

Uso da espectroscopia no infravermelho próximo para avaliar os teores de proteína e óleo em milho¹

Edislane de Araújo Souza², Leticia Fernandes Dias Coelho², Maria Lúcia Ferreira Simeone³.

¹Trabalho financiado pelo CNPq.

²Estudante do Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de São João Del Rei – MG – Bolsista PIBIC do Convênio CNPq - Embrapa

³ Pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo

Introdução

O milho é um dos cereais mais usados na nutrição animal e, sua importância econômica não é só caracterizada na aplicação alimentícia, pois o uso de seus derivados estendem-se as indústrias química, farmacêutica, de papéis, têxtil, entre outras aplicações mais nobres.

A composição química do milho é predominante de carboidratos (amido), proteína e lipídeos (óleo), tornando-o um alimento energético. Para um aproveitamento adequado do grão, é necessário conhecer seus componentes e sua composição química.

Uma das técnicas analíticas que possibilita a realização de análises químicas com precisão, rapidez, baixo custo e pouca manipulação de amostras é a espectroscopia no infravermelho próximo – NIRS (Near Infrared Spectroscopy) (SHENK; WESTERHAUS, 1994)

A refletância no infravermelho próximo é um método espectroscópico, alternativo e rápido, que surgiu como alternativa aos métodos analíticos tradicionais. (PIONEER,1995). Metodologias que empregam a espectroscopia NIR têm se mostrado altamente eficientes na substituição de métodos de análise laboratoriais em diversos setores, como em análises de alimentos, produtos farmacêuticos e agrícolas, dentre outros, viabilizando a avaliação de um grande número de parâmetros, em um largo espectro de amostras. Mas, para que a técnica seja empregada com boa acurácia e precisão, a cada característica de interesse, é necessário realizar a construção de um modelo de calibração multivariada associando os dados espectroscópicos NIR aos resultados analíticos realizados pelos métodos de referência. E, para a realização dos ajustes no modelo de calibração são necessários procedimentos matemáticos e quimiométricos apropriados ao modelo multivariado escolhido para o conjunto de amostras analisadas.

O objetivo do trabalho foi o desenvolvimento de um modelo de calibração multivariada utilizando a técnica NIR para a determinação do teor de proteína e extrato etéreo em amostras de grãos de milho moído.

Material e Métodos

As amostras de grãos de milho foram selecionadas a partir de diferentes genótipos comerciais de milho e coletadas no ano de 2014 em ensaios localizados em diferentes regiões de Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso e São Paulo.

Foram selecionadas 375 amostras de grãos de milho buscando-se maior representatividade das amostras para a realização das análises do teor de proteína bruta. Para a análise do extrato etéreo foram selecionadas 229 amostras. A porcentagem de proteína bruta foi obtida multiplicando o teor de nitrogênio obtido pelo método de combustão de Dumas em analisador LECO, modelo FP254 por 6,25 (AOAC, 2002). O extrato etéreo corresponde ao teor de óleo e foi determinado em extrator pressurizado ANKOM (AOCS, 2005).

Os grãos de milho foram secos à 65°C até peso constante. Em seguida foram trituradas em moinho de facas tipo Willey, utilizando a peneira de 2 mm. Os espectros das amostras foram obtidos em equipamento BUCHI, modelo NIRFlex 500 (Buchi Labortechnik, Flawil, Switzerland) equipado com detector de InGaAs, utilizando como porta-amostra uma placa de Petri de vidro borossilicato. O equipamento foi calibrado utilizando o padrão Spectralon®. Os espectros das amostras de grãos de milho foram obtidos em triplicata, na região de 4.000 a 10.000 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e 32 varreduras por espectro.

Os teores de proteína bruta e extrato etéreo obtidos pelos métodos de referências foram associados aos espectros NIR e o método PLS (*Partial Least Square*) foi utilizado para desenvolver o modelo de calibração multivariada. Nesse processo utilizou-se o software Unscrambler® (versão 10.3, CAMO Software Inc., Norway).

Todos os espectros NIR foram pré-processados utilizando a variação normal padrão - SNV (*Standard Normal Variate*), primeira derivada Savitzky-Golay com 9 pontos à direita e 9 pontos à esquerda para corrigir os efeitos de espalhamento e deslocamentos de linha de base. Os dados também foram centrados na média.

Os indicadores estatísticos utilizados para avaliar o desempenho dos modelos foram: raiz quadrada do erro médio de calibração - RMSEC (*Root Mean Squared Error of Calibration*), raiz quadrada do erro médio de validação cruzada - RMSECV (*Root Mean Squared Error of Cross Validation*), raiz quadrada do erro médio de predição - RMSEP (*Root Mean Squared Error of Prediction*), R^2 (coeficiente de determinação para o conjunto de calibração e validação) e relação de desempenho do desvio - RPD (*Residual Prediction Deviation*) (NIRS CONSORTIUM, 2008).

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos para o teor de proteína variaram entre 6,78 e 15,66 %, com valores médios de 10,08%, cujos valores representaram a faixa de amostragem para o desenvolvimento do modelo de calibração multivariada. Para o teor de extrato etéreo, os resultados obtidos variaram entre 2,43 e 5,75%, com valores médios de 5,00%. As amostras foram divididas em dois conjuntos: um para a calibração e outro para a validação externa (previsão).

Obteve-se uma boa correlação entre os valores previstos pelo modelo e os valores obtidos pelo método de referência para os teores de proteína e extrato etéreo tanto para as amostras do conjunto de calibração como para as do conjunto de previsão.

Na Tabela 1 podem-se observar os parâmetros de qualidade obtidos na calibração e validação externa utilizando o modelo PLS.

A escolha do número de variáveis latentes foi feita por meio da resposta de maior variância explicada, sendo que o melhor resultado foi obtido com o uso de 4 variáveis latentes para o parâmetro proteína e 7 variáveis latentes para extrato etéreo.

TABELA 1 – Resultados das análises estatísticas dos conjuntos de calibração e validação para o teor de proteína e extrato etéreo em milho moído.

Parâmetros	Proteína		Extrato etéreo	
	Calibração	Previsão	Calibração	Previsão
Número de amostras	250	125	150	79
Faixa espectral (cm ⁻¹)	4.000-10.000	4.000-10.000	4.000-10.000	4.000-10.000
Valor máximo (%)	15,66	14,87	5,75	5,54
Valor mínimo (%)	6,78	7,75	2,43	2,93
Média (%)	10,08	10,12	5,06	4,52
Variáveis Latentes	4	4	7	7
R ²	0,92	0,90	0,85	0,78
RMSEP (%)	0,35	0,42	0,26	0,34
RPD	3,51	3,07	2,63	1,77

O coeficiente de determinação (R²) obtido para o conjunto de amostras da calibração foi 0,92 e 0,85 para os parâmetros proteína e extrato etéreo, respectivamente, sugerindo, portanto, que há uma boa correlação entre os valores previstos pelo modelo multivariado e os valores obtidos pelo método de referência. A eficiência do modelo foi avaliada pela previsão de resultados para novas amostras de grãos de milho moído. Nesta etapa foram utilizadas amostras externas à etapa de calibração e o erro associado ao modelo desenvolvido pode ser avaliado pelo RMSEP. O erro padrão de predição encontrado foi de 0,42 % para proteína e 0,34% para extrato etéreo. O valor encontrado para RMSEP está muito próximo do valor encontrado para RMSEC.

A RPD também é uma medida utilizada para estimar a capacidade preditiva dos modelos, na qual se devem utilizar modelos com RPD acima de 1,5. O valor de RPD representa a relação entre o desvio padrão dos valores da propriedade medida pelo método convencional e o erro padrão das amostras contidas no conjunto de calibração ou previsão (WILLIAMS e SOBERING, 1993). Como podem ser observados na Tabela

1, os valores de RPD foram considerados bons, uma vez que os valores obtidos estão acima de 1,5 para o conjunto de amostras de calibração e previsão, respectivamente.

Esses dados são comparáveis aos de outros trabalhos de pesquisa utilizando a técnica de espectroscopia no infravermelho próximo para a realização da análise do teor de proteína e óleo em milho (BERARDO et. al., 2009).

Conclusão

O uso da espectroscopia no infravermelho próximo associada a métodos de calibração multivariada (PLS) possibilitou o desenvolvimento de um método rápido e não destrutivo para análise do teor de proteína e óleo em grãos de milho moído. Os resultados indicam que o modelo desenvolvido foi capaz de fornecer resultados confiáveis e que possibilitam à sua implantação em rotina laboratorial.

Referências

AOAC official method 992.23: crude protein in cereal grains and oilseeds. In: OFFICIAL methods of analysis of AOAC International. Washington: AOAC International, 2002.

AOCS. American Oil Chemists' Society. **Official Method Am 5-04**: rapid determination of oil/fat utilizing high temperature solvent extraction. Urbana, 2005.

BERARDO, N.; MAZZINELLI, G.; VALOTI, P.; PAOLO, L.; REDAELLI, R. Characterization of maize germplasm for the chemical composition of the grain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 6, p. 2378-2384, 2009.

PIONEER. **Pionner forage manual**: a nutritional guide. Iowa, Pioneer Hi-Bred International, 1995. 54 p.

SHENK, J. S.; WESTERHAUS, M. O. The application of Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) to forage analysis. In: FAHEY JR., G. C. **Forage quality evaluation and utilization**. Madison: American Society of Agronomy, 1994. p. 406-449.

WILLIAMS, P. C.; SOBERING, D. C. Comparison of commercial Near-Infrared Transmittance and Reflectance Instruments for analysis of whole grains and seeds. **Journal Near Infrared Spectroscopy**, v. 1, p. 25-32, 1993.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq pela bolsa PIBIC.