



FERTBIO 2012

A responsabilidade socioambiental da pesquisa agrícola
17 a 21 de Setembro - Centro de Convenções - Maceió/Alagoas

Análise Multivariada de Fertilizantes por Espectroscopia no Infravermelho Próximo

André Marcelo de Souza⁽¹⁾; Ioná Rech⁽²⁾; Priscila Luzia Simon⁽³⁾; David Vilas Boas de Campos⁽⁴⁾; Vinicius de Melo Benites⁽⁴⁾; José Carlos Polidoro⁽⁴⁾; Marcelo Saldanha⁽¹⁾; Ronei Jesus Poppi⁽⁵⁾.

(1) Analista; Embrapa Solos, Rua Jardim Botânico, 1.024 - Jardim Botânico Rio de Janeiro, RJ - CEP 22460-000, Andre.souza@cnps.embrapa.br; (2) Mestranda em Ciência do Solo; ESALQ; Endereço ESALQ; (3) Graduanda em Engenharia Agrícola Universidade Federal do Paraná; Rua dos Funcionários, 1540 - Juveve - Curitiba, PR - CEP 80035-050; (4) Pesquisador; Embrapa Solos, Rua Jardim Botânico, 1.024 - Jardim Botânico Rio de Janeiro, RJ - CEP 22460-000; (5) Pesquisador; Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Caixa Postal 6154, Campinas, SP, CEP 13083-970.

RESUMO – Este trabalho tem como objetivo empregar a Espectroscopia no Infravermelho Próximo (*Near Infrared Spectroscopy*, NIR) e a Regressão por Quadrados Mínimos Parciais (*Partial Least Squares*, PLS) para determinar a quantidade de ureia em amostras de fertilizantes Nitrogenados. A quantidade de ureia foi determinada em 15 diferentes formulações de Fertilizantes. Os espectros obtidos foram pré-processados por correção de espalhamento multiplicativo e centrados na média. Posteriormente, as porcentagens teóricas de ureia nas formulações estudadas foram preditas através do PLS. Os valores preditos através da calibração multivariada apresentaram boa concordância com os valores teóricos, evidenciando o potencial das técnicas empregadas para quantificação do composto de interesse nas amostras de fertilizantes.

Palavras-chave: Calibração multivariada, Regressão por Quadrados Mínimos Parciais, Argilominerais.

INTRODUÇÃO - A Embrapa Solos vem desenvolvendo tecnologias de produção de novos fertilizantes, destacando-se os fertilizantes organominerais, que comparados aos fertilizantes minerais, apresentam uma solubilização mais gradativa no decorrer do período de desenvolvimento da cultura, aumentando assim a eficiência agrônômica (Kiehl, 2008).

A espectroscopia de refletância no infravermelho próximo (*Near infrared Spectroscopy*, NIR), associada à calibração multivariada, tem sido empregada por diversos autores para a caracterização química e física do solo (Francioso *et al.*, 2000; Mouazen *et al.*, 2006), caracterização de matéria orgânica (Moron and Cozzolino, 2004; Albrecht *et al.*, 2008) e caracterização de plantas de interesse agrícola (Gishen and Cozzolino, 2007). No espectro eletromagnético, a região do NIR, está localizada entre o visível e o infravermelho médio, entre 12.500 e 4000 cm⁻¹ ou 800 e 2500 nm. Nesta região são detectadas as vibrações de primeiro, segundo e terceiro sobretons (*overtones*) de bandas fundamentais observadas no infravermelho médio bem como bandas de combinação. Sobretons são transições múltiplas das

transições fundamentais, ou seja, acontecem do nível vibracional fundamental $v=0$ para os diversos níveis vibracionais $v=2,3,4,\dots$. Bandas de combinação são obtidas a partir da diferença ou soma de duas ou mais frequências e são observadas quando um fóton excita simultaneamente mais de um modo vibracional. Devido aos fenômenos descritos que ocorrem na região espectral NIR, as bandas observadas são fracas e sobrepostas. Da mesma maneira que para o infravermelho médio, a absorção de radiação na região NIR implica que a molécula apresente momento de dipolo elétrico (Pasquini, 2003).

Alguns artigos de revisão abordando os aspectos históricos e teóricos da espectroscopia NIR apontam a área agrícola como sendo a primeira a fazer uso intensivo desta técnica (Pasquini 2003). A tecnologia NIR tem encontrado suas aplicações mais recentes em áreas como a de agricultura de precisão, na área de alimentos e produtos transgênicos, no controle de processos em tempo real na indústria de alimentos e bebidas, e no controle de qualidade pós-colheita (Pasquini 2003).

O método de regressão multivariada utilizado neste estudo foi o método de regressão por Quadrados Mínimos Parciais (*Partial Least Squares*, PLS). O PLS é, em geral, um dos métodos de regressão mais utilizados o tratamento de dados multivariados e no tratamento de dados de espectroscopia de amostras de solos (Wold *et al.*, 1987). Como qualquer outro método de regressão, tem como objetivo encontrar uma relação entre a matriz (**X**) contendo os espectros das amostras e o vetor que armazena as respectivas propriedades de interesse (**y**). O modelo pode ser representado pela equação 1:

$$y = Xb + E \quad (1)$$

onde E representa os erros do modelo e **b** é o vetor de regressão. O método PLS é especialmente indicado, quando **X** contém variáveis altamente correlacionadas (como os dados de espectroscopia descritos neste trabalho). Outra vantagem é que este método pode ser usado mesmo quando as amostras contêm interferentes (que estarão presentes no conjunto de calibração). No

modelo PLS, a matriz \mathbf{X} é decomposta em escores, \mathbf{t} , e pesos, \mathbf{w} , i.e. $\mathbf{X}\mathbf{W}=\mathbf{T}$, onde $\mathbf{W} = (\mathbf{w}_1, \mathbf{w}_2, \dots, \mathbf{w}_k)$ é escolhido de maneira que $\mathbf{T} = (\mathbf{t}_1, \mathbf{t}_2, \dots, \mathbf{t}_k)$ apresente covariância máxima com \mathbf{y} (k é o número de variáveis latentes). Assim, as informações espectrais e as concentrações são usadas ao mesmo tempo na fase de calibração. Fatores importantes na construção de um modelo PLS são: o pré-processamento dos espectros de modo a retirar informações físicas não relevantes, a escolha do número de variáveis latentes k (VL) a serem incluídas no modelo e a repetibilidade do método de referência, o qual fornece os valores da propriedade na etapa de calibração (Wold *et al.*, 1987).

Portanto, o objetivo deste trabalho é empregar a técnica de espectroscopia NIR e PLS para determinar a quantidade de Nitrogênio em amostras de fertilizantes.

MATERIAL E MÉTODOS - Foi preparado um conjunto de calibração com 10 formulações diferentes de fertilizantes variando-se a concentração de Nitrogênio de 10 a 90%, e um conjunto de validação externo com 5 diferentes formulações variando-se a concentração de 15 a 85%. Foram obtidos 2 espectros para cada amostra de fertilizante. Os espectros foram adquiridos em um espectrômetro Perkin Elmer *Spectrum 100N* equipado com acessório de reflectância *NIRA* do Laboratório de Quimiometria em Química Analítica (LQQA) do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas, com resolução espectral de 4 cm^{-1} , 16 varreduras, na faixa de 4000 a 10000 cm^{-1} . Os espectros foram obtidos em porcentagem de refletância (% R) e transformados para $\log 1/R$, que é proporcional à concentração. Posteriormente, os dados foram exportados para formato ASC e processados em Matlab 7.0 (Mathworks Co).

RESULTADOS E DISCUSSÃO - A etapa de pré-processamento dos dados é fundamental para o sucesso da análise multivariada. Os principais objetivos da aplicação das técnicas de pré-processamento são eliminar informações não relevantes do ponto de vista químico e tornar a matriz de dados melhor condicionada para a análise, possibilitando a subsequente análise exploratória do conjunto de dados com eficiência. Existe uma vasta literatura disponível a respeito dos diversos métodos de processamento de dados em espectroscopia. Centrar os dados na média, derivar e suavizar utilizando o algoritmo de Savitzky-Golay e aplicação de correção de espalhamento multiplicativo (MSC, Multiplicative Scatter Correction) são alguns dos métodos mais aplicados (Breton, 2007).

A centralização na média consiste em fazer com que, para cada variável, seus valores tenham média zero. Para centrar os dados na média, obtêm-se, para cada coluna, o valor médio e, em seguida, subtrai-se este valor de cada variável dessa mesma coluna. Desta forma, ocorre a mudança do sistema de coordenadas para o centro dos dados. A Equação 2 é utilizada para centrar os dados na média.

$$x_{(i,j)cm} = x_{(i,j)} - \bar{x}_j \quad \text{Equação 2}$$

em que, amostra $x_{(i,j)}$; corresponde ao valor centrado na média para a variável j , $x_{(i,j)}$, é o valor da variável j na amostra i e \bar{x}_j é a média das amostras na coluna calculada pela Equação 3

$$\bar{x}_j = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_{(i,j)} \quad \text{Equação 3}$$

Onde n representa o número de amostras.

O método de correção de espalhamento multiplicativo (MSC - do inglês, Multiple Scattering Correction) é comumente aplicado em espectroscopia para a correção de linha base, proveniente principalmente da não homogeneidade da distribuição de partículas na matriz. Este método assume que os comprimentos de onda da luz espalhada possuem uma dependência distinta entre a luz espalhada e a absorvida pelos constituintes da amostra. Portanto teoricamente, é possível separar estes dois sinais. Este método tenta remover o efeito do espalhamento pela linearização de cada espectro por um espectro ideal. Para efeito de cálculo, considera-se que o espectro ideal é o espectro médio do conjunto de dados para o qual se deseja realizar a correção da linha base. Em seguida, utiliza-se uma regressão linear para calcular o coeficiente angular e linear do gráfico entre o espectro ideal e o espectro que vai ser corrigido. O espectro corrigido é calculado subtraindo cada ponto do espectro pelo valor do coeficiente linear e dividindo este valor pelo coeficiente angular (Rinnan *et al.*, 2009).

Matematicamente, e resumindo, a correção é feita da seguinte forma:

1. A partir do conjunto total de espectros, calcula-se o espectro médio \bar{x}_i .
2. Faz-se a regressão linear para cada um dos k espectros $x_{(ik)}$; do conjunto total de espectros, contra o espectro médio, sobre todos os i comprimentos de onda (Equação 4):

$$x_{(ik)} = v_k \bar{x}_i + \mu_k \quad \text{Equação 4}$$

Onde v_k é o coeficiente linear e μ_k é o coeficiente angular (Equação 5).

3. Correção final

$$x_{ik}^{(corrigido)} = \frac{x_{ik}^{(corrigido)} - \mu_k}{v_k} \quad \text{Equação 5}$$

A Figura 1 apresenta os 30 espectros obtidos após a transformação para $\log 1/R$.

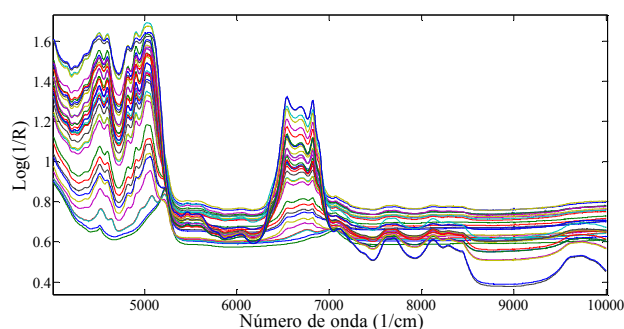


Figura 1: Espectros NIR após a transformação para $\log 1/R$.

Como se pode observar, existem deslocamentos na linha base, os quais podem ser originados tanto por fatores instrumentais, quanto por diferenças naturais de tamanho de partícula, como mencionado anteriormente. Estes efeitos indesejados do ponto de vista químico foram corrigidos por MSC e a Figura 2 mostra o gráfico dos espectros corrigidos.

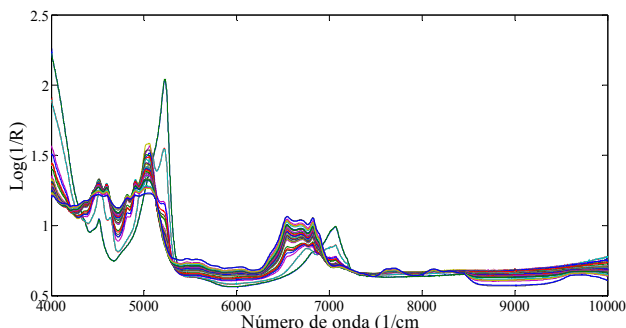


Figura 2: Espectros NIR após a correção com MSC.

Para avaliar se as variações espectrais observadas podem ser relacionadas com o teor de nitrogênio presentes nas amostras de fertilizantes, bem como a concordância entre os valores de Nitrogênio teóricos e preditos pelo modelo PLS, avaliou-se o gráfico de valores observados vs valores preditos (Figura 3). Pelo exame da Figura 3 verifica-se que as variações espectrais observadas estão relacionadas com o conteúdo de Nitrogênio e que existe uma boa concordância entre os valores de referência e os valores preditos, pois o coeficiente de correlação é de 0,998 ($R^2 = 0,997$). Entretanto, a dispersão de alguns pontos em torno da reta, sugere a existência de um erro de predição para algumas amostras, o que será estudado em etapas posteriores. Na Figura 3 também é mostrada a reta 1:1 ideal, representando uma correlação perfeita entre o valor teórico e o valor predito pelo modelo, bem como a reta de regressão obtida.

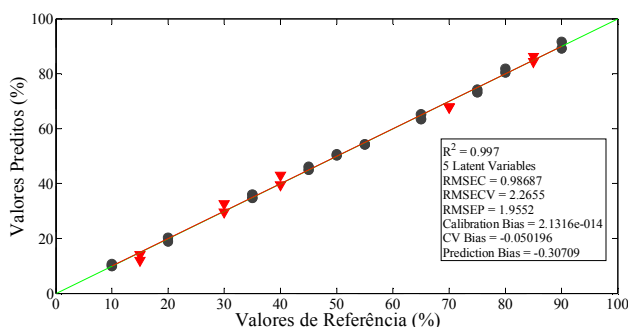


Figura 3: Gráfico de valores de referência vs valores preditos pelo modelo PLS.

CONCLUSÕES - Apesar do pequeno número de amostras utilizadas na calibração do modelo ($n=30$), os espectros NIR foram relacionados ao teor de Nitrogênio nas amostras de fertilizantes ($R^2=0,997$) através do método PLS. O aumento do número de amostras, bem como a utilização de algoritmos quimiométricos (Redes Neurais, *Iterative Partial Least Squares - iPLS*) para a seleção de variáveis, serão futuramente testados a fim de melhorar a capacidade preditiva do modelo.

REFERÊNCIAS

- ALBRECHT, R., JOFFRE, R., GROS, R., LE PETIT, J., TERRON, G., PERISSOL, C. Efficiency of near-infrared reflectance spectroscopy to assess and predict the stage of transformation of organic matter in the composting process. *Bioresour. Technol.*, 448-455, 2008.
- BRERETON, R.G. *Applied Chemometrics for Scientists*. 1ed. Chichester. John Wiley & Sons. 2007. 356p.
- FEARN, T., RICCIOLI, C., GARRIDO-VARO, A., GUERRERO-GINEL, J.E. On the geometry of SNV and MSC. *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, 22-26, 2009.
- FRANCIOSO, O., CIAVATTA, C., SANCHEZ-CORTES, S., TUGNOLI, V., SITTI, L., GESSA, C. Spectroscopic characterization of soil organic matter in long-term amendment trials. *Soil Sci.*, 495-504, 2000.
- GISHEN, M., COZZOLINO, D. Feasibility study on the potential of visible and near infrared reflectance spectroscopy to measure alpaca fibre characteristics. *Animal*, 899-904, 2007.
- KIEHL, E. J. *Fertilizantes Organominerais*. 2.ed. Piracicaba, Degaspari, 2008. 160p.
- MORON, A., COZZOLINO, D. Determination of potentially mineralizable nitrogen and nitrogen in particulate organic matter fractions in soil by visible and near-infrared reflectance spectroscopy. *Journal of Agricultural Science*, 335-343, 2004.
- MOUAZEN, A.M., KAROUI, R., DE BAERDEMAEKER, J., RAMON, H. Characterization of soil water content using measured visible and near infrared spectra. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 1295-1302, 2006.
- RINNAN, A.; VAN DEN BERG, F.; ENGELSEN, S. B.; Review of the most common pre-processing techniques for near-infrared spectra *Trends Anal. Chem.*, 28, 1201, 2009
- WOLD, S., ESBENSEN, K., GELADI, P. *Principal Component Analysis*. *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, 37-52, 1987.
- PASQUINI, C.; *Near Infrared Spectroscopy: Fundamentals, Practical Aspects and Analytical Applications*, *J. Braz. Chem. Soc.*, 14, 198-219, 2003.