



XXXIII Congresso Brasileiro de Ciência do Solo

Solos nos biomas brasileiros: sustentabilidade e mudanças climáticas
31 de julho à 05 de agosto - Center Convention - Uberlândia/Minas Gerais

AVALIAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO (NIR) PARA DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE NITROGÊNIO TOTAL EM AMOSTRAS DE GRÃOS DE SOJA

Adilson de Oliveira Junior⁽¹⁾; César de Castro⁽²⁾; Mariana Germano da Silva⁽³⁾; Rodrigo dos Santos Leite⁽³⁾; Joviano Jacques Kleinert⁽⁴⁾; Amanda Eloíze Nardo⁽⁵⁾; Eduarda Louise Farine⁽⁵⁾; Diogo Antonio Moreira⁽⁵⁾; Igor Svissero Pires de Camargo⁽⁵⁾

⁽¹⁾ Pesquisador; Embrapa Soja, Rod. Carlos João Strass, s/n, 86001-970, Caixa Postal 231, Londrina, PR, adilson@cnpso.embrapa.br;

⁽²⁾ Pesquisador; Embrapa Soja, Rod. Carlos João Strass, s/n, 86001-970, Caixa Postal 231; Londrina, PR; ⁽³⁾ Analista de Pesquisa; Embrapa Soja, Rod. Carlos João Strass, s/n, 86001-970, Caixa Postal 231; Londrina, PR; ⁽⁴⁾ Assistente de Pesquisa; Embrapa Soja, Rod. Carlos João Strass, s/n, 86001-970, Caixa Postal 231; Londrina, PR; ⁽⁵⁾ Graduando em Química; Universidade Estadual de Londrina, Rodovia Celso Garcia Cid - PR 445 km 380, Campus Universitário, 86051-980, Caixa. Postal 6001, Londrina, PR

Resumo – A determinação da concentração de nitrogênio (N) pelo método Kjeldahl é considerada padrão para determinação de N total. Entretanto, este método gera alta quantidade de resíduos, é moroso e passível de erros durante a destilação e a titulação. Por outro lado, a determinação indireta do teor de proteína nos grãos de soja, por meio da espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) de vem sendo realizada com sucesso na Embrapa Soja. Por se tratar de um método que não gera resíduos, rápido e que pode ser realizado em amostras de grãos “*in natura*” e estar bem calibrado para a determinação do teor de proteínas em grãos de soja, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a viabilidade de utilização do NIR em substituição ao método Kjeldahl para determinação da concentração de N total em grãos de soja. Para isso, foram selecionadas 96 amostras nas quais foram determinadas as concentrações de N pelo método Kjeldahl (padrão de comparação) e os teores de proteína com o NIR, que foram convertidos em N, por meio do fator 6,25. As concentrações foram comparadas seguindo o teste proposto por Leite & Oliveira (2002). Originalmente não houve identidade entre os métodos, porém, ao se estimar o teor de N em função da leitura pelo NIR, verificou-se a existência de tendência linear entre os resíduos da regressão e os teores de N pelo método padrão. Assim, ao se corrigir esse desvio sistemático, a estimativa dos teores de N em função da leitura do NIR resultou em teores estatisticamente idênticos aos do método padrão. Portanto, muito embora estudos adicionais sejam necessários, a determinação indireta do teor de N pelo NIR aparenta ser uma metodologia viável.

Palavras-Chave: NIR; *Glycine max*; análise química;

INTRODUÇÃO

Em amostras de tecido vegetal, quase todo nitrogênio (N) se encontra na forma orgânica, representada em maior proporção por aminoácidos e proteínas (MALAVOLTA et al., 1997). Assim, por se

tratar de um elemento essencial na constituição do tecido vegetal, sua determinação é feita por análise química de amostras de tecido (SILVA, 2009). O método tradicionalmente utilizado em laboratório para determinação de N em grãos de soja é o Kjeldahl (AOAC, 1995), baseado em destilação-titulação. Este método é exato e preciso, tendo como princípio destilar em meio fortemente alcalino o NH_4^+ produzido na digestão com H_2SO_4 . O NH_4^+ condensado é coletado na solução de H_3BO_3 e titulado com uma solução de ácido forte (HCl ou H_2SO_4) (SILVA, 2009).

Esta técnica requer uma série de processos, sendo estes a moagem dos grãos de soja, pesagem, digestão, seguido de aquecimento e destilação, e finalmente a titulação das amostras. As desvantagens do processo incluem o uso de reagentes químicos em grande quantidade e, conseqüentemente, a geração de grande aporte de resíduos, que devem ser adequadamente tratados para evitar impactos ambientais negativos.

Alternativamente a esta metodologia, a análise por espectroscopia no infravermelho próximo (NIR, do inglês, *Near-Infrared*), cujo equipamento possui bandas de absorção específicas (seletividade espectral), possibilita a determinação de diversos compostos químicos simultaneamente, sem a geração de resíduos e com tempo de análise relativamente reduzido (FOUNTAIN, 2003).

A utilização do NIR para a análise de tecido vegetal em amostras de grãos de soja pode gerar dados que sirvam como parâmetros para estabelecer critérios de avaliação em relação ao método padrão de análise de N (Kjeldahl). A grande vantagem do NIR é a leitura das amostras “*in natura*” (método não-destrutivo), não sendo necessário os processos de preparo, digestão e leitura dos extratos utilizados no método padrão de determinação de N e que, por conseqüência, não gera resíduos. Por outro lado, é necessário ter uma curva de calibração que relacione a leitura do espectro e o teor de N, além de coletar grãos íntegros e devidamente limpos. Além disso, o custo de aquisição do equipamento é elevado e a exatidão dos resultados, no caso da determinação de N, ainda é muito questionada.

Nesse sentido, este trabalho teve como objetivo comparar os métodos de determinação de N total em grãos de soja por destilação titulção (Kjeldhal) e NIR.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a comparação dos métodos foram utilizadas 96 amostras de grãos de soja coletadas em março de 2011, provenientes de experimento com adubação potássica e fosfatada conduzido na Faz. Experimental da Embrapa Soja, em Londrina-PR.

Para o procedimento padrão (Kjeldahl), foram utilizados balança analítica para pesagem e tubo de digestão de 90 mL. Os reagentes usados na digestão foram a mistura catalítica, composta de sulfato de potássio (K_2SO_4) e sulfato de cobre ($CuSO_4$) a 10:1, além de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado e peróxido de hidrogênio (H_2O_2 a 130 V). Para a destilação-titulação, utilizou-se hidróxido de sódio (NaOH) a 10 mol L^{-1} , ácido bórico (H_3BO_3) a 10 g L^{-1} , além de ácido sulfúrico (H_2SO_4) a $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ para a titulação. Como equipamentos analíticos foram utilizados blocos digestores e as amostras foram analisadas em AutoKjeldahl Unit K-370 Büchi, com amostrador automático K-371 (Büchi, Switzerland).

No processo de digestão foram usados 0,100g de amostra, em torno de 0,2g da mistura catalisadora, e 1,5 mL de peróxido de hidrogênio. Os tubos foram colocados no bloco digestor e aquecidos lentamente até $350 \text{ }^\circ\text{C}$, até obtenção de um líquido viscoso esverdeado (cerca de 1 hora). Em seguida, foram acrescentados 15mL de água deionizada em cada tubo, e os extratos diluídos foram transferidos para o equipamento AutoKjeldahl K-370 e analisados conforme o manual de operação do equipamento.

Para a análise por espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) foram utilizados grãos de soja inteiros, cubeta de quartzo e equipamento analítico NIR – Antaris II da Thermo Scientific (Thermo Scientific, Califórnia - USA). Pelo fato desta análise não necessitar da moagem inicial do tecido vegetal, os grãos foram apenas colocado *in natura* em cubeta e analisados de acordo com instruções do fabricante.

Os resultados foram comparados por meio do teste de identidades de métodos, proposto por Leite & Oliveira (2002). Caso não existisse identidade entre os métodos, modelos de regressão linear foram ajustados para relacionar as informações.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve identidade estatística entre os métodos testados (Figura 1A). Entretanto, em função do bom relacionamento entre os dois métodos foi possível estimar o teor de N em função do teor obtido com o NIR (Figura 1B) obtendo-se valores estatisticamente idênticos pelo teste proposto por Leite e Oliveira (2002).

Para realizar essa estimativa foi necessário, primeiramente, relacionar as determinações de N-Kjeldahl (variável dependente – y) em função do N-NIR (variável independente – x) (Figura 2A). Contudo, a partir do estudo de resíduos do modelo ajustado na

Figura 2A, verificou-se a existência de um relacionamento entre os valores residuais (y) e os respectivos teores de N-Kjeldahl (x), o que permitiu ajustar um modelo linear que descrevesse a variação sistemática entre os métodos de determinação de N nas amostras de grãos (Figura 2 B).

Portanto, a partir das equações ajustadas na Figura 2, os teores de N foram estimados e corrigidos em duas etapas: primeiramente utilizando a equação do modelo ajustado na Figura 2A. Em seguida, o teor estimado foi corrigido a partir da equação do modelo ajustado na Figura 2B. Dessa forma, na Tabela 1 estão apresentadas as equações utilizadas para estimar o teor de N em grãos de soja, a partir da leitura do NIR.

Tabela 1. Equações utilizadas para estimar o teor de N nas amostras de grãos de soja

Equações
1: N-estimado = $14,184 + 0,7386 * N\text{-NIR}$
2: N-estimado/corrigido = $N\text{-estimado} + (-45,288 + (0,7543 * N\text{-estimado}))$

CONCLUSÕES

O método de análise por NIR pode ser utilizado para substituir a análise convencional de N em grãos de soja, por constituir um método rápido, de boa relação custo-benefício. No entanto, a comparação e a associação entre os resultados desses métodos devem ser realizadas a partir de um maior número de amostras, para refinar os ajustes e obter maior confiabilidade nas estimativas.

REFERÊNCIAS

- LEITE, H.G.; OLIVEIRA, F.H.T. Statistical Procedure to Test the Identity of Analytical Methods. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.33, n.7-8, 2002.
- SILVA, F.C. Análise química de tecido vegetal. In: **Manual de Análises Químicas de Solo, Plantas e Fertilizantes**. 2 ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009.p.193-204.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. de. Funções. In: **Avaliação do estado nutricional das plantas**. Piracicaba – São Paulo: Universidade de São Paulo, 1997. 67p.
- FOUNTAIN, W.; DUMSTORF, K.; LOWELL, A.E.; LODDER, R.A.; MUMPER, R.J. Near-infrared spectroscopy for the determination of testosterone in thin-film composites. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.33, n.2, p.181-189, 2003.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 16 ed. Arlington: AOAC, 1995, v. 1.

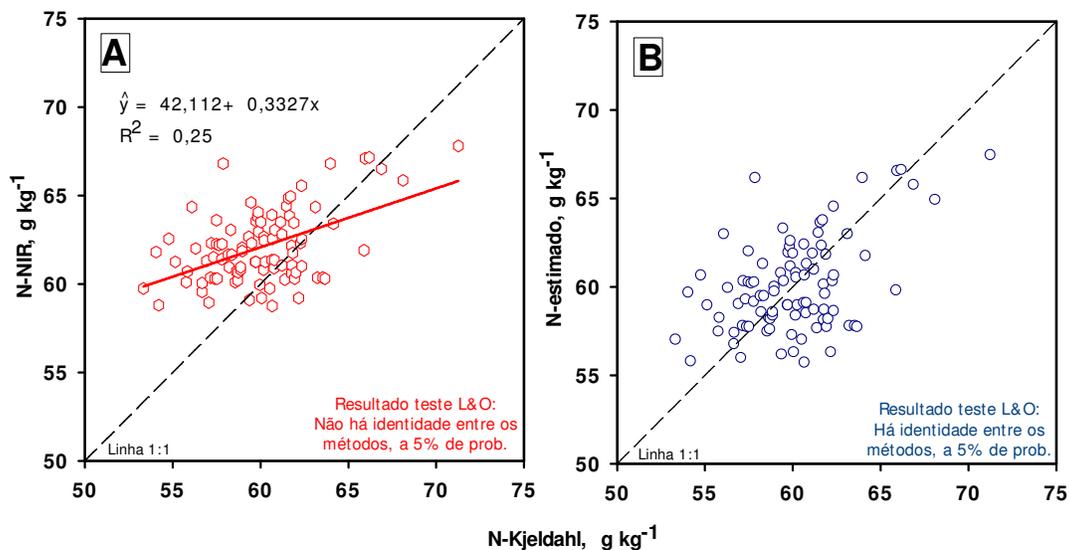


Figura 1: Modelos ajustados para os teores de N nos grãos de soja. A: comparação entre os teores de N pelo NIR (y) em função do teor pelo Kjeldahl (x - método padrão). B: identidade entre os teores de N estimados e corrigidos a partir da leitura do NIR e os determinados pelo método padrão (Kjeldahl).

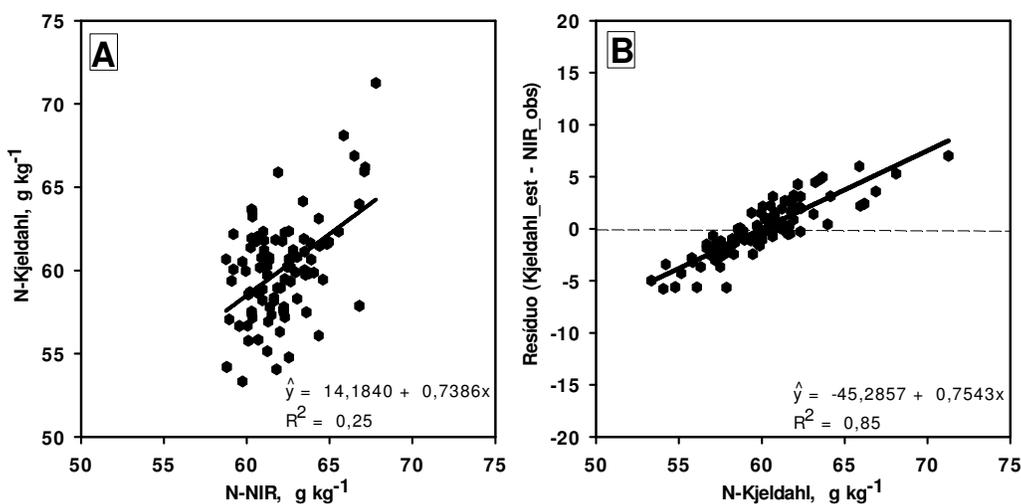


Figura 2: Modelos ajustados para os teores de N nos grãos de soja. A: ajuste entre os teores de N por Kjeldahl (y) em função do N pelo NIR (x). B: distribuição dos resíduos do modelo ajustado para estimar o teor de N (y) em função do teor pelo Kjeldahl (x).