



simpósio estadual de AGROENERGIA

IV reunião técnica de agroenergia - RS

CONSTRUÇÃO DE CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA PREDIÇÃO DE AÇÚCARES REDUTORES E AÇÚCARES REDUTORES TOTAIS DE CANA-DE-AÇÚCAR POR ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO.

Juliana Silva Lemões¹, Bianca Aguiar Oliveira², Sabrina Peres Farias³, Sérgio Delmar dos Anjos e Silva⁴.

INTRODUÇÃO

A espectroscopia de infravermelho próximo (NIR) é uma técnica de análise rápida, não destrutiva, não invasiva, sem a necessidade de preparo de amostra e ainda, pode analisar vários constituintes da amostra de uma só vez. Qualquer molécula contendo ligações químicas C-H, N-H, S-H ou O-H pode ser analisada por NIR e as medidas podem ser realizadas na forma líquida, sólida e gasosa (PASQUINI, 2003; REICH, 2005).

Em função da versatilidade, a técnica de infravermelho próximo tem aplicações em diversas áreas, como nas indústrias químicas, farmacêuticas, de petróleo, de tintas, de cosméticos, entre outras, assim como em diferentes linhas de pesquisa (SANTOS, 2011).

Para o desenvolvimento de método para determinação de parâmetros por NIR, espectros de um conjunto de amostras representativas devem ser adquiridos pelo espectrômetro de infravermelho próximo e análises por métodos de referência devem ser realizadas. Para construção de curvas de calibração é necessário o uso de ferramentas quimiométricas para modelar a relação entre as variações espectrais e os valores de referência (REICH, 2005).

O objetivo deste trabalho foi construir curvas de calibração para predição de valores de açúcares redutores e açúcares redutores totais de cana-de-açúcar utilizando espectroscopia de infravermelho próximo (NIR).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas amostras de três plantios de cana-de-açúcar implantados na Embrapa Clima Temperado, safra 2010. Os colmos de cana-de-açúcar foram rachados, sendo a metade do colmo utilizada para a leitura por espectrometria de infravermelho próximo (modelo NIR FLEX N500, BÜCHI) utilizando acessório XL e o restante do colmo foi seco até peso constante em estufa a 60-65°C. Após secagem, as amostras foram moídas e os açúcares extraídos.

¹ MSc. Química / Bolsista CNPq - Embrapa Clima Temperado. julianalemoes@yahoo.com.br

² Graduando Bacharelado Química / UFPel. biaoliw@yahoo.com.br

³ Acadêmica do curso de Engenharia Química – FURG. s.pfarias@yahoo.com.br



Para a extração de açúcares adicionou-se 5 mL de etanol 80% a 100 mg de amostra moída, incubou-se por 15 minutos a 80°C, a amostra foi centrifugada e o sobrenadante transferido para novo tubo. Ao precipitado adicionou-se mais 10 mL de etanol 80% e repetiu-se a centrifugação, o segundo sobrenadante foi adicionado ao primeiro. O extrato alcoólico obtido foi avolumado a 50 mL com água destilada.

Para a determinação de açúcares redutores totais (ART), uma alíquota de 20 uL do extrato alcoólico foi diluída a 1 mL com água destilada e adicionou-se uma mistura de antrona e ácido sulfúrico em banho de gelo, a amostra foi incubada a 100°C por três minutos. As concentrações de açúcares redutores totais foram determinadas por espectrofotometria a 620 nm (YEMM e WILLIS, 1954).

Para a determinação de açúcares redutores (AR), uma alíquota de 2 mL do extrato foi desproteïnizada com hidróxido de bário e sulfato de zinco, 2 mL do extrato desproteïnizado reagiu com reagente cúprico a temperatura de 100°C por 20 minutos, após resfriamento em banho de gelo, adicionou-se o reagente arsenomolibdico e água. As concentrações de açúcares redutores foram determinadas por espectrofotometria a 510 nm (NELSON, 1944).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Obtenção da curva de calibração para ART e AR: os valores obtidos pelo método de referência foram introduzidos para construção da curva utilizando o software NIRCal 5.2 (Buchi).

A avaliação, processamento e interpretação dos espectros gerados foram realizados com auxílio de ferramentas quimiométricas. A Tabela 1 apresenta os modelos de calibração utilizados para a construção das duas curvas de calibração.

Tabela 1. Modelos de calibração para ART e AR de cana-de-açúcar.

	ART	AR
Procedimento de cálculo	PLS (<i>Partial Least Squares Regression</i>)	PLS (<i>Partial Least Squares Regression</i>)
Tratamentos	segunda derivada, SNV (<i>Standard Normal Variate</i>) e alisamento (<i>Smooth Average 3 Points</i>)	segunda derivada, SNV (<i>Standard Normal Variate</i>) e Alisamento (<i>Smooth Savitzky-Golay 9 Points Gap2</i>)
Nº amostras	27	34
Nº espectros	81	102
Validação	<i>Cross validation</i>	<i>Cross validation</i>
Nº PCs	8	7
Equação da reta	$f(x)=0,9615x + 0,5903$	$f(x)=0,4821x + 0,4809$

r=	0,9806	0,6943
r ² =	0,9615	0,4821
Sdev (x-y)	0,4899	0,5217

N° PCs: número de componentes principais

Apesar do coeficiente de correlação para a curva de calibração de ART ser superior a 0,90 (Tabela 1), pela Figura 1 pode-se observar que existem poucos pontos entre 10 e 12% e entre 17 e 18% de ART. Pontos nestes intervalos devem ser inseridos para o aumento da consistência da curva de calibração e, conseqüentemente, melhor predição dos valores para amostras externas à curva de calibração. Além disso, curvas de calibração para NIR devem ser periodicamente ajustadas com amostras de diferentes plantios e coletadas em diferentes períodos no ano.

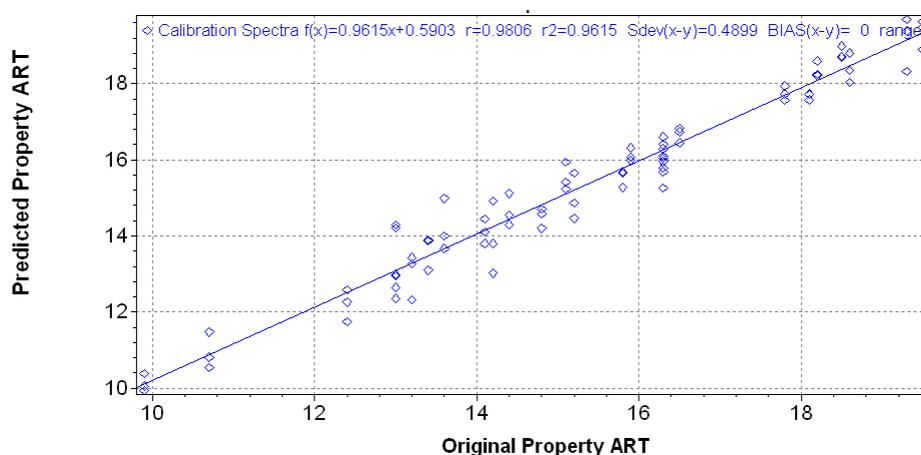


Figura 1. Gráfico de correlação dos valores preditos versus valores originais para ART.

A curva de calibração para açúcares redutores (AR) apresentou baixa correlação entre os valores preditos versus valores originais (Tabela 1). Na Figura 2 observa-se também que além de alguns intervalos na curva apresentarem poucos pontos (entre 1,5% de AR), existe grande dispersão entre pontos no sentido do eixo y do gráfico.

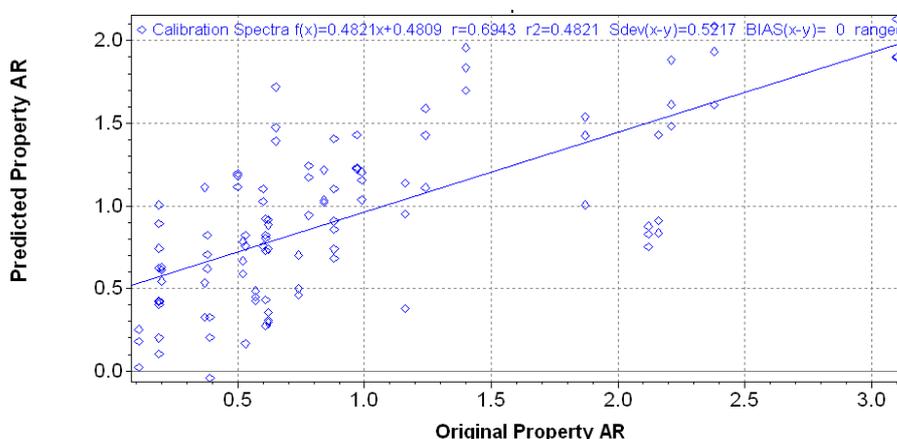


Figura 2. Gráfico de correlação entre os valores preditos e os valores originais para AR.

A utilização de um número maior de amostras e o uso de outras ferramentas quimiométricas pode corrigir esse efeito e aumentar os coeficientes de correlação dos valores preditos versus valores originais, para isso, valores de referência de amostras das safras de 2011 e 2012 estão sendo obtidos em laboratório para inserção na curva de calibração.

CONCLUSÕES

A curva de calibração gerada para ART apresenta alto coeficiente de correlação dos valores preditos com os valores de referência.

Há necessidade de mais dados para ajustar a curva de calibração para AR.

REFERÊNCIAS

YEMM, E. W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. **Biochemical Journal**, London, v.57, n.3, p.508-514, 1954.

NELSON, N. A fotometric adaptation of Somogyi method the determination of glucose. **J. Biol. Chem.**, v. 153, p. 375-380, 1944.

PASQUINI, Célio. Near Infrared Spectroscopy: Fundamentals, Pratical Aspects and Analytical Applications. **J. Braz. Chem. Soc.** V.14, n.2, p. 198-219, 2003.

REICH, Gabriele. Near-infrared spectroscopy and imaging: Basic principles and pharmaceutical applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.52, p. 1109 - 1143, 2005.

SANTOS, Ana Paula dos. **Espectroscopia de infravermelho próximo**. 2011. Dissertação (Mestrado em Solos) – Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, 2011.

AGRADECIMENTOS:

À FINEP e ao CNPq