

CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA PREDIÇÃO DO TEOR DE ÓLEO PELA ANÁLISE DO ESPECTRÔMETRO DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO (NIR) EM ENSAIOS DE COMPETIÇÃO DE CULTIVARES DE GIRASSOL NO BRASIL

CALIBRATION CURVE TO PREDICT OIL CONTENT USING NEAR INFRARED REFLECTANCE SPECTROSCOPY (NIR) IN SUNFLOWER TRIALS IN BRAZIL

Anna K. Grunvald¹; Rodrigo S. Leite²; Isabella M. Terra²; Claudio G. P. de Carvalho²; José M. G. Mandarin²; Carlos A. B. Andrade¹; Ana C. B. de Oliveira³; Nilza P. Ramos⁴; Renato F. Amabile⁵; Vicente de P. C. Godinho⁶; Helio W. L. de Carvalho⁷; Ivenio R. de Oliveira⁷; Natali, A. Azevedo²; Sérgio L. Gonçalves²

¹Universidade Estadual de Maringá, Dept. Agronomia, Av. Colombo, 5790, Maringá, PR, karolgrunvald@hotmail.com; ²Embrapa Soja, Londrina, PR; ³Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS; ⁴Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP; ⁵Embrapa Cerrados, Planaltina, DF. ⁶Embrapa Rondônia, Vilhena, RO; ⁷Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE.

Resumo

O objetivo deste trabalho foi estabelecer uma curva de calibração para avaliação do teor de óleo pelo NIR em de ensaios de competição de cultivares de girassol no Brasil. Os dados foram obtidos de genótipos avaliados em ensaios de competição de cultivares, em delineamento de blocos completos ao acaso, conduzidos na safra 2007/2008 e 2008. Para a determinação da curva de calibração foram utilizados 683 valores, estimados pela Ressonância Magnética Nuclear (RMN), a uma faixa de 23,47 a 55,34% de óleo. Os espectros foram coletados de sementes intactas por esfera de integração em um NIR Thermo Scientific modelo Antaris II. Foi utilizado o sinal spectrum sem derivada, sendo que cada espectro foi uma média de 32 scans com resolução 4 cm⁻¹. A região estabelecida para a curva de calibração foi de 7.576 a 5.680 cm⁻¹. Para avaliar a precisão da curva foi calculado o coeficiente de determinação (R²) e o erro padrão de calibração (SEC) entre os dados obtidos pelo RMN e NIR. Para validação da curva foram calculadas correlações de Pearson entre valores estimados no NIR e RMN, obtidos de ensaios conduzidos na safra 2008, utilizando-se cada valor observado, as médias dos genótipos em cada local e a média geral dos genótipos nestes ensaios. Os locais usados para calibração da curva foram diferentes daqueles para sua validação. A curva de calibração apresentou um coeficiente de determinação (R²) de 0,88, erro padrão de calibração (SEC) de 1,76 e margem de erro variando de -5 a 6%. A correlação entre médias gerais dos genótipos nos ensaios foi de 0,82 e a correlação entre média dos genótipos em cada local foi de 0,71, indicando que a curva de calibração estabelecida no NIR é satisfatória para a avaliação do teor de óleo de genótipos de girassol em ensaio de competição de cultivares no Brasil.

Abstract

The objective of this study was to establish a calibration curve to evaluate the oil content using Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIR) from sunflower using trial in Brazil. The data were obtained from genotypes evaluated in field trials of cultivars in randomized block designs, carried out during 2007/2008 and 2008. To determine the curve calibration were used 683 values, estimated by Nuclear Magnetic Resonance (NMR), to a range of 23.47 to 55.34% oil. The spectra were collected from intact seeds by integrating sphere in a NIR model Thermo Scientific Antaris II. We used the signal spectrum without derivative, and each spectrum was an average of 32 scans with resolution 4 cm⁻¹. The region established for the curve calibration was from 7576 to 5680 cm⁻¹. In order to assess the accuracy of the curve was calculated coefficient of determination (R²) and standard error of calibration (SEC) between data obtained by NMR and NIR. For validation of the curve were calculated Pearson correlations between estimated values in NIR and NMR, obtained from tests carried out during 2008, using each observed value, the means of genotypes at each site and overall average of genotypes in these trials. The locations used for calibration curve were different from those for its validation. The curve

calibration showed a coefficient determination (R^2) of 0.88, standard error of calibration (SEC) of 1.76 and a margin of error ranging from -5 to 6%. The correlation between average overall genotype in the tests was 0.82 and the average correlation between genotypes at each site was 0.71, indicating that the use of the calibration curve established in the NIR is satisfactory for the evaluation of oil content from sunflower genotypes trials in Brazil.

Introdução

O girassol (*Helianthus annuus* L.) está entre as cinco maiores culturas oleaginosas produtoras de óleo vegetal comestível do mundo (ESTADOS UNIDOS, 2008). No Brasil esta cultura vem mostrando excelentes perspectivas de expansão. Segundo a CONAB (2009), a produção nacional na safra de 2007/2008 foi de 149.300 toneladas, com previsão de 157.000 toneladas para a safra de 2008/2009.

Esta demanda no aumento de produção é de grande importância econômica, pois o óleo extraído de suas sementes é de boa qualidade para o consumo humano e o farelo, um subproduto da extração do óleo, pode ser utilizado como ração animal. Além disso, o óleo de girassol vem se apresentando como importante matéria-prima na produção de biocombustíveis (GAZZONI, 2005).

Em programas de melhoramento genético de girassol, o desenvolvimento de cultivares é direcionado para atingir alto teor de óleo, uma vez que a política de comercialização prevê uma bonificação para teores acima de determinado valor, que atualmente é de 40%, com tendências de aumento à medida que a cultura se tornar mais expressiva no País (OLIVEIRA et al., 2005).

A análise de teor de óleo de oleaginosas pode ser realizada por métodos químicos. No entanto, estes muitas vezes são inviáveis, devido ao custo e o tempo, quando se têm análises em grande escala, além de serem destrutivos às sementes. A ressonância magnética nuclear (RMN) tem sido um método alternativo por ser rápido, econômico e não destruir a amostra (COLNAGO, 1996). Além do RMN, o teor de óleo tem sido avaliado pela análise de reflectância no infravermelho próximo (NIR), que tem como principais vantagens a ausência de necessidade de estabilidade higroscópica da semente e a rapidez na análise. Contudo, para sua utilização é indispensável o desenvolvimento de uma curva de calibração, em que, se correlaciona a informação espectral do NIR com os dados obtidos por um método de referência. Em girassol, Vich-Perez et al. (1998), Biskupek-Korell e Moschner (2006) obtiveram resultados satisfatórios ao avaliar o potencial do NIR para o teor de óleo. No entanto, a absorvância dos espectros é influenciada pelas condições ambientais, tais como, tipo de solo, temperatura, umidade e também varia de acordo com os caracteres agrônômicos dos genótipos (BATTEN, 1998). O presente trabalho teve como objetivo estabelecer uma curva de calibração para avaliação do teor de óleo pelo Espectrômetro de Infravermelho Próximo (NIR) em de ensaios de competição de cultivares de girassol no Brasil.

Material e métodos

Os dados analisados foram obtidos em ensaios finais de primeiro e segundo ano em ensaios de competição de cultivares de girassol nas safras 2007/2008 e 2008. Os ensaios foram semeados nos meses de setembro/outubro (safra 2007/2008) e fevereiro/março (safra 2008), em delineamento experimental de blocos completos ao acaso, com quatro repetições. Cada parcela foi constituída por quatro linhas de 6 m, espaçadas de 0,7 a 0,9 m. As duas linhas externas de cada parcela (bordaduras) foram descartadas, assim como 0,5 m de cada extremidade das duas linhas centrais, o que representou uma área útil de 7 a 9 m². Foram analisados genótipos híbridos (simples e duplos) e de variedades (populações de polinização aberta) de girassol. Os locais de avaliação da safra bem como as características de cada local estão demonstrados na tabela 1.

Para a determinação da curva de calibração utilizou-se 683 valores, estimados pela Ressonância Magnética Nuclear (RMN) em um Oxford 4000 RMN Analyser, a uma faixa de 23,47 a 55,34% de óleo.

Os espectros foram coletados de sementes intactas por esfera de integração em um NIR Thermo Scientific modelo Antaris II. Foi utilizado o sinal spectrum sem derivada, sendo que cada espectro foi uma média de 32 scans com resolução 4 cm⁻¹. A região estabelecida para a curva de calibração foi de 7.576 a 5.680 cm⁻¹. Para avaliar a precisão da curva foi calculado o coeficiente de determinação (R^2) e o erro padrão de calibração (SEC) entre os

dados obtidos pelo RMN e NIR. Os dados foram analisados através do programa TQ Analyst da Thermo Scientific.

Para a validação da curva foi calculado correlações de Pearson entre valores estimados no NIR e RMN, obtidos de ensaios finais de primeiro e segundo da safra 2008. Foram utilizados cada valor observado, os valores das médias dos genótipos em cada local e a média geral dos genótipos nestes ensaios. As correlações foram feitas por meio do programa Genes (CRUZ 2001).

Resultados e discussão

O coeficiente de determinação (R^2) da curva de calibração do NIR para o teor de óleo de genótipos de girassol foi de 0,88 (Figura 1). O erro padrão de calibração (SEC) foi de 1,76, com uma margem de erro variando de -5 a 6%. Resultados semelhantes foram observados por Vich-Perez et al., 1998, obtendo um SEC de 1,86 e R^2 de 0,87. De acordo com Fassio e Cozzolino (2004), o coeficiente de determinação acima de 0,70 é adequado para a seleção de genótipos de girassol com baixo, médio e alto teor de óleo, independente do valor absoluto, também pode ser útil para uma rápida seleção em programas de melhoramento.

As correlações de Pearson para os dados individuais (valor de cada repetição) foi de 0,59 e 0,68 no ensaio final de primeiro e segundo ano, respectivamente (Tabela 2). Apesar da baixa correlação encontrada para os dados individuais, a correlação nos ensaios finais de primeiro e segundo ano, entre o valor médio dos genótipos em cada local e das médias gerais dos genótipos nos ensaios foi alta, variando de 0,74 a 0,93. A correlação geral entre as médias gerais dos genótipos nos ensaios finais foi de 0,82 e a correlação entre média dos genótipos em cada local foi de 0,71. Essa maior correlação associada com o valor de SEC e R^2 , obtidas no presente estudo, foi satisfatória para a avaliação do teor de óleo de genótipos de girassol em ensaios de competição de cultivares no Brasil usando o método NIR.

Segundo Batten (1998) devem ser incluídas na calibração amostras que representem a variação total encontradas nas amostras a serem analisadas, tais como, teor de óleo, tamanho e cor de sementes, condições climáticas, tratos culturais, entre outros. Assim, apesar da curva de calibração apresentar resultados satisfatórios, a inclusão de amostras com teores de óleo abaixo de 40% e acima de 50%, poderá resultar em uma maior precisão na determinação dessa curva.

Conclusão

A curva de calibração estabelecida na análise do Espectrômetro de Infravermelho Próximo (NIR) é satisfatória para a avaliação do teor de óleo de genótipos de girassol em ensaio de competição de cultivares no Brasil.

Referências

- BATTEN, G. D. Plant analysis using near infrared reflectance spectroscopy: The potencial and the limitations. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, East Melbourne, v. 38, p. 697-706, 1998.
- BISKUPEK KORELL, B.; MOSCHNER, C. R. Near-infrared spectroscopy (NIRS) for quality assurance in breeding, cultivation and marketing of high-oleic sunflowers. **Helia**, Novi-Sad, v. 29, p. 73-80, 2006.
- CONAB. Balança comercial do agronegócio. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/GirassolSerieHist.xls>>. Acesso em: 30 mar. 2009.
- COLNAGO, L. A. **Análise do teor de óleo em sementes por RMN**. São Carlos: EMBRAPA-CNPDI, 1996. 14 p. (EMBRAPA-CNPDI. Circular técnica, 3).
- CRUZ, C. D. **Programa Genes**: versão Windows; aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, 2001. 648 p.
- ESTADOS UNIDOS. Department of Agriculture. Foreign Agricultural Service. **Oilseeds**: world market and trade. Washington, 2008. 43 p. (Circular Series, FOP 01-03).
- FASSIO, A.; COZZOLINO, D. Non-destructive prediction of chemical composition in sunflower seeds by near infrared spectroscopy. **Industrial Crops and Products**, v. 20, p. 321-329, 2004.
- GAZZONI, D. L. Óleo de girassol como matéria-prima para biocombustíveis. In: LEITE, R. M. V. B. de C.; BRIGHENTI, A. M.; CASTRO, C. de. **Girassol no Brasil**. Londrina: Embrapa Soja, 2005. p. 145-162.

OLIVEIRA, M. F. de; CASTIGLIONI, V. B. R.; CARVALHO, C. G. P. de. Melhoramento do girassol. In: LEITE, R. M. V. B. C.; BRIGHENTI, A. M.; CASTRO, C. de. **Girassol no Brasil**. Londrina: Embrapa Soja, 2005. p. 269-297.

VICH-PÉREZ, B.; VELASCO, L.; FERNANDEZ-MARTINEZ, J. M. Determination of seed oil content and fatty acid composition in sunflower through the analysis of intact seeds, husked seeds, meal and oil by near infrared reflectance spectroscopy. **Journal of the American Oil Chemist's Society**. Champaign, v. 75, p. 547-555, 1998.

Tabela 1. Principais características dos locais de teste dos ensaios de competição de cultivares de girassol nas safras 2007/2008 e 2008.

| Local | Safr | Coordenadas geográficas | | | Tipo de Solo |
|--|-----------|-------------------------|------------|----------|---------------------------------------|
| | | Latitude | Longitude | Altitude | |
| Locais de avaliação para a determinação da curva de calibração | | | | | |
| Leme do Prado (MG) ^{2/} | 2007/2008 | 17°03'S | 42°48'W | 812m | LATOSSOLO VERMELHO Distrófico |
| Xaxim (SC) ^{1/} | 2007/2008 | 26°57'20"S | 52°30'34"W | 836m | LATOSSOLO VERMELHO |
| Jaguarúna (SP) ^{1/} | 2007/2008 | 22°42'20"S | 46°59'09"W | 584m | LATOSSOLO VERMELHO-Escuro |
| Roda Velha (BA) ^{1/} | 2007/2008 | 12°07'S | 45°83'W | 755m | LATOSSOLO VERMELHO-AMARELO |
| Muzambinho (MG) ^{2/} | 2008 | 21°22'33"S | 46°31'32"W | 1048m | LATOSSOLO VERMELHO |
| S. J. dos Quatro Marcos (MT) ^{2/} | 2008 | 15°39'11"S | 58°16'56"W | 280m | ARGISSOLO VERMELHO- AMARELO Eutrófico |
| Vilhena (RO) ^{2/} | 2008 | 12°47'12"S | 60°03'39"W | 600m | LATOSSOLO VERMELHO-AMARELO Distrófico |
| Londrina (PR) ^{2/} | 2008 | 23°18'37"S | 51°09'46"W | 566m | LATOSSOLO VERMELHO Distrófico |
| Planaltina (DF) ^{2/} | 2008 | 15°35'30"S | 47°42'30"W | 1007m | LATOSSOLO VERMELHO Distrófico |
| Locais de avaliação para a validação da curva de calibração | | | | | |
| Londrina (PR) ^{1/} | 2008 | 23°18'37"S | 51°09'46"W | 566m | LATOSSOLO VERMELHO Distrófico |
| Cravinhos (SP) ^{1/} | 2008 | 23°42'43"S | 47°34'W | 780 m | LATOSSOLO VERMELHO Distrófico |
| Rio Verde (GO) ^{1/} | 2008 | 17°47'24"S | 50°57'40"W | 753m | LATOSSOLO VERMELHO Distrófico |
| Planaltina (DF) ^{1/} | 2008 | 15°35'30"S | 47°42'30"W | 1007m | LATOSSOLO VERMELHO Distrófico |
| Vilhena (RO) ^{1/} | 2008 | 12°47'12"S | 60°03'39"W | 600m | LATOSSOLO VERMELHO-AMARELO Distrófico |
| Bom Jesus (PI) ^{1/} | 2008 | 03°37'30"S | 43°30'54"W | 80m | LATOSSOLO VERMELHO-AMARELO Distrófico |
| Jaboticabal (SP) ^{2/} | 2008 | 21°14'05"S | 48°17'09"W | 615m | LATOSSOLO VERMELHO Eutrófico |
| Manduri (SP) ^{2/} | 2008 | 23°10'S | 49°20'W | 589m | LATOSSOLO VERMELHO Distrófico |
| Patos de Minas (MG) ^{2/} | 2008 | 18°39'32"S | 46°16'53"W | 940m | CHERNOSSOLO HÁPLICO |
| Mata Roma (MA) ^{2/} | 2008 | 03°37'30"S | 43°30'54"W | 80m | LATOSSOLO VERMELHO Distrófico |

^{1/}Ensaio Final de Primeiro Ano; ^{2/}Ensaio Final de Segundo Ano.

Tabela 2. Correlação de Pearson do teor de óleo de genótipos de girassol, com base nos dados obtidos pelo NIR e RMN avaliados nos Ensaios Finais de Primeiro e Segundo Ano na safra 2008

| | Ensaio Final de Primeiro Ano | Ensaio Final de Segundo Ano | Análise dos Ensaios Finais de Primeiro e Segundo Ano |
|--------------------------------|------------------------------|-----------------------------|--|
| Valor individual ^{1/} | 0,59 | 0,68 | 0,54 |
| Valor médio ^{2/} | 0,74 | 0,77 | 0,71 |
| Média geral ^{3/} | 0,84 | 0,93 | 0,82 |

^{1/} valor observado de cada repetição; ^{2/}valores das médias dos genótipos em cada local; ^{3/} média geral dos genótipos nos ensaios.

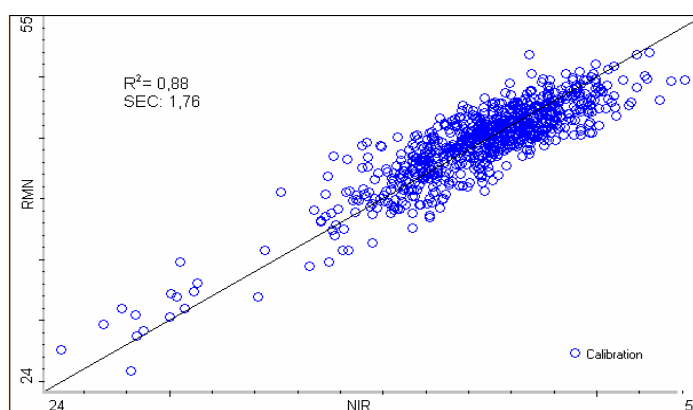


Figura 1. Curva de calibração para o teor de óleo (%) de genótipos de girassol, com base nos dados obtidos pelas técnicas do NIR e RMN