

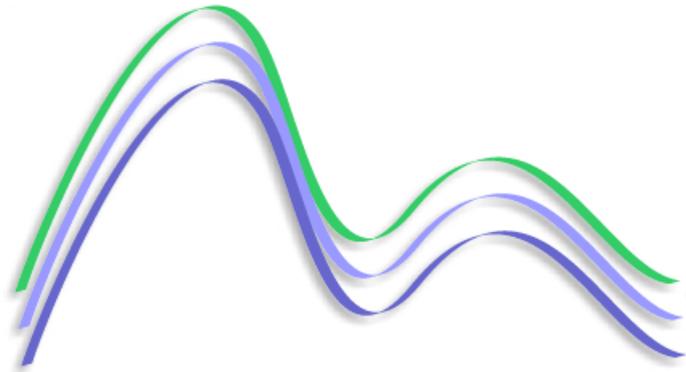


1º Workshop de Aplicações de Espectroscopia NIR e Quimiometria em Análise de Solos

**4 e 5 de dezembro de 2014
Auditório da Embrapa Solos
Rio de Janeiro, RJ**



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



1º Workshop
Aplicações de Espectroscopia NIR e
Quimiometria em Análise de Solos
Embrapa Solos – Rio de Janeiro de 4 a 5 de dezembro 2014

Embrapa
Brasília, DF
2015

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Solos

Endereço: Rua Jardim Botânico, nº 1.024, Jardim Botânico

CEP: 22460-000, Rio de Janeiro, RJ

Fone: + 55 (21) 2179-4500

Fax: + 55 (21) 2179-5291

<https://www.embrapa.br/solos>

<https://www.embrapa.br/fale-conosco/sac/>

Comitê de Publicações da Embrapa Solos

Presidente: *José Carlos Polidoro*

Secretário-Executivo: *Jacqueline Silva Rezende Mattos*

Membros: *Ademar Barros da Silva, Adriana Vieira de Camargo de Moraes, Alba Leonor da Silva Martins, Enyomara Lourenço Silva, Evaldo de Paiva Lima, Joyce Maria Guimarães Monteiro, Luciana Sampaio de Araujo, Maria Regina Capdeville Laforet, Maurício Rizzato Coelho, Moema de Almeida Batista*

Supervisão editorial: *Jacqueline Silva Rezende Mattos*

Revisão de texto: *André Luiz da Silva Lopes*

Normalização bibliográfica: *Luciana Sampaio de Araujo*

Editoração eletrônica: *Moema de Almeida Batista*

Capa: *Eduardo Guedes de Godoy*

1ª edição

Publicação digitalizada (2015)

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 Solos

Workshop de Aplicações de Espectroscopia NIR e Quimiometria em Análise de Solos (1. : 2014 : Rio de Janeiro, RJ)

1º Workshop de Aplicações de Espectroscopia NIR e Quimiometria em Análise de Solos: Embrapa Solos - Rio de Janeiro de 04 a 05 de dezembro de 2014 / André Marcelo de Souza, Maurício Rizzato Coelho, editores técnicos. – Dados eletrônicos. – Brasília, DF : Embrapa, 2015.

34 p.

Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader.

Modo de acesso: <<https://www.embrapa.br/solos/publicacoes>>.

Título da página da Web (acesso em 20 dez. 2015).

ISBN 978-85-7035-569-0

1. Análise química. 2. Análise do solo. I. Souza, André Marcelo de. II. Coelho, Maurício Rizzato. III. Embrapa Solos. IV. Título.

CDD (23. ed.) 543.57

© Embrapa 2015

Editores técnicos

André Marcelo de Souza

Químico, doutor em Química Analítica, analista da Embrapa Solos, Rio de Janeiro, RJ

Maurício Rizzato Coelho

Engenheiro-agrônomo, doutor em Solos e Nutrição de Plantas, pesquisador da Embrapa Solos, Rio de Janeiro, RJ

Autores

André Marcelo de Souza

Químico, doutor em Química Analítica, analista da Embrapa Solos, Rio de Janeiro, RJ

Etelvino Henrique Novotny

Engenheiro-agrônomo, doutor em Física Química, pesquisador da Embrapa Solos, Rio de Janeiro, RJ

Marcelo Martins de Sena

Químico, doutor em Química Analítica, professor da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG

Maria Lúcia Ferreira Simeone

Química, doutora em Química, pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG

Maurício Rizzato Coelho

Engenheiro-agrônomo, doutor em Solos e Nutrição de Plantas, Pesquisador da Embrapa Solos, Rio de Janeiro, RJ

Patrícia Valderrama

Química, doutora em Química Analítica, professora da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campo Mourão, PR

Paulo Henrique Março

Químico, doutor em Química Analítica, professor da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campo Mourão, PR

Ronei Jesus Poppi

Químico, doutor em Química, professor da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), Campinas, SP

Agradecimentos

À Embrapa Solos, pelo financiamento do Projeto A Espectroscopia Vis-NIR-MIR e a Quimiometria na avaliação simultânea de vários atributos do solo: rumo à inovação e adequação dos laboratórios de solos aos preceitos da química verde (Projeto MP3 nº. 03.12.03.010.00.00).

À PerkinElmer, representada por Thiago Fatobene, Evandro Kaibara e Alceu Luccas, pelo patrocínio do Workshop.

Aos colaboradores da Embrapa Solos (em ordem alfabética): Ademir Fontana, Aurélio Martins Favarin, Carlos Souza Dias dos Santos, Conceição Aparecida de Oliveira e Silva, David Dias Moreira Filho, Eduardo Guedes de Godoy, Elisângela Roque dos Santos, José Flávio Xavier Barbosa, Maria Regina Capdeville Laforet, Murillo Matheus, Rojane Chapeta Peixoto e Silvana de Freitas Azevedo Moreira.

Apresentação

A espectroscopia na região do infravermelho próximo (*Near Infrared Spectroscopy*; NIR), sempre associada à quimiometria, é uma técnica versátil, aplicada a diversas áreas da ciência. É rápida, não destrutiva, de baixo custo e, além disso, “limpa”, requerendo pouco ou nenhum reagente. Esse último fator a torna uma ferramenta alinhada aos preceitos da Química Verde. É recente seu uso na Ciência do Solo para avaliação de vários de seus atributos, incluindo aqueles relativos à Química, Classificação e Fertilidade do solo.

A quimiometria, por outro lado, é uma área oriunda da Química Analítica que emprega métodos matemáticos, estatísticos e computacionais para extrair informações relevantes de conjuntos de dados multivariados. A relação estabelecida entre a quimiometria e a espectroscopia NIR é de simbiose, pois se a espectroscopia NIR depende da quimiometria para uma interpretação mais eficiente dos dados espectrais. A quimiometria se beneficia do tipo e da elevada quantidade de informação espectral gerada para o desenvolvimento de novos métodos em seus diversos campos, tais como calibração multivariada, reconhecimento de padrões e planejamento de experimentos.

Diante da relevância, potencial e dos desafios para implantação da espectroscopia NIR nas rotinas de análise de solo, um grupo de

pesquisadores da Embrapa Solos vislumbrou a necessidade de, pela primeira vez, agrupar alguns dos principais profissionais do Brasil que trabalham ou tem potencial para desenvolver a técnica aplicada à análise de solo. O espaço para tal foi o 1º Workshop de Aplicações de Espectroscopia NIR e Quimiometria a Análise de Solos. Realizado na Embrapa Solos, nos dias 4 e 5 de dezembro de 2014, o Workshop é parte integrante de um projeto financiado pela Embrapa, intitulado A Espectroscopia Vis-NIR-MIR e a quimiometria na avaliação simultânea de vários atributos do solo: rumo à inovação e adequação dos laboratórios de solos aos preceitos da química verde (Projeto MP3 - 03.12.03.010.00.00).

O Workshop objetivou avaliar o estado da arte da espectroscopia NIR e da quimiometria no Brasil, discutir os gargalos da aplicação das técnicas como método de rotina nas análises de solo, e as soluções para tal, direcionando trabalhos futuros por meio de novas parcerias entre instituições de ensino, pesquisa e empresas privadas, incluindo fabricantes de instrumentos e laboratórios de análises de solo.

Nove palestrantes de diferentes instituições (Unicamp, UFMG, UTFPR e PerkinElmer) e 45 inscritos participaram do Workshop, incluindo estudantes de graduação e pós-graduação, profissionais e pesquisadores

de diversas instituições de ensino e pesquisa do setor público, bem como profissionais do setor privado. Apesar do foco do evento ter sido a aplicação da espectroscopia NIR e da quimiometria na análise de solo, o público foi bastante diversificado. Estavam presentes, por exemplo, profissionais de empresas da área de biotecnologia interessados em informações sobre a implantação dessas técnicas na área de produção de biocombustíveis e vacinas. Essa diversidade evidencia a versatilidade de aplicação da espectroscopia e a carência de eventos dessa natureza no Brasil.

O presente texto visa documentar os resumos de oito palestras ministradas no 1º Workshop de Aplicações de Espectroscopia NIR e Quimiometria em Análise de Solos. Os principais temas abordados neste texto são: (1) preparo de amostras de solo para Espectroscopia NIR; (2) técnicas quimiométricas aplicadas à espectroscopia NIR; (3) desenvolvimento e validação de métodos multivariados em espectroscopia NIR; (4) figuras de mérito em análise multivariada; e (5) aplicação da espectroscopia NIR em matrizes de interesse agronômico.

Daniel Vidal Pérez

Chefe-Geral da Embrapa Solos

Sumário

Programação do evento	14
Resumos das palestras	15
Quimiometria aplicada à espectroscopia NIR	15
Rede Net-NIRS da Embrapa	16
Validação em espectroscopia NIR	18
A espectroscopia NIR como método de rotina para a determinação de atributos do solo	20
Espectroscopia NIR e calibração multivariada: aplicações na análise de amostras de interesse agrônômico	21
Aplicação de MCR-ALS em calibração pseudo-univariada ..	23
Componentes principais como ferramenta auxiliar na interpretação de dados espectroscópicos	25
Formas de coleta e preparo de amostras de terra	27
Considerações finais	31
Lista dos participantes inscritos	32

Programação do evento

Programação	Horário
Dia 4/12/2014	
Abertura do Workshop	08:30 às 09:00
“Quimiometria aplicada à espectroscopia NIR” Prof. Dr. Ronei Jesus Poppi Instituto de Química, Unicamp, Campinas, SP	09:00 às 09:45
Coffee Break	09:50 às 10:35
“Rede Net-NIRS da Embrapa” Dra. Maria Lucia Simeone Embrapa Milho e Sorgo 10:40 as 11:25	10:40 às 11:25
Almoço	11:30 às 13:30
“Validação em espectroscopia NIR” Profa. Dra. Patrícia Valderrama UTFPR	13:30 às 14:15
Coffee Break	14:20 às 15:05
“A espectroscopia NIR como método de rotina para a determinação de atributos do solo” Dr. André Marcelo de Souza Embrapa Solos	15:10 às 15:55
Dia 5/12/2014	
Espectroscopia NIR e Calibração Multivariada: Aplicações na análise de amostras de interesse agronômico Prof. Dr. Marcelo Martins de Sena UFMG	08:30 às 09:15
Aplicação de MCR-ALS em calibração pseudo- univariada Prof. Dr. Paulo Henrique Março UTFPR	09:20 às 10:05
Coffee Break	10:10 às 10:55
Componentes Principais como ferramenta auxiliar na interpretação de dados espectroscópicos Dr. Etelvino Henrique Novotny Embrapa Solos	11:00 às 11:45
Almoço	11:50 às 13:30
Formas de coleta e preparo de amostras de terra Dr. Maurício Rizzato Coelho Embrapa Solos	13:35 às 14:20
Inovações tecnológicas nos sistemas FT-NIR PerkinElmer Dr. Thiago Fatobene PerkinElmer	14:25 às 15:10
Encerramento e reunião para discussão de projetos futuros	15:20

Resumos das palestras

Quimiometria aplicada à espectroscopia NIR

Ronei Jesus Poppi

No espectro eletromagnético, a região do Infravermelho próximo (*Near Infrared Spectroscopy* - NIR) está localizada entre o visível e o infravermelho médio, na faixa espectral compreendida entre 12.500 cm⁻¹ a 4.000 cm⁻¹ ou 800 cm a 2.500 mm. Nesta região são detectadas as vibrações de primeiro, segundo e terceiro sobretons (*overtones*) de bandas fundamentais observadas no infravermelho médio, bem como bandas de combinação. O espectro NIR é caracterizado por bandas tipicamente largas, fracas e sobrepostas, sendo que estas características limitam a análise univariada dos dados, fato que torna a técnica dependente da análise multivariada ou quimiométrica para uma interpretação eficiente. Diversos autores afirmam que a espectroscopia NIR e a Quimiometria convivem em simbiose. Devido ao fato da espectroscopia NIR possuir bandas largas e sobrepostas, esta se beneficia da Quimiometria para tornar-se uma ferramenta cada vez mais robusta para identificação e quantificação de diversos parâmetros em diferentes matrizes. Por sua vez, a Quimiometria se beneficia do tipo e da elevada quantidade de informação espectral gerada pela espectroscopia NIR para o desenvolvimento e aplicações de novos métodos. A Quimiometria envolve a aplicação de métodos matemáticos, estatísticos e computacionais para planejar, investigar e fazer previsão de conjuntos de dados de interesse químico. São muitos os métodos quimiométricos, sendo que as suas aplicações dependem da natureza do problema que se deseja resolver ou do tipo de informação que se pretende obter. De maneira geral, os métodos que formam a base da Quimiometria podem ser classificados como de reconhecimento de padrões, calibração multivariada, resolução multivariada de sinais e planejamento de experimentos. A aplicação desses métodos basicamente requer algumas etapas fundamentais para a correta interpretação dos dados, como pré-processamento das respostas instrumentais, seleção de variáveis, remoção de *outliers* e o cálculo de algumas figuras de mérito para assegurar a validade dos modelos construídos.

Rede Net-NIRS da Embrapa

Maria Lucia Simeone

Uma das técnicas analíticas que possibilita a realização de análises químicas com precisão, rapidez, baixo custo e pouca manipulação de amostras é a espectroscopia no infravermelho próximo. O interesse pela espectroscopia NIR cresceu notavelmente e esta técnica foi reconhecida como uma poderosa técnica para análises quantitativas e qualitativas de parâmetros químicos e físicos. A Rede NIR é uma rede de laboratórios da Embrapa para o desenvolvimento de estudos e construção de modelos de calibração multivariados para diferentes parâmetros químicos, de diferentes matrizes de interesse agropecuário, utilizando a técnica de espectroscopia NIR. Em termos institucionais, a Rede NIR contribui para o processo de atualização contínua dos processos de PD&I e da infraestrutura, assegurando a atualização, utilização e uso compartilhado de informações e métodos. Busca integrar os empregados da Embrapa que são usuários dessa técnica, com vistas ao aumento das parcerias institucionais, da otimização da infraestrutura analítica dos laboratórios, capacitação e ampliação dos conhecimentos no uso dessa importante técnica analítica. Atualmente, a Embrapa possui 26 equipamentos NIR localizado em 25 diferentes Unidades em todo Brasil. Atua no desenvolvimento de modelos de calibração multivariada para possibilitar a determinação de constituintes químicos de diferentes matrizes, com precisão, rapidez, baixo custo e pouca manipulação das amostras, além da minimização na geração de resíduos químicos. Objetivo esse que vem incentivar a aplicação dos princípios da química verde e da otimização de recursos e infraestrutura por parte da empresa. Um exemplo de sucesso nesse processo são os modelos globais para a composição química de gramíneas forrageiras, o qual contou com a colaboração das Unidades Algodão, Gado de Corte, Gado de Leite, Milho e Sorgo e Pecuária Sudeste. O modelo desenvolvido incluiu amostras de várias regiões do Brasil e com características bem diferentes, como por exemplo, amostras de gramíneas forrageiras em vários estágios de crescimento e sistemas

de produção. Os resultados obtidos contribuirão para a ampliação das informações de caracterização química das matrizes de interesse de cada Unidade, potencializando a aplicação de uma ferramenta analítica capaz de melhorar a caracterização química e dar suporte aos programas de melhoramento genético vegetal de forrageiras e outras matrizes.

Integrar os resultados obtidos com o interesse de outras redes já constituídas pela Embrapa e que visam à caracterização de um grande número de amostras, também é uma grande oportunidade para o trabalho da Rede NIR. A partir do aperfeiçoamento e implementação dos modelos de calibração NIR é possível vislumbrar uma melhor caracterização química dos produtos que dele são objeto e, conseqüente, aumentar a produtividade analítica dos laboratórios de rotina. Esta técnica possibilitará a ampliação significativa do número de amostras quimicamente caracterizadas, bem como a redução dos custos e do tempo de análise, permitindo maior agilidade na obtenção de resultados e potencializando os diversos projetos de pesquisa em andamento nas Unidades. Com o trabalho da Rede NIR foi possível capacitar mais de 50 empregados da Embrapa visando à implementação de métodos rápidos de análise que irão permear todo o trabalho em rede previsto nos arranjos e portfolios corporativos. A Rede NIR também incentiva o avanço do conhecimento e de novas aplicações da espectroscopia no infravermelho próximo na agricultura.

Validação em espectroscopia NIR

Patrícia Valderrama

A necessidade de qualidade em medições químicas, através de sua comparabilidade, rastreabilidade e confiabilidade, é cada vez mais reconhecida e exigida, uma vez que dados analíticos não confiáveis ou resultados distorcidos podem conduzir a decisões desastrosas e a prejuízos financeiros consideráveis. Sempre que um procedimento analítico é proposto ou desenvolvido existe a necessidade de se averiguar se o método apresenta um desempenho adequado para as condições nas quais será aplicado. Esse processo de averiguação é conhecido como validação. A validação de um método estabelece, por estudos sistemáticos realizados em laboratório, que o método atende ao seu propósito e às normas estabelecidas por agências reguladoras e órgãos de fiscalização nacionais e internacionais, como *United States Pharmacopeia* (USP), *International Conference on Harmonisation's* (ICH), *International Standard Organization* (ISO), *American Society for Testing and Materials* (ASTM). A validação de um procedimento analítico pode ser atestada através da determinação de parâmetros conhecidos como figuras de mérito. Essas figuras, dependendo de onde o método será aplicado, do seu propósito e ou do órgão de fiscalização a que estará sujeito, podem variar, sendo as principais: exatidão, precisão, sensibilidade, seletividade, linearidade, razão sinal/ruído, limite de detecção, limite de quantificação, robustez, intervalos de confiança, teste para erros sistemáticos, extensão da faixa de trabalho ou faixa linear dinâmica. A maneira pela qual essas figuras de mérito devem ser determinadas geralmente é estabelecida por órgãos de fiscalização e encontra-se descrita em normas específicas, guias de validação e trabalhos científicos. Os guias, normas e trabalhos científicos trazem, de forma bem estabelecida, à maneira de se calcular as figuras de mérito em calibração univariada. Para modelos multivariados que utilizam um vetor de dados por amostra – espectroscopia NIR, descritos na literatura como calibração de primeira ordem, a validação pode ser considerada relativamente complexa, porém definida. Figuras de mérito como exatidão, precisão, robustez e bias são estimadas de maneira

bastante similar aos métodos de calibração univariada, o que não é verdadeiro para parâmetros como linearidade, sensibilidade, razão sinal/ruído, ajuste, seletividade e intervalos de confiança. A seletividade e a razão sinal/ruído são parâmetros ainda mais críticos e que somente podem ser estimados mediante o cálculo do sinal analítico líquido para a propriedade de interesse a ser quantificada.

A espectroscopia NIR como método de rotina para a determinação de atributos do solo

André Marcelo de Souza

As pesquisas atuais apontam que a espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) é a técnica alternativa mais promissora para a determinação de carbono orgânico do solo (SOC) em substituição total ou parcial aos métodos tradicionais de via úmida. Considerado este fato, será apresentado um método desenvolvido e validado para a determinação de SOC por espectroscopia no infravermelho próximo, visando seu emprego como método de rotina em laboratórios de análise de solos do Brasil. Para este fim, foram construídos modelos de calibração multivariada a partir de um número expressivo de amostras de solos (1.490 amostras, 2.980 espectros) que englobam expressiva variabilidade de solos brasileiros. Estes modelos foram validados através da submissão dos valores previstos das concentrações de matéria orgânica do solo (SOM) ao Programa de Análise de Qualidade de Laboratórios de Fertilidade (PAQLF). A questão envolvendo transferência de calibração entre múltiplos instrumentos também foi avaliada. Demonstrou-se que quando dois ou mais espectrofotômetros NIR são empregados na aquisição dos dados, recomenda-se que ambos sejam de mesma configuração (mesma marca, modelo e sistema de varredura). Porém, quando instrumentos diferentes foram envolvidos, o método de atualização do modelo através da matriz aumentada apresentou resultados satisfatórios em relação aos demais métodos avaliados. Existem, no entanto, pelo menos dois gargalos na implementação da espectroscopia NIR em análises de rotina: (1) o elevado custo dos instrumentos em relação ao orçamento dos laboratórios de análise de solos no Brasil; (2) a necessidade do emprego da Quimiometria na etapa de modelagem dos dados. Ambas as questões podem ser solucionadas com políticas de subsídios para compra de instrumentos e intensivos treinamentos em Quimiometria e espectroscopia NIR, que podem ser oferecidos pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária e por instituições de ensino superior do Brasil.

Espectroscopia NIR e calibração multivariada: aplicações na análise de amostras de interesse agrônômico

Marcelo Martins de Sena

Nos últimos 10 anos, muitos artigos foram publicados aplicando conjuntamente espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) e calibração multivariada na análise de diversas amostras de interesse agrônômico, tais como solos, plantas e matérias-primas. Esses estudos são de grande importância na substituição das metodologias analíticas relativamente caras e demoradas, baseadas em técnicas cromatográficas e via-úmida, as quais são atualmente predominantes nos laboratórios de análises agrônômicas. Considerando a grande quantidade de amostras rotineiramente analisadas, a combinação de NIR e quimiometria proporciona uma alternativa com inúmeras vantagens: mais rápida, barata, não destrutiva, ambientalmente amigável, não consumindo solventes e gerando pouco ou nenhum resíduo, e requerendo um mínimo pré-tratamento das amostras com menor intervenção humana. Um aspecto adicional para a consolidação desses métodos em condições reais de uso é a validação analítica multivariada, essencial para o seu reconhecimento pelos organismos reguladores. Desta maneira, esse resumo apresenta o desenvolvimento e validação de modelos baseados em NIR e regressão por quadrados mínimos parciais (*Partial Least Squares*, PLS) para a previsão de parâmetros de biomassa de sorgo sacarino, obtidos em condições reais de análise, numa parceria com a Embrapa Milho e Sorgo (Sete Lagoas, MG). A biomassa de sorgo sacarino é uma matéria-prima promissora para a produção de bioetanol de segunda geração e os programas de melhoramento genético buscam desenvolver novos híbridos para aumentar a sua qualidade e produtividade, gerando uma demanda de análises para uma enorme quantidade de amostras. Neste trabalho, os modelos quimiométricos foram construídos a partir de 957 amostras de biomassa provenientes de aproximadamente cem

híbridos e linhagens puras de sorgo. Os parâmetros composicionais da biomassa de sorgo, celulose (CEL), hemicelulose (HEM) e lignina (LIG), foram determinados nas faixas de 21,4% a 49,1% m/m, 18,4% a 34,8% m/m e 1,8% a 11,5% m/m, respectivamente. Além disso, foi construído um modelo para estimar o rendimento teórico de etanol (RTE) na faixa de 221 L/t a 412 L/t, o qual tem a vantagem de não requerer a determinação da composição de açúcares, o que exigiria o uso de métodos cromatográficos, representando uma enorme economia de recursos analíticos para o laboratório. Os modelos PLS construídos apresentaram valores de raiz quadrada do erro quadrático médio de previsão (*Root Mean Squares Error of Prediction*, RMSEP) de 1,5%, 1,7%, 0,8% e 12 L/t para CEL, HEM, LIG e RTE, respectivamente. Os métodos desenvolvidos foram submetidos a uma validação analítica completa, através da estimativa de parâmetros de veracidade, precisão, linearidade, seletividade, sensibilidade analítica, viés e razão de desempenho do desvio (*Residual Prediction Deviation*, RPD). Após a implementação dos métodos desenvolvidos no laboratório, suas estabilidades foram monitoradas por aproximadamente seis meses através do desenvolvimento de cartas de controle. Para a construção destas cartas, cinquenta amostras foram coletadas de maneira representativa em intervalos de tempo igualmente espaçados. Todos os modelos apresentaram estabilidade satisfatória.

Aplicação de MCR-ALS em calibração pseudounivariada

Paulo Henrique Março

Os métodos de Resolução Multivariada de Curvas (*Multivariate Curve Resolution*, MCR) são métodos de processamento de sinais analíticos que tem o intuito de resolver misturas de sinais, também chamados de métodos de cromatografia virtual. Esses métodos recuperam valores de concentração relativa e os espectros puros dos componentes relacionados a tais concentrações dentro da amostra, a partir de uma matriz de dados que contém os valores para as variáveis analisadas. O método de Resolução Multivariada de Curvas com Mínimos Quadrados Alternantes (*Multivariate Curve Resolution with Alternating Least-Squares*, MCR-ALS) é um tipo de MCR no qual a resolução da matriz de dados é realizada de uma forma iterativa, na qual o melhor ajuste observado para os dados é oferecido como resposta. Isso se deve ao fato de que os métodos de resolução apresentam ambiguidade rotacional intrínseca, e para minimizar este efeito, restrições às respostas como a não-negatividade, balanço de massa e unimodalidade podem ser aplicadas. Para que o MCR consiga obter resultados mais condizentes com as informações químicas, as restrições proporcionam aproximações que podem ser realizadas durante a resolução iterativa, e devem ser consideradas por proporcionarem flexibilidade para lidar com vários tipos de arranjos de dados e problemas químicos, além da habilidade para acomodar informações externas no processo de resolução, tais como as informações de conhecimento prévio de concentrações e de espectros. A aplicação do MCR-ALS tem crescido de forma exponencial, sendo que nos anos de 2013 e 2014 já foram publicadas muitas novas aplicações, representando cerca de um terço (1/3) do total de publicações neste tema. Dentre as principais vantagens oferecidas pela aplicação do MCR-ALS como método de calibração pseudo-univariada, destacam-se: (a) o aumento da seletividade proporcionada pelo método, já que este permite a utilização de um perfil espectral das espécies que se quer

encontrar dentro da amostra, algo que é de grande interesse quando se quer trabalhar com amostras complexas como o caso do solo, (b) a diminuição significativa da quantidade de amostras para construção dos modelos, (c) simplicidade da metodologia de calibração, uma vez que se trata os dados como se fossem univariados, além (d) da vantagem de segunda-ordem, que é a possibilidade de se quantificar as espécies de interesse na presença de interferentes, mesmo que estes interferentes não estejam presentes na etapa de construção da curva de calibração.

Componentes principais como ferramenta auxiliar na interpretação de dados espectroscópicos

Etelvino Henrique Novotny

A análise por componentes principais (PCA), base para muitos dos métodos multivariados normalmente empregados em quimiometria, é uma poderosa e versátil ferramenta multivariada que serve não apenas para classificar objetos (“como as coisas são”), mas também para detectar a estrutura das variáveis em matrizes de dados multivariados e simplificar essas complexas matrizes (“o porquê delas serem assim”, informação muito mais relevante do ponto de vista científico e químico), auxiliando na interpretação de dados espectroscópicos. É muito comum na literatura, quando se constrói modelos de calibração, fazer uma modelagem “cega” sem uma interpretação crítica do que está sendo modelado; ou seja, sem uma interpretação adequada do que se está modelando, procurando uma desejável relação de causa-efeito. Raros são os casos que os autores apresentam e discutem os carregamentos (*loadings*) quando empregam a PCA, ou os coeficientes de regressão, para o caso da regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) (KJELDAHL; BRO, 2010). E citando a conclusão de Kjeldahl e Bro (2010, p. 564):

[...] avaliando um grande número de erros comuns que ocorrem na quimiometria. Geralmente, esses problemas parecem ser resultado de uma combinação de enganos na qual o operador apenas aperta o botão. O que geralmente acontece é que os softwares prontamente jogam os diagnósticos e os gráficos na face do usuário, e esse, quando inexperiente, é inclinado a aplicar esses resultados sem uma visão crítica. Empregar métodos bem conhecidos e amplamente utilizados aparenta ser mais seguro e ‘correto’ do que utilizar a razão, embora essa última seja frequentemente preferida. A única forma de seguir é usar da responsabilidade, decidindo o que é relevante baseado em conhecimentos biológicos/químicos e no raciocínio lógico, mantendo sempre o objetivo da modelagem em foco!

Levando isso em conta, além das ferramentas convencionais de diagnóstico, uma interpretação cuidadosa dos vetores de carregamentos ou de coeficientes de regressão deve ser realizada, ou seja, focando na sua utilidade como uma ferramenta para caracterizar o sistema específico em análise. Isso é útil para identificar sinais espectrais atribuídos ao analito (PLS) ou às esperadas fontes de variação (PCA) e também para detectar possíveis correlações espúrias. Essa análise assegura a obtenção de modelos mais confiáveis e genéricos, vista que o sinal modelado tem relação direta com a concentração do analito ou com as fontes de variação de interesse, especialmente com esses métodos de projeção (PCA e PLS), em que não se garante matematicamente a não tendenciosidade (*unbiased*) dos modelos. Foram apresentados diversos exemplos reais dessa utilização, onde é possível extrair-se valiosas informações de conjuntos de amostras, enfatizando-se a propriedade da ortogonalidade dos componentes principais, de forma a ser possível isolar diferentes fontes de variação. Foram dados exemplos também dos riscos de certas armadilhas da modelagem “às cegas” sem a necessária interpretação do que se está modelando (carregamentos ou coeficientes de regressão), onde modelos em que todos os parâmetros de diagnóstico (Figuras de Mérito) se apresentam adequadas, mas o que de fato se estava modelando eram correlações espúrias. Apresentou-se, também, exemplos em que as primeiras componentes principais, mais importantes no sentido de maior variabilidade no conjunto de dados, não são necessariamente as mais importantes para os objetivos do trabalho, como, por exemplo, no caso da presença de contaminantes ou quando a fonte de variação de interesse é um composto minoritário. Além disso, fomentou-se uma discussão sobre a retirada de amostras anômalas (*outliers*) de matrizes de dados e da, muitas vezes, inadequada aplicação, também às cegas, sem uma visão crítica, de protocolos propostos para aplicações muito diversas (e.g. fármacos, saúde e alimentação humana) e alheias à Ciência do Solo.

Referências

KJELDAHL, K., BRO, R. Some common misunderstandings in chemometrics. **Journal of Chemometrics**, v. 24, n. 7/8, p. 558–564, Jul./Aug. 2010.

Formas de coleta e preparo de amostras de terra

Maurício Rizzato Coelho

Dependendo do objetivo a que se destinam as amostras de solo, há diferentes procedimentos de coleta em campo. No entanto, o preparo das mesmas é comum, independente do objetivo. Por preparo das amostras de solo entende-se o conjunto de procedimentos padrão realizados em laboratório a fim de preparar as amostras que chegam do campo, tornando-as padronizadas e adequadas às diversas análises laboratoriais. O resultado final do procedimento de preparo das amostras é a chamada Terra Fina Seca ao Ar (TFSA), como veremos a seguir. São as seguintes etapas para preparo das amostras de solo (DONAGEMMA, 2011): (1) conferência e catalogação; (2) distribuição em bandejas; (3) secagem em estufa de circulação forçada por uma semana a temperatura variando entre 40 °C e 45 °C; (4) pesagem e registro da massa de toda a amostra; (5) em capela, procede-se o destorroamento com martelo de madeira para amostras muito estruturadas (torrões grandes e duros), finalizando-o com passagens sucessivas de rolo de madeira, ou apenas o uso do rolo de madeira para as amostras de mais fácil destorroamento (texturas média e arenosa); (6) peneiramento manual das amostras com um conjunto de duas peneiras com aberturas de 19 mm/ μm (ABNT/ASTM 3/4") e 2 mm/ μm (ABNT/ASTM 10), obtendo-se três frações: (a) a fração TFSA que passou por ambas as peneiras; (b) a fração cascalho que passou pela peneira de 19 mm e ficou retida na peneira de 2 mm; e (c) a fração calhau que ficou retida na peneira de 19 mm. A amostra da fração TFSA é inserida em saco plástico e agitada manualmente a fim de homogeneizá-la; posteriormente é pesada e um conteúdo de aproximadamente 500 g da amostra é acondicionada em caixas de papelão em bandejas que, posteriormente, serão remetidas aos laboratórios para análises. As frações calhau e matacão são pesadas e remetidas ao laboratório de granulometria, onde são imersas em solução com NaOH a fim de dispersar e remover partículas da fração argila a elas aderidas, evitando potenciais perdas e segregação

dessas partículas na determinação granulométrica das amostras. Os procedimentos de coleta de amostras em campo podem ser divididos de acordo com a finalidade a que se destinam as amostras. Basicamente, as amostras são coletadas para fins de estudos/análises pedológicos (as) ou de fertilidade do solo. Enquanto a Pedologia é uma subdisciplina da Ciência do Solo que trata da gênese, morfologia, distribuição e classificação dos solos nas paisagens naturais, a Fertilidade, também subdisciplina da Ciência do Solo, avalia a habilidade do solo em fornecer nutrientes para as plantas e, com isso, permite calcular a necessidade de fertilizantes e corretivos para as culturas. Assim, as amostras para fins de Pedologia são coletadas predominantemente nos horizontes ou camadas do solo dos denominados perfis de solos. Os perfis de solos são considerados as unidades básicas para estudos pedológicos (SANTOS et al., 2013). Trata-se de uma seção vertical do terreno, desde a superfície até o material de origem do solo (RIBEIRO et al., 2012). Para fins pragmáticos, o perfil de solo observado em campo corresponde à face de uma trincheira (cova) escavada no solo (dimensões aproximadas de 2,0 m x 1,5 m x 2,0 m – comprimento, largura e profundidade), a qual é utilizada para descrevê-lo morfologicamente e coletar amostras com a finalidade de classificá-lo. Esse perfis de solos são selecionados em locais representativos das classes de solos que ocorrem com maior frequência na área de interesse (SANTOS et al., 1995). São formados por seções aproximadamente paralelas à sua superfície do terreno, que diferem das seções adjacentes em propriedades morfológicas, físicas, químicas, mineralógicas e biológicas (RIBEIRO et al., 2012). Essas seções são denominadas horizontes (quando originadas de processos pedogenéticos) ou camadas (quando originadas por simples deposição). De todos os horizontes ou camadas separadas de um perfil de solo por um pedólogo são coletadas aproximadamente 2,0 kg de amostra com auxílio de uma faca, a qual é, em geral, acondicionada em sacos plásticos e devidamente identificadas. Outra forma comum de coleta para fins pedológicos é com o uso de trado (dos tipos holandês e de caneco). O trado é utilizado em trabalhos de levantamento de solos a fim de averiguar a similaridade ou não aos perfis de solos coletados em trincheiras. Em geral, as profundidades de coleta com trado são 0 cm a

20 cm e 80 cm a 10 cm, podendo-se coletar amostras em profundidades intermediárias (20 cm a 40 cm ou 40 cm a 60 cm), caso sejam relevantes para caracterizar e classificar os solos. As formas de coleta para fins de avaliação da fertilidade do solo podem ser divididas em amostragem ao acaso ou sistematizada (COELHO et al., 2009). A amostragem ao acaso, geralmente recomendada para a agricultura convencional, compreende a divisão da propriedade agrícola em talhões os mais homogêneos possíveis quanto aos tipos de solo, relevo, uso e manejo agrícolas, histórico da área, etc. É recomendável que cada talhão não ultrapasse 20 ha (1 ha = 10.000 m²) de extensão. O procedimento de coleta é percorrer cada talhão em zig-zag, coletando aproximadamente 20 amostras/talhão, sendo que cada amostra (de aproximadamente 300 g) é despejada em um balde de vinte litros, por exemplo, originando uma amostra composta de aproximadamente 20 amostras simples. A amostragem sistematizada é o sistema recomendado para aplicação das tecnologias relacionadas à Agricultura de Precisão, sendo o método mais adequado para estudar a variabilidade espacial dos atributos do solo de uma área, pois a variabilidade em todas as direções é levada em consideração (COELHO et al., 2009). O método mais comum para a amostragem sistemática de solos em uma área é o de sobrepor uma grade quadrada ou retangular em um mapa ou fotografia da área, identificar e dirigir ao local e coletar amostras de solos em cada ponto da extremidade da grade. Dentro de cada grade, a amostragem também pode ser ao acaso, coletando-se várias subamostras aleatoriamente, ou pontual, na qual as subamostras são coletadas em um raio de 3 m a 6 m de um ponto central. A recomendação do espaçamento das grades (malhas) para amostragens de solos varia de 60 m x 60 m a 135 m x 135 m, em função da resolução desejada (precisão) associada aos custos (COELHO et al., 2009). Os instrumentos para coleta de amostras para fins de fertilidade do solo podem ser trados (holandês, caneco, etc.), pá de corte, enxadas, enxadões, ou ainda pode-se utilizar as mãos, sendo a profundidade de coleta recomendada de 0 cm a 20 cm para culturas anuais, acrescentando a profundidade de 20 cm a 40 cm para culturas perenes.

Referências

COELHO, A. M.; FRANÇA, G. E. de; PITTA, G. V. E.; ALVES, V. M. C. Amostragem de solos: a base para a aplicação de corretivos e fertilizantes. In: CRUZ, J. C. (Ed.). **Cultivo do milho**. 5. ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2009. (Embrapa Milho e Sorgo. Sistemas de produção, 1). Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_5_ed/feramostra.htm>. Acesso em: 11 dez. 2014.

DONAGEMMA, G. K.; CAMPOS, D. V. B de; CALDERANO, S. B.; TEIXEIRA, W. G.; VIANA, J. H. M. (Org.). **Manual de métodos de análise de solo**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2011. 230 p. (Embrapa Solos. Documentos, 132).

RIBEIRO, M. R.; OLIVEIRA, L. B. de; ARAÚJO-FILHO, J. C. de. Caracterização morfológica do solo. In: KER, J. C.; CURTI, N.; SCHAEFER, C. E. G. R.; VIDAL-TORRADO, P. (Ed.). **Pedologia: fundamentos**. Viçosa, MG: SBCS, 2012. p. 47-79.

SANTOS, H. G. dos; HOCHMÜLLER, D. P; CAVALCANTI, A. C.; RÊGO, R. S.; KER, J. C.; PANOSO, L. A.; AMARAL, J. A. M. do. **Procedimentos normativos de levantamentos pedológicos**. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI; Rio de Janeiro: EMBRAPA-CNPS, 1995. 108 p.

SANTOS, H. G. dos; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C. dos; OLIVEIRA, V. A. de; LUMBRERAS, J. F.; COELHO, M. R.; ALMEIDA, J. A. de; CUNHA, T. J. F.; OLIVEIRA, J. B. de. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3. ed. rev. e ampl. Brasília, DF: Embrapa, 2013. 353 p.

Considerações finais

O 1º Workshop de Espectroscopia NIR e Quimiometria foi o marco inicial de uma série de eventos similares, previstos para ocorrerem nos anos vindouros, sob o auspício da Embrapa. As discussões ocorridas no 1º. Workshop evidenciaram o grande potencial da espectroscopia NIR e quimiometria na análise de rotina de solos, bem como as demandas e desafios para alcançar esse objetivo no Brasil. Dentre esses, destacam-se: (1) a necessidade de formação de recursos humanos em espectroscopia NIR e quimiometria; (2) desenvolver programas computacionais dedicados a análise de rotina de solos por espectroscopia NIR; (3) elaborar material didático e manuais de métodos dedicados a implantação das técnicas nas análises de rotina de solo; (4) necessidade de um banco de dados espectrais que contenha grande número e variabilidade de amostras de solos do Brasil; (5) direcionamento de pesquisas que possibilitem ao usuário, leigo em quimiometria, realizar análises de rotina de solo por espectroscopia NIR; e (6) capacitação em espectroscopia NIR e quimiometria dedicados em análise de solo.

Dentre os eventos similares que irão suceder o 1º Workshop, estão previstos quatro novos que ocorrerão nos anos de 2015 a 2017. São parte integrante do Projeto intitulado Capacitação em quimiometria na avaliação simultânea de vários atributos do solo (Projeto MP5 (05.14.001.00.00), sob liderança de Embrapa Solos. O referido projeto objetiva ampliar o número de empregados da Embrapa aptos a aplicar conhecimentos de quimiometria na proposição (ou aperfeiçoamento) de métodos de análise de atributos de solos que sejam de baixo impacto ambiental, rápidos e não destrutivos, atendendo aos objetivos do Arranjo SolosBR, liderado pela Embrapa Solos.

Os workshops terão carga horária de 40 horas (distribuídos ao longo de uma semana) e serão organizados de forma a contemplar métodos básicos, fundamentais e atuais da Quimiometria, tais como (1) análise por componentes principais (PCA); (2) análise hierárquica de agrupamentos (*Hierarchical Cluster Analysis*, HCA); (3) regressão por quadrados

mínimos parciais (PLS); (4) análise discriminante por mínimos quadrados parciais (*Partial Least Squares - Discriminant Analysis*, PLS-DA) e (5) planejamento de experimentos. Métodos mais sofisticados e recentes também serão abordados, como por exemplo: (6) resolução multivariada de curvas com mínimos quadrados alternantes (MCR-ALS); (7) análise de componentes independentes (*Independent Component Analysis*, ICA); (8) análise multivariada de dados de espectroscopia de imagem; (9) aplicações de Quimiometria voltadas à genômica, proteômica e metabolômica, dentre outros.

Lista dos participantes inscritos

Nome	E-mail	Empresa
Inês Lunardi	ines.lunardi@granbio.com.br	Biocelere Agroindustrial
Gabriela Silva Jorge	gabriela.jorge@granbio.com.br	Biocelere Agroindustrial
Kátia Noriko Suzuki	ksuzuki@id.uff.br	Universidade Federal Fluminense
Ana Peinado	ana.peinado@bruker.com	Bruker Optics Division
Gláucia Motta da Silva Passos Ferreira	glaucia.motta@bio.fiocruz.br	Instituição Biomantinhos Fiocruz
Mateus Toni Eitelwein	mateus_eitelwein@outlook.com	ESALQ-USP
Roqério Resende Martins Ferreira	roqueiro.ferreira@embrapa.br	Embrapa Acre
Ramon Augusto Porto Beranger Vieira	ramon.portovieira@gmail.com	Graduação UEPB
Adriana Maria de Aquino	adriana.aquino@embrapa.br	NPTA-Embrapa Agrobiologia
Renato de Araújo Ribeiro Rodrigues	renato.rodrigues@embrapa.br	Embrapa Agrossilvipastoril
Ediana Silva Araújo	edianasilvaaraujo@yahoo.com.br	Mestre UFRRJ
Falberni de Souza Costa	falberni.costa@embrapa.br	Embrapa Acre
Danilo Jefferson Romero	danilojromero@usp.br	ESALQ-USP
Bruna Cristina Galo	qallo.bruna@gmail.com	ESALQ-USP
Marcos Vinícius Sato	qallo.bruna@gmail.com	ESALQ-USP
Sandra Santana de Lima	sandra.biologa@hotmail.com	UFRRJ
Mayara Gabriela Gonçalves	mayara.gabriella@hotmail.com	UFPR
Andréa da Silva Gomes	andrea_zooufc@yahoo.com.br	UFRRJ
Gustavo Wyse Abaurre	qwabaurre@gmail.com	GWA Empreendimentos Florestais
Daiane Placido Torres	daiane.torres@embrapa.br	Embrapa Clima Temperado
Natalie de Alcântara Ramos	natalie.ramos@embrapa.br	Embrapa Solos
Luisa Lima Almeida	luisa560.la@gmail.com	UFF--estudante

Lista dos participantes inscritos

Paola Severo Duarte	luisa560.la@gmail.com	PUC-estudante
Camila Bressan	luisa560.la@gmail.com	PUC-estudante
Hugo Carvalho Silva	hugo.carvalho.silva@gmail.com	Cederj-Campus Nova Friburgo
Maria Regina Laforet	regina.laforet@embrapa.br	Embrapa Solos
Mário Aqlio	mario.aqlio@embrapa.br	Embrapa Solos
Helton Pereira de Souza	heltonp@terra.com.br	Laboratório Agroanálise -Cuiabá/MT
Caio de Teves Inácio	caio.teves@embrapa.br	Embrapa Solos
Bruna dos Reis Ribeiro	bruna.ribeiro@ymail.com	Cederj
Ronaldo Pereira de Oliveira	ronaldo.oliveira@embrapa.br	Embrapa Solos
Janaina Gomes	janaina.gomes@aqilent.com	Aqilent Technologies
Patrícia Valderrama	pativalderrama@gmail.com	UTFPR
Paulo Henrique Março	pativalderrama@gmail.com	UTFPR
Karen Priscila de Lima	pativalderrama@gmail.com	UTFPR
Karla Karine Beltrame	pativalderrama@gmail.com	UTFPR
David Vilas Boas de Campos	david.campos@embrapa.br	Embrapa Solos
Grazielle Feltrin Dias Wendling	graziele@base.agr.br	Base Precisão na Agricultura
Guilherme Kanqussu Donagemma	guilherme.donagemma@embrapa.br	Embrapa Solos
Luciana Pataro	luciana.pataro@aqilent.com	Aqilent Technologies
Paulo Roberto da Rocha Junior	guilherme.donagemma@embrapa.br	UFES

Embrapa

Solos