

Desenvolvimento de um modelo de regressão multivariado para determinação de FDA e lignina em braquiária empregando espectroscopia no infravermelho próximo (NIR)¹

Priscila Vieira Caixeta², Maria Lúcia Ferreira Simeone³, Miguel Marques Gontijo Neto³, Cristiane de Carvalho Guimarães⁴, Priscila Cordeiro Gomes⁵, Everaldo de Paulo Medeiros⁶

¹ Trabalho financiado pelo CNPq

² Estudante do Curso de Nutrição do Centro Universitário de Sete Lagoas - UNIFEMM, Bolsista PIBIC do Convênio CNPq - Embrapa

³ Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo

⁴ Técnico da Embrapa Milho e Sorgo

⁵ Analista da Embrapa Milho e Sorgo

⁶ Pesquisador da Embrapa Algodão

Introdução

A determinação da composição química das frações que compõem as plantas forrageiras é de fundamental importância para a previsão do desempenho animal, para melhoria da qualidade das cultivares em programas de melhoramento genético e para o desenvolvimento de diferentes sistemas de produção.

Devido ao grande interesse dos pesquisadores pela composição química das braquiárias, têm sido criados novos métodos de avaliação de sua composição. Os métodos tradicionais, por exemplo, envolvem processos físico-químicos que podem levar a uma limitação, como, por exemplo, o tempo necessário para a realização da análise em relação a outros métodos instrumentais (FONTANELI et al, 2004).

A reflectância no infravermelho próximo é um método espectroscópico rápido, que surgiu como alternativa aos métodos analíticos tradicionais (PIONEER, 1995).

Desta maneira, este estudo justifica-se pela utilização das amostras de braquiárias para desenvolvimento da calibração de um modelo multivariado por espectroscopia no infravermelho próximo, a fim de analisar o teor de fibra detergente ácido (FDA) e de lignina, permitindo que um grande número de amostras de braquiárias possam ser analisadas de forma rápida e com baixo custo.

Material e Métodos

As amostras foram coletadas no ano de 2012 em ensaios localizados em diferentes Unidades da Embrapa. As amostras utilizadas neste trabalho foram selecionadas a partir de diversas cultivares de braquiárias (*Brachiaria brizantha* cvs. Marandú, Xaraés e Piatã; *B. ruziziensis* e *B. decumbens*).

Assim, foram selecionadas 147 amostras de capins do gênero *Brachiaria* buscando-se maior representatividade das amostras para a realização das análises do teor de lignina. O método de referência utilizado para a determinação do teor FDA foi o método ANKOM (2006), e de lignina foi o método da análise da lignina detergente ácido (ANKOM, 2010), que consiste na determinação do teor de lignina em sequência à realização da análise de fibra detergente ácido (FDA), aproveitando a mesma amostra.

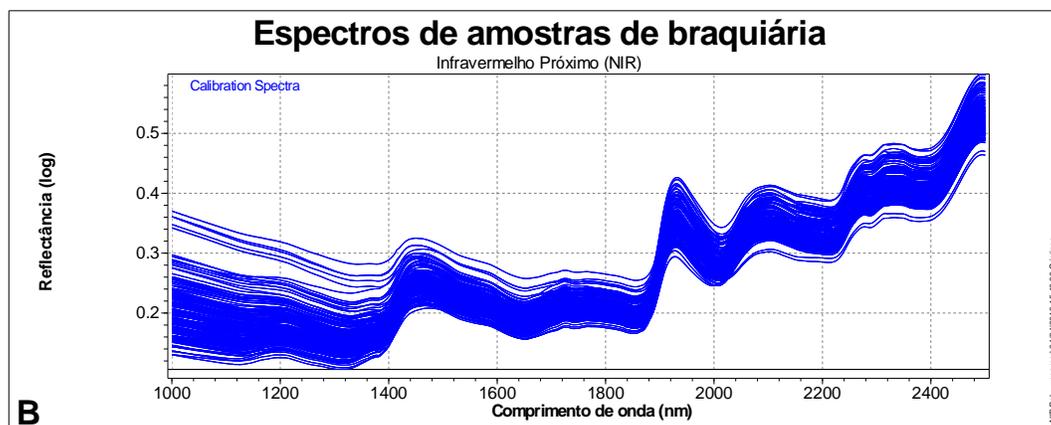
As amostras de braquiária constituídas por lâminas foliares foram coletadas a 20 cm do solo e secas em estufa a 65 °C até peso constante. Em seguida, foram trituradas em moinho de facas tipo Willey, utilizando peneira de 2 mm. Os espectros das amostras foram obtidos em espectrômetro marca Buchi, modelo NIRFlex 500 (Buchi Labortechnik, Flawil, Switzerland) equipado com detector de InGaAs, utilizando como porta-amostra uma placa de Petri de vidro borossilicato. O equipamento foi calibrado utilizando o padrão Spectralon®. Os espectros das amostras de braquiária foram obtidos em triplicata, na região 4.000 a 10.000 cm⁻¹ (1000-2500 nm), com resolução de 4 cm⁻¹ e 32 varreduras por espectro.

Os valores de FDA e lignina obtidos pelo método de referência foram utilizados para desenvolver o modelo de calibração multivariada. Nesse processo, utilizou-se o software NIRCal® versão 5.2, (Buchi Labortechnik, Flawil, Switzerland). Como pré-tratamento dos espectros, eles foram convertidos em logaritmo ($\log_{10} = 1/R$, sendo R a intensidade obtida para cada comprimento de onda), centrados na média e convertidos em primeira derivada. Em seguida, aplicou-se o modelo de calibração multivariada por mínimos quadrados parciais (PLS). Após a detecção e retirada de amostras anômalas (*outliers*), os modelos foram avaliados quanto à faixa de concentração, coeficientes de determinação (R²) e desvios padrão da calibração e da validação.

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos para o teor de FDA utilizando o método Ankom variaram entre 26,34 a 52,23%, valores que representaram a faixa de amostragem para o desenvolvimento do modelo de calibração multivariada, com média de 40,39%. Os espectros das amostras de braquiária estão representados na Figura 1.

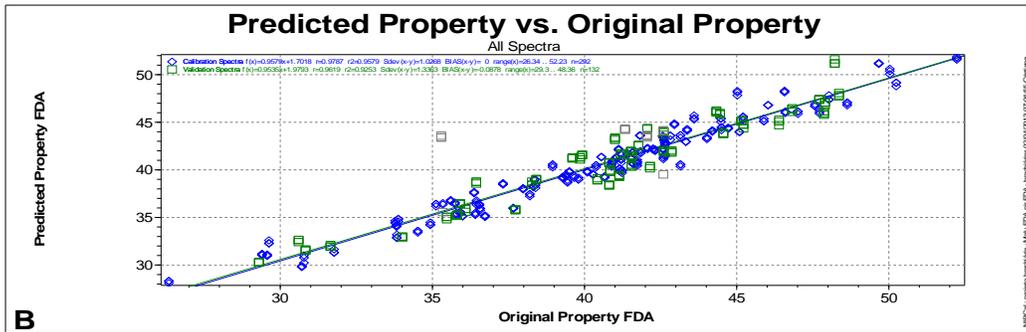
FIGURA 1–Espectros das amostras de braquiária.



As amostras foram divididas em dois conjuntos: 97 calibração e 44 na validação. Foram consideradas seis amostras como amostras *outliers*, após a avaliação do gráfico de resíduos, sendo que estas foram retiradas do processo de construção do modelo (Figura 2). Obteve-se uma boa correlação entre os valores previstos pelo modelo e os

valores do método de referência para os teores de FDA e lignina, tanto para as amostras do conjunto de calibração como para as do conjunto de validação.

FIGURA 2– Gráfico de calibração e validação para análise de FDA em amostras de braquiária.

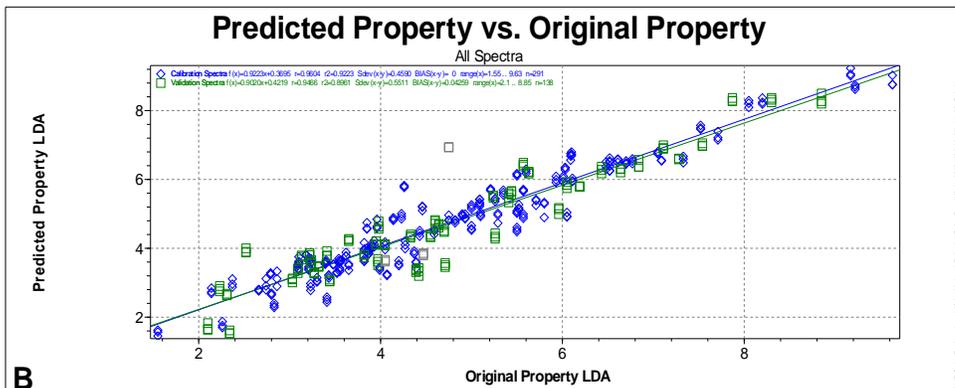


Para a análise de lignina, os resultados variaram entre 1,55 a 9,63%, valores que representaram a faixa de amostragem para o desenvolvimento do modelo de calibração multivariada, com média de 4,76%. As amostras foram divididas em dois conjuntos: 97 calibração e 46 na validação. Foram consideradas como amostras *outliers*, após a avaliação do gráfico de resíduos, quatro amostras, sendo que estas amostras foram retiradas do processo de construção do modelo.

Houve ainda uma boa distribuição das amostras nos conjuntos de calibração e validação, sendo que o conjunto de validação está igualmente distribuído em toda a faixa na qual o modelo foi calibrado.

As Figuras 2 e 3 mostram os modelos de calibração obtidos para FDA e lignina, respectivamente. Em azul estão as amostras de calibração e em verde estão as de validação.

FIGURA 3– Gráfico de calibração e validação para análise de lignina em amostras de braquiária.



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

TABELA 1 – Parâmetros de qualidade do modelo de calibração e validação para FDA e lignina em amostras de braquiária.

Parâmetro estatístico	Resultados FDA	Resultados Lignina
Desvio padrão Calibração	5,00	1,65
R ² Calibração	0,96	0,92
Desvio padrão Validação	4,86	1,71
R ² Validação cruzada	0,93	0,90

Os coeficientes de determinação (R²) obtidos tanto para FDA quanto para lignina indicam que o modelo possui alta correlação entre os dados preditos e de referência, com valores muito próximos de desvio padrão para os conjuntos de amostras de calibração e validação.

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 FDA e lignina em braquiária, os quais também obtiveram R² próximos a 0,95. (SHENK; WESTERHAUS, 1994; Del SANTO, et al., 2010).

Conclusão

Foi obtido um alto coeficiente de determinação para calibração e validação, tanto para o parâmetro FDA quanto lignina, indicando que os métodos de referência e NIR são comparáveis, com desvio padrão e valores médios muito próximos.

É importante ressaltar que estes modelos são preliminares, mas poderão trazer grandes melhorias para a realização da análise de FDA e lignina, como a redução do tempo de análise e a economia de recursos (energia elétrica e reagentes, como ácido sulfúrico). Entretanto, a utilização destes modelos na previsão de amostras de rotina está condicionada às melhorias pelas quais eles devem ser submetidos no intuito de aumentar a robustez da previsão.

Referências

ANKOM Thechnology. **Method for determining acid detergent lignin in beakers.** Macedon, 2010. Disponível em: <http://www.ankom.com/media/documents/ADL_beakers.pdf>. Acesso em: 29 nov. 2010.

ANKOM Thechnology. **Method 5: acid detergent fiber in feeds filter bag technique.** Macedon, 2006. Disponível em: <<http://www.ankom.com/procedures.aspx>>. Acesso em: 20 nov. 2012.

Del SANTO, V.; SOUZA, G. B.; NOGUEIRA, A. R. A.; PICCHI, C. M. C.; GARCIA, C. H. Determinação das propriedades das forrageiras por meio de espectroscopia de infravermelho próximo (NIRS). In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE MÉTODOS DOS LABORATÓRIOS DA EMBRAPA, 2010, Pelotas, RS. **Novas perspectivas para os laboratórios da Embrapa**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010.

FONTANELI, R. S.; SCHEFFER-BASSO, S. M.; DURR, J. W.; APPELT, J. V.; BORTOLINI, F.; HAUBERT, F. A. Predição da composição química de bermudas (*Cynodon app*) pela espectroscopia de reflectância no infravermelho roximal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 4, p. 838-842, 2004.

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

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