amb bons resultats en relació amb senyal – soroll.

Tot i que els espectròmetres portàtils fa relativament poc que existeixen ja tenen múltiples aplicacions en el sector farmacèutic, per a medicina natural, el sector agroalimentari, per a sòls, sector de seguretat i forense, tèxtil i polimèric...⁸

L'estudi de l'alimentació és un dels camps més especialitzats per aquests instruments, ja que les regions més utilitzades són la MIR i NIR. La penetració de la radiació del NIR permet l'estudi de molècules més complexes. A més, l'efecte de mode local fa que els espectres siguin més senzills.⁸

L'evolució de l'espectròmetre NIR va començar cap a l'any 1960 amb el treball de Karl H Norris i cap al 1970 van incrementar les publicacions per les aplicacions d'aquest instrument per al sector d'agricultura i alimentació. Al començament de les investigacions determinaven humitat i proteïnes dels aliments. Més endavant, es va detectar proteïnes, humitat i oli, cap a la dècada del 1980 van permetre l'estudi de compostos com els carbohidrats. Però d'aquests nous instruments portàtils s'han començat a veure articles sobre l'any 2013¹⁰.

La majoria dels estudis se centren en els paràmetres de qualitat de productes alimentaris finals, també l'anàlisi per demostrar l'origen, l'autenticitat o els valors nutricionals.

2.3. Anàlisi Multivariant

Una de les principals aplicacions de la quimiometria ha estat en la indústria alimentària pel control de qualitat ja sigui per determinar adulteracions, ingredients, composició química¹¹.

Pel que s'utilitza l'anàlisi multivariant que proporciona mètodes per a extreure informació d'una matriu complexa de dades que es mesuren simultàniament amb diverses variables, pel que ajuda a visualitzar relacions entre les mostres i les variables.

Una de les tècniques representació per l'exploració de dades és la de l'Anàlisi Components Principals (PCA), un mètode senzill per extreure conclusions sobre relacions entre mostres o variables, per obtenir un model i poder discriminar i fer anàlisis de les dades.

En un PCA les dades es descomponen en components principals (PCs) que són combinacions lineals de les variables que segueixen una la direcció de màxima variació en les dades i, per tant reté el màxim d'informació. D'aquesta manera, dades que s'haurien de representar en un espai multidimensional com per exemple les múltiples longituds d'ona d'un espectre, poden

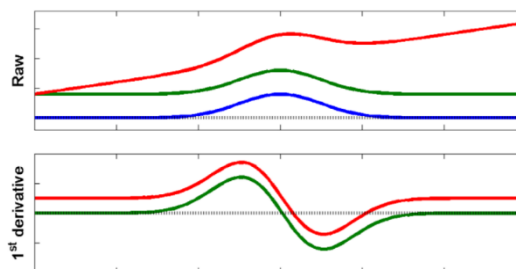
representar-se en unes poques dimensions conservant la majoria de la informació original. A més podem saber el percentatge de la informació original que explica cada PC, amb el qual podem saber si la informació explicada en un determinat gràfic és representativa de la informació original.

Aquesta informació s'analitza en diversos gràfics com:

- Gràfic d'*scores* on mostra un sistema de coordenades definit pel s PCs que poden indicar relacions entre mostres i, també agrupacions de mostres amb possibles valors de variables en comú. Pel que si es veu un gràfic amb punts aleatoris pot fer pensar que aquestes dades no tenen cap variable en comú o que no els hi afecta.
- Gràfic de *Loadings* on mostra els coeficients que defineixen els PCs i combinacions de variables originals. El que pot indicar la importància de les variables i les relacions entre les variables i PCs.

A les dades prèviament se'ls hi aplica algun pretractament per tal d'eliminar efectes no relacionats amb la informació química (com per exemple diferències en la línia base dels espectres) i per tal que així la informació que s'obté sigui més fàcil i senzilla d'interpretar. Hi ha molts pretractaments, però en aquest treball es centrarà en tres.

1. Centrat, que tracta sobre un pretractament de rutina que es fa a totes les matrius de dades on centra per columnes.
2. Primera derivada, que proporciona una correcció de la línia base, tant per efectes constants com proporcionals.
3. SNV (*Standard Normal Variate*), per reduir efectes multiplicatius i constant deguts a efectes físics relacionats amb la dispersió de la llum i obtenir una línia base constant a tots els espectres.



Il·lustració 1. Representació de les dades pretractades per la primera derivada ¹³

13

3. Part Experimental

Per la part experimental es farà l'estudi de les diferents variables que poden afectar al mètode de mesura de la mostra per després fer els diferents estudis de les farines d'insectes.

3.1. Mostres

3.1.1. Farines vegetals

- Farina de blat de moro

Marca: P.A.N Empresa: Empresa Polar, Veneçuela

D'aquesta farina s'agafa la meitat i es tritura amb un morter per fer dues parts una farina fina i l'altre més gruixuda.

La farina es divideix per a estudiar l'influència de la mida del gra en la classificació, que pot ser important en les mesures espectroscòpiques degut a efectes físics de dispersió de la llum, si hi ha variabilitat o no hi ha cap efecte.

- Farina de blat

Marca: Hacendado Empresa: Mercadona, Espanya

3.1.2. Farines d'insectes

Taula 4. Diferent tipus de farines d'insectes

Insecte	Empresa	Quantitat	Proteïna	Àcids grassos	Glúcids	Fibra
Grill (C2) (<i>Acheta domesticus</i>)	Crunchy Critters, Derby, Anglaterra	3 bosses de 100 gr	66 gr	25,5 gr	2 gr	3,5 gr
Grill (C1) (<i>Acheta domesticus</i>)	Nimavert, Harelbeke, Bèlgica	100 gr	57,3 gr	21,5 gr	2,7 gr	4,9 gr
Cuc de la farina (M1) (<i>Tenebrio molitor</i>)	Nimavert, Harelbeke, Bèlgica	100 gr	50 gr	30,80 gr	6,7 gr	3,3 gr
Cuc (B1) (<i>Alphitobius diaperinis</i>)	Entofood, Emerlo, Països Baixos	100 gr	59,6 gr	28,7 gr	2,7 gr	3,7 gr
Saltamartí (G1) (<i>Locusta migratoria</i>)	Entofood Emerlo, Països Baixos	100 gr	56,3 gr	31,6 gr	1,6 gr	8,5 gr

3.2. Instrumentació

3.2.1. NeoSpectra

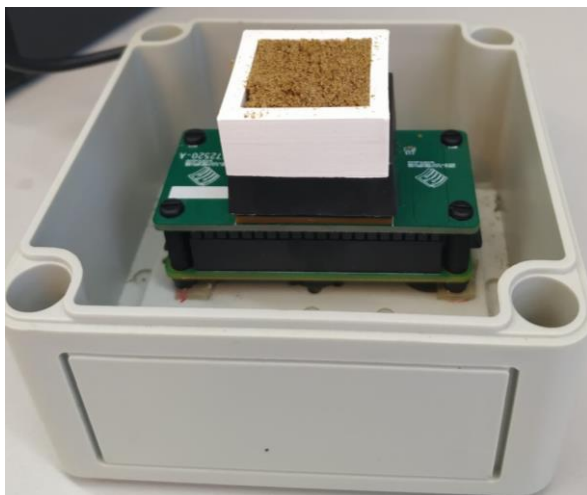
El NeoSpectra (Si-ware Systems, Egipte) és un espectrofotòmetre 32 x 32 x 22 mm amb un pes de 17 gr. Està constituït per tres llums de halogen de tungstè, un interferòmetre Michelson construït amb tecnologia micro – electromecànica (MEMS) i un fotodetector InGaAs.

El rang del NeoSpectra és de 1350 a 2558 nm i la resolució és de 16 nm.



Il·lustració 2. NeoSpectra vist per la perspectiva de dalt.

Es connecta mitjançant USB al ordinador, s'escalfa durant uns 25 minuts abans de fer la primera mesura i per la seva calibració es fa el blanc amb el reflector Spectralon (fluoropolímer amb un 99% de reflectància a la llum UV, visible o NIR).



Il·lustració 3. NeoSpectra amb el suport amb la mostra

La mostra es diposita en un suport en forma quadrada específicament dissenyat amb aquesta finalitat i fabricat amb una impressora 3D, i es col·loca damunt de la finestra de 20 x 20 mm sense cap distància entre la mostra i el detector.



Il·lustració 4. Reflector "Spectralon"

Les dades s'agafen utilitzant el software propi del instrument, els valors obtinguts es guarden al ordinador en format ASCII.

3.2.2. SCiO

El SCiO (Consumers Physics, Minnesota) és un espectrofotòmetre de mida 67,7 x 40,2 x 18,8 mm amb un pes de 35 gr. Està constituït per una LED IR de banda ampla acoblat a un element de dispersió i un sensor d'imatge CMOS (Semiconductor complementari d'òxid metàl·lic) de 1,2 Mpixels basat en silici.



Il·lustració 5. SCiO amb la carcassa i l'extensió del SCiO



Il·lustració 6. SCiO llum i detector i la carcassa amb la que es fa el blanc

L'instrument s'encén amb el botó que es troba en l'instrument però s'opera utilitzant l'aplicació "The Lab" descarregada al mòbil la qual transmet les ordres mitjançant Bluetooth. L'app té versió iOS i Android, i en aquest treball s'ha utilitzat la versió Android.

Per fer la mesura, primer es calibra fent un blanc utilitzant el material reflectant blanc que es troba incorporat a la part interior de la carcassa de l'instrument. Un cop calibrat s'afegeix la mostra al mateix suport que el NeoSpectra amb el portaobjectes i es col·loca sota l'instrument amb una extensió del SCiO que el que fa es augmentar la distància entre el

SCiO i la mostra 1 cm.

Les dades es registren a la web "The Lab – Consumer Physics" (<https://thelab.consumerphysics.com>) i es poden descarregar a l'ordinador en format Excel.

3.2.3. Impressora 3D

Els suports que s'utilitzen per afegir la mostra, es creen mitjançant el model de impressora 3D Replicator I (Makerbot, Nova York).

3.3. Programes

El programes utilitzat són:

- Per a l'anàlisi multivariant.

Matlab 2012, Mathworks

PLS_Toolbox , Eigenvector Research, Inc (Manson, Estats Units)

- Per l'extracció de dades del SCiO.

The Lab App, Consumer Physics Inc. (St. Cloud, Minnesota)

- Per la creació de les maquetes 3D.

FreeCAD, The FreeCAD Team

3.4. Estudi del mètode amb farines vegetals

Per a l'optimització del mètode de mesura es comença estudiant les variables amb les farines vegetals, especialment la farina de blat de moro, així es pot fer una idea com de començar les condicions de la mesura, ja que són instruments que són molt nous i no hi ha gaire informació de com utilitzar-los en les condicions específiques de mesura en cada cas. L'objectiu d'aquesta optimització és trobar les condicions experimentals òptimes que discriminin millor els diferents tipus de farina d'insecte. A més, per la configuració especial de cada tipus d'espectrofotòmetre NIR miniaturitzat (diferents tipus i geometria dels diferents components, des de les làmpades fins als detectors), els paràmetres de mesura han d'optimitzar-se específicament per a cada instrument.

A més, la nova legislació esmentada a la introducció dificultava la compra d'aquestes farines d'insectes per això es té poca quantitat i com no s'ha utilitzat abans es preferia fer un primer cribratge de condicions experimentals amb les farines vegetals per assegurar-nos de tenir-ne suficient quantitat per l'optimització final i per posteriors etapes de classificació i estudis d'estabilitat de les farines d'insecte.

3.4.1. Anàlisi variables amb farina vegetal

Les variables a optimitzar en les mesures fetes amb el NeoSpectra principalment són :

- Quantitat de farina a posar dins del suport de mesura
- Efecte del reflector
- Temps d'anàlisi

Les variables a optimitzar principalment al SCiO són:

- Quantitat
- Efecte del reflector

Les proves realitzades es faran amb diverses variables per tal de veure i estudiar com es comporta les diferents variables i com es relacionen entre elles per així poder decidir quin és el mètode òptim per a la mesura de les farines.

També abans de començar s'ha de tindre en compte el tipus de mesura, de la quantitat de mostra i de la distància que pugui travessar la radiació, a més de la natura i composició de la mostra pel que s'estudia quin és el mètode que s'utilitza en les mostres si reflectància o tranflectància, ja que de transmitància no haurà perquè el detector es troba al costat de la llum incident com es veu a la il·lustració 7.

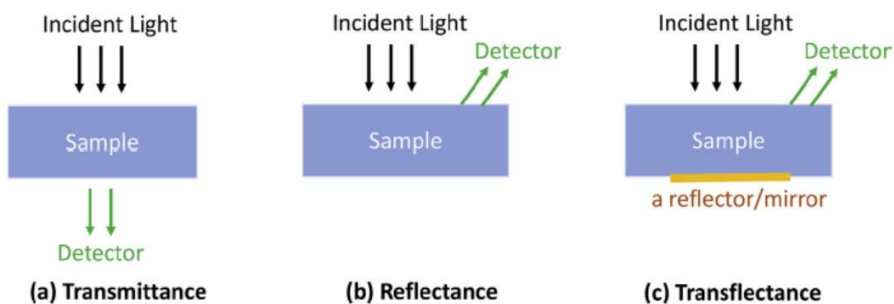
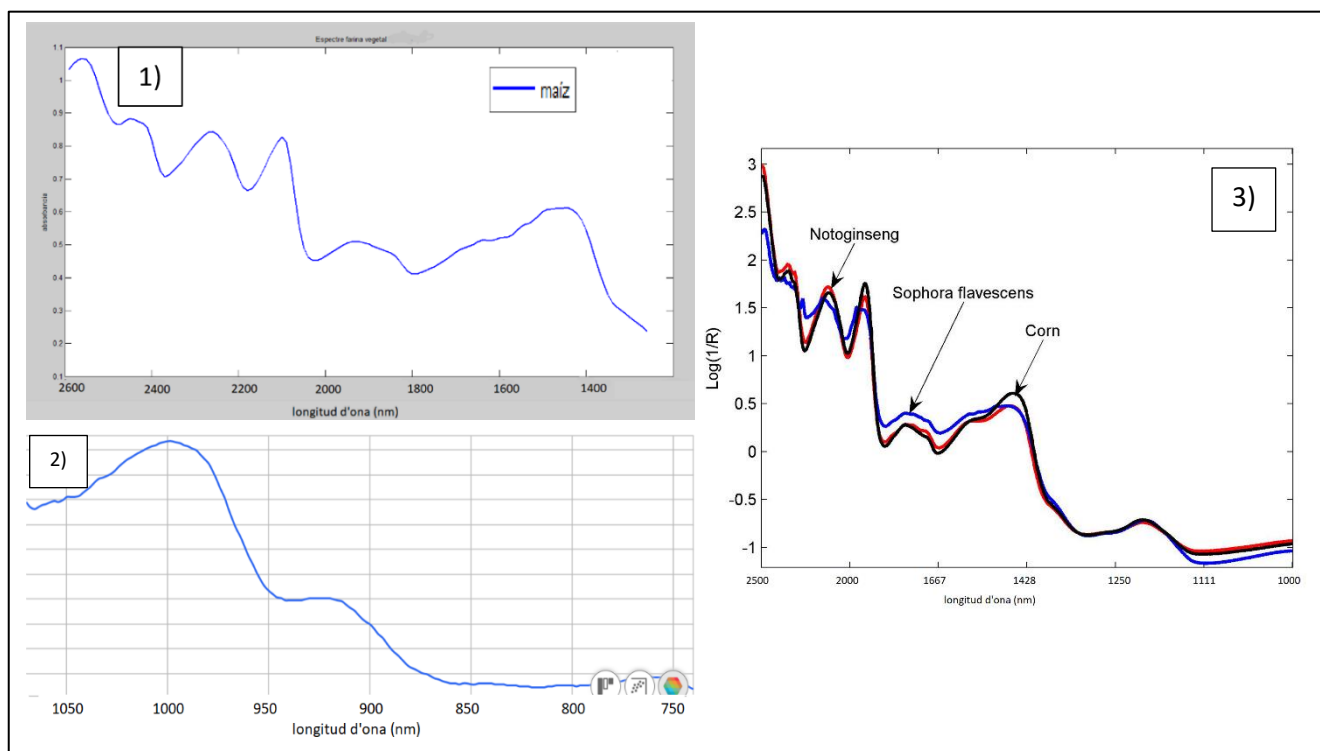


Fig. 3. Three spectrum acquisition modes of NIR spectroscopy.

Il·lustració 7. Metodes d'obtencio de l'espectre,imatge obtinguda¹⁴

Abans de l'anàlisi de les variables es realitza una mesura amb el NeoSpectra i el SCiO, amb la capsa plena i cinc segons i es va comprovar que l'espectre sigues similar a la referència en aquell rang de longitud d'ona.



Il·lustració 8. Espectres blat de moro realitzats amb diferents instruments. 1. NeoSpectra 2. SCiO 3. Referència article¹⁵

S'observa que el espectre fet amb el NeoSpectra segueix la referencia, en canvi, en el SCiO no es pot veure si segueix perquè el seu rang d'ona no s'observa gaire a la referència.

3.4.2. Quantitat

Aquesta variable s'estudia mitjançant dues mesures amb la farina de blat de moro.

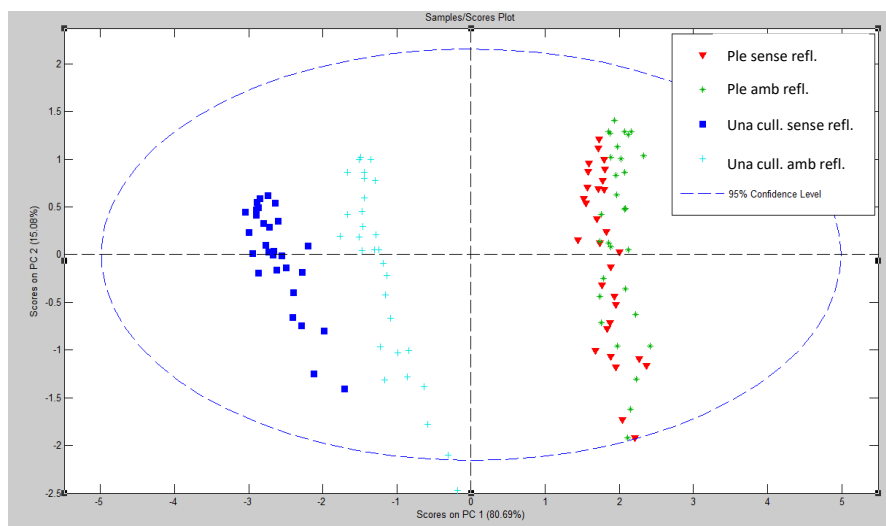
1. Mesura amb una cullerada de mostra, 0.01 grams.
2. Mesura amb la caixaeta del porta mostra plena, 1 gram.

Es fan les anàlisis mirant aquestes dues quantitats amb diferents variables com el temps i l'efecte del reflector que s'explicarà posteriorment en l'apartat 3.4.3.

Per tal d'analitzar les dades es varen fer 30 rèpliques instrumentals (30 espectres) de cada una de les diferents condicions experimentals, i es van analitzar les dades amb l'ajuda dels gràfics d'scores de la corresponent anàlisi PCA. Com s'analitzen més variables, els espectres poden ser comparables pel que els gràfics no es veuran diferències entre les diferents variables.

NeoSpectra

A la il·lustració 9, s'observa una separació entre els scores de la caixa plena i posant només una cullerada de farina dins del suport. El reflector és un factor que té un efecte, quan es posa una cullerada de farina, cosa que es veurà en el següent apartat. En canvi amb el suport ple no es veu gran separació entre els scores de les mesures amb reflector i sense ell. Això pot ser degut al fet que la llum no travessa tota la mostra, per això no arriba al reflector, o també la llum que arriba al reflector és reflectida, però no arriba de tornada al detector.

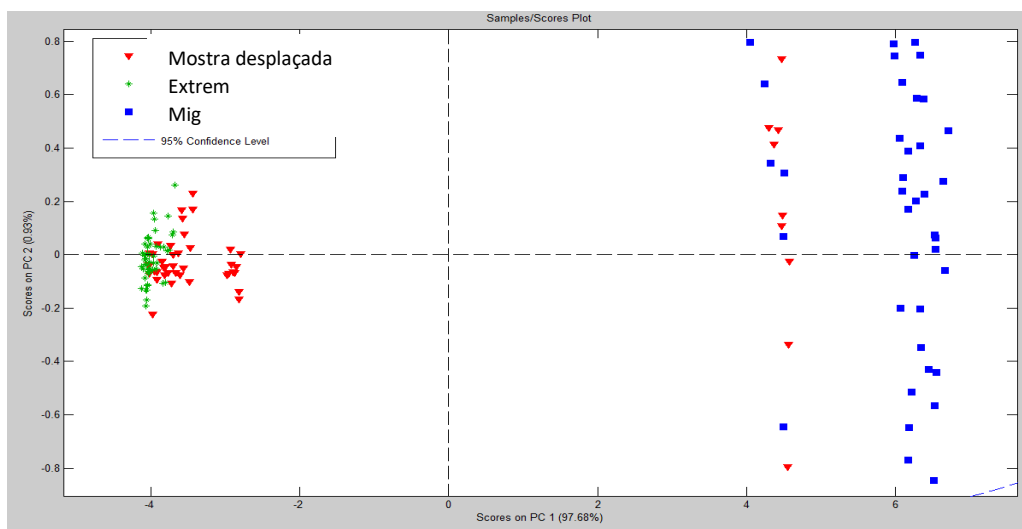


Il·lustració 9. Gràfic d'scores NeoSpectra analitzant mostra de blat de moro en 5 segons.

Les mesures amb una cullerada estan més distribuïdes pel gràfic això pot indicar que aquest procés és menys reproducible a l'hora d'analitzar la mostra, ja que com la cullerada es col·loca manualment, no sempre es pot posar al mateix lloc sobre la superfície del suport.

Per confirmar l'efecte de la posició s'ajusta una cullerada de la mostra al mig de la finestra, una mica desplaçada del centre i a un extrem. Això permetrà saber, observant els corresponents scores del gràfic PCA, si l'espectre de la mostra varia segons la posició de la mostra respecte al

detector o si només és efecte de la forma de la mostra. Perquè a l'afegir una cullerada la mostra pot caure a la finestra del detector i ser rodona o quadrada, amb més altura o menys, és a dir, no sempre és la mateixa.



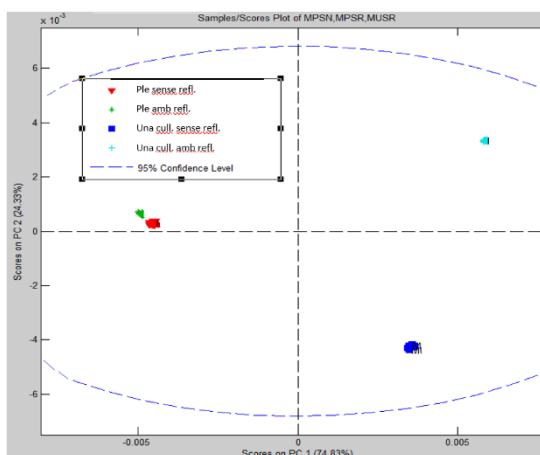
Il·lustració 10. Gràfic scores mostra blat de moro en diferents posicions sense reflector.

Les mesures a l'extrem s'agrupen perquè no es reflecteix la llum inserida, i per això el que s'obté a l'espectre és simplement soroll. Algunes mesures fetes en una posició desplaçada també es troben a la part on estan les mesures centríques, ja que el detector no es troba al centre de l'instrument, com es pot veure a la il·lustració 2.

Fent aquestes anàlisis el que es pot concloure és que posar una cullerada té més variabilitat experimental, llavors per obtenir els mateixos espectres sempre serà millor ficar el suport ple per disminuir aquesta variació.

SCiO

Per les mesures fetes amb el SCiO s'utilitza el mateix suport a una distància de 1 cm entre la mostra i el detector.



En la il·lustració 11 es veu una separació entre el suport ple i una cullerada, però no és molta, ja que com indica a l'eix del PC1 estan a una distància entre ells de 0.01. Tampoc hi ha diferència entre els espectres de la mateixa mesura.

Il·lustració 11. Gràfic d'scores de la mostra de blat de moro amb diferents quantitats de mostra

En aquest cas, no es pot concloure quina seria la millor opció per al mètode de mesura per això també es mira l'efecte de la posició de la cullerada, ja que depenen on està situat el detector, la llum inserida arriba a una part de la mostra i no tota per això pot afectar a l'anàlisi.

Un cop fet l'anàlisi, en el gràfic d'*scores* s'obtenen les mateixes conclusions que al NeoSpectra, ja que amb una cullerada hi ha molta variabilitat entre els espectres, cosa que amb el suport ple no hi ha tant.

3.4.3. Reflector

L'efecte del reflector s'estudia amb el reflector d' Spectralon i la farina de blat de moro.

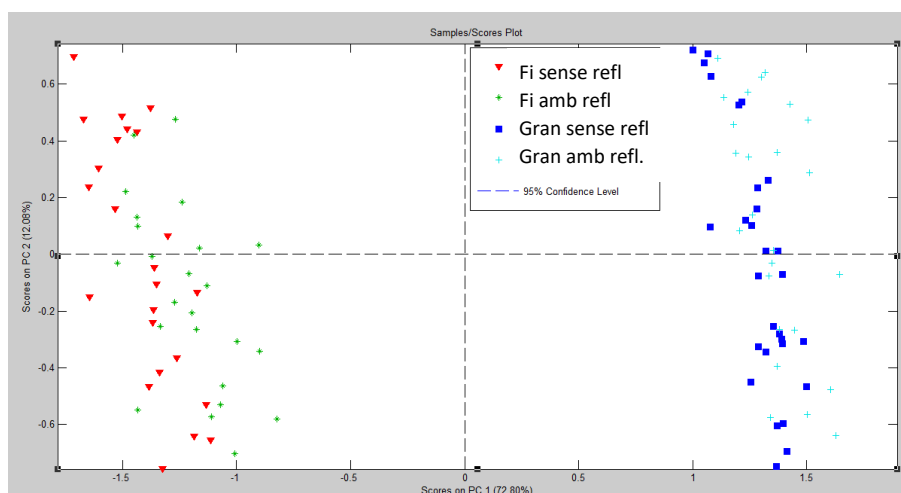
1. Mostres amb reflector a la part contrària de l'instrument
2. Mostres sense reflector.

Aquesta variable s'estudia amb altres factors com la quantitat esmentada anteriorment i el temps d'anàlisi.

S'analitzen les dades de cadascun dels 30 espectres fets de cada situació experimental amb l'anàlisi multivariant utilitzant com a pretractament la primera derivada.

NeoSpectra

A la il·lustració 9, es pot veure que el reflector només afecta si la mostra és d'una cullerada i no a tot el suport ple, per això es decideix fer una mesura amb un blat de moro més fi, el qual hem picat abans amb el morter de la mateixa farina, per veure si es poden diferenciar entre gra fi i més gruixut sense reflector per la classificació posterior. Es pensa que la mida del gra pot tindre molta influència en les mesures, perquè com es treballa amb mesures de dispersió de la llum, se sol veure molt afectat per la mida de les partícules. Així que es mira si es pot eliminar amb un pretractament abans de veure el PCA.



Il·lustració 12. Gràfic scores caixa plena diferents grans de farina de blat de moro amb reflector i sense.

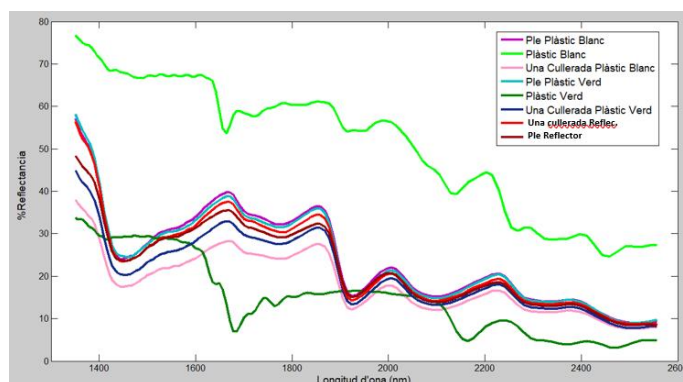
El PC1 de la il·lustració 12 informa de la mida del gra, ja que se separen per dos grups, però la diferència entre reflector i sense no s'observa en cap dels dos tipus de grans perquè es veu una distribució aleatòria dels punts i sense agrupació o separació entre ells, el que pot indicar que el reflector no influeixi en la mostra.

També s'observa que la distribució del PCs dels grans no es uniforme cosa que es pot deure al fet que la mida no es uniforme.

Per acabar de confirmar que el reflector no és necessari pel suport ple, es fa unes mesures on en comptes d'utilitzar el Spectralon, s'utilitzen dos plàstics que absorbeixen al rang de longituds d'ona que s'estudia amb els instruments. Aquesta mesura indicarà si la llum que insereix a la mostra és absorbida totalment per la mostra o arriba al reflector i torna al detector.

Per aquest estudi s'utilitza el materials següents:

- Plàstic blanc
- Plàstic verd
- Spectralon



Il·lustració 13. Gràfic espectres on es poden veure els espectres de la mostra de farina de blat de moro canviant el reflector per un plàstic verd i blanc.

Com es veu a la il·lustració 13 no hi ha diferència entre els espectres amb els materials que s'han utilitzat com a reflector.

En definitiva amb l'anàlisi del NeoSpectra s'utilitza el mètode de reflectància, a causa que no arriba radiació, o si arriba, aquesta no és capaç de travessar tota la mostra de tornada al detector. Pel que no s'utilitzarà el reflector en el mètode d'anàlisi.

SCiO

L'estudi del gràfic d' *scores* ens diu que els punts d'una cullerada amb reflector i sense, estan bastant llunyans entre ells, com es veu a la il·lustració 11, això indica que quan s'utilitza el SCiO és més convenient utilitzar el reflector. En canvi amb el suport completament ple els *scores* s'agrupen en un lloc no molt lluny entre ells el que fa pensar que la llum no arriba fins al reflector i retorna.

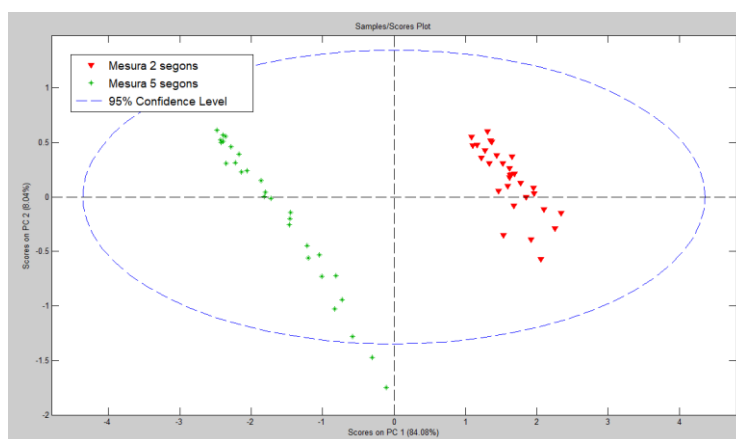
Per això, de la mateixa forma que amb el NeoSpectra substituint el reflector per un plàstic blanc, es mesuraran els espectres amb la caixa plena utilitzant tant l'Spectralon com amb el plàstic.

Els resultats obtinguts amb el plàstic no difereixen als del NeoSpectra, és a dir, no hi ha molta diferència entre els espectres.

Per concloure, amb l'instrument SCiO també es treballaria amb el mètode de reflectància perquè ficar el reflector no afectaria a la mesura, ja que no arriba radiació. Pel que el reflector no s'utilitzarà en el mètode de mesura del SCiO

3.4.4. Temps d'anàlisi

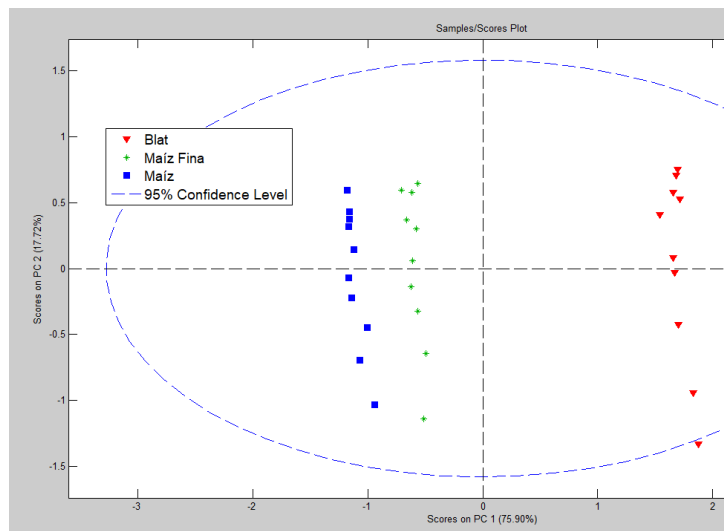
Per al temps d'anàlisi amb el NeoSpectra, es va realitzar les proves anteriors amb 2 i 5 segons, però no es pot concloure quin seria el temps d'anàlisi òptim. Els punts se separen com a la il·lustració 14 i, s'observa que els punts amb 5 segons estan més dispersos que amb 2 segons, aquest fet pot ser degut al fet que en passar més temps hi ha més diferència entre els espectres. Això pot ser beneficiós perquè pot agafar més informació de la mostra i es podrà distingir amb millor les diferents mostres de farina.



Il·lustració 14. Gràfic scores NeoSpectra amb %reflectància amb una mostra de blat de moro analitzada amb diferents segons

Llavors per confirmar quin seria el millor temps d'anàlisi es va fer una prova on es mirava quina era millor separació amb diferents classes de farines i si és capaç de separar els diferents grans.

Aquesta anàlisi es va mesurar fent 5 rèpliques agafant i ficant mostra, de les tres diferents de farines (farina de blat de moro amb gra normal, farina de blat de moro de la mateixa bossa amb gra més fi i farina de blat), es realitzen deu espectres cada rèplica i en dos temps d'anàlisi (5 segons i 10 segons).



Il·lustración 15. Gràfic d'scores de diferents blats a 5 segons amb el suport ple.

Per a classificar la farina d'insectes el que es requereix, és que els *scores* del gràfic de PCA es divideixen i s'agrupin entre diferents mostres de farina perquè tenen diferent informació química, però que no es diferenciïn molt entre granulositat, el motiu d'aquesta separació es a causa de la dispersió de la llum amb les diferents mides de la farina perquè provoca una desviació de la trajectòria d'aquesta llum, aquest allunyament d'*scores* podria confondre i solapar-se amb els diferents tipus de farina, a més les mostres no tenen una mida de gra uniforme el que pot provocar que variïn més els *scores* entre ells.

Així doncs el que es veu a la il·lustració 15, són dos grups que es separen en el PC1 per tipus de farines, les diferents mides del gra també es diferencien i segons el temps d'anàlisi. Fent unes anàlisis més llarg provoca que els *scores* se separin més. Per concloure, el temps d'anàlisi es decideix que la mesura es farà en 5 segons, ja que es veu suficient separació entre diferents mostres i mida de gra perquè als 10 segons si que l'eix del PC1 era una mica més gran, però amb 5 segons donava més percentatge d'informació.

3.4.5. Variables Optimitzades

Tots els gràfics d'*scores* i espectres han indicat que les millors condicions de mesura per a les farines d'insecte amb el NeoSpectra són:

1. Caixa plena
2. No reflector
3. 5 segons d'anàlisi

Pel que fa al SciO les millors condicions són:

1. Caixa plena
2. No reflector

Amb aquestes variables optimitzades es començarà a experimentar amb les farines d'insecte, les quals prèviament es comprovaran per a les farines, ja que la textura i la composició química no són iguals i podria comportar-se de forma diferent.

3.5. Optimització farines d'insectes

Per continuar amb l'optimització del mètode de mesura, s'utilitza per a l'anàlisi la farina de grill de la marca Crunchy Critters (C2) perquè és la farina que hi ha més quantitat amb la qual es pot experimentar i es té més marge d'acció.

S'obre el paquet i es fica una mica de nitrogen, introduït amb un tub connectat a la connexió de nitrogen per evitar que hi hagi oxidacions per causa de l'oxigen. Es tanca i es fica al dessecador dins de la nevera cada cop que es deixa d'utilitzar. Quan s'agafa es deixa uns minuts per tal que arribi a temperatura ambient i després es duen a terme les mesures.

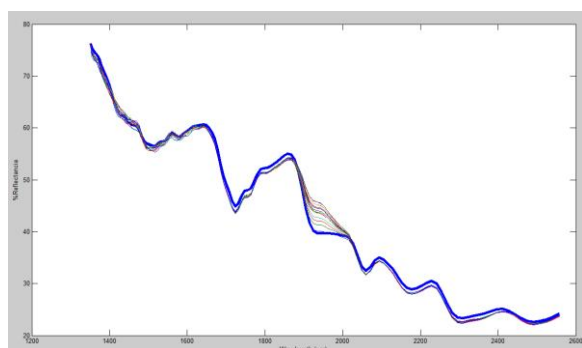
3.5.1. Primera mesura de la farina d'insectes

Es realitzen les primeres mesures amb la farina d'insecte per veure si el mètode prèviament proposat adequa per a fer l'estudi de totes les farines.

Es mesuren quinze espectres, s'utilitza aquest nombre perquè és un número gran i així es pot veure com varia en funció de les mesures, amb el suport ple sense reflector i, s'analitzen les dades utilitzant la primera derivada com a pretractament per a veure com són els espectres d'aquesta farina i quina és la distribució de punts en el gràfic d'scores.

Això dirà si hi ha altres variables experimentals que afecten la farina d'insecte que no afectava la vegetal o hi ha un variable que s'ha optimitzat i no s'adequa i s'ha de modificar.

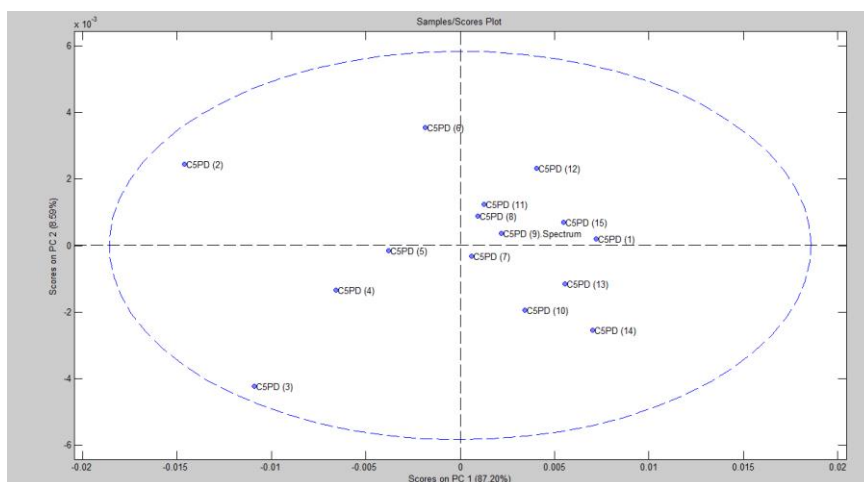
NeoSpectra



Il·lustració 16. Espectres mesurats mitjançant %reflectància de la farina d'insectes C2.

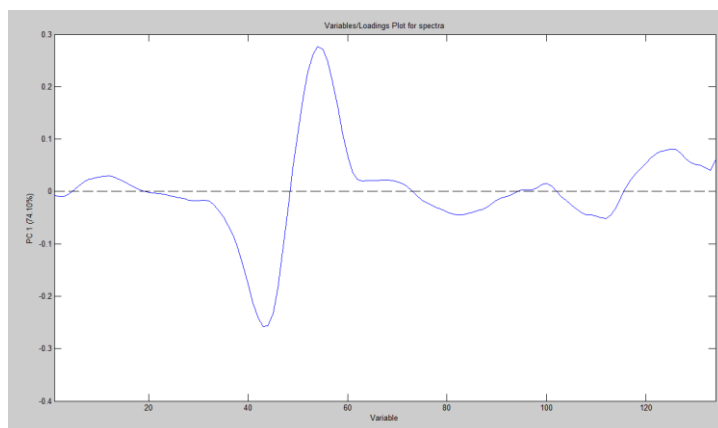
Els espectres que es produeixen amb el NeoSpectra s'observen a la il·lustració 16, on sembla que no es veu un canvi, encara que sobre la longitud d'ona dels 1900 nm aproximadament fins al 2000 nm. Aquesta zona és la que hi ha més variabilitat. Aquest rang es distingeix la humitat¹⁵ de la mostra per el qual se suposa que disminueix al fer mesures, ja que si s'augmenta la temperatura per la radiació de la llum, l'aigua va evaporant-se per culpa de l'escalfor inherent a la radiació.

També s'observa un espectre més desplaçat que els altres aquest espectre mostra el primer espectre que es realitza amb l'instrument, més endavant s'estudiarà per veure si és pel primer contacte amb la mostra o un altre factor extern i si afecta en l'anàlisi.



Il·lustració 17. Gràfic scores dades NeoSpectra %reflectància. Prova de la distribució on els número de cada nom són el número de l'espectre

Fent una anàlisi mitjançant PCA, es mirà el gràfic d'scores utilitzant la primera derivada com a pretractament, com es pot veure a la il·lustració 17. Es pot observar una tendència on el PC1 indica el número de l'espectre, ja que d'esquerra a dreta al gràfic augmenta el número de l'espectre. Això pot ser degut a la disminució del pic de l'aigua, ja que com es veu en

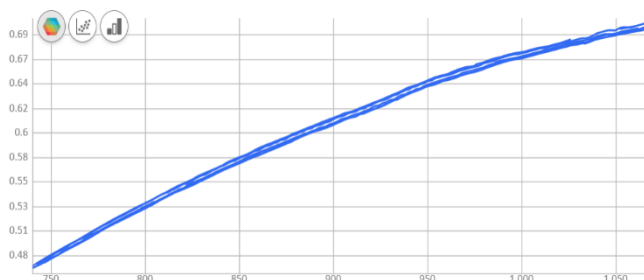


Il·lustració 18. Gràfic de loadings de la farina d'insectes

el gràfic de loadings del primer PC a la il·lustració 18 la regió que més informació proporciona és la de la humitat. També s'observa que el primer punt no segueix aquest ordre del nombre de l'espectre, això s'anirà mirant més endavant per a veure què causa aquesta variació del primer espectre amb els altres.

SCiO

Un cop s'obtenen els espectres amb el SCiO, s'observa que no hi ha cap desplaçament del primer espectre com s'ha vist amb el NeoSpectra. Això pot indicar que potser no hi ha un efecte que variï el primer espectre



Il·lustració 19. Espectres mesurats amb el SCiO de la Farina d'insecte C2.

com podria ser el primer contacte amb la mostra. A més, la temperatura de radiació de NeoSpectra és més elevada que el SCiO pel que es pot suposar que la mostra variï més en un primer contacte amb el NeoSpectra que amb el SCiO.

La distribució dels *scores* obtinguts amb el mateix pretractament que el NeoSpectra segueix el mateix patró però el primer punt segueix l'ordre del nombre del PC1, és a dir, es troba a l'extrem en primer lloc.

3.5.2. Nombre d'espectres per mitjana de la mostra

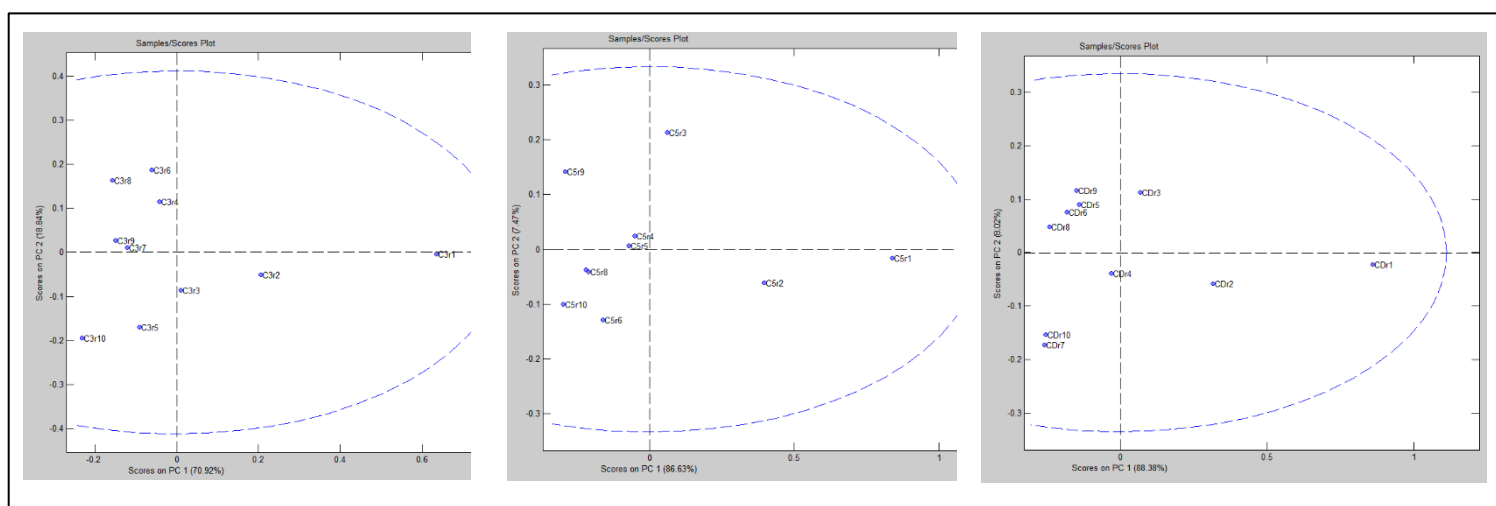
Com anteriorment s'ha esmentat a l'apartat 3.4.2. perquè el mètode sigui més reproducible, com és pràctica habitual en tècniques espectroscòpiques no es treballarà amb espectres individuals, sinó amb la mitjana de *n* espectres.

En aquest anàlisi es fan deu rèpliques de tres, cinc i deu espectres cada prova amb les condicions òptimes de mesures obtingudes anteriorment. Després de mesurar els espectres s'espera 5 minuts i es torna a fer els espectres.

NeoSpectra

La distribució dels punts en el gràfic d'*scores*, el PC1 separa pel nombre de l'espectre.

Com s'ha indicat a l'apartat anterior el primer punt de la primera repel·la surt allunyats als gràfics, pot ser conseqüència del primer contacte de la mostra amb l'instrument, encara que això no s'observava amb la farina vegetal.



Il·lustració 20. Gràfics d'*scores* de les mitjanes mesurats en % Reflectància. 1. Mitjanes de 3 espectres 2. Mitjanes de 5 espectres 3. Mitjanes de 10 espectres.

Per decidir quin número d'espectres per a fer la mitjana és la més adequada, es mira quin dels gràfics d'*scores* té una distància més petita entre ells i també que les mitjanes siguin aleatòries entre elles el que ens indicarà que no hi ha cap influència de variable. Pel que es decideix utilitzar 10 espectres per a fer la mitjana, que com es veu a la il·lustració 20, a partir de la mitjana dos es troben gairebé junts. A causa del efecte del primer espectre es planteja la possibilitat de treure els primers espectres perquè les mitjanes siguin el més reproducible possible.

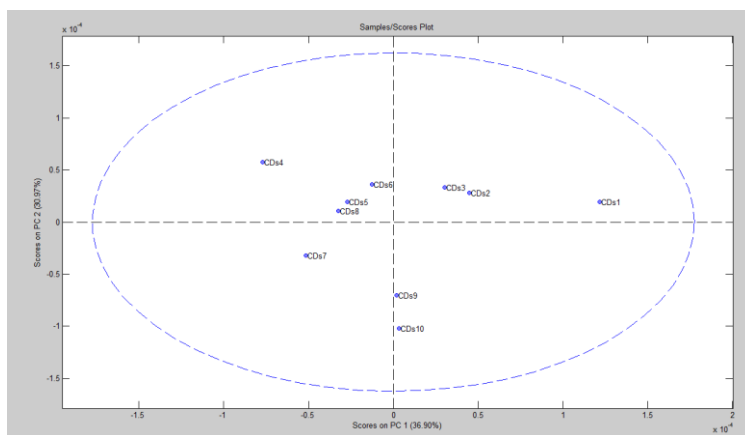
La primera prova es treu el primer espectre de totes les rèpliques de les mesures de 10 espectres i la segona prova es treu el primer espectre i el segon i es fa el gràfic d'*scores* amb la 1r derivada com a pretractament.

El que s'observa és que si es treu la primera mesura dels espectres, la distància entre els *scores* es redueix i traient els dos primers la distància es casi nul·la entre les rèpliques i es més aleatori el que ens indica que al treure aquests dos espectres es pot millorar la reproductibilitat.

SCiO

Es realitza el mateix procediment i s'observen el gràfics d'*scores* per a veure quina de les tres opcions seria la més adient.

En aquest cas al gràfic d'*scores* els punts surten bastant aleatoris, sense cap ordre concret pel que s'estableix el procediment on els *scores* estiguin menor distanciat entre ells, que és amb deu espectres.



Il·lustració 21. Gràfic *scores* SCiO amb 1r Derivada com a pretractament de les mitjanes de 10 espectres de deu rèpliques.

Es fa una prova traient el primer espectre per veure si varia, encara que en el SCiO no hi ha un desplaçament del primer espectre.

El que s'observa és que no varia, segueix sent aleatori no canvia gaire el gràfic d'*scores*. Pel que es decideix fer la mitjana dels 10 espectres.

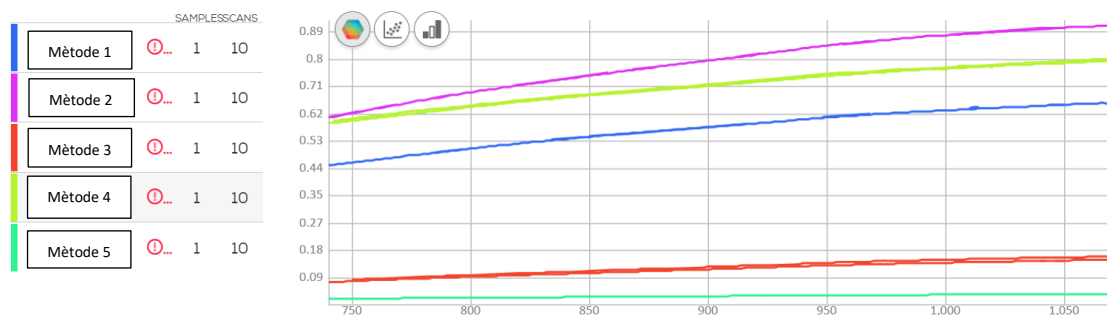
3.5.3. Distància SCiO mostra

Com a darrera etapa del procés d'optimització, es considera ficar la mostra directament el suport del SCiO amb un portaobjectes entre ells com es visualitza a la il·lustració 22.



Il·lustració 22. Proves per a estudiar la distància entre mostra i instrument. On SCiO indica el instrument i mostra indica el suport amb la mostra.

Quan es fa la mesura on la mostra està a l'extensió del SCiO, l'aplicació indica que la senyal és dèbil cosa que amb altres mesures fetes amb una distància entre el instrument i la mostra indicava res del senyal, pel que es pensa que la distància entre el detector i la mostra influeix així que es determina fer diferents proves amb varies distàncies com es mostra a la il·lustració 22.



Il·lustració 23. Gràfic d'espectres que mostra els espectres de cada prova. Cada nom dels espectres indica el número de la prova

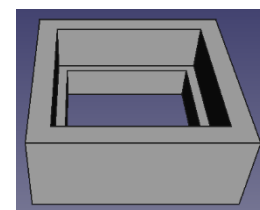
El dos primers mètodes s'utilitza una caixa transparent dels portaobjectes per mantenir sempre la mateixa distància. S'introdueix dintre de la caixa el suport amb la mostra i per tal de disminuir la distància fins a cinc mm s'afegeix abans del suport una altra capsa així la distància és constant i no varia.

Els espectres amb menor distància entre la mostra i l'instrument, Prova 3 i 5, donen un espectre més dèbil, això podria ser degut a que la mostra absorbeix tota la llum inserida pel que es descarta fer la mesura just a la mostra.

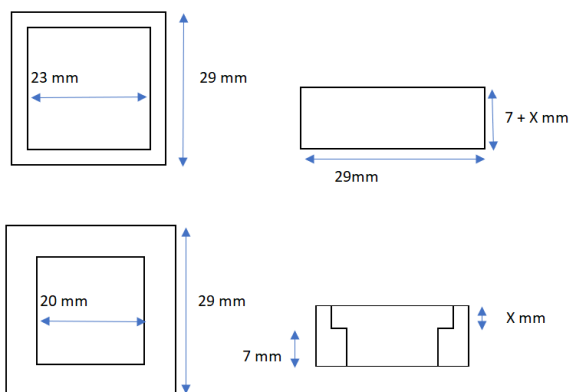
Es pensa que les millors mesures són les que tenen valors més elevats per tal de augmentar la senyal, per això el mètode més adequat seria el que està a una distància de 0,5 cm però com es un procediment més complicat de reproduir, es decideix optar pel mètode que s'utilitzava fins ara perquè l'espectre surt a menor absorbència però la diferència és petita.

3.5.4. Mida suport de la mostra

La quantitat de la mostra és un factor que influeix a la mesura perquè amb diferents quantitats s'obtenen els mateixos espectres però desplaçats segons la quantitat. Per això s'estudia si es podria treballar amb un suport d'unes dimensions més reduïdes per així poder utilitzar menys quantitat de mostra.



Il·lustració 24. Model caixa on s'afegeix la mostra del programa FreeCAD



Il·lustració 25. Mesures suport per a la mostra per els dos instruments. La X indica la distància que canvia de la original

Pel que es decideix construir amb la impressora 3D dues caixes amb diferents altures 2 cm, que són uns 0,3 gr i 3 cm, que són uns 0,6 gr, més la original de 5 cm d'altura, que són aproximadament 1 gr.

Es van fer anàlisis amb les tres caixes diferents fent 10 espectres de cadascun dels tres suports amb els dos instruments

NeoSpectra

Com es veia en la farina vegetal al augmentar la quantitat els espectres sortien desplaçats pel que es mira el gràfic d'*scores* per veure la tendència. Es distingeix el nombre de l'espectre en el PC1 i el percentatge de reflectància en PC2. Pel que la quantitat no afecta en la mesura, per això es conclou que no afectarà al anàlisi si sempre es fa amb la mateixa distància.

SCiO

En canvi en les mesures amb el SCiO els espectres surten solapats perquè al fer el gràfic d'*scores* amb el pretractament de 1r derivada els *scores* surten aleatoris pel que es pot determinar que la quantitat no afecta en l'anàlisi de la mostra.

Quan s'estudià la quantitat amb farines vegetals i es mesurà una cullerada i el suport ple els espectres estaven desplaçats segons la quantitat, aquesta diferència es degut a que la superfície del suport no estava ple el que deixa més trajectòria lliure per a la llum per això variaven els espectres.

Per una altra part, quan es va estudiar l'efecte del reflector utilitzant plàstic, també es veia una diferència entre espectres amb 3 mm de quantitat de mostra i amb la caixa plena, aquest fet segurament era degut a la distància entre detector i la mostra, ja que hi havia menor quantitat de mostra al suport el que augmentava la distància entre els dos.

4. Agrupacions de les farines d'insectes

Un cop fet la optimització del procediment de mesura instrumental s'obren les farines d'insecte i es distribueixen en bosses, diferents quantitats de farina per a poder fer l'estudi.

S'afegeix la quantitat indicada a la Taula 5 en bosses prèviament etiquetades. Les farines que tenen els grans més gruixuts (G1 i M1) es van picar manualment amb un morter (farines G1F i M1F) per a posteriorment saber si classifica també segons la mida de gra.

Taula 5. Taula de distribució de farines pel seu estudi de classificació i propietats físiques.

Insecte	Nom	Quantitat (gr)	Característiques físiques
Grill (<i>Acheta domesticus</i>)	C2	20	Gra molt fi, semblant a la farina. Color: Marró clar
Grill (<i>Acheta domesticus</i>)	C1	20	Gra fi, però més gruixut que la farina (molturat) Color: Marró clar
Cuc de la farina (<i>Tenebrio molitor</i>)	M1	20	Gra gruixut, poc uniforme i compactat (molturat) Color: Marró
	M1F	15	Gra més fi, poc uniforme i compactat Color: Marró
Cuc (<i>Alphitobius diaperinis</i>)	B1	20	Gra fi, però més gruixut que la farina (molturat) Color: Marró
Saltamartí (<i>Locusta migratoria</i>)	G1	20	Gra gruixut, poc uniforme i compactat (molturat) Color: Marró fosc
	G1F	15	Gra una mica més fi, poc uniforme i compactat Color: Marró molt fosc



Il·lustració 26. Fotografies de les diferents bosses de farines que s'utilitzen en aquest estudi.

Per a fer l'estudi de la classificació s'omple el suport cinc vegades i per cada vegada es fan deu espectres, això de cada mostra de farina. Aquest procediment es realitza durant dues setmanes per tenir mesures de les farines durant diferents dies, el NeoSpectra es van fer durant set dies i el SCiO durant sis.

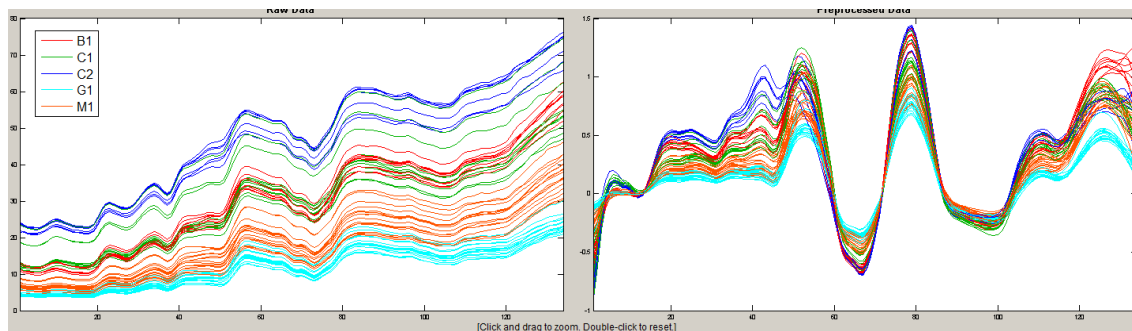
El mètode utilitzat és la caixa plena, sense reflector amb un temps d'anàlisi de 5 segons en el cas del NeoSpectra i, al SCiO amb una distància d'un centímetre entre la mostra i l'instrument fent servir el separador proporcionat amb el SCiO.

El mètode d'anàlisi en tots els gràfics d'*scores* serà utilitzant com a pretractament la primera derivada, ja que pel s dos instruments les agrupacions són més visibles.

4.1. NeoSpectra

Per cada mostra de farina i per cada dia, es calcularà la mitjana de les 5 diferents rèpliques obtingudes amb el procediment explicat anteriorment.

Les mitjanes dels espectres que s'han obtingut durant la setmana es veuen a la il·lustració 27, juntament amb els espectres pretractats.

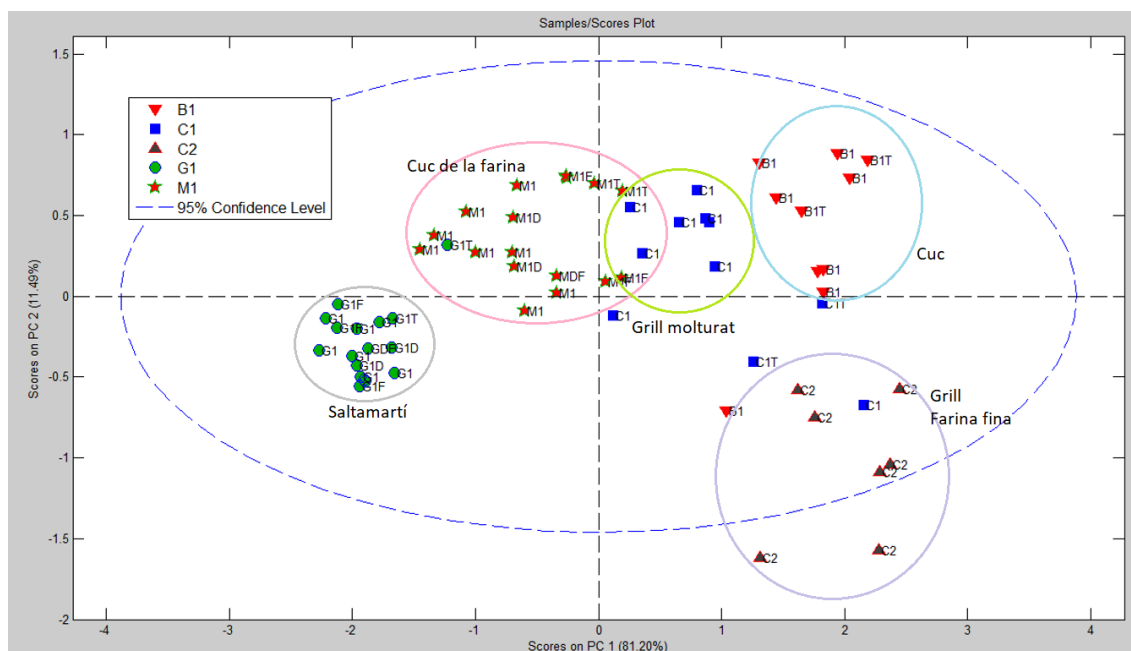


Il·lustració 27. Gràfic d'espectres realitzats durant tot l'estudi i pretractat amb la primera derivada.

Com es veu en el gràfic, els espectres són similars entre ells però les mostres de farina de saltamartí (G1) i de cuc de la farina (M1) entre la variable 20 i 40 els pics no es veuen tan pronunciats com els altres tres.

Aquestes petites diferències en els espectres podrien proporcionar una separació en el gràfic d'*scores*.

En el gràfic d'*scores* finals realitzat amb la primera derivada com a pretractament, es pot veure que el PC1 conté un 81 % d'informació el que es pot considerar que el gràfic és bo, a més, hi ha agrupacions entre les diferents mostres de farina.



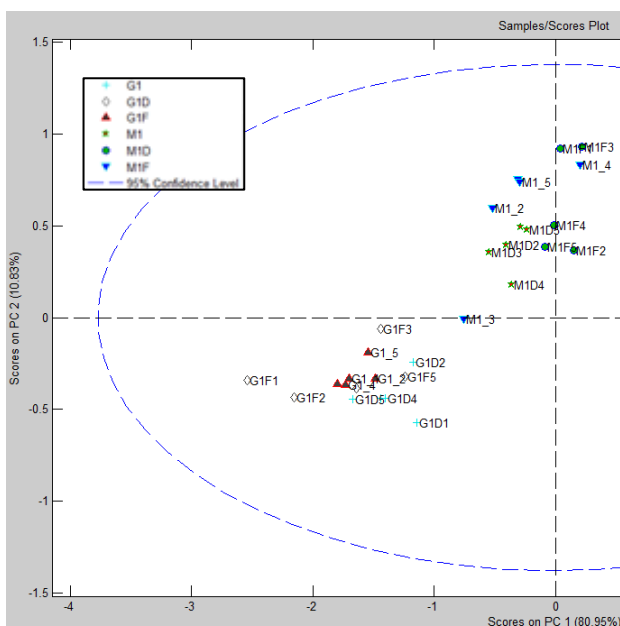
Il·lustració 28. Gràfic d'scores de les mitjanes de les 5 rèpliques de les farines durant els 7 dies de les diferents proves realitzades.

Per a obtenir totes les dades dels gràfic anteriors es comença estudiant les primeres dades de les primeres mesures del primer dia, pel que s'analitzen les mostres indicades en la taula 5.

Seguidament es va observar que a l'hora d'afegir la mostra al suport, la farina de saltamartí (G1) i la del cuc (M1), estaven compactades i al ficar-les es quedaven enganxades al portaobjectes i a l'espàtula pel que es va pensar que aquest fet podria ser degut a la humitat de la mostra, encara que segons la textura semblava que no estigués humida si no amb una capa de greix.

Per això, es van ficar les dues mostres, el gra més gruixut (G1 i M1) i el més fi (G1F i M1F), a la estufa a 35°C durant unes hores i després al dessecador per així eliminar aquesta possible humitat, tot vigilant que la mostra no es degradés a la estufa, per així descartar aquest factor que pot afectar a la mostra. Un cop tret del dessecador la textura de les farines semblava exactament igual, pel que es creu que això no era degut a la humitat, però per confirmar-ho es mira el gràfic d'scores.

Un cop realitzat el gràfic s'observà que les mostres que estan al dessecador, mencionades amb una D. es troben agrupades on està la farina d'aquell insecte.



Il·lustració 29. Gràfic d'scores dia 2 de juny de les mitjanes dels vuit espectres.

Pel que es conclou que la humitat no és un factor que estigui afectant l'anàlisi de la mostra i que la mostra est compactada per una altre element.

A l'acabar la primera setmana, es va realitzar un estudi de les dades obtingudes per veure la variabilitat de les agrupacions de les mostres.

Pel que es va observar del gràfic d'*scores* els punts se separaven en grups diferenciats per les farines d'insectes, però la informació en el PC1 semblava informar de la mida del gra. Aparentment el gra més gran i poc uniforme es troba més allunyat, que és el del saltamartí (G1), i es trobava a l'altre extrem del més fi, que és el del grill (C2). A més, els punts de la farina que es va triturar amb morter, es trobaven al mateix grup que la farina d'insecte corresponent, però més desplaçat cap a la farina més fina. Pel que es va veure que aquest podria ser un possible ordre per a la separació de les farines.

Aquesta conclusió extreta va fer pensar en una manera d'eliminar aquesta variable pel que s'intentaria fer el gra de les farines el més semblant a la farina de grill més fina (C2). Per això, es va utilitzar un molí de cafè per a moldre el més fi possible les farines.

En aquesta prova es va agafar deu grams de mostra de totes les farines menys la farina de grill més fina (C2) i es va triturar amb el molí. El procediment realitzat va ser picar trenta segons i reposar deu segons, això es va repetir quatre cops en totes les farines.

Visualment, les farines de cuc (B1) i de grill (C1) semblaven similars a la de grill principal (C2), però la de saltamartí (G1) seguia compactada pel que al tacte semblava que estigués més fina però visualment seguia amb la mateixa textura granulosa.

Per aquestes noves mostres, es realitzen les mesures durant els dos últims dies per a veure si al gràfic d'*scores* apareix una distribució diferent.

Per a l'estudi del PCA de les dades final, es realitzen proves amb el pretractament SNV (*standard normal variation*, Variació Estandard Normal) i la primera derivada per a veure quin dels dos pretractaments agrupen millor les dades obtingudes.

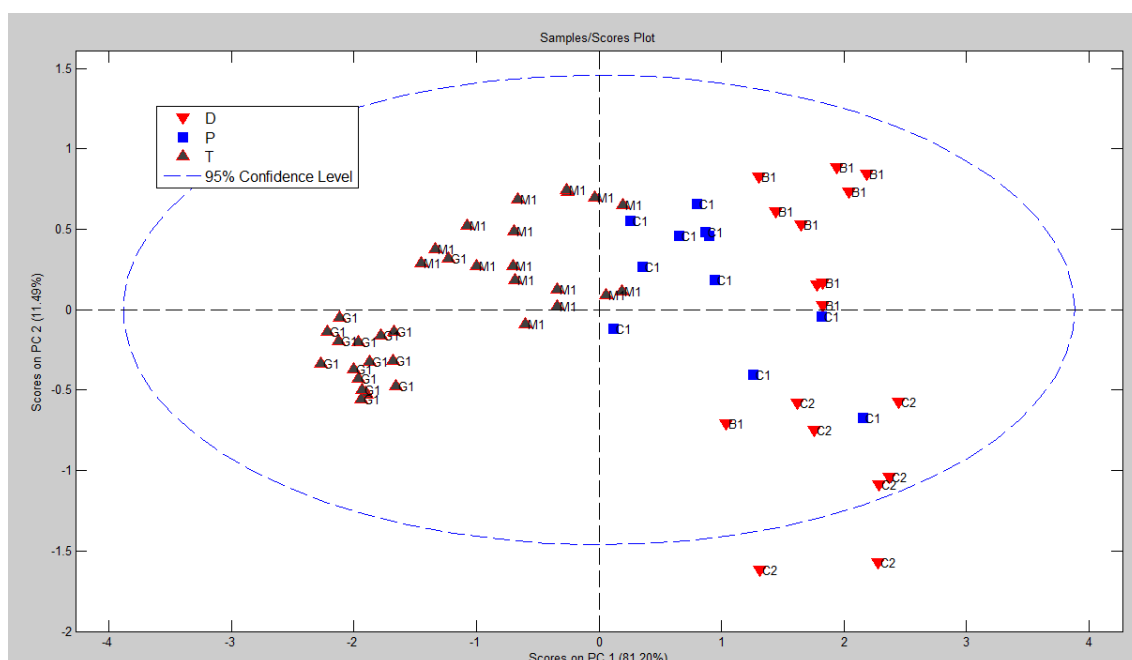
Quan es fa l'anàlisi de les dades amb el SNV els *scores* es troben més dispersos per la gràfica i no sembla que s'agrupin pel que finalment se segueix utilitzant la primera derivada com a pretractament, ja que els punts es troben agrupats com es veu a la il·lustració 28.

Respecte al factor que es volia estudiar de les diferents mides del gra, es pot veure que les mostres triturades pel molí de cafè, es troben al grup de la farina d'insecte que pertoca, pel que fa pensar que el PC1 no explica la mida del gra. En conseqüència, s'estudien diversos factors dels quals es creu que es podrien dividir, com la quantitat de proteïna i àcids grassos.

Es comença marcant les mostres segons el nivell de proteïnes, i per això es va distribuir les mostres en tres grups segons la quantitat que contenien segons indicava la bossa. Aquests grups són: la G que són les farines que contenien més de seixanta grams, grill de gra fi (C2) i cuc (B1), M són les farines que contenen entre cinquanta i seixanta grams, grill molturat (C1) i saltamartí (G1), per últim la L que és la que conté cinquanta grams de proteïna, cuc de la farina (M1).

Pel que s'observa al gràfic d'*scores*, sembla que l'agrupació no segueix una tendència segons les proteïnes perquè el grill molturat es troba al mig sense cap ordre. Pel que es mira amb àcids grassos on també s'agrupen en tres grups per quantitats.

El primer grup T són aquelles mostres que contenen més de trenta grams, com el saltamartí (G1) i el cuc de la farina (M1), l'altre grup D són aquelles mostres que contenen entre vint-i-cinc i trenta grams, com el grill de gra fi (C2) i el cuc (B1) i, finalment, el grup P on es troba la farina que conte gairebé vint grams d'àcid grassos, el grill molturat (C1).

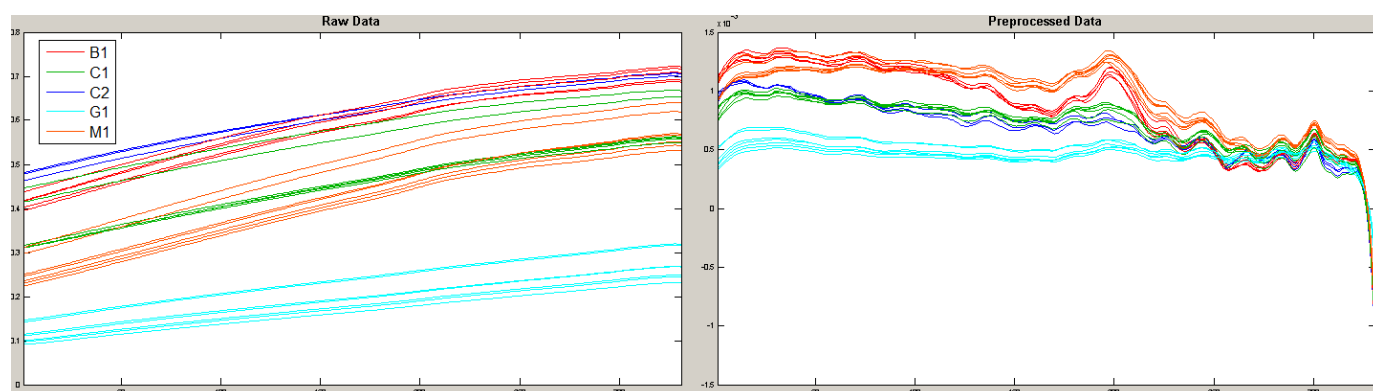


Il·lustració 30. Gràfic d'scores de les mitjanes de les rèpliques obtingudes durant tots els dies estudiats agrupant els scores per quantitat de àcids grassos utilitzant com a pretractament la primera derivada.

En la il·lustració 30 es pot suposar que el PC1 en podria donar informació sobre la quantitat de àcids grassos que conté la mostra però no segueix un ordre de més gran a petit, el que ens fa pensar que els àcids grassos no són la única variable que ens pot donar informació en aquest gràfic, potser són diverses variables que influeixen a l'hora de la classificació.

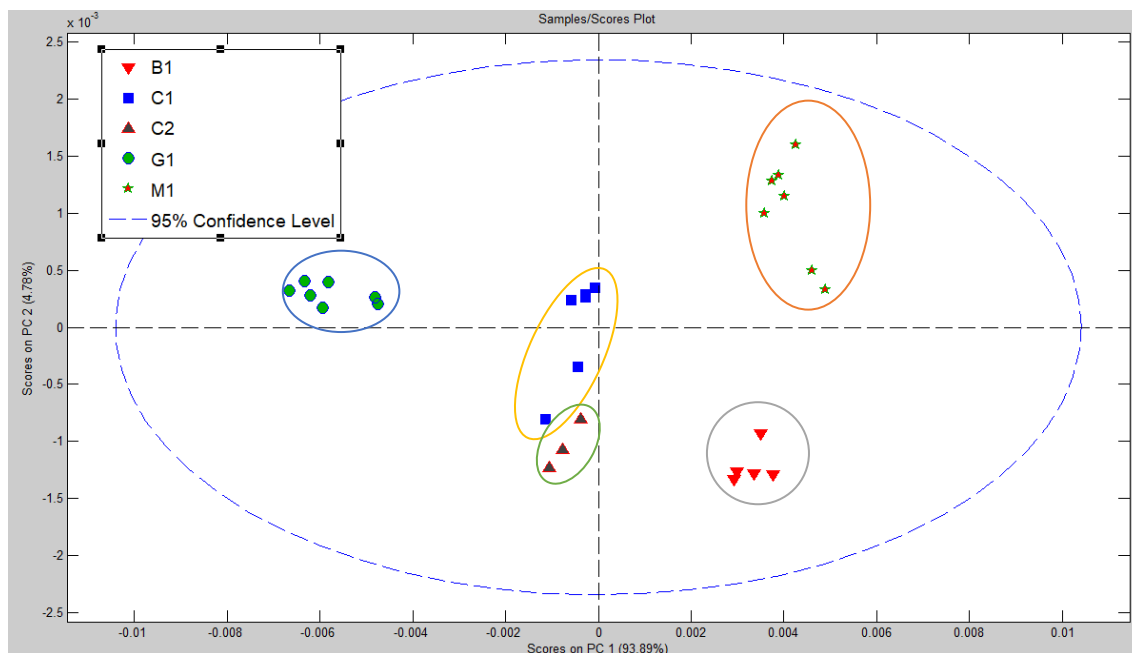
4.2. SCiO

Cada matriu de dades obtinguda per les mitjanes realitzades es pretracten i el resultat es pot veure a la il·lustració 31.



Il·lustració 31. Gràfic de les mitjanes de tots els espectres de cada dia estudiat i amb les dades pretractades.

Per obtenir aquest gràfic d'scores s'han dut a terme diverses proves per fer un estudi de les diferents variables que podrien afectar aquesta classificació, utilitzant la primera derivada com a pretractament.

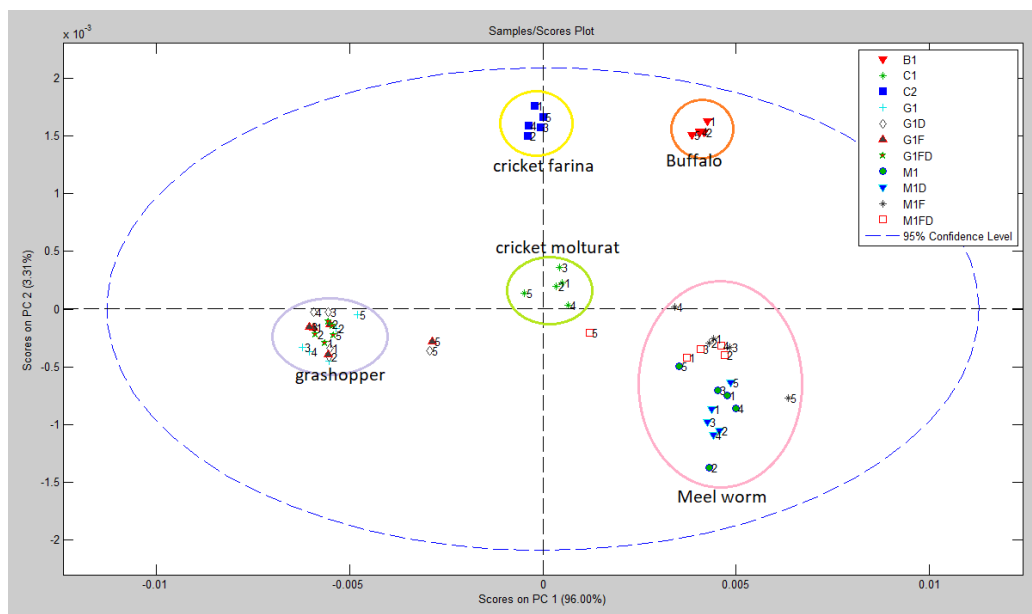


Il·lustració 32. Gràfic d'scores final amb les mitjanes de totes les proves realitzades, eliminant el dies 3 i 8 de juny, agrupant-se per les diferents bosses de farina.

Les agrupacions que es veuen a la il·lustració 32, sembla que estan diferenciades pel tipus d'insecte, pel que es pot dir que és un gràfic bo. A més, al PC1 es troba un 94% d'informació que ens determina si la informació es representativa a l'original .

Per començar l'experimentació amb l'instrument es realitza les mesures del primer dia i com es veu els espectres, es diferencien entre ells pel que es suposa que es podrien diferenciar per grups. Realitzant el PCA es veu que al gràfic d'scores els punts surten dividit per diferents farines com indica la il·lustració 33.

Seguidament, com amb el NeoSpectra, s'analitzen les mostres més compactades que s'han introduït a l'estufa i, posteriorment, al dessecador per veure l'efecte de la possible humitat, ja que potser amb el SciO si es veu un efecte.



Il·lustració 33. Gràfic d'scores de les mitjanes dels espectres del dia 3 de juny

Com s'observa en el gràfic d'scores de la il·lustració 33, el PC1 sembla que ens informa sobre el tipus d'insecte, ja que els que són cucs es troben a un extrem, els grills al mig i el saltamartí a l'altre extrem pel que sembla que se separa bastant bé.

Pel que fa les mostres, també s'estudia l'efecte de la humitat, ja que podria afectar a aquest instrument, els scores obtinguts de l'estudi es localitzen agrupats on es troben els altres punts de l'insecte concret per lo es pot concloure que tampoc afecta aquest instrument.

Per altra banda, com se suposava en els resultats obtinguts amb el NeoSpectra, la variable de la mida del gra podria ser un factor que afecti en l'agrupació de les farines. Però s'observa al gràfic d'scores que els diferents punts de la mida no es localitzen fora de la regió on es troben les altres mesures de la mateixa farina, i per això se suposa que tampoc es una variable que afecti a la distribució dels punts.

Llavors per poder confirmar- ho s'utilitzen les mostres triturades pel molí de cafè i s'analitzen al final de la segona setmana.

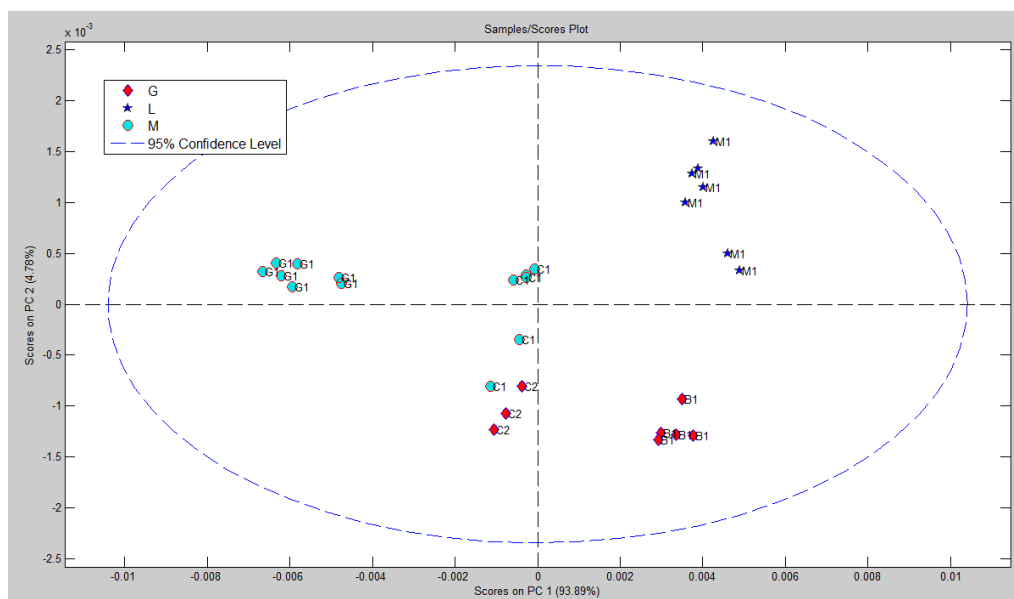
Les dades obtingudes s'analitzen mitjançant PCA fent proves amb diferents pretractaments com el SNV, primera derivada i només amb el centrat.

Pel que es pot concloure amb el gràfic d'scores, el millor pretractament per a l'agrupació seria la primera derivada, ja que en les altres dues formes, els punts no segueixen ni un ordre ni una distribució clara per a poder agrupar-los, a més, que el PC1 de la primera derivada dóna un percentatge més elevat d'informació.

En realitzar la PCA sembla que s'agrupin per espècies com s'indicava prèviament però es troba un grup de mostres aïllades pel que s'analitza quines mostres podrien ser.

Les mitjanes que s'allunyen són totes del mateix dia, pel que es pensa que són un grup de punts discrepants i s'han eliminat. Això podria ser degut a que el instrument SCiO tenia poca bateria als dies en el que es veuen els punts discrepants, i s'ha reportat a la bibliografia que el nivell de bateria afecta les mesures espectroscòpiques obtingudes amb el SCiO¹⁴.

Per acabar, s'aconsegueix la il·lustració 32 on es veuen clarament els punts agrupats per tipus d'insecte segons el PC1. Igualment, s'estudia la possibilitat que els punts es puguin agrupar segons la quantitat de proteïna o d'àcid grassos com està indicat en l'apartat anterior del NeoSpectra.



Il·lustració 34. Gràfic d'scores de les mitjanes de les replics obtingudes durant tots els dies estudiats agrupant els scores per quantitat de proteïnes utilitzant com a pretractament la primera derivada.

En aquest cas, mirant la quantitat d'àcids grassos, els scores no segueixen cap tendència ni cap ordre aparent. En canvi, com es veu a la il·lustració 34, el PC2 sembla que segueix un ordre segons la quantitat de proteïna però no es pot assegurar que s'agrupi seguint la quantitat d'aquest compost, sinó que sembla que tingui una tendència correlacionada amb la proteïna, ja que el que conté més i menys quantitat de proteïna no es troben als extrems del gràfic.

5. Degradació

Per acabar el treball, una possible aplicació dels instruments NIR portàtils per a control de qualitat podria ser l'estudi de la degradació de la mostra pel que mentre s'estudia l'optimització del mètode amb les farines d'insectes s'agafa una petita quantitat de la farina de grill que s'utilitza per a la l'optimització i es reparteix en dues bosses, la bossa A i la bossa B.

Aquestes bosses s'utilitzaran per a veure l'evolució en funció del temps de les farines d'insectes, el que permetrà veure quan la farina podria començar a produir-se una descomposició de la mostra i quan es produeix aquesta degradació.

Per a poder estudiar el comportament de la mostra es fa cada dia deu espectres de cada bossa pel matí i la tarda i es fa la mitjana dels espectres. Cada setmana es realitza un estudi d'aquestes dades per a veure l'evolució en el gràfic d'scores i, també s'observen les característiques físiques com la olor, el color i la textura per estudiar també els possibles canvis a ull nu.

Per a els anàlisis del NeoSpectra s'utilitza el SNV com a pretractament i amb el SCiO només el centrat, perquè al analitzar les dades el PC1 tenia més percentatge d'informació

Aquesta prova es va realitzar durant 5 setmanes.

5.1. Primera setmana

Per la primera setmana tant la mostra A com la mostra B no han mostrat cap canvi aparent de les seves característiques físiques.

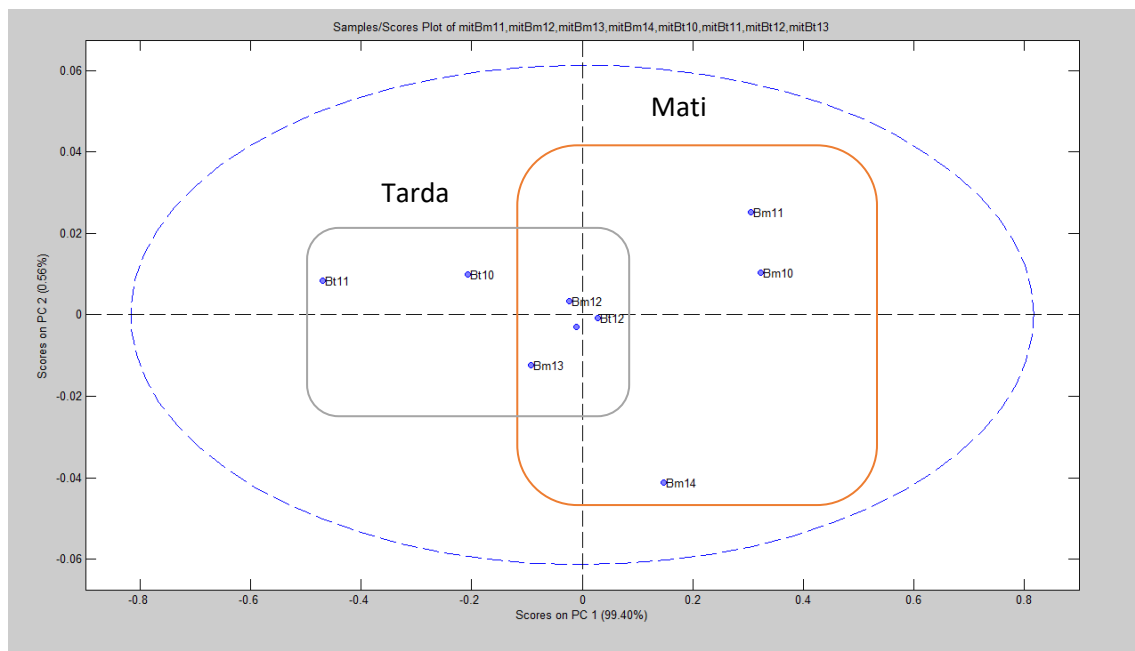
5.1.1. NeoSpectra

En el gràfic d'scores de les mitjanes de cada mostra, tant A com B, els punts es troben distribuïts de forma aleatòria pel gràfic tant els de matí com els de tarda pel que no sembla que la primera setmana es produeix algun canvi en les mostres.

5.1.2. SCiO

Per altra banda, al SCiO en el gràfic d'scores s'observa que pot haver una tendència però no un ordre dels dies de la setmana, si no es veu una separació entre les mesures fetes pel matí i per la tarda. Això pot indicar que hi ha una variable que influeix a la mesura de la mostra pel que s'hauria d'estudiar aquest fet durant la següent setmana per veure si realment hi ha un efecte de la llum ambiental al fer les mesures.

Aquesta tendència que es veu a la il·lustració 35 de la mostra B es troba pràcticament igual a la mostra A. Pel que al gràfic d' scores es troba la separació entre matí i tarda.



Il·lustració 35. Gràfic d'scores de la mostra B durant la primera setmana

5.2. Segona setmana

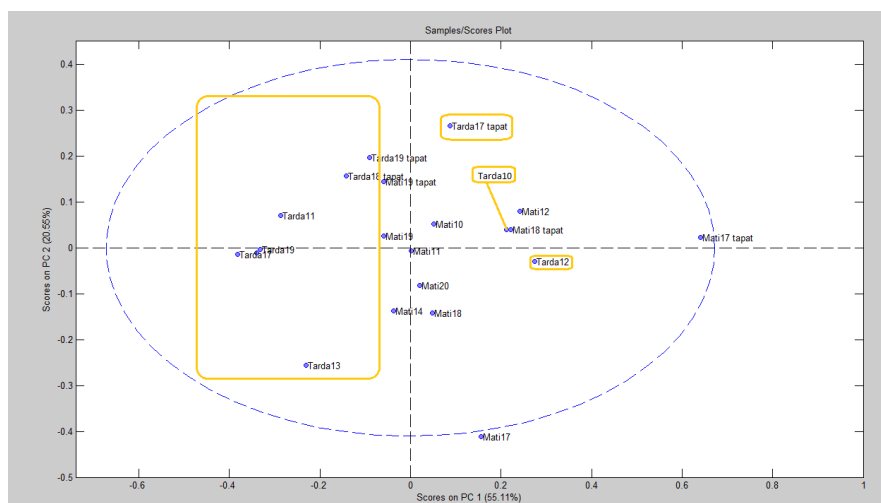
La segona setmana tampoc sembla que hi ha un canvi de les característiques físiques, tant el color i la textura són igual i la olor també.

Per estudiar el efecte de la llum és decideix fer les mesures d'aquesta setmana tapant l'instrument i la mostra amb una capsa i sense aquesta capsa. Aquestes dues mesures es realitzen amb les dues mostres i els dos instruments.

5.2.1. NeoSpectra

Les dades obtingudes aquesta setmana es completen amb les dades de la setmana anterior per veure si es troba un ordre o una tendència per indicar que hi ha una descomposició de la mostra.

En els gràfics d'scores del NeoSpectra també es mira la variable de la llum del dia per veure si amb aquest instrument afecta el moment del dia a la mesura.



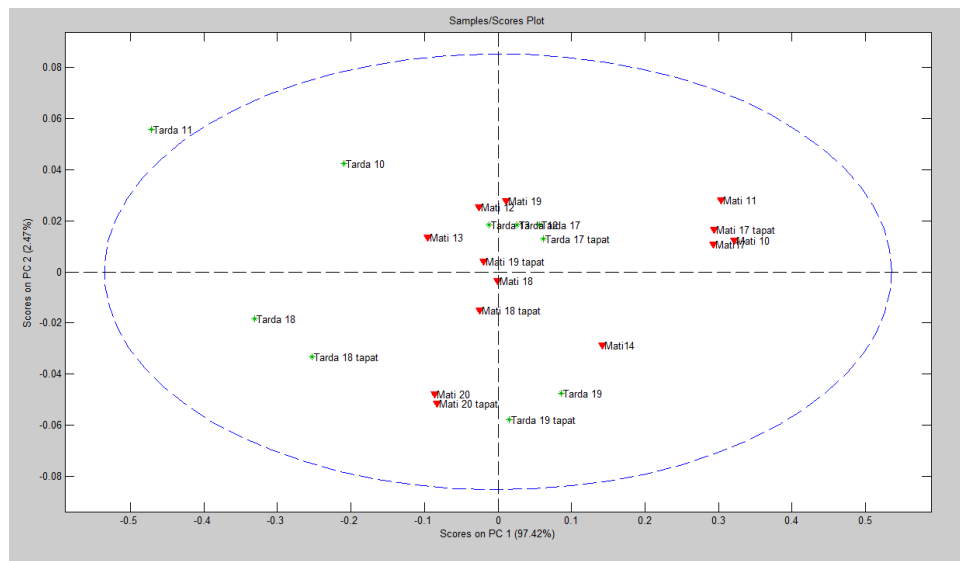
Pel que es pot visualitzar a la il·lustració 36 sembla que segueix una tendència per la influència del moment del dia, ja que es troben lleugerament separades les mesures del matí i de la tarda.

Il·lustració 36. Gràfic d'scores mostra A de les dues primeres setmanes sense la mitjana del dia 13.

Les mesures fetes utilitzant la caixa per poder eliminar l'efecte de la llum, segueix la tendència general de la resta de mesures del matí o tarda per lo es pensa que podria ser que aquesta separació no sigui degut a la llum ambiental si no a un altre factor perquè es podria pensar que els punts que es mesuren tapats haurien de trobar-se aleatoris pel gràfic, pel que es podria concloure que no hi ha cap efecte de la llum externa, encara que faltarien més dades per treure una conclusió fiable.

Per una altra banda, com no hi ha cap ordre aparent que ens indiqui el pas del temps, es pensa que encara no s'ha produït cap canvi en la composició de la mostra.

Seguint amb l'anàlisi de les dades, a la mostra B el gràfic d'scores sembla que la variable moment del dia no afecta, ja que com es veu a la il·lustració 37 el scores es troben aleatòriament per la gràfica, però faltarien més dades per poder confirmar-ho.

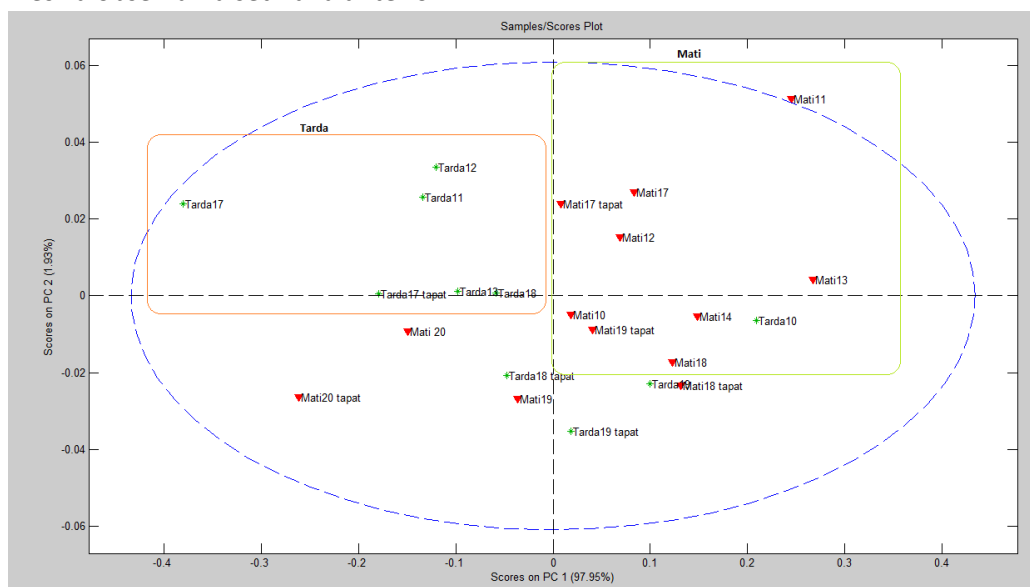


Il·lustració 37. Gràfic d'scores mostra B de les dues primeres setmanes

Per altra banda, els punts dels últims dies de mesura es troben mes o menys en la part de sota el que es podria suposar que potser ha començat a trobar-se un petit canvi en la mostra B, però no es podria confirmar, ja que es necessitarien més dades.

5.2.2. SCiO

Seguidament s'analitzen les dades del SCiO juntament a les de la setmana anterior mirant els scores per veure si hi ha un ordre i per estudiar si es pot haver una variable que afecti a la mesura com es va observar la setmana anterior.



Il·lustració 38. Gràfic d'scores de la mostra A durant la primeres dues setmanes

La mostra A, quan es fa el gràfic d'*scores*, sembla que la variable del moment del dia provoca una separació entre matí i tarda, tal com es pot observar a la il·lustració 38. Gairebé tots els punts de les mesures tapades es troben aleatòriament al gràfic pel que es podria suposar que si afecta però no tots pel que per confirmar que aquest factor afecti a la mostra s'haurien de fer més anàlisis.

Per altra banda, els últims dies que es troben al gràfic sembla que es troben a la part de baix pel que es pot suposar que amb aquest instrument es pot trobar un petit canvi de la mostra A als últims dies de la setmana, però no es pot confirmar res pel que es segueix estudiant les següents setmanes.

Altrament, per a la mostra B es fa el mateix anàlisi però no es veu la separació entre matí i tarda, ja que els punts es troben barrejats pel gràfic, llavors comparant amb la mostra A el que es pensa es que podria haver un factor que no sigues la llum del dia que pugui provocar aquesta separació de punts que hi ha a la mostra A i que no es troba a la B pel que la següent setmana es segueix fent els anàlisis amb caps per acabar de confirmar que no hi ha cap efecte.

Pel que fa el pas del temps, a la mostra B també sembla que els últims dies es troben a la part de sota del gràfic pel que es suposa que potser s'ha produït un petit canvi en la mostra, encara que com s'ha dit anteriorment per confirmar-ho es necessiten més dades.

5.3. Tercera Setmana

Aparentment no s'ha produït cap canvi en la mostra tant d'olor, color o textura pel que visualment no es veu cap degradació de les mostres.

5.3.1. NeoSpectra

En aquesta setmana com hi ha més dades el gràfic d'*scores* es podrà treure conclusions més fiables que les altres setmanes.

Al gràfic de la mostra A s'observa que els punts tant els mesurats al matí com a la tarda es troben aleatoris, pel que la variable del moment del dia, sembla que no té cap influència, pel que es pot confirmar que no hi ha cap efecte.

Per altra banda l'ordre que es va començar a veure la setmana anterior on es trobaven els últims punts al final del gràfic no segueix, però es pot veure com una inclinació on les mostres de la primera setmana es troben aleatòries pel gràfic i potser els dies de la segona setmana es troben més al mig i la tercera setmana més al extrem, però són suposicions que no es pot assegurar.

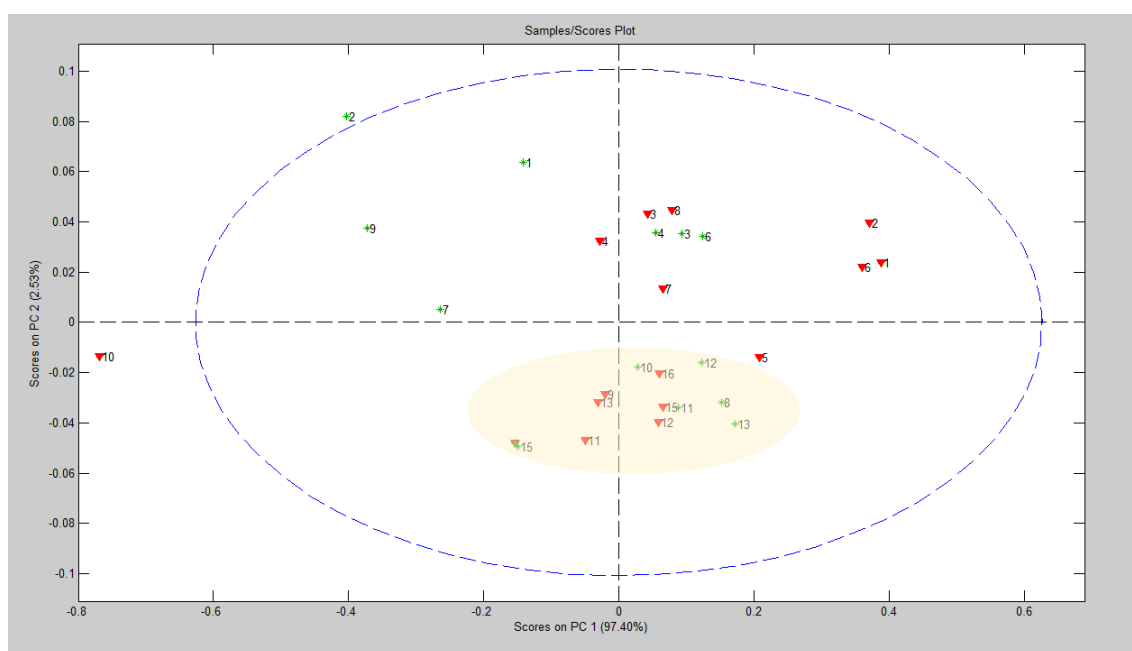
Per altra banda la mostra B, sembla que la última setmana es trobi en la part superior pel que el PC2 podria començar a informar sobre aquesta degradació però com no es un ordre molt evident només es una suposició que s'ha de seguir estudiant.

Per concloure, la variable del moment del dia sembla que ja no separa els *scores* perquè es troben aleatoris, pel que es pot confirmar que amb el NeoSpectra no hi ha efecte de la llum del dia al fer la mesura.

5.3.2. SCiO

Com al NeoSpectra s'ha vist, en les mesures del SCiO els *scores* indiquen que no hi ha cap separació entre les dades del matí i la tarda, és a dir, es troben totalment aleatòries pel que es confirma que no hi ha influència de la llum ambiental a la mesura de la mostra.

Per altra banda, a la mostra A, en el gràfic d'*scores* els punts de les mesures de la tercera setmana es troben al extrem pel que ens pot mostrar que sembla que hi ha un efecte del temps sobre la mostra, però no està totalment ordenat, pel que només són especulacions.



Il·lustració 39. Gràfic d'*scores* mostra B de les tres primeres setmanes on s'indica de color groc la última setmana.

Altrament, la mostra B té un comportament similar al de la mostra A amb la diferència que l'última setmana mesurada es troba més agrupada en una regió, no tant distribuïda pel gràfic, pel que també es pot imaginar que hi ha diferència entre les primeres dues setmanes amb la tercera.

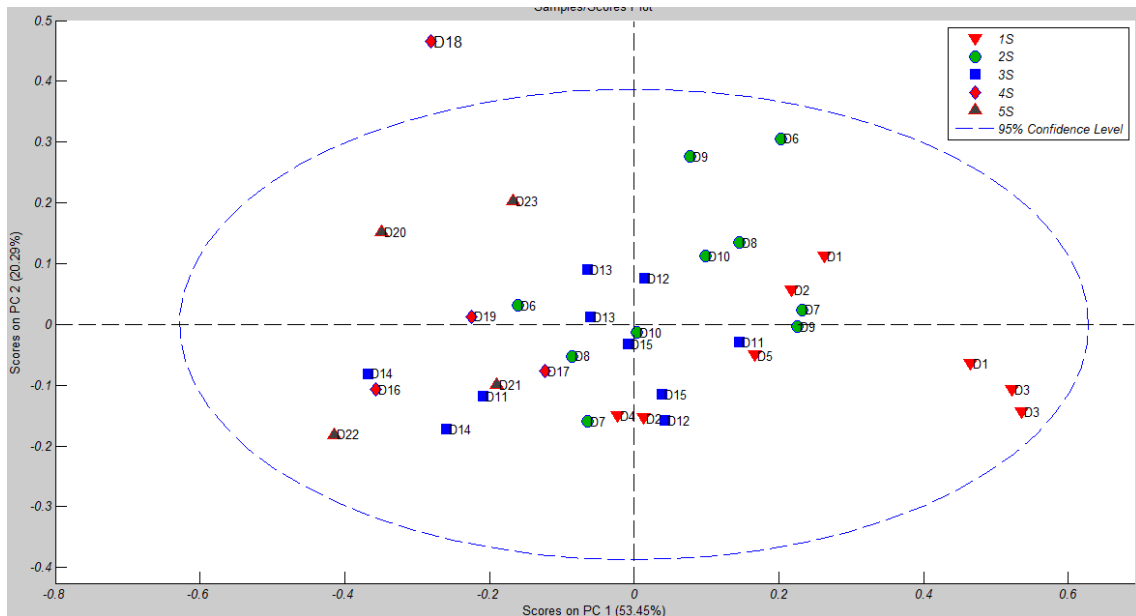
5.4. Últimes dues setmanes.

A les setmanes quatre i cinc en comptes de fer dues mesures al dia, es realitza només una durant el dia, ja que anteriorment s'ha conclòs que no hi ha cap efecte entre matí i tarda.

El aspecte de la farina durant les últimes setmanes no semblava variar, ni de color, ni olor i ni textura, aparentment no hi ha canvi a les mostres.

5.4.1. NeoSpectra

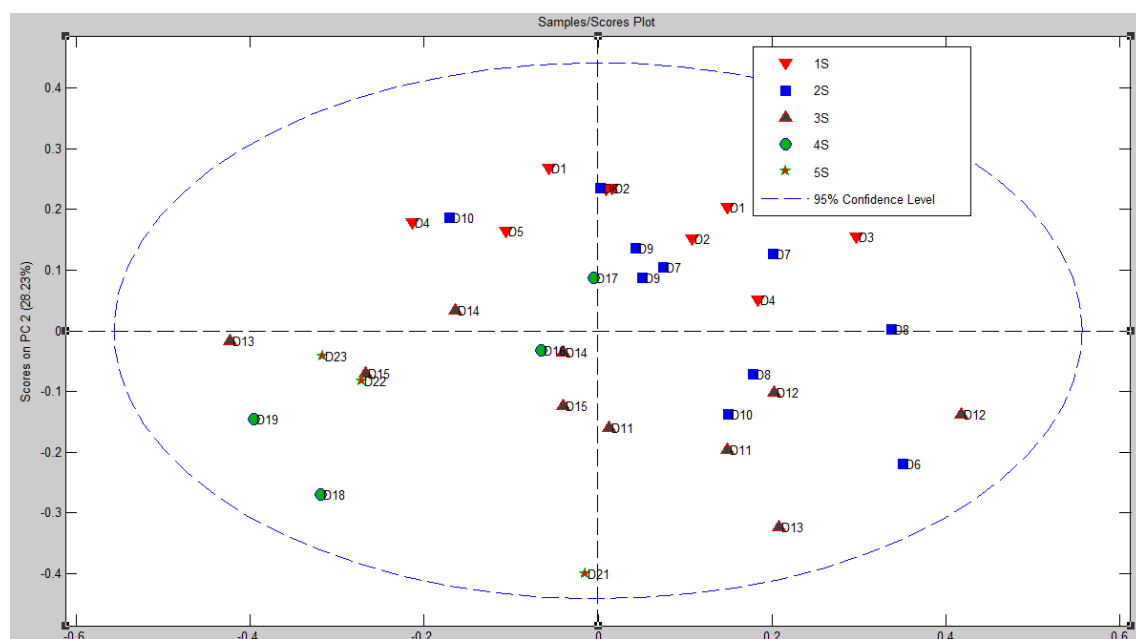
Durant les cinc setmanes, els *scores* de la mostra A semblen seguir un ordre, el qual les primeres dues setmanes es veuen al extrem com s'observa a la il·lustració 40, seguidament de les mesures de la setmana tres i les dues últimes.



Il·lustració 40. Gràfic d'scores mostra A de tot l'estudi de la degradació diferenciat per setmanes.

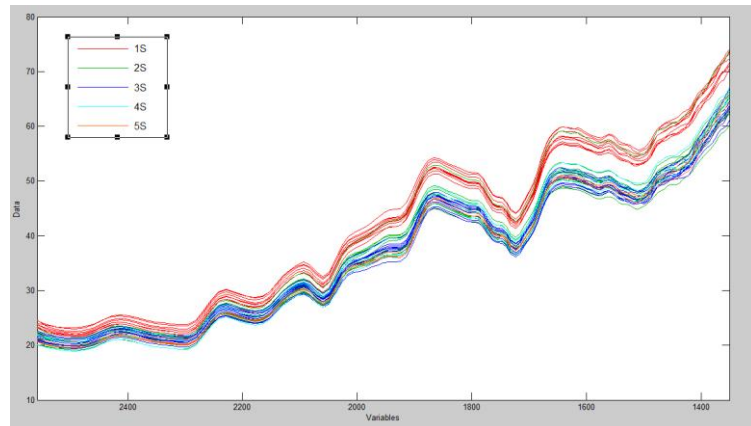
L'ordre no es molt evident, ja que idealment el PC1 podria indicar el dia aproximadament pel que descriuria que hi ha un efecte a la composició que afecta a la mostra al pas del temps.

Per altra banda, la mostra B sembla que el efecte de la degradació de la mostra es més clar perquè, com s'observa a la il·lustració 41, els punts estan més agrupats per setmanes.



Il·lustració 41. Gràfic d'scores mostra B de tot l'estudi de la degradació diferenciat per setmanes.

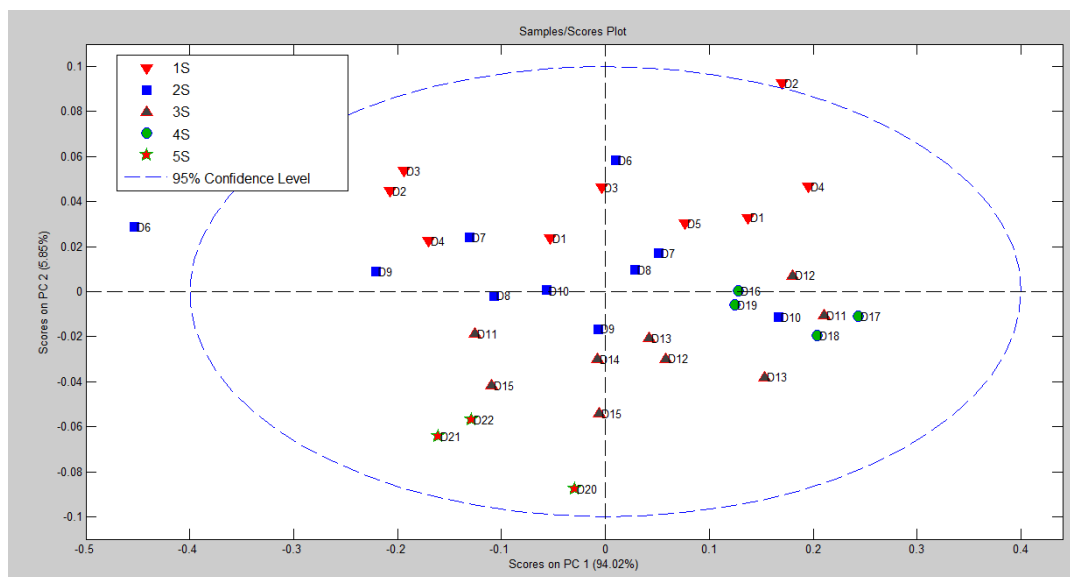
A més en el gràfic d'espectres de la mostra B, es veu com les mostres de la primera setmana es diferencien de les altres cosa que fa pensar que de la primera setmana a les altres si que hi ha una petita diferència de la mostra.



Il·lustració 42. Espectres de la mostra B de les mesures de les cinc setmanes d'estudi de les degradació.

5.4.2. SCiO

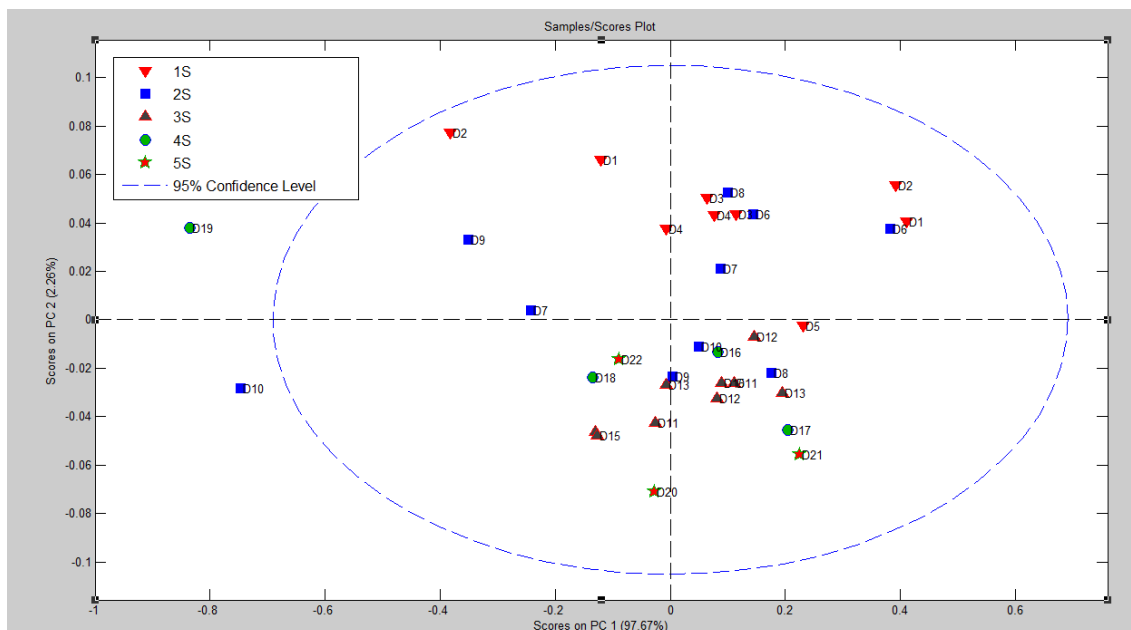
Per finalitzar, les gràfiques d'scores de les dades obtingudes tant de la mostra A com la B s'observa que el PC2 pot donar informació sobre la setmana de la mesura.



Il·lustració 43. Gràfic d'scores mostra A de tot l'estudi de la degradació diferenciades per setmanes.

A la mostra A sembla que la setmana quatre no segueix l'ordre que es troba en les altres setmanes però l'última es troba sota pel que ens fa suposar que sí hi ha efecte en la mostra al pas del temps.

Com en la Mostra A el PC2 ens indica la setmana en la qual es realitza la mesura, però els punts de la setmana 2 semblen dispersats pel gràfic i les següents setmanes s'agrupen en la part inferior centre del gràfic, com mostra la il·lustració 43.



Il·lustració 44. Gràfic d'scores mostra B de tot l'estudi de la degradació diferenciats per setmanes.

Es pot interpretar en el gràfic que les primeres tres setmanes segueixen un ordre, en canvi les dues últimes no les segueix, pel que es pot suposar podria haver una diferència de la composició entre les primeres tres setmanes i les dues últimes.

Com aquest estudi es d'una sola farina, potser no tenim dades suficients per poder comparar i saber com s'hauria de distribuir els *scores* per això no es pot afirmar res, ja que s'hauria de seguir estudiant i analitzant les dades amb altres mostres per poder comparar. Però pel que es veu tant en NeoSpectra com en SCiO si que podria haver-hi canvi de la primera setmana a la última d'aquest estudi. També s'ha de dir que cinc setmanes podria ser poc temps d'estudi per a veure la degradació, ja que normalment les farines no acostumen a deteriorar-se tant aviat, encara que com es una farina d'insecte i no vegetal no hauria de comportar-se igual.

Recollint el més important, es podria dir que aparentment no hi ha diferència física entre les farines durant les cinc setmanes però les mesures espectroscòpiques si semblen indicar una variació en les mesures, pel que aquest anàlisi podria servir com a control de qualitat de les farines per controlar el seu estat.

6. Conclusions

Com a conclusions obtingudes d'aquest treball es podria dir que s'ha aconseguit optimitzar un mètode de mesura de sòlids en pols mitjançant la fabricació de suport amb una impressora 3D.

En aquest mètode s'ha aconseguit optimitzar les variables implicades per tal d'obtenir mesures instrumentals que permeten una correcta anàlisi de les dades.

Amb aquest estudi es pot confirmar que les tècniques espectroscòpiques de NIR portàtil són un mètode senzill i ràpid de fer anàlisis d'aliments, ja que l'adquisició de dades dels dos instruments es produeix mitjançant reflectància pel que només necessitaries l'instrument i el suport per la mostra. A més, aquests instruments es poden fer servir per a control de qualitat, ja que l'estudi aconsegueix separar les diferents farines permetent la possibilitat de detectar possibles adulteracions i també podria indicar l'estat de la mostra.

L'anàlisi per PCA mostra que el SCiO agrupa de forma més separada les diferents farines que el NeoSpectra, com s'ha vist en els gràfics el percentatge d'informació en el SCiO pel que fa a l'agrupació de les farines és d'un 94% i del NeoSpectra d'un 81% indicant que la informació és més representativa de la realitat.

Per últim convé ressaltar que mitjançant pretractament s'aconsegueix minimitzar l'efecte de la mida del gra de la farina i s'aconsegueix dividir correctament les farines amb els dos instruments, tot i ser instruments que cal treballar amb reflectància es veuen influenciats per la mida de les partícules de la mostra i per efectes de dispersió de la llum inherents a aquests modes de mesura.

Bibliografía

- (1) Jucker, C.; Lupi, D.; Moore, C. D.; Leonardi, M. G.; Savoldelli, S. Nutrient Recapture from Insect Farm Waste: Bioconversion with *Hermetia Illucens* (L.) (Diptera: Stratiomyidae). *Sustain.* **2020**, *12* (1), 1–14. <https://doi.org/10.3390/su12010362>.
- (2) Ote, S. P. H. *Food Science and Technology*; 2003. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-417762-8.50121-6>.
- (3) Mellado-Carretero, J.; García-Gutiérrez, N.; Ferrando, M.; Güell, C.; García-Gonzalo, D.; De Lamo-Castellví, S. Rapid Discrimination and Classification of Edible Insect Powders Using ATR-FTIR Spectroscopy Combined with Multivariate Analysis. *J. Insects as Food Feed* **2020**, *6* (2), 141–148. <https://doi.org/10.3920/jiff2019.0032>.
- (4) Haber, M.; Mishyna, M.; Martinez, J. J. I.; Benjamin, O. The Influence of Grasshopper (*Schistocerca Gregaria*) Powder Enrichment on Bread Nutritional and Sensorial Properties. *Lwt* **2019**, *115* (December 2018), 108395. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108395>.
- (5) Parlamento Europeo, C. E. Reglamento (UE) 2017/893 DE LA COMISIÓN - de 24 de Mayo de 2017 Por El que Se Refiere a Las Disposiciones Sobre Proteína Animal Transformada. **2017**, *2017* (3), L 138/ Pàg (92-116).
- (6) Iksal, M. Situación De Los Insectos En Alimentación Humana. *Aesan* **2020**, *21* (1), 1–9.
- (7) Adámková, A.; Mlček, J.; Adámek, M.; Borkovcová, M.; Bednářová, M.; Hlobilová, V.; Knížková, I.; Juríková, T. *Tenebrio Molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae)-Optimization of Rearing Conditions to Obtain Desired Nutritional Values. *J. Insect Sci.* **2020**, *20* (5), 1–10. <https://doi.org/10.1093/jisesa/ieaa100>.
- (8) Beć, K. B.; Grabska, J.; Huck, C. W. Principles and Applications of Miniaturized Near-Infrared (NIR) Spectrometers. *Chem. - A Eur. J.* **2021**, *27* (5), 1514–1532. <https://doi.org/10.1002/chem.202002838>.
- (9) Casale, M.; Simonetti, R. Review: Near Infrared Spectroscopy for Analysingolive Oils. *J. Near Infrared Spectrosc.* **2014**, *22* (2), 59–80. <https://doi.org/10.1255/jnirs.1106>.
- (10) Beć, K. B.; Grabska, J.; Siesler, H. W.; Huck, C. W. Handheld Near-Infrared Spectrometers: Where Are We Heading? *NIR news* **2020**, *31* (3–4), 28–35. <https://doi.org/10.1177/0960336020916815>.
- (11) Brereton, R. G. *Applied Chemometrics for Scientists*; 2007. <https://doi.org/10.1002/9780470057780>.
- (12) Description, G.; Diagram, B. SWS62221 Spectral Sensor General Description SWS62221 Specifications. 4–7.
- (13) Rinnan, Å.; Berg, F. van den; Engelsen, S. B. Review of the Most Common Pre-Processing Techniques for near-Infrared Spectra. *TrAC - Trends Anal. Chem.* **2009**, *28* (10), 1201–1222. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2009.07.007>.
- (14) van Kollenburg, G. H.; van Manen, H. J.; Admiraal, N.; Gerretzen, J.; Jansen, J. J. Low-Cost Handheld NIR Spectroscopy for Identification of Organic Solvents and Low-Level

Quantification of Water Contamination. *Talanta* **2021**, 223 (P2), 121865.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121865>.

- (15) Chen, H.; Tan, C.; Lin, Z.; Li, H. Quantifying Several Adulterants of Notoginseng Powder by Near-Infrared Spectroscopy and Multivariate Calibration. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2019**, 211, 280–286. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2018.12.003>.