



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE TECNOLOGIA E RECURSOS NATURAIS
UNIDADE ACADÊMICA DE ENGENHARIA AGRÍCOLA
COPEAG - COORD. DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENG. AGRÍCOLA



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA

Dissertação de Mestrado

QUALIDADE DA TORTA E FARELO DE MAMONA DE
DIFERENTES CULTIVARES CARACTERIZADAS POR
ESPECTROSCOPIA NIR E ANÁLISE MULTIVARIADA

CLEBIA PEREIRA DE FRANÇA

Biblioteca UFCEG
SMBC_CDSA
CAMPUS DE SUMÉ
Reg. 10278/12

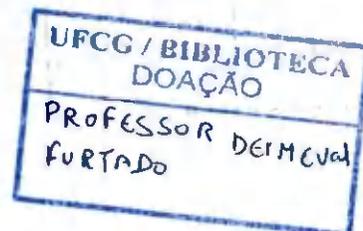
143.3)

q

Campina Grande
Paraíba



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE TECNOLOGIA E RECURSOS NATURAIS
UNIDADE ACADÊMICA DE ENGENHARIA AGRÍCOLA

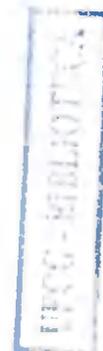


DISSERTAÇÃO

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PROCESSAMENTO E ARMAZENAMENTO
DE PRODUTOS AGRÍCOLAS

**QUALIDADE DA TORTA E FARELO DE MAMONA DE
DIFERENTES CULTIVARES CARACTERIZADAS POR
ESPECTROSCOPIA NIR E ANÁLISE MULTIVARIADA**

Dis
631 (043.3)
F 814g
ex. 01



CLEBIA PEREIRA DE FRANÇA

Campina Grande, Paraíba
FEVEREIRO, 2010

**QUALIDADE DA TORTA E FARELO DE MAMONA DE
DIFERENTES CULTIVARES CARACTERIZADAS POR
ESPECTROSCOPIA NIR E ANÁLISE MULTIVARIADA**

CLEBIA PEREIRA DE FRANÇA

**Dissertação apresentada ao Curso
de Pós-Graduação em Engenharia
Agrícola da Universidade Federal
de Campina Grande, como parte
dos requisitos necessários para
obtenção do título de Mestre em
Engenharia Agrícola.**

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Processamento e Armazenamento de Produtos Agrícolas.

ORIENTADORES: Dr. Juarez Paz Pedroza (UFCG)

Dr. Everaldo Paulo de Medeiros (EMBRAPA ALGODÃO)

Campina Grande, Paraíba

FEVEREIRO, 2010

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

F814q França, Clebia Pereira de.
Qualidade da torta e farelo de mamona de diferentes cultivares caracterizadas por espectroscopia NIR e análise multivariada / Clebia Pereira de França. — Campina Grande, 2010.
46 f.: il. col.

Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Tecnologia e Recursos Naturais.

Orientadores: Prof^o. Dr^o. Juarez Paz Pedroza, Prof^o. Dr^o. Everaldo Paulo de Medeiros.

Referências.

1. Mamoneira – Detoxificação. 2. Coprodutos – Torta e Farelo. 3. Ricina – Torta e Farelo. I. Título.

CDU 633.85(043)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE TECNOLOGIA E RECURSOS NATURAIS
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA



PARECER FINAL DO JULGAMENTO DA DISSERTAÇÃO DA MESTRANDA

CLÉBIA PEREIRA DE FRANÇA

QUALIDADE DA TORTA E FARELO DE MAMONA DE DIFERENTES CULTIVARES
CARACTERIZADA POR ESPECTROSCOPIA NIR E ANÁLISE MULTIVARIADA

BANCA EXAMINADORA



Dr. Juez Páz Pedroza – Orientador



Dr. Everaldo Paulo de Medeiros – Orientador



Dr. Napoleão Esberard de Macedo Beltrão - Examinador



Dra. Josivanda Palmeira Gomes – Examinadora

PARECER



Aprovada



Aprovada



APROVADA



Aprovada

FEVEREIRO - 2010

DEDICÁTORIA

A minha família, base mais forte de sustentação na qual pude firmar os alicerces do meu futuro, em especial minha mãe (**Maria Vilani**) e meu pai (**Francisco José**) que, com amor e dedicação, nos repassaram, a mim e a meus irmãos, um grande legado, somado à importância da educação e da obtenção do conhecimento na vida de um indivíduo.



AGRADECIMENTOS

A Deus, por me ter guiado por todo esse caminho e sem que me esquecesse um só minuto, e por colocado em minha vida grande oportunidades e pessoas maravilhosas que sempre me ajudam e, às vezes, atenuam a saudade que tenho de casa.

A meus pais, por serem tudo em minha vida;

A meus irmãos, Claudete e Cláudio, por me darem todo o apoio necessário.

A meu noivo, Makson, por sua dedicação, amor e incentivo em todos os momentos.

Ao Professor Dr. Juarez Paz Pedroza, por dividir comigo um pouco de seu conhecimento; ao Pesquisador Dr. Everaldo Paulo de Medeiros que, com paciência e destreza, me encaminhou até o final desta etapa; à professora Dra. Josivanda Palmeira Gomes e Dr. Napoleão Esberard de Macedo Beltrão, por ter aceitado o convite de fazer parte da Banca.

À Coordenação do Curso, em especial à Professora Dra. Josivanda Palmeira Gomes, a qual me iluminou nos momentos em que mais precisei.

À Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) pela possibilidade de cursar o mestrado em uma instituição bem conceituada; Enfim, aos amigos que fiz, entre professores e funcionários.

À EMBRAPA, por disponibilizar suas dependências e equipamentos na execução do trabalho, e aos amigos estagiários: Adailma, Patrícia, Libânia, Alessandra, Tatiana, Pollyne, Priscila, Erik, Priscila; Funcionários: Thaíse, Carlos, Rui; Pesquisadores: Dr. Everaldo, João Paulo e Paulo de Tarso.

À CAPES, pela bolsa concedida e apoio para realização deste trabalho; ao BNB (Processo n. 074 – 04) e ao CNPq (processo n. 552868/2007-8) pelo apoio financeiro.

A minhas amigas Marluce e Amélia, por me terem recebido com tanto carinho, em suas vidas.

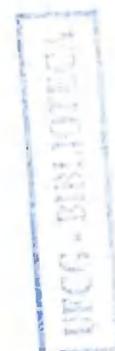
Às amigas, Livia e Diva, pela convivência durante este período.

A meus professores da Graduação, Dr. Raimundo Andrade e Dr. José Geraldo, pois sem eles não teria iniciado essa etapa de minha vida e a Dr. Evandro, que continuou com o ritmo de projetos aqui em Campina Grande.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	iii
LISTA DE TABELA.....	vi
LISTA DE SIGLAS E ABREVIACÕES.....	vii
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	ix
1.INTRODUÇÃO.....	01
1.1 Objetivos.....	02
1.1.1 Objetivo Geral.....	02
1.1.2 Objetivos específicos.....	02
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	03
2.1 Mamoncira (Ricinus communis L.).....	03
2.1.1 A torta e o farelo de mamona.....	05
2.1.2 A ricina.....	06
2.2 Espectrometria no infravermelho próximo (NIRS)	08
2.3 Análise multivariada.....	09
2.3.1 Modelagem por PCA.....	09
2.3.2 Modelagem por SIMCA.....	10
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	12
3.1 Local dos ensaios.....	12
3.2 Matéria-prima.....	12
3.3 Material utilizado.....	12
3.4 Equipamentos.....	13
3.5 Preparo das amostras de torta e farelo de mamona.....	13
3.6 Análise por espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS).....	16
3.7 Análises quimiométricas.....	16
3.8. Distribuição das classes em relação aos tratamentos experimentais.....	17
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
4.1 Modelagem quimiométrica na região do infravermelho próximo com torta e farelo de mamona submetidos a tratamentos químico e térmico.....	21
4.1.1 Espectros de reflectância de 400 a 2500 nm e pré-tratamento dos espectros.....	21
4.1.2 Análise de componentes principais (PCA) dos espectros originais	23

4.1.3 Análise de componentes principais (PCA) dos espectros com correção de Savitz-Golay (janela de 11 pontos), primeira derivada e ajuste com polinômio de segunda ordem.....	25
4.1.4 Modelagem independente por analogia de classes – SIMCA.....	30
4.1.4.1 Validação dos modelos SIMCA.....	31
4.2 Modelos quimiométricos na região de 1100 a 1200 nm para torta de mamona de três cultivares submetidos a tratamento de detoxificação com NaCl e Ca(OH).....	33
5. CONCLUSÕES.....	39
6. RECOMENDAÇÕES DE PROPOSTAS FUTURAS.....	40
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41



LISTA DE FIGURA

1. Distribuição da produção de mamona no nordeste brasileiro.....	04
2. Distribuição da produção de mamona na Paraíba.....	05
3. Representação de uma componente principal (CP) no caso de duas variáveis: (A) os <i>loadinings</i> são os ângulos do vetor direção: (B) os escores são as projeções das amostras 1 a 6 na direção da CP.....	10
4. Cultivares de mamona a (A) BRS Nordestina, (B) BRS Energia (C) BRS Paraguaçu.....	12
5. Prensa hidráulica manual para extração de torta e óleo de mamona.....	13
6. Semente de mamona (<i>Ricinus communis</i> L.).....	14
7. Moinho analítico.....	14
8. Peneira com granulometria de 2 mm.....	14
9. Conjunto de extratores Soxhlet.....	09
10. Coprodutos obtidos com as sementes de amona.....	10
11. Espectrofotômetro XDS <i>near-infrared Rapid ContentTM Analyser</i> da FOSS Analytical.....	16
12. Espectros na região 400 a 2500 nm de todos os tratamentos. F = amostras de farelo de mamona e T = amostras de torta de mamona.....	21
13. Espectros derivativos (Savitz-Golay usando-se 1ª derivada e ajuste com polinômio de 2ª ordem) na região 1100 a 2500 nm para os tratamentos químico e térmico da variedade BRS Paraguaçu.....	22
14. Espectros derivativos (Savitz-Golay usando-se 1ª derivada e ajuste com polinômio de 2ª ordem,) na região 1100 a 1200 nm de todos os tratamentos, por agrupamento de amostras: (a) Farelo tratado com NaCl (cor verde escuro) e com Ca(OH) ₂ (cor verde claro); (b) Torta sem tratamento (cor cinza – parte superior) e torta tratada com NaCl (cor marrom); (c) Torta tratada com Ca(OH) ₂ (cor roxa); (d) Torta tratada com NaCl nas temperaturas de 40, 60, 80 e 100 ⁰ C (cores azul, vermelha, laranja e azul mais claro) e (e) Torta tratada com Ca(OH) ₂ nas temperaturas de 40, 60, 80 e 100 ⁰ C (cores cinza, azul verde e laranja).....	23
15. Gráfico da PCA usando-se os espectros originais na região 1100 a 2500 nm (2787 variáveis) para a variedade BRS Paraguaçu.....	24
16. Gráfico da variância explicada pelo número de PCs do modelo PCA.....	25

17. Gráfico dos escores com pré processamento dos espectros na região de 1100 a 1220 nm (199 variáveis).....	25
18. Gráfico dos escores ampliado na região das amostras de farelo de mamona.....	27
19. Gráfico dos escores ampliado na região das amostras da torta de mamona.....	27
20. Gráficos dos escores a partir da seleção de variáveis 1146 e 1181 nm.....	28
21. Gráficos dos escores a partir da seleção de variáveis 1146 e 1181 nm.....	29
22. Gráfico da variância explicada pelo número de PCs.....	29
23. Gráfico da variância explicada versus n^0 de PCs da classe de amostras de torta de mamona consideradas tóxicas.....	30
24. Gráfico dos escores para a classe de amostras consideradas tóxicas.....	31
25. Gráfico Si x Hi para a classe de amostras consideradas tóxicas. (a) amostras controle e amostras tratadas com NaCl; (b) amostras tratadas com Ca(OH) ₂ ; (c) e (d) amostras tratadas com NaCl nas temperaturas de 40, 60, 80 e 100 °C; (e) amostras tratadas com Ca(OH) ₂ na temperatura de 100 °C; (f) amostras tratadas com Ca(OH) ₂ na temperatura de 80 °C e uma amostras com NaCl na temperatura de 80 °C; (g) amostras tratadas com Ca(OH) ₂ nas temperaturas de 40 e 60 °C.....	32
26. Gráfico dos escores PC1 vs PC2 para a torta de mamona da cultivar BRS Paraguaçu: (a) C3 (Ca(OH) ₂) = 4% (m/m), (b) C2 (Ca(OH) ₂) = 2 % (m/ m) + C1 (Ca(OH) ₂) = 1% (m/ m), (c) C1(Ca(OH) ₂) = 1 % (m/ m), (d) Controle positivo + C3 (NaCl) = 4% (m/ m) + C1 (Ca(OH) ₂), (e) C1 (NaCl) = 2 % (m/ m) + C1 (NaCl) = 1 % (m/ m), (f) C1 (NaCl) = 1 % (m/ m).....	34
27. Gráfico escores PC1 vs PC2 para a torta de mamona da cultivar BRS Nordestina: (a) C3(Ca(OH) ₂) = 4% (m/m) + C2 (Ca(OH) ₂) = 2% (m/m), (b) C2 (Ca(OH) ₂) = 1% (m/m), (c) C2 (cal(OH) ₂) = 2% (m/m), (d) Controle positivo + C1 (NaCl) = 1% (m/ m), (e) Controle positivo, (f) C1 (NaCl) = 1% (m/ m) + C2 (NaCl) = 2% (m/ m) + C3 (NaCl) = 3% (m/ m).....	35
28. Gráfico dos escores PC1 vs PC2 para a torta de mamona da cultivar BRS Energia: (a) C1(Ca(OH) ₂) = 1% (m/m) + C2 (Ca(OH) ₂) = 2% (m/m) + C3(NaCl) = 3% (m/m), (b) C3(Ca(OH) ₂) = 4% (m/m), (c) C2 (Ca(OH) ₂) = 2% (m/m), (d) Controle positivo + C2 (NaCl) = 2% (m/ m), (e) C1 (NaCl) = 1% (m/ m) + C2 (NaC)) = 2% (m/ m).....	35
29. Gráfico dos escores das PC1 vs PC2 para a torta de mamona das cultivares	

BRS Nordestina, Energia e BRS Paraguaçu.....	36
30. Gráfico dos escores das PC1 vs PC2 para a torta de mamona das cultivares BRS Nordestina, BRS Energia e BRS Paraguaçu tratadas com NaCl e Ca(OH) ₂ nas concentrações de 1, 2 e 4 % (m/m). As letras (a) , (b) e (c) correspondem aos tratamentos com Ca(OH) ₂ e a letra <i>m</i> se refere às amostras controle de cada cultivar.....	37
31. Gráfico dos escores das PC1 vs PC2 para a torta de mamona das cultivares BRS Nordestina (a) , BRS Paraguaçu (b) e BRS Energia (c) tratadas com Ca(OH) ₂ na concentração de 4 % (m/m).....	37

LISTA DE TABELA

1.Tratamentos físicos para remoção da ricina.....	07
2.Tratamentos químicos para remoção da ricina.....	07
3.Tipos de tratamento de detoxificação incluindo-se amostras com aquecimento.....	17
4.Distribuição dos tratamentos químicos por classe de amostras de torta sem mistura do endosperma da semente (total de 18 classes).....	18
5.Distribuição dos tratamentos químicos por classe de amostras de torta com mistura do endosperma da semente (total de 18 classes).....	19
6.Distribuição por classe de amostras de torta sem tratamento químico com e sem mistura do endosperma da semente (total de 6 classes).....	19

LISTA DE SIGLAS E ABREVIACOES

BRS – Brasil Sementes

CTRN - Centro de Tecnologia e Recursos Naturais

CNPA - Centro Nacional de Pesquisa de Algodão

CP - Componente Principal

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

HCA - Hierarchical Cluster Analysis

LAPPA - Laboratórios de Análise de Sementes e de Processamento e Armazenamento de Produtos Agrícolas

NIR - Infravermelho Próximo

PCA - Principal Components of Analysis

PC_s - Principal Components

RMSEP - Root Mean Square Error of Prediction

SIMCA - Soft Independent Modelling of Class Analogy

SVD - Singular Value Decomposition

UFCG - Universidade Federal de Campina Grande

UV-VIS - Ultravioleta Visível

RESUMO

Este trabalho foi realizado com o objetivo de estudar o potencial da espectrometria NIR e da quimiometria, para classificação de torta e farelo de mamona, submetida a diferentes tratamentos de detoxificação. Utilizaram-se os tratamentos químico com NaCl e Ca(OH)_2 e térmico (40, 60, 80 e 100°C) para três cultivares de mamona a partir da torta e do farelo. A torta foi obtida em prensa mecânica das sementes e o farelo através de extração com solvente em Soxhlet. As medidas espectrais na região de 400 a 2500 nm e análise multivariada (PCA e SIMCA) foram empregadas para a identificação de padrões de agrupamento quanto ao processo de detoxificação. As medidas experimentais foram realizadas em duas etapas, em que na primeira foram utilizadas 180 amostras de torta e farelo de mamona da variedade BRS Paraguaçu, para otimização dos modelos quimiométricos. Cada classe foi constituída de 10 amostras representativas, tratadas com NaCl e Ca(OH)_2 a 4% (m/m) e nas temperaturas de 40, 60, 80 e 100^o, na segunda etapa, 605 amostras foram usadas com 15 unidades para cada classe de tratamento com Ca(OH)_2 e NaCl a 1, 2 e 4% (m/m). Os espectros foram registrados em triplicatas autênticas para os tratamentos com 10 repetições para cada amostra. A partir dos espectros obtidos empregaram-se as técnicas multivariadas de PCA e SIMCA. Na PCA, observou-se no gráfico dos escores a formação de classes distintas com separação dos tratamentos com Ca(OH)_2 e NaCl, além da sua combinação com incrementos de temperatura de 40, 60, 80 e 100^oC. O agrupamento formado com duas componentes principais resultou em uma variância explicada superior a 95%. Com as informações da PCA desenvolveu-se um modelo SIMCA, para o qual foram previstos 100% de acerto para a classe da torta e farelo de mamona detoxificados da variedade Paraguaçu, referentes a primeira etapa, a PCA para as amostras tratadas com Ca(OH)_2 e NaCl a 1, 2 e 4% (m/m) permitiu a identificação das amostras consideradas detoxificadas para as variedades BRS Energia, BRS Paraguaçu e BRS 149 Nordestina. O tratamento a 4% (m/m) se destacou no gráfico dos escores por ser considerado 100% detoxificado, também ocorreu separação entre as classes BRS Paraguaçu e BRS 149 Nordestina em relação à BRS Energia. Com essas observações, a espectrometria NIR e a análise multivariada permitiram a identificação da torta e do farelo de mamona, considerados detoxificados de forma direta, não destrutiva, econômica, rápida (30 s), sem o uso de reagentes caros e de geração resíduos químicos.

Palavras-chave: coprodutos da mamoneira, detoxificação e ricina

ABSTRACT

This work was carried out to study the potential of NIR spectroscopy and chemometrics for the classification of cake and castor meal under different treatments of detoxification. We used chemical treatments with NaCl and Ca (OH)₂ and heat (40, 60, 80 and 100 °C) for three cultivars from the castor bean cake and meal. The cake was obtained from mechanical pressing of the seeds and bran by solvent extraction in Soxhlet. The spectral measurements in the region from 400 to 2500 nm and multivariate analysis (PCA and SIMCA) were used to identify patterns of grouping as the process of detoxification. The experimental measurements were performed in two stages: first stage was used 180 samples of cake and castor oil for the BRS Paraguaçu chemometric optimization. Each class was comprised of 10 representative samples treated with NaCl and Ca (OH)₂ to 4% (w / w) and temperatures of 40, 60, 80 and 100 °C. In the second stage, 630 samples were used with 42 units for each class of treatment with Ca (OH)₂ and NaCl at 1, 2 and 4% (w / w). The spectra were recorded in triplicate true for treatments with 10 repetitions for each sample. From the spectra obtained were employed multivariate techniques of PCA and SIMCA. In PCA, the graph of the scores observed the formation of separate classes with separate treatments with Ca(OH)₂ and NaCl, and combinations of these with temperature increments of 40, 60, 80 and 100 °C. The group formed with two principal components explained variance resulted in a greater than 95%. With the information from the PCA was developed SIMCA model for which predicted 100% correct for the class of the pie and detoxified castor meal variety Paraguaçu on the first step. The PCA for the samples treated with Ca(OH)₂ and NaCl at 1, 2 and 4% (w/ w) allowed the identification of samples considered detoxified for varieties Energy BRS, BRS 149 and BRS Paraguaçu Northeast. Treatment 4% (w/ w) stood out in the graph of the scores to be considered 100% detoxified. Also there was a separation between the classes Paraguaçu BRS and BRS 149 BRS for Northeast Energy. Given these observations, NIR spectrometry and multivariate analysis allowed the identification of the pie and detoxified castor meal considered a direct, non-destructive, inexpensive, rapid (30 s) without the use of expensive reagents and chemical waste generation.

Word-key: co-product of the castor beam, detoxification, and ricin

1. INTRODUÇÃO

Originária da África, possivelmente da Etiópia, a mamona possui seis subespécies e 25 variedades botânicas, além de cultivares comerciais, em todo o mundo. As condições edafoclimáticas do Brasil facilitaram sua difusão, sendo uma cultura de grande potencial industrial quanto à produção de óleo vegetal e de seus coprodutos associados (SAVY FILHO et al., 1999; CHIERICE e CLARO NETO, 2001).

Com o aumento da demanda de biodiesel na matriz energética nacional, que em janeiro de 2010 era de 5% (v/v) de mistura de biodiesel ao diesel de petróleo, há uma grande expectativa da reutilização dos produtos remanescentes da produção do óleo de mamona. Neste contexto, a torta é o principal coproduto, a qual é gerada da extração do óleo das sementes a partir do processo mecânico de prensagem das sementes ou por extração com solventes em que, neste caso, se gera o farelo.

A estimativa de torta e farelo é de 1,2 tonelada para cada tonelada de óleo extraído, correspondente a 55% de massa das sementes, por se tratar de um valor que pode oscilar de acordo com o teor de óleo da semente e do processo industrial de extração (SEVERINO, 2005).

O uso da torta e do farelo para ração animal não é recomendado devido à presença de substâncias tóxicas e alergênicas. A principal substância tóxica é a ricina, que é uma proteína de reserva, tóxica por inativar ribossomos, encontrada exclusivamente no endosperma das sementes de mamona representando cerca de 1,5 % a 2,0% (m/m) da massa total da semente (SILVA JÚNIOR et al., 1996, ANADAN et al., 2005).

Atualmente, um dos grandes desafios é dispor de um processo viável que gere uma torta com baixa toxicidade e segura para o preparo de rações para ruminantes, no entanto, para obtenção de um processo de detoxicação da torta de mamona de interesse industrial, faz-se necessário o desenvolvimento de métodos eficientes e rápidos para identificação e classificação, sendo possível o controle de qualidade com maior segurança e confiabilidade.

Neste cenário, o processo de detoxicação requer estratégias analíticas aplicáveis a grande número de amostras, com baixo custo, robustez para aplicações *in situ*, não destrutiva e de alta frequência analítica. Dentre as técnicas analíticas que atendem a essas características se destaca a espectroscopia na região do infravermelho próximo (NIR).

A espectroscopia NIR tem sido aplicada frequentemente como método analítico que

fornece resultados rápidos e satisfatórios, possibilitando a realização de análises não destrutivas (CLEMENT et al., 2008). Em conjunto com a análise multivariada, vem sendo aplicada no acompanhamento de variáveis de processos de diferentes indústrias (MARK et al., 2007). Com modelos de predição de propriedades físicas e químicas, tornando-se uma estratégia que fornece resultados similares às técnicas clássicas (LUYPAERT et al., 2007).

A análise multivariada tem sido fundamental para o tratamento de dados espectrais na região do infravermelho próximo (PASQUINI, 2003). Isso é decorrente da grande quantidade de variáveis geradas, em medidas de varredura espectral (CEN e HE, 2007).

Dentre as técnicas de análise multivariadas, aquelas de reconhecimento de padrão têm a finalidade de discriminar amostras por meio do reconhecimento não supervisionado (PCA: Principal Components of Analysis) ou com reconhecimento supervisionado (SIMCA: Soft Independent Modelling of Class Analogy) (BEEBE, 1998).

As técnicas PCA e SIMCA são importantes no desenvolvimento de métodos qualitativos (*Screening Analysis*) mais simples que aqueles em que há necessidade de quantificação, por meio de calibração multivariada, podendo requerer um tempo maior, com alto custo (BRERETON, 2003).

1.1 Objetivos

1.1.1. Geral

Objetivou-se, neste trabalho, aplicar a espectrometria NIR e a análise multivariada para identificação de torta e farelo de mamona detoxificados.

1.1.2. Específicos

- Desenvolver modelos exploratórios de reconhecimento de padrão não supervisionado (PCA) e supervisionado (SIMCA) através de variáveis espectrais na região de 400 a 2500 nm em torta e farelo de mamona submetidos a tratamento químico e térmico de detoxificação;
- Dispor de método não destrutivo, rápido para identificação e classificação de torta e farelo e mamona detoxificados.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Mamoneira (*Ricinus communis* L.)

Os primeiros registros de cultivo da mamona foram encontrados no Egito há uns 4000 a.C. Relatos da história evidenciam o óleo de mamona na utilização, por volta de 2000 a.C, na Índia, para usos medicinais (RODRIGUES et al., 2002).

No Brasil, a mamona foi introduzida pelos portugueses com a finalidade de utilizar o óleo para iluminação e lubrificação de máquinas. O clima tropical predominante facilitou a sua proliferação, a tal ponto que hoje se pode encontrar a mamona em quase todo o território nacional (CHIERICE e CLARO NETO, 2001).

A mamoneira (*Ricinus communis* L.) é uma dicotiledônea pertencente à família Euphorbiaceae que inclui um grande número de espécies nativas da região tropical. Ademais, é uma planta oleaginosa com considerável potencial para economia do País, pois resiste a longos períodos de seca e possui alto teor de óleo que atende à produção de matéria-prima para diversas aplicações na indústria (AMORIM NETO et al., 2001).

A mamoneira é uma planta de crescimento indeterminado tendo sua haste principal crescendo verticalmente e desprovida de ramificações laterais até o surgimento da primeira inflorescência (BELTRÃO et al., 2007). A porcentagem de óleo nas sementes varia, dependendo do ambiente de cultivo e da cultivar sendo, em geral, de 40 e 60% (m/m) (BELTRÃO, 2003). É a única oleaginosa que produz óleo hidrolixilado de alta solubilidade em etanol e outros álcoois de baixa massa molecular (AZEVEDO et al., 1997).

A mamoneira possui baixa exigência de clima e solo para o cultivo porém, quanto mais propícia a área de cultivo, melhores serão os resultados visando, assim, à maior chance de êxito econômico da cultura (AMORIM NETO et al., 2001).

A grande importância da ricinocultura se justifica pelo fato de haver interesse crescente para a química fina e, mais recentemente, por fontes renováveis de energia (O'BRIEN et al., 2000). Para isto, o uso de biocombustíveis, como lenha, carvão vegetal, bioetanol, óleo de dendê e biodiesel de óleos vegetais, são vistos, hoje, como alternativas viáveis, com justificativas econômicas, sociais e ambientais (URQUIAGA et al., 2005).

No mercado internacional o óleo de mamona é o óleo vegetal de maior valor comercial de 1092 a 1997 (O'BRIEN et al., 2000). O seu elevado valor estratégico é reconhecido pelo fato de não haver bons substitutos em muitas de suas aplicações e devido, também, à sua versatilidade industrial, ele se diferencia, desta forma, dos demais óleos

vegetais, em virtude da presença de ligações OH (grupo hidroxila) presentes no ácido ricinoléico, na proporção média de 90% de sua composição (MUTLU e MEIER, 2010). Os mesmos autores destacam, ainda, que as propriedades físico-químicas do ácido ricinoléico estão associadas à carbonila (COOH) e à insaturação do carbono 9 (C=C), os quais são grupos funcionais importantes que permitem qualidades específicas à produção de vários produtos industriais. A hidroxila também confere estabilidade e alta viscosidade, possibilitando ser considerado um dos óleos mais viscosos, quando comparado a outros óleos vegetais pela formação de ligações de pontes de hidrogênio (BELTRÃO, 2004).

Em relação à produção de matéria-prima, até 2007 os maiores produtores de óleo de mamona foram Índia, China, Brasil e Tailândia (MUTLU e MEIER, 2010). O Brasil teve sua participação reduzida de 26% para 8% em 1999, mantendo, porém, a terceira posição entre os principais produtores, nos últimos de 10 anos (SANTOS, 2001).

Neste contexto, a produção nacional de mamona se concentra no Nordeste brasileiro com 80% da produção. O estado da Bahia tem sido o maior produtor, como se identifica nos dados da Figura 1 (AZEVEDO e LIMA, 2001), enquanto o estado da Paraíba é o que possui maior rendimento médio por hectare (SAVY FILHO, 2007), porém com produção reduzida a partir de 1990 (Figura 2).

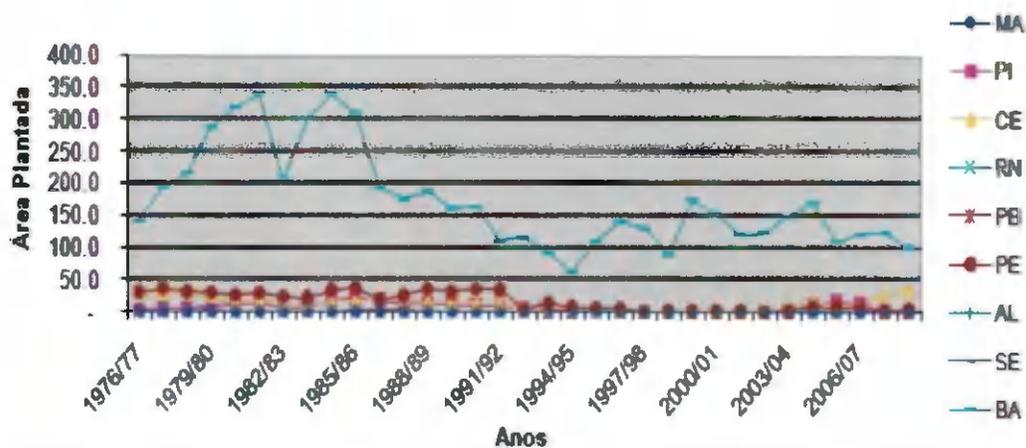


Figura 1. Distribuição da produção de mamona no Nordeste brasileiro. Fonte (CONAB, 2009)

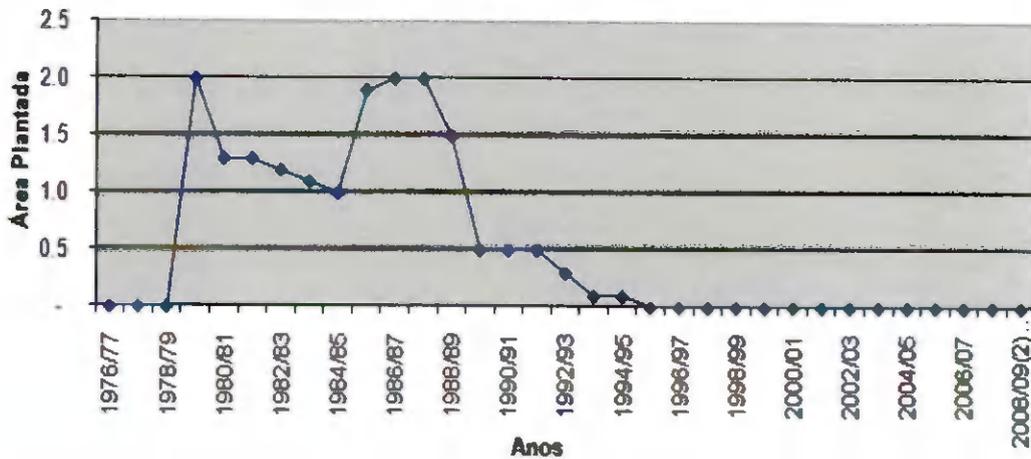


Figura 2. Distribuição da produção de mamona na Paraíba. Fonte: CONAB (2009)

2.1.1 A torta e o farelo de mamona

O óleo de mamona é conhecido como óleo de rícino ou como *castor oil*. Ele possui propriedades físicas e químicas especiais que o diferenciam dos demais óleos vegetais. Cerca de 90% do óleo são compostos de ácido ricinoléico. Este ácido graxo possui três grupos químicos altamente reativos, que permitem realizar grande número de reações químicas decorrentes da presença do grupo carboxila no carbono 1, uma dupla ligação no carbono 9 e de uma hidroxila no carbono 12 que, juntas, conferem qualidades que permitem sua utilização para a produção de uma infinidade de produtos industriais (SAVY FILHO et al., 1999). O grupo hidroxila confere solubilidade em álcool, alta viscosidade que é mantida em ampla faixa de temperatura, e maior estabilidade oxidativa (MULLER, 1978).

As sementes comumente submetidas à extração de óleo, possuem rendimento de 50% de óleo e 50% de torta de mamona (BANDEIRA et al., 2004). A torta é composta de 60% de globulinas, 16% de albuminas, 4% de proteases e 20% de glutelinas, proteínas conjugadas e compostos nitrogenados não-protéicos (SEVERINO, 2005).

O farelo de mamona é o coproduto isento, em sua totalidade, do óleo existente originalmente das sementes, foi inicialmente produzido no Brasil pela Sociedade Algodoeira do Nordeste (SANBRA), sob a desinência de Lex protéico (LOUREIRO, 1962).

Apesar de rica em proteínas, o aproveitamento da torta e do farelo como suplemento alimentar, é limitando em virtude da presença de componentes tóxicos, como a

ricina, a ricinina e o complexo alergênico CB-1A (SEVERINO, 2005). Das três toxinas presentes na mamona, a ricina é a mais potente e qualquer tentativa de detoxificação da torta deveria abordar principalmente este problema (ANANDAN et al., 2005). Com a possibilidade de aumento da produção de mamona, faz-se necessário agregar mais valor a este resíduo; entretanto, as maiores dificuldades são a viabilidade operacional e a econômica do tratamento, além da falta de métodos analíticos rápidos e de baixo custo (SEVERINO, 2005).

A torta produzida no Brasil tem sido destinada para adubação orgânica, principalmente para jardinagem pois, além de ser fonte de nitrogênio, fósforo e potássio, tem como função controlar de nematóides do solo. A torta de mamona é composta, em média, de 42,5% de proteína bruta, 20% de fibra e 0,78% de fósforo, entre outros componentes (MOSHKIN, 1986).

No solo ocorre uma mineralização mais rápida quando favorece uma disponibilização maior de nutrientes. A torta mineralizada contém entre 75 e 100% do nitrogênio que é nitrificado três meses após sua incorporação ao solo. A velocidade de mineralização da torta de mamona é medida pela respiração microbiana, que é cerca de seis vezes mais rápida que a de esterco bovino e quatorze vezes mais rápida que o bagaço de cana (SEVERINO et al., 2004).

2.1.2. A ricina

A ricina é uma proteína de reserva existente exclusivamente no endosperma da semente, na proporção de 1,5 a 2,0 % (m/ m). Diversos estudos foram realizados em busca de um tratamento adequado para detoxificação da torta de mamona, utilizando-se processos biológicos, físicos e químicos (BARNES et al., 2009a; BARNES et al., 2009b; ANANDAN et al., 2005; GOWD et al., 2009; GODOY et al., 2009). Ressalta-se que a ricina possui baixa estabilidade e alta solubilidade em água, podendo ser removida por aquecimento com vapor de água (AZEVEDO e LIMA, 2001; ANADAN et al., 2005; RIBEIRO e ÁVILA, 2006).

Tratamentos com base no uso de processos físicos e químicos para tratar a torta de mamona foram realizados através da combinação de diferentes processos químicos e físicos, entre eles a adição de produtos alcalinos NaOH, KOH, Ca(OH)₂, tratamento com diferentes temperaturas e fermentação aeróbia (ANADAN et al., 2005; GODOY et al., 2009). Vários desses tratamentos conseguiram detoxificar 100% da ricina disponível,

destacando-se a aplicação de Ca(OH)_2 na concentração de 4% (m/ m) (ANADAN et al., 2005).

O resumo dos tratamentos físicos e químicos obtidos na literatura relativos detoxificação da ricina da torta de mamona, é detalhado nos dados das Tabelas 2 e 3. Resultados dos tratamentos mais eficientes foram a autoclavagem a 15 psi de pressão, durante 60 min, e o uso de Ca(OH)_2 na concentração de 40% (m/m) por um período de contato de 8 horas.

Tabela 1. Tratamentos físicos para remoção da ricina

Agente	Concentração	Tempo	Remoção (%)
Embebição em água	10 L de água	7h	65
		6 h	86
		12 h	84
Aquecimento com vapor	150 g de água (fervura a 100°C)	30 min	73
		60 min	85
Ebulição	10 L de água (fervura a 100°C)	30 min	90
		60 min	91
Autoclavagem (1,05 atm)	15 psi	30 min	85
		60 min	100
Forno de ar quente	100 °C	30 min	52
	120 °C	25 min	50

Fonte: ANANDAN et al.,(2005)

Tabela 2. Tratamentos químicos para remoção da ricina

Agente	Concentração	Tempo(h)	Remoção (%)
NaOH (mol/L)	0,38	8 h	86
	0,75		91
NaCl (mol/L)	0,25	8 h	82
	0,50		86
Ca(OH)₂ (g/kg)	10,0	8 h	67
	20,0		68
Formaldeído (g/kg)	5,0	7 dias	39
	10,0		81
Amônia (g/kg)	7,50	7 dias	51
	12,50		59

Fonte: ANANDAN et al., (2005)

Uma maneira ainda mais eficaz de inibir a ação da ricina é por meio do melhoramento genético, selecionando-se genótipos com menor teor da toxina, por

melhoramento tradicional ou mesmo por transgenia. Entretanto, isto pode trazer problemas agronômicos à cultura, como a possibilidade de maior susceptibilidade da planta a certas pragas comuns à cultura (FREIRE, 2001).

Embora as substâncias de natureza protéica e compostos nitrogenados correspondam a uma fração representativa da torta produzida a partir da extração do óleo, o uso como alimento animal não tem sido empregado. Entretanto, a principal aplicação tem sido na forma como adubo orgânico, devido à presença de elementos tóxicos e alergênicos (SEVERINO, 2005).

A composição média dos grãos da mamona é de 12 a 16% de proteína, 35 a 55% de lipídios, 23 a 28% de carboidratos, 3 a 7% de fibras e 2 a 2,2% de cinzas (AZEVEDO e LIMA, 2001). No caso de animais ruminantes (bovinos, ovinos e caprinos) os baixos teores dos aminoácidos lisina e triptofano na torta de mamona, não constituem fatores limitantes para sua utilização, uma vez que os micro-organismos do rúmen são capazes de sintetizar esses aminoácidos, o que torna a torta de mamona um alimento promissor na alimentação para ruminantes.

2.2 Espectrometria no infravermelho próximo (NIRS)

O infravermelho próximo (NIR) é a região do espectro eletromagnético compreendida na faixa de 750 a 2500 nm ($12.800 - 4.000 \text{ cm}^{-1}$) que se inicia logo após a região do visível. Essa região compreende bandas de absorção correspondentes a sobretons e combinações das vibrações fundamentais, predominantemente de ligações C-H, O-H e N-H (PASQUINI, 2003).

A temperatura ambiente, a maioria das moléculas se encontra em seus níveis fundamentais de energia. Nessas moléculas existe um deslocamento dos átomos ou grupos, cuja frequência é definida pela força das ligações existentes entre eles e pela massa de cada desses átomos ou grupos de átomos. As amplitudes dessas vibrações são de poucos nanômetros e serão aumentadas se alguma energia, por exemplo, de um fóton de um comprimento de onda (λ), for transferida para a molécula (BOKOBZA, 1998).

A descoberta do NIR é atribuída a William Herschel em seu clássico experimento de medida da temperatura de diferentes regiões de um feixe de luz previamente dispersado por um prisma e projetado sobre um anteparo (STCHUR et al., 2002; PASQUINI, 2003). Surpreendentemente, Herschel obteve a temperatura mais alta para uma região não visível localizada imediatamente ao lado da radiação de cor vermelha (WETZEL, 1983).

A espectrometria NIR é uma poderosa ferramenta no campo das análises não destrutivas e atualmente se encontram muitas aplicações nas mais diferentes áreas da ciência, tecnologia e aplicações industriais (BURNS et al., 2008).

2.3 Análise multivariada

A análise multivariada promove a organização do conjunto de dados de uma matriz X ($n \times m$), em que as linhas desta matriz concebem o conjunto das amostras e as colunas, o das variáveis medidas, ou seja, resultados analíticos (BEEBE et al., 1998).

Uma matriz de dados X , contendo m medidas experimentais (variáveis) obtidas para n amostras, pode ser graficamente representada por n pontos num espaço m dimensional. Isto significa que é possível representar essa matriz espacialmente, em que cada variável medida corresponde a uma dimensão do espaço e cada amostra a um ponto neste mesmo espaço (WOLD et al., 1987).

Para conjuntos com muitas variáveis, a alta dimensionalidade apresentada pode dificultar o tratamento dos dados e uma ferramenta matemática que possibilite uma visualização espacial melhor dos mesmos como, por exemplo, a análise de componentes principais (PCA) e os agrupamentos hierárquicos (HCA) se tornam de grande utilidade.

2.3.1 Modelagem por PCA

A base fundamental para a maioria dos métodos de tratamento multivariável, é a PCA, que numa visão simplificada consiste em manipular os dados das matrizes M e N com o objetivo de representá-los de forma compacta, tomando-se por base os elementos que produzem as maiores variações nos conjuntos (WOLD et al., 1987).

A Análise dos Componentes Principais, PCA (do inglês: *Principal Component Analysis*), tem por finalidade básica a redução de dados a partir de combinações lineares das variáveis originais. A PCA decompõe uma matriz de dados X (em que as m linhas são as amostras e as n colunas, as variáveis) de posto h , em uma soma de h matrizes de posto igual a 1, como na Equação 1, na qual o posto expressa o número de vetores linearmente independentes de uma matriz.

$$X = M_1 + M_2 + M_3 + \dots + M_h \quad (1)$$

Essas novas matrizes de posto um são produtos, de vetores chamados *escores*, t_h , e *loadings*, p_h . Os *escores* e *loadings* podem ser calculados por um ajuste de mínimos



quadrados. A operação é equivalente ao cálculo de autovetores de uma matriz pela decomposição em Valores Singulares (SVD, Singular Value Decomposition). A equação pode ser representada na forma vetorial, na forma matricial,

$$X = t_1 p'_1 + t_2 p'_2 + \dots + t_h p'_h \quad (2)$$

$$X = TP' \quad (3)$$

Para exemplificar t_h e p'_h , a Equação 2 é ilustrada no plano bidimensional com duas variáveis x_1 e x_2 . Uma componente principal (CP), a reta na direção de maior variabilidade das amostras (pontos 1 a 6) da (Figura 3B). Os escores t_h são as projeções das amostras na direção da CP Figura 3B e os *loadings* p'_h são os cossenos dos ângulos formados entre a CP e cada variável Figura 3A.

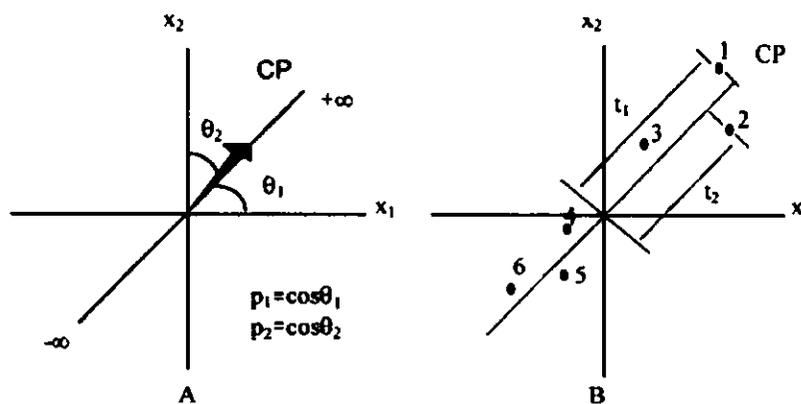


Figura 3: Representação de uma componente principal (CP) no caso de duas variáveis: (A) os *loadings* são os ângulos do vetor direção: (B) os escores são as projeções das amostras 1 a 6, na direção da CP

As novas variáveis, as CPs, são ortogonais entre si e, portanto, não correlacionadas. Normalmente, as primeiras CPs explicam a maior parte da variância total contida nos dados e podem ser usadas para representá-los.

2.3.2 Modelagem por SIMCA

Na modelagem supervisionada deseja-se estabelecer um conjunto de treinamento (reconhecimento) com informações relevantes para classificação de amostras desconhecidas. A modelagem supervisionada pelo método SIMCA (do inglês: *Soft Independent Modelling of Class Analogy*) modela cada classe independente, por meio de um número ótimo de componentes principais (KOWALSKI, 1984; DERDE e MASSART,

1986).

O propósito da análise de classificação SIMCA é prever a qual categoria uma nova amostra pertence; desta forma, o método de classificação por reconhecimento supervisionado pode inferir sobre a origem geográfica de certa matéria-prima contendo impurezas, aceitar ou rejeitar o produto, dependendo de sua qualidade. Para se realizar uma classificação SIMCA é preciso estabelecer: a) um ou mais modelos PCA (um para cada classe) baseados nas mesmas variáveis e b) obter respostas quantitativas para cada uma dessas variáveis em amostras conhecidas ou desconhecidas. Por fim, cada nova amostra é projetada dentro de cada modelo PCA. De acordo com a resposta dessas projeções, a amostra poderá ser reconhecida ou não como membro da classe analisada (CAMO, 2009).

Os resultados da classificação SIMCA podem ser expressos de duas maneiras; a) por meio de tabelas de classificação ou b) gráfico bidimensional $S_i \times H_i$, em que S_i é a raiz quadrada da variância residual que representa a distância da amostra ao modelo da classe selecionado, e H_i , que é a distância da amostra projetada ao centro do modelo, também conhecida influência ou medida de Leverage (BEEBE et al., 1998).

Na tabela de classificação a presença de amostra na classe analisada é sinalizada por um asterisco e sua ausência sinaliza que a amostra não foi classificada para aquela classe; outra forma de se dispor os resultados é por meio do gráfico $S_i \times H_i$ (GAMBARRA-NETO, 2009; CAMO, 2009).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local dos ensaios

Este trabalho foi realizado no Laboratório Avançado de Tecnologia Química (LATECQ) da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Centro Nacional de Pesquisa de Algodão (EMBRAPA-CNPA), e no Laboratório de Armazenamento e Pré-processamento de Produtos Agrícolas (LAPPA) do Departamento de Engenharia Agrícola da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, todos situados em Campina Grande, PB.

3.2 Matéria-prima

Para obtenção da torta de mamona foram utilizados 5 kg de sementes das cultivares BRS Nordestina, BRS Energia e BRS Paraguaçu, referentes à safra 2008/ 2009, fornecidas pela Embrapa Algodão.



Figura 4. Cultivares de mamona a (A) BRS Nordestina, (B) BRS Energia (C) BRS Paraguaçu

3.3 Material utilizado

- Vidraria: béqueres 250 mL a 1L, pipeta volumétrica de 5 e 10 mL, funil cilíndrico, balão de fundo redondo de 500 mL e extratores de Soxhlet.
- Pipeta automática de 100 a 1000 μL ;
- Cloreto de sódio (NaCl) e hidróxido de cálcio $[\text{Ca}(\text{OH})_2]$ e comerciais;
- Hexano P.A.;
- Água destilada

3.4 Equipamentos

- Estufa de circulação forçada de ar, modelo CL102 Solab;
- Balança analítica modelo G2105D Oxford;
- Espectrômetro de reflectância XDS Analyser Masterlab (Foss Analytical).

3.5 Preparo das amostras de torta e farelo de mamona

As amostras de torta de mamona foram obtidas por prensagem das sementes de mamona com e sem aquecimento prévio. A prensa utilizada foi desenvolvida em laboratório na Embrapa Algodão (Figura 6). O equipamento consiste de um macaco hidráulico com pressão de cinco toneladas e uma base que comporta os seguintes acessórios: reservatório para sementes (em que há o esmagamento gerando óleo e parte do endosperma da semente), um cilindro compacto que é encaixado ao reservatório de sementes e uma pequena bandeja localizada na base do reservatório. Todos os acessórios foram usinados com aço inoxidável. A prensa tem capacidade de produzir 40 g de torta por cada batelada usando-se em média, 76g de sementes.



Figura 5. Prensa hidráulica manual para extração de torta e óleo de mamona

As sementes da cultivar BRS Paraguaçu foram prensadas sem aquecimento e com aquecimento, usando-se uma estufa de circulação de ar nas temperaturas de 40, 60, 80 e 100°C; depois, foram usadas sementes das cultivares BRS Nordestina e BRS Energia sem aquecimento prévio. No procedimento de extração sem aquecimento das sementes o material gerado do endosperma (Figura 6) com óleo foi inserido em sistema de Soxhlet com hexano, para obtenção do farelo (torta deslipídada).

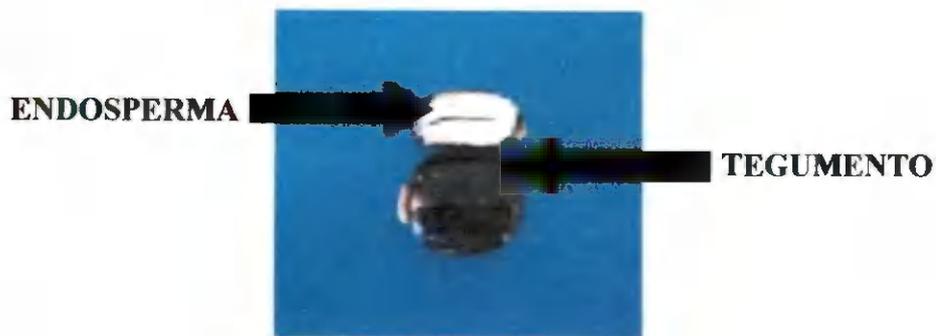


Figura 6. Semente de mamona (*Ricinus communis L*)

Após o processo de prensagem a torta foi obtida e, em seguida, triturada em moinho analítico. O procedimento de trituração foi executado em intervalo de 10 s para evitar aquecimento da amostra e provável inativação da ricina (Figura 7).



Figura 7. Moinho analítico

Prosseguindo, com a torta já triturada, tornou-se oportuna a regulagem da granulometria das amostras em uma peneira de malha de 2 mm para uniformidade de todo o material (Figura 8). As amostras assim obtidas foram armazenadas em refrigerador, na temperatura de -4°C .



Figura 8. Peneira com granulometria de 2 mm

Do material obtido com endosperma (mistura da parte interna da semente com óleo)

UFCC - BIBLIOTECA

durante a prensagem, foram separados o óleo e o farelo por extração em sistema de Soxhlet com hexano P.A, durante 8 horas, de forma intermitente (Figura 9). Para a extração foram usadas bateladas com cerca 15g de material do endosperma mais óleo.



Figura 9. Conjunto de extratores de Soxhlet

Depois do processo de extração do óleo obtiveram o farelo e o óleo e desta forma, quatro produtos foram produzidos; uma massa pastosa, que constitui o material do endosperma das sementes com excesso de óleo, a torta, o óleo e o farelo (Figura 10).



Figura 10. Coprodutos obtidos com as sementes de mamona

Em seguida às amostras obtidas foram adicionados NaCl e Ca(OH)₂ na proporção de 4 % (m/ m) para tratamento de detoxicação (ANANDAM et al., 2005). Cada unidade amostral foi composta de 10 g de torta ou farelo de mamona; após a adição dos tratamentos químicos, foram adicionados 140 µL de água destilada; em seguida, as amostras permaneceram 8 h em repouso após o que foram colocadas em uma estufa de circulação de ar durante 14 h, a temperatura de 33 °C.

3.6 Análise por espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS)

Para a análise exploratória e classificação da torta de mamona submetida a diferentes tratamentos de detoxificação realizaram-se medidas de reflectância no infravermelho próximo. Os espectros foram obtidos por meio do espectrômetro XDS *near-infrared Rapid ContentTM Analyser* da FOSS Analytical (Figura 11).



Figura 11. Espectrofotômetro XDS *near-infrared Rapid ContentTM Analyser* da FOSS Analytical

Antes da obtenção dos espectros todas as amostras foram submetidas, de forma sistemática, ao mesmo processo de preparo, diferenciando-se apenas pelo tratamento de detoxificação (ANANDAM et al., 2005). Os espectros foram obtidos de um conjunto de 10 amostras (com e sem aquecimento para a cultivar BRS Paraguaçu – primeira etapa) e 15 amostras (sem aquecimento para as cultivares BRS Nordestina, BRS Energia e BRS Paraguaçu – segunda etapa) com três repetições para cada unidade experimental, respectivamente. A construção dos modelos de análise exploratória requereu as seguintes etapas: faixa espectral de 400 a 2500 nm e resolução de medida 0,5 nm com três repetições autênticas de leitura para cada unidade experimental. Como ferramentas de pré-processamento dos espectros, foi aplicada a técnica do algoritmo de Savitzky-Golay (janela de 11 pontos) com primeira derivada e ajuste por polinômio de 2^a ordem.

3.7 Análises Quimiométricas

As análises quimiométricas foram executadas no software Unscrambler® 9.8 da

CAMO, com a finalidade de modelar e prever as variáveis físicas e químicas a partir de seus espectros na região de 400 a 2500 nm. A partir dos sinais obtidos foram empregadas técnicas multivariadas de reconhecimento de padrão não supervisionado (PCA), para análise exploratória, e supervisionado (SIMCA), para classificação.

3.8. Distribuição das classes em relação aos tratamentos experimentais

Os experimentos foram realizados em duas etapas: na primeira etapa foram usadas 180 amostras de torta e farelo de mamona da variedade BRS Paraguaçu para análise exploratória e otimização dos modelos quimiométricos; cada classe, num total de 18, foi constituída de 10 amostras; a classe ou grupo de amostras sem tratamento de detoxificação, representa o controle positivo considerando-se a presença de ricina. A Tabela 3 detalha o esquema utilizado em relação às amostras e tratamentos empregados.

Tabela 3. Tipos de tratamento de detoxificação incluindo-se amostras com aquecimento

TRATAMENTO	TORTA		FARELO	
CONTROLE POSITIVO	<i>Torta in natura</i>		<i>Farelo in natura</i>	
ABREVIATURA =	AMB-IN		FARELO-IN	
QUÍMICO	<i>Torta in natura com cal</i>	<i>Torta in natura com sal</i>		
ABREVIATURA =	AMB-CAL	AMB-SAL	FARELO-CAL	FARELO-SAL
TÉRMICO	Torta obtida a 40, 60, 80 e 100 °C			
ABREVIATURA =	40-IN, 60-IN, 80-IN e 100-IN			
QUÍMICO +TÉRMICO	Cal + temperaturas de 40, 60, 80 e 100 °C Sal + temperaturas de 40, 60, 80 e 100 °C			
ABREVIATURA =	40-CAL, 60-CAL, 80-CAL, 100-CAL 40-SAL, 60-SAL, 80-SAL, 100-SAL			

As abreviaturas das amostras são descritas a seguir:

- **AMB** - Torta obtida a temperatura ambiente, sem aquecimento das sementes
- **IN** – Torta ou farelo sem aplicação de tratamento térmico ou químico;
- **40** - Torta prensada com aquecimento de 40 °C;
- **60** - Torta prensada com aquecimento de 60 °C;
- **80** - Torta prensada com aquecimento de 80 °C;
- **100** - Torta prensada com aquecimento de 100 °C;
- **FARELO** - Obtido por extração em sistema Soxhlet;

- **CAL** - Torta com aplicação de Ca(OH)_2 na concentração de 4 % (m/m);
- **SAL** - Torta com aplicação do NaCl na concentração de 4 % (m/m).

Na segunda etapa foram utilizadas 630 amostras, as quais foram distribuídas em 42 classes com 15 unidades experimentais cada uma e constituídas de três variedades de mamona (BRS Nordestina, BRS Energia e BRS Paraguaçu). Utilizaram-se dois tratamentos químicos, através de NaCl e Ca(OH)_2 comerciais, em três níveis de concentração; as amostras representadas pelo controle positivo para cada cultivar formaram três classes sem aplicação de Ca(OH)_2 ou NaCl; nesta etapa as amostras de torta foram obtidas sem aquecimento das sementes e não se usaram amostras de farelo. Nas Tabelas 5, 6 e 7, estão discriminados os tratamentos por cada classe de amostras.

Tabela 4. Distribuição dos tratamentos químicos por classe de amostras de torta sem mistura do endosperma da semente (total de 18 classes)

VARIÉDADES	BRS Nordestina			BRS Energia			BRS Paraguaçu		
ABREVIATURA	N			E			P		
TRATAMENTO QUÍMICO	NaCl	Ca(OH)_2		NaCl	Ca(OH)_2		NaCl	Ca(OH)_2	
ABREVIATURA	S	C		S	C		S	C	
CONCENTRAÇÃO % (m/ m)	1	2	4	1	2	4	1	2	4
ABREVIATURA	C1	C2	C3	C1	C2	C3	C1	C2	C3
MATERIAL	Torta			Torta			Torta		
	T			T			T		

Tabela 5. Distribuição dos tratamentos químicos por classe de amostras de torta com mistura do endosperma da semente (total de 18 classes)

VARIETADES	BRS Nordestina			BRS Energia			BRS Paraguaçu		
ABREVIATURA	N			E			P		
TRATAMENTO QUIMICO	NaCl	Ca(OH) ₂		NaCl	Ca(OH) ₂		NaCl	Ca(OH) ₂	
ABREVIATURA	S	C		S	C		S	C	
CONCENTRAÇÃO % (m/ m)	1	2	4	1	2	4	1	2	4
ABREVIATURA	C1	C2	C3	C1	C2	C3	C1	C2	C3
MATERIAL	Torta			Torta			Torta		
	T			T			T		

Tabela 6. Distribuição, por classe de amostras de torta sem tratamento químico com e sem mistura do endosperma da semente (total de 6 classes)

VARIETADES	BRS Nordestina		BRS Energia		BRS Paraguaçu	
AMOSTRA	N		E		P	
ABREVIATURA	TN	TMN	TE	TME	TP	TMP

As abreviaturas das amostras por classe estão descritas a seguir:

- C1 - Concentração de Ca(OH)₂ ou NaCl a 1% (m/m);
- C2 - Concentração de Ca(OH)₂ ou NaCl a 2% (m/m);
- C3 - Concentração de Ca(OH)₂ ou NaCl a 3% (m/m);
- S - Com adição de NaCl;
- C - Com adição de Ca(OH)₂;
- N - Variedade BRS Nordestina;
- E - Variedade BRS Energia;
- P - Variedade BRS Paraguaçu;
- T - Torta de mamona *in natura* (controle positivo);

-
- TN – Torta de mamona Nordestina;
 - TMN – Torta de mamona Mista Nordestina;
 - TE – Torta de mamona Energia;
 - TME – Torta de mamona Energia;
 - TP – Torta de mamona Paraguaçu;
 - TMP – Torta de mamona Mista Paraguaçu.

4.RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Modelagem quimiométrica na região do infravermelho próximo com torta e farelo de mamona submetidos a tratamentos químico e térmico

4.1.1 Espectros de reflectância de 400 a 2500 nm e pré-tratamento dos espectros

Todas as variáveis espectrais foram dispostas em colunas, totalizando 4200, conforme planilha de dados do software Unscrambler 9.8.

Os espectros brutos obtidos na região de 400 a 2500 nm para os tratamentos com torta e farelo da cultivar BRS Paraguaçu referentes a primeira etapa deste trabalho podem ser observados na Figura 12.

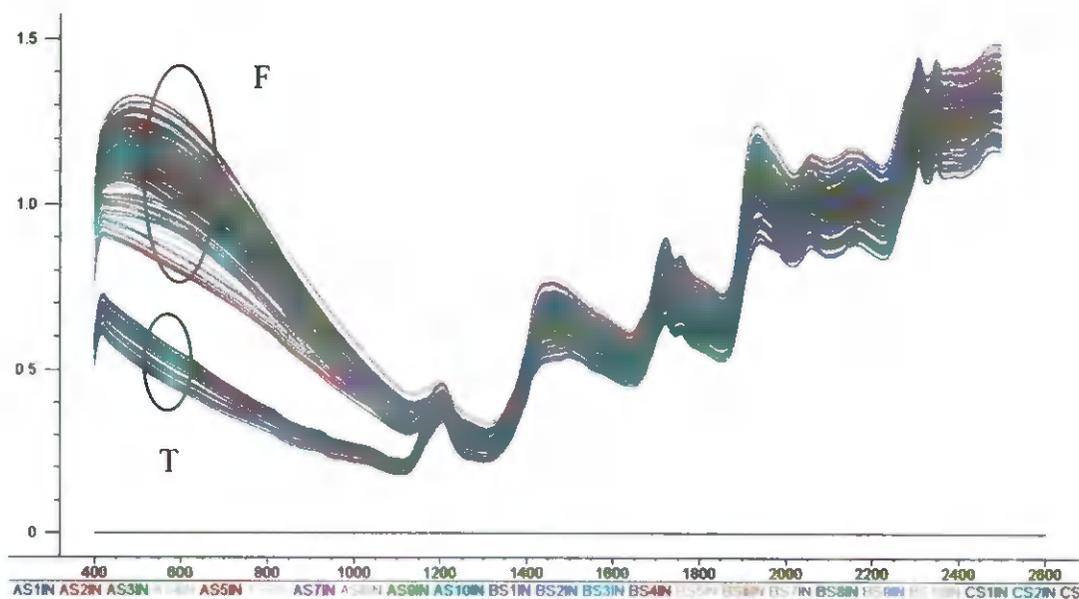


Figura 12. Espectros na região 400 a 2500 nm de todos os tratamentos. F = amostras de farelo de mamona e T = amostras de torta de mamona

Observa-se a separação de dois grupos distintos na região de 400 a 1100 nm. Esses dois grupos são referentes as amostras de farelo (F) e de torta de mamona (T); a partir de 1100 nm, todos os espectros brutos desenvolvem um perfil equivalente, porém com diferenças entre as classes de amostras em regiões específicas de absorção, as quais ficam mais evidentes após pré-tratamento dos espectros com o algoritmo de Savitz-Golay usando-se janela de 11 pontos, primeira derivada e ajuste de polinômio de segunda ordem.

Como se observa na Figura 13, os espectros pré-processados são alinhados em

relação à linha de base e à distribuição das amostras e adquirem uma discriminação melhor em relação às variáveis que constituem os espectros.

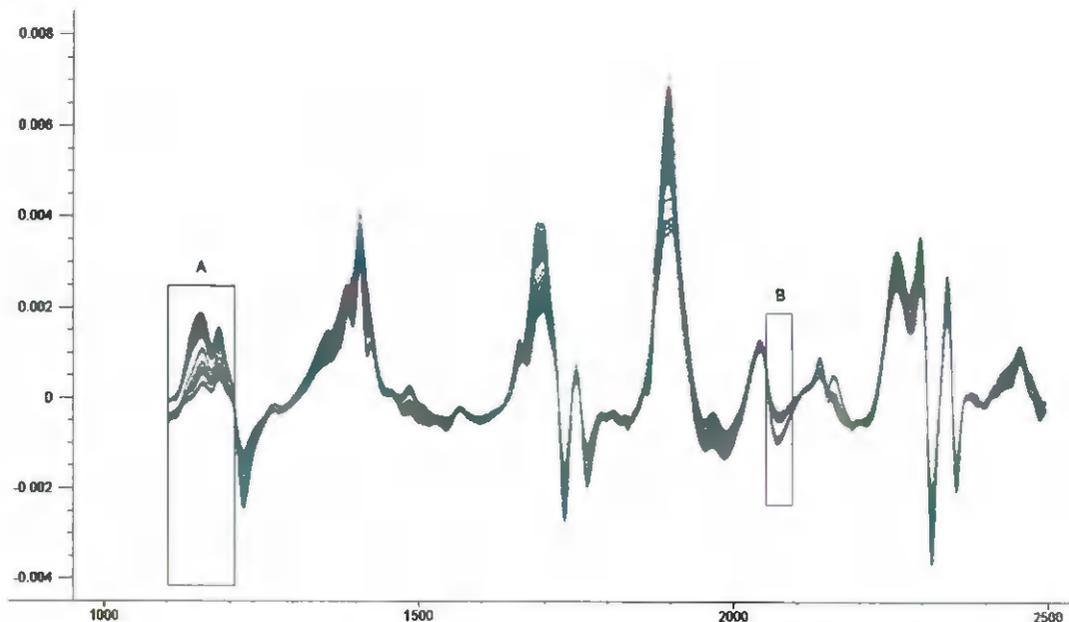


Figura 13. Espectros derivativos (Savitz-Golay usando-se 1ª derivada e ajuste com polinômio de 2ª ordem) na região 1100 a 2500 nm para os tratamentos químico e térmico da variedade BRS Paraguaçu

Destaca-se que nas regiões A e B da Figura 13, ocorrem separações dos tratamentos em relação à torta e ao farelo de mamona (BRS Paraguaçu); na região A, separa-se o tipo de processo de detoxificação (químico e térmico das amostras do controle positivo) e na região B os espectros se distinguem quanto ao tipo de matriz (farelo e torta); a região A é característica do segundo sobreton de vibrações moleculares dos grupos funcionais SH, CH, CH₂ e CH₃.

Em uma análise mais detalhada da região A (1100 a 1200), é possível observar a separação dos tratamentos com maior facilidade (Figura 14).

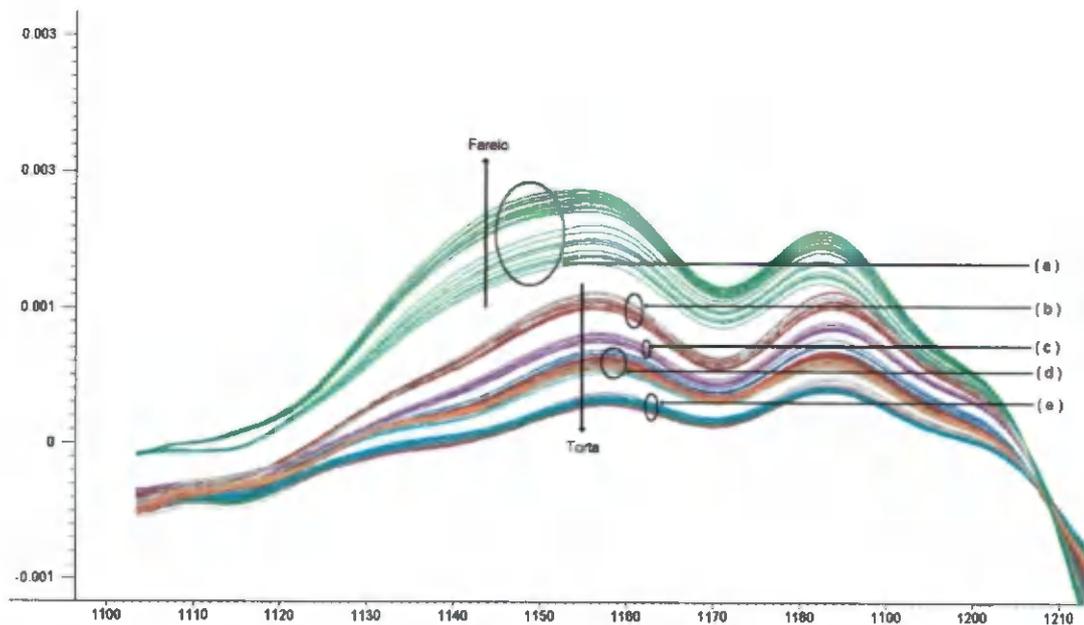


Figura 14. Espectros derivativos (Savitz-Golay usando-se 1ª derivada e ajuste com polinômio de 2ª ordem,) na região 1100 a 1200 nm de todos os tratamentos por agrupamento de amostras: **(a)** Farelo tratado com NaCl (cor verde escuro) e com Ca(OH)₂ (cor verde claro); **(b)** Torta sem tratamento (cor cinza – parte superior) e torta tratada com NaCl (cor marrom); **(c)** Torta tratada com Ca(OH)₂ (cor roxa); **(d)** Torta tratada com NaCl nas temperaturas de 40, 60, 80 e 100°C (cores azul, vermelha, laranja e azul mais claro) e **(e)** Torta tratada com Ca(OH)₂ nas temperaturas de 40, 60, 80 e 100°C (cores cinza, azul verde e laranja)

4.1.2 Análise de componentes principais (PCA) dos espectros originais

Na PCA dos espectros originais de 1100 a 2500 nm (Figura 15) são discriminados os tratamentos realizados com torta e farelo para a cultivar BRS Paraguaçu, ao longo da PC1 e PC2, com 97% de variância explicada. No eixo da PC1 observa-se a distinção entre as amostras tratadas com NaCl e Ca(OH)₂ com e sem tratamento térmico. As amostras tratadas apenas com NaCl e Ca(OH)₂ estão localizadas na extremidade direita dos escores positivos, enquanto as amostras combinando tratamento térmico e químico estão posicionadas no sentido negativo dos escores, ao longo da PC1. É necessário destacar que as amostras com tratamento de 80 e 100 °C estão na extremidade esquerda da PC1; a PC1 também separa dois agrupamentos relacionados à torta e ao farelo.

Ainda na Figura 15, se observa a separação dos tratamentos com NaCl e Ca(OH)₂ ao longo da PC2; os tratamentos com Ca(OH)₂ se localizam para o sentido dos escores negativos, ao longo da PC2, fato que pode evidenciar maior proporção de inativação da ricina separando-os dos tratamentos com NaCl; a combinação dos tratamentos com NaCl e térmico, permite que as amostras adquiram distribuição semelhante àquelas tratadas com

Ca(OH)₂; além do mais, a associação desse tratamento com temperatura permite um deslocamento maior no sentido negativo dos escores.; o aumento de temperatura também desenvolve um efeito na direção dos escores negativos, os quais estão relacionados ao efeito dos tratamentos com os agentes químicos empregados.

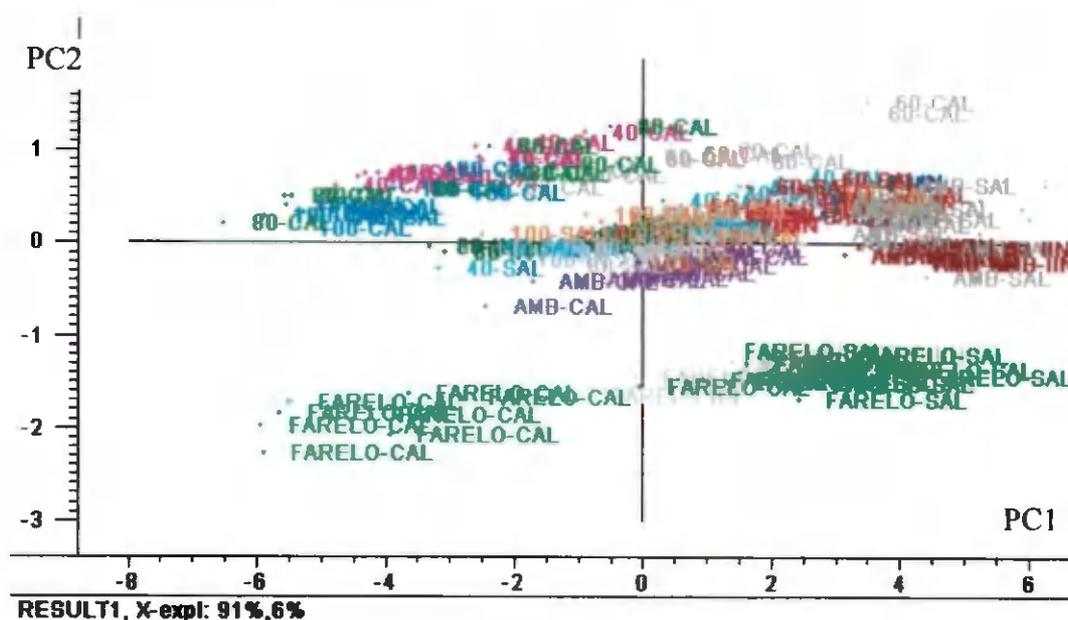


Figura 15. Gráfico da PCA usando-se os espectros originais na região 1100 a 2500 nm (2787 variáveis) para a variedade BRS Paraguaçu

Comparando o agrupamento das amostras de controle positivo (AMB-IN), ou seja, as amostras sem tratamento químico ou térmico com os demais tratamentos, pode-se inferir que as amostras com maior proximidade a essas são aquelas tratadas com NaCl; os outros agrupamentos se distinguem com maior separação para aqueles tratados Ca(OH)₂ e nas temperaturas de 80 e 100 °C.

Segundo Anandan et al. (2005), no tratamento da torta de mamona com 4 % (m/m) de Ca(OH)₂ foram verificados 100% de detoxicação de ricina. Em cuja concentração as amostras estão distribuídas no centro do gráfico dos escores; as amostras tratadas com NaCl e aquecimento nas temperaturas de 40 a 100 °C, são as que mais se aproximam do tratamento considerado.

No gráfico da variância explicada, duas PCs descrevem 97% dos espectros das amostras em relação aos tratamentos na PCA (Figura 16); com 91% ao longo da PC1 e 6% ao longo da PC2 a partir da combinação linear de 2787 variáveis; neste caso, correspondentes aos comprimentos de onda na região espectral de 1100 a 2500 nm.

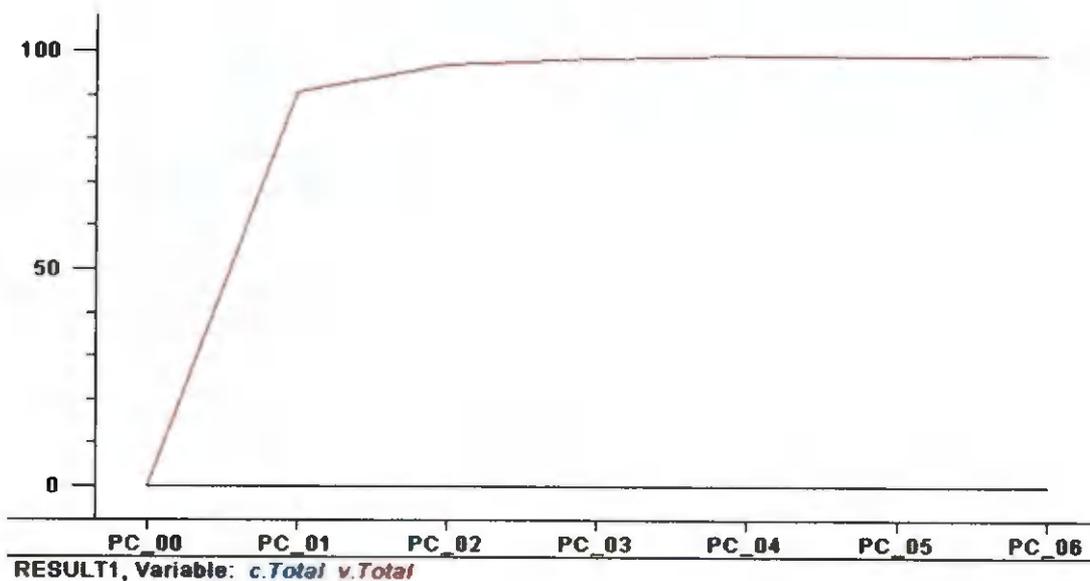


Figura 16. Gráfico da variância explicada pelo número de PCs do modelo PCA

4.1.3 Análise de componentes principais (PCA) dos espectros com correção de Savitz-Golay (janela de 11 pontos), primeira derivada e ajuste com polinômio de segunda ordem

Com a seleção da região de 1100 a 1220 nm dos espectros originais e pré-processamento dos espectros originais, uma nova PCA com validação cruzada foi efetuada (Figura 17)

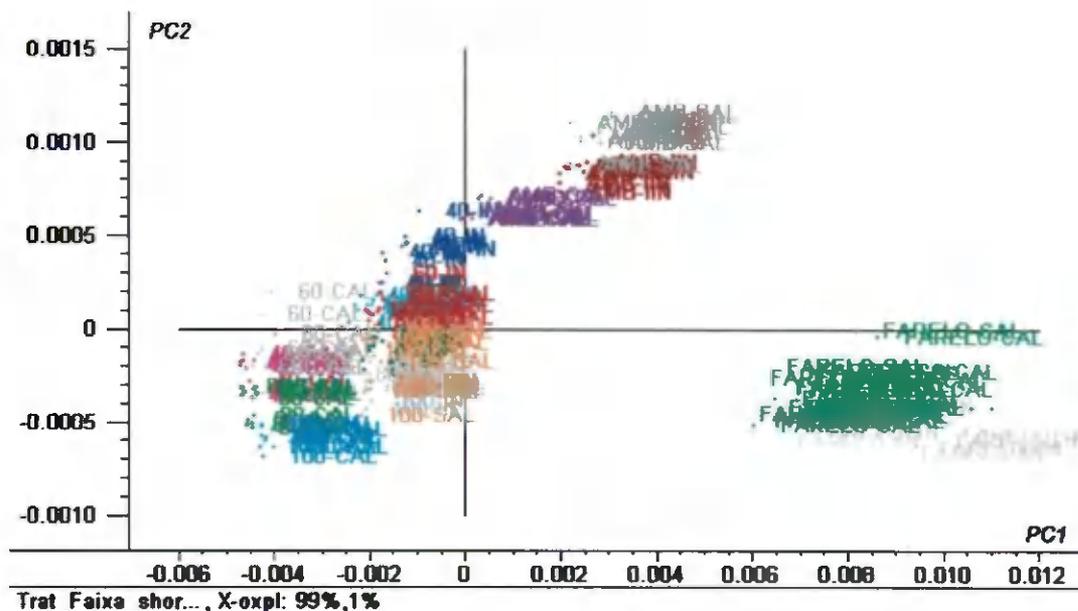


Figura 17. Gráfico dos escores com pré-processamento dos espectros na região de 1100 a 1220 nm (199 variáveis)

Na Figura 17, se visualizam os agrupamentos das amostras de torta e farelo de mamona tratadas, os quais se distinguem com maior desempenho de variância explicada (99,8%) para duas componentes principais (PC1 vs PC2). Os resultados obtidos permitem constatar a separação dos tratamentos ao longo da PC1. No sentido dos escores negativos aos positivos, evidencia-se a separação das amostras que foram submetidas aos tratamentos; a) NaCl e Ca(OH)₂ nas temperaturas de 40, 60, 80 e 100 °C e b) NaCl e Ca(OH)₂ e amostras sem tratamento (controle positivo); além disso, há uma separação para as amostras de farelo das de torta.

Considerando o gráfico dos escores da Figura 17, as amostras tratadas com NaCl (AMB-SAL) em comparação com as amostras controle positivo (AMB-IN), se distinguem parcialmente entre si, ou seja, tendem a formar um único agrupamento, sendo que uma amostra tratada com NaCl se posicionou no conjunto das amostras controle positivo e duas amostras controle positivo ficaram posicionadas dentro do agrupamento das amostras tratadas com NaCl.

Na Figura 17, devido à formação de muitos agrupamentos, algumas amostras se confundem como numa única classe. Vale considerar as amostras de farelo em que, ampliando o gráfico dos escores na região dessas amostras, as mesmas estão separadas quanto ao processo de detoxificação (Figura 18). As amostras tratadas com NaCl se separam das amostras com Ca(OH)₂ e daquelas sem tratamento, consideradas amostras de controle positivo, ou seja, não foram tratadas e, portanto, com provável presença de ricina. Além disso, amostras sem tratamento (Farelo IN) tendem a se agrupar com as amostras tratadas com NaCl quando comparadas com aquelas as quais foi adicionado Ca(OH)₂. Com efeito, no eixo da PC1 os tratamentos com Ca(OH)₂ também possuem uma separação relevante em relação ao NaCl, nas concentrações em que foram utilizadas.



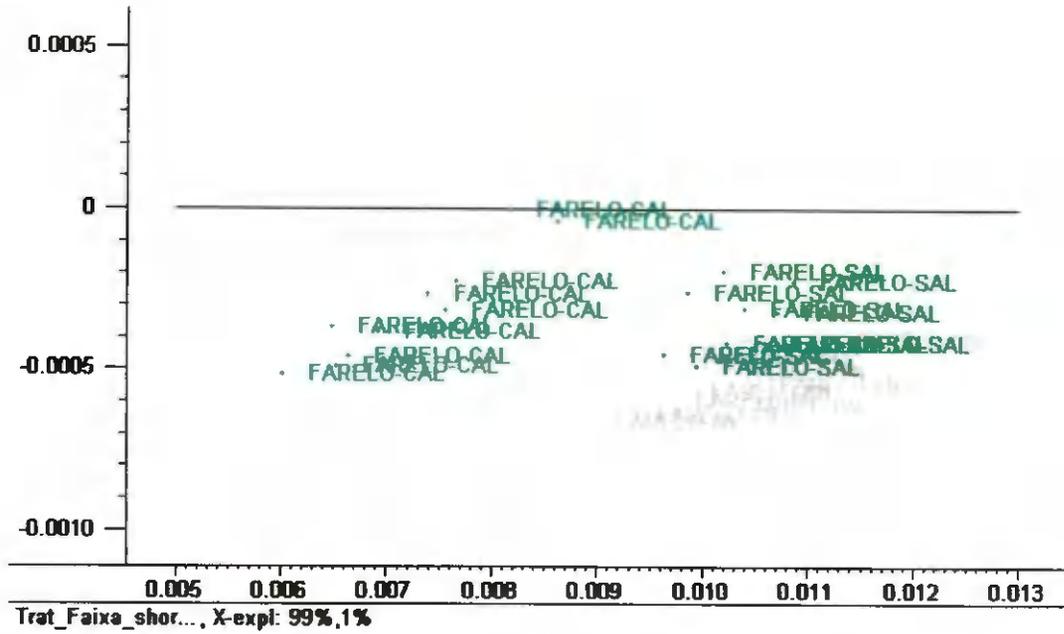


Figura 18. Gráfico dos escores ampliado na região das amostras de farelo de mamona

Pode-se obter, na Figura 19, as mesmas considerações feitas em relação ao farelo de mamona sem o efeito do tratamento térmico em relação às amostras de torta; o grupo formado pelas amostras com adição de Ca(OH)_2 (AMB-CAL), é distinto do grupo formado pelas amostras de controle positivo (AMB-IN) com as amostras que foram tratadas com NaCl (AMB-SAL).

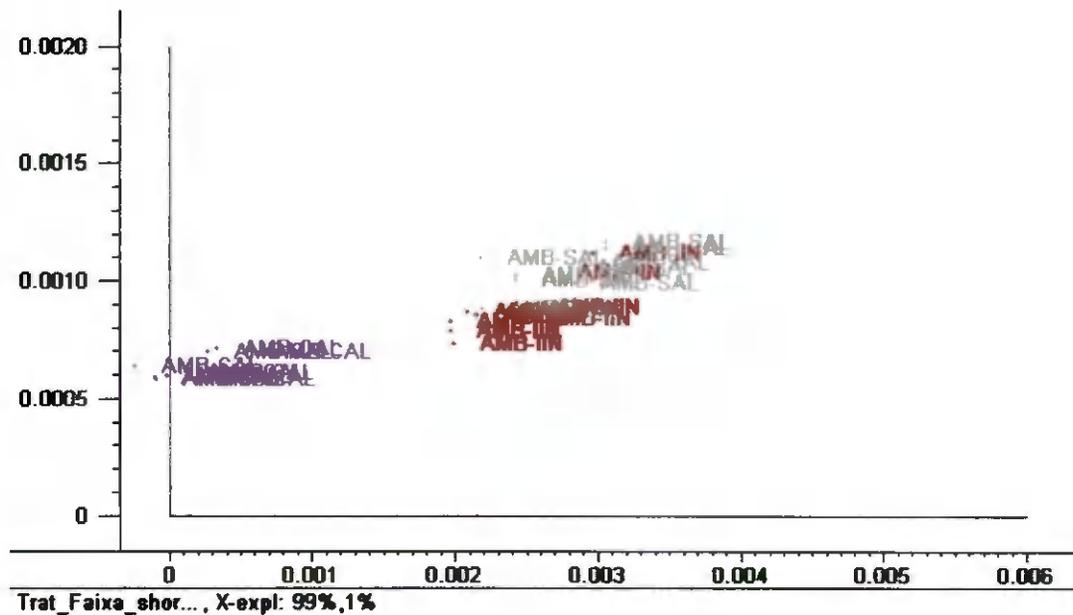


Figura 19. Gráfico dos escores, ampliado na região das amostras da torta de mamona

Outra consideração se refere ao efeito da temperatura sobre o agente químico, o qual possui uma resposta positiva com relação aos valores dos escores; dessa forma, modelos de calibração multivariada poderão ser desenvolvidos, posteriormente para predição de ricina.

O gráfico dos *loadings*, também denominado pesos, da PCA com pré-tratamento dos espectros na região de 1100 a 1220, é uma ferramenta de diagnóstico que facilita a identificação das variáveis mais significativas do modelo; na Figura 20 os comprimentos de onda de 1146 nm em (a) e de 1181 nm em (b) são as variáveis relevantes mais representativas (maior peso) no modelo PCA, as quais são variáveis para a construção de modelos mais simples, com poucas variáveis.

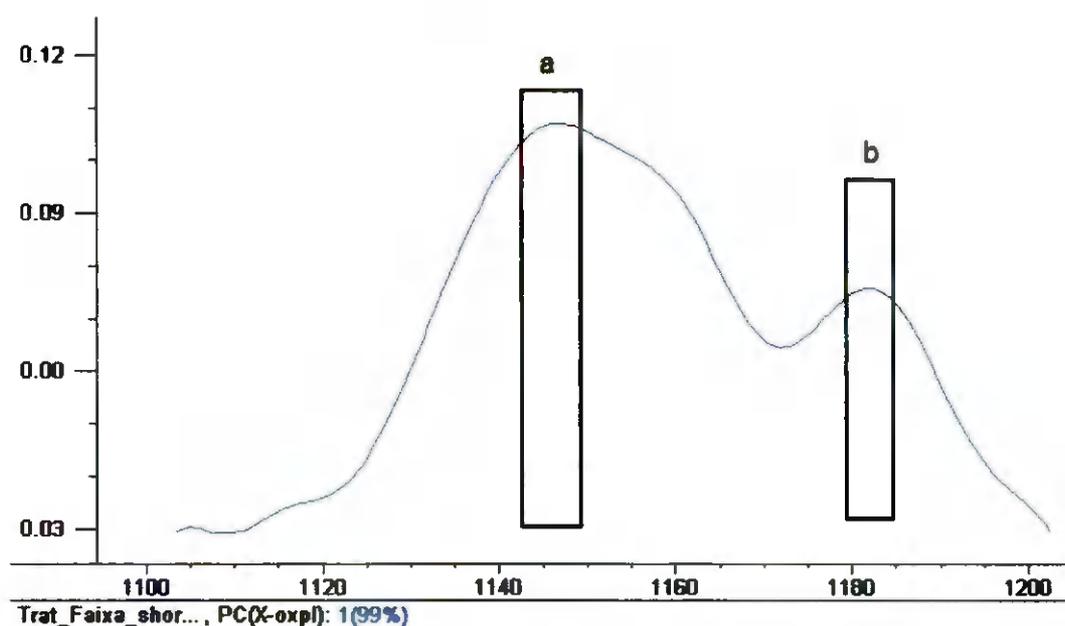


Figura 20. Gráfico dos escores a partir da seleção de variáveis 1146 e 1181 nm

A partir da seleção das variáveis 1146 e 1181 nm, calculou-se uma nova PCA, com a intenção de simplificar o procedimento de análise exploratória; o gráfico dos escores (Figura 21) é análogo aos resultados da Figura 17, obtido com 199 variáveis.

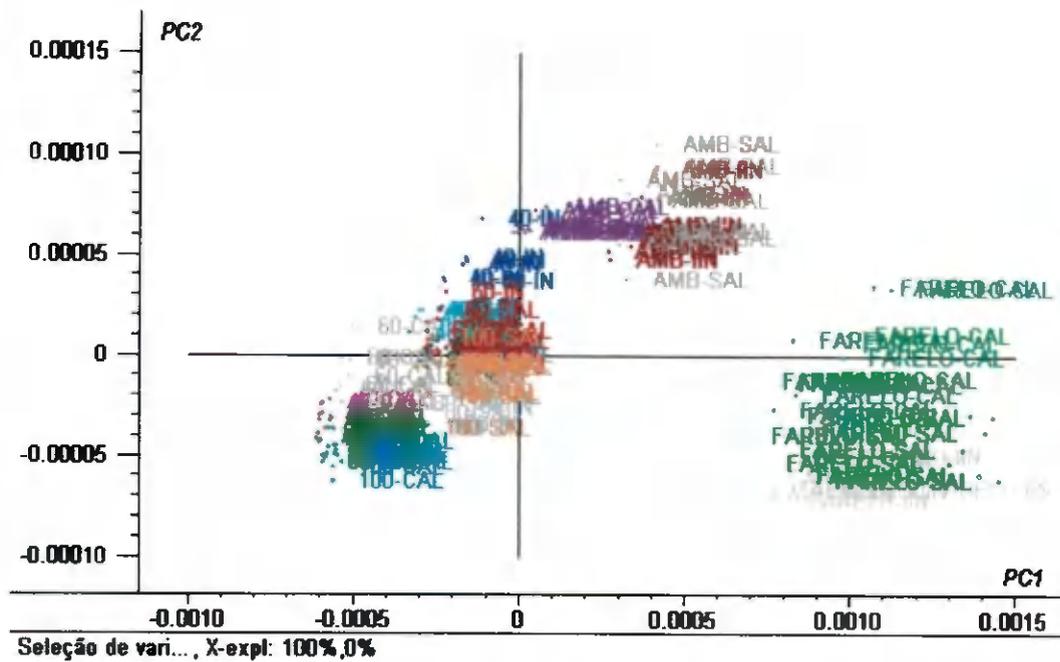


Figura 21. Gráfico dos escores a partir da seleção de variáveis 1146 e 1181 nm

É importante observar que em duas PCs (PC1 vs PC2), a variância explicada foi maior (100%) fornecendo resultados similares aos obtidos anteriormente (Figura 22).

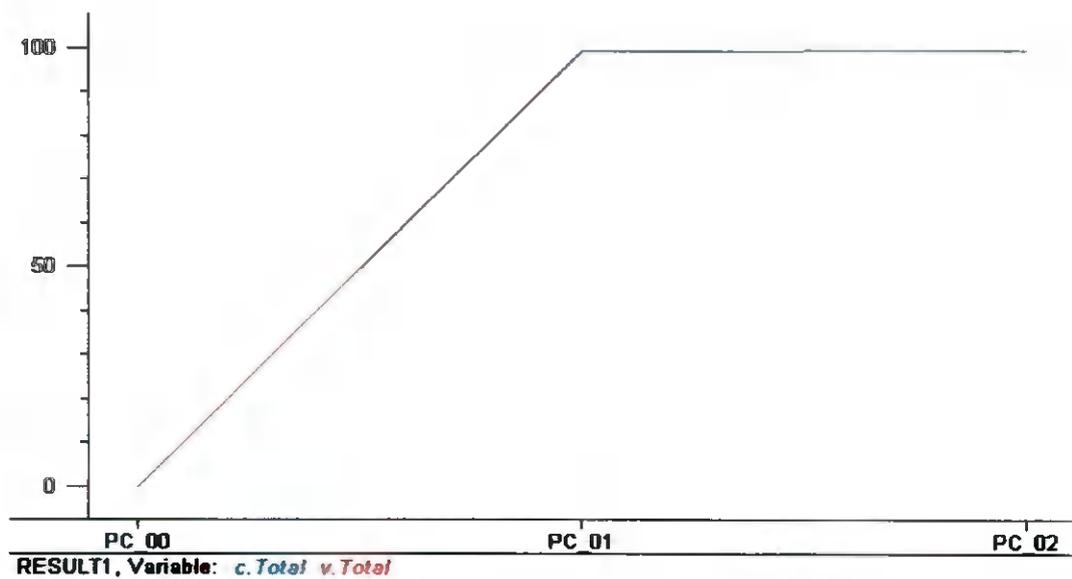


Figura 22. Gráfico da variância explicada pelo número de PCs

Outra vantagem da seleção de variáveis é facilitar a escolha de comprimentos de onda representativos para o desenvolvimento de equipamentos de bancada ou portáteis, com baixo custo. Neste contexto, fontes monocromáticas na região espectral de 1146 a 1181 nm disponíveis no comércio, poderão ser empregadas no desenvolvimento de fotômetros à base de LED, com bom desempenho e baixo custo (GAIÃO et al., 2005).

De forma geral, e se considerando o trabalho de Anandan et al. (2005), para amostras de torta tratadas com NaCl e Ca(OH)₂ a 4% (m/m), as quais resultaram em 100 e 91 % de inativação de ricina, respectivamente, para esses casos, os resultados deste trabalho com análise exploratória por PCA na região de 1100 a 1200 nm foram adequados para análise exploratória visando à classificação de amostras detoxificadas de amostras contaminadas com ricina; evidenciando o potencial da espectroscopia NIR e da análise multivariada para o desenvolvimento de modelos de reconhecimento de padrão supervisionados do tipo SIMCA (modelagem independente por analogia de classes).

4.1.4 Modelagem independente por analogia de classes - SIMCA

O modelo supervisionado SIMCA foi desenvolvido com base nos modelos de PCA realizados com amostras consideradas tóxicas (AMB + AMB SAL). Utilizaram-se duas ferramentas de diagnóstico, na verificação dos modelos desenvolvidos: 1) gráfico da variância explicada *versus* número de PCs e 2) gráfico dos escores. A determinação do número de variáveis latentes é fator preponderante na avaliação da capacidade preditiva dos modelos; assim, os gráficos a seguir (Figuras 23 e 24) para as classes consideradas tóxica e detoxificada foram construídos para esta finalidade.

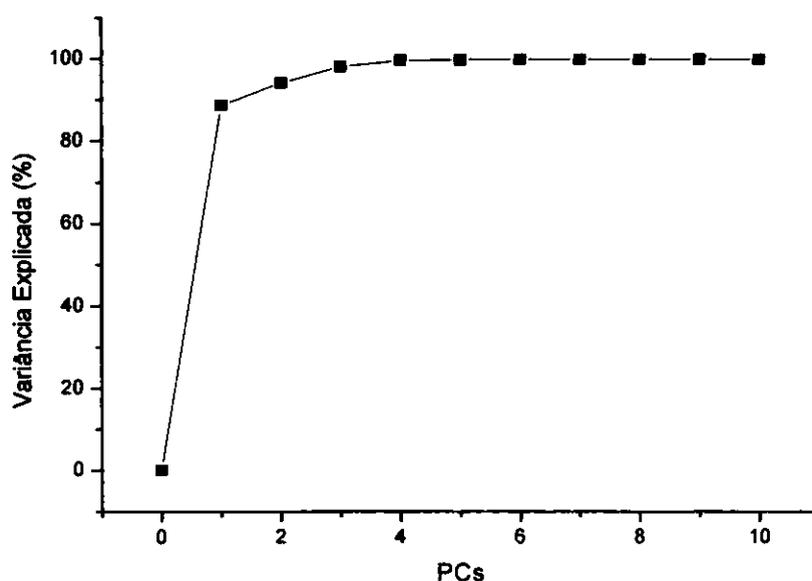


Figura 23. Gráfico da variância explicada versus número de PCs da classe de amostras de torta de mamona considerada tóxica

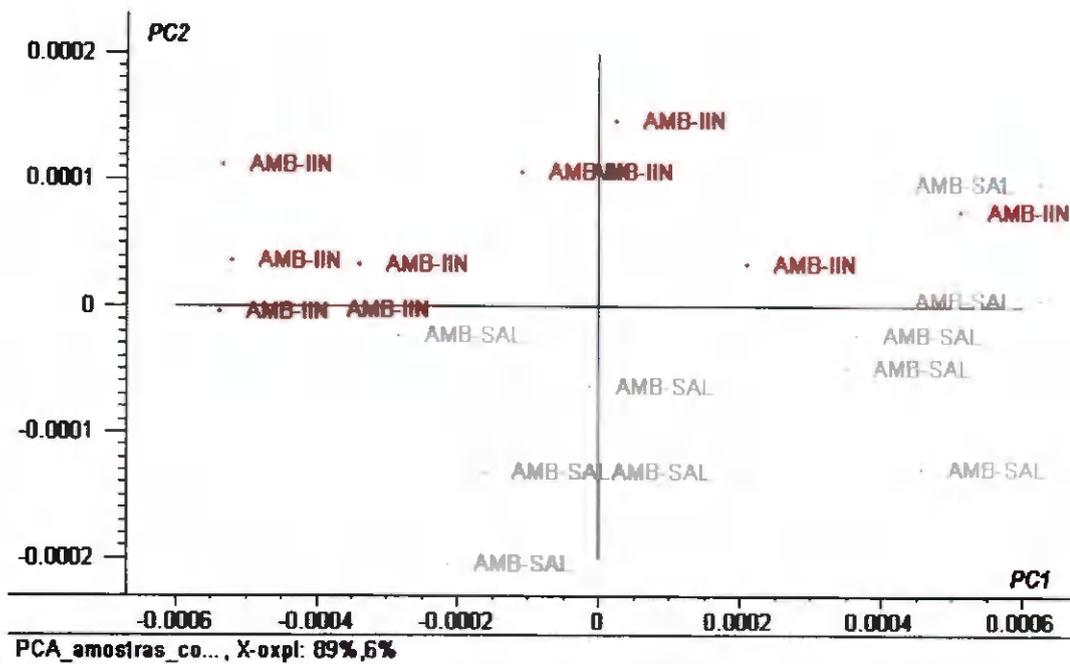


Figura 24. Gráfico dos escores para a classe de amostras consideradas tóxicas

Para o modelo PCA com validação cruzada da classe de amostras consideradas tóxicas, a variância explicada com duas componentes principais (PCs) foi de 95,0%; a partir da quarta PC, a variância foi superior a 99%, o denotando que, com quatro PCs, não houve aumento significativo da variância explicada nem diminuição da variância residual.

4.1.4.1 Validação dos modelos SIMCA

A validação do modelo SIMCA foi realizada com o gráfico $S_i \times H_i$; nesta etapa, avaliou-se a capacidade preditiva de classificação do modelo para a classe de amostras consideradas tóxicas.

O gráfico $S_i \times H_i$ para validação da classe de amostras consideradas tóxicas (não detoxificada), é observado na Figura 25, o nível de probabilidade de 95% foi empregado na construção do modelo.

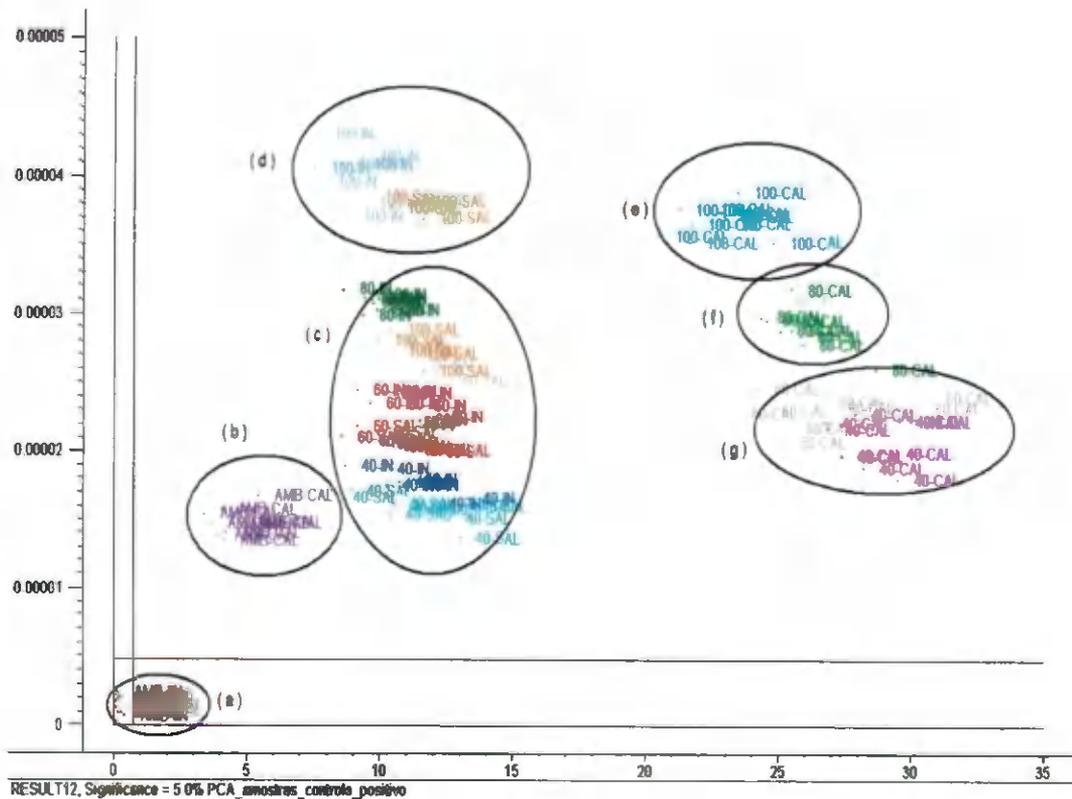


Figura 25. Gráfico Si x Hi para a classe de araostros consideradas tóxicas; **(a)** amostras controle e amostras tratadas com NaCl; **(b)** amostras tratadas com $\text{Ca}(\text{OH})_2$; **(c)** e **(d)** amostras tratadas com NaCl nas temperaturas de 40, 60, 80 e 100 °C; **(e)** araostros tratadas com $\text{Ca}(\text{OH})_2$ na temperatura de 100 °C; **(f)** amostras tratadas com $\text{Ca}(\text{OH})_2$ na temperatura de 80 °C e uma amostras com NaCl na temperatura de 80 °C; **(g)** amostras tratadas com $\text{Ca}(\text{OH})_2$ nas temperaturas de 40 e 60 °C

Na Figura 25 as amostras consideradas tóxicas foram as que não receberam tratamento químico e/ou térmico e as araostros com tratamento de NaCl em que as mesmas resultam em níveis abaixo de 100% de detoxificação; neste particular, Anandan et al. (2005), consideram essas amostras tóxicas porque ocorreu um nível de detoxificação de 91%.

Para a modelagem supervisionada SIMCA realizada nos tratamentos de torta de mamona, pode-se observar 100% na predição de amostras consideradas tóxicas de amostras não detoxificadas; a vantagem dessa estratégia é que amostras desconhecidas são analisadas de forma rápida, com segurança, restringindo a faixa espectral e do pré-processamento matemático empregado.

4.2 Modelos quimiométricos na região de 1100 a 1200 nm para torta de mamona de três cultivares submetidas a tratamento de detoxificação com NaCl e Ca(OH)₂

Constatou-se que a região do espectro de infravermelho próximo mais relevante para construção de modelos de classificação por PCA e SIMCA de torta e farelo de mamona, está compreendida entre 1100 a 1220 nm; por outro lado, o pré-processamento matemático que forneceu os melhores resultados da análise exploratória foi o algoritmo de Savitz-Golay, usando janela de 11 pontos com primeira derivada e ajuste de polinômio de segunda ordem.

Com o exposto, foram inseridas, ao contexto deste trabalho, mais duas cultivares de mamona desenvolvidas pela Embrapa Algodão: BRS Nordestina e BRS Energia, das quais se obteve a torta; nessa etapa se optou pelo tratamento químico sem o efeito da temperatura; para cada tratamento com NaCl e Ca(OH)₂ se usaram três níveis de concentração de 1, 2 e 4% (m/m) (ANANDAM et al., 2005). Os modelos de PCA obtidos para as cultivares BRS Nordestina, BRS Energia e BRS Paraguaçu, estão descritos nas figuras a seguir.

No gráfico dos escores para a cultivar Paraguaçu observa-se que os níveis de concentração de NaCl ficaram distribuídos ao longo do eixo da PC1; os tratamentos com Ca(OH)₂ se distinguem dos de NaCl e daqueles em que a concentração de Ca(OH)₂ de 1% (m/m) se agrupa próximo aos de NaCl na concentração de 4% (m/m), conforme detalhado na Figura 26. Outra observação que merece destaque e se refere à variância explicada para as duas componentes PC1 e PC2; essas duas componentes principais ou variáveis latentes, que representam a combinação linear das variáveis originais, somam 97 % da variância total, enquanto 3 % não representam informação útil, a qual pode ser atribuído a ruído ou a outra informação físico-química intrínseca às amostras.

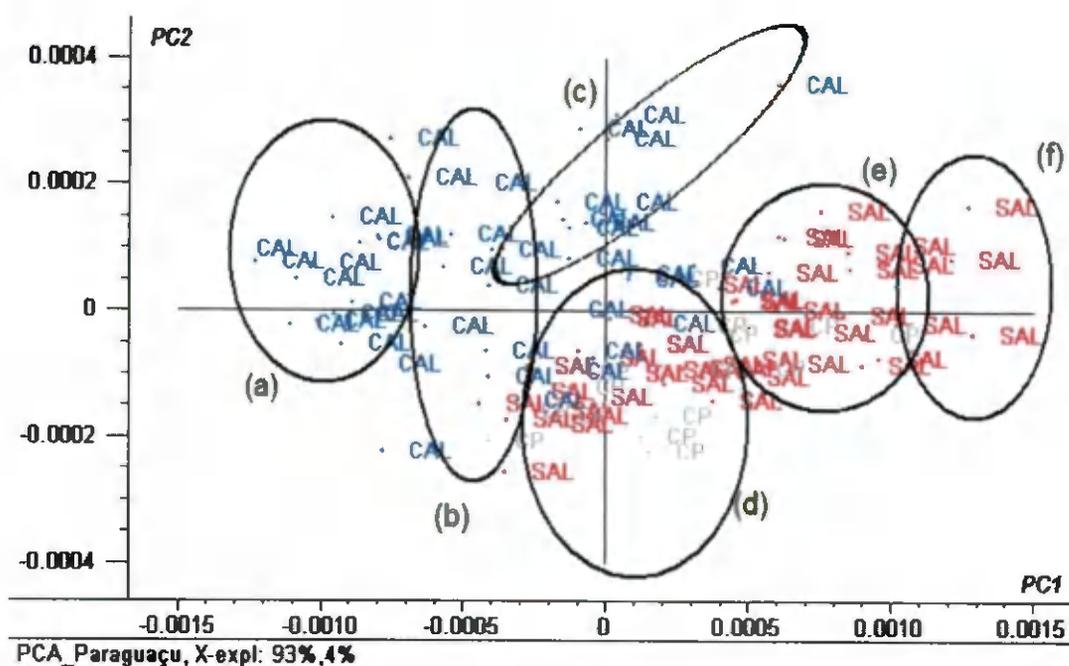


Figura 26. Gráfico dos escores PC1 vs PC2 para a torta de mamona da cultivar BRS Paraguaçu: **(a)** C3 (Ca(OH)_2) = 4% (m/m), **(b)** C2 (Ca(OH)_2) = 2 % (m/ m) + C1 (Ca(OH)_2) = 1% (m/ m), **(c)** C1(Ca(OH)_2) = 1 % (m/ m), **(d)** Controle positivo + C3 (NaCl) = 4% (m/ m) + C1 (Ca(OH)_2), **(e)** C1 (NaCl) = 2 % (m/ m) + C1 (NaCl) = 1 % (m/ m), **(f)** C1 (NaCl) = 1 % (m/ m)

O gráfico dos escores da Figura 27 permite inferir que as amostras do grupo controle (sem tratamento químico) estão inseridas dentro da classe das concentrações de 1% (m/m) de Ca(OH)_2 e 4 % (m/m) de NaCl . Segundo Anandan et al. (2005), nas concentrações de 1, 2 e 4 % (m/m) de NaCl ocorrem 82, 86 e 91 % de detoxificação da torta de mamona por período de 8 horas de contato. Para o tratamento de Ca(OH)_2 nas concentrações de 1, 2 e 4 % (m/m) foram atingidos 67, 68 e 100 de detoxificação por igual período de 8 h, o que pode ser um argumento plausível para o comportamento das amostras no gráfico dos escores, já detalhados; além disso, percebe-se que as respostas obtidas estão coerentes com os dados da literatura consultada quanto aos níveis de detoxificação atingidos principalmente em relação ao tratamento Ca(OH)_2 a 4 % (m/ m), o qual ocorreu com 100% de detoxificação (ANANDAN et al., 2005).

Observações análogas podem ser obtidas para as cultivares BRS Nordestina e BRS Energia; para a cultivar BRS Nordestina na PC1 vs Pc2, variância explicada de 99% e para a BRS Energia obteve-se, na PC1 vs PC2, variância de 97 %; por outro lado constata-se de forma objetiva maior separação das classes em relação às concentrações empregadas e amostras de controle positivo (Figuras 27 e 28).

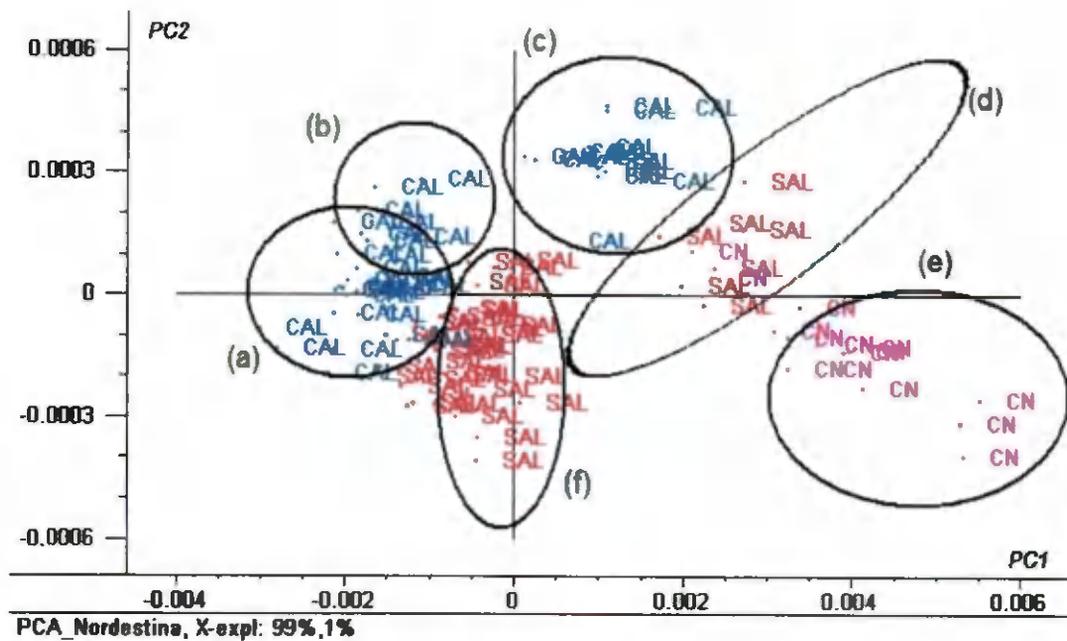


Figura 27. Gráfico escores PC1 vs PC2 para a torta de mamona da cultivar BRS Nordestina: **(a)** C3(Ca(OH)₂) = 4% (m/m) + C2 (Ca(OH)₂) = 2% (m/m), **(b)** C2 (Ca(OH)₂) = 1% (m/m), **(c)** C2 (Ca(OH)₂) = 2% (m/m), **(d)** Controle positivo + C1 (NaCl) = 1% (m/m), **(e)** Controle positivo, **(f)** C1 (NaCl) = 1% (m/m) + C2 (NaCl) = 2% (m/m) + C3 (NaCl) = 3% (m/m)

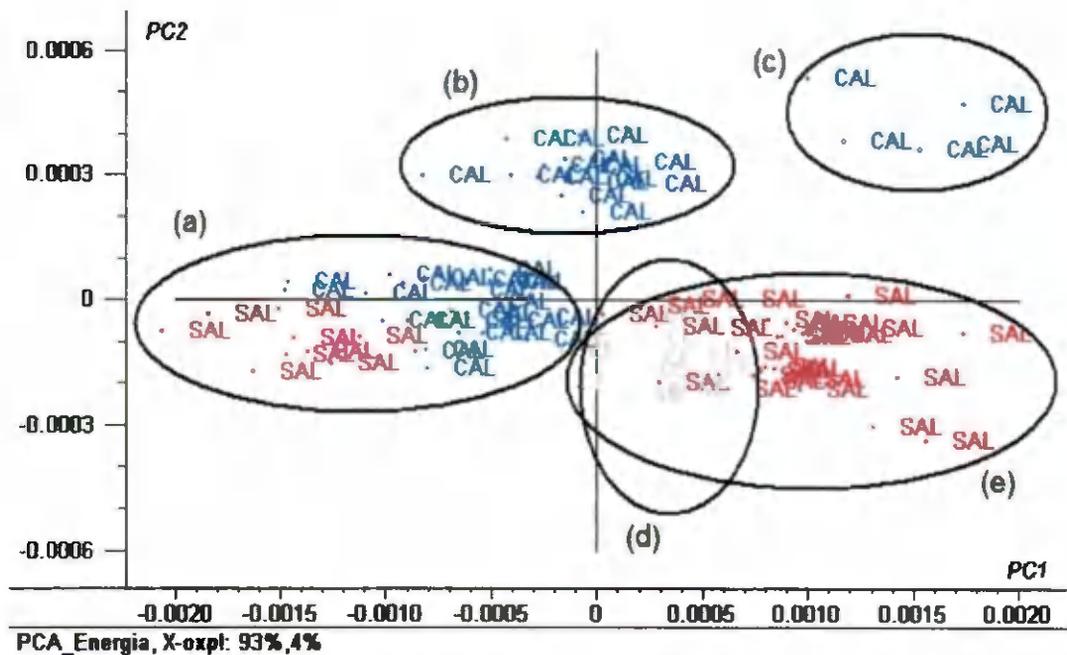


Figura 28. Gráfico escores PC1 vs PC2 para a torta de mamona da cultivar BRS Energia: **(a)** C1(Ca(OH)₂) = 1% (m/m) + C2 (Ca(OH)₂) = 2% (m/m) + C3(NaCl) = 3% (m/m), **(b)** C3(Ca(OH)₂) = 4% (m/m), **(c)** C2 (Ca(OH)₂) = 2% (m/m), **(d)** Controle positivo + C2 (NaCl) = 2% (m/m), **(e)** C1 (NaCl) = 1% (m/m) + C2 (NaCl) = 2% (m/m)

Combinando-se todas as amostras para uma PCA na região de 1100 a 1220 com os

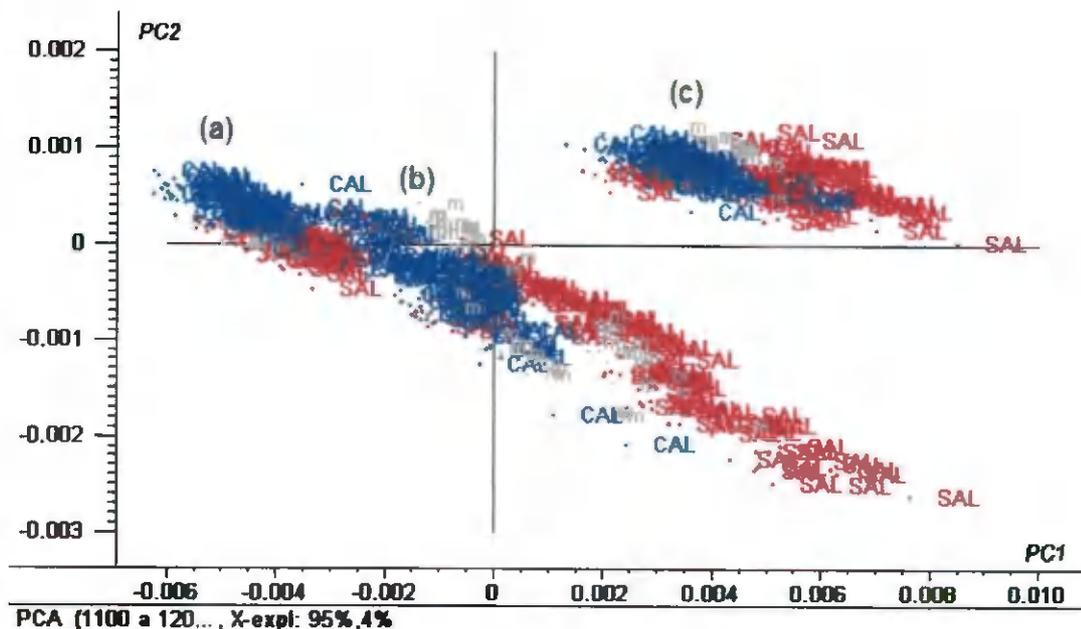


Figura 30. Gráfico dos escores das PC1 vs PC2 para a torta de mamona das cultivares BRS Nordestina, BRS Energia e BRS Paraguaçu tratadas com NaCl e Ca(OH)₂ nas concentrações de 1, 2 e 4 % (m/m). As letras (a), (b) e (c) correspondem aos tratamentos com Ca(OH)₂ e a letra *m* se refere às amostras controle de cada cultivar

O gráfico dos escores com a concentração de Ca(OH)₂ de 4% (m/m) pode ser visualizado na Figura 31; nas duas PCs (PC1 vs PC2) para as classes dessas amostras, em cada cultivar se obtém uma variância explicada de 100 %, isso significando que os dados são descritos por essas duas componentes principais; as classes das cultivares Nordestina e Paraguaçu são muito próximas, devido à semelhança fenotípica entre elas, porém se atribui que essas duas cultivares se distinguem ao longo do eixo da PC2 com formação de duas classes representativas.

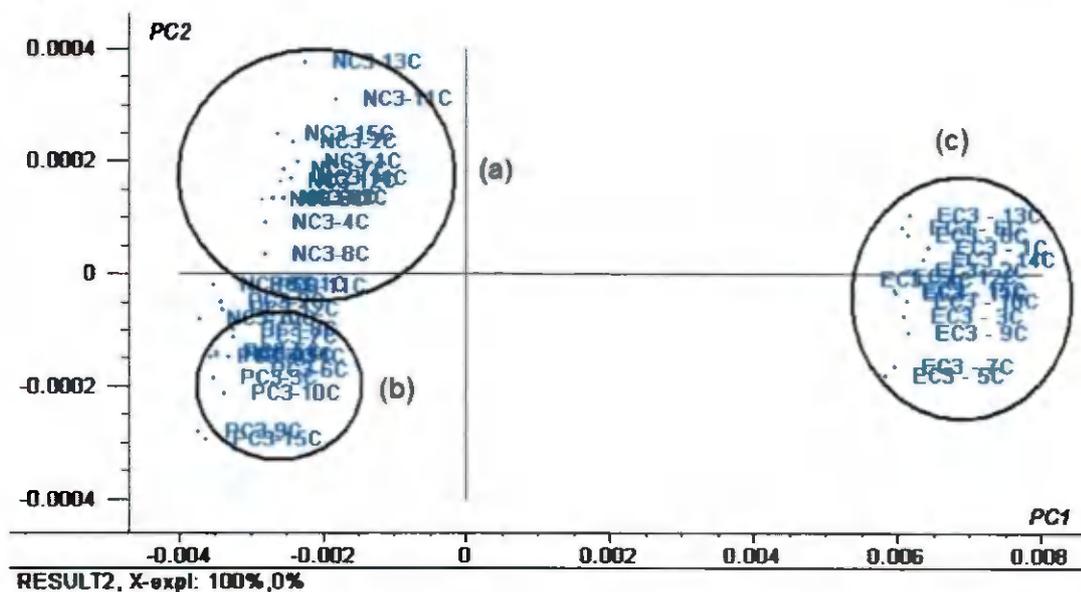


Figura 31. Gráfico dos escores das PC1 vs PC2 para a torta de mamona das

cultivares BRS Nordesteia **(a)**, BRS Paraguaçu **(b)** e BRS Energia **(c)** tratadas com Ca(OH)_2 na concentração de 4 % (m/m)

Para a modelagem supervisionada SIMCA das cultivares e tratamento de detoxificação na concentração de 4 % (m/m), será necessário construir modelos independentes para as classes BRS Nordesteia e BRS Paraguaçu e outro para a classe de BRS Energia em virtude da divergência de seus agrupamentos. O modelo SIMCA, do item 4.1.4, foi construído para a cultivar BRS Paraguaçu visando gerar subsídios para um estudo mais completo; entretanto, modelos mais robustos com esta finalidade estão em andamento para definição de métodos mais versáteis em diferentes tipos de torta de mamona. Além do mais, também se encontra, em andamento, a implementação de método para determinar o nível de detoxificação em função da concentração de ricina.

5. CONCLUSÕES

1. A região espectral de 1100 a 1220 nm após pré-processamento matemático por algoritmo Savitz-Golay com janela de 11 pontos, 1ª derivada e suavização com polinômio de 2ª ordem, permite a construção de modelos de PCA e SIMCA, para torta de mamoua;
2. Os resultados da PCA explicam mais de 95% da variância para os modelos desenvolvidos com separação das amostras aos tratamentos de detoxificação da torta e farelo de mamona (método químico e térmico);
3. Os comprimentos de onda 1146 e 1181 nm selecionados no gráfico dos *loadings* (pesos), são as variáveis mais significativas na modelagem PCA em que se obtêm resultados superiores aqueles da faixa de 1100 a 1220 nm, com 199 variáveis;
4. O modelo SIMCA para a cultivar BRS Paraguaçu com nível de 95% de probabilidade, permite 100% de classificação das amostras consideradas detoxificadas em relação aos tratamentos químico e térmico empregados;
5. As medidas de reflectância difusa na faixa de 1100 a 1220 nm, foram de caráter não destrutivo e realizadas em menos de 1 minuto sem o consumo de reagentes.

Portanto, medidas de reflectância na região de 1100 a 1220 nm e análise multivariada de reconhecimento de padrão (PCA e SIMCA), são estratégias rápidas e seguras para discriminar amostras consideradas detoxificadas com Ca(OH)_2 a 4 % (m/m) de amostras não detoxificadas.

6. RECOMENDAÇÕES DE PROPOSTAS FUTURAS

Como proposta de continuidade deste trabalho, pretende-se abordar os seguintes aspectos temáticos:

- Construir um fotômetro à base de LED e fototransistor de baixo custo e portabilidade para classificação de torta de mamona detoxificada nos comprimentos de 1146 a 1181 um;
- Estabelecer planejamentos experimentais para redução da quantidade de amostras;
- Desenvolver modelos de calibração multivariada para predição da concentração de ricina;
- Explorar outras técnicas quimiométricas para seleção de variáveis, como algoritmo das projeções sucessivas (APS);

Implementar ensaios com torta de mamona tratada em testes biológicos para validação dos métodos propostos neste trabalho

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMORIM NETO, M. S.; ARAUJO, A. E.; BELTRÃO, N. E. de M. *Clima e solo*, In: AZEVEDO, D. M. P.; LIMA, E. F. **O agronegócio da mamona no Brasil**. EMBRAPA-CNPA. Carapina Grande, PB. 2001. 350p.

ANANDAN, S.; KUMAR, G. K. A.; GHOSH, J. RAMACHANDRA, K. S. Effect of different physical and chemical treatments on detoxification of ricin in castor cake *Animal Feed. Science and Technology*, v. 120, n. 1-2, p. 159-168, 2005.

AZEVEDO, D. M. P.; LIMA, E. F.; BATISTA, F. A. S.; BELTRÃO, N. E. de M.; SOARES, J. J.; VIEIRA, R. M.; MOREIRA, J. A. N. **Recomendações técnicas para o cultivo da mamoneira (*Ricinus communis* L.) no Nordeste do Brasil**. EMBRAPA-CNPA Campina Grande, PB. Circular Técnica, 25. 1997. 52p.

AZEVEDO, D. M. P.; LIMA, E. F. **O Agronegócio da mamona no Brasil**. EMBRAPA-CNPA. Carapina Grande, PB. Brasília, 2001. 350p.

BANDEIRA, D. A.; CARTAXO, W. V.; BELTRÃO, N. E. de M. Resíduo industrial a mamona como fonte alternativa na alimentação animal. In: Congresso Brasileiro de Mamona. Campina Grande. Energia e sustentabilidade - *Anais...* Campina Grande: Embrapa Algodão, 2004.

BARNES, D. J.; BALDWIN, B. S.; BRAASCH, D. A. Degradation of ricin in castor seed meal by temperature and chemical treatment. **Industrial Crops and Products**, v. 29, p.509-515, 2009a.

BARNES, D. J.; BALDWIN, B. S.; BRAASCH, D. A. Ricin accumulation and degradation during castor seed development and late germination. **Industrial Crops and Products**, v. 30, p.254-258, 2009b.

BEEBE, K.R.; PELL, R.J.; SEASHOLTZ, M.B. **Chemometrics: a practical guide**. New York: John Wiley & Sons, 1998.360 p.

BELTRÃO, N. E. de M.; AZEVEDO, D. M. P.; LIMA, R. L. S.; QUEIROZ, W. N.; QUEIROZ, W. C. Ecofisiologia. In: AZEVEDO, D. M. P.; BELTRÃO, N. E. de M. (Ed.). **O agronegócio da mamona no Brasil**. EMBRAPA-CNPA. Campina Grande, PB. cap. 2, 2007. 45-72 p.

BELTRÃO, N. E. de M. **O biodiesel do óleo da mamona e a produção de fitomassa: considerações gerais e singularidade**. EMBRAPA-CNPA. Campina Grande, PB. 2004. 2 p.

BELTRÃO, N. E. **Informações sobre o biodiesel, em especial feito com o óleo de mamona**. EMBRAPA-CNPA. Campina Grande, PB. 2003.

BOKOBZA, L. Near infrared spectroscopy. **Journal Near Infrared Spectroscopy**. 6, 3, 17p, 1998.

BRERETON, R.G. **Chemometrics: data analysis for the laboratory and chemical plant**. Chichester: John Wiley, 2003. 489p.

BURNS, D.A; CIURCZAK, E.W., eds.; **Handbook of Near-Infrared Analysis**, Marcel Dekker, Inc.: New York, 2008.

CAMO S. A. Manual do usuário. UNSCRAMBLER, versão 9.8. Noruega, 2009.

CEN, N.; HE, Y.; Theory and application of near infrared reflectance spectroscopy in determination of food quality. **Trends in Food Science e Technology** v. 18, p.72-83. 2007.

CHIERICE, G. O.; CLARO NETO, S. Aplicação industrial de óleo. In: AZEVEDO, D. M. P.; LIMA, E. F. **O agronegócio da mamona no Brasil**. EMBRAPA – CNPA. Campina Grande. p.2001. 350.

CLEMENT, A.; DORAIS, M.; VERNON, M. Nondestructive measurement of fresh tomato lycopene content and other physicochemical characteristics using visible-NIR spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, n.21, p. 9813–9818, 2008.

DERDE, M. P.; MASSART, D. L. Supervised pattern-recognition – the ideal method. **Analytica Chmica Acta**, v. 191, p. 1-16, 1986.

FREIRE, E. C.; LIMA, E. F.; ANDRADE, F. P. Melhoramento genético. In: AZEVEDO, D. M. P. de LIMA, E. F.; **O agronegócio da mamona no Brasil**. EMBRAPA – CNPA. Campina Grande, PB. 2001. p.229-256.

GAIÃO, E. N.; MEDEIROS, E. P.; LYRA, W. S.; MOREIRA, P. N. T.; VASCONCEOS, P. C.; SIVA, E. C.; ARAUJO, M. C. U. Um Fotômetro multi-led Microcontrolado, Portátil e de Baixo Custo. **Quimica Nova**, v.28. n.6. p.1102-1105, 2005.

GAMBARRA-NETO, F.F.; MARINO, G.; ARAÚJO, M.C.U.; GALVÃO, R.K.H.; PONTES, M.J.C.; de MEDEIROS, E.P.; LIMA, R.S. Classification of edible vegetable oils using square wave voltammetry with multivariate data. **Talanta**, v. 77, n. 5, p. 1660-1666, 2009.

GODOY, M. G.; GUTARRA, M. L. E.; MACIEL, F. M.; FELIX, S. P.; BEVILAQUA, J. V.; MACHADO, O. L. T.; FREIRE, D. M. G. Use of a low-cost methodology for biodegradation of castor bean waste and lipase production. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 44, n.5, p.317-322, 2009.

GOWD, N. K. S.; PAL, DINTARAN T.; BELLUR, SRINIVAS R.; BHARADWAJ, UJALA; SRIDHAR, MANPAL; SATYANARAYANA, MAYASANDRA L.; PRASAD, CADABA S.; RAMACHANDRA, KODLI S. SAMPATH, KORATIKERE T. Evaluation of castor (*Ricinus communis*) seed cake in the total mixed ration for sheep. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, n. 2, p.216-220, 2009.

LOUREIRO, M. C. Torta de semente da maraoneira na alimentação animal. **Revista Ceres**, v. 11. n. 66, p. 290-294, 1962.

LUYPAERT, J.; MASSART, D. L.; HEYDEN, Y. V. Near-infrared spectroscopy applications in pharmaceutical analysis. **Talanta**, v.72, p.865-883, 2010.

KOWALSKI, B. R. *Chemometrics - Mathematics and Statistics in Chemistry*. **Hoilaud: D. Rcidel Pubiisbing Compauy Chcmical**. p.52, 115. 1984.

MARK, J.; KARNER, M.; ANDRE, M.; RUELAND, J.; HUCK, C. W. Online Process Control of a Pharmaceutical Intermediate in a Fluidized-Bed Drier Environment Using Near-Infrared Spectroscopy. **Analytical Cbemistry**. v 82, n 10, p .4209–4215, 2007.

MOSHKIN, V. A. **History and origino f castor**. New Delhi: Amcrind Publishing. 1986, p 6-10.

MULLER, H.G. **Introduccion a la reologia de los alimentos**. Editora Aeribia, Zaragoza, 1978. 174 p.

MUTLU, H.; MEIER, M. A.R. Castor oil as a renewable resource for the chemical industry. **Europcau Journal of Lipid Scicuce and Tecnology**. V. 112, p.10-30. 2010.

O'BRIEN, R. D.; FARR, W.E.; AN, P.J. **Introdncion to Fats and Oil Techuology**. 2ª Edição. Champaign: AOCS PRESS, 2000. P. 618.

PASQUINI, C. Near infrared spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications. **Journal of tbc Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 2, p.198-219, 2003.

RIBEIRO, N. M.; AVILA, F. D. F. Métodos para desintoxicação de tortas de oleaginosas. In: CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE BIODIESEL, 2007, Brasília, DF. **Anais...** Brasília, DF: MCT/ABIPTI, 2007. , v. 1, p.34-37, 2006.

RINNAN, A.; BERG, V. D.; ENGELSEN, S. B.; Revien of the most common pré-processing techniques of near-infrared spectra. **Trends in Analytical Chemistry**. v.28, n. 10. 2009.

RODRIGUES, R. F. O.; OLIVEIRA, F.; FONSECA, A. M. As folhas de Palma Christi – *Ricinus communis L. Euphorbiaceae* Jussieu. **Revista Lecta**. v. 20, n. 2, p. 183-194. 2002.

SANTOS, R. Análise Econômica. In: **O Agronegócio da Mamoua no Brasii**.

EMBRAPA-CNPA. Campina Grande, PB, 2001.

SAVY FILHO, A.; BANZATTO, N. V.; BARBOZA, M. Z. **Mamoneira**. In: CATI. Oleaginosas no Estado de São Paulo: análise e diagnóstico. Campinas, São Paulo. p.29. 1999.

SAVY FILHO, A. **Mamona: Tecnologia Agrícola**. EMOPI. Campinas, SP. 2007.

SEVERINO, L. S. COSTA, F. X.; BELTRÃO, N. E. de M.; LUCENA, A. M. A.; GUIMARÃES, M. M. B. **Mineralização da torta de mamona, estereó bovino e bagaço de cana estimada pela respiração microbiana**. Revista de Biologia e Ciências da Terra, v. 5, n. 1, 2004.

SEVERINO, L. S. **O que sabemos sobre a torta de mamona**. EMBRAPA - CNPA Campina Grande, PB. p.31. 2005.

SILVA JUNIOR, J. G.; MACHADO, O. L. T.; IZUMI, C.; PANDOVAN, J. C.; CHAIT, B. T., MIRZA, U. A.; GREENE, L. J. Amino acid sequence of a new 2S albumin from *Ricinus communis* which is part of 29-Kda precursor protein. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 336, n. 1, p. 10-18, 1996.

STCHUR, P.; CLEVELAND, D.; ZHOU, J.; MICHEL, R. G. A review of recent applications of near infrared spectroscopy, and of the characteristics of a novel PbS CCD array-based near-infrared spectrometer. **Journal of Applications Spectroscopy**, v.37, n.4, p.383-428, 2002.

SUN, T.; HUANG, K.; XU, H.; YING, Y. Research advances in nondestructive determination of internal quality in watermelon/melon: A review. **Journal of Food Engineering**. V.100, p.569-577.2010.

URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; BOODEY, R. M. Produção de biocombustíveis: a questão do balanço energético. **Revista de Política Agrícola**, Ano XIV, n.1, p.42-46, 2005.

WETZEL, D. L. Near-infrared reflectance analysis of water content among spectroscopic



techniques. **Analytical Chemistry**, v.55, n.12, p. 1165-1176, 1983.

WOLD, S.; ESBENSEN, K.; GELADI, P. Principal Component Analysis. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v.2, p.37-52, 1987.