

Uso do espectrômetro portátil Micro-NIR para avaliar os teores de proteína e extrato etéreo em milho¹

Luca Ribeiro Paranhos², Cícero Beserra de Menezes³, Karla Jorge da Silva⁴, Marcos Paulo Mingote Júlio², Bruno Henrique Mingote Júlio², Elizete dos Reis Lima Carvalho², Alexon Fernandes Campos⁵, Crislene Vieira Santos⁶, Robert Eugene Schaffert³

¹ Trabalho financiado pelo CNPq. ² Estudante do Curso de Agronomia da Universidade Federal de São João del-Rei, bolsista PIBIC do Convênio CNPq/Embrapa. ³ Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo. ⁴ Doutora, Universidade Federal de Viçosa. ⁵ Engenheiro Agrônomo da Universidade Federal de São João del-Rei, bolsista PIBIC do Convênio CNPq/Embrapa. ⁶ Doutoranda, Universidade Federal de Viçosa.

Introdução

O milho (*Zea mays* L.) é um dos alimentos mais presentes na dieta humana e animal e possui grande relevância econômica e social. A elevada importância socioeconômica do milho pode ser evidenciada pela expansão da área de cultivo e uso extensivo em diversos produtos para rações e alimentos, bem como para a produção de biocombustíveis e matéria-prima para diferentes indústrias.

De acordo com a estimativa do décimo levantamento da safra 2020/2021 (Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos, 2021), no ranking mundial de produção de milho, o Brasil ocupa o terceiro lugar, com 109,0 milhões de toneladas, precedido apenas pelos Estados Unidos e pela China, com produção de 360,3 e 260,7 milhões de toneladas, respectivamente. Referindo-se ao consumo, o Brasil é o quarto colocado no mundo, com 70,0 milhões de toneladas consumidas anualmente.

A composição química do milho é predominante de carboidratos (amido, 61%-78%), proteínas (6%-12%), lipídeos (óleo, 3%-5%), fibra (2%-4%) e 1%-4% de minerais, o que o torna um alimento energético (Paes, 2006). Para um aproveitamento adequado do grão, é necessário conhecer seus componentes e sua composição química.

A espectroscopia NIR, com a retaguarda de excelentes métodos analíticos tradicionais e, por conseguinte, com modelos robustos, é capaz de substituir, com precisão e rapidez as análises químicas de rotina nas produções agropecuárias, bem como nas indústrias de alimentos, fármacos, combustíveis, metais, entre outras, viabilizando a avaliação de vários constituintes e características, em muitas 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.

O objetivo do trabalho foi o desenvolvimento de um método rápido para determinação do teor de proteína e de óleo (extrato etéreo) em amostras de grãos de milho moído utilizando o espectrômetro portátil Micro-NIR.

Material e Métodos

As amostras de milho (grãos) foram coletadas de diferentes genótipos comerciais selecionados em ensaios conduzidos em Sete Lagoas-MG, nos anos de 2017 e 2018.

Foram utilizadas amostras de 100 genótipos (comerciais e experimentais) de grãos de milho para a realização das análises do teor de proteína bruta. Para a análise do extrato etéreo foram utilizadas amostras de 56 genótipos (comerciais e experimentais). 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 (Association of Official Analytical Chemists, 2002). O extrato etéreo, que corresponde ao teor de óleo, foi determinado em extrator pressurizado ANKOM (American Oil Chemists' Society, 2005).

As amostras (100 gramas de grãos, com peso médio de $105,0 \pm 0,5$ g) foram secas em estufa (65°C) até peso constante. Em seguida foram trituradas na granulometria de 1 mm. Os espectros das amostras moídas foram obtidos em equipamento Micro-NIR (Viavi Solution, Milpitas, CA, United States). O equipamento foi calibrado utilizando o padrão Spectralon®. Os espectros das amostras de grãos de milho foram obtidos em triplicata, na região de 950nm a 1650nm (10.500 a 6.000 cm^{-1}).

Os teores de proteína bruta e extrato etéreo obtidos pelos métodos de referência 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 10.4, 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, para o conjunto de calibração e validação, foram: raiz quadrada do erro médio de calibração - RMSEC (*Root Mean Squared Error of Calibration*), raiz quadrada do erro médio de predição - RMSEP (*Root Mean Squared Error of Prediction*), R^2 (coeficiente de determinação) (NIRS Consortium, 2008).

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos para o teor de proteína variaram entre 8,25% e 9,77%, com valores médios de 9,10%, 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 3,45% e 4,50%, com valores médios de 3,83%. 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 indicadores 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 e o menor erro associado, sendo que o melhor resultado foi obtido com o uso de seis variáveis latentes para o parâmetro proteína e oito 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.

Indicadores do modelo	Proteína		Extrato etéreo	
	Calibração	Previsão	Calibração	Previsão
Número de amostras	70	30	40	16
Faixa espectral (nm)	950-1650	950-1650	950-1650	950-1650
Valor máximo (%)	9,77	9,59	4,50	4,48
Valor mínimo (%)	8,25	8,54	3,45	3,55
Variáveis Latentes	6	6	8	8
R ²	0,92	0,86	0,95	0,86
RMSEC (%)	0,35	-	0,06	-
RMSEP (%)	-	0,42	-	0,12

RMSEC: raiz quadrada do erro médio de calibração, RMSEP: raiz quadrada do erro médio de previsão.

O coeficiente de determinação (R²) obtido para o conjunto de amostras da calibração foi 0,92, e 0,95 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 RMSEP é referido como uma estimativa da veracidade, entretanto, este é um parâmetro global que incorpora tanto erros sistemáticos quanto aleatórios. O RMSEP encontrado foi de 0,42% para proteína e 0,12% para extrato etéreo. O valor encontrado para RMSEP está muito próximo do valor encontrado para RMSEC. Esses valores expressam o erro médio do modelo, ou seja, a proximidade entre o valor calculado pelo modelo e o valor obtido pelo método de referência. No conjunto de amostras de validação externa, os resultados previstos pelo modelo foram avaliados em um teste *t* de Student pareado e não foi observada diferença significativa entre os valores obtidos pelo método de referência e os valores preditos pelo modelo NIR ($p < 0,05$). Outras amostras devem ser incorporadas aos modelos para ampliar a faixa de calibração e ampliar a robustez do modelo.

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 utilizando um espectrômetro portátil. Os resultados indicam que o método desenvolvido foi capaz de fornecer resultados confiáveis e que permitirão no futuro a sua implantação em rotina laboratorial.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq pela bolsa PIBIC e à pesquisadora Casiane Salete Tibola pelo empréstimo do equipamento Micro-NIR.

Referências

ACOMPANHAMENTO da Safra Brasileira [de] Grãos: milho: safra 2020/21: décimo levantamento. Brasília, DF: Conab, 2021. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/graos>>. Acesso em: 10 ago. 2021.



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

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. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf803688t>.

NIRS CONSORTIUM. **White paper, near infrared spectroscopy for forage and feed testing**. Hillsboro, 2008. Disponível em: <http://nirsconsortium.org/Resources/Documents/NIRS%20white%20paperMar09.pdf>. Acesso em: 5 jul. 2021.

PAES, M. C. D. **Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006. 6 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 75).

Literatura Recomendada

PASQUINI, C. Near infrared spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 2, p. 198-219, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-50532003000200006>.

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. DOI: <https://doi.org/10.1255%2Fjnirs.3>.