UNIVERSIDADE ESTADUAL VALE DO ACARAÚ

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

Avaliação da instrumentação NIR para previsão do teor de fibra em detergente ácido (FDA) do grão de sorgo

VICTOR PINHEIRO GIFFONI

SOBRAL – CE
FEVEREIRO – 2022

VICTOR PINHEIRO GIFFONI

Avaliação da instrumentação NIR para previsão do teor de fibra em detergente ácido (FDA) do grão de sorgo

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Zootecnia, da Universidade Estadual Vale do Acaraú, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Produção de Ruminantes
Linha de Pesquisa: Nutrição de Ruminantes

ORIENTADOR:

PROF. DR. MARCO AURÉLIO DELMONDES BOMFIM

COORIENTADOR:

Dra. Sueli Freitas dos Santos

SOBRAL – CE

FEVEREIRO – 2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor

através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UVA.

A ficha de identificação é elaborada pelo próprio autor

Maiores informações em:

http://www.uvanet.br/biblioteca/downloads/Procedimentos_para_ficha_catalografica.pdf

VICTOR PINHEIRO GIFFONI

Avaliação da instrumentação NIR para previsão do teor de fibra em detergente ácido (FDA) do grão de sorgo

Esta Dissertação foi julgada adequada como requisito parcial para obtenção do título de "Mestre em Zootecnia" e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual Vale do Acaraú

Sobral, 28 de fevereiro de 2022.

_____

Profa. Dr.ª Cláudia Goulart de Abreu

Coordenadora do Curso

_____

Dra. Sueli Freitas dos Santos

Doutora em Zootecnia

_____

Lucas Fonseca Menezes Oliveira

Embrapa Caprinos e Ovinos

_____

Dr. Marco Aurélio Delmondes Bomfim

Embrapa Caprinos e Ovinos Pesquisador

A minha esposa, Camila Giffoni e as minhas filhas Maria Alice e Maria Clara por todo o apoio a meus pais Maria de Fatima e Luiz Carlos pela minha educação e apoio de sempre. *A vocês, toda minha gratidão.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pelo dom da vida, sempre serei grato por todos os presentes que senhor me deu.

Ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual Vale do Acaraú e Embrapa Caprinos e Ovinos por disponibilizar a estrutura necessária e os profissionais que contribuíram para formação profissional.

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, através do Centro Nacional de Pesquisas de Caprinos e Ovinos (CNPC), pelo apoio financeiro para execução desta pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão da bolsa.

A minha esposa e amiga, Camila Giffoni, por todo o amor e carinho que sem ela não teria conseguido essa conquista.

As minhas filhas Maria Alice e Maria Clara e meu filho que ainda está a caminho por serem a motivação de todos os dias e o amor incondicional.

Aos meus pais, Maria de Fatima e Luiz Carlos, pelo carinho e amor incondicionais, por serem meu porto seguro e sempre me apoiar em minhas decisões.

Aos meus irmãos Gustavo e João Luis, pelo incentivo durante a jornada acadêmica e no decorrer desta caminhada.

Ao meu orientador, Dr. Marco Aurélio Delmondes Bomfim pela orientação, confiança em mim depositada.

A minha coorientador, Dr. Sueli Freitas dos Santos pela orientação, confiança em mim depositada e toda ajuda primordial.

A coordenadora do Programa de Pós-graduação em Zootecnia UVA: professora Claudia Goular, pela paciência.

Aos funcionários da Coordenação da Pós-graduação em Zootecnia UVA, em especial a Joyce Sampaio, pela amizade, disponibilidade e ajuda nos momentos que precisei.

Ao laboratorista Márcio Ponciano, pelos conhecimentos compartilhados, por acreditar e torcer por mim; e demais funcionários, pela colaboração nas atividades em laboratório.

A todos os professores do Pós-graduação em Zootecnia UVA, pelos ensinamentos e conhecimentos passados.

A todos que contribuíram de forma direta ou indireta para realização deste trabalho.

Minha sincera gratidão!

“Nós somos o que fazemos repetidamente, a excelência não é um feito, e sim, um hábito”.

Aristóteles

RESUMO GERAL

A utilização de alimentos alternativos pode ser uma opção viável para reduzir o custo da dieta que é muito influenciado pela utilização de concentrado na produção animal, que é necessário para aumentar a produção e não prejudicar o desempenho dos animais na época seca, que há pouca disponibilidade de forragem para os animais, assim o sorgo é uma alternativa pois é uma cultura adaptada as condições edafoclimáticas de regiões semiáridas, capaz de fornecer alimento de boa qualidade nos períodos mais secos do ano. A análise da composição químico física dos alimentos pelo método tradicional possui algumas desvantagens como o tempo para obter o resultado, necessidade de preparar a amostra e utilização de reagentes que deixam resíduos que podem ir para meio ambiente. Portanto a espectroscopia de reflectância no infravermelho próximo (NIRS) é uma alternativa para as análises tradicionais pela sua rapidez e confiabilidade no resultado das análises. Objetivou-se com este estudo desenvolver e validar modelos de predição da composição bromatológica do grão de sorgo por meio de espectroscopia NIRS, para fibra em detergente ácido (FDA). O sorgo em grão foi adquirido pela parceria com a Fábrica de Rações da Integral Agroindustria LTDA situada em Fortaleza – CE. Para aquisição dos espectros utilizaram-se os equipamentos NIR Perten DA 7250 e NIR Foss 5000. Inicialmente foi realizado a coleta dos espectros dos em equipamento NIR Perten DA 7250 como amostras recebidas, em seguida foram pré secos e moídos e novamente coletados os espectros no espectrômetro NIR Perten DA 7250 e NIR Foss 5000, utilizando o auxílio do *software The Unscrambler*® *v.1*0.5.1 (Camo Inc) foi selecionado um grupo de amostras para o banco de calibração. Os valores de referência para FDA foram obtidos por meio de metodologias de análise tradicional. Para análise exploratória dos dados foi usada a análise de componentes principais (PCA), que permitiu selecionar amostras do banco de dados para desenvolvimento dos modelos de calibração. A técnica de calibração multivariada utilizada foi a regressão por meio de quadrados mínimos (PLS). Para avaliar o desempenho dos modelos foi usado os erros médios de calibração (RMSEC) e validação (RMSECV), coeficiente de determinação (R2) e da relação de desempenho de desvio dos modelos (RPD).

Palavras-chave: Alimento, Análises, NIR.

GENERAL ABSTRACT

The use of alternative foods can be a viable option to reduce the cost of the diet, which is greatly influenced by the use of concentrate in animal production, which is necessary to increase production and not harm the performance of animals in the dry season, when there is little availability. of forage for the animals, so sorghum is an alternative because it is a culture adapted to the edaphoclimatic conditions of semi-arid regions, capable of providing good quality food in the driest periods of the year. The analysis of the physical chemical composition of foods by the traditional method has some disadvantages such as the time to obtain the result, the need to prepare the sample and the use of reagents that leave residues that can go into the environment. Therefore, near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) is an alternative to traditional analyzes due to its speed and reliability in the analysis results. The objective of this study was to develop and validate prediction models of the chemical composition of sorghum grain by means of NIRS spectroscopy, for acid detergent fiber (ADF). Grain sorghum was acquired through a partnership with the Animal Feed Factory of Integral Agroindustria LTDA located in Fortaleza – CE. To acquire the spectra, the NIR Perten DA 7250 and NIR Foss 5000 equipment were used. Initially, the spectra of the NIR Perten DA 7250 equipment were collected as samples received, then they were pre-dried and ground and the spectra were collected again in the spectrometer NIR Perten DA 7250 and NIR Foss 5000, using the software The Unscrambler® v.10.5.1 (Camo Inc) a group of samples was selected for the calibration bank. Reference values for FDA were obtained using traditional analysis methodologies. Principal components analysis (PCA) was used for exploratory data analysis, which allowed the selection of samples from the database for the development of calibration models. The multivariate calibration technique used was regression using least squares (PLS). To evaluate the performance of the models, the mean errors of calibration (RMSEC) and validation (RMSECV), coefficient of determination (R2) and the relationship of performance deviation of the models (RPD).

Keywords: food, analysis, nir

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I

Figura 1 Área cultivada de sorgo granífero no Brasil.....19

Figura 2 – Composição bromatológica do grão de sorgo.....20

Figura 3 – Espectro eletromagnético.....22

Capítulo II

Figura 4 – Espectros de 150 amostras de grão de sorgo recebidas e coletadas os espectros em equipamento NIR Perten A) Espectros brutos e (B) espectros utilizando o tratamento com MSC.....36

Figura 5 – Espectros de 150 amostras de grão de sorgo pré secas e moídas e coletadas os espectros em equipamento NIR Perten A) Espectros brutos e (B) espectros utilizando o tratamento com MSC.....36

Figura 6 – Espectros de 150 amostras de grão de sorgo pré secas e moídas e coletadas os espectros em equipamento NIR FOSS A) Espectros brutos e (B) espectros utilizando o tratamento com MSC.....37

Figura 7 – Gráficos de PCA do sorgo em grão a): Perten recebido PC-1 (82%) versus PC-2 (12%), b) Perten pré-secas e moídas PC-1 (95%) versus PC-2 (2%) e (c): FOSS PC – 1 (94%) versus (3%).....39

Figura 8 – – Gráfico de PCA das amostras de grão de sorgo coletadas em diferentes estados: Maranhão e Piauí.....39

Figura 9 – Valores de Relação de desempenho de Desvio (RPD), nos modelos NIR Perten das amostras recebidas, modelos NIR Perten das amostras pré-secas e moídas e modelo do equipamento NIR FOSS das amostras pré-secas e moídas.....43

LISTA DE TABELAS

Capítulo I

Tabela 1 – Etapas para obter os espectros nos equipamentos NIR Perten e Foss.....34

Capitulo II

Tabela 2 – Estatística descritiva dos parâmetros avaliados em amostras do grão de sorgo.....40

Tabela 3 – Parâmetros estatísticos dos modelos NIRS desenvolvidos para predição da composição do sorgo em grão.....42

Tabela 4 – Categorias de classes de Desvio Residual de Previsão.....42

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

CV – Coeficiente de Variação

DP – Desvio Padrão

FDA – Fibra Insolúvel em Detergente Ácido

FB - Fibra bruta

FPLS - número de fatores da PLS

NIRS – Espectroscopia de Reflectância no Infravermelho Próximo (*Near Infrared Reflectance Spectroscopy*)

MSC – Correção Multiplicativa de Sinal (*Multiple Scatter Correction*)

PCA – Análise de Componentes Principais (*Principal Component Analysis*)

PC – Componente Principal (*Principal Component*)

PLS – Regressão por Mínimos de Quadrados (*Partial Least Squares*)

R2 – Coeficiente de Determinação

Rcal/Rval - relação de desvio padrão

RMSEC – Erro Médio de Calibração (*root mean square error of calibration*) RMSECV – Erro médio de Validação (*root mean square error of cross validation*)

RPD – Relação de Desempenho de Desvio (*Ratio of Performance to Deviation*)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....15

2. OBJETIVO.....16

2.1 GERAL.....16

2.2 ESPECIFICO.....16

CAPÍTULO I – REFERENCIAL TEÓRICO.....17

1. INTRODUÇÃO.....17

2. SORGO.....18

3. FIBRA EM DETERGENTE ÁCIDO (FDA).....20

4. ESPECTROSCOPIA DE REFLECTÂNCIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (NIRS).....21

4.1 Historico.....21

4.2 Princípios da técnica 21

4.3 Instrumentos..... 23

4.4 Quimiometria.....23

4.5 Calibração 24

4.6 Validação 25

RERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....,.....26

CAPÍTULO II – PREVISÃO DA COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DA SORGO EM GRÃO ATRAVÉS DA ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO NIRS. 30

RESUMO.....30

ABSTRACT.....31

1. INTRODUÇÃO.....32

2. MATERIAL E MÉTODOS.....33

2.1. Coleta das amostras e localização.....33

2.2. Coleta dos espectros, seleção das amostras e processamento das amostras.....33

2.3. Análises bromatólogicas de referência.....35

2.4 Análises quimiométricas dos dados.....35

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....36

3.1. Análise exploratória e seleção das amostras.....36

3.2 Análise dos dados de referência.....40

3.3 Modelos de calibração, validação cruzada.....41

4. CONCLUSÃO.....44

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....45
CONCLUSÕES GERAIS.....48
ANEXOS.....49

1. INTRODUÇÃO GERAL

No nordeste brasileiro o período chuvoso muitas vezes tem espaçamentos prolongados de intervalo entre as chuvas, que podem inviabilizar a produção de milho na região, pois o clima predominante na região é o semiárido que apresenta duas estações, a estação chuvosa e a estação seca. Na estação da chuva o pasto é abundante, mas na estação da seca a disponibilidade das pastagens reduz significativamente na quantidade e na qualidade. Deste modo a utilização de alimentos concentrados é necessária para não reduzir o desempenho dos animais e aumentar a sua produtividade. Devido aos custos elevados dos concentrados e o milho ser principal alimento energético utilizado na alimentação animal por possuir altos níveis de carboidratos solúveis e alta digestibilidade (SCHALCH et al., 2001) a utilização de outras fontes alimentares que substituam o milho em grão, é importante para reduzir o custo de produção, dentre estas, destaca-se o grão de sorgo.

O grão de sorgo (*Sorghum bicolor*) tem sido empregado como fonte energética em formulações de dietas para ruminantes e pode substituir principalmente o milho em regiões semiáridas, pois possui boa produção, resistência a estresse hídrico e baixa exigência em fertilidade do solo (MACHADO et al., 2012), e demostra uma melhor eficiência na utilização de água que a maioria das gramíneas tropicais, necessitando em média de 250 a 400g de água para produzir 1g de matéria seca (TABOSA *et al.*, 1999).

A espetroscopia de infravermelho próximo (NIR) é uma tecnologia que auxilia na identificação da composição química do alimento através do estudo da interação da radiação eletromagnética com partículas orgânicas, baseada na espectroscopia vibracional (Workman e Weywer, 2007). A tecnologia NIRS é uma ferramenta muito eficaz que serve como uma alternativa aos métodos tradicionais de analises de alimentos, pois é possível obter o resultado com muita rapidez e as amostras necessitam de pouca preparação ou até nenhuma preparação ao contrário do método convencional.

Portanto objetivou-se avaliar adequação da tecnologia NIRS comparando diferentes espectrômetros para a previsão de fibra em detergente ácido (FDA) em grão de sorgo.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Avaliar adequação da tecnologia NIRS comparando diferentes espectrômetros para a previsão de fibra em detergente ácido (FDA) em grão de sorgo.

2.2. Específico

- Comparar a eficiência dos equipamentos de espectroscopia NIR Perten® DA 7250 e NIR Foss © 5000, para previsão de fibra em detergente ácido (FDA) do grão de sorgo.
- Qualificar os modelos de previsão do teor de Fibra em detergente Ácido (FDA) de grão de sorgo, utilizando a espectroscopia de reflectância no infravermelho próximo (NIRS).

CAPÍTULO I
REFERENCIAL TEÓRICO

1. Introdução

É primordial o conhecimento da composição química dos alimentos, como o potencial de aproveitamento pelos animais e a disponibilidade dos nutrientes (Goes *et al*, 2008). Visto que alguns nutrientes podem influenciar na digestibilidade do alimento como a fibra em detergente ácido (FDA), que tem uma correlação negativa com a digestibilade (GEORGE et al., 1992). Deste modo é necessário para o aumento da produção animal o nutricionista possuir além dos dados zootécnicos dos animais como peso, categoria e produção também os dados dos alimentos utilizados na fazenda, pois as tabelas de alimentos possuem uma variação na composição bromatológica relacionada a alguns fatores como o clima da região, solo, conservação do alimento, idade fisiológica e cultivar.

Para se obter a composição química dos alimentos é realizado as análises bromatológicas, que normalmente é aplicado técnicas por meio de metodologias de análise tradicional, portanto a espectroscopia de reflectância no infravermelho próximo (NIRS) é uma opção viável aos métodos convencionais. Visto que esse método não consome as amostras e possibilita adquirir as informações químicas e físicas, não necessita de preparação ou somente uma pequena preparação da amostra, não há necessidade de utilização de reagente para realizar as análises não gerando resíduos para o meio ambiente e possui uma grande agilidade para obter o resultado das análises.

Para se obter a composição química dos alimentos a espectroscopia de reflectância no infravermelho próximo (NIRS) vem sendo aplicada, mas para isso esta tecnologia necessita de detectar padrões de absorção e vibrações químicas na região do infravermelho próximo, que são associadas à composição química do alimento (Pasquini, 2003; Shenk et al 2008). Para a utilização precisa do NIRS são necessários alguns processos para o desenvolvimento do modelo que são a calibração, validação, analises numéricas e pré-tratamentos matemáticos.

Objetivou-se com essa revisão apresentar o potencial do grão de sorgo e a aplicação da tecnologia espectroscopia de reflectância no infravermelho próximo (NIRS) na analises de alimentos.

2. Sorgo

O sorgo (Sorghum bicolor) é originário da África, sendo o 5º cereal mais produzido no mundo, ultrapassado somente pelas culturas de arroz, trigo, cevada e milho e atualmente o Brasil o 9º maior produtor mundial da cultura. No Brasil a expansão do sorgo se iniciou no Rio Grande do Sul, São Paulo, Bahia e Paraná na década de 70 (ROSA, 2012). A área cultivada de sorgo granífero em todo Brasil na safra 2020/2021 foi de aproximadamente 864 mil hectares (figura 1), com produção de 2,08 milhões de toneladas de grãos, sendo que a produtividade média nacional está em torno de 2,41 t/ha. A região Nordeste responde por mais de 14% da produção nacional, centro sul por 78% e o estado de Goiás é o principal produtor com 44% da produção nacional seguido por Minas Gerais (23%) (CONAB, 2021).

A produção de sorgo é considerada como uma da mais viáveis para regiões semiáridas e áridas no mundo, visto que se trata de uma planta de características xerófilas, típica de clima quente, com alta tolerância a estresses hídricos e com baixa exigência em fertilidade dos solos (SANTOS; GRANGEIRO, 2013).

É necessário realizar uma avaliação de qual cultivar de sorgo granífero que mais se adaptada ao sistema de produção e às condições ambientais da região de cultivo, além do manejo adequado da cultura, pois são fatores importantes para a maximização do rendimento de grãos. Exemplo de algumas variedades de sorgo granifero são IPA 1011 e os híbridos comerciais AS4615 (precoce, porte médio e grãos vermelhos sem tanino), AS4610 (precoce, porte médio e grãos castanhos sem tanino).

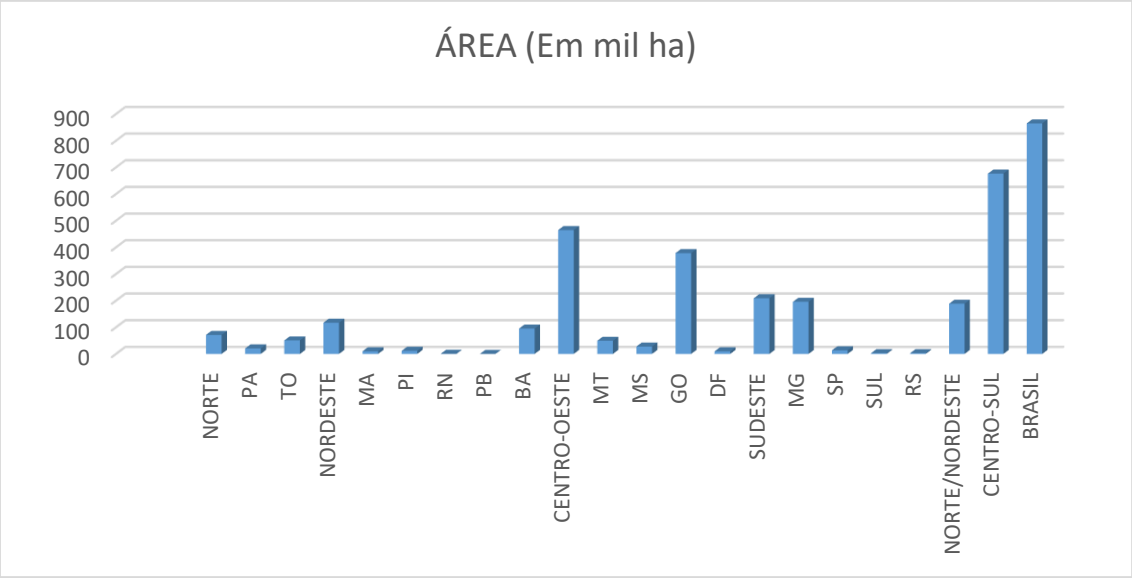


Figura 1 – Área cultivada de sorgo granífero no Brasil
Fonte: Conab

O sorgo em grão tem sido utilizado em dietas para ruminantes como fonte energética e pode substituir principalmente o milho nas regiões com baixa precipitação, visto que apresenta uma eficiência de uso de água sendo mais resistente a seca (TABOSA et al., 1999).

Para a utilização do grão de sorgo na alimentação animal é necessário realizar moagem que é um tratamento físico com objetivo de reduzir o tamanho de partícula sem que que haja alterações na composição bromatológica (MCKINNEY, 2006). A realização da moagem é aplicada aos grãos para reduzir o tamanho de partículas que influencia na degradação ruminal e digestão intestinal (VAN SOEST, 1994). Na figura 2 segue a composição bromatológica do grão de sorgo segundo (Valadares Filho et al., 2018).

Figura 2 – Composição bromatológica do grão de sorgo

NUTRIENTE	MÉDIA	N	S	NUTRIENTE	MÉDIA	N	S
AMIDO	64.51	6	2.328	FDA	5.86	24	1.224
FDN	14.01	16	1.428	FDNcp	10.58	5	2.003
FDNi	1.75	3	0.616	CNF	73.44	5	2.576
LIGNINA	1.88	8	0.763	Ca	0.07	24	0.232
MO	97.78	16	1.181	PB	9.33	75	0.932
MS	88.01	75	1.179	MM	1.88	43	0.716

MS- Matéria seca, MO – Matéria Orgânica, FDN – Fibra em detergente Neutro, FDA – fibra em detergente ácido, PB – Proteína Bruta, CNF – carboidratos não fibrosos, MM – Matéria Mineral, FDNi - Fibra em detergente neutro indigestível, FDNcp - Fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína, Ca – Cálcio.

Fonte: cqbal 4.0

3. Fibra em detergente ácido (FDA)

A aplicação da análise da fibra bruta foi bem propagada, o conceito de fibra bruta (FB) foi estabelecido pelo método de Weende, sendo aplicada como padrão, mas sua eficiência para determinar a fibra total é discutível por causa dos erros analíticos do processo, sendo assim, Van Soest (1963) propôs uma análise utilizando um detergente ácido específico capaz de solubilizar o conteúdo celular e também a hemicelulose, isolando um resíduo composto basicamente por determinadas celuloses, lignina, nitrogênio insolúvel em detergente ácido, cinzas insolúveis em ácido e sílica. A fibra em detergente ácido é a porção menos digerível da parede celular. É constituída quase na sua totalidade de lignina e celulose. (VAN SOEST, 1994).

O FDA é composto na maioria de celulose. A celulose é o polissacarídeo mais abundante da natureza e o principal constituinte da maioria das paredes celulares, exceto de algumas sementes (McDougall et al., 1993). É um polímero linear com ligações β - 1,4 entre as unidades de D-glicose. A celulose é insolúvel nos solventes alcalinos usados para extrair os polissacarídeos não-celulósicos; entretanto pode ser dissolvida em ácido sulfúrico ou fosfórico concentrado.

Formada por compostos fenólicos a lignina é um polímero complexo de estrutura não totalmente conhecida, não sendo um carboidrato. Sua estrutura, quantidade e composição, variam de acordo com os fatores ambientais, tecido, a origem botânica, órgãos e a idade da planta (Akin, 1989). A fibra em detergente ácido (FDA) é a porção

menos digerível da parede celular, portando tem correlação negativa com a digestibilidade do alimento (GEORGE et al., 1992).

4. ESPECTROSCOPIA DE REFLECTÂNCIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (NIRS)

4.1 Histórico

A sigla NIRS tem origem do inglês e tem o significado de Near infrared reflectance spectroscopy. A aplicação dessa tecnologia baseia-se na correlação da radiação infravermelho com a matéria juntamente com a quimiometria.

William Herschel em 1800 avaliou a região do espectro, utilizando o bulbo de um termômetro em cada uma das regiões coloridas do espectro criado pela luz solar atravessando o prisma, deste modo ele observou que a temperatura se elevava pela incidência da luz solar, ao experimentar a região após o vermelho a região não iluminada, observou que a temperatura subia ainda mais rapidamente, essa região foi denominada, de infravermelho próximo (Cienfugos, 2003).

Poucos estudos avançaram após a descoberta em 1800, até que Karl Norris em 1960, utilizou para determinar a umidade em produtos agrícolas. Com o avançar das pesquisas proporcionou a modernização dos equipamentos NIRS, tornando cada vez mais fácil a sua utilização, mais acessíveis financeiramente e cada vez mais precisos.

4.2 Princípios da técnica

A espectroscopia é aplicada na física e química para indicar os métodos analíticos, que estudam a interação de radiações electromagnéticas com a matéria, é possível alcançar vários dados importantes sobre a composição bromatológica do alimento pela interação entre as moléculas, por meio da análise do espectro (Souza *et al*, 2012).

Dependendo do tipo das ligações moleculares pode influenciar na absorção da luz que, por sua vez, são definidas pelas conexões entre os átomos dentro das moléculas. No entanto essas ligações entre os átomos vibram constantemente e não são conexões estáticas, portanto provocando compressão e estiramento das moléculas. A radiação eletromagnética é propagação da energia na forma de ondas, contendo um componente

elétrico gerado pela aceleração de uma carga elétrica em um campo magnético (Pasquini, 2003).

A região do infravermelho localiza-se entre as micro-ondas e a região visível, como apresentada na figura 2, A região do infravermelho é dividida em três regiões o infravermelho próximo, médio e distante. A região de infravermelho próximo (NIR), corresponde o intervalo entre 750 – 2500 nm do espectro (Workman e Weywer, 2007).

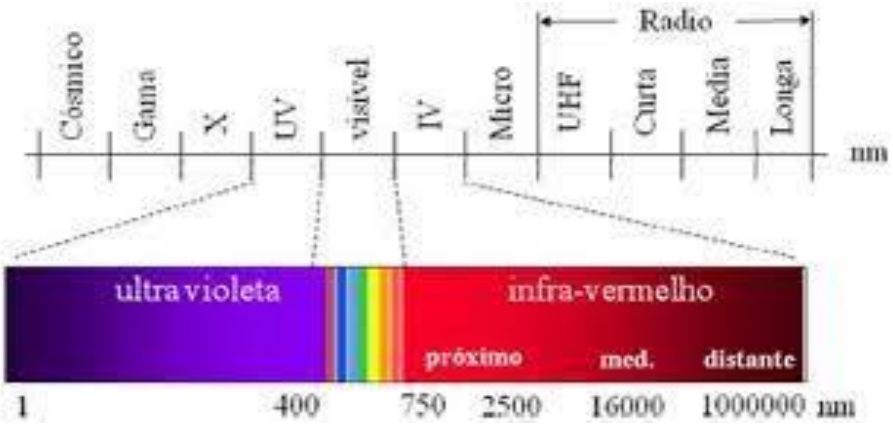


Figura 3 - Espectro eletromagnético
Fonte: Google Imagens

A espectroscopia no NIR apresenta uma grande variação de aplicações de acordo com (Gonzaga, 2006). Podendo essa tecnologia ser utilizada na área ambiental, médica e agrícola como na utilização para previsão da composição bromatológica de vagens de Algaroba e Palma Forrageira (Fernandes, 2015). Quando comparada aos métodos de análises convencionais ela possui várias vantagens como não gerar resíduo em razão que não necessita de preparação das amostras ou somente uma pequena preparação e proporciona o resultado com muita agilidade.

As moléculas orgânicas possuem padrões de absorção específicos na região do infravermelho próximo, portanto é possível prever a composição química do material estudado e extrair informações quantitativas, quimicamente significativas, via uso de técnicas estatísticas multivariadas (Camolesi, 2009).

4.3 Instrumentos

Os equipamentos apresentam tecnologias distintas, nas informações coletadas, e nos modelos desenvolvidos. O espectrômetro NIR Perten DA 7250 possui a tecnologia de matriz de diodo, e a luz das lâmpadas é aplicada diretamente sobre uma célula de fluxo e a luz que passa através da célula é dispersa pela rede de difração antes de chegar na amostra. Possui uma faixa de leitura espectral entre 950-1650 nanômetros (nm) com precisão de 5 nm e tempo médio de leitura de 13 segundos. O equipamento NIR FOSS 5000 utiliza uma tecnologia pré-dispersiva a base de um monocromador que dispersa a luz antes de atingir a amostra. Possui uma faixa de leitura espectral entre 1100-2500 nm com intervalo de leitura de 2 nm, com tempo médio de leitura entre 40-45 segundos.

O espectrômetro NIR FOSS requer controle de ambiente, tendo que manter a temperatura e umidade em 22ºC e 50% respectivamente, se faz necessário uma vez que o equipamento é sensível a esses parâmetros. Estas exigências de controle de ambiente do NIR FOSS fazem com que o instrumento não seja portátil, já o espectrômetro NIR Perten não necessita de controle de ambiente sendo possível transportar para diversos locais.

Os espectrômetros de infravermelho possuem componentes básicos que são: fonte, seletor de comprimento de onda, recipiente de amostra, detector, transdutor e processador (Valderrama, 2005). O equipamento NIR possui alta precisão que efetua análises em qualquer molécula que apresente, principalmente, ligações C-H, OH, N-H, S-H e C=O (Pasquini, 2003).

4.4 Quimiometria

Quimiometria é a área mais recente da química, é a ciência que utiliza técnicas estatísticas para obter informações importantes com base em dados analíticos, como os dados espectrais NIR, portanto auxiliando a compreensão dos mesmos com destaque nos sistemas multivariados que possibilita mensurar muitas variáveis ao mesmo tempo (Pasquini, 2003; Nunes, 2008).

A definição de quimiometria foi apresentado na década de 1970, mas só ganhou destaque em meados dos anos de 1980 com os avanços da tecnologia, como o desenvolvimento de software (Oliveira, 2008).

No desenvolvimento de modelos NIRS a quimiometria pode ser utilizada, porém envolve a utilização de técnicas de estatística multivariada, álgebra matricial, analise numérica e pré-tratamentos matemáticos, na seleção de amostras para o conjunto de calibração e conjunto de validação e para identificação de amostras anômalas (Almeida, 2009), com as técnicas de análise de regressão por mínimo quadrados parciais (PLS – *Partial Least Squares*) e componentes principais (PCA - *Principal Component Analysis).*

4.5 Calibração

A calibração é uma sucessão de operações que estabelecem uma associação entre a resposta instrumental com valores para uma propriedade de interesse da amostra (Martens e Naes, 1996), para obter o melhor modelo que relacione os espectros com os dados referência (Pantoja, 2006).

O modelo de calibração e a representação gráfica é intitulada de curva de calibração. A calibração pode ser multivariada quando a relação envolve mais de uma variável e univariada quando se tem uma relação matemática entre uma variável dependente e uma única variável. Os métodos de calibração são: Regressão em componentes principais (PCR – *Principal Components Regression*), Regressão por mínimos quadrados parciais (PLS – *Partial Least Squares*), Regressão Linear Múltipla (MLR – *Multiple Linear Regression*) e a Análise de componentes principais (PCA – *Principal Component Analysis*) (Nunes, 2008).

A calibração é dividida em duas fases: a primeira é descritiva, que utiliza concentrações conhecidas para desenvolver um modelo, que associa a concentração da espécie de interesse e grandeza da medida, e a segunda é a preditiva a qual usa esse modelo para prever concentrações de novas amostras (Pimentel & Neto, 1996).

Há variações na coleta dos espectros que são inerentes a amostra, como granulometria, temperatura e distorções espectrais promovidos pelos equipamentos usados nas leituras das amostras, como deslocamentos de linha de base e de comprimento de onda, ruídos nos detectores do aparelho que podem interferir e camuflar informações importantes contidas nos espectros (Sotelo, 2006). Para reduzir essas variações indesejadas que podem alterar os resultados finais, são aplicados os pré-tratamentos visto que os sinais medidos são: sinal verdadeiro + ruído aleatório. Os pré-tratamentos por definição são técnicas que reduzem e eliminam fatores que causam impactos na leitura do espectro (Siesler et al., 2002).

4.6 Validação

Após o modelo ser calibrado, tem que ser testado sua precisão e acurácia, esse processo é denominado de validação, que é um método quimiométrico para determinar o número ideal de fatores e também para obter o modelo. Pode ser realizado de duas formas, a validação externa e validação cruzada (Martens e Naes, 1996).

A validação cruzada (cross validation), é o processo que utiliza as amostras que formaram o banco de calibração para predição da concentração do analítico desejado. Nesse procedimento, uma amostra ou mais são removidas da matriz e um modelo é construído sobre a amostras restantes. Realiza-se esse procedimento até que todas as amostras tenham sido previstas. Em seguida, são comparados os valores previstos com os valores de referência e determinado o erro, permanecendo o modelo que gerou um menor valor do erro (Naes et al, 2002). Esse erro é denominado de RMSECV (*Root Mean Squared Error of Cross Validation*). Esse tipo de validação é recomendado quando se tem um número de amostras reduzido (Almeida, 2009).

Na validação externa representa em utilizar amostras que já conhece a sua composição, assim é necessário realizar as análises convencionais em um novo grupo de amostras que não será utilizado na calibração e também nas amostras utilizadas na calibração, aumentando o custo e tempo do procedimento (Sotelo, 2006). Neste método também é determinado um erro que é a diferença entre a concentração dos valores esperados e dos valores de referência da amostra (Naes *et al.*, 2002), esse erro é denominado RMSEP (Root Mean Squared Error of Prediction).

A validação externa é mais utilizada quando se tem um número de amostras consideráveis para dividir amostras em grupo de calibração e validação. Isso torna o modelo mais robusto tornando menos sensível as variações do procedimento da coleta dos espectros como alterações instrumentais, temperatura e condições ambientais, tornado o modelo mais estável (Almeida, 2009).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALOMAR, D.; GALLO, C.; CASTANEDA, M.; e FUCHSLOCHER, R. Chemical and discriminant analysis of bovine meat by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). **Meat Science**, v. 63, p. 441-450, 2003.

ANDRIGUETTO, J. M. **Nutrição animal, as bases e os fundamentos da nutrição Animal.** 2002. Ed. Nobel, 1ª Ed., 395 p.

ALMEIDA, F. (2009) **Espectroscopia de Infravermelho Próximo com Transformação de Fourier (FT_NIR) na Caracterização de Farinhas para Alimentação Pueril**. 2009. Tese (Doutorado), Instituto Superior Técnico.

AKIN, D.E. Histological and physical factors affecting digestibility of forages. **J. Agron**., v.81, p.17-25, 1989.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da Safra Brasileira:** grãos, quinto levantamento, 2021.

BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de ruminantes.** Jaboticabal, SP, Funep, 2006. 398p.

CAMOLESI, V. J. **Caracterização do querose através da espectroscopia no Infravermelho próximo.** São Paulo, 2009. Dissertação de mestrado.

CIENFUGOS, F. **Análise instrumental: conceitos e avanços da análise no infravermelho.** 2003.Revista Química e Derivados, São Paulo, v.38, n.413, p.40-46, mar.

CHADHA, R; HANEEF, J. Near-infrared spectroscopy: effective tool for screening of polymorphs in pharmaceuticals. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 50, n. 7, p. 565-583, 2015.

CORREIA, P. R. M.; FERREIRA, M. M. C. Reconhecimento de padrões por métodos não supervisionados: explorando procedimentos quimiométricos para tratamento de dados analíticos. **Química Nova**, 2007, v.30, n.2, p. 481-487.

CONZEN, J. P.. **Multivariate Calibration. A Practical Guide for the Method Development in the Analytical Chemistry**. 2006. Bruker Optick GmbH. 2nd edition.

FU, X.; YNG, Y. Food safety evaluation based on Near Infrared Spectroscopy and imaging: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 56, n. 11, p. 1913-1924, 2016.

FERNANDES, A.M.F. **Uso da espectroscopia de reflectância do infravermelho próximo (nirs) para previsão da composição bromatológica de vagens de algaroba e**

palma forrageira. 2015. Sobral. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual Vale do Acaraú.

GEORGE, M.; SANDS, P.B.; WILSON, C.B.; CONNOR, J.M. Irrigated warm- and cool-season grasses compared in Northern California pastures. California Agriculture, v.46, n.4, p. 21- 25, 1992.

GOES, R, H, de T, e B, de; TRAMONTINI, R, de C, M,; ALMEIDA, G, D, de; CARDIM, S, T,; RIBEIRO, J,; OLIVEIRA, L, A, de; MOROTTI, F,; BRABES, K, C, da S,; OLIVEIRA, E, R, de. **Degradabilidade ruminal da matéria seca e proteína bruta de diferentes subprodutos agroindustriais utilizados na alimentação de bovinos.** Rev. Bras. Saúde Prod. An., v.9, n.3, p. 715-725, out/dez, 2008.

GONZAGA, F.B. **Desenvolvimento de um Espectrômetro de Emissão para a Região no Infravermelho Próximo**. Campinas, 2006. 117p. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas.

MACHADO, F.S.; RODRÍGUEZ, N.M.; RODRIGUES, J.A.S.; RIBAS, M.N.; TEIXEIRA, A.M.; RIBEIRO JÚNIOR, G.O.; VELASCO, F.O.; GONÇALVES, L.C.; GUIMARÃES JÚNIOR, R.; PEREIRA, L.G.R. Qualidade da silagem de híbridos de sorgo em diferentes estádios de maturação. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.64, n.3, p.711-720, 2012.

MARTENS, H.; NAES, T. **Multivariate calibration**. 1996. New York: Wiley

MASSART, D.L.; VANDEGINSTE, B.G.; DEMING, S.N.; MICHOTTE, Y.; KAUFMAN, L. **Chemometrics: a textbook.** 1986. New York: Elsevier.

MCKINNEY, L. J. Grain processing: particle size reduction methods. In: **Cattle grain processing.** Oklahoma, p.42-45, 2006.

McDOUGALL, G.J.; MORRISON, L.M.; STEWART, D.; et al. Plant fibres: chemistry and processing for industrial use. **J. Sci. Food Agric.**, London, v.62, n.1, p.1-20, 1993.

PIMENTEL, MF,; NETO, B.B. Calibração: Uma revisão para químicos analíticos. **Química Nova,** v 19, n, 268-277, 1996

NAES, T.; ISAKSSON, T.; FEARN, T.; DAVIES, T.. **A User-Friendly Guide to Multivariate Calibration and Classification**. *NIR Publications*. 2002.

NUNES, P. G. A. **Uma nova técnica para seleção de variáveis em calibração multivariada aplicada às espectroscopias UV-VIS e NIR.** João Pessoa, 2008. 106p. Tese de Doutorado, Universidade Federal da Paraíba.

PANTOJA, P.A. **Aplicação da espectroscopia de infravermelho próximo na caracterização da carga de petróleo para o processo de destilação atmosférica**. 2006. 91p. Dissertação (Mestrado em Engenharia)-Universidade de São Paulo, São Paulo.

PASQUINI. C. **Near Infrared Spectroscopy: Fundamentals, Practical Aspects and Analytical Applications**. 2003. Journal of Brazilian Chemical Society, v.14, n.2, 198 – 219.

PASQUINI, C. Near Infrared Spectroscopy: Fundamentals, Practical Aspects and Analytical Applications. Campinas-SP: **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14, p.198-219, 2003.

ROSA, W. J. **Cultura do sorgo** [S.l.]. Departamento Técnico da Emater–MG, 2012. 22p.

SABIN, J. G.; FERRÃO, M. F.; FURTADO, J. C. Análise multivariada aplicada na identificação de fármacos antidepressivos, Parte II: análise por componentes principais (PCA) e o método de classificação SIMCA. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 40, n. 3, 2004.

SANTOS, J. F.; GRANGEIRO, J. I. T. Desempenho produtivo de cultivares de sorgo forrageiro e granífero na Paraíba. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v.7, n.2, p.49-55, 2013.

SCHALCH, F.J. et al. Substituição do milho em grão moído pela polpa cítrica na desmama precoce de bezerros leiteiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 30, n. 1, p. 280-285, 2001.

SHENK, J.S., WORKMAN, J.J. AND WESTERHAUS, M.O., **Application of NIR spectroscopy to agricultural products**. 2008. In: BURNS, D.A.; CIURCZAK, E.W. Handbook of near-infrared analysis. 3.ed. cap.17, London: New York, p. 347-386.

SIESLER, H. W.; OZAKI, Y.; KAWATA, S.; HEISE, M. **Near Infrared Spectroscopy: Principle, Instrumentation and Applications.** John Wiley-VCH, Weineim, Germany, 2002.

SILVA, D.J. **Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. 2 ed.Viçosa: UFV; Impr. Univ. p.165, 1990.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. de. Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos 3. ed. Viçosa, MG: UFV, p.235, 2006.

SIESLER, H.W.; OZAKI, Y.; KAWATA, S.; HEISE, H.M. **Near infrared spectrscopy**: **principles, instruments, applications**. 2002. New York: Wiley-VCH.

SOTELO, F.F. **Aplicações da espectroscopia de infravermelho próximo da caracterização de petróleo. Simulação de uma unidade de destilação atmosférica.** 2006. 154 p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

SOUZA, D. M.; MADARI, B. E.; GUIMARÃES, F. F. Aplicação de técnicas multivariadas e inteligência artificial na análise de espectros de infravermelho para determinação de matéria orgânica em amostras de solos. **Química Nova**, v.35, n.9, p. 1738-1745, 2012.

TABOSA, J. N. *et al.* Programa de melhoramento de sorgo e milheto em Pernambuco, 1999. Disponível em: <http://www.cpatsa.embrapa.br:8080/catalogo/livrorg/ sorgo.pdf>. Acessado em: 02 fev. 2021.

VALDERRAMA, P. **Avaliação de figuras de mérito em calibração multivariada na determinação de parâmetros de controle de qualidade em indústria alcooleira por espectroscopia no infravermelho próximo**. 2005. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 128p.

VAN SOEST, P.J. Nutritional Ecology of the Ruminant. Comstock Publ. Assoc. Ithaca, 1994. p. 161 - 476

VAN SOEST, P. J. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II –arapid method for determination fiber and lignin.Journal of the Association of Official Analytical Chemists, New York, v. 46, 1963.

CAPÍTULO II
PREVISÃO DA COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DE SORGO EM GRÃO ATRAVÉS DA ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (NIRS)

RESUMO

Objetivou-se, avaliar adequação da tecnologia NIR para o desenvolvimento do modelo para previsão da composição da fibra em detergente ácido (FDA) comparando diferentes espectrômetros. Utilizou-se o grão de sorgo adquirido pela parceria com a Fábrica de Rações da Integral Agroindustria LTDA situada em Fortaleza – CE. Foi aplicada a espectroscopia de reflectância no infravermelho próximo (NIRS). Foram utilizados dois espectrômetros NIRS Perten DA 7250 e FOSS 5000 para realizar a coleta dos espectros das amostras recebidas, pré secas e moídas. Para a seleção das amostras e retirada de amostras com composição muito semelhantes que não iriam agregar no desenvolvimento do modelo, utilizou-se o *software* The Unscrambler® v.10.5.1 (Camo Inc) para identificação e retirada de *outliers*. Os valores de referência foram obtidos por meio de métodos de analises convencionais realizadas no laboratório de nutrição animal da Embrapa Caprinos e Ovinos. Não houve formação de grupos que demostrou a análise exploratória dos dados por meio da análise de componentes principais (PCA). O desempenho dos modelos foi avaliado de acordo com os erros médios de calibração (RMSEC) e validação (RMSECV), coeficiente de determinação (R2) e relação de desempenho de desvio (RPD). Portanto os modelos para FDA foram considerados ajustados nos dois instrumentos NIR Perten DA7250 e NIR Foss 5000 o que dá confiabilidade a previsão da composição da fibra em detergente ácido do grão de sorgo, o modelo das amostras recebidas e coletadas os espectros no equipamento NIR Perten foram consideradas o melhor modelo em relação aos demais.

Palavras-chave: Espectrômetro, Modelo, Perten.

ABSTRACT

The objective was to evaluate the suitability of the NIR technology for the development of the model to predict the composition of acid detergent fiber (ADF) comparing different spectrometers. The sorghum grain acquired through a partnership with the Feed Factory of Integral Agroindustria LTDA located in Fortaleza - CE was used. Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) was applied. Two NIRS Perten DA 7250 and FOSS 5000 spectrometers were used to collect the spectra of the received, pre-dried and ground samples. For the selection of samples and removal of samples with very similar composition that would not add to the development of the model, the software The Unscrambler® v.10.5.1 (Camo Inc) was used to identify and remove outliers. The reference values were obtained by means of conventional analysis methods carried out in the animal nutrition laboratory of Embrapa Caprinos e Ovinos. There was no formation of groups that demonstrated exploratory data analysis through principal component analysis (PCA). The performance of the models was evaluated according to the mean errors of calibration (RMSEC) and validation (RMSECV), coefficient of determination (R2) and performance ratio deviation (RPD). Therefore, the models for FDA were considered adjusted in the two instruments NIR Perten DA7250 and NIR Foss 5000 which gives reliability to the prediction of the composition of the fiber in acid detergent of the sorghum grain, the model of the samples received and collected the spectra in the NIR Perten equipment were considered the best model in relation to the others.

Keywords: Spectrometer, Model, Perten.

1 INTRODUÇÃO

Para o aumento da produção de leite ou carne em ruminantes é necessário a utilização de alimentos concentrados principalmente na época seca quando a disponibilidade das pastagens reduz significativamente e também a sua qualidade (CARVALHO, 2015). Devido ao alto valor financeiro do concentrado é necessário à sua utilização cada vez mais eficiente, utilizando esses alimentos balanceados na dieta para evitar custos desnecessários que podem comprometer o sistema de produção.

A utilização de outras fontes alimentares é essencial para reduzir o custo de produção, mas o seu uso tem que ser realizado de forma adequada visando manter ou aumentar a produção animal, assim a utilização do grão de sorgo é viável ao produtor devido ao seu custo acessível e o valor nutricional desse alimento que pode auxiliar na nutrição dos animais.

A produção de sorgo é considerada como uma da mais viáveis para regiões semiáridas e áridas no mundo, pois se trata de uma planta de características xerófilas, típica de clima quente, com alta tolerância a estresses hídricos e com baixa exigência em fertilidade dos solos (SANTOS; GRANGEIRO, 2013).

A utilização da espectroscopia de reflectância no infravermelho próximo (NIRS), é primordial pois beneficia o produtor pela rapidez da análise, um resultado confiável, financeiramente viável, não deixa resíduos no ambiente e não destrói a amostra como acontece nos métodos tradicionais de análises. Devido ao maior tempo para obter o resultado da análise no método convencional, causa uma problemática para o produtor principalmente o pequeno produtor que não possui estoques ou tem estoques pequenos de ração que duram pouco tempo e muitas vezes quando a análise do alimento fica pronta o alimento já foi utilizado na fazenda.

Objetivou-se, avaliar adequação da tecnologia NIRS comparando diferentes espectrômetros para a previsão de fibra em detergente ácido (FDA) em grão de sorgo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta das amostras e localização

As amostras de grão de sorgo, foram fornecidas através da colaboração com a Fábrica de Rações da Integral Agroindustria LTDA situada em Fortaleza – CE. A fábrica enviou para Embrapa Caprinos e Ovinos os alimentos que foram fornecidos por produtores, e coletados em diferentes épocas do ano para garantir uma maior uniformidade das amostras coletadas, os alimentos eram oriundos dos estados do Maranhão e Piauí.

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Nutrição Animal (LANA) na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, no Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos e Ovinos – Embrapa Caprinos e Ovinos, no município de Sobral, Ceará". O município de Sobral localiza-se na região norte do estado do Ceará, a 66 m de altitude, 3o 41'10", latitude sul e 40o 20'59", de longitude oeste, apresentando um clima do tipo BSw'h'semi-árido quente (IPECE 2005).

2.2 Coleta dos espectros, seleção das amostras e processamento das amostras

Nas amostras de alimentos enviadas para o Laboratório de Nutrição Animal da Embrapa Caprinos e Ovinos, realizou-se uma leitura espectral das amostras recebidas, em aparelho NIR PERTEN® DA 7250, seguindo metodologia de Lyons & Stuth, (1995)., que possui uma faixa de leitura entre 950-1650 nanômetros (nm) com precisão 5 nm.

Após a leitura espectral das amostras recebidas, foi aplicado um pré-tratamento matemático para correção de espalhamento, a Correção Multiplicativa de Espalhamento (MSC – *Multiple Scatter Correction*). Uma técnica multivariada de reconhecimento padrão não supervisionada, denominada PCA (*Principal Component Analysis)*, também foi utilizada para análise exploratória das amostras, a fim de observar formação de grupo e distribuição das análises.

Após a exploração do banco de dados, por meio de uma ferramenta de seleção do software The Unscrambler® versão 10.5.1 (Camo Inc), selecionou-se um subconjunto amostral de 150 amostras de cada alimento usando a ferramenta "Kennard-Stone" para

realização das análises químicas, usadas como referência para construção dos modelos de calibração.

Foram selecionadas 150 amostras para realização das análises químicas, usadas como referência para construção dos modelos de calibração. Em seguida, essas amostras foram moídas em moinho tipo Wiley provido de peneira com poro de 1,0 mm de diâmetro e armazenadas em recipientes, após foram pré secas em estufa com ventilação forçada de ar a 55°C por 3 horas para a retirada da umidade e estabilização do peso. Em seguida foram colocadas em dessecador por 30 minutos para resfriar até a temperatura ambiente e posteriormente foi coletado os espectros no instrumento NIR Perten® DA 7250 e no equipamento NIR FOSS© 5000 (FOSS Analytical A/S, Hillerød, Denmark), que faz leitura numa faixa de 1100 a 2500 nm com precisão de 2nm. Assim tendo os espectros das amostras recebidas e moídas utilizando espectrômetro NIR Perten e das amostras moídas escaneadas no espectrômetro NIR FOSS. Na tabela 1 é demostrado cada etapa para obtenção dos espectros.

Tabela 1 – Etapas para obter os espectros nos equipamentos NIR Perten e FOSS.

ETAPA 1	ETAPA 2	ETAPA 3	ETAPA 4	ETAPA 5	ETAPA 6
AMOSTRA RECEBIDA	**COLETA DOS ESPECTROS NO EQUIPAMENTO PERTEN**	**ANÁLISE EXPLORATÓRIA**	**SELEÇÃO DAS AMOSTRAS** (Calibração)	**PRÉ-SECAGEM E MOAGEM**	**COLETA DOS ESPECTROS NOS EQUIPAMENTOS PERTEN E FOSS**

Na coleta dos espectros utilizando os espectrômetros NIR Perten DA 7250 e NIR FOSS 5000, a temperatura e umidade da sala foram controladas em 22ºC e 50% respectivamente, se fez necessário para atender a exigências do equipamento FOSS 5000 para não haver interferências na leitura dos espectros.

2.3 Análises bromatológicas de referência

Após as amostras serem moídas foi realizada as análises para determinar a composição bromatológicas pelos métodos convencionais, para assim ter os valores de referência que iram auxiliar para desenvolvimento dos modelos. Realizou-se a análise de fibra em detergente ácido (FDA), seguindo metodologia descrita em Senger et al.,(2008), de forma sequencial realizando a análise de FDA logo após ser realizada a análise de fibra em detergente neutro (FDN) utilizando o mesmo sacos de poliéster somente depois da retirada de todo o detergente neutro. As análises de FDN não foram utilizadas neste trabalho.

2.4 Análises quimiométricas dos dados

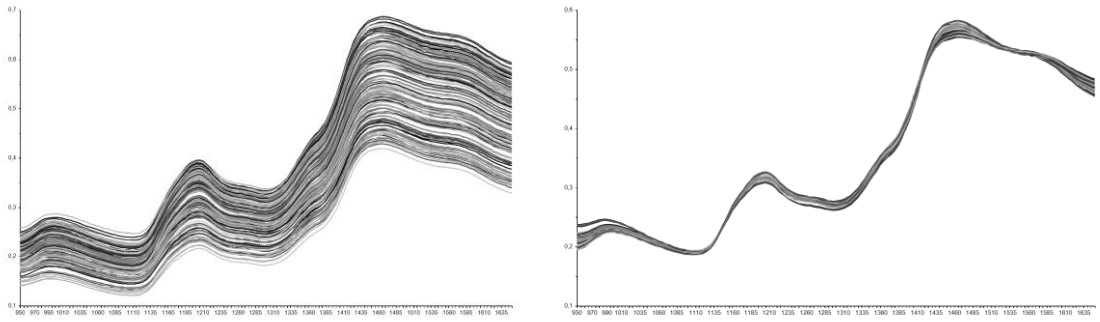
No processo de calibração, os espectros gerados pela coleta dos espectros das amostras foram arquivados em microcomputador acoplado ao equipamento NIR para uso na geração das equações de predição. As equações foram desenvolvidas pela seleção da melhor combinação comprimentos de onda mais ajustados aos dados, após a eliminação de possíveis outliers e o tratamento matemático dos dados, esses tratamentos são necessários para reduzir os efeitos devido a dispersão de luz na análise para obter o espectro. As melhores equações foram identificadas por meio do erro padrão de calibração (SEC), erro padrão do laboratório (SEL), coeficiente de determinação (R2), segundo Leite & Stuth, (1995). Após o desenvolvimento dos modelos de calibração a acurácia desses foi testada por um processo quimiométrico denominado de validação.

O método de validação utilizado foi a validação cruzada (cross-validation) procedimento “leave-one-out” (GELADI & KOWALSKI, 1986), em que as amostras são as mesmas usadas no teste de calibração. O método consiste na remoção de uma ou mais amostras da matriz e um modelo é construído sobre as amostras restantes. O processo é repetido até que todas as amostras tenham sido previstas e a raiz da soma do quadrado dos erros da validação cruzada (Root mean square erro of cross validation – RMSECV) seja calculada, (BRERETON, 2000). Para validação, os parâmetros usados como referência, fibra em detergente ácido (FDA), foi usada como variável dependente e os

espectros das amostras do sorgo como variáveis independentes para o desenvolvimento dos modelos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

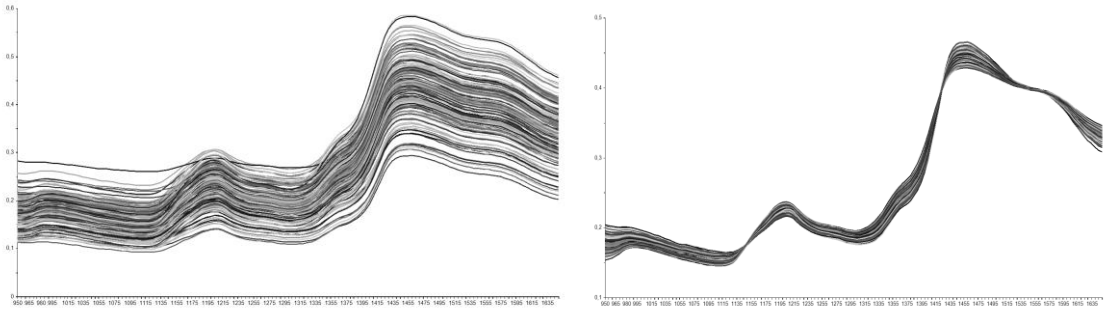
3.1. Análise exploratória e seleção das amostras



A Comprimento de onda (nm) B Comprimento de onda (nm)

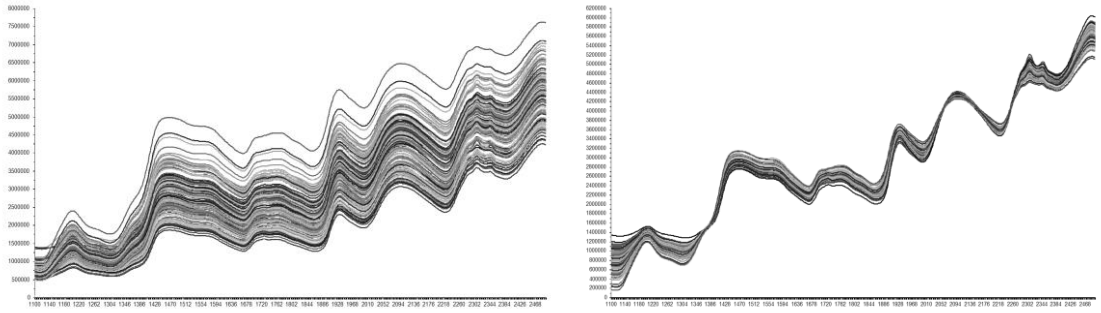
Figura 4 – Espectros de 150 amostras de grão de sorgo recebidas e coletadas os espectros em equipamento NIR Perten A) Espectros brutos e (B) espectros utilizando o tratamento com MSC.

.



A Comprimento de onda (nm) B Comprimento de onda (nm)

Figura 5 – Espectros de 150 amostras de grão de sorgo pré secas e moídas e coletadas os espectros em equipamento NIR Perten A) Espectros brutos e (B) espectros utilizando o tratamento com MSC.



A Comprimento de onda (nm) B Comprimento de onda (nm)

Figura 6 – Espectros de 150 amostras de grão de sorgo pré secas e moídas e coletadas os espectros em equipamento NIR FOSS A) Espectros brutos e (B) espectros utilizando o tratamento com MSC.

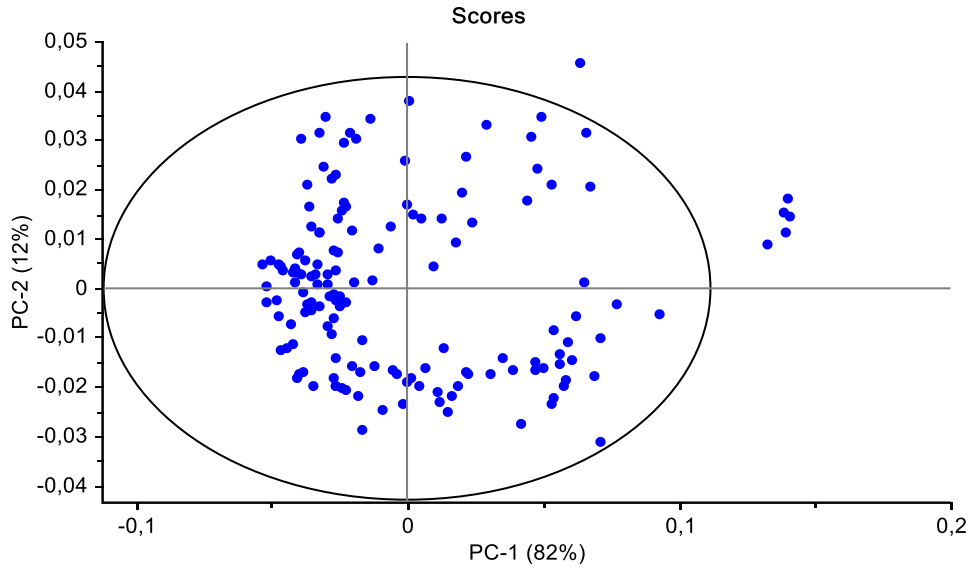
Como pode ser observado na figura 4, 5 e 6 são demostrados os espectros de 150 amostras de sorgo, realizadas na figura 4 a coleta dos espectros no espectrômetro NIR Perten de amostra recebidas, na figura 5 os espectros coletados pelo equipamento NIR Perten das amostras pré-secas e moídas e a figura 6 os espectros coletados pelo instrumento NIR FOSS das amostras pré-secas e moídas.

Pode-se observar que houve um espalhamento relevante. Assim para reduzir o espalhamento foi realizado o pré tratamento MSC (figura 4B, 5B e 6B). Devido a variações nas características físicas e na composição química e granulometria do alimento ocorre o espalhamento dos espectros (MI *et al*, 2013).

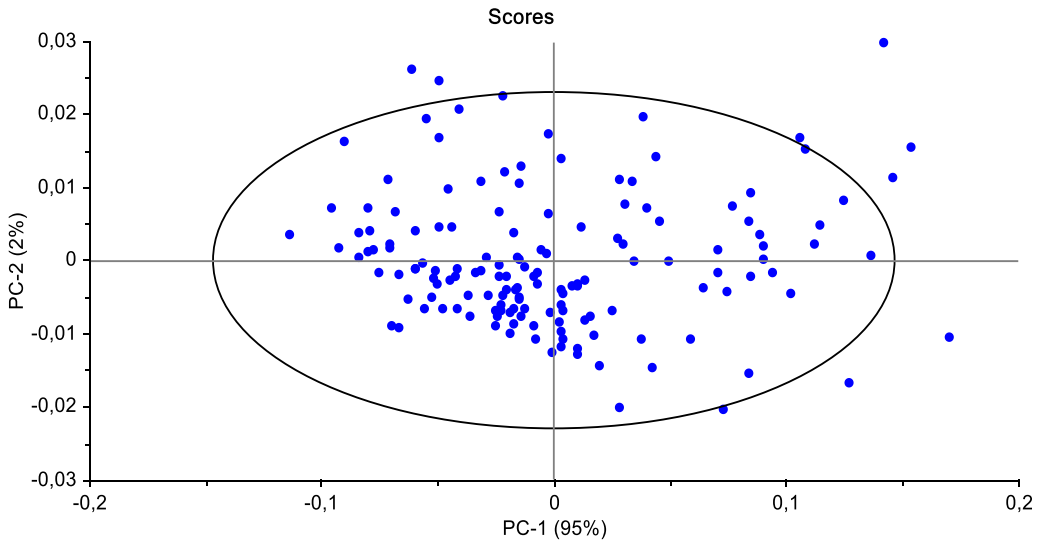
Após a aplicação do tratamento com Correção Multiplicativa de Espalhamento (MSC), pode-se observar uma redução significativa no espalhamento, o que traz benefícios na identificação da semelhança nos sinais avaliados, nas amostras de grão de sorgo. Segundo Sabin et al., (2004) o pré-tratamento com MSC reduz as diferenças e destaca as áreas que são responsáveis pelas diferenças entre as amostras, melhorando a linearidade do conjunto espectral.

Na figura 7 apresenta os escores para os modelos no equipamento NIR Perten das amostras recebidas de PC-1 (82% da variância explicada) *versus* PC-2 (12% da variância explicada), NIR Perten das amostras pré-secas e moídas de PC-1 (95% da variância explicada) *versus* PC-2 (2% da variância explicada) e para o modelo utilizando o instrumento NIR FOSS de PC-1 (94% de variância explicada) versus PC-2 (3% da variância explicada).

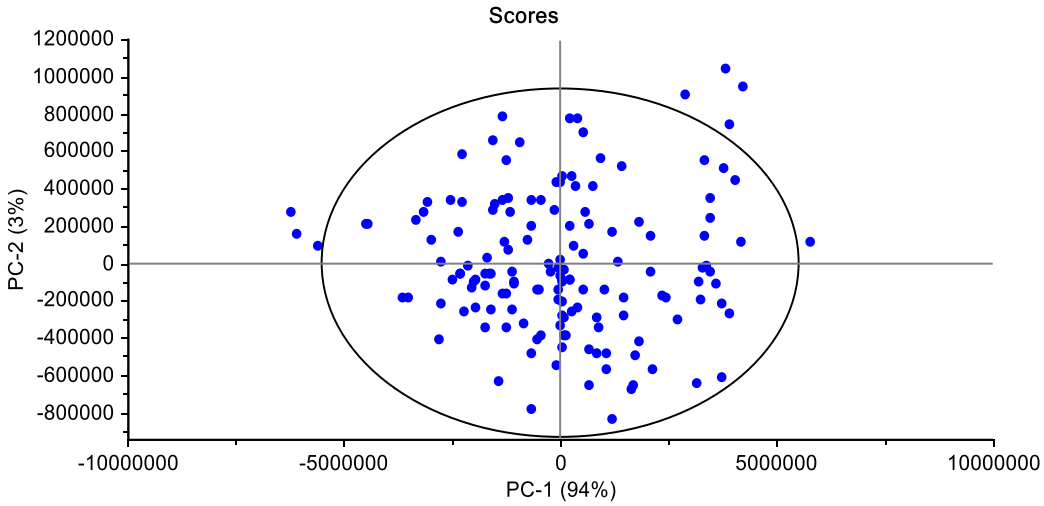
Pode-se observar que houve uma boa distribuição das amostras em todos os quadrantes em todos os modelos e não foi identificado a formação de grupos na técnica utilizada de reconhecimento padrão não supervisionado PCA (*Principal Component Analysis*). Essas ferramentas de análise exploratória são utilizadas para descobrir se há formação de grupos e similaridade entre elas, tendo por base a distância entre as amostras no gráfico para definir formação de grupos (Hotelling, 1993),



A)



B)



C)

Figura 7 – Gráficos de PCA do sorgo em grão a): Perten recebido PC-1 (82%) versus PC-2 (12%), b) Perten pré-secas e moídas PC-1 (95%) versus PC-2 (2%) e (c): FOSS PC – 1 (94%) versus (3%).

Na figura 8 pode-se observar no gráfico de PCA que mesmo considerando a origem das amostras provenientes dos estados do Maranhão e Piauí. Não houve formação de grupos em relação a sua procedência.

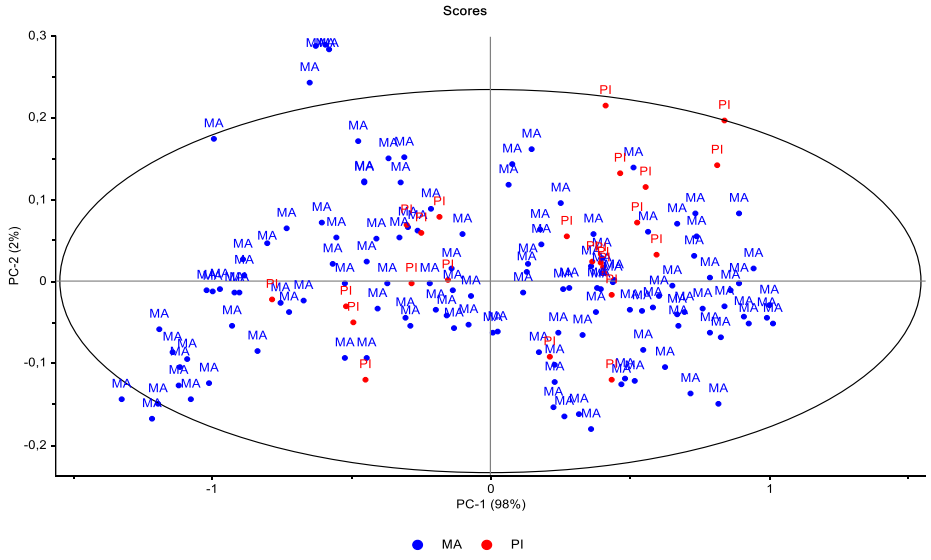


Figura 8 – Gráfico de PCA das amostras de grão de sorgo coletadas em diferentes estados: Maranhão e Piauí. PC-1 (98%) vesus PC-2 (2%) e limites estabelecidos por Hotelling (elipse).

3.2. Análise dos dados de referência

Na tabela 2 apresenta-se os valores para o teor de fibra em detergente ácido (FDA) do grão de sorgo, aplicadas como referência para o desenvolvimento dos modelos. Os dados da estatística descritiva valores médios, mínimos e máximos; os desvios padrões (DP) e coeficientes de variação (CV) auxiliam na construção do modelo servindo para mostrar a eficiência do mesmo.

Tabela 2. Estatística descritiva dos parâmetros avaliados em amostras do grão de sorgo.

Parâmetro	N	Média (%)	Min/Máx (%)	DP	CV (%)
FDA	150	4,73	0,34 - 12,25	2,66	56,23

Em base de matéria seca; N – Número de amostras; DP - Desvio padrão; CV - Coeficiente de variação; FDA – fibra em detergente ácido.

Os valores de composição da fibra em detergente ácido do grão de sorgo obtidos no presente estudo foram semelhantes aos encontrados por Valadares Filho et al. (2018), para os teores de fibra em detergente ácido (FDA). Visto que no presente estudo a média do FDA foi 4,73 com desvio padrão de 2,66 assim podendo variar de 2,07 a 7,39, deste modo os valores encontrados por Valadares Filho et al (2018) de 5,86% encontram-se dentro deste intervalo.

3.3 Modelos de calibração, validação cruzada

São apresentados os modelos desenvolvidos na tabela 3 para previsão dos parâmetros avaliados para as amostras de grão de sorgo nos equipamentos NIR Perten e NIR FOSS. Os modelos foram escolhidos por base nos resultados mais elevados de coeficiente de determinação (R^2) e nos valores mais baixos dos erros médios de calibração (RMSEC) e de validação (RMSECV) como recomendado por Windham et al., (1989).

Outros parâmetros que também foram levados em consideração como o número de fatores ou variáveis latentes, o número de amostras usadas na calibração, os pré-tratamentos matemáticos aplicados nos dados espectrais para correção do espalhamento e ruídos.

O número de fatores (FLPS) ou variáveis latentes demonstra a complexidade do modelo. Quanto maior o número de fatores mais instável e complexo ele tente a ficar. De acordo com o FLPS pode-se observar que o modelo utilizando o equipamento NIR Perten das amostras recebidas foi o que teve menor complexidade e com menor instabilidade com o número de fatores de 4.

Para os modelos utilizando o equipamento NIR Perten das amostras pré-secas e moídas apresentou o melhor coeficiente de determinação (R^2) de 0,8 e o menor erro na calibração (RMSEC) 1,25. No entanto para a validação esse modelo foi o teve menor acurácia e precisão com valores mais baixos de R^2 de 0,68 e maior erro RMSECV de 1,62 em relação aos demais e precisando utilizar um maior número de fatores de 6.

Podemos observar que o modelo utilizando instrumento NIR Perten das amostras recebidas apesar de ter um menor R^2 e um maior RMSEC, em relação aos outros modelos na calibração foi o modelo que teve maiores valores R^2 de 0,72 e menor erro na validação RMSEV de 1,60 utilizando um menor número de fatores de 4 em relação aos outros modelos.

Tabela 3 – Parâmetros estatísticos dos modelos NIRS desenvolvidos para predição da composição do sorgo em grão.

Grão de Sorgo								
					Calibração		Validação	
EQUIPAMENTO	PARÂMETRO	N	TRATAMENTO	FPLS	R^2	RMSEC	R^2	RMSEV
PERTEN RECEBIDO	FDA	101	MSC	4	0,75	1,50	0,72	1,60
PERTEN MOÍDO	FDA	84	Derivada Savitzky- Golay 1.1	6	0,8	1,25	0,68	1,62
FOSS	FDA	91	Derivada Savitzky- Golay 1.1	5	0,77	1,40	0,69	1,64

N - número de amostras utilizadas; FPLS número de fatores da PLS; R^2 - coeficiente de determinação; RMSEC -erro médio de calibração; RMSEV - erro médio de validação

Em relação de desempenho de Desvio dos modelos (*Ratio of Performance to Deviation* – RPD). Os modelos são classificados em três categorias. Na tabela 4 é apresentado as categorias de classificação dos modelos por Chang *et al* (2001)

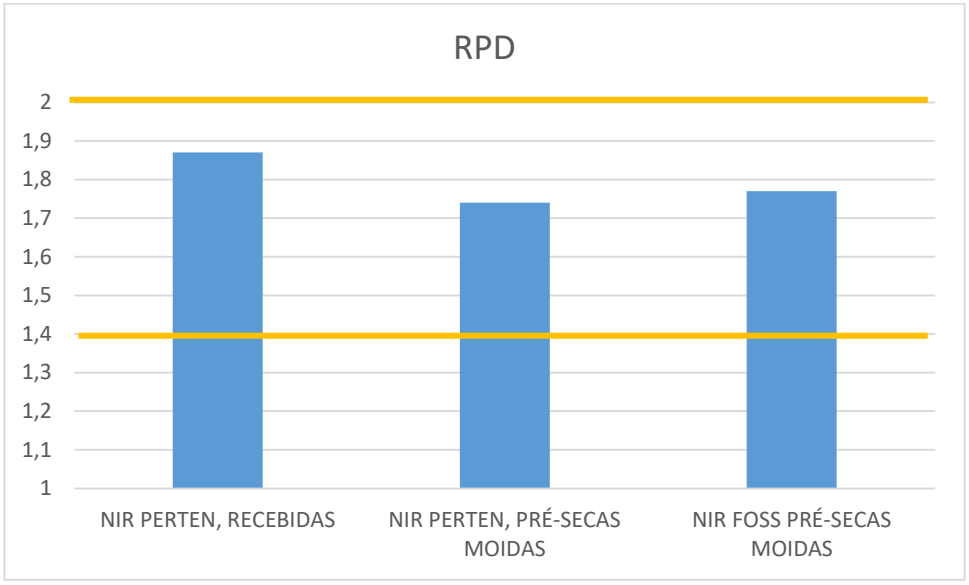
Tabela 4 – Categorias de classes de Desvio Residual de Previsão.

RPD	**CLASSE**	**MODELO**	**R2**
>2,0	A	Excelente	>0,80%
1,4 a 2,0	B	Ajustado	0,50 a 0,80%
<1,4	C	Não confiável	<0,50%

RPD – Relação de Desempenho de desvio, R^2 - coeficiente de determinação

Os valores de RPD foram 1,87, 1,74 e 1,77 (figura 9) para os modelos utilizando o equipamento NIR Perten das amostras recebidas, do equipamento NIR Perten das amostras pré-secas e moídas e do instrumento NIR FOSS utilizando amostras pré-secas e moídas respectivamente. Assim todos os modelos de acordo com a classificação Chang *et al* (2001), são classificados de classe B considerados ajustados, pois os valores de RPD se encontram no intervalo de 1,4 a 2 como demostrado na tabela 4. No entanto quanto maior o valor de RPD melhor é o modelo assim o modelo do instrumento NIR Perten das amostras recebidas foi o que teve RPD mais elevado em relação aos demais.

Figura 9 – Valores de Relação de desempenho de Desvio (RPD), nos modelos NIR Perten das amostras recebidas, modelos NIR Perten das amostras pré-secas e moídas e modelo do equipamento NIR FOSS das amostraS pré-secas e moídas.



4. CONCLUSÃO

1 A técnica NIR mostrou-se eficiente para prever a composição da fibra em detergente ácido do grão de sorgo

2 Os modelos desenvolvidos das amostras recebidas utilizando o equipamento NIR Perten, foi superior, àqueles desenvolvidos após o processamento de moagem e pré-secagem em instrumento NIR Perten e FOSS, para predição da qualidade do grão de sorgo. Com isso não é necessário realizar um pré-processamento para obter o modelo com bom desempenho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTUNES, R. C.; RODRIGUES, N. M.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUES, J. A. S.; BORGES, I.; BORGES, A. L. C. C.; SALIBA, E. O. S. Composição bromatológica e parâmetros físicos de grãos de sorgo com diferentes texturas do endosperma. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.5, p.1351-1354, 2007.

ANTUNES NETO, O.; CALIXTO, A.; CHAVES, F.; PESSOA, S. Produção de silagem de sorgo BRS Ponta Negra em pequenas propriedades no Norte de Minas Gerais. In: **Embrapa Milho e Sorgo-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 31. 2016, Bento Gonçalves. Milho e sorgo: inovações, mercados e segurança alimentar: anais. Sete Lagoas: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2016.

AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS). **Official methods of analysis**. 18. ed. 3000p. Rev. Gaithersburg, Maryland, USA, 2010.

BRERETON, R. G. Introdution to multivariate calibration in analytical Chemistry, Analyst, London, v.125, p.2125-2154, 2000.

CHANG, C.W.; LAIRD, D.A.; MAUSBACH, M.J.; HURBURGH, Jr. C.R. Near-infrared reflectance spectroscopy – principal components regression analysis of soil properties. **Soil Science Society of America Journal**, v.65, p.480-490, 2001.

CARVALHO, D. R. Composição químico bromatológica da silagem de milho cultivado nos sistemas de plantio direto e convencional sob efeito de veranico e da colheita de espigas verdes. Dissertação (Mestrado em Manejo do Solo e Agua) – Universidade Federal Rural do Semiárido, Mossoró, RN, 58f, 2015.

GELADI, P.; KOWALSKI, B. R. Partial least regression: a tutorial. **Analytica Chimica Acta**, v. 185, n. 1, 1986.

GONZAGA, F.B. **Desenvolvimento de um Espectrômetro de Emissão para a Região no Infravermelho Próximo**. Campinas, 2006. 117p. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas.

HOTELLING, H.J. Ed. **Psych**., 24: 417–441, 489–520 1933.

IPEC (Instituto de Pesquisa e Estratégia Econômica do Ceará. In: Perfil Básico Municipal; Fortaleza,;10 p. 2005.

LANDAU, S.; GLASSER, T.; DVASH, L. Monitoring nutrition in small ruminants with the aid of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) technology: A review. **Small Ruminant Research**, v. 61, p. 1 – 11, 2006.

LEITE, E.R., STUTH, J.W. Fecal NIRS equations to assess diet quality of free ranging goats. Small Ruminant Research, v.15, n.3 ,p.223–230, 1995.

LYONS, R. K.; STUTH, J. W. Fecal NIRS equations for predicting diet quality of freeranging cattle. **Journal Range Manage**, v. 45, p. 238-244, 1992.

LYRA, W. D. S.; SILVA, E. C. D.; ARAÚJO, M. C. U. D.; FRAGOSO, W. D.; e VERAS, G. Classificação periódica: um exemplo didático para ensinar análise de componentes principais. **Química Nova**, v. 33, p. 1594-1597, 2010.

MACHADO, F. S.; RODRIGUEZ, N. M.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUES, J. A. S.; RIBAS, M. N.; LOBATO, F. C. L.; e PEREIRA, L. G. R. Valor nutricional de híbridos de sorgo em diferentes estádios de maturação. **Embrapa Gado de Leite-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2014.

MI, J.; ZHANG, L.; ZHAO, L.; LI, J.. Particle size regression correction for NIR spectrum based on the relationship between absorbance and particle size. **Frontiers of Optoelectronics,** [s.l.], v. 6, n. 2, p.216-223, 16 abr. 2013. Springer Nature. http://dx.doi.org/10.1007/s12200-013-0320-3.

PASQUINI C., 2003, "Near Infrared Spectroscopy: Fundamentals, Practical Aspects and Analytical Applications", **Journal of Brazilian Chemical Society**, v.14, n.2, 198 – 219.

PINHO, R. G.; FIORINI, I. V. A.; SANTOS, A. O. **Botânica de planta do sorgo**. *In Sorgo do plantio à colheita* (eds. Borém, A, Pimentel, l. e Parella, R.) p. 37-57 Ed UFV, 2014.

SABIN, J. G.; FERRÃO, M. F.; FURTADO, J. C. Análise multivariada aplicada na identificação de fármacos antidepressivos, Parte II: análise por componentes principais (PCA) e o método de classificação SIMCA. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 40, n. 3, 2004.

SANTOS, J. F.; GRANGEIRO, J. I. T. Desempenho produtivo de cultivares de sorgo forrageiro e granífero na Paraíba. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v.7, n.2, p.49-55, 2013.

SENGER, C.C.D.; KOZLOSKI, G.V.; BONNECARRÈRE SANCHEZ, L.M.; MESQUITA, F.R.; ALVES, T.P.; CASTAGNINO, D.S. Evaluation of autoclave

procedures for fibre analysis in forage and concentrate feedstuffs. **Animal Feed Science and Technology**, v.146, n.1-2, p.169-174, 2008.

SILVA, D.J. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1998. 165p.

SILVA, D.J. **Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. 2 ed.Viçosa: UFV; Impr. Univ. p.165, 1990.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. de. Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos 3. ed. Viçosa, MG: UFV, p.235, 2006.

SILVA, D. G.; QUEIROZ, A. C. **Análise de Alimentos**: Métodos Químicos e Biológicos. 3. ed. Viçosa: UFV, 2005

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental.** 6 ed., Bookman, Porto Alegre, 2009

VALADARES FILHO, S.C., LOPES, S.A. et al., CQBAL 4.0. Tabelas Brasileiras de Composição de Alimentos para Ruminantes. 2018. Disponível em: www.cqbal.com.br. Acesso em 25 de janeiro 2022.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starchpolysaccharies in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.

VOGEL, A. I. **Análise Química Quantitativa.** Rio de Janeiro-RJ: LTC, 2002.

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**, v. 1, n. 1, p. 25-33, 1993.

WILLIAMS, P. C. Implementation of near-infrared technology. In: WILLIAMS, P. C.; NORRIS, K. H. (Ed). **Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries.** 2. ed. St. Paul: American Association of Cereal Chemists, 2001. p. 145-169.

WINDHAM, W.R.;MERTENS, D. R.;BARTON, F. E., II(1989). Protocol for NIRS calibration: Sample selection and equation development and validation In C. G Maten, J. S Shenk, E F. E. Barton (Eds.), **Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS): Analysis of forage quality** (pp. 96-103). (643rd ed.). Washington, DC: USDA-ARS: Agricultural Handbook

CONCLUSÕES GERAIS

A utilização da espectroscopia para a predição da composição de fibra em detergente ácido no grão de sorgo, é viável e precisa. Não sendo necessário processamento e preparação da amostra.

Os modelos gerados pelos dois equipamentos NIR Perten e NIR FOSS, foram eficientes, considerados ajustados, portanto a espectroscopia é uma opção viável como alternativa ao método de análises convencionais e não gerando resíduos para o meio ambiente.

ANEXOS

Anexo 1 – Valores de fibra em detergente ácido das 150 amostras com identificação.

AMOSTRA	FDA	AMOSTRA	FDA	AMOSTRA	FDA	AMOSTRA	FDA
1	7,82	54	2,37	109	0,83	160	6,26
6	10,27	55	2,84	111	7,23	162	3,11
7	8,89	57	3,08	112	6,78	163	2,98
8	9,30	58	1,12	113	6,26	164	2,26
10	9,62	59	4,65	114	7,71	168	1,70
11	9,56	60	4,07	115	7,71	169	2,03
12	10,06	61	3,39	116	5,75	170	3,14
13	11,09	62	0,66	118	6,23	171	0,97
14	10,03	63	1,69	119	5,34	172	1,07
15	9,01	64	2,45	120	7,06	174	3,28
16	10,82	65	0,85	121	2,10	175	7,30
18	9,31	66	1,56	122	0,35	176	2,43
19	9,25	67	4,28	124	5,56	177	2,42
21	11,24	70	3,28	125	2,63	178	4,66
22	12,26	71	3,60	126	4,60	179	2,61
24	11,87	73	3,94	127	0,72	180	2,76
25	10,84	74	3,66	128	2,26	181	1,89
27	7,76	75	4,42	129	3,79	183	3,80
29	9,22	76	0,80	130	2,80	184	3,51
31	2,67	77	7,82	131	3,41	185	2,05
32	2,32	81	8,33	133	3,23	186	2,75
33	2,18	82	8,28	134	4,19	191	5,98
34	4,64	83	7,85	135	3,32	192	5,65
35	3,95	88	7,87	136	3,84	193	5,96
37	2,15	90	7,57	139	3,94	195	2,94
38	5,44	91	5,42	140	4,48	197	4,19
39	2,44	92	4,52	144	3,09	198	4,60
40	3,46	93	7,50	145	4,41	199	4,77
41	4,46	96	3,51	147	3,97	200	4,91
42	1,70	97	4,64	148	3,84	201	3,63
43	6,62	98	4,53	149	3,20	203	5,97
44	5,04	99	5,77	150	2,36	204	4,11
48	3,03	100	4,92	151	2,66	205	4,08
49	3,70	103	5,42	153	4,23	206	3,95
50	2,51	104	5,03	154	2,88	207	4,90
51	2,75	105	6,07	155	2,13	208	3,84
52	5,13	106	5,98	157	6,56		
53	3,53	107	4,51	159	2,38		