

LZT 0580 – Análise e Composição de Alimentos

NIRS e sua Aplicação na Determinação do Valor Nutritivo

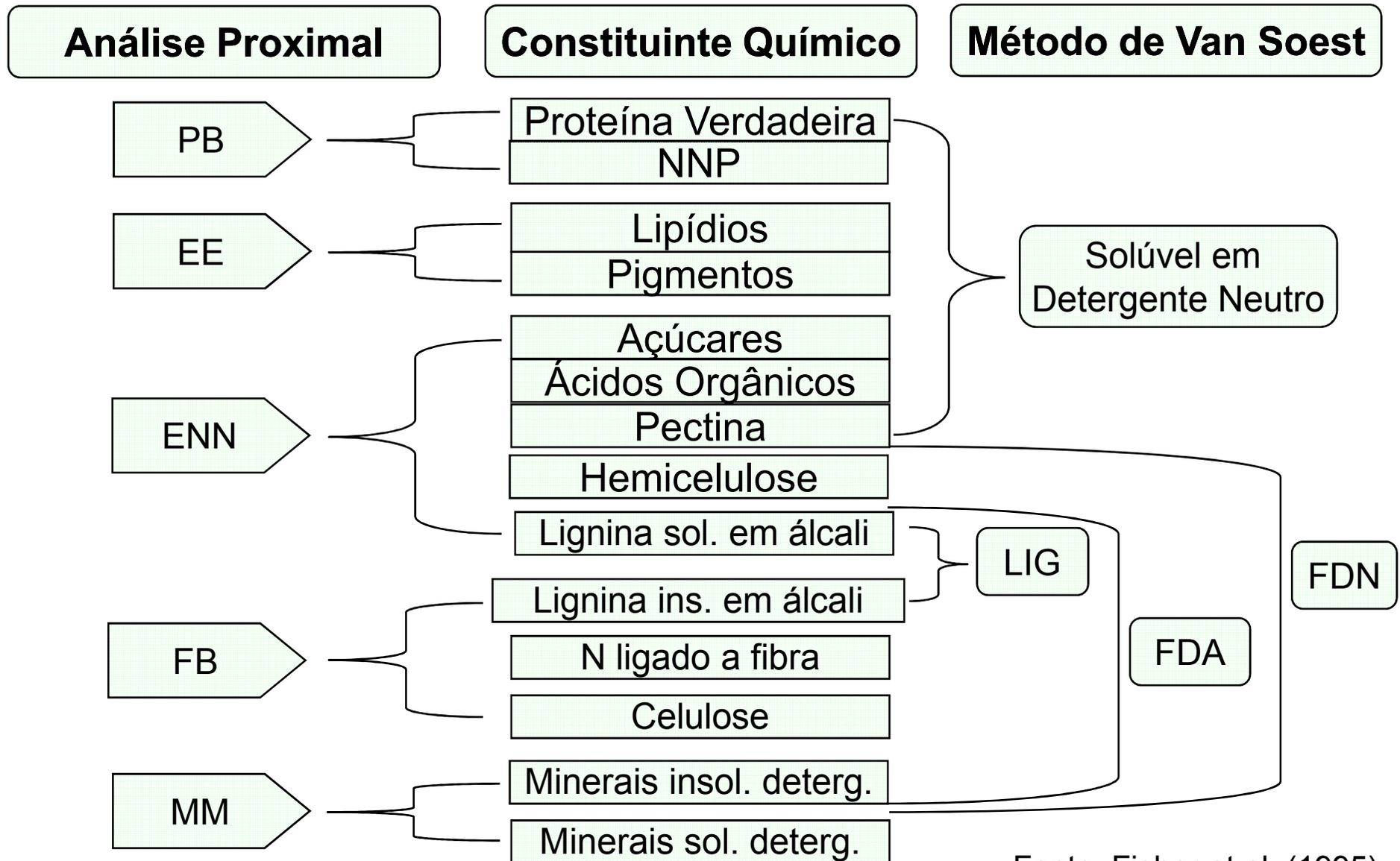


Carla Maris Bittar
Depto. de Zootecnia
carla@esalq.usp.br

Valor Nutritivo

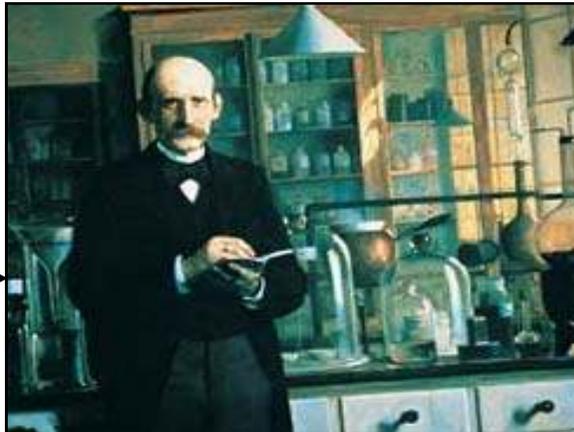


Qualidade do Alimento



Fonte: Fisher et al. (1995)

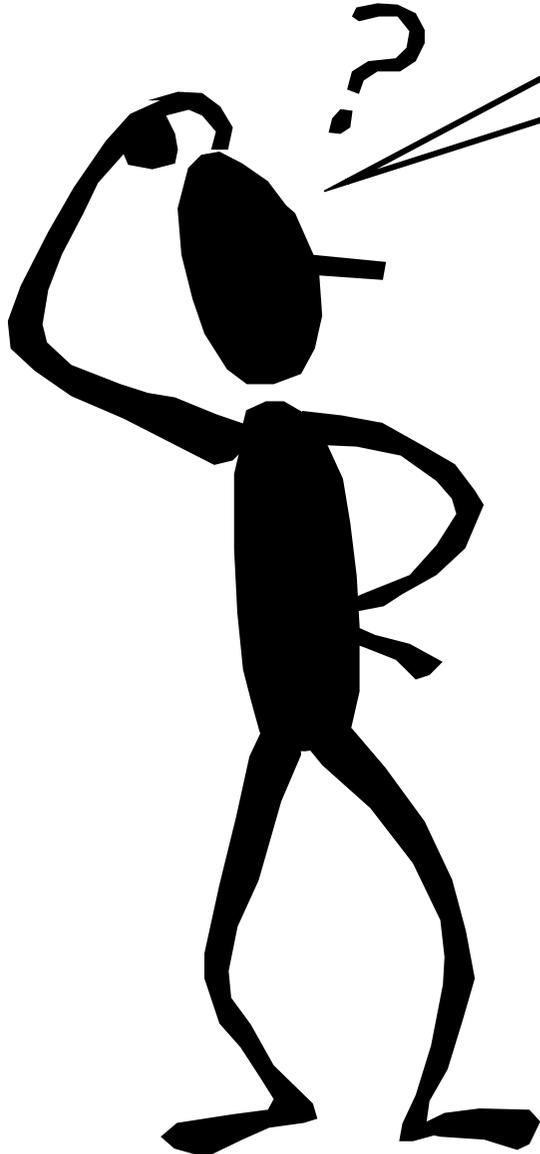
Análises Convencionais vs. NIRS



- Precisão
- Rapidez
- Processamento
- Análise destrutiva
- Uso de reagentes
- Geração de resíduos
- Custo
- Calibração



*O que significa
NIRS?*



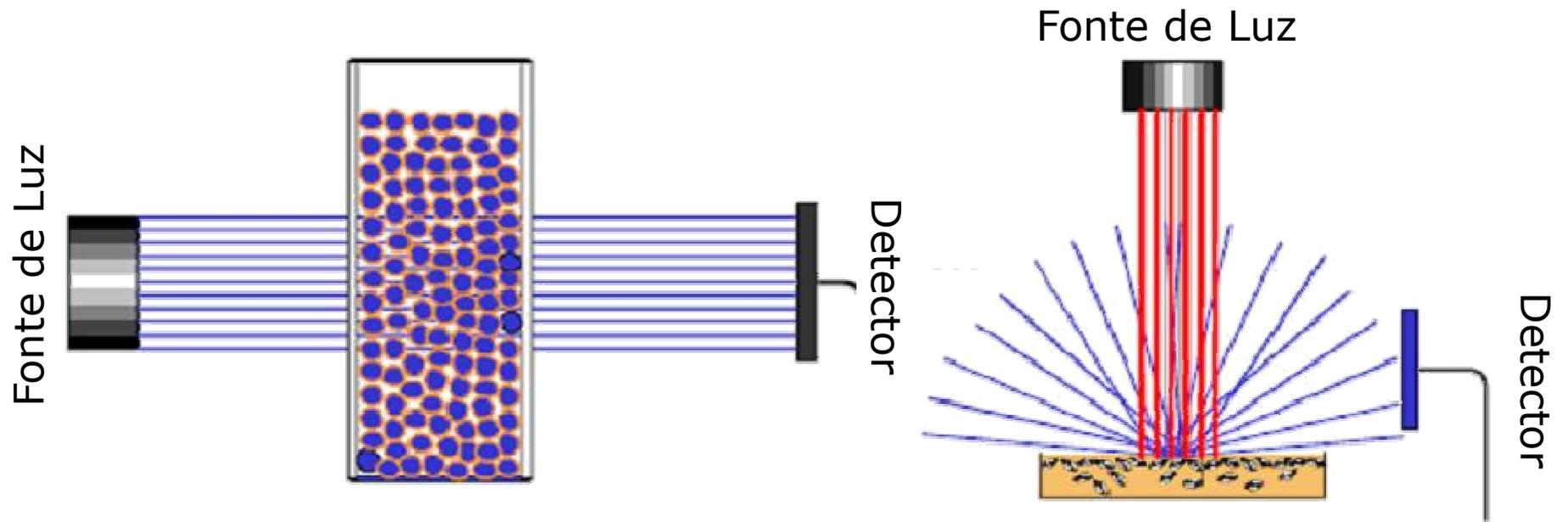
Terminologia

- ✓ NIR = *Near Infrared* ou
Near Infrared Reflectance
- ✓ NIRS = *Near Infrared Reflectance Spectroscopy*

Espectroscopia de Refletância no Infravermelho Proximal

- ✓ NIT = *Near Infrared Transmittance*
- ✓ MIR ou MIDIR = *Middle Infrared*
- ✓ FIR = *Far Infrared*

Transmitância vs. Refletância



Transmitância (NIT)

Refletância (NIR)

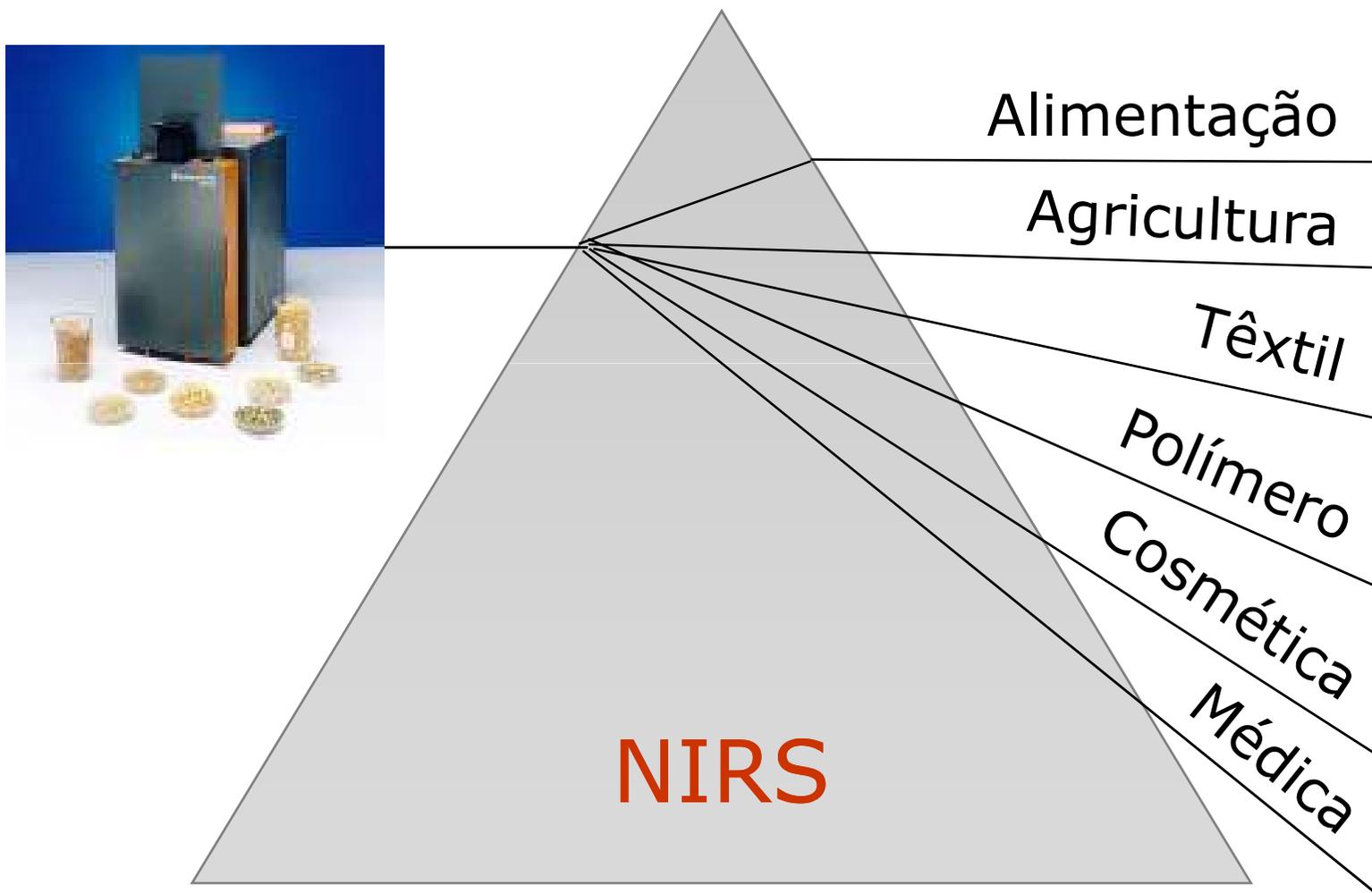
Histórico

- 1800 = Registrado o primeiro espectro de NIR (*Herschel*);
- 1950-1960 = Reconhecido o potencial do NIR para análise quantitativa (*Kaye*);
- 1960s = Programa de pesquisa no USDA (*Norris*) para análise *commodities* agrícolas com NIR;
- 1971 = 1ª geração de instrumentos NIR - Refletância;
- 1975 = 2ª geração de instrumentos NIR - eletrônicos mais estáveis e ótica melhorada;

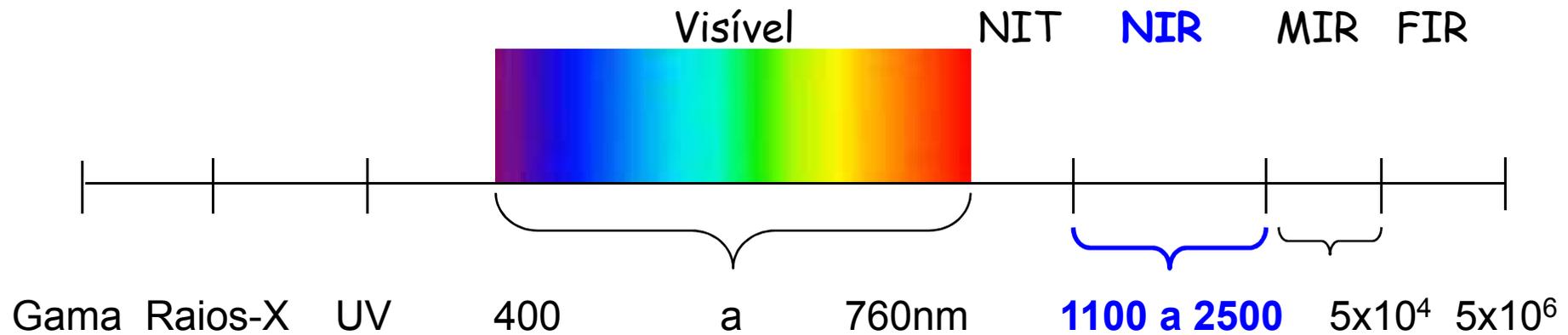
Histórico

- 1977-1978 = 3ª geração de instrumentos NIR - microprocessadores, computadores pequenos;
- 1982-1983 = 4ª geração de instrumentos NIR - leituras monocromáticas;
- 1980s = Introdução de técnicas de calibração por componentes principais;
- 1987 = 5ª geração de instrumentos NIR – transmitância;
- 1990s = Métodos de calibração não-linear – redes neurais (Neural Network).

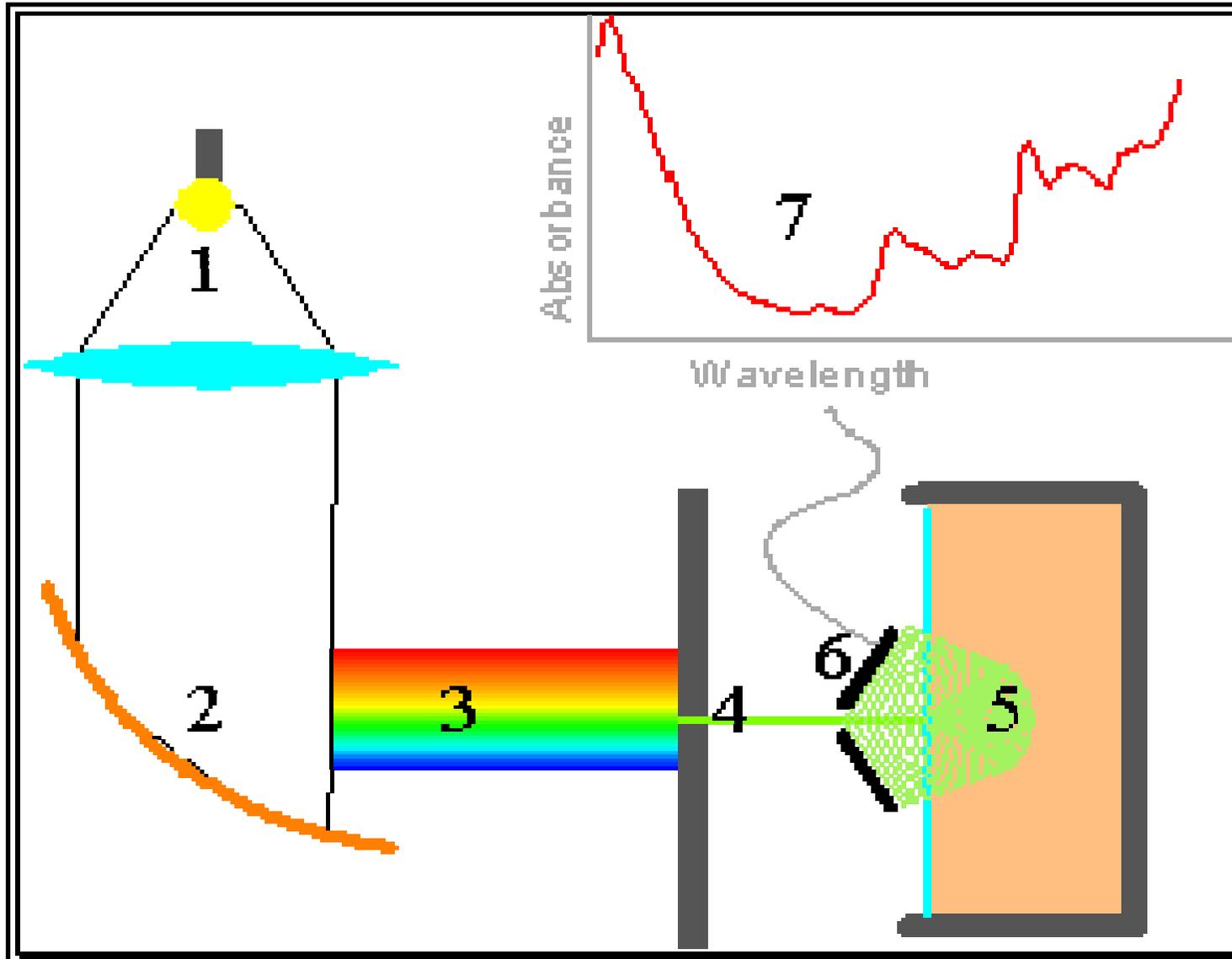
Potencial de Utilização do NIRS



Princípios da Técnica - espectros



Funcionamento do Sistema



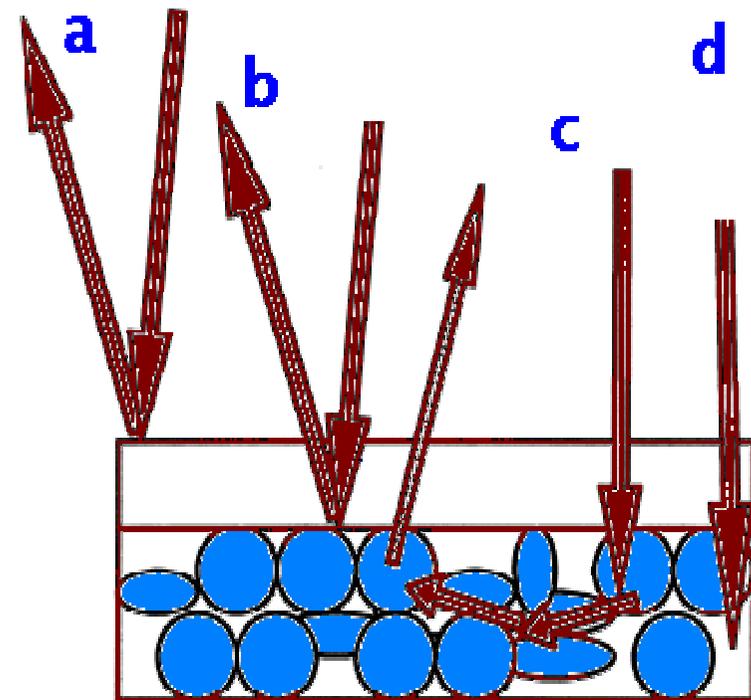
Tipos de Refletância

a - refletância do compartimento (especular)

b - refletância da amostra (especular)

c - absorção e refletância difusa

d - absorção total



Fonte: Beeves III (2000).

Absorbância do NIR

Absorbância está, principalmente, relacionada a ligações de Hidrogênio

Grupos funcionais

(moléculas orgânicas poliatômicas)

- **CH**
- **OH (álcoois)**
- **NH (amidas)**
- **CO (aldeídos e cetonas)**



Percent Complete:

Cursor off

Zoom off

Plot All

Rewind

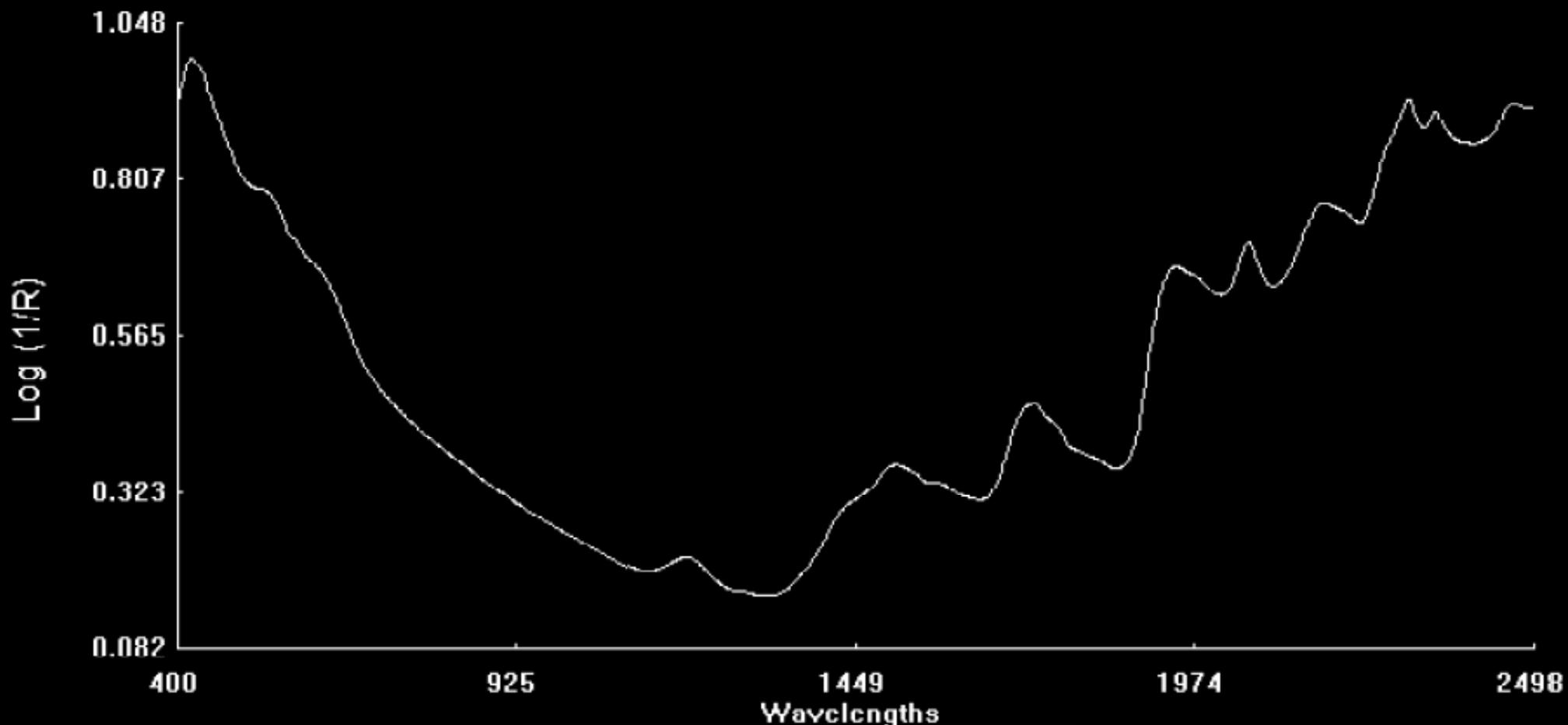
Clear

Next

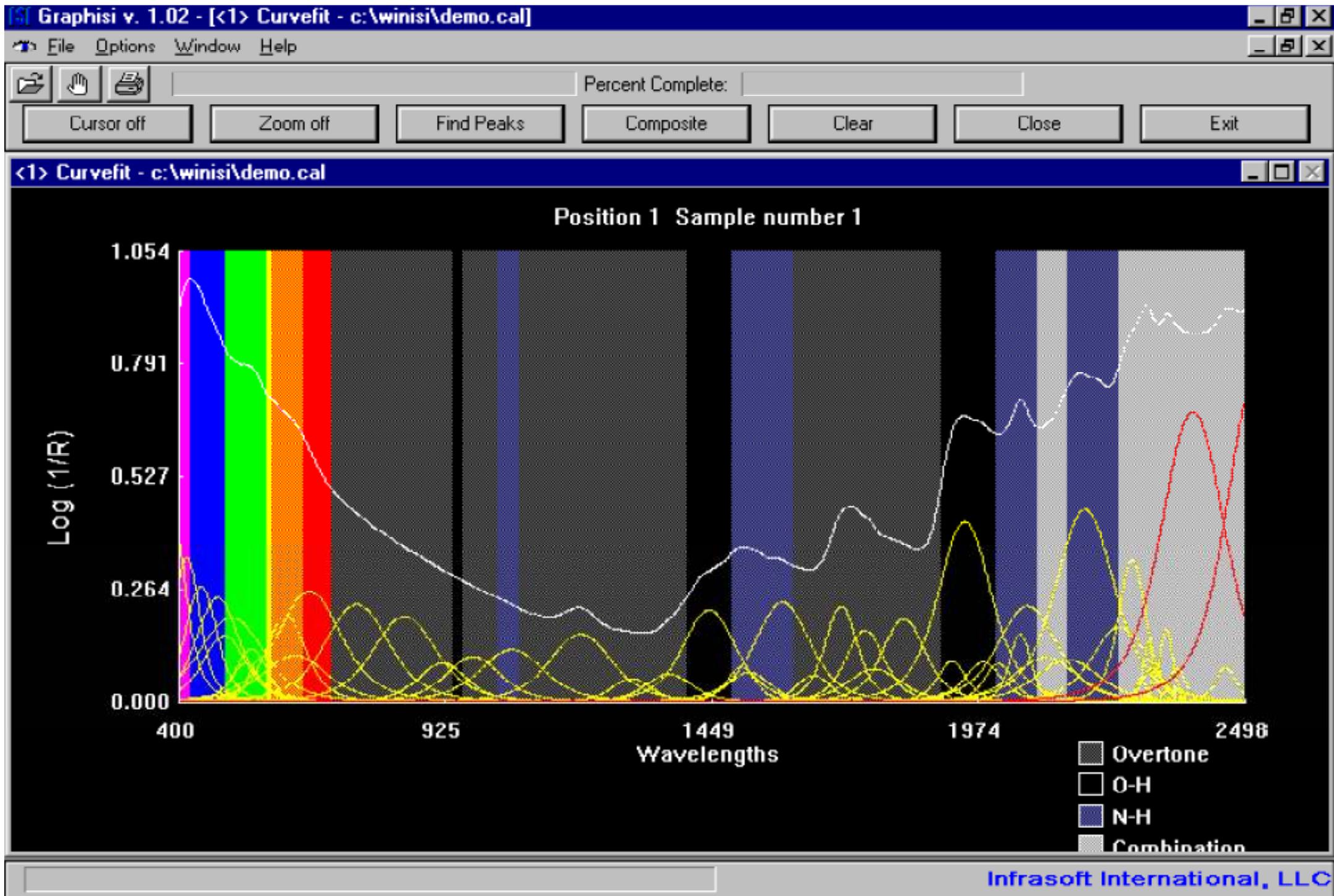
Close

Exit

Position 1 Sample number 1



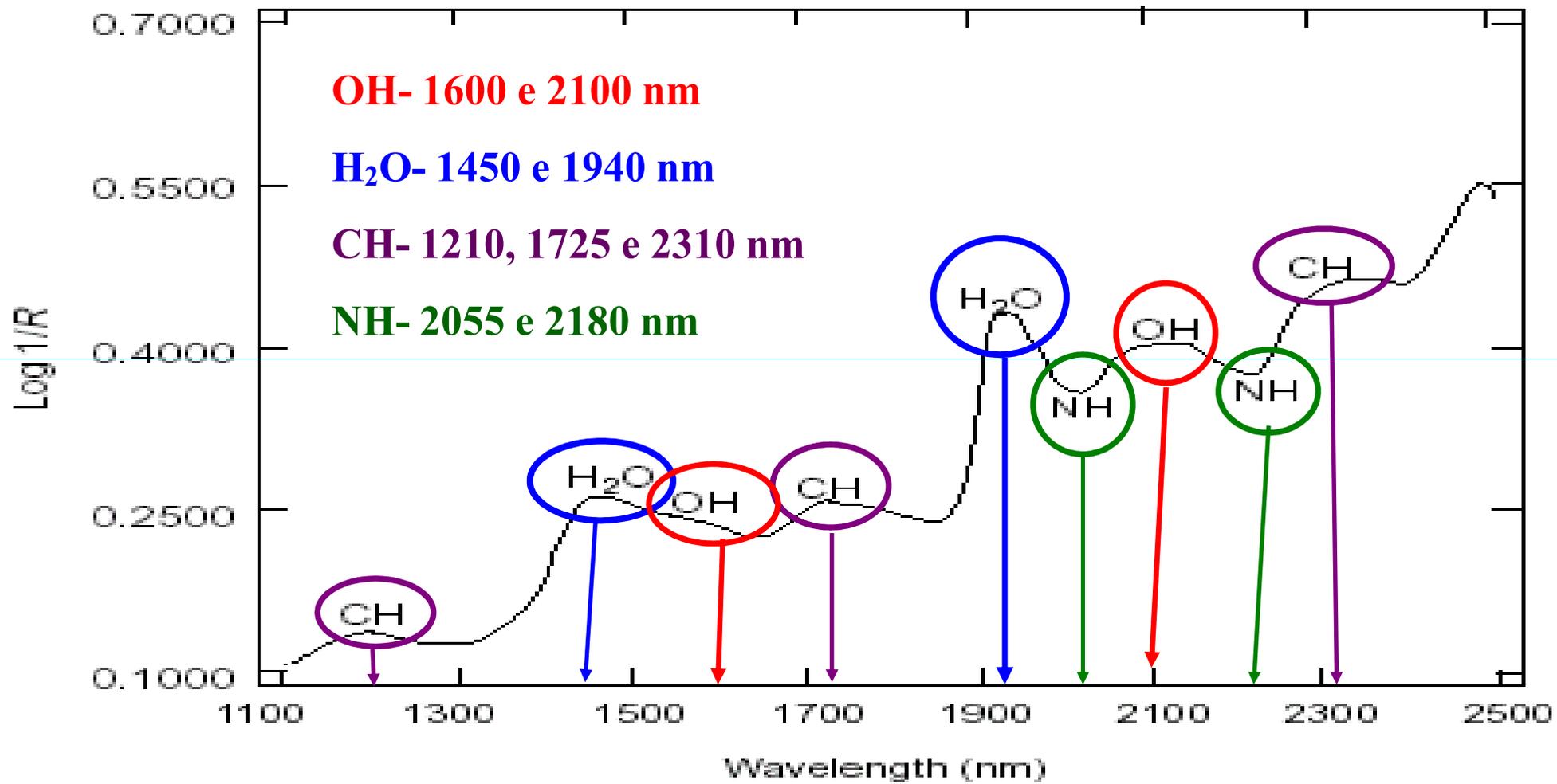
Position 1 Sample number 1



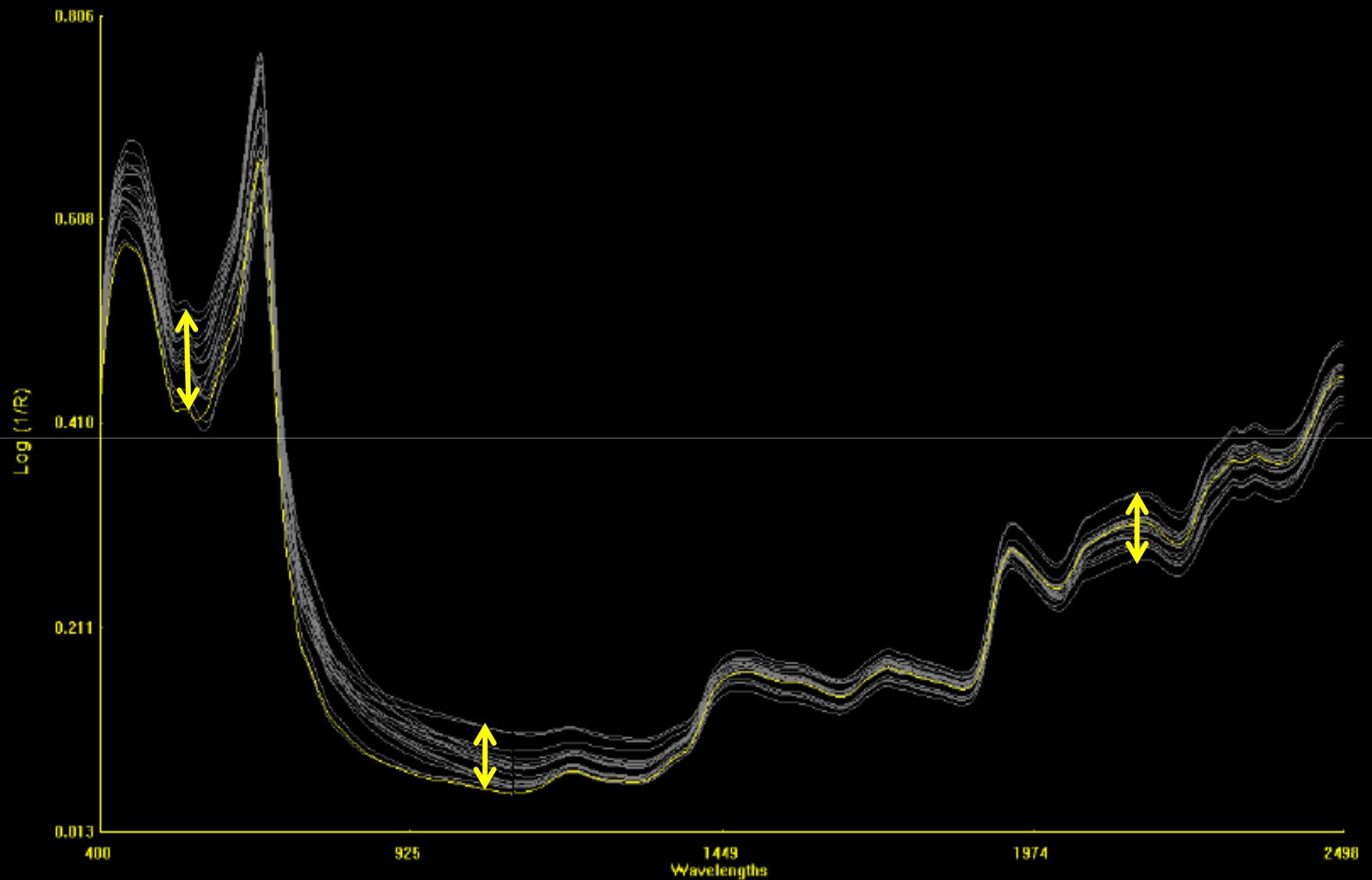
Composto Químico vs. Comprimento de Onda

Entidade Química	Comprimento de Onda (nm)
Comp. Aromáticos, lignina	1143
Ligações de amido	1496, 1668, 1976
Taninos condensados	1660-1670, 1720-1730, 2100-2200
Ligações éster	1772
Água	1930
Proteína	1960-2180
Ligações peptídicas	2140, 2180
Celulose	2088, 2410-2460
Hemicelulose	2380
Amido	2461

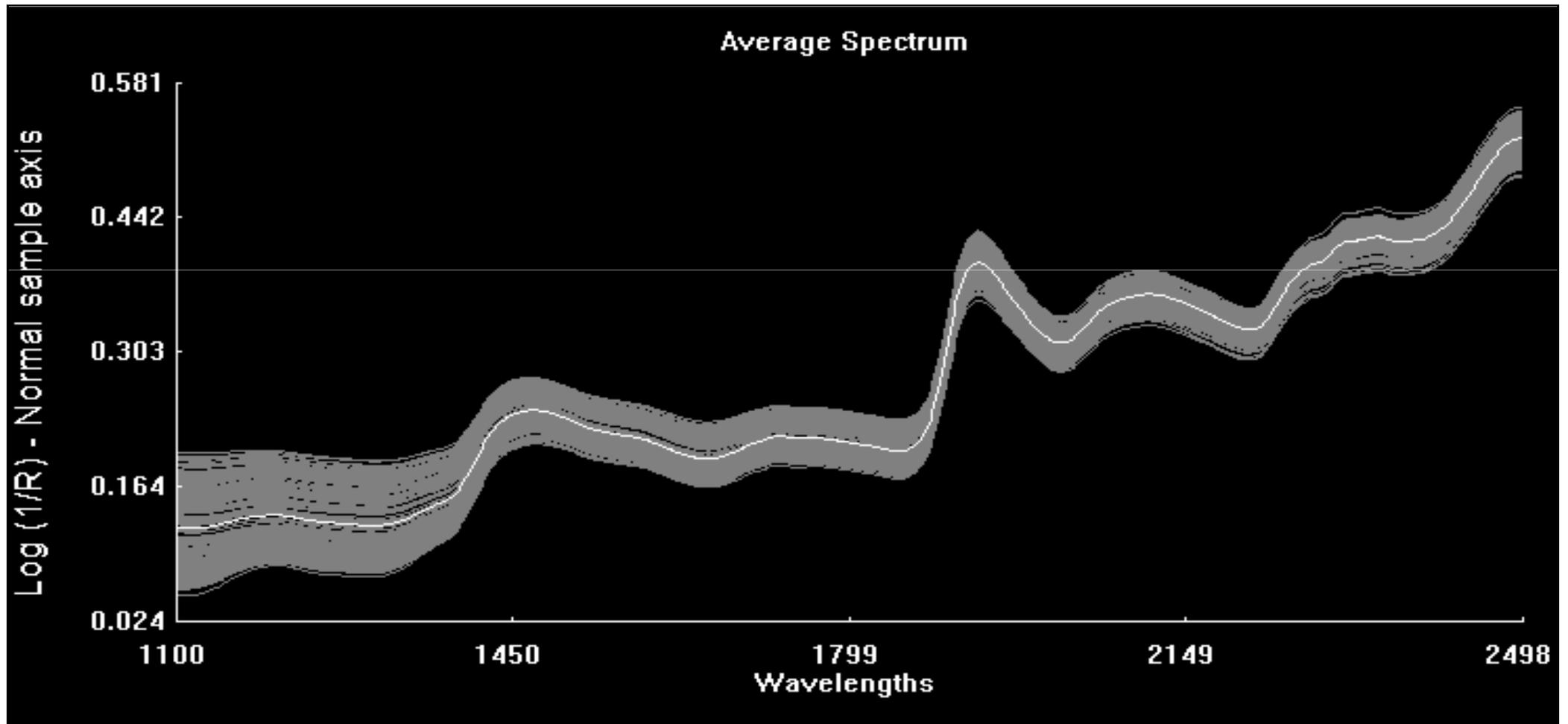
Fonte: Dryden (2003)



Position 1 Sample number 109



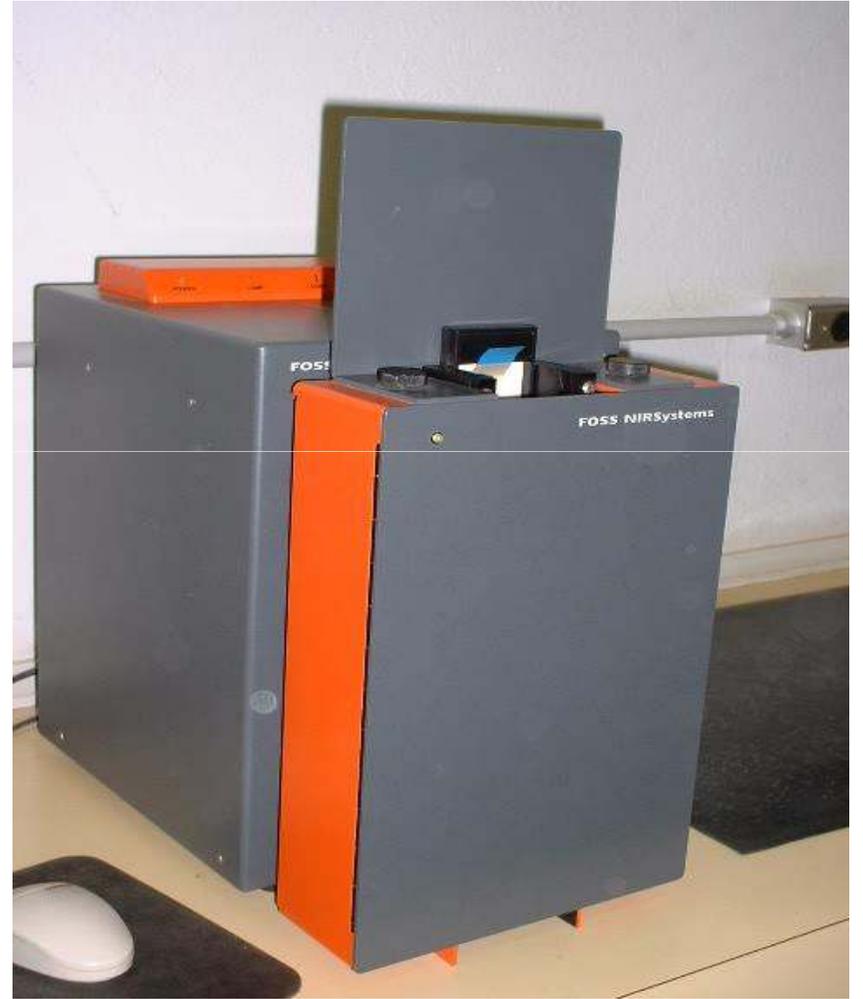
Espectros de 203 amostras de capim Marandu



Espectros

- FOSS NIRSystem 5000
- WIN ISI II 1.5
- 1100 a 2498 nm
- Log 1/R
- PCA



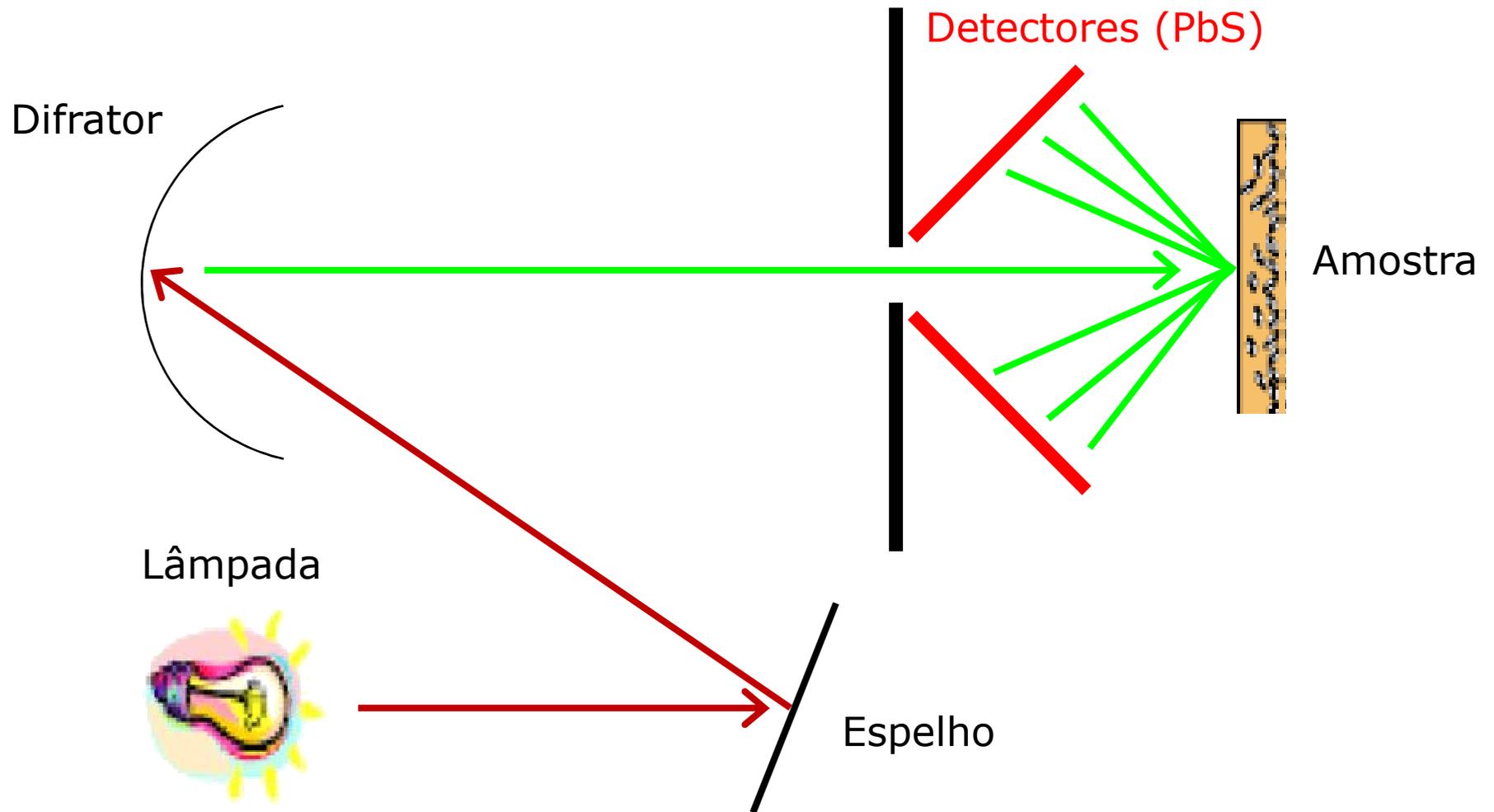


Foss NIRSystem 5000-6500



Foss NIRSystem 5000-6500

(400-1098; 1100-2498 nm)



Testes de Padronização dos Instrumentos

1º) Diagnóstico = corridas semanais para verificar as especificações de fábrica:

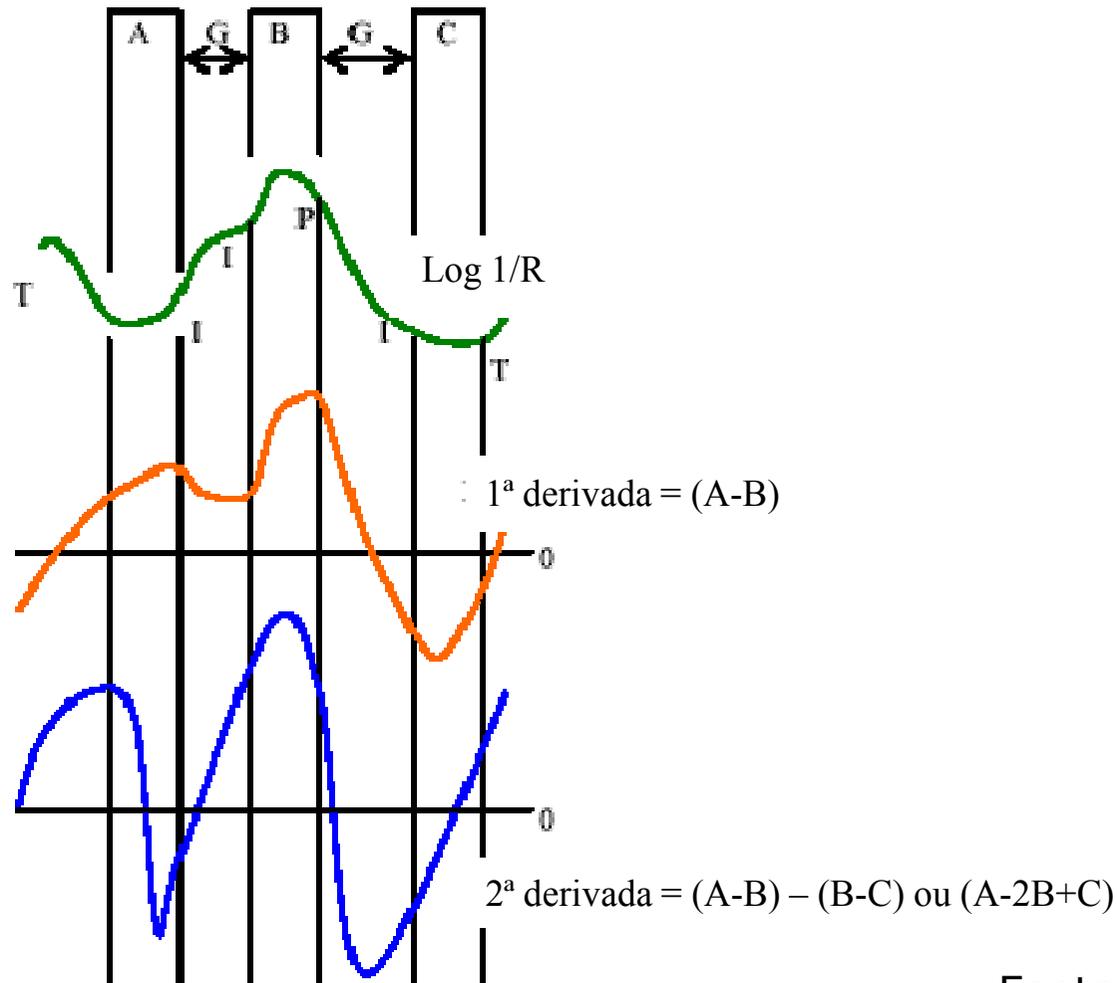
- resposta do instrumento à intensidade que o sinal chega ao detector;
- acurácia do instrumento na definição do comprimento de onda;
- repetibilidade do instrumento na leitura da mesma amostra (cerâmica).

2º) Checagem das células = corridas diárias

Fatores que afetam os espectros

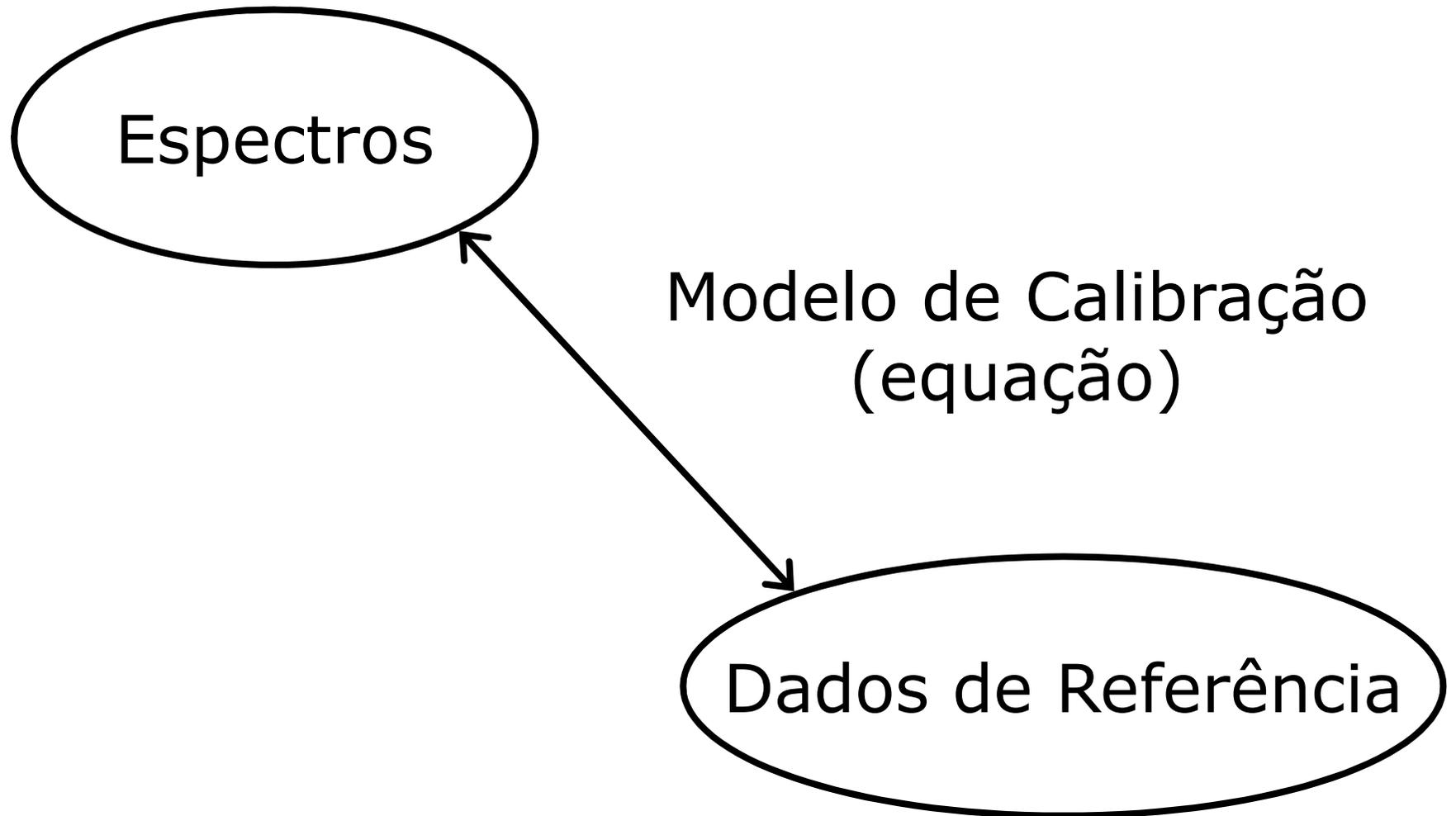
- Interação da luz ;
- Umidade (picos de umidade) e temperatura;
- Vibrações (som/ruído) e poeira;
- Preparo da amostra (in natura, seca, inteira, moída) e tamanho de partícula;

Derivação dos Dados Espectrais (tratamento matemático)



Fonte: Shenk & Werterhaus (1994).

Calibração = Processo Quimiométrico



Modelos Lineares de Calibração

- Regressão Linear Simples
- Regressões Lineares Múltiplas (MLR: *Multiple Linear Regression*):
 - MSR: *Stepwise*
 - PLS: *Partial Least Squares regression*
 - MPLS: *Modified Partial Least Squares regression*
 - PCR: *Principal Components Regression (eigenvalues, eigenvectors)*

Desenvolvimento das equações

- Regressão dos quadrados mínimos parciais
- Tratamentos matemáticos
 - Derivada
 - Gap
 - Smooth
- Correção para ruído eletrônico (MSC)
- Efeito de tamanho de partícula (SNVD)
- Maiores valores de R^2 e menores SEC

Modelo Comum de Calibração Multivariada

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + \dots b_nX_n$$

Y é o componente a ser calibrado;

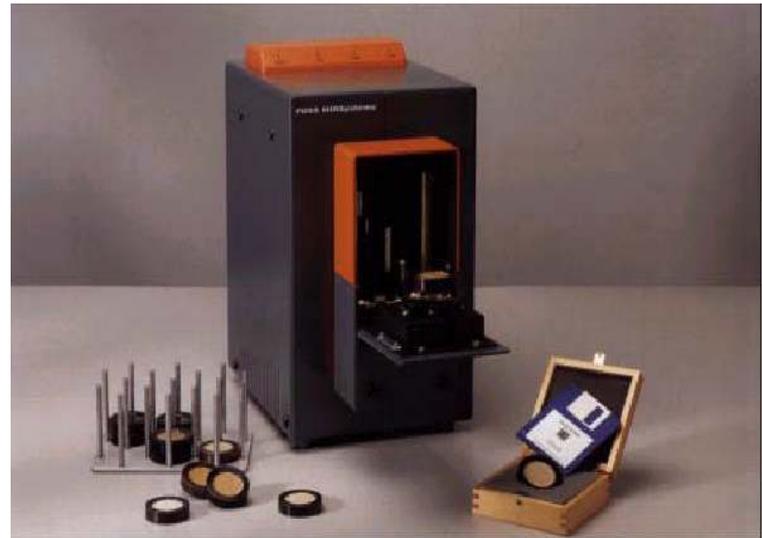
b_0 é o intercepto;

X_1 ; X_2 e X_n são as variáveis espectrais independentes, cada uma combinando com um ou mais valores do espectro;

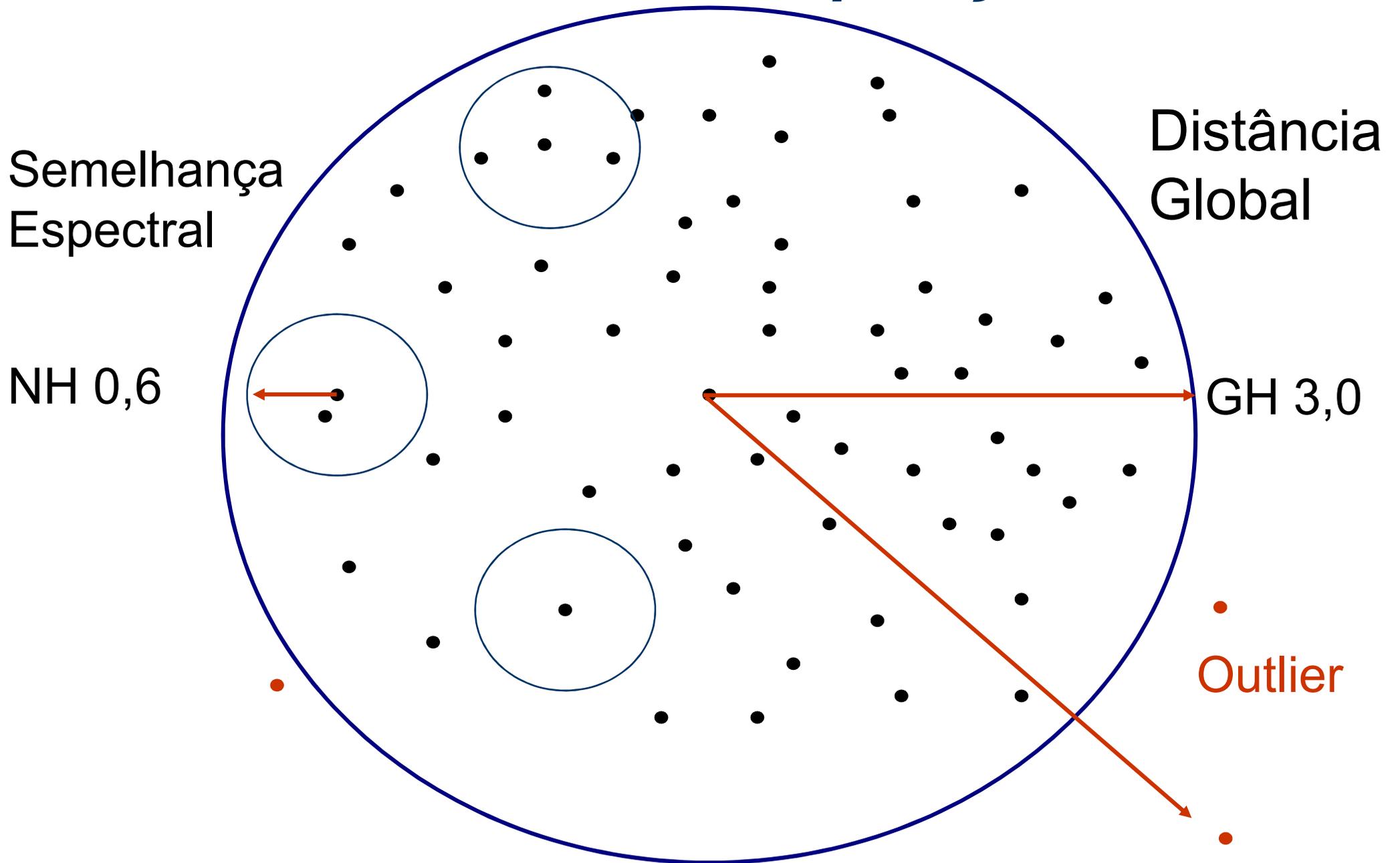
b_1 ; b_2 e b_n são os coeficientes de regressão.

Procedimentos para estruturar a população

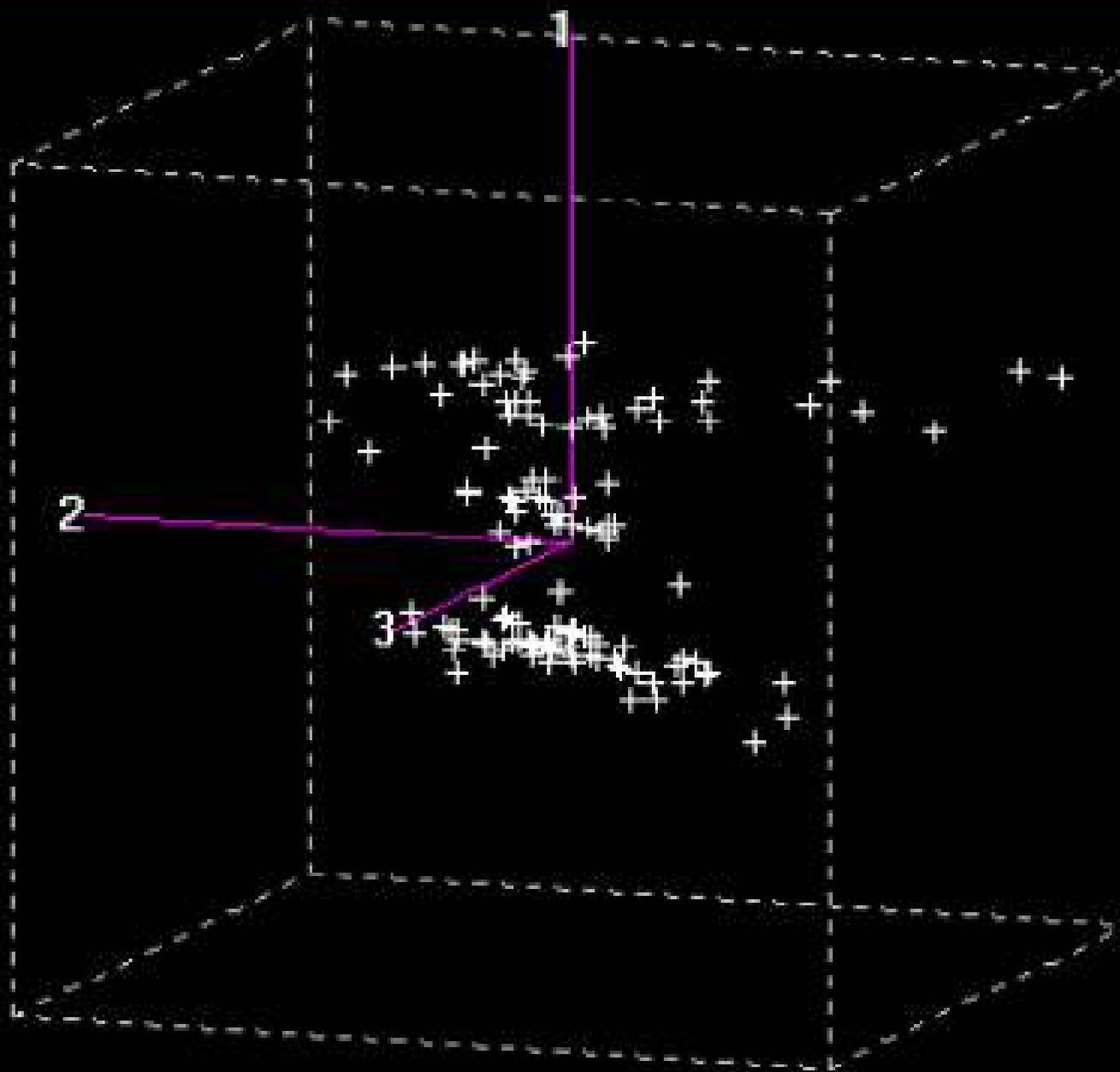
- Center (distância de Mahalanobis)
- Select (redundância entre as amostras)



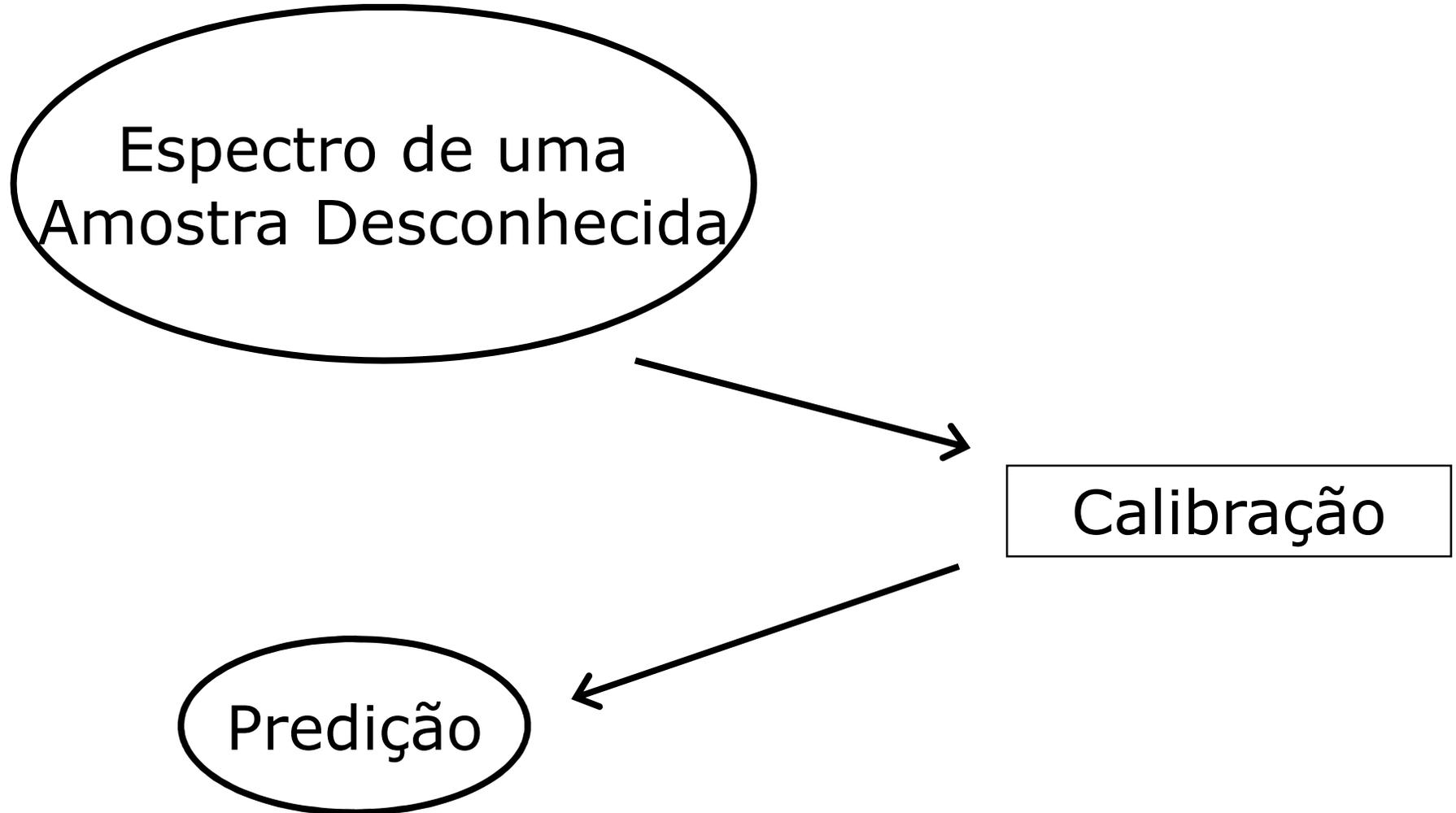
Estrutura da População



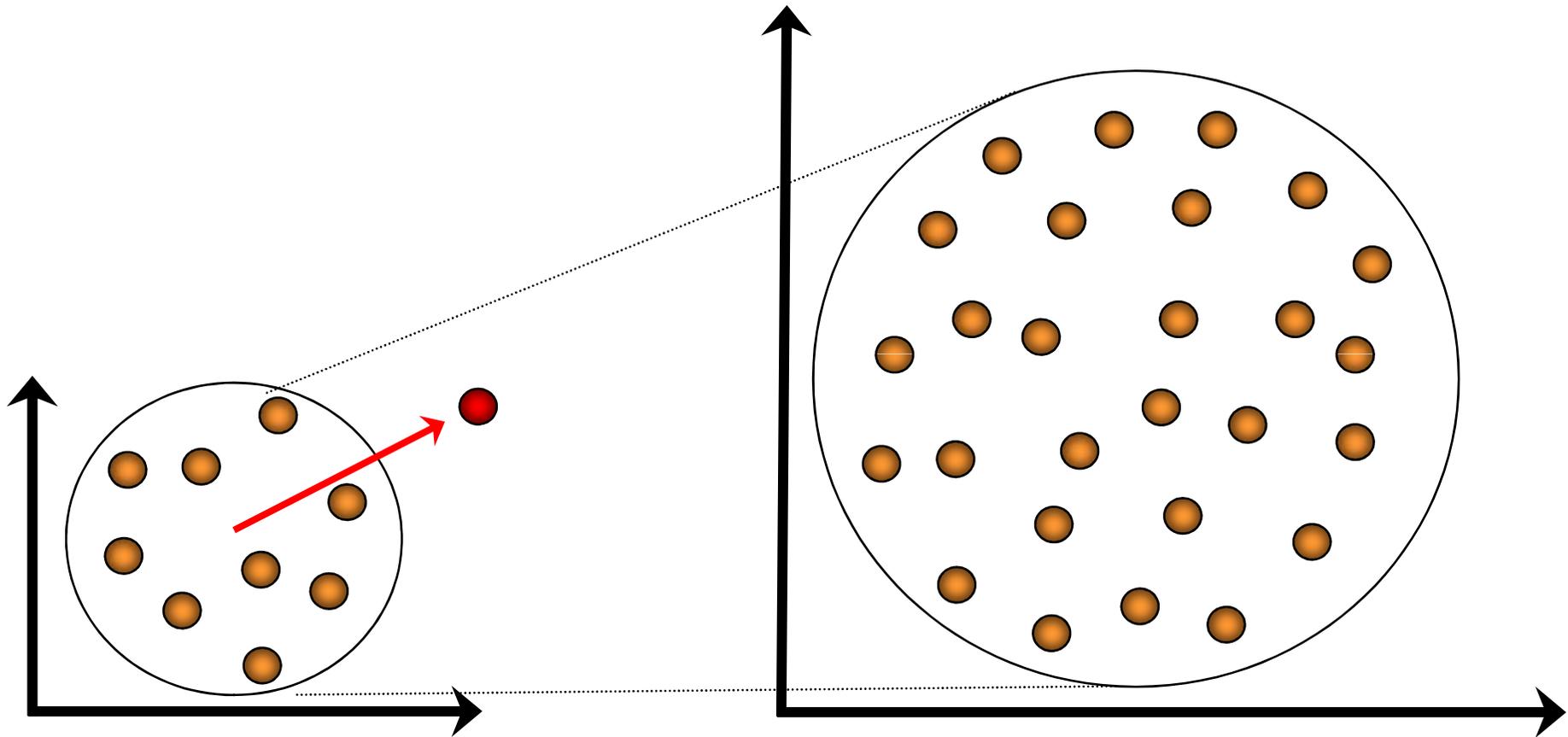
<1> c:\visi\files\soiafe.lib



Uso de uma calibração

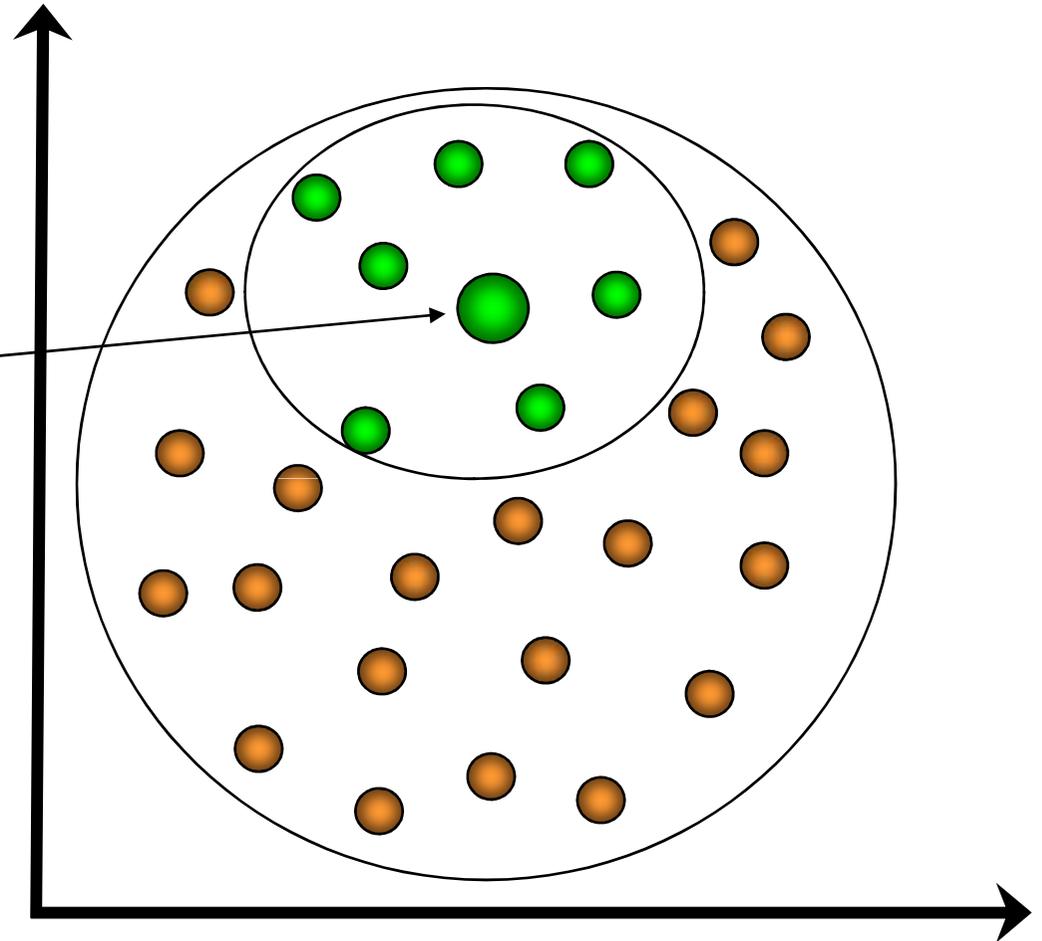


Atualização das Calibrações



Quando mantemos os *outliers*, aumentamos o número de amostras e aumentamos também o campo de alcance da calibração

Robustez vs. Acurácia



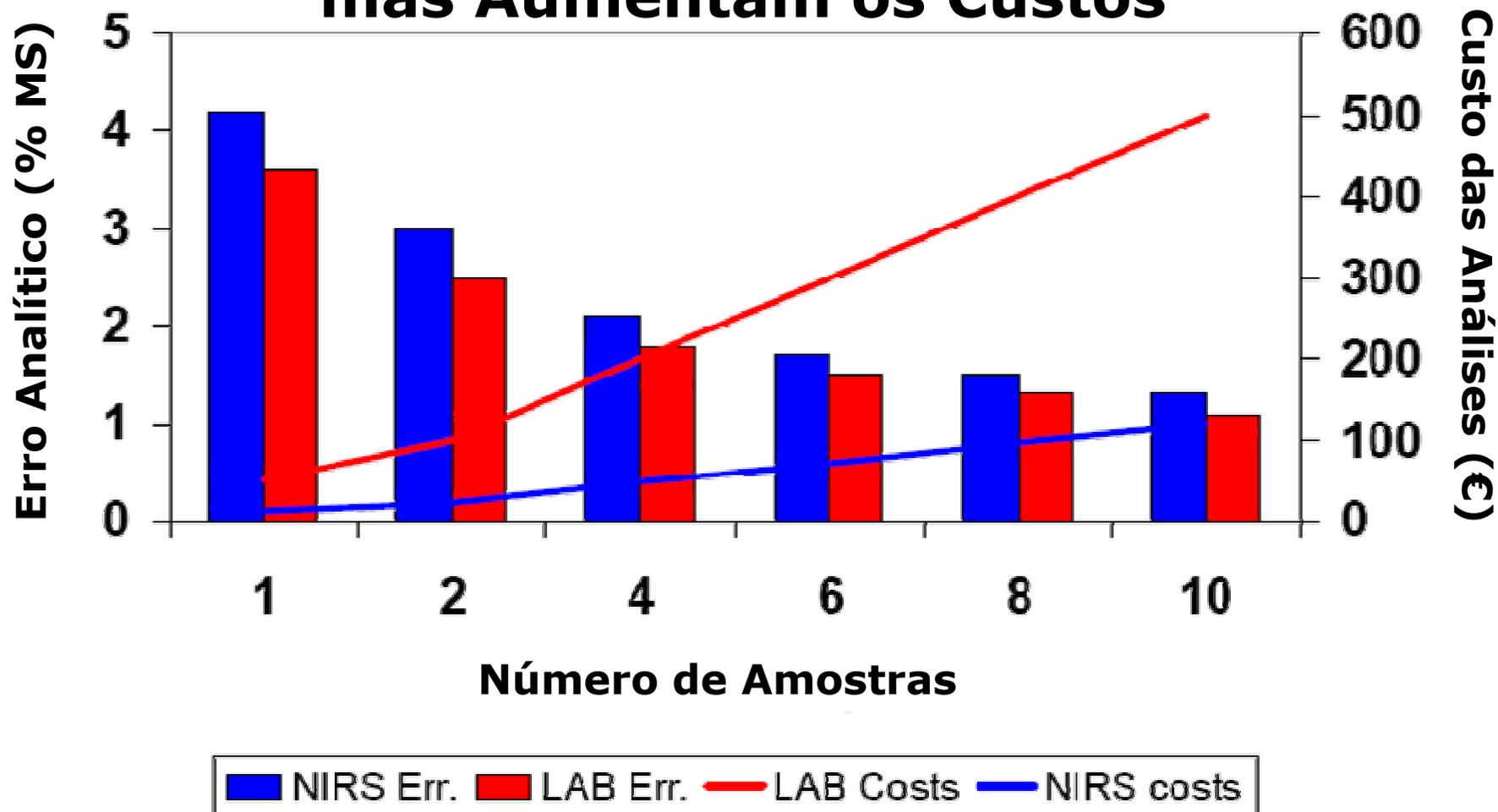
Aumentando o número de amostras aumentaremos a **Robustez**, mas reduziremos a **Acurácia**

Robustez vs. Acurácia

- Para reduzir a população inclusa na calibração, cria-se vários grupos de dados com calibração diferentes:
 - para famílias botânicas (gramíneas, leguminosas);
 - para métodos de conservação (feno, silagem).
- Cada grupo de dados é muito acurado dentro de sua própria população, mas, provavelmente, teria maiores erros para amostras fora de sua população.

Número de Amostras na Calibração vs. Custo da Calibração

**Amostras Múltiplas Reduzem os Erros
mas Aumentam os Custos**



Fonte: NIRS Consortium (2004)

Avaliação Estatística da Calibração

- *SD/SE = Standard Deviation/Standard Error*
- *SEC = Standard Error of Calibration*
- *SEP = Standard Error of Prediction/Validation*
- *R² = Coefficient of Determination*
- *SEV(C) = Standard Error of Cross-Validation*
- *1–VR = Coefficient of Determination for Cross-Validation*
- **Bias**
- **Slope**

Estatísticas da Calibração do NIRS para os Teores de MS em Diferentes Alimentos

	n	Média	SD	SECV	1-VR
Silagem de milho					
MS 105°C	41	93,77	1,60	0,30	0,96
MS 135° C	42	92,04	1,91	0,38	0,96
Feno					
MS 105°C	63	93,94	1,44	0,24	0,97
MS 135° C	65	92,43	1,68	0,34	0,95
Silagem pré-secada					
MS 105°C	43	93,74	1,26	0,51	0,83
MS 135° C	43	90,87	1,60	0,74	0,79

Estatísticas da Calibração do NIRS para PB, FDA e FDN em Silagens de Milho

	SEP	Bias	SEC	R ²
PB	1,01	0,01	1,07	0,98
FDA	0,63	0,31	0,57	0,99
FDN	0,90	-0,28	0,90	0,98

Berzagui - UW Dairy Forage Center (2002)

R² da Calibração do NIRS para os Teores de PB, FDA e FDN

	PB	FDN	FDA	LDA
Norris et al., 1976	0,99	0,98	0,96	0,96
Burdick et al., 1981	-	-	-	-
Marten et al., 1983	0,99	0,94	0,98	0,96
Valdez et al., 1985	0,93-0,95	-	0,75-0,92	-
Petersen, 1986	0,97	0,97	0,96	-
Brown & Moore, 1987	0,73-0,98	0,70-0,95	0,92	0,87
Flinn & Murray, 1987	0,83-0,98	0,90-0,96	-	-
Brown et al., 1987	0,92	0,82	-	-
Pires & Prates, 1997	0,96	0,95	0,96	0,90
Rodrigues, 1998 ^(1-VR)	0,97	0,95	0,97	0,94

Adaptado por Mello (2005)

SEP da Validação do NIRS para os Teores de PB, FDA e FDN

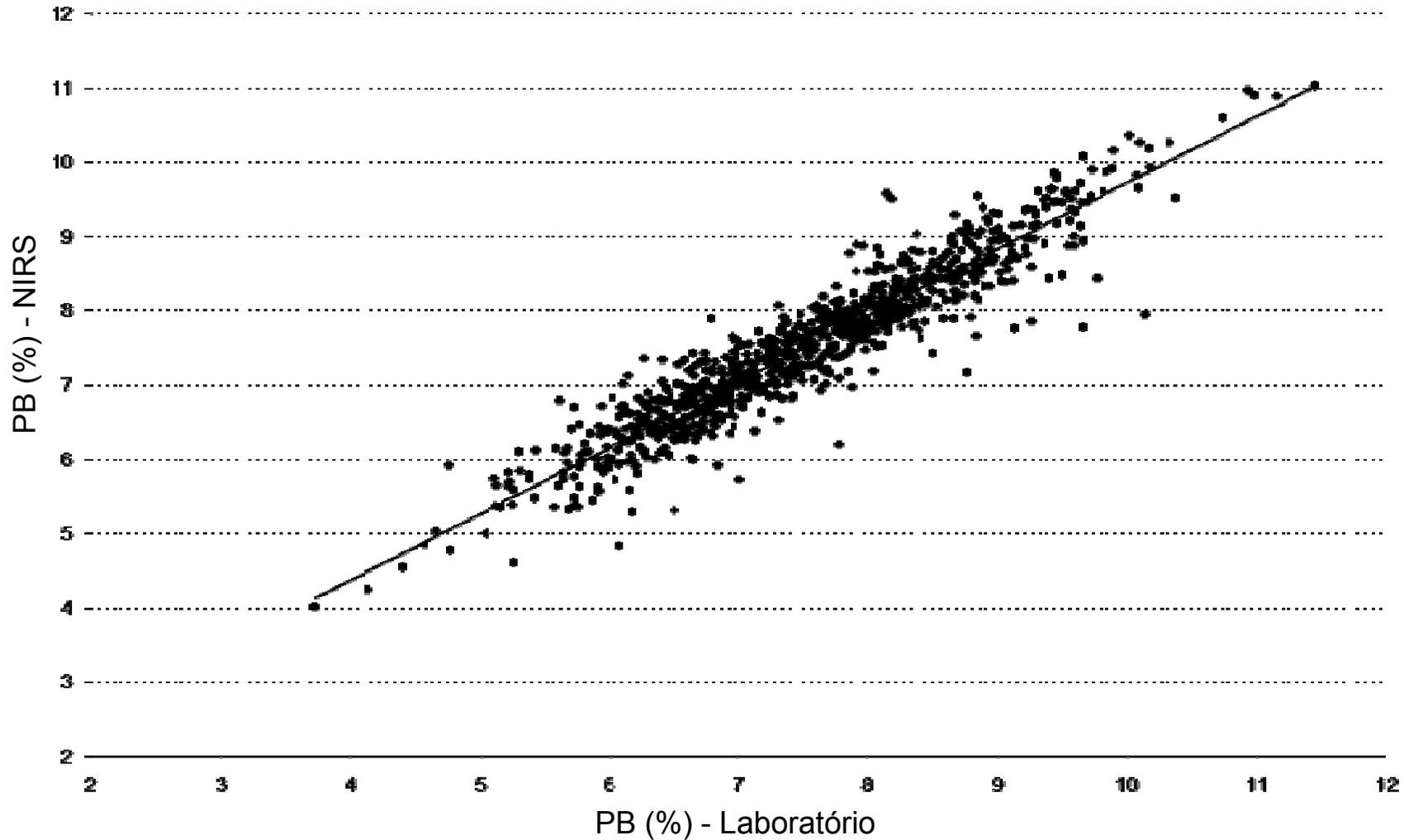
	PB	FDN	FDA	LDA
Norris et al., 1976	0,74	2,39	1,56	0,80
Burdick et al., 1981	1,01	2,78	1,78	0,54
Marten et al., 1983	0,51	1,40	0,61	0,24
Valdez et al., 1985	0,64-0,87	-	1,44-2,42	-
Petersen, 1986	0,63	1,56	0,75	-
Brown & Moore, 1987	0,14-0,79	0,75-1,21	1,10	0,61
Flinn & Murray, 1987	0,41-1,31	1,34-1,73	-	-
Brown et al., 1987	0,73	1,52	-	-
Pires & Prates, 1997	0,51	1,06	0,79	0,31
Rodrigues, 1998 (SEC-V)	1,16	1,93	1,20	0,63

Adaptado por Mello (2005)

Estatísticas da Calibração do NIRS baseadas em Equações Amplas para Silagem de Milho

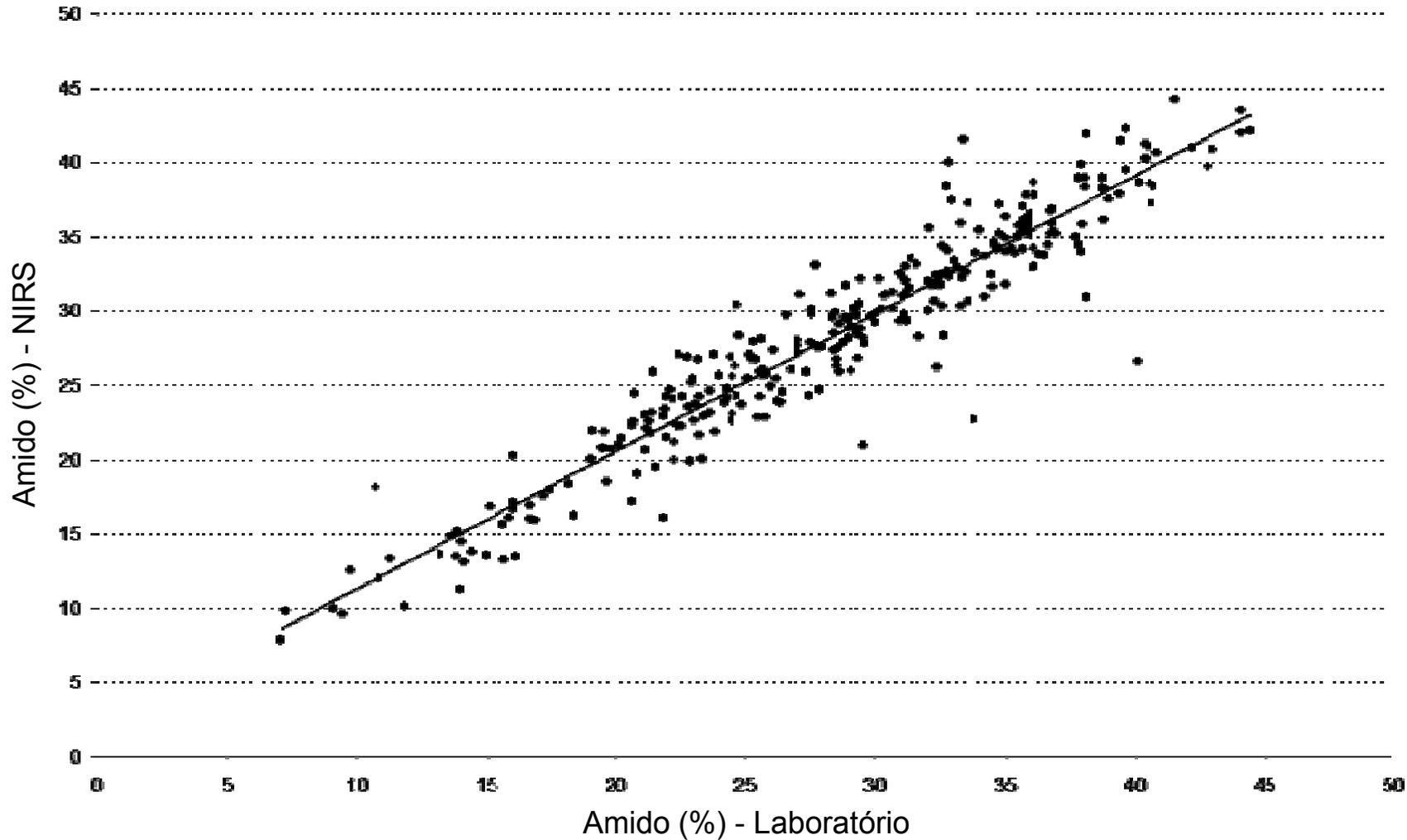
Análise	N	Média	R ²	SEC	SEV(C)	Nº. de Termos MPLS	Tratam. Matem.
Proteína (%)	844	7,5	0,92	0,32	0,34	13	1,4,4,1
Amido (%)	293	28,4	0,94	1,83	2,02	9	1,4,4,1
FDN (%)	838	47,0	0,93	1,53	1,60	13	1,4,4,1
DV <i>in vitro</i> (%)	642	80,0	0,82	1,47	1,56	11	1,4,4,1

PB Observada vs. Preditada em Silagens de Milho

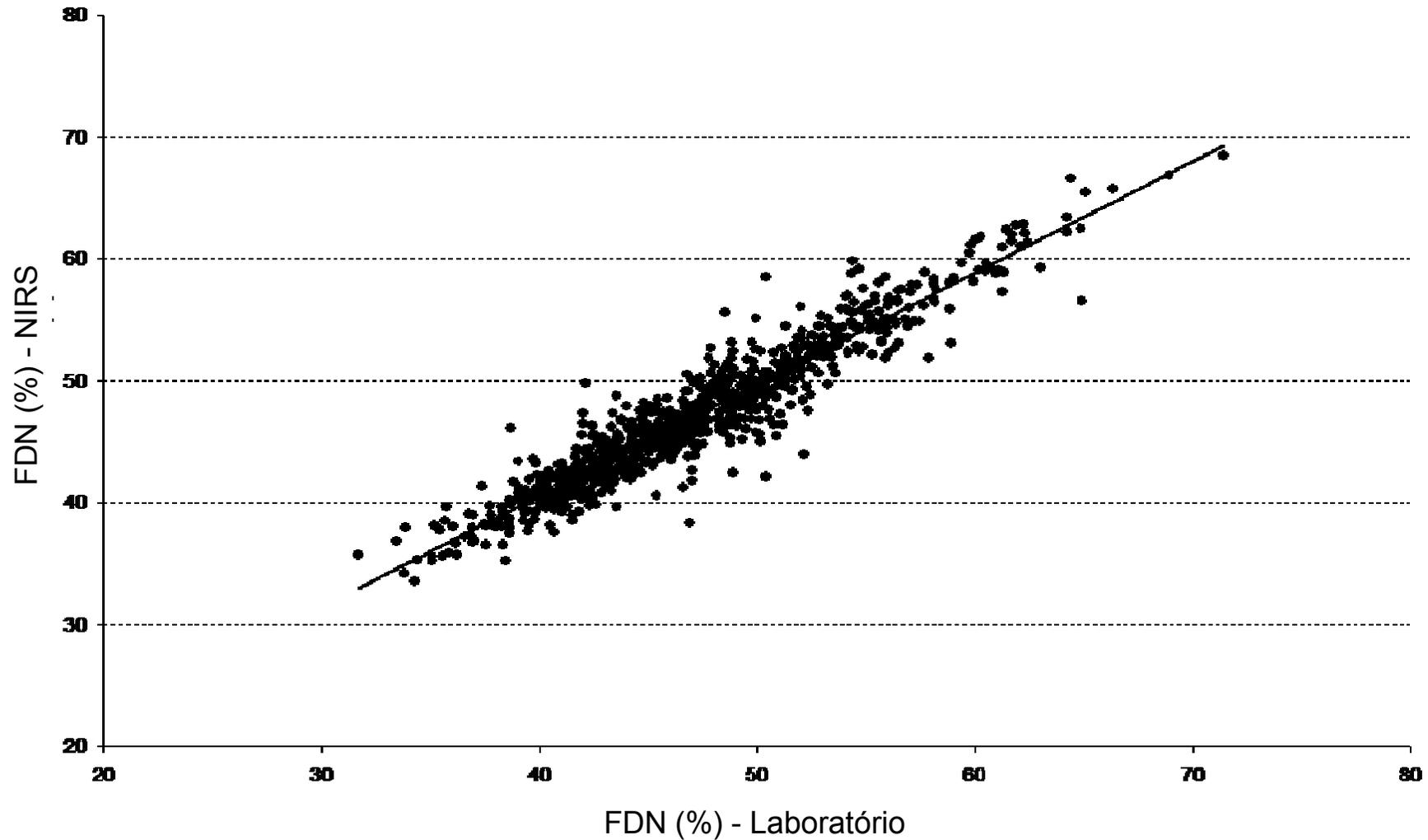


UW Corn Silage Breeding Program (2004)

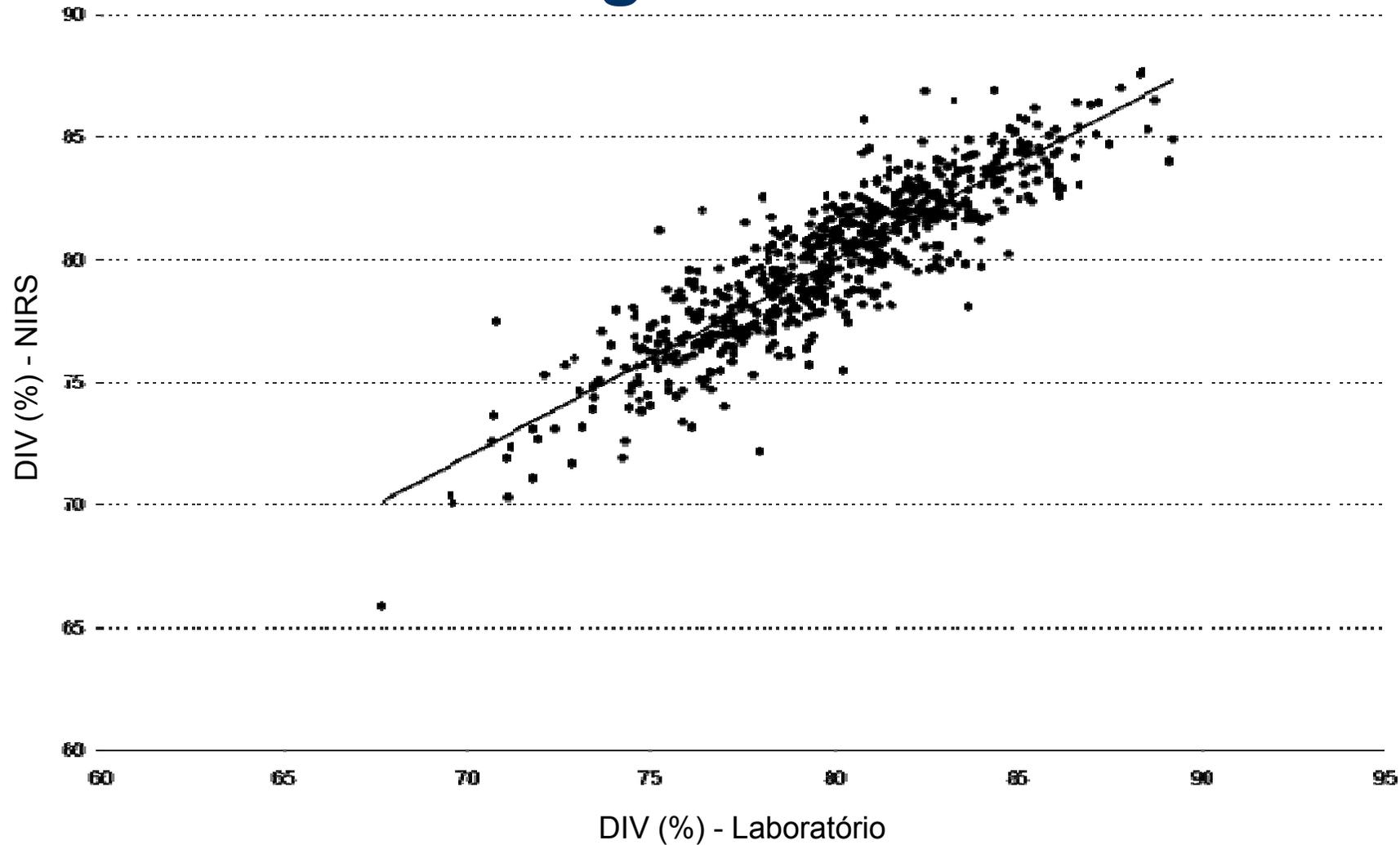
Amido Observado vs. Predito em Silagens de Milho



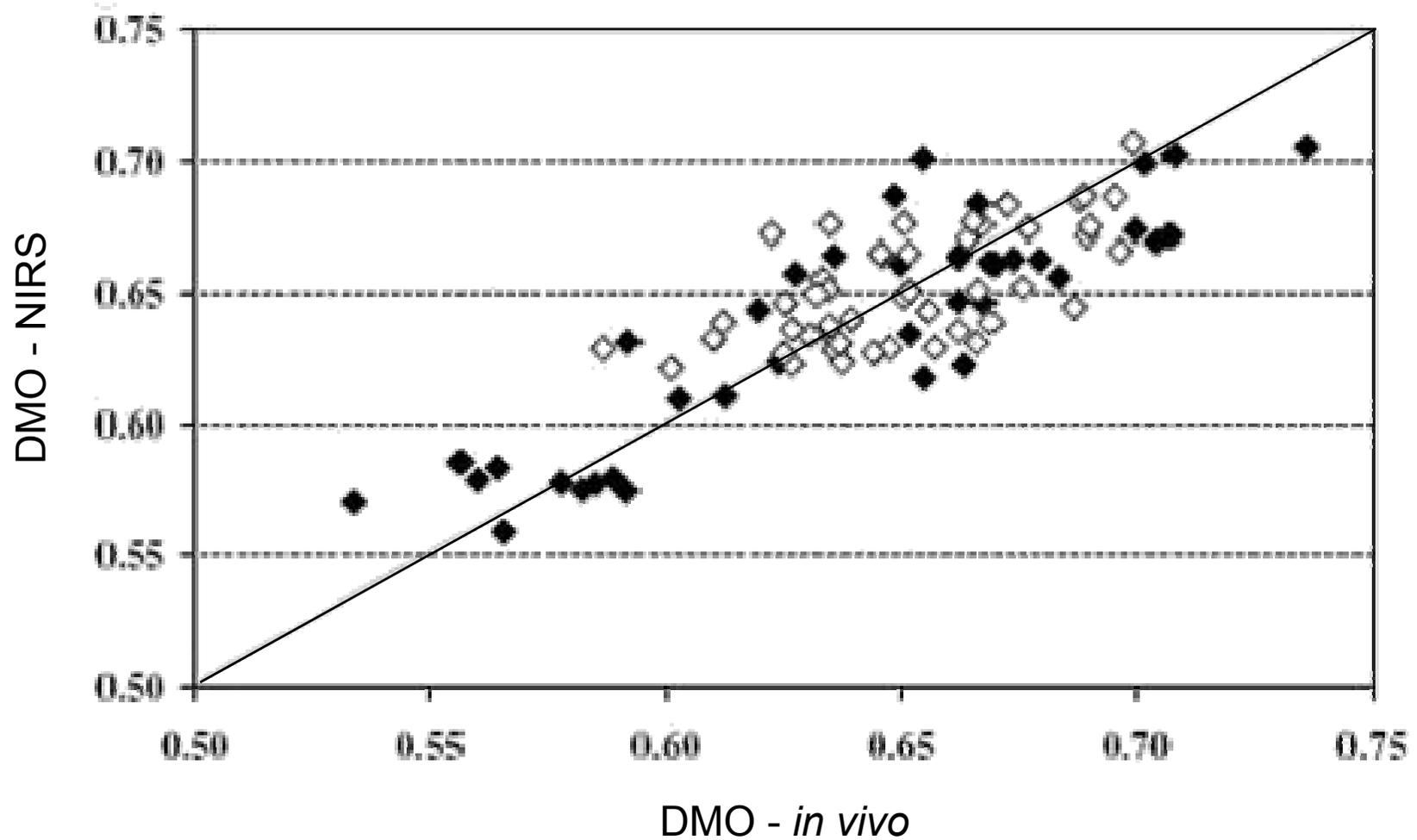
FDN Observada vs. Predita em Silagens de Milho



DViv Observada vs. Preditada em Silagens de Milho



DMO in vivo vs. NIRS em Gramíneas Tropicais



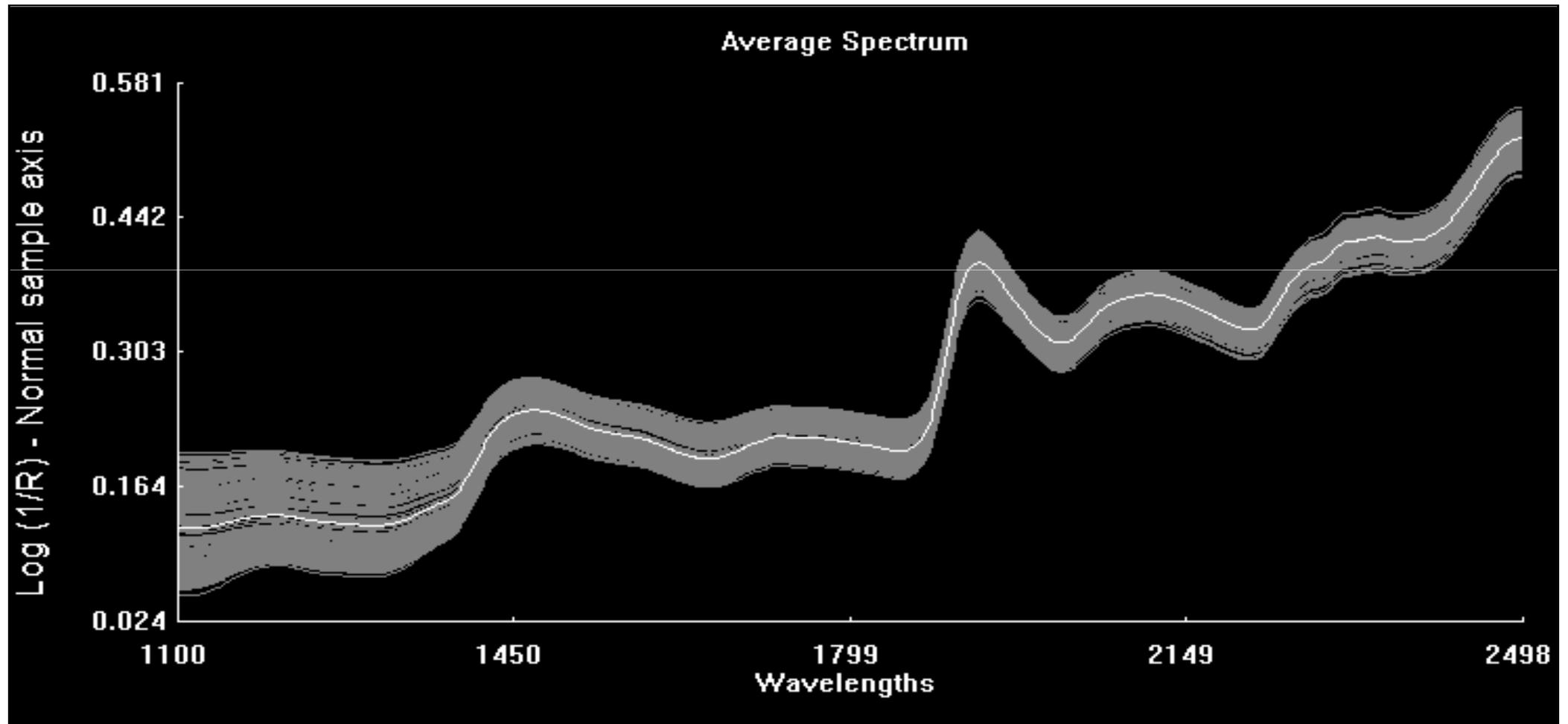
Boval et al. (2004)

Calibração e Validação das Predições do NIRS para Gramíneas Tropicais

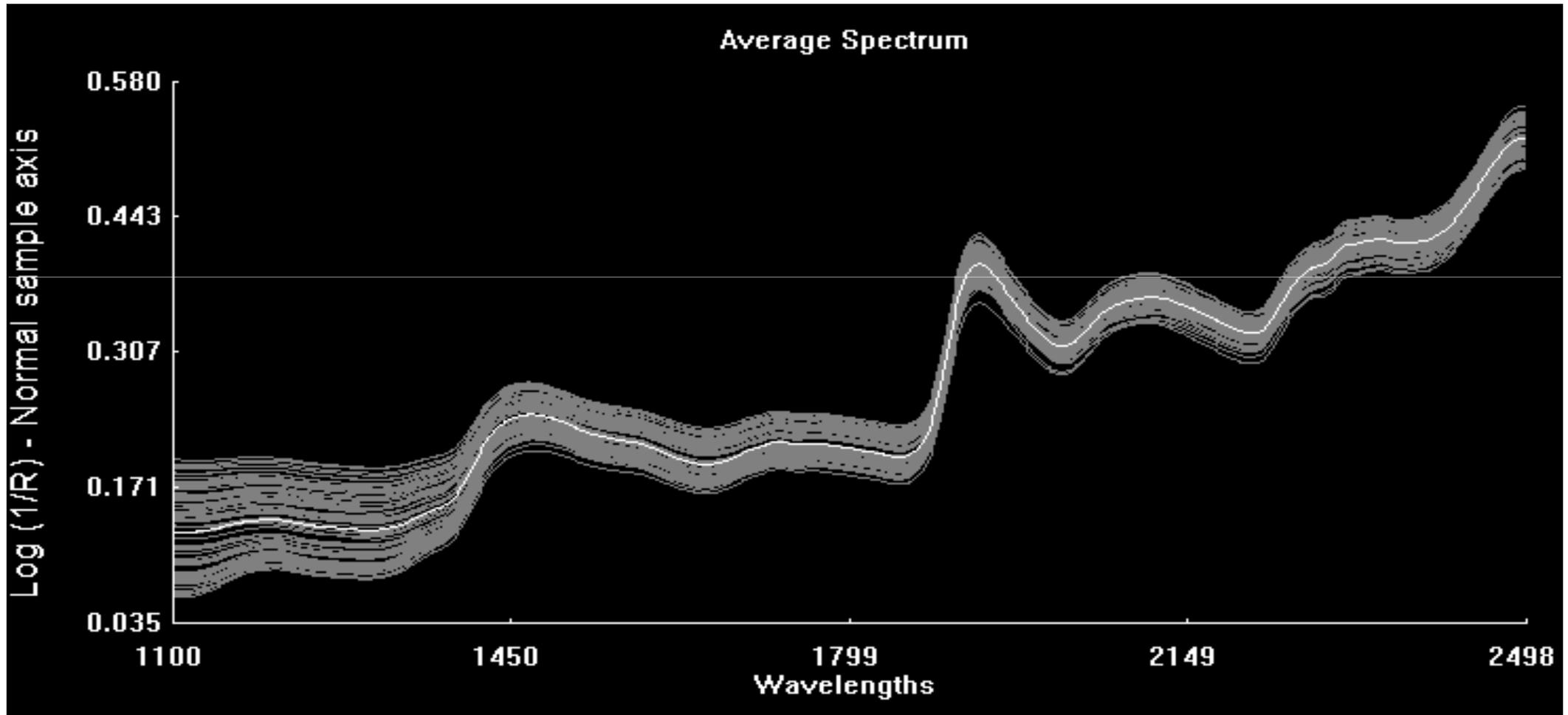
Variável	n	Média	SD	Calibração		Validação	
				SEC	R ²	SEC-V	1-VR
PB (% MO)	86	10,5	2,28	0,33	0,98	0,50	0,95
FDN (% MO)	87	75,5	2,73	0,96	0,88	1,22	0,80
FDA (% MO)	86	39,6	2,46	0,81	0,89	0,98	0,84
DMO (%)	87	64,0	4,00	2,10	0,72	2,20	0,69
CMO (g/kg PV ^{0,75})	87	76,2	6,40	4,62	0,61	5,29	0,52

Boval et al. (2004)

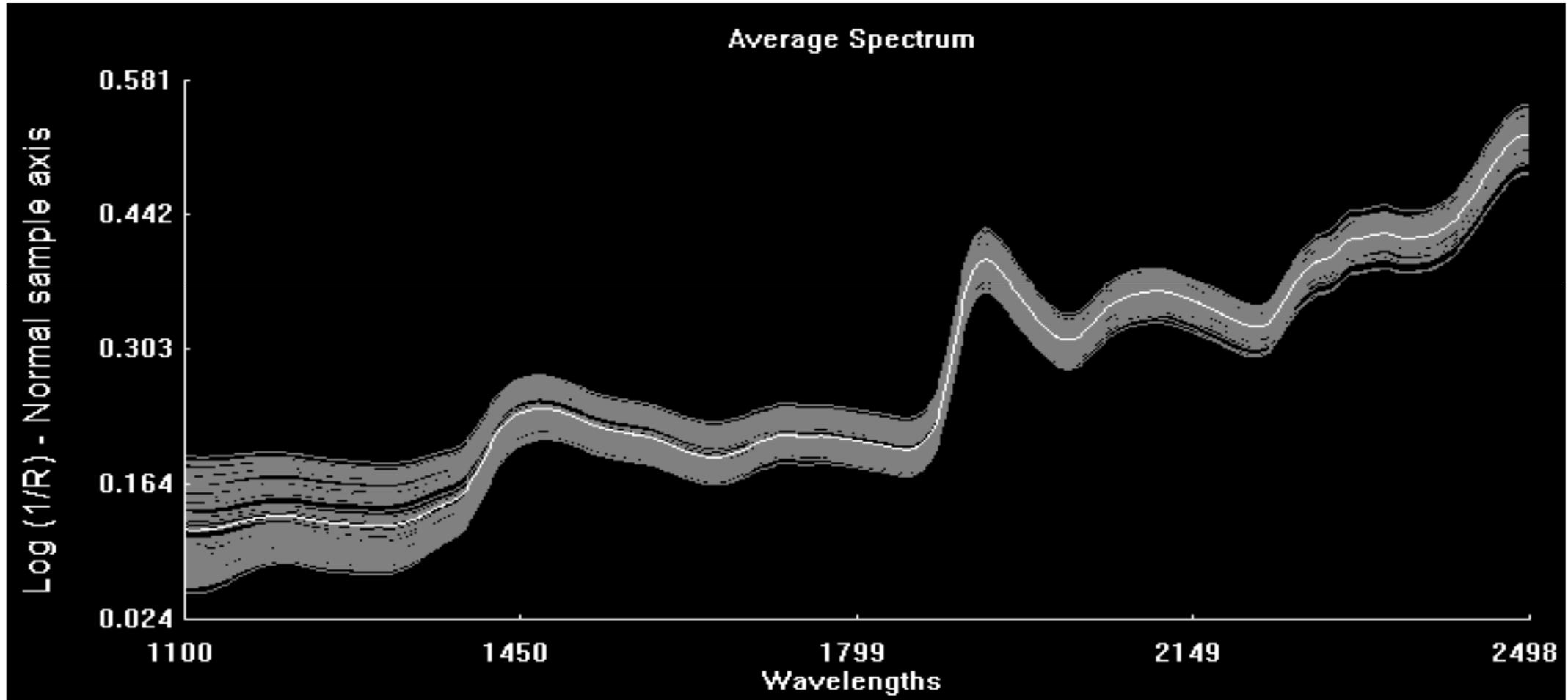
Espectros de 203 amostras de capim Marandu



Amostras seleccionadas utilizando-se NH 0,6



Amostras utilizadas no processo de validação



Valores obtidos no processo de calibração para predição de PB, DIVMS, FDN, FDA em amostras de capim Marandu.

Constituinte	Tratamento matemático¹	N²	Média	DP³	R²	SEC⁴	SECV⁵	1-VR⁶
PB	SNVD 2.4.4.1	68	12.36	3.03	0.95	0.65	0.86	0.918
DIVMS	SNVD 2.4.4.1	71	60.43	11.48	0.64	6.48	8.38	0.471
FDN	SMSC 1.4.4.1	70	60.11	3.30	0.73	1.71	1.95	0.655
FDA	SMSC 1.4.4.1	60	29.49	2.51	0.84	0.99	1.18	0.781

¹ SNVD = correção p/ tamanho de partícula; SMSC = correção p/ ruído eletrônico;

Tratamento matemático= derivativa, gap, smooth, second smooth.

² n= número de amostras efetivamente utilizadas para a regressão.

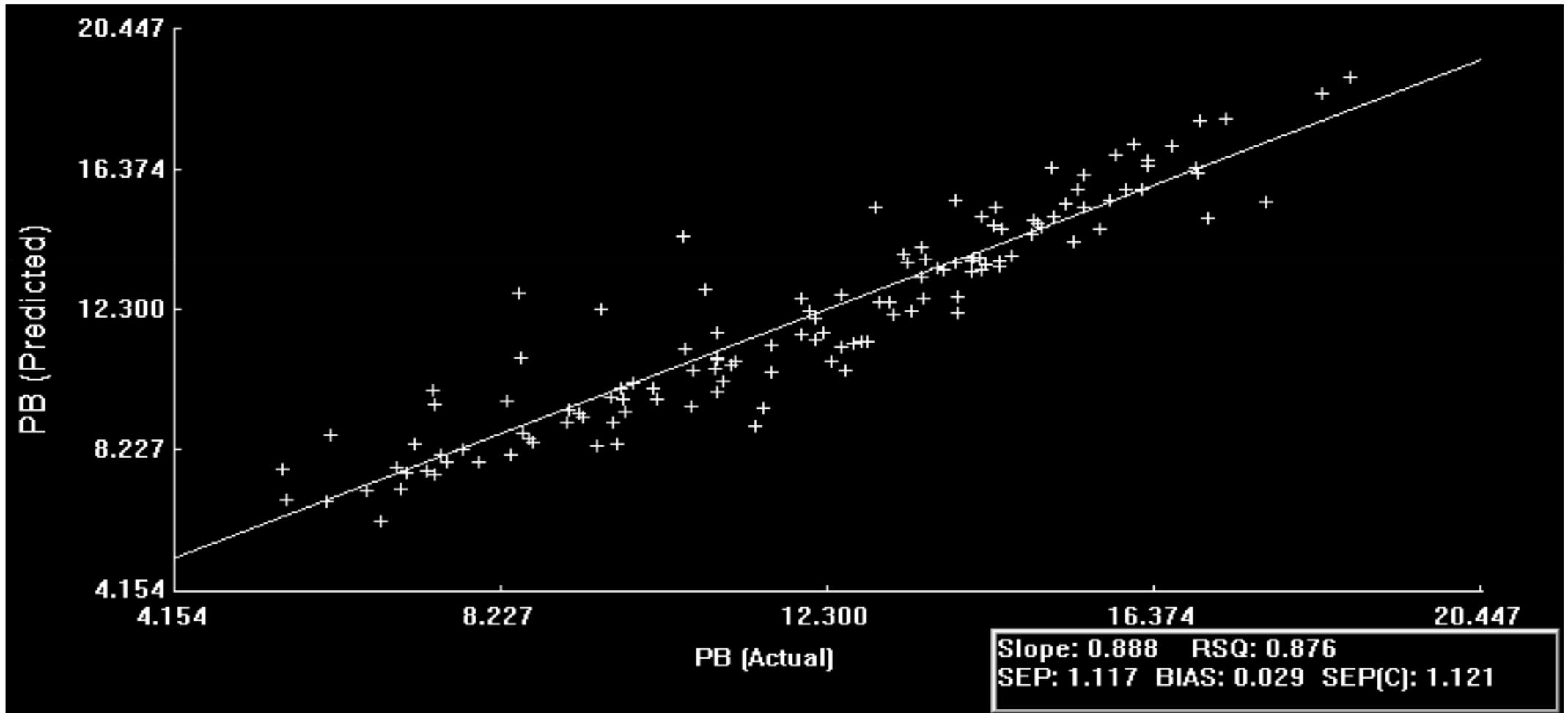
³ DP= Desvio padrão.

⁴ SEC= erro padrão da calibração

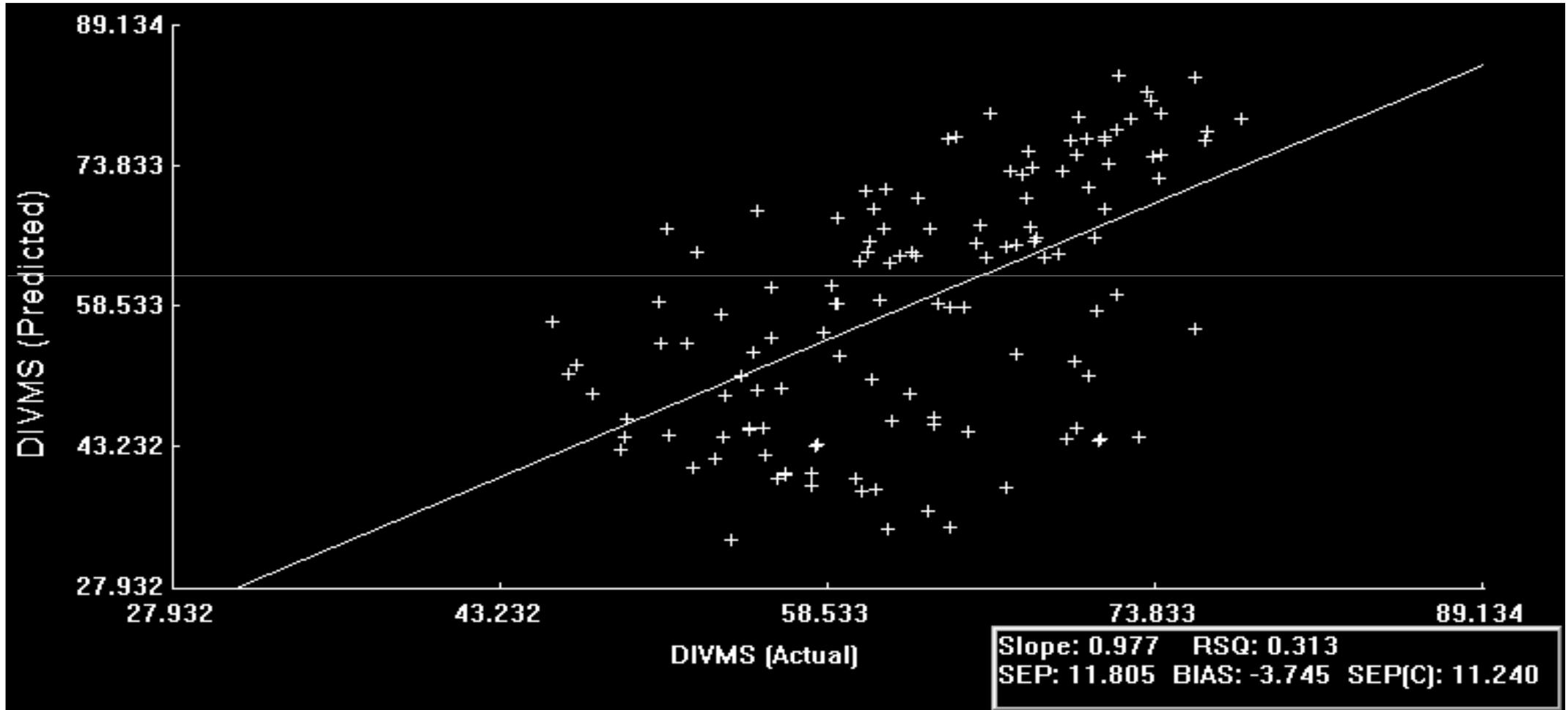
⁵ SECV = erro padrão de validação cruzada na calibração.

⁶ 1-VR = r² da validação cruzada dos dados de calibração.

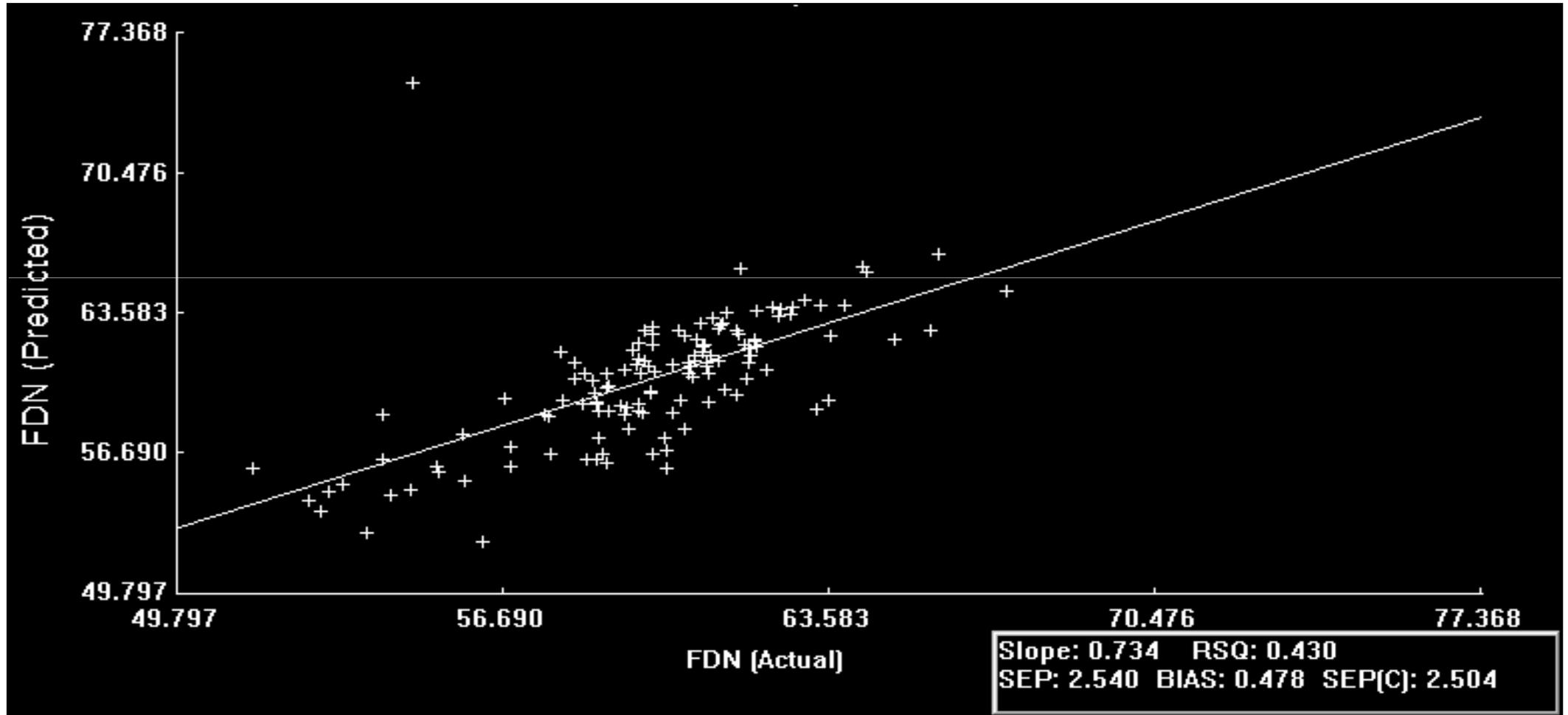
Validação da equação de calibração para predição de Proteína Bruta em Capim Marandu



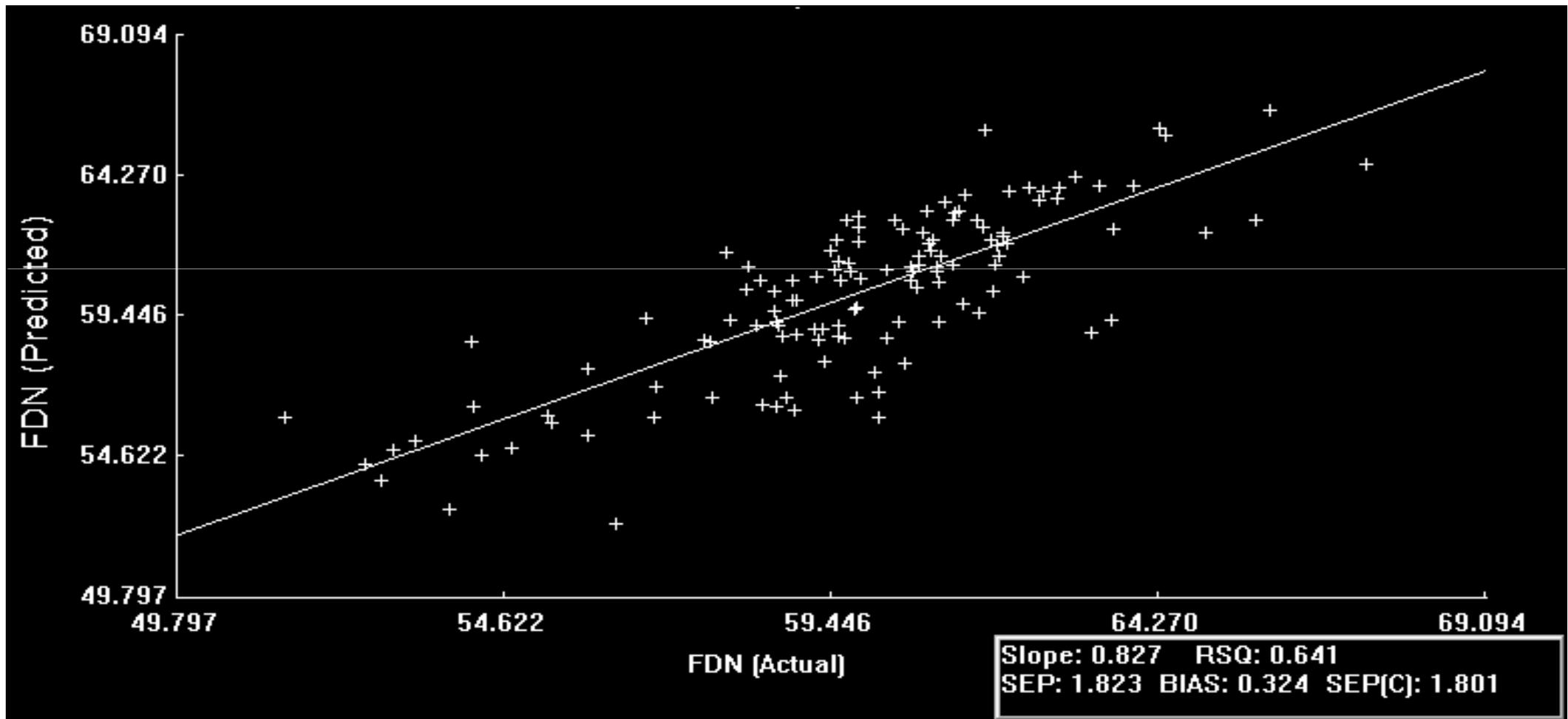
Validação da equação de calibração para predição de DIVMS em Capim Marandu



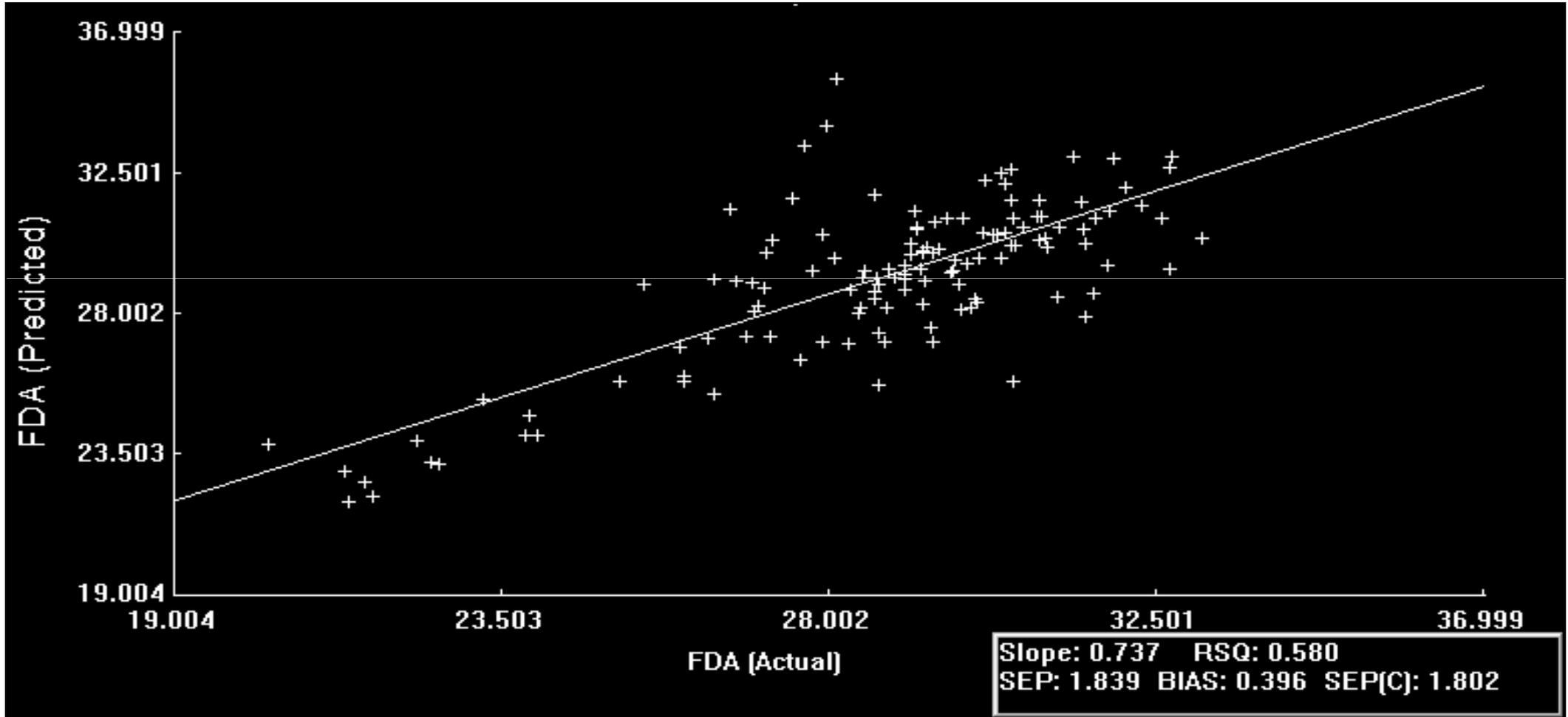
Validação da equação de calibração para predição de FDN em Capim Marandu



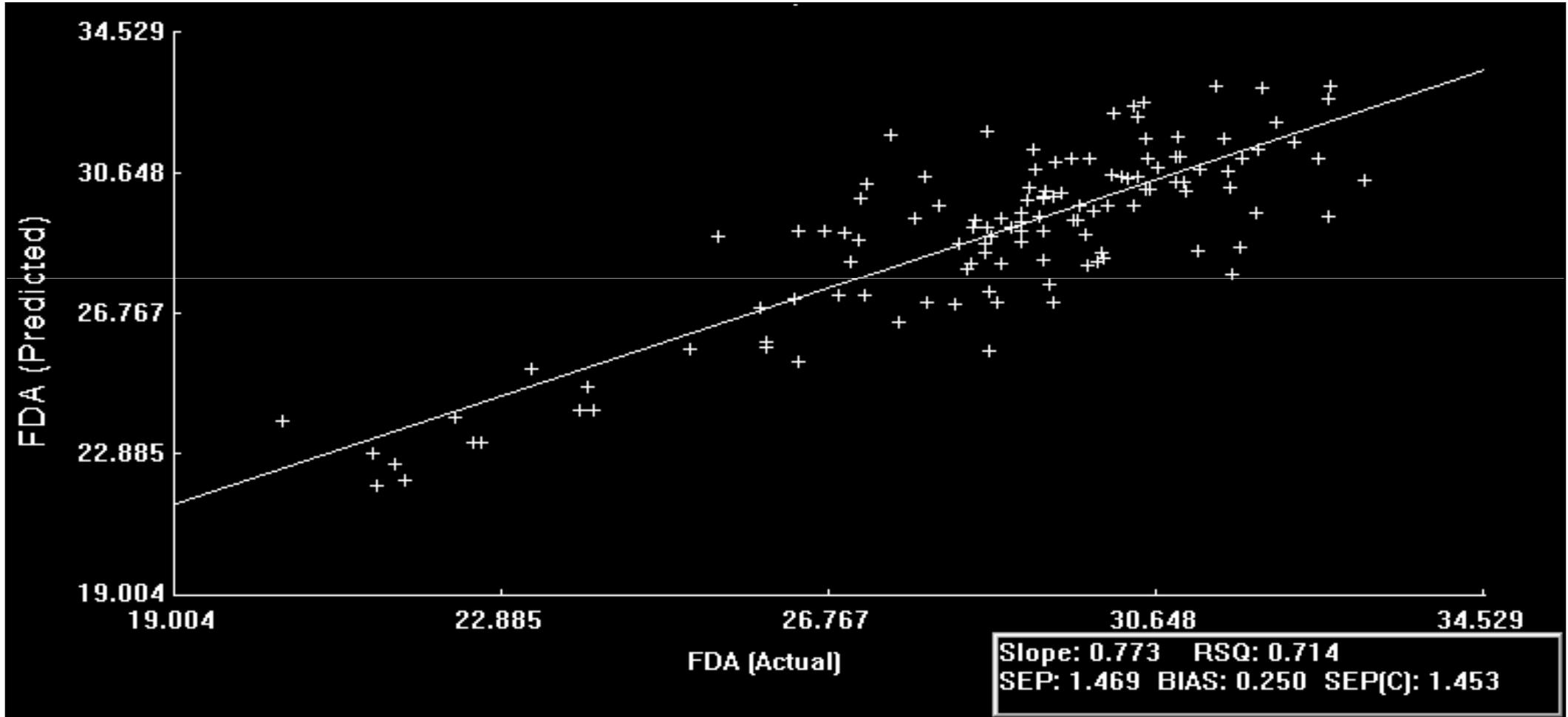
Validação da equação de calibração para predição de FDN em Capim Marandu



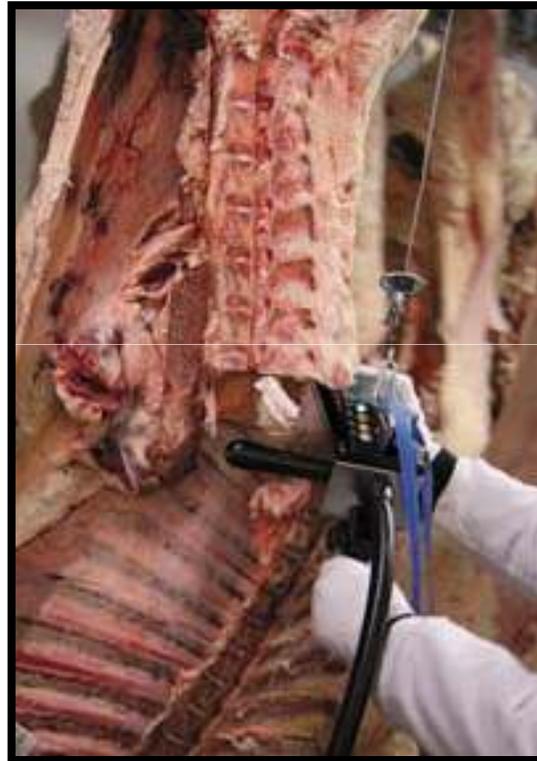
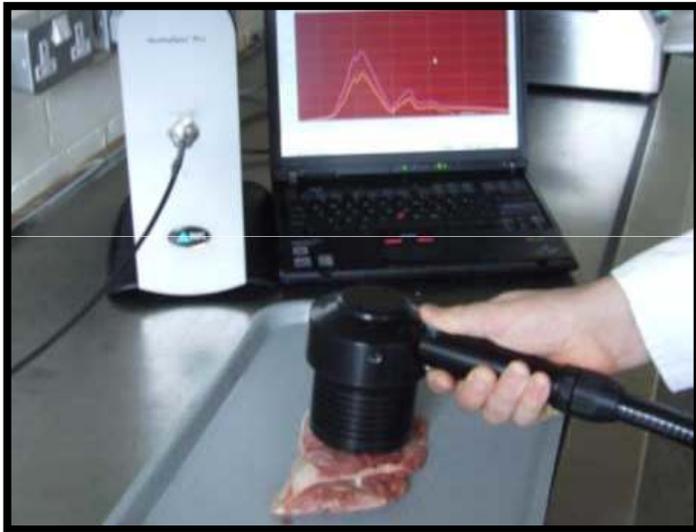
Validação da equação de calibração para predição de FDA em Capim Marandu



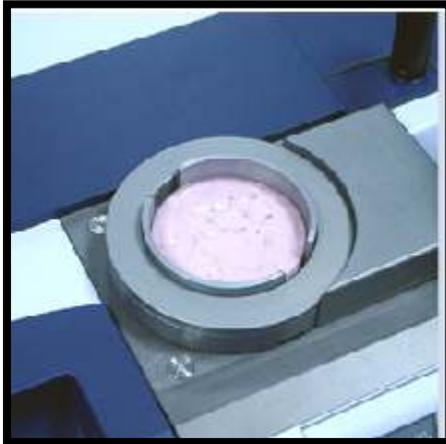
Validação da equação de calibração para predição de FDA em Capim Marandu



Qualidade de carne



Qualidade de lácteos



Qualidade de bebidas



C e N no solo



Conclusões

- A validação é essencial para demonstrar a habilidade de predição de cada constituinte através da técnica NIRS
- A precisão de uma análise via NIRS está fortemente associada à precisão da análise convencional utilizada como referência para calibração

Considerações Finais

A técnica de análise física NIRS apresenta grande potencial como ferramenta analítica na estimativa do valor nutritivo em alimentos.

As estimativas dos teores de umidade e proteína apresentam maior acurácia, enquanto as frações fibrosas (FDN e FDA) apresentam acurácia um pouco mais baixa, todavia, ainda consideradas elevadas

Considerações Finais

As estimativas de digestibilidade e consumo apresentam acurácia menor que as demais, contudo esse problema pode ser superado aumentando o tamanho da população de calibração.

Considerações Finais

A principal limitação para o uso do NIRS na estimativa do valor nutritivo de alimentos é a dificuldade e o custo de obtenção de um número de amostras suficientes para calibração e validação confiáveis, pois, é crucial que a calibração represente bem todas as variações da população a ser estimada nas análises de rotina laboratorial.