



## Caracterização de amostras de silagem por espectroscopia de infravermelho na região do próximo (NIR)

### Characterization of silage samples by near infrared spectroscopy (NIR)

Felipe Augusto Bueno Rossi<sup>1</sup>, Larissa Macedo dos Santos Tonial<sup>2</sup>

#### RESUMO

O presente trabalho tem como principal objetivo subsidiar a partir de dados a construção de um modelo de calibração e validação, com o auxílio da espectroscopia de infravermelho próximo (NIR), como uma alternativa às análises químicas tradicionalmente adotadas em um laboratório. Para isto avaliou-se a composição química de amostras de silagem de milho. Antes das análises as amostras foram secas para a remoção da umidade, moídas e peneiradas. Para a determinação dos teores de N, P e K empregou-se metodologias tradicionalmente empregadas na literatura. A caracterização por meio do NIR foi realizada empregando dois espectrômetros, um de bancada e um portátil. Os resultados obtidos foram tratados por meio de ferramentas estatísticas, análise de componentes principais (PCA), e permitem inferir que há variabilidade no conjunto, uma característica importante para a obtenção de bons modelos de calibração e validação. Acredita-se deste modo que os resultados obtidos, em conjunto com ferramentas estatísticas possam proporcionar uma alternativa viável financeiramente e economicamente para substituir as análises de bancada.

**PALAVRAS-CHAVE:** química analítica; química verde; sustentabilidade

#### ABSTRACT

The main objective of this study is to use data to support the construction of a calibration and validation model, using near-infrared spectroscopy (NIR), as an alternative to the chemical analyses traditionally used in a laboratory. To this end, the chemical composition of corn silage samples was evaluated. Before analysis, the samples were dried to remove moisture, ground and sieved. Methodologies traditionally used in the literature were used to determine the N, P and K content. NIR characterization was carried out using two spectrometers, one bench-top and one portable. The results obtained were treated using statistical tools, principal component analysis (PCA), and allow us to infer that there is variability in the set, an important characteristic for obtaining good calibration and validation models. It is therefore believed that the results obtained, together with statistical tools, can provide a financially and economically viable alternative to replace bench analysis.

**KEYWORDS:** analytical chemistry; green chemistry; sustainability

## INTRODUÇÃO

Ao longo dos anos, as análises químicas têm influenciado significativamente na tomada de decisão de inúmeras ações humanas em diversas áreas do conhecimento, destaque aqui na determinação de fertilizantes e nutrientes básicos para a composição do solo na Agricultura [1]. As análises químicas realizadas em um laboratório envolvem reações químicas com o emprego de reagentes, geração de resíduos, e demandam em geral um tempo relativamente grande [2], fazendo-se necessário o conhecimento das diversas técnicas e princípios teóricos [1,3].

<sup>1</sup> Bolsista do CNPQ (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, Paraná, Brasil. E-mail: feliperossi.2021@alunos.utfpr.edu.br ID Lattes: 9361434687978153

<sup>2</sup> Larissa Macedo dos Santos Tonial, docente no Curso de Química. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, Paraná, Brasil. E-mail: larissasantos@professores.utfpr.edu.br. ID Lattes: 9439814411927273.

A espectroscopia de infravermelho próximo (NIR, do inglês *Near Infrared Spectroscopy*) tem se mostrado atraente uma vez que em geral não requer o preparo da amostra e quando o faz, necessita-se de um pré-tratamento mínimo, o que permite análises rápidas, não utilização de reagentes e não gera resíduos [4]. A NIR é um tipo de espectroscopia vibracional que corresponde à faixa de comprimento de onda de 750 a 2.500 nm, visa obter informações qualitativas e quantitativas provenientes da interação de ondas eletromagnéticas com a amostra, por sua vez esta deve conter em sua composição moléculas com ligações C-H, N-H, S-H ou O-H, podendo ser facilmente utilizada [5].

Dentre as técnicas espectroscópicas, uma opção interessante são os instrumentos portáteis que podem ser utilizados para análises *in situ*, os quais dentre as vantagens destacam-se a facilidade de uso e operação, o custo, a praticidade, entre outras. Estes possuem características espectrofotométricas reduzidas e podem ser alimentados e controlados por uma porta USB associado a um Software [6].

Com isso, o presente estudo tem como finalidade, apresentar uma alternativa às análises tradicionais de bancada para a caracterização de amostras de silagem, empregando um espectrômetro de NIR portátil.

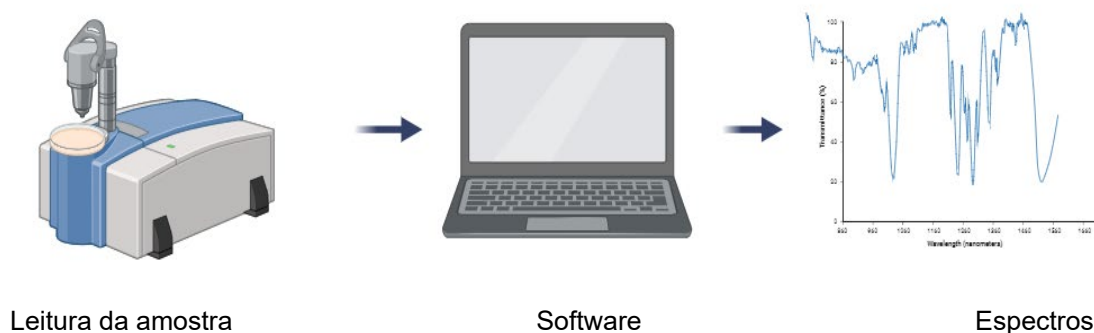
## MATERIAIS E MÉTODOS

### AMOSTRAS

Nesse estudo, até o presente momento foram analisadas 96 amostras de silagem de milho. Após a coleta, realizou-se a secagem, moagem e peneiramento das amostras.

Fez-se a determinação de teores de N, P e K da silagem de milho por meio do emprego de metodologias tradicionais de análise [3]. Para a caracterização espectroscópica das amostras empregou-se do NIR de bancada e portátil (Figura 1).

Figura 1 - Leitura das amostras empregando-se o NIR



Fonte: Autoria Própria (construída com o Biorender)

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na tabela 1 são mostrados os teores mínimo, máximo, médio, desvio padrão e coeficiente de variação de N, P e K e proteína das 96 amostras de silagem analisadas segundo Tedesco [3].

De acordo com a Tabela 1 a maior variabilidade foi observada para os teores de K (CV = 35%), e a menor foi observada para N e Proteína Bruta (CV = 20%). Para os teores



de K observou-se variação entre 0,5 e 3,4% o que está de acordo com a literatura [3] a qual cita para tecido vegetal teores de K entre 0,2 a 10%. Os teores de P corroboram com a literatura [3] a qual sugere variação entre 0,05 e 2,5%. Contudo, os teores máximos tanto para P e K encontram-se abaixo dos descritos na literatura.

**Tabela 1 - N, P e K das amostras de silagem**

	N (%)	Proteína Bruta (%)	P (%)	K (%)
Teor mínimo	0,6	3,6	0,04	0,5
Teor máximo	1,5	9,6	0,19	3,4
Teor médio $\pm$ Desvio Padrão	1,1 $\pm$ 0,2	7 $\pm$ 1	0,12 $\pm$ 0,03	1,1 $\pm$ 0,4
Coefficiente de Variação (%)	20	20	29	35

n = 96

Fonte: Autoria própria

O P e K auxiliam no ganho de massa dos bovinos de corte, podendo causar a deficiência do ganho de peso do animal, caso não estejam equilibrados em uma dieta onde a proteína esteja perfeitamente balanceada [9].

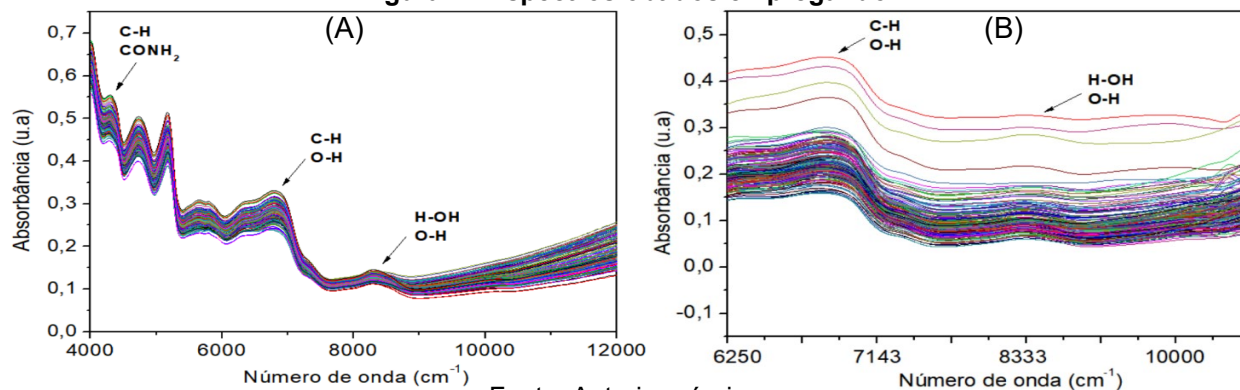
No método Kjeldahl, o N da amostra é reduzido a íon amônio pela digestão com o ácido sulfúrico concentrado. Para aumentar a rapidez e eficiência da conversão de N orgânico em  $N-NH_4^+$  pela digestão mencionada, adicionam-se sais como sulfato de potássio ou sulfato de sódio e catalizadores que auxiliam a oxidação da matéria orgânica, selênio, mercúrio e cobre.

Pelo fato da análise não diferenciar entre o N que realmente participa da constituição da proteína e aquele N que não faz parte desta (N não proteico), podemos chamá-la de proteína bruta [9]. Os valores de N e proteína são deste modo diretamente proporcionais, uma vez que o teor de proteína é obtido a partir do teor de N.

O teor médio de proteína das amostras de silagem foi de  $7 \pm 1\%$  (Tabela 1), este valor é bem próximo do valor definido por Von Pinho[8] como valores adequados para a silagem de milho. O teor de N varia com a espécie, variedade, parte e estado nutricional da planta [3]. Neste trabalho observou-se baixa variabilidade uma vez que todas as amostras eram silagem de milho.

A Figura 2, apresenta os espectros de NIR das amostras de silagem obtidos por meio de (A) espectrômetro de bancada e (B) portátil.

**Figura 2 - Espectros obtidos empregando NIR**



Fonte: Autoria própria



De modo geral, os espectros apresentam-se semelhantes, e isso decorre de termos analisado amostras de silagem de milho, garantindo maior homogeneidade ao conjunto amostral. Em todos os espectros foram observadas a presença de sinais comuns as amostras. Nos espectros obtidos por meio do NIR de bancada (Figura 2A) foram observados sinais em: 4302; 4759; 5197; 6792 e 8353 $\text{cm}^{-1}$ .

Nos espectros obtidos por meio do NIR portátil (Figura 2B) foram observados sinais em: 6900; 8300 e 10707 $\text{cm}^{-1}$ .

Estes sinais estão associados às particularidades de cada molécula. Na espectroscopia vibracional, tal como a espectroscopia de radiação infravermelha os sinais espectrais estão relacionados ao movimento vibracional da molécula, estiramento e dobramento [10]. Dessa forma, podemos empregar essas informações para caracterizar qualitativamente diversas amostras, em destaque neste trabalho silagem de milho.

Os espectros apresentaram um sinal intenso em torno de 6800 $\text{cm}^{-1}$ , o qual de acordo com estudos anteriores está associado a combinações C-H (grupos aromáticos) ou O-H (água) [11].

Os sinais de absorção em torno de 8400 $\text{cm}^{-1}$ , observados em todos os espectros (Figuras 2A e 2B), são atribuídos a vibração de estiramento da hidroxila da molécula de água ou de vibração de ângulo variável H-OH [11].

Os espectros com sinais em torno de 4347 e 4545 $\text{cm}^{-1}$  (Figura 2A) estão relacionados a combinação C-H e CONH<sub>2</sub> associadas a vários compostos, incluindo proteínas, amidos e constituintes de parede celular como por exemplo lignina[12].

Os sinais entre 4700 e 5400  $\text{cm}^{-1}$  são de regiões típicas de água [13]

Os espectros de NIR das amostras de silagem, obtidos com o emprego do espectrômetro de bancada (Figura 2A) e portátil (Figura 2B) motivam trabalhos futuros para a construção de modelos de calibração e validação com o auxílio de ferramentas estatísticas. Isto pois apresentaram sinais de absorção os quais podem ser relacionados diretamente ou indiretamente aos teores de N, Proteína Bruta, P, K, entre outros componentes importantes nutricionais. De modo geral, alguns sinais são similares, no entanto sinais em regiões distintas foram obtidos por meio do NIR de bancada, mostrando deste modo que os mesmos podem ser usados de forma complementar a fim de garantir maior confiabilidade aos modelos.

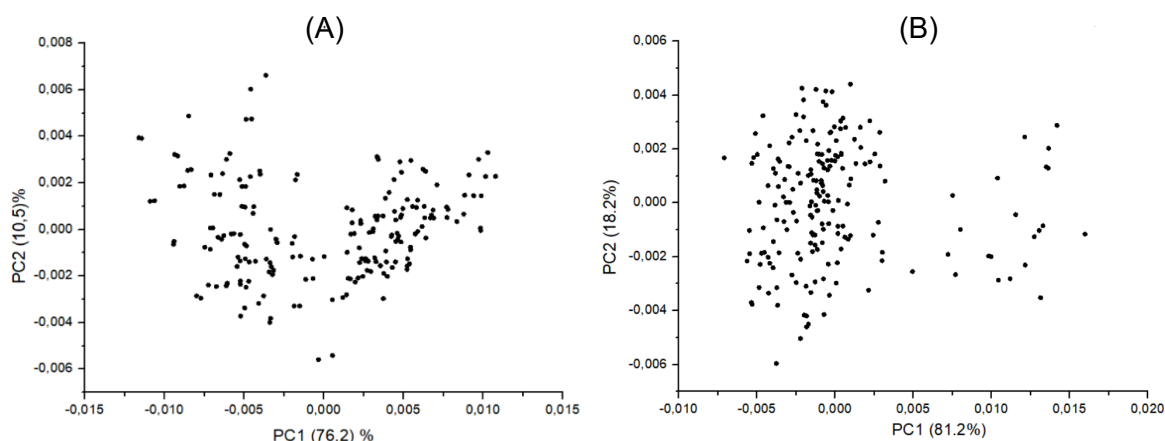
Todos os dados obtidos por meio das análises químicas de bancada e NIR foram submetidos à PCA. Esta tem como objetivo principal agrupar as amostras em função das semelhanças. Neste relatório são apresentadas as PCAs obtidas por meio dos espectros de NIR (Figura 3).

De acordo com os gráficos da Figura 3 a PCA construída com os dados do NIR de bancada (Figura 3A) apresenta 86,7% dos dados representados usando a PC1 e a PC2. Contudo, maior representatividade total dos dados foi obtida a partir da PCA construída com os dados do NIR portátil, onde a PC1 + PC2 representam 99,4% dos dados.

A análise exploratória via PCA não mostrou agrupamento ou separação clara entre as amostras, contudo a uma tendência de formação de dois grandes grupos. Esse resultado indica que há variabilidade no conjunto, uma característica importante para a obtenção de bons modelos de calibração e validação.



Figura 3 - Gráfico de PCA obtido por meio dos espectros de NIR empregando o espectrômetro de (A) bancada e (B) portátil.



Fonte: Autoria própria

## CONCLUSÕES

Os resultados obtidos por meio das metodologias tradicionais de análise, empregando os espectrômetros de NIR de bancada e portátil, na caracterização de 96 amostras de silagem de milho motivam a continuidade deste trabalho para a construção de modelos de calibração e validação. Acredita-se deste modo que os resultados obtidos, em conjunto com ferramentas estatísticas possam proporcionar uma alternativa viável financeiramente e economicamente para substituir as análises de bancada, com as vantagens: (1) redução no tempo de análise; (2) redução no consumo de reagentes; (3) redução na geração de resíduos; (4) facilidade de operação, entre outras.

## AGRADECIMENTOS

Aos órgãos de fomento, Fundação Araucária (Projeto nº: PBA2022011000259) pela aquisição do espectrômetro de NIR portátil e ao CNPQ pela bolsa concedida. À Central de análises da UTFPR-PB pela estrutura e laboratórios.

## CONFLITO DE INTERESSE

“Não há conflito de interesse”.

## REFERÊNCIAS

- [1] VOGEL, Arthur I. **Análise Química Quantitativa**. Rio de Janeiro: Grupo GEN, 2002. *E-book*. ISBN 978-85-216-2580-3. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/978-85-216-2580-3/>. Acesso em: 15 set. 2023.



- [2] MUNAWAR, A. A. et al. Environmental origin classification of coffee beans using infrared spectroscopy. In: **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. IOP Publishing, 2021. p. 012014.
- [3] TEDESCO, Marino José et al. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre: Ufrgs, 1995.
- [4] OLIVEIRA, Rilavia Almeida de; SILVA, Ana Paula Bispo da. William Herschel, os raios invisíveis e as primeiras ideias sobre radiação infravermelha. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 36, p. 4602, 2014.
- [5] PASQUINI, Celio. Near infrared spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications. **Journal of the Brazilian chemical society**, v. 14, p. 198-219, 2003.
- [6] PAIVA, Eduardo Maia et al. Quantification of biodiesel and adulteration with vegetable oils in diesel/biodiesel blends using portable near-infrared spectrometer. **Fuel**, v. 160, p. 57-63, 2015.
- [7] GALVANI, Fábio; GAERTNER, Eliney. Adequação da metodologia Kjeldahl para determinação de nitrogênio total e proteína bruta. 2006.
- [8] VON PINHO, Renzo Garcia et al. Produtividade e qualidade da silagem de milho e sorgo em função da época de semeadura. **Bragantia**, v. 66, p. 235-245, 2007.
- [9] DE MEDEIROS, S. R.; GOMES, R. da C.; BUNGENSTAB, Davi José. Nutrição de bovinos de corte: fundamentos e aplicações. 2015.
- [10] [PAVIA, Donald L.; LAMPMAN, Gary M.; KRIZ, George S.; VYVYAN, James R. **Introdução à espectroscopia**. [Digite o Local da Editora]: Cengage Learning Brasil, 2016. *E-book*. ISBN 9788522123391. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788522123391/>. Acesso em: 15 set. 2023.
- [11] ZHANG, Maoqun et al. Determination of water content in corn stover silage using near-infrared spectroscopy. **International Journal of Agricultural and Biological Engineering**, v. 12, n. 6, p. 143-148, 2019.
- [12] COZZOLINO, Daniel; ROUMELIOTIS, Sophie; EGLINTON, Jason. Monitoring water uptake in whole barley (*Hordeum vulgare* L.) grain during steeping using near infrared reflectance spectroscopy. **Journal of Food Engineering**, v. 114, n. 4, p. 545-549, 2013.
- [13] BÄR, David et al. Determining particle size and water content by near-infrared spectroscopy in the granulation of naproxen sodium. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 151, p. 209-218, 2018.
- [14] TRO, Nivaldo J. **Química - Uma Abordagem Molecular - Vol. 2, 3.ed.** Rio de Janeiro: Grupo GEN, 2016. *E-book*. ISBN 9788521633402. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788521633402/>. Acesso em: 15 set. 2023.