

Predição do teor de óleo em aquênios de girassol por espectroscopia da reflectância do infravermelho próximo

KAUVA, J.¹; SANCHES, L.M.²; LEITE, R.S.³; FOCHESSATTO, E.¹; CARVALHO, C.P.G. de³; MANDARINO, J.M.G.³

¹Faculdades Integradas do Vale do Iguaçu de União da Vitória; ²Unifil, Centro Universitário Filadelfia, Bolsista PIBIC/CNPq, Londrina, PR, leonardosanches1819@gmail.com; ³Embrapa Soja

Introdução

Atualmente, o Brasil vem incentivando a produção de culturas alternativas, principalmente à soja e ao milho, buscando a diversificação e a sustentabilidade de sua produção agrícola. Neste contexto, a cultura do girassol (*Helianthus annuus*) tem despertado interesse dos produtores rurais, o que pode ser observado nas safras de 2016/2017 e 2017/2018, com aumento da área de aproximadamente 65% (Conab, 2018). Os principais motivos para essa expansão estão relacionados às potencialidades da cultura, como boa adaptação às diferentes condições edafo-climáticas do país e alto teor de óleo (38-47%) nos aquênios (grãos), destinado principalmente às indústrias de alimento.

A determinação do teor de óleo em aquênios de girassol é, geralmente, feita pelo método de extração química em aparelho de Soxhlet, utilizando-se o N-hexano ou éter de petróleo como solvente químico (Instituto Adolfo Lutz, 2005). Apesar de ser um método eficiente, o uso destes solventes é prejudicial ao meio ambiente e à saúde humana. Além disso, o método apresenta elevado custo e longo tempo de análise. Devido a essas características, o método químico se torna não adequado ou inviável, quando há a necessidade de avaliar um grande número de amostras.

Como alternativa, o teor de óleo pode ser predito por espectroscopia da reflectância do infravermelho próximo (NIR), sendo um método rápido, não poluente, preciso e com menor custo e necessidade de mão de obra. Para a utilização da espectrofotometria da NIR, faz-se necessário uma calibração do equipamento para correlacionar a informação espectral da NIR com um conjunto de dados provenientes de um método de referência, preferencialmente o método de extração química. Além da espécie vegetal, condições

ambientais de cultivo podem interferir na absorvância dos espectros (Saaroni et al., 2010).

Grunvald et al. (2014) construíram uma curva para avaliação de teor de óleo de girassol por meio do NIR para as condições brasileiras, mas a Ressonância magnética (RMN) foi utilizada como método de referência para a construção da curva, o que pode gerar estimativas menos precisas. Em outros países, a eficiência do NIR utilizando o método químico, como de referência, para prever teor de óleo de girassol foi relatada por Velasco et al. (2004) e Biskupek-Korell e Moschner (2006). Mas, os estudos foram realizados em países com condições ambientais distintas das encontradas no Brasil. Nesse sentido, estabelecer uma curva de calibração pela análise da espectroscopia da reflectância do infravermelho próximo (NIR) para a avaliação dos teores de óleo de aquênios de girassol, utilizando-se o método químico para construção da curva é de extrema importância.

O presente trabalho tem como objetivo estabelecer e avaliar a eficiência de uma equação de calibração para a predição do teor de óleo de aquênios de girassol através da reflectância da espectroscopia do infravermelho próximo (NIR).

Material e Métodos

Para estabelecer a equação de calibração de avaliação de teor de óleo em genótipos de girassol, foram utilizadas amostras de aquênios de linhagens endogâmicas e de híbridos de girassol semeados em Londrina, PR, na Estação Experimental da Embrapa Soja - safra 2017/2018 e de híbridos semeados em Vilhena, RO, na Estação Experimental da Embrapa Rondônia - segunda safra do verão 2018. Londrina é situada a 23° 21' 23" S de Latitude e 51° 10' 03" W de Longitude, a 585 m de altitude e apresenta solo Nitossolo Vermelho eutrófico e Vilhena é situada a 12° 44' 26" S de Latitude e 60° 08' 45" W de Longitude, a 612 m de altitude e apresenta solo Latossolo Vermelho-Amarelo.

Os aquênios de cada genótipo foram obtidos semeando uma linha de 6,0 m. Três sementes foram dispostas por cova e, aos 10 dias após a emergência (DAE), procedeu-se o desbaste das plantas, deixando apenas uma por cova,

para uma população de 45.000 plantas ha^{-1} . O espaçamento entre linhas de genótipos foi de 0,7 metros.

A adubação de base foi realizada mediante a análise química do solo, buscando atender as necessidades da cultura: 10 kg de N ha^{-1} , 70 kg de P_2O_5 ha^{-1} ; 60 kg de K_2O ha^{-1} e 2 kg de B ha^{-1} . Na adubação de cobertura, 30 dias após a emergência (DAE), utilizou-se 60 kg de N ha^{-1} na forma de uréia mais 1 kg de boro ha^{-1} (borosol). A capina e controle de pragas e doenças foram realizados conforme as recomendações técnicas para a cultura. Após a maturação fisiológica, os aquênios foram colhidos manualmente.

O método de referência utilizado para a determinação do teor de óleo das amostras foi o método químico de arraste com n-hexano em extrator Soxhlet. Para a extração do óleo, os aquênios das amostras foram moídos em micro-moinho de café, marca Philco. Para cada genótipo avaliado, foram pesadas três replicatas de 500 mg cada, identificadas com A, B e C e acondicionadas em sachês preparados com papel filtro qualitativo. Os mesmos foram levados à estufa à 105°C por uma hora, para a secagem. Após esse período, as amostras foram transferidas para um dessecador com sílica para o resfriamento e então realizou-se a pesagem inicial. As amostras foram colocadas no extrator Soxhlet e em seguida realizou-se a lavagem com hexano até o volume de 150 mL no balão de fundo chato. Com as amostras preparadas e o balão com hexano já acoplado, iniciou-se o aquecimento da bateria de Sebelin. Depois de 6 horas sob aquecimento, foi retirado os sachês para a secagem em estufa à 105°C por mais uma hora. Após a secagem, foi retirado os sachês com uma pinça metálica e colocado novamente no dessecador para resfriamento por 15 minutos e em seguida foi realizada a pesagem final. A determinação do teor final dos lipídeos foi realizada pela diferença entre as massas final e inicial.

Dentre os genótipos analisados foram identificados aqueles com resultados mais exatos (desvio padrão menor que 0,5 entre as replicatas de análise) e também que fossem representativos para a faixa de calibração desejada (24,5% a 50,4% de óleo). Estes genótipos, num total de 200, foram utilizados para a calibração do modelo. Os demais genótipos analisados, em número de 34, foram separados para posterior validação do modelo de predição.

Os teores de óleo obtidos pelo método referência foram correlacionados com as informações espectrais da reflectância da espectroscopia do infravermelho próximo (NIR). Para isto, foram coletados os espectros de todos os genótipos, numa faixa de comprimento de onda entre 1100 e 2500 nm. Para a coleta espectral, as amostras de aquênios moídos foram transferidas para recipientes com fundo de quartzo e posicionadas sobre a esfera de integração do equipamento NIR marca Thermo Scientific, modelo Antaris II. Para cada amostra de aproximadamente 20g, foram coletados 32 scans com resolução de 4cm^{-1} , com giro contínuo da amostra para melhor representatividade do espectro e coleta de background a cada leitura. A modelagem foi baseada na regressão por mínimos quadrados parciais (PLS), com pré-tratamento para normalização dos dados espectrais (SNV) e aplicação de derivada primeira de Savitsky-Golay.

Para a determinação da equação de calibração do equipamento NIR para avaliar o teor de óleo do girassol moído, os espectros foram coletados em um comprimento de onda de 4000 à 9000 cm^{-1} . Porém, a região espectral onde teve os maiores picos de absorção foi entre 4101 e 6229 cm^{-1} , conforme Figura 1. A equação de calibração foi determinada por regressão linear, cujos parâmetros foram estimados pelo método de mínimos quadrados parciais e sua precisão verificada pelo coeficiente de correlação (R^2), erro médio de calibração (RMSEC) e pelo erro médio de predição (RMSEP).

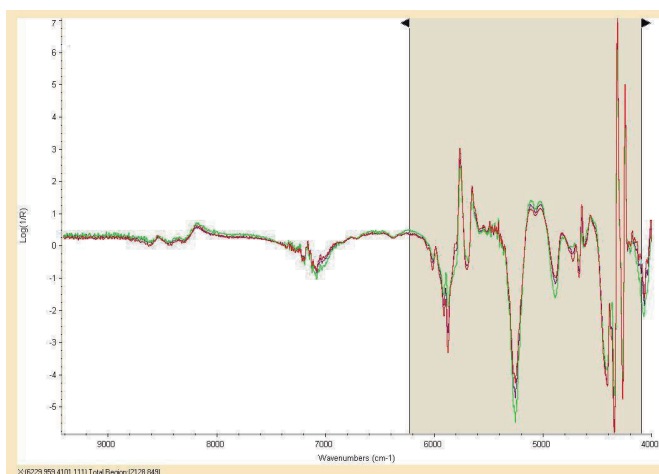


Figura 1. Região espectral estabelecida para a determinação da curva de calibração do NIR, com comprimento de onda entre 4101 a 6229 cm^{-1} .

Além dos parâmetros R^2 , RMSEC e RMSEP, os teores de óleo de 34 genótipos obtidos na equação de calibração estimada foram comparados com os obtidos por meio da extração química.

Resultados e Discussão

Para estabelecer a equação de calibração, foram utilizadas amostras com teor de óleo entre 24,5 e 50,4%, representando a variabilidade genética encontrada em *Helianthus annuus* para teor de óleo (Grunvald et al., 2014). O modelo de predição para o teor de óleo apresentou coeficiente de correlação (R^2) superior a 0,92, com erro médio de calibração (RMSEC) 1,39 e o erro médio de predição (RMSEP) 2,04 (Figura 2). O coeficiente de correlação acima de 0,70, como encontrado no presente estudo, é adequado para a seleção de genótipos de girassol (Grunvald et al., 2014).

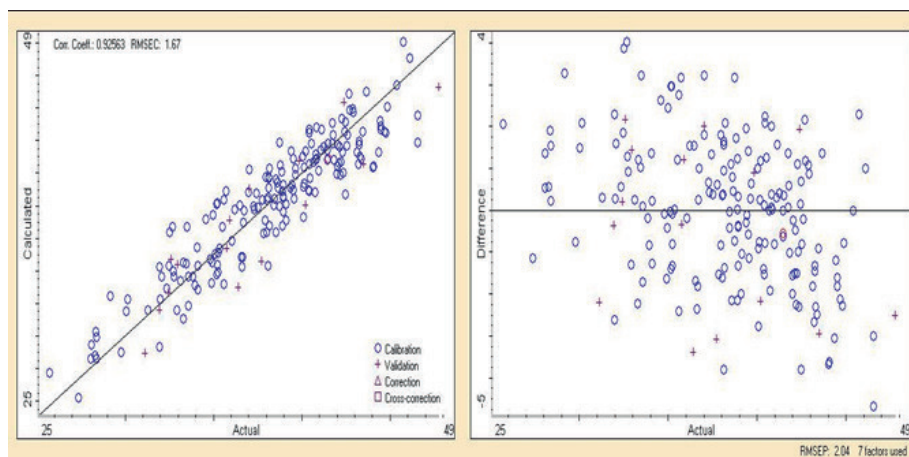


Figura 2. Equação de calibração do NIR para o teor de óleo (%) em aquênios moídos de girassol.

A tabela 2 mostra a comparação dos teores de óleo obtidos por meio da espectroscopia do infravermelho próximo (NIR) e pelo método químico de 34 genótipos com resultados primários satisfatórios (desvio padrão inferior a 1) para a validação e que não foram utilizados na curva de calibração. A diferença entre o valor obtido pelo método primário e pelo NIR, para 19 genótipos, foi inferior a 2% e apenas sete genótipos apresentaram diferença maior que 3%.

Tabela 1. Comparação entre os métodos químico e NIR para análise de teores de óleo em sementes de girassol e diferença entre métodos dados em %.

Amostras	Teor de óleo (%)		Diferença (%)
	Químico	NIR	
Validação 1	38,23	35,91	2,32
Validação 2	35,50	38,06	-2,56
Validação 3	35,79	39,80	-4,01
Validação 4	39,67	39,27	0,40
Validação 5	33,78	38,82	-5,04
Validação 6	41,49	40,63	0,86
Validação 7	37,74	36,47	1,27
Validação 8	35,85	35,22	0,63
Validação 9	33,43	34,90	-1,47
Validação 10	39,83	39,20	0,63
Validação 11	40,02	39,50	0,52
Validação 12	38,90	41,23	-2,33
Validação 13	45,45	42,43	3,02
Validação 14	40,31	39,84	0,47
Validação 15	41,39	41,13	0,26
Validação 16	38,90	42,72	-3,82
Validação 17	45,09	41,42	3,67
Validação 18	38,01	41,43	-3,42
Validação 19	36,83	39,15	-2,32
Validação 20	38,60	40,68	-2,08
Validação 21	42,01	40,74	1,27
Validação 22	42,69	40,42	2,27
Validação 23	31,90	34,14	-2,24
Validação 24	36,34	36,70	-0,36
Validação 25	36,21	38,73	-2,52
Validação 26	40,02	40,18	-0,16
Validação 27	40,33	40,59	-0,26
Validação 28	41,70	42,36	-0,66
Validação 29	39,51	41,39	-1,88
Validação 30	43,40	42,39	1,01

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Validação 31	38,70	41,76	-3,06
Validação 32	41,97	42,50	-0,53
Validação 33	39,85	39,96	-0,11
Validação 34	40,88	42,03	-1,15

Observou-se uma maior taxa de acerto do NIR entre 39 e 42%, devido à presença de muitos genótipos com esta faixa de teor de óleo na calibração, característica da distribuição média do teor de óleo nos materiais de girassol plantados e estudados atualmente. Isto indica a necessidade de inclusão de materiais com teores nestas faixas (abaixo de 35% e acima de 45%), afim de aumentar a robustez e representatividade do modelo de predição.

Conclusão

A espectroscopia por infravermelho próximo foi adequada para avaliar os teores de óleo de aquênios moídos de girassol.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo ao segundo autor do trabalho.

Referências

BISKUPEK-KORELL, B.; MOSCHNER, C. R. Near-Infrared spectroscopy (NIRS) for quality assurance in breeding, cultivation and marketing of high-oleic sunflowers. *Helia*, v. 29, p. 73-80, 2006.

CONAB. **Série histórica das safras**. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/serie-historica-das-safras?start=10>>. Acesso em: 17 abr. 2018.

GRUNVALD, A. K.; CARVALHO, C. G. P. de; LEITE, R. S.; MANDARINO, J. M. G.; ANDRADE, C. A. de B.; SCAPIM, C. A. Predicting the oil contents in sunflower genotype seeds using near-infrared reflectance (NIR) spectroscopy. *Acta Scientiarum*. Agronomy, Maringá, v. 36, n. 2, p. 233-237, 2014.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.

SAARONI, H.; CHUDNOVSKY, A.; BEN-DOR, E. Reflectance spectroscopy is an effective tool for monitoring soot pollution in an urban suburb. **Science of the total environment**, v. 408, p. 1102-1110, 2010.

VELASCO L.; PÉREZ-VICH, B.; FERNÁNDEZ-MARTÍNEZ, J. M. Use of near-infrared reflectance spectroscopy for selecting for high stearic acid concentration in single husked achenes of sunflower. **Crop Science**, v. 44, p. 93-97, 2004.