

Utilização da técnica de espectrofotometria do infravermelho próximo (NIR) para análise discriminante dos ácidos graxos oléico e linoléico de genótipos de girassol

GRUNVALD, A. K.¹, CARVALHO, C. G. P.²; ANDRADE, C. A. B.¹, MANDARINO, J. M. G.², LEITE, R. S.², GONÇALVES, J. L.², GONÇALVES, S. L.² ¹Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá, Paraná ²Embrapa Soja, Caixa Postal, 231, 86001-970, Londrina, Paraná. e-mail: anna@cnpso.embrapa.br

Introdução

O girassol (*Helianthus annuus* L.) é a quarta maior cultura oleaginosa produtoras de óleo vegetal comestível do mundo (Estados Unidos, 2008). Dentre os óleos vegetais, o óleo de girassol destaca-se por suas excelentes características físico-químicas e nutricionais. A qualidade nutricional e o uso de um óleo estão intimamente relacionados com sua composição em ácidos graxos essenciais, pois esses não podem ser sintetizados pelo organismo humano, por meio das vias metabólicas próprias (Mandarino, 2005).

As sementes de girassol contêm, geralmente, 47% de ácidos graxos, sendo deste total 85% a 91% de oléico e linoléico. Em programas de melhoramento genético, o desenvolvimento de cultivares com alto teor de desses ácidos tem sido uma alternativa bem sucedida (Carvalho et al., 2005).

A identificação dos ácidos graxos tem sido feita desde 1880 por meio de análises químicas. Contudo, nesse método, é necessária a utilização do uso de solventes químicos, tornando a técnica mais cara e demorada, além de ser destrutiva em relação a semente (Robertson and Barton, 1984).

Em 1964, Norris desenvolveu a técnica da análise por espectrofotometria do infravermelho próximo (NIR), uma ferramenta analítica simples, rápida e efetiva de avaliação de diversas características, tais como: teor de óleo, proteína, umidade e entre outros. Além do mais, é possível analisar a semente intacta, permitindo o seu uso para outros fins. No entanto, é necessária a construção de uma curva de calibração para cada cultura, característica agrônômica e condições edafoclimáticas, pois estes fatores influenciam a absorvância dos espectros (Batten, 1998).

Em girassol, Sato et al. (1995) no Japão e Cantarelli et al. (2009) na Argentina, ao avaliarem a composição dos ácidos graxos oléico e linoléico, obtiveram resultados similares entre a análise pela cromatografia gasosa e a análise pelo espectrofotômetro infravermelho próximo (NIR). Sato et al., 1995, ressaltam que a semelhança observada é de grande importância, pois a utilização do NIR, além de ser rápida, possibilita a germinação da semente analisada.

O objetivo do trabalho foi estabelecer uma curva discriminante pela análise no Espectrofotômetro Infravermelho Próximo (NIR) para a diferenciação dos ácidos graxos oléico e linoléico em genótipos de girassol cultivados no Brasil.

Material e Métodos

Para a construção da curva de calibração dos ácidos graxos, foram utilizados espectros coletados de híbridos com alto teor de ácido oléicos e variedades e populações com alto teor de ácido linoléico.

Os genótipos alto oléico foram: NTO3.0, T700, Exp1450, SRM840 e SEM222, com teores desse ácido graxo aproximadamente de 85%. Os genótipos alto linoléicos foram as variedades Catissol, Embrapa122 e BRS324 e a População9 (Programa de Melhoramento Genético de Girassol da Embrapa Soja), com teores de ácido graxo linoléico variando entre 40 a 70%. Para cada genótipo alto oléico e linoléico foram analisadas de 80 a 130 repetições, totalizando 920 amostras.

Os espectros foram obtidos de uma única semente descascada, por esfera de integração em um equipamento NIR Thermo Scientific modelo Antaris II. Cada espectro foi uma média de 16 scans com resolução 4 cm^{-1} . Os dados foram analisados através do programa TQ Analyst da Thermo Scientific. A curva de calibração foi estabelecida pela distância generalizada de Mahalanobis.

Para a validação, foram avaliados 316 diferentes genótipos CMSHA e RHAs provenientes do Programa de Melhoramento e do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Embrapa Soja. Entre essas amostras, foram selecionadas 39 para a extração química e quantificação dos ácidos graxos pela análise da Cromatografia Gasosa (CG) segundo metodologia oficial da USDA de acordo com Abidi et al. (1999), Bannon et al. (1982), Christie (1989) e Rayford et al. (1994), para a comparação entre os resultados obtidos pelos dois métodos.

Resultados e Discussão

Foi estabelecido para a calibração da curva discriminante dos ácidos graxos oléico e linoléico de girassol o comprimento de onda de $5686,5$ a $6096,5 \text{ cm}^{-1}$ (Fig. 1A). Os dois primeiros componentes principais explicaram 84% da variação total. Segundo Cruz e Regazzi (2001) quando os dois primeiros componentes principais explicam pelo menos 80% da variação, esta técnica proporcionará uma simplificação e confiabilidade considerável na interpretação dos resultados.

Entre os 920 pontos inseridos na curva, 11 foram mal classificados (Fig. 1B). Contudo ao comparar os dados das amostras submetidas à análise química, foi verificada alta similaridade nos resultados. Para as 39 amostras analisadas, 14 foram classificadas como alto oléico. Na quantificação dessas amostras, 8 tiveram teor de oléico acima de 80%, 3 amostras ficaram em torno de 60% e 3 abaixo de 60%. A classificação dos genótipos com teores de ácido graxo oléico igual ou inferior a 60% pode ser devido à ausência de amostras médio oléicas inseridas na curva.

Foram observados dois erros com relação a classificação obtida pelo NIR. Duas amostras foram classificadas como alto teor de ácido linoléico, porém apresentaram teores de oléico de 83 e 88%. Apesar desses erros, a curva de discriminação dos ácidos oléico e linoléico apresentou resultados satisfatórios para a seleção de genótipos de girassol com alto teor de ácido graxo oléico. Contudo, é necessário inserir na curva de calibração genótipos médio oléico, que além de apresentar o gene que confere esta característica, possui teor do ácido oléico em torno de 60%.

Conclusões

A curva de calibração para a discriminação dos ácidos oléico e linoléico se mostrou satisfatória para a seleção de genótipos de girassol com alto teor de ácido graxo oléico, além de ser mais rápida e não destrutiva a semente.

Referências

ABIDI, S.L; LIST, G.R.; RENNICK, K.A. Effect of genetic modification on the distribution of minor constituents in canola oil. **Journal of American Oil Chemistry Society**, v. 76, n.4, p.463-467, 1999.

BANNON, C. D.; BREEN, G.J.; HAI, N.T.; HARPER, N. L; CZONYIC, C. **Journal of Cromatography**, v.247, p.71, 1982.

CHRISTIE, W.W. **Gas chromatography and lipids: A practical guide**, p.191 1989.

BATTEN, G.D. Plant analysis using near infrared reflectance spectroscopy: The potencial and the limitations. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.38, p. 697-706, 1998.

CARVALHO, C.G.P.; OLIVEIRA, M. F.; OLIVEIRA, A. C. B.; CASTIGLIONI, V.B.R. Genética do Girassol In: LEITE, R. M. V. B. C.; BRIGHENTI, A. M.; CASTRO, C. **Girassol no Brasil**. Londrina: Embrapa Soja, p. 219-268, 2005.

CANTARELLI, M. A.; FUNES I. G.; MARCHEVSKY, E. J. CAMIÑA, J. M. Determination of oleic acid in sunflower seeds by infrared spectroscopy and multivariate calibration method. **Talanta**, v.80, p. 489-492, 2009.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J . **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento de plantas**. UFV , Viçosa, 648p. 2001.

ESTADOS UNIDOS. Department of Agriculture. Foreign Agricultural Service. **Oilseeds: world market and trade**. Washington, 2008. 43p. (Circular Series, FOP 01-03).

MANDARINO, J. M. G. O óleo de girassol como alimento funcional. In: LEITE, R. M. V. B.C.; BRIGHENTI, A. M.; CASTRO, C. **Girassol no Brasil**. Londrina: Embrapa Soja, p. 43-50, 2005.

NORRIS, K. H. Reports on the desing and development of a new moisture meter. **Agricultural Engineering**, v.45, n.7, p.370-372, 1964.

RAYFORD, W. E.; THOMAS. D.I.; ELAM, L.M.; WALKER, S.M. Analytucal chemical support soybean uniform test analysis. **Agricultural Research Service**, p. 17-26, 1994.

ROBERTSON J. A; BARTON F. E. Oil and Water Analysis of sunflower seed by near-infrared reflectance spectroscopy. **Journal American Oil Chemist Society**, v. 61, p. 543-547, 1984.

SATO, T.,Y.; TAKAHATA,T.; NODA,T.; YANAGISAWA,T.; MORISHITA, SAKAI, S. Nondestructive Determination of fatty acid composition of husked sunflower (*Helianthusannuus* L.) seeds by near-infrared spectroscopy. **Journal American Oil Chemist Society**, v. 71, p.1177-1183, 1995.