

3º Workshop da Rede NIR Embrapa

***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Milho e Sorgo
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento***

Documentos 172

3º Workshop da Rede NIR Embrapa

Editores Técnicos

Maria Lúcia Ferreira Simeone
Miguel Marques Gontijo Neto
Gilberto Batista de Souza
Celio Pasquini

Embrapa Milho e Sorgo
Sete Lagoas, MG
2014

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Milho e Sorgo

Rod. MG 424 Km 45

Caixa Postal 151

CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG

Fone: (31) 3027-1100

Fax: (31) 3027-1188

Home page: www.embrapa.br/milho-e-sorgo

E-mail: www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Sidney Netto Parentoni

Secretário-Executivo: Elena Charlotte Landau

Membros: Antonio Claudio da Silva Barros, Dagma Dionísia da Silva, Maria Marta Pastina, Monica Matoso Campanha, Paulo Eduardo de Aquino Ribeiro e Rosângela Lacerda de Castro

Revisão de texto: Antonio Claudio da Silva Barros

Normalização bibliográfica: Rosângela Lacerda de Castro

Tratamento de ilustrações: Tânia Mara Assunção Barbosa

Editoração eletrônica: Tânia Mara Assunção Barbosa

Foto(s) da capa:

1ª edição

1ª impressão (2014): on line

Todos os direitos reservados

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Milho e Sorgo**

Workshop da Rede NIR Embrapa (3., 2013, Sete Lagoas, MG).

Capacitação em espectroscopia no infravermelho próximo, tratamento de dados, aspectos práticos e aplicações analíticas: anais do 3º Workshop da Rede NIR Embrapa, Sete Lagoas, 03 a 05 de setembro de 2013 / editores técnicos Maria Lucia Ferreira Simeone et al. -- Sete Lagoas : Embrapa Milho e Sorgo, 2013.

24 p. : il. -- (Documentos / Embrapa Milho e Sorgo, ISSN 1518-4277; 172).

1. Análise química. 2. Química analítica. 3. Laboratório. I. Simeone, Maria Lúcia Ferreira. II. Título. III. Série.

CDD 543.0858 (21. ed.)

© Embrapa 2014

Editores Técnicos

Maria Lúcia Ferreira Simeone

Química, Doutora em Química Orgânica,
Pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo, Sete
Lagoas, MG,
marialucia.simeone@embrapa.br

Miguel Marques Gontijo Neto

Engenheiro Agrônomo, Doutor em Forragicultura
e Pastagens, Pesquisador da Embrapa Milho e
Sorgo, Sete Lagoas, MG,
miguel.gontijo@embrapa.br

Gilberto Batista de Souza

Químico, Doutor em Química Analítica, Analista
da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP,
gilberto.souza@embrapa.br

Celio Pasquini

Químico, Doutor em Química, Professor Titular da
Unicamp, Campinas, SP,
pasquini@iqm.unicamp.br

Apresentação

O “3º Workshop da Rede NIR Embrapa: Capacitação em Espectroscopia no Infravermelho Próximo, Tratamento de Dados, Aspectos Práticos e Aplicações Analíticas” foi uma ação do Projeto Macroprograma 05 – Rede NIR Embrapa. O Workshop foi realizado em Sete Lagoas-MG, no período de 3 a 5 de setembro de 2013 e contou com a participação de 35 profissionais entre empregados da Embrapa, bolsistas e professores de Universidades. O Workshop teve como objetivo ampliar e atualizar os conhecimentos dos empregados da Embrapa que são usuários da técnica de espectroscopia no infravermelho próximo, com vistas ao aumento das parcerias institucionais para utilização dessa importante técnica analítica. Objetivo esse que vem incentivar a aplicação dos princípios da química verde e da otimização de recursos e infraestrutura por parte da empresa. Neste documento estão descritos alguns dos resultados alcançados neste último ano do projeto e que foram apresentados na forma de resumo durante o 3º Workshop da Rede NIR Embrapa.

Antonio Alvaro Corsetti Purcino
Chefe-Geral
Embrapa Milho e Sorgo

Sumário

Apresentação	4
Introdução	7
Resumos - 3º Workshop da Rede NIR Embrapa	9

Espectroscopia no infravermelho próximo na embrapa gado de corte	9
BARROCAS, G.E.G.	

Determinação de matéria seca, proteína bruta e extrato etéreo por espectroscopia no infravermelho próximo, em amostras de milho em grão e moído	11
BERNARDI, C.R.; SCHEUERMANN, G.N.; ZANOTTO, D.L.; LIMA, G.J.M.M. DE; COLDEBELLA, A.; CUNHA JR., A.	

Comparação entre pré-tratamentos para os modelos <i>partial least squares</i> de proteína bruta e matéria mineral em amostras de braquiária	13
DIAS, M.; DEL SANTO, V. R.; SOUZA, G. B.	

Pré-caracterização de amostras de plantas do gênero <i>paspalum</i> utilizando a espectroscopia no infravermelho próximo	15
MAGRINI, V.; DIAS, M.; DEL SANTO, V. R.; SOUZA, G. B.; MATTA, F. P.; FÁVERO, A. P.	

Utilização da espectroscopia no infravermelho próximo para discriminação de espécies da família myrtaceae 17

MENDES, R.A.G.; FERREIRA, K.B.; GRATTAPAGLIA, D.; DE ALENCAR FIGUEIREDO, L.F.

Determinação de qualidade tecnológica e de micotoxinas em trigo por meio do infravermelho próximo (nirs) 19

TIBOLA, C.S.; DELANORA, R.

Aplicação da espectroscopia no infravermelho próximo para avaliação da homogeneidade em amostras candidatas a material de referência 21

SANTOS, P. M.; DIAS, M.; DEL SANTO, P. M.; SOUZA, G.B.

Considerações finais 22

Anexo 1 – folder do 3º Workshop da Rede NIR Embrapa 23

3º Workshop da Rede NIR Embrapa

Editores Técnicos

Maria Lúcia Ferreira Simeone

Miguel Marques Gontijo Neto

Gilberto Batista de Souza

Celio Pasquini

Introdução

Nos últimos anos, a Embrapa adquiriu 23 equipamentos de infravermelho próximo para serem utilizados em diferentes análises químicas, com vistas ao desenvolvimento de métodos analíticos rápidos e de baixo custo. A espectroscopia no infravermelho próximo – NIRS (*Near Infrared Spectroscopy*) é uma das técnicas analíticas que possibilita a realização de análises químicas com precisão, rapidez, baixo custo e pouca manipulação de amostras. Para a utilização de todo o potencial que a técnica NIRS oferece, é de suma importância a capacitação e o estabelecimento de uma rede de usuários que padronize métodos e, conseqüentemente, dê suporte ao tratamento quimiométrico e à melhoria permanente dos modelos de calibração multivariada obtidos.

A Rede NIR Embrapa se propõe a estabelecer uma rede de usuários da espectroscopia NIR para o desenvolvimento de estudos e a construção de modelos de calibração multivariados para diferentes parâmetros químicos de amostras de interesse para o agronegócio, incentivando a atualização, a utilização e o uso compartilhado de informações e métodos.

Neste 3º Workshop da Rede NIR Embrapa, a programação (Anexo 1) contou com um seminário apresentado pelo Dr. Jaime Rodriguez (UFPR) sobre o desenvolvimento da espectroscopia no infravermelho próximo na área das ciências biológicas. Foram ministrados também dois minicursos para atualização de conhecimentos na área da espectroscopia no infravermelho próximo, sendo o Minicurso 1: Técnicas de medidas espectrais no infravermelho próximo, ministrado pelo Dr. Celio Pasquini - INCTAA, e o Mini-curso 2: Estudo de casos de uso analítico da Espectroscopia NIR, ministrado pelo Dr. Etelvino Henrique Novotny e pelo Dr. André Marcelo de Souza – Embrapa Solos.

Na sequência da programação do Workshop, foram apresentados trabalhos desenvolvidos nas Unidades da Embrapa abordando o uso da técnica NIR em diferentes aplicações analíticas, possibilitando uma maior integração entre os participantes, troca de experiências, métodos e informações técnico-científicas que contribuirão para o desenvolvimento do trabalho em rede.

A Rede NIR foi organizada em 2011 e envolve uma equipe multidisciplinar da Embrapa que inclui pesquisadores, analistas e técnicos de laboratório. Atualmente, fazem parte do projeto 23 unidades e instituições de pesquisa e extensão, como o Instituto Nacional de Ciências e Tecnologias Analíticas Avançadas (INCTAA).

Espectroscopia no Infravermelho Próximo na Embrapa Gado de Corte

BARROCAS, G.E.G.

Embrapa Gado de Corte

e-mail: gustavo.barrocas@embrapa.br

O Laboratório de Nutrição Animal da Embrapa Gado de Corte processa, anualmente, mais de 10.000 amostras de plantas forrageiras para análises bromatológicas. Essas determinações pelos métodos tradicionais são demoradas, consomem vários reagentes gerando grandes quantidades de resíduos químicos e envolvem várias pessoas no processamento. Em geral, essas determinações requerem de três a quatro dias (algumas até mais, como no caso da digestibilidade “*in vitro*”) para completar a rotina de análise. A situação descrita ocasionava um acúmulo de milhares de amostras de um ano para outro, em virtude da lentidão do processamento e do número de pessoas necessárias no método tradicional.

Após a aquisição do espectrofotômetro de reflectância na região do infravermelho próximo da marca Foss Nirsystems modelo 5000, em 1998, iniciou-se o processo de calibração, com a realização de análises químicas utilizando-se os métodos tradicionais e coleta dos espectros de diferentes tipos de amostras para a obtenção dos modelos de regressão.

Inicialmente, foram feitos modelos de regressão para diferentes partes das plantas (folha, colmo, material morto e planta inteira) e para diferentes espécies de gramíneas (*Brachiaria decumbens* e *B. brizantha*). Mas como seria mais trabalhosa a realização das análises usando-se diversas equações para um mesmo lote de amostras, foi então realizado um modelo de regressão que englobasse todas as partes das plantas e todas as espécies num mesmo arquivo, para se determinar as correlações. Como os resultados obtidos foram até melhores que os obtidos nos arquivos separadamente, adotou-se o

modelo para gramíneas com dados de todas as partes da planta e de todas as espécies para as análises de rotina. Para as amostras de leguminosas, foi feito um modelo de regressão em separado.

Atualmente, o equipamento está calibrado para o processamento simultâneo de dez diferentes determinações (Matéria Seca (MS), Matéria Orgânica (MO), Proteína Bruta (PB), Digestibilidade *in vitro* da Matéria Orgânica (DIVMO), Fibra Detergente Neutro (FDN), Fibra Detergente Ácido (FDA), lignina via ácido sulfúrico, lignina via permanganato de potássio, celulose e sílica) de diferentes gramíneas e de leguminosas forrageiras dentre as mais utilizadas e requeridas pelas pesquisas da Embrapa Gado de Corte. Este processo permite a realização de cerca de 150 a 200 amostras/dia que pelos métodos tradicionais demorariam cerca de 20 a 30 dias. O novo processo de análises permitiu a resolução do problema de armazenamento de amostras, além de grande economia de tempo e de reagentes para a obtenção de resultados confiáveis.

Porém, cabe ressaltar que são necessárias atualizações dos modelos para que sejam feitas análises de novas cultivares, como no caso da *B. humidicola* cv. Tupi, que não apresentou bons resultados com o modelo geral para gramíneas. Então, foram feitas análises químicas via úmida de diversas amostras desta cultivar, e estas foram introduzidas no grupo de amostras e foi feito um novo modelo de regressão que ficou satisfatório, principalmente para a determinação de DIVMO, que apresentava as maiores diferenças entre os resultados das análises químicas e os valores preditos por NIRS.

Palavras-chave: análises bromatológicas, plantas forrageiras, modelos de regressão, rede NIR

Determinação de Matéria Seca, Proteína Bruta e Extrato Etéreo Por espectroscopia no infravermelho próximo, em amostras de milho em grão inteiro e moído

BERNARDI, C.R.; SCHEUERMANN, G.N.;

ZANOTTO, D.L.; LIMA, G.J.M.M. de;

COLDEBELLA, A.; CUNHA Jr., A.

Embrapa Suínos e Aves

e-mail: carlos.bernardi@embrapa.br

A técnica infravermelho próximo caracteriza-se por ser um método analítico rápido, não destrutivo, não invasivo, de aplicação quase universal e exigências mínimas na preparação da amostra. Essa característica elevou a tecnologia como um dos mais importantes métodos para controle de qualidade em todas as áreas da produção. Entretanto, para a análise de grãos, ainda requer a utilização de algum processamento, especialmente a moagem. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a possibilidade de estimar os teores de Matéria Seca (MS), Proteína Bruta (PB) e Extrato Etéreo (EE) por espectroscopia NIR em amostras de milho em grão inteiro (sem moer). Foram utilizadas amostras de milho em grão inteiro e moído recebidas no Laboratório de Análises Físico-Químicas da Embrapa Suínos e Aves entre 1999 e 2011. Os espectros foram obtidos em equipamento NIRSystems 6500 (Foss, Silver Spring, MD), e as equações foram geradas com o software WinISI III (Infrasoft International LLC, Silver Spring, MD, USA), utilizando a Análise de Componentes Principais (*Principal Component Analysis - PCA*) para seleção de amostras e o método estatístico MPLS (*Modified Partial Least Squares*) para o cálculo das equações de calibração, conforme descrito por Figueiredo et al. (2006). Como pré-tratamento dos dados, foi utilizado o método SNV (*Standard Normal Variate & Detrend*) e como tratamento matemático, o modelo 1,4,4,1 para a primeira derivada, *gap*, *smooth* e *smooth2*. As equações foram geradas para espectros obtidos por reflectância difusa na faixa de comprimento de onda de 400 a 2.500 nm. Os valores de referência para

gerar as equações de calibração para MS, PB e EE foram determinados em laboratório segundo metodologia estabelecida pela Association of Official Analytical Chemists (1995), na mesma época da coleta dos espectros. Os resultados obtidos para a equação de calibração para milho em grão foram: a) Para MS: N = 505 amostras, SEC (*Standard Error of Calibration*) = 0,394, SECV (*Standard Error of Cross Validation*) = 0,417, 1-VR (*1-Variance Ratio*) = 0,918, RSQ (*R-Square*) = 0,927, SD (*Standard Deviation*) = 1,459, com valor mínimo de 82,004% e máximo de 90,759%; b) Para PB: N = 610 amostras, SEC = 0,207, SECV = 0,230, 1-VR = 0,941, RSQ = 0,952, SD = 0,946, com valor mínimo de 5,524% e máximo de 11,199%; c) Para EE: N = 517 amostras, SEC = 0,176, SECV = 0,199, 1-VR = 0,822, RSQ = 0,862, SD = 0,473, com valor mínimo de 2,013% e máximo de 4,851%. Os resultados obtidos para a validação da equação de calibração para milho em grão foram: a) Para MS: N = 68 amostras, SEP (*Standard Error of Prediction*) = 0,220, SEP(C) = 0,221 e RSQ = 0,923; b) Para PB: N = 55 amostras, SEP = 0,179, SEP(C) = 0,176 e RSQ = 0,951; c) Para EE: N = 51 amostras, SEP = 0,106, SEP(C) = 0,105 e RSQ = 0,914. Os resultados obtidos para a equação de calibração para milho moído foram: a) Para MS: N = 638 amostras, SEC = 0,304, SECV = 0,314, 1-VR = 0,943, RSQ = 0,947, SD = 1,318, com valor mínimo de 82,335% e máximo de 90,244%; b) Para PB: N = 745 amostras, SEC = 0,162, SECV = 0,172, 1-VR = 0,976, RSQ = 0,978, SD = 1,097 com valor mínimo de 5,404% e máximo de 11,984%; c) Para EE: N = 678 amostras, SEC = 0,170, SECV = 0,182, 1-VR = 0,916, RSQ = 0,927, SD = 0,627, com valor mínimo de 1,784% e máximo de 5,548%. Os resultados obtidos para a validação da equação de calibração para milho moído foram: a) Para MS: N = 96 amostras, SEP = 0,161, SEP(C) = 0,161 e RSQ = 0,957; b) Para PB: N = 71 amostras, SEP = 0,121, SEP(C) = 0,122 e RSQ = 0,983; c) Para EE: N = 82 amostras, SEP = 0,125, SEP(C) = 0,126 e RSQ = 0,935. Os valores obtidos para as equações de calibração e a validação dessas equações para milho em grão e moído demonstraram a viabilidade da predição para os teores de MS, PB e EE por espectroscopia NIR diretamente nas amostras de milho em grão, eliminando etapas de processamento (moagem) e reduzindo o tempo para essas determinações.

Palavras-chave: quimiometria, composição química, calibração

Referências

FIGUEIREDO, L. F. de A.; DAVRIEUX, F.; FLIEDEL, G.; RAMI, J. F.; CHANTEREAU, J.; DEU, M.; COURTOIS, B.; MESTRES, C. Development of NIRS equations for food grain quality traits through exploitation of a core collection of cultivated sorghum. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 54, p. 8501-8509, 2006.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). Fat (Crude) or Ether Extract in Animal Feed. In: CUNIFF, P. (Ed.). **Official methods of analysis of AOAC international**. 16.ed. Gaithersburg: AOAC International, 1995. v. 1.

Comparação entre pré-tratamentos para os modelos *partial least squares* de proteína bruta e matéria mineral em amostras de braquiária

DIAS, M.^{1,2}; DEL SANTO, V. R.¹; SOUZA, G. B.¹.

¹Embrapa Pecuária Sudeste; ²Universidade Federal de São Carlos

e-mail: gilberto.souza@embrapa.br

A técnica de espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS) se apresenta como alternativa aos procedimentos clássicos de análises bromatológicas, possibilitando a realização de análises com baixo custo, sem a utilização de reagentes químicos, com precisão e rapidez. Este trabalho tem como objetivo demonstrar, por meio de comparação, ferramentas de pré-tratamento na elaboração de modelos de calibrações, em NIRS, para as propriedades bromatológicas como Proteína Bruta (PB) e Matéria Mineral (MM). Utilizou-se, para tanto, 148 amostras de braquiária provenientes da coleta de quatro unidades da Embrapa (Pecuária Sudeste, Gado de

Leite, Milho e Sorgo e Gado de Corte) que foram secas, moídas em moinho de facas, distribuídas e analisadas nos laboratórios de cada Unidade. Os valores obtidos foram inseridos junto com os espectros obtidos por NIRS nos modelos de calibração por meio do software Unscrambler X[®]. Foram desenvolvidos modelos de calibração para as propriedades em questão utilizando-se PLS (*Partial Least Squares*) e ferramentas de pré-tratamento como primeira derivada, SNV (*Standard Normal Variate*), MSC (*Multiplicative Scatter Correction*) e normalização. Para avaliação dos modelos de calibração realizou-se uma validação externa com 16 amostras que não estavam contidas no conjunto de calibração e validação interna. Parte do espectro (7.500 cm^{-1} a 10.000 cm^{-1}) foi eliminada por não conter informações relevantes para as propriedades estudadas. Para a PB aplicou-se, primeiramente, a primeira derivada (Savitzky-Golay, 9 pontos) e 5 fatores e obteve-se valor de correlação r igual a 0,99, r^2 para validação interna de 0,98 e RMSECV (*Root Mean Square Error of Cross Validation*) igual a 0,55. Para a validação externa o valor de correlação foi igual a 0,97, r^2 (valor predito versus real) igual a 0,94 e RMSEP (*Root Mean Square Error of Prediction*) igual a 0,52. Aplicou-se também, como pré-tratamento, SNV com 7 fatores. Obteve-se valor de correlação igual a 0,98, r^2 igual a 0,97 e RMSECV 0,62. Para a predição os valores obtidos foram 0,94 para correlação, 0,83 para r^2 (valor predito versus real) e 0,90 para RMSEP. Para o modelo de calibração utilizando MSC e 7 fatores obteve-se correlação de 0,97, r^2 0,95 e RMSECV 0,80. Para a predição correlação 0,92, r^2 0,75 e RMSEP 1,09. Para o modelo de calibração utilizando Normalização e 5 fatores obteve-se correlação 0,98, r^2 0,97 e RMSECV 0,64. Para a validação externa o valor de correlação encontrado foi de 0,95, r^2 (valor predito versus valor real) de 0,90 e RMSEP 0,70. No modelo de calibração para a MM utilizou-se a ferramenta *Hotelling T²* e observou que para todos os pré-tratamentos 21 amostras apresentavam-se como possíveis *outliers*, sendo então retiradas. Na aplicação da primeira derivada (Savitzky-Golay, 9 pontos) e 10 fatores obteve-se correlação de 0,96, r^2 para validação interna 0,92 e RMSECV 0,35. A validação externa foi realizada e obteve-se valor de correlação 0,93, r^2 (valor

predito versus valor real) 0,86 e RMSEP 0,65. Para o pré-tratamento SNV e 7 fatores obteve-se correlação de 0,88, r^2 0,79 e RMSECV de 0,75. Para a predição obteve-se correlação 0,53, r^2 0,20 e RMSEP 1,53. Para MSC com 10 fatores foram encontrados valores de 0,86 para correlação, r^2 0,75 e RMSECV 0,62. Os valores de validação externa foram de 0,89 para a correlação, 0,80 para r^2 (valor real versus predito) e 0,77 para RMSEP. E, por fim, realizou-se normalização com 10 fatores encontrando-se valores de correlação igual a 0,85, r^2 0,73 e RMSEP de 0,04. Para a predição o valor encontrado foi de 0,84 para a correlação 0,63 para r^2 (valor predito versus real) e RMSEP igual a 1,03. Pode-se concluir, portanto, que o melhor modelo de calibração, tanto para PB quanto para MM, é o que utiliza a primeira derivada (*Savitzky-Golay*, 9 pontos). Este apresenta os melhores valores para calibração, validação interna e validação externa.

Palavras-chave: espectroscopia no infravermelho próximo, quimiometria, forrageiras

Pré-caracterização de amostras de plantas do gênero *Paspalum* utilizando a espectroscopia no infravermelho próximo

MAGRINI, V.^{1,2}; DIAS, M.^{1,2}; DEL SANTO, V. R.¹;
SOUZA, G. B.¹; MATTA, F. P.¹;
FÁVERO, A. P.¹

¹Embrapa Pecuária Sudeste; ²Universidade Federal de São Carlos

e-mail: gilberto.souza@embrapa.br

Dentro da família *Poaceae* (Gramíneas), o gênero *Paspalum* é considerado como o mais importante existente nas Américas, pois se trata de um gênero essencialmente pan-americano de gramíneas

tropicais e subtropicais, apresentando grande variabilidade genética entre e dentro de espécies, com algumas apresentando considerável valor forrageiro. Entre os procedimentos analíticos para avaliar a qualidade nutricional, como também o potencial forrageiro, vem sendo utilizada com grande frequência a técnica de espectroscopia de reflectância no infravermelho próximo (NIRS). Essa técnica tem como princípio básico a absorção da luz na região do infravermelho próximo por compostos orgânicos e se baseia no fato de que cada um dos principais componentes possui características específicas de absorção. É uma técnica alternativa aos procedimentos clássicos de análise química bromatológica, sendo considerada precisa, não destrutiva, de baixo custo e com possibilidade de análises simultâneas. O objetivo desse trabalho foi analisar o potencial desta técnica em distinguir diferentes espécies de *Paspalum*, como também de diferentes acessos dentro de cada espécie. Somente para essas análises, foram utilizados três acessos de *Paspalum notatum*, dois de *P. regnellii* e seis acessos que não possuem identificação botânica a priori. Os estudos foram realizados com base em amostras coletadas no mês de março de 2013, sendo as análises realizadas na Embrapa Pecuária Sudeste (São Carlos-SP). O experimento em campo foi instalado em parcelas de 3 x 2 m, com quatro repetições, sendo as amostras obtidas no interior dessas parcelas, considerando uma área de dois metros quadrados. As amostras foram secas em estufa a 60 °C durante 72 horas e moídas em moinho de facas. Em seguida, foram conduzidas ao laboratório, para a coleta dos espectros de cada amostra em triplicata, por meio de um espectrofotômetro de infravermelho próximo. Os dados foram analisados com o auxílio de um software quimiométrico. As análises multivariadas demonstraram grande eficiência na distinção de três grupos: Grupo 1 - acessos de *P. notatum*, Grupo 2 - acessos de *P. regnellii* e Grupo 3 - acessos *Paspalum* spp. Realizando nova análise dentro de cada grupo, houve também a possibilidade de distinção entre os acessos. Contudo, ao analisar o Grupo 3, as inferências devem ser realizadas com cautela pois, somente com base nesses dados, não há como saber se os acessos são de uma mesma espécie. Ressalta-se que essa técnica pode reduzir as diferenças entres

espécies, pois todas as amostras são analisadas com o mesmo perfil de tamanho de partículas e teor de matéria seca. Assim, com base na técnica NIRS, pode-se realizar a discriminação de espécies de *Paspalum*, cujas diferenças existentes entre as amostras são por causa das composições químicas/bromatológicas.

Palavras-chave: *Poaceae*, análise discriminante, gramíneas, quimiometria

Utilização da espectroscopia no infravermelho próximo para discriminação de espécies da família myrtaceae

MENDES, R.A.G.¹; FERREIRA, K.B.¹;

GRATTAPAGLIA, D.²; DE ALENCAR FIGUEIREDO, L.F.¹.

¹Universidade de Brasília; ²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

e-mail: lucioalencar@unb.br

A família Myrtaceae é a oitava família das angiospermas com mais de 5.650 espécies. Ela se caracteriza pela presença de óleos essenciais nas folhas e por possuir frutos secos e carnudos. Entre as plantas lenhosas dessa família se destacam as frutíferas goiaba (*Psidium guajava* L.), jaticaba (*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg), pitanga (*Eugenia uniflora* L.), jambo (*Syzygium jambus* (L.) Alston) e cagaita (*Eugenia dysenterica* DC). Sobressai-se o eucalipto como principal espécie econômica e planta modelo da família Myrtaceae. A espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS - Near Infrared Reflectance Spectroscopy) tem um longo e aplicado histórico de sucesso no controle de qualidade de alimentos, combustíveis, fármacos e matérias-primas. Este sucesso se deve à correlação dos espectros às análises laboratoriais, gerando equações de predição,

que minimizam futuros custos laboratoriais. Nos últimos anos, o potencial discriminatório do NIRS baseando-se somente nos espectros tem sido intensificado com êxito na discriminação de espécies de plantas e animais. Nesse contexto, o objetivo desse trabalho foi o de, utilizando somente o espectro de folhas moídas peneiradas e não peneiradas, discriminar as espécies de gêneros distintos, citadas acima, adicionando-se a murta (*Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O. Berg) e sete espécies do gênero *Eucalyptus* L'Hér. Para as treze espécies da família Myrtaceae foram analisados os espectros para folhas peneiradas e não peneiradas de no mínimo cinco plantas por espécie. Algumas das amostras quando peneiradas não produziram farinha suficiente para completar a célula coletora (50 mm de diâmetro) utilizada para a coleta dos espectros. O equipamento NIR 6500 monocromático (Foss NIRSystems, Silver Spring, MD.) foi utilizado para coletar a reflectância entre 1.100 e 2.498 nm em intervalos de 2 nm, utilizando células coletoras para amostra sólida. A aquisição dos espectros de cada amostra foi feita em duplicata. Os espectros das amostras foram coletados com o auxílio do software WinISI II e posteriormente analisados estatisticamente com o programa *The Unscrambler*® X10.2. Num primeiro momento, todos os espectros foram interpretados numa análise de componente principal (PCA – *Principal Component Analysis*) visando verificar a sobreposição das duplicatas, o que avalia uma boa qualidade na preparação das amostras e coleta dos espectros. Posteriormente, utilizou-se a média das duplicatas para as análises estatísticas. Visando eliminar os ruídos de sinal provocados por variações na preparação das amostras e coleta dos espectros, esses foram tratados com a primeira derivada pelo filtro de *Savitzky-Golay*, seguida por uma correção do espalhamento multiplicativo (MSC - *Multiplicative Scatter Correction*). Numa PCA onde a primeira componente (PC – *Principal Component*) e a segunda explicaram 91% do modelo, um melhor agrupamento e discriminação das espécies pertencentes aos diferentes gêneros foram observados no material não peneirado, principalmente para cagaita, jambo e murta. Todavia, esta informação deverá ser confirmada com uma nova amostragem com maior número de indivíduos. Para o

jambo, foram analisadas folhas em três estádios de crescimento e desenvolvimento (pequeno, médio e grande, 5-7, 8-12 e 13-17 cm, respectivamente) para cinco árvores próximas entre si. Numa PCA onde a PC1 e PC2 explicaram 79% do modelo, as folhas se agruparam por planta e não pelo estádio de crescimento e desenvolvimento. Isso mostra uma fidelidade mais forte à planta do que à composição e estrutura das folhas em diferentes estádios de crescimento e desenvolvimento. Esta observação também será repetida com um número maior de indivíduos. Algumas folhas de goiaba sofreram oxidação, o que talvez explique o não agrupamento dos indivíduos desta espécie. Análises do gênero *Eucalyptus* estão em andamento.

Palavras-chave: estádio de crescimento e desenvolvimento da folha, cagaita, jambo, murta, quimiometria

Determinação de qualidade tecnológica e de micotoxinas em trigo por meio da espectroscopia no infravermelho próximo (nirs)

TIBOLA, C.S.; DELANORA, R.

Embrapa Trigo

e-mail: casiane.tibola@embrapa.br

Na Embrapa Trigo, o equipamento infravermelho próximo (NIR) está sendo utilizado, majoritariamente, para a caracterização da qualidade tecnológica, por meio da determinação de proteína e de umidade relativa no trigo. Além desta aplicação, também está sendo empregada para a quantificação de deoxinivalenol (DON), a micotoxina de maior relevância associada com a cultura do trigo. O objetivo é analisar de maneira rápida, econômica e não destrutiva os principais parâmetros de qualidade e os contaminantes, visando à segregação do trigo. As amostras de grãos de trigo foram

provenientes de lavouras comerciais e de experimentos conduzidos pelo programa de melhoramento da Embrapa Trigo no período 2009-2012. Para o desenvolvimento de curvas de calibração no NIR, primeiramente foi efetuada a coleta de espectros no grão de trigo, e, depois de moídos os grãos, coletou-se o espectro da amostra do trigo moído e, posteriormente, as mesmas amostras foram analisadas através de métodos de referência (PASCALE; VISCONTI, 2008). Quando analisado o parâmetro proteína total em 548 amostras de trigo moído, os valores obtidos na validação foram r^2 0,99 e SEP (*Standard Error of Prediction*) 0,19%. Para o parâmetro umidade determinado em 528 amostras de trigo moído, foram obtidos r^2 0,89 e SEP 0,15% na validação. O método NIRS apresentou adequada performance e utilidade prática para a análise quantitativa de amostras desconhecidas de trigo, quanto aos parâmetros proteína e umidade. Para DON foram analisadas 611 amostras de trigo moído, e na avaliação de desempenho do modelo foram obtidos valores de r^2 0,80 e de SECV 626 ppb, indicando a capacidade de discriminar entre os níveis baixo e alto de DON nas amostras. A técnica NIRS pode ser utilizada para seleção de genótipos em programas de melhoramento genético e para separar lotes de trigo de acordo com a aptidão tecnológica e níveis da micotoxina DON, contribuindo para a comercialização de alimentos seguros e de qualidade para os consumidores.

Palavras-chave: segregação, aptidão tecnológica, calibração multivariada

Referências

PASCALE, M.; VISCONTI, A. Overview of detection methods for mycotoxins. In: LESLIE, J. F.; BANDYOPADHHYAY, R.; VISCONTI, A. (Ed.). **Mycotoxins: detection methods, management, public health and agricultural trade**. Wallingford: CABI, 2008. p. 169-183.

Aplicação da espectroscopia no infravermelho próximo para avaliação da homogeneidade de amostras candidatas a material de referência

SANTOS, P. M.; DIAS, M.; DEL SANTO, P. M.; SOUZA, G.B.

Embrapa Pecuária Sudeste

e-mail: gilberto.souza@embrapa.br

A espectroscopia na região do infravermelho próximo (NIRS) tem despertado grande interesse em diferentes áreas em razão da necessidade do desenvolvimento de novos procedimentos analíticos, alternativos aos tradicionais, e que sejam mais baratos e eficientes. O uso desta técnica, quando associada a métodos de calibração multivariada, tem possibilitado o desenvolvimento de procedimentos rápidos, simples, robustos, não destrutivos e não invasivos. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a aplicação da espectroscopia NIR para verificação da homogeneidade em amostras candidatas a material de referência. Para o desenvolvimento deste estudo, 10 diferentes frascos de amostras de planta forrageira *Setaria sphacelata* v. *anceps*, obtidos de experimentos realizados na Embrapa Pecuária Sudeste. Os frascos foram aleatoriamente separados e analisados em um espectrômetro NIR modelo NIR-Flex N-500 (Buchi, Flawil, Suíça). Os espectros de NIR foram coletados no modo de reflectância difusa, na região espectral de 10.000 a 4.500 cm^{-1} , com uma resolução de 4 cm^{-1} . Os resultados foram analisados no programa computacional Pirouette versão 4.0 (Infometrix Inc., Woodville, WA, EUA) com auxílio das ferramentas quimiométricas de Análise por Componentes Principais (PCA - *Principal Components Analysis*) e (SIMCA - *Soft Independent Modeling of Class Analogy*). Antes de efetuar estas análises, os espectros de NIR foram normalizados, a segunda derivada foi aplicada (Savitzky-Golay, 25 pontos) e, então, os espectros foram centrados na média. A partir do gráfico de

scores, obtido com a ferramenta PCA, observou-se uma distribuição aleatória entre as amostras. Modelos de classificações SIMCA foram desenvolvidos e através do valor da distância entre as classes (ICD - *Interclass Distance*) foi possível verificar a similaridade e/ou homogeneidade entre elas. Um valor de ICD próximo a zero indica que as amostras são praticamente idênticas. Valor de ICD $> 0,0$ e $\leq 3,0$ sugere que as amostras são similares. E o valor de ICD $> 3,0$ indica que as amostras são diferentes. Os valores de ICD obtido entre as amostras de diferentes frascos foi $\leq 3,0$, indicando similaridade entre elas. Também foi calculado o valor de ICD entre amostras do mesmo frasco e o valor obtido também foi $\leq 3,0$, indicando uma homogeneidade dentro do frasco. Os resultados obtidos foram comparados com os obtidos com as técnicas espectroanalíticas (FAAS, ICP-OES, ICP-MS) e os resultados obtidos confirmaram a homogeneidade da amostra. Neste contexto conclui-se que técnica de NIRS pode ser utilizada para a avaliação da homogeneidade de amostras candidatas a material de referência.

Palavras-chave: forrageira, calibração multivariada, SIMCA, quimiometria

Considerações Finais

A realização do 3º Workshop de Capacitação em Espectroscopia NIR, Tratamento de Dados, Aspectos Práticos e Aplicações Analíticas foi essencial para nivelar e ampliar o conhecimento no desenvolvimento de modelos de calibração multivariada utilizando a técnica de espectroscopia no infravermelho próximo. Com o trabalho desenvolvido no workshop, os participantes puderam acompanhar desenvolvimento, validação e implementação dos modelos de calibração NIRS em rotina laboratorial.

A mudança cultural e técnica para a implementação da análise química utilizando a espectroscopia NIR é um fator que precisa ser

continuamente trabalhado na Embrapa, com outras oportunidades para capacitação e divulgação dos resultados obtidos com o uso desta técnica.

As características de economia e redução de tempo indicam que a espectroscopia de reflectância no infravermelho próximo é uma metodologia que permitirá grandes avanços tanto na implementação de rotinas analíticas como nas atividades de pesquisa relacionadas aos programas de melhoramento genético e agricultura de precisão, potencializando os diversos projetos de pesquisa em andamento nas Unidades.

Anexo 1

 <p>Projeto Macro 05</p> <p>Rede Embrapa em Espectroscopia no Infravermelho Próximo – Rede NIRS</p>	<p>PARA MAIS INFORMAÇÕES</p> <p>Maria Lúcia Ferreira Simeone 31 3027-1264 marialucia.simeone@embrapa.br</p> <p>Apoio</p>  <p>A SERVIÇO DA QUALIDADE</p>  <p>Organização</p> 	<p>3º Curso de Capacitação em Espectroscopia no Infravermelho Próximo (NIR)</p> <p>Tratamento de Dados, Aspectos Práticos e Aplicações Analíticas.</p>
		<p>Palestrantes</p> <p>Dr. Célio Pasquini – UNICAMP Dr. Etelvino Henrique Novotny – CNPS Dr. André Marcelo de Souza – CNPs</p> <p>Período 3 a 5 de setembro de 2013</p> <p>Horário 8:30 às 17:30 h</p> <p>Local Embrapa Milho e Sorgo Sete Lagoas – MG</p>

Folder do 3º Workshop da Rede NIR Embrapa.

3º Curso de Capacitação em Espectroscopia no Infravermelho Próximo (NIR)

Tratamento de Dados, Aspectos Práticos e Aplicações Analíticas.

Dia	Horário	Atividades	Dia	Horário	Atividades	
03/09	8:30	Abertura do evento	04/09	8:30	Módulo 2	
	9:00	Palestra-Desenvolvimento da Espectroscopia na área das Ciências Biológicas		10:00	Coffee break	
		Dr. Jaime Rodriguez		10:20	Modulo 2	
	10:00	Coffee break		12:00 às 13:30	Almoço	
	10:20	Modulo 1		13:30	Módulo 2	
	12:00 às 14:00	Almoço		15:00	Coffee break	
	14:00	Módulo 1		15:20 às 17:00	Módulo 2	
	14:00	Módulo 1		17:00	Apresentação trabalho - NutriOvi	
	15:30	Coffee break		17:00 às 17:30	Apresentação trabalho - NutriOvi	
	15:45	Modulo 1				
	17:00 às 17:30	Apresentação - Buchi				
			Dia	Horário	Atividades	
			05/09	8:30	Modulo 2	
				10:00	Coffee break	
				10:20	Modulo 2	
				12:00 às 13:30	Almoço	
				13:30	Apresentação de trabalhos	
				15:00	Coffee break	
				15:20 às 16:00	Apresentação de trabalhos	
				16:00	Reunião do grupo gestor da Rede NIR Embrapa	
				16:00 às 17:30		

Ementa:

Módulo 1 – Técnicas de medidas espectrais no infravermelho próximo.
Dr. Celio Pasquini - Unicamp

Módulo 2 – Estudo de casos de uso Analítico da Espectroscopia NIR.
Dr. Etelvino Henrique Novotny – CNPS
Dr. André Marcelo de Souza – CNPs

Folder do 3º Workshop da Rede NIR Embrapa.



Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento

