

USO DA ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO PARA DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DO SORGO

Maria Lúcia Ferreira Simeone^{1*}, Valéria Aparecida Vieira Queiroz¹, Gilberto Simeone Henriques²
Edislane de Araújo Souza³, Cicero Bezerra de Menezes¹

¹Embrapa Milho e Sorgo, Núcleo de Recursos Genéticos e Desenvolvimento de Cultivares, Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil.

²Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Nutrição, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

³Universidade Federal de São João Del Rei – Campus Sete Lagoas, Departamento de Engenharia de Alimentos, Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil.

*Autor para correspondências: marialucia.simeone@embrapa.br

RESUMO

O sorgo vem surgindo como alternativa viável e de baixo custo para produção de alimentos. No entanto, informações a respeito da composição nutricional de grãos desse cereal para uso na alimentação humana ainda são escassas. Assim, o objetivo desse trabalho foi desenvolver modelos de calibração multivariada, utilizando a espectroscopia no infravermelho próximo, para análise da composição centesimal do sorgo. As amostras foram analisadas por métodos de referência e os resultados associados ao espectro de infravermelho próximo (NIR) de cada amostra. Em seguida, foram desenvolvidos, para cada constituinte, os modelos de calibração multivariada utilizando o algoritmo PLS (*Partial Least Square*). Obteve-se uma boa correlação entre os valores previstos pelo modelo e os valores obtidos pelo método de referência para todas as propriedades avaliadas tanto para as amostras do conjunto de calibração como para as do conjunto de validação externa (RMSEP), sendo assim, considerados adequados para a realização das análises quantitativas de composição centesimal do sorgo com potencial para uso na alimentação humana.

Palavras-chave: calibração multivariada; quimiometria; nutrientes.

1. INTRODUÇÃO

O sorgo é um cereal que por sua grande adaptabilidade a climas quentes e secos e facilidade de produção tem sido utilizado como base alimentar de milhões de pessoas, principalmente na África e na Ásia, chegando a suprir cerca de 70% da ingestão calórica diária, exercendo importante papel na segurança alimentar dessas populações (Dicko et al., 2006; Mutisya et al., 2009). No Brasil, vem sendo cultivado para alimentação animal, sendo seu consumo como alimento humano muito pouco explorado. No entanto, o cereal vem despontando como excelente alternativa para alimentação humana, pois pesquisas recentes têm revelado que a maioria dos grãos integrais de sorgo possuem elevadas concentrações de fibra alimentar e de compostos antioxidantes, como os ácidos fenólicos e os flavonoides (Queiroz et al., 2014; Paiva et al., 2014), com propriedades funcionais

comprovadas (Yang et al., 2009). Porém, informações a respeito da composição nutricional de grãos de sorgo para utilização como alimento humano são muito escassos e desatualizados.

Na identificação de genótipos de sorgo com características mais adequadas para alimentação humana, há a necessidade de determinação de sua composição centesimal, conforme descrito por Martino et al. (2012), Queiroz et al. (2015). Para atender a essa demanda, desenvolveu-se um método mais rápido e alternativo aos métodos de referência, e que utiliza a espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) associada ao desenvolvimento de modelos de calibração multivariados. Essa abordagem tem sido amplamente utilizada em análises de vários produtos agrícolas (Williams, 2001). A reflectância no infravermelho próximo é um método espectroscópico que surgiu como alternativa aos métodos analíticos tradicionais para a determinação de diferentes propriedades ou constituintes de matrizes de interesse agrícola (Williams et al., 1996). Porém, 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, entre outros, viabilizando a avaliação de um grande número de parâmetros, em um largo espectro de amostras (Pasquini, 2003). 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.

O objetivo deste trabalho foi desenvolver modelos de calibração multivariada utilizando a espectroscopia no infravermelho próximo para a determinação da composição centesimal do sorgo visando sua utilização na alimentação humana.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Análises químicas

Os grãos de sorgo foram moídos em moinho tipo ciclone, com granulometria de 0,5 mm e acondicionadas em frascos de polietileno até o dia das análises, as quais foram realizadas no Laboratório de Composição Centesimal da Embrapa Milho e Sorgo. Foram avaliados os teores de proteínas, lipídios, fibras, cinzas e umidade. As fibras em detergente neutro (FDN) foram analisadas em 0,5 g de amostra, em equipamento analisador de fibras, marca Tecnal, modelo TE-149 utilizando-se o sistema Ankom com saquinhos filtrantes (Ankom, 2006). Os lipídios (extrato etéreo) foram determinados em 1 g de amostra em Extrator de Gordura Ankom, modelo XT10, seguindo protocolo da AOCS (2004). A partir da quantificação do nitrogênio total, determinaram-se as proteínas pelo método de Dumas (Wiles, 1998) em 0,25 g de amostra, utilizando-se Analisador de Nitrogênio marca Leco, modelo FP-528 e posterior multiplicação dos resultados pelo fator 6,25. O teor de cinzas foi determinado em 2 g de amostra, segundo método da AOAC (1995), com calcinação da matéria orgânica em mufla Quimis, modelo Q 318 D 24, a 600 °C por 2 horas. O teor de água foi determinado por método gravimétrico, em 2 g de amostra, utilizando-se estufa com circulação forçada de ar, marca Solab, modelo SL-100 a 105 °C por 6 horas. Os teores de proteínas, lipídios, fibras e cinzas foram expressos com base na matéria seca.

2.2. Obtenção dos espectros de infravermelho próximo e processamento dos dados

Os espectros das 517 amostras de sorgo foram obtidos em equipamento Buchi, modelo NIRFlex 500. Os espectros das amostras de sorgo 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.

Para a construção dos modelos foi utilizado o algoritmo Kennard-Stone (Kennard; Stone, 1969) para a seleção do conjunto de amostras de calibração e validação. Dessa forma, foram obtidos dois conjuntos, um de calibração com 2/3 das amostras mais representativas e outro de validação contendo 1/3 das amostras aproximadamente, cobrindo assim toda a faixa de concentração de cada constituinte analisado.

É importante observar a necessidade de incluir um pré-tratamento aos dados para evidenciar as informações que se pretende extrair. No caso, para corrigir os efeitos de espalhamento da luz e deslocamentos de linha de base os espectros foram pré-processados utilizando a variação normal padrão - SNV (*Standard Normal Variate*) e primeira derivada Savitzky-Golay com 9 pontos à direita e 9 pontos à esquerda. Os dados também foram centrados na média. A escolha do número de variáveis latentes foi realizada por meio da resposta obtida pela soma do quadrado da diferença entre os erros residuais (PRESS) na validação cruzada conforme Haaland e Thomas (1988). A situação ideal é aquela em que ocorre a minimização dos erros residuais.

Os teores proteínas, lipídios, fibras, cinzas e água foram obtidos pelos métodos de referência foram associados à média dos espectros NIR de cada amostra. Em seguida, foram desenvolvidos para cada constituinte do sorgo os modelos de calibração multivariada utilizando o algoritmo PLS (*Partial Least Square*) com a validação cruzada pelo método randômico. Para o desenvolvimento dos modelos, utilizou-se o *software* Unscrambler® (versão 10.3, CAMO Software Inc., Norway). Os indicadores estatísticos (ASTM International, 2012) utilizados para avaliar o desempenho e validação 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*) e R^2 (coeficiente de determinação para o conjunto de calibração e validação). Também foram avaliadas a relação de desempenho do desvio - RPD (*Residual Prediction Deviation*).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os indicadores estatísticos obtidos na calibração e validação externa dos modelos multivariados para predição da composição centesimal do sorgo (proteína, lipídeos, fibras, cinzas e umidade) estão apresentados na Tabela 1. Todos os constituintes analisados para o grão de sorgo apresentaram uma ampla faixa de resultados. Martino et al. (2012) analisaram a composição química de grãos de oito genótipos de sorgo e encontraram variação um pouco menor nas

concentrações de proteínas (entre 8,57 e 11,59 %), de lipídios (entre 1,24 e 3,07 %), de cinzas (entre 1,23 e 1,93 %) e de água (11,25 e 12,85 %). Obteve-se uma boa correlação entre os valores previstos pelo modelo e os valores obtidos pelo método de referência, tanto para as amostras do conjunto de calibração (RMSEC) como para as do conjunto de validação (RMSEP). O coeficiente de determinação (R^2) obtido para o conjunto de amostras da calibração foi acima de 0,9 para todos os constituintes analisados. Portanto, existe uma boa correlação entre os valores previstos pelos modelos multivariados desenvolvidos e os valores obtidos pelos métodos de referência. A eficiência do modelo foi avaliada pela previsão de resultados para o conjunto de validação de amostras de sorgo. A razão RPD também foi utilizada para estimar a capacidade preditiva dos modelos e relacionam o SEP à variância e à faixa utilizada nas amostras de referência (Williams; Sobering, 1993). 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) indicam que se deve utilizar RPD com valores acima de 3 para determinações quantitativas na maioria das aplicações utilizando a tecnologia NIR em produtos agrícolas. O valor de RPD para todas as propriedades analisadas estão acima de 3 (Tabela 1) e foram considerados adequados para a realização das análises quantitativas de composição centesimal do sorgo. Contudo, é importante ressaltar que a precisão de um modelo depende de sua aplicação e do erro de predição (RMSEP).

Tabela 1 – Resultados das análises estatísticas dos conjuntos de calibração e validação para o teor de proteínas, lipídios, fibras, cinzas e umidade em sorgo.

Parâmetros	Proteína (%)	Lipídios (%)	Fibras (%)	Cinzas (%)	Umidade (%)
N cal ^a	345	259	122	195	113
N val ^b	172	130	61	98	57
Faixa (%)	7,81 – 23,5	1,59 – 4,15	7,29 – 17,57	1,21 – 3,84	9,14 – 11,15
VL ^c	4	9	9	10	9
R^2 cal ^d	0,95	0,92	0,93	0,90	0,95
R^2 val	0,95	0,89	0,90	0,85	0,92
RMSEC ^e (%)	0,10	0,13	0,45	0,21	0,06
RMSECV(%)	0,10	0,15	0,53	0,25	0,08
RMSEP (%)	0,10	0,15	0,55	0,31	0,09
RPD _{cal} ^f	4,5	3,2	3,2	3,1	3,6

a- Cal: número de amostras de calibração, b-Val: número de amostras de validação, c- Variáveis latentes, d- R^2 : coeficiente de determinação, e- RMSE: raiz quadrada do erro médio – Cal (RMSEC), validação cruzada (RMSECV) e Val (RMSEP), f- RPD: relação de desempenho do desvio.

O acompanhamento dos modelos deve ser realizado ao longo do tempo pela verificação dos resultados obtidos utilizando amostras de referência de sorgo. Uma boa prática é a adoção de uma carta-controle de resultados, e quando necessário o modelo deve ser atualizado com a inclusão de novas amostras.

4. CONCLUSÕES

O uso da espectroscopia NIR associada a métodos de calibração multivariada possibilitou o desenvolvimento de um método rápido e não destrutivo para análise da composição centesimal do sorgo. Espera-se que a utilização desses modelos nas rotinas de análise torne mais ágil a identificação de genótipos de sorgo mais adequados para a alimentação humana.

Agradecimentos

À Embrapa pelo suporte financeiro (projeto macroprograma 03.15.05.001.00.00), à Fapemig pelo suporte financeiro e ao CNPq pela concessão de bolsa de iniciação científica.

5. REFERÊNCIAS

Ankon. Technology Method 6 – Neutral Detergent Fiber in Feeds – Filter Bag Technique. Macedon, 2006. p. 2. Acesso em: 16.11.2012. Disponível em: http://www.ankom.com/media/documents/NDF_081606_A200.pdf

AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis. 16 th ed. Washington: AOAC, 1995. 2000 p.

AOAS. Official Method Am 5-04, Rapid determination of oil/fat utilizing high temperature solvent extraction, Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, Champaign (2004).

ASTM International. Standard practices for infrared multivariate quantitative analysis. West Conshohocken, 2012. (ASTM. E1655).

Dicko, M. H.; Gruppen, H.; Traoré, A. S.; Voragen, A. G. J.; Berkel, W. J. H. Sorghum grain as human food in Africa: relevance of content of starch and amylase activities. African Journal of Biotechnology, v. 5, n. 5, p. 384- 395, 2006

Haaland, D. M.; Thomas, E. V. Partial least-squares methods for spectral analyses. 1. Relation to other quantitative calibration methods and the extraction of qualitative information. Analytical Chemistry, Washington, v. 60, n. 11, p. 1193-1202, 1988.

Kennard, R. W.; Stone, L. A. Computer aided design of experiments. *Technometrics*, Washington, v. 11, n. 1, p. 137-148, 1969.

Martino, H. S. D.; Tomaz, P. A.; Moraes, E. A.; Conceição, L. S. da; Oliveira, D. da. S.; Queiroz, V. A. V.; Rodrigues, J. A. S.; Pirozi, M. R.; Pinheiro Santana, H. M.; Ribeiro, S. M. R. Chemical characterization and size distribution of sorghum genotypes for human consumption. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v. 71, n. 2, p. 337-344, 2012.

Mutisya, J.; Sun, C.; Rosenquist, S.; Baguma, Y.; Jansson, C. Diurnal oscillation of SBE expression in sorghum endosperm. *Journal of Plant Physiology*, v. 166, p. 428-434, 2009. PAES, M. C. D. Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho. In: Cruz, J. C.; Karam, D.; Monteiro, M. A. R.; Magalhaes, P. C. (Ed.). *A cultura do milho*. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2008. cap. 2, p. 47-61.

Paiva, C. L.; Evangelista, W. P.; Queiroz, V. A. V.; Gloria, M. B. A. Bioactive amines in sorghum: method optimisation and influence of line, tannin and hydric stress. *Food Chemistry*, London, v. 173, p. 224-230, 2014.

Pasquini, C. Near infrared spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, São Paulo, v. 14, n. 2, p. 198-219, 2003.

Queiroz, V. A. V.; Moraes, E. A.; Martino, H. S. D.; Paiva, C. L.; Menezes, C. B. de Potencial do sorgo para uso na alimentação humana. *Informe Agropecuário*, v. 35, n. 278, p. 7-12, 2014.

Queiroz, V. A. V.; Menezes, C. B.; Silva, C. S.; Miguel, R. A. Composição centesimal de cultivares comerciais de sorgo para uso na alimentação humana. In: *SIMPÓSIO DE SEGURANÇA ALIMENTAR*, 5., 2015, Bento Gonçalves. Alimentação e saúde. Bento Gonçalves: SBCTA-RS, 2015.

Yang, L. Y.; Browning, J. D.; Awika, J. M. Sorghum 3-Deoxyanthocyanins Possess Strong Phase II Enzyme Inducer Activity and Cancer Cell Growth Inhibition Properties. *Journal Of Agricultural and Food Chemistry*, v. 57, p.1797–1804, 2009.

Williams, P. C. Implementation of near-Infrared technology. In: WILLIAMS, P. C.; NORRIS, K. H. (Ed.). **Near-infrared technology in agricultural and food industries**. Saint Paul: American Association of Cereal Chemist, 2001.

Williams, P. C.; Sobering, D. C. Comparison of commercial near-Infrared transmittance and reflectance instruments for analysis of whole grains and seeds. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, Sussex, v. 1, n. 1, p. 25-32, 1993.