

## ANÁLISE EXPLORATÓRIA DE ESPECTROS DE FT-IR PARA A CARACTERIZAÇÃO DE POLISSACARÍDEOS

António Barros, Ana Reis, Isabel Mafra, Manuel A. Coimbra, Ivonne Delgadillo

antbarros@dq.ua.pt

Departamento de Química, Universidade de Aveiro, 3810-193 Aveiro

### 1 INTRODUÇÃO

A utilização da espectroscopia de Infravermelho por Transformadas de Fourier (FT-IR) tem provado o seu enorme potencial na análise química rápida de amostras biológicas, com especial interesse na indústria agro-alimentar e farmacêutica. No entanto, os sinais obtidos por esta técnica neste tipo de amostras apresentam perfis de elevada complexidade. É pois, necessário recorrer a técnicas quimiométricas de forma a extrair o máximo possível de informação dos espectros de FT-IR. Pretende-se com este trabalho demonstrar a vantagem da conjugação da espectroscopia de FT-IR com a análise multivariada na caracterização rápida de amostras de polissacarídeos da parede celular da polpa de uma variedade de azeitona, antes e após processamento a azeitona de mesa. Os polissacarídeos foram extraídos do material das paredes celulares com vários solventes aquosos, tendo sido adquiridos espectros de FT-IR de todos os extractos, desde o material da parede celular até à obtenção de resíduos ricos em celulose.

### 2 MATERIAL E MÉTODOS

Neste estudo foi usada uma variedade de azeitona cultivada no sul de Itália e denominada *Cassanese*. Três tipos de azeitona foram estudados: i) Ca1 – azeitona não processada; Ca2 –processada por escaldamento, adição de sal seco e secagem em forno a 50°C e iii) Ca3 –processada por corte da película, lavagem em água durante vários dias, adição de sal seco e secagem em forno a 50°C. Os dados obtidos compreendem dois conjuntos de dados.

**Conjunto 1:** Este conjunto considerou todos os espectros dos extractos obtidos, 26 para cada tipo de azeitona..Foram adquiridos para cada amostra entre 3 a 8 réplicas, totalizando 397 espectros.

**Conjunto 2:** Apenas o extracto do material da parede celular (CWM) foi considerado neste conjunto. Para cada um dos 3 tipos de processamento da azeitona foram adquiridos 30 espectros (totalizando 90).

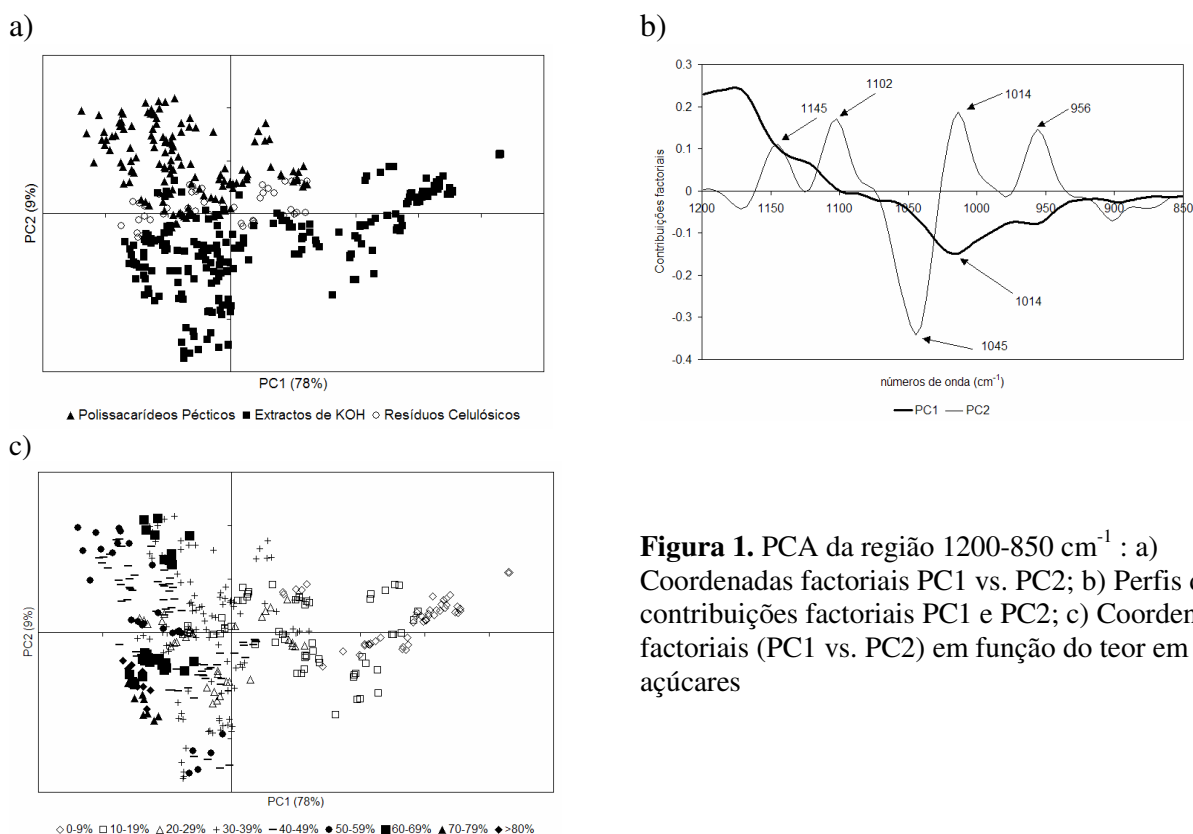
Para ambos os conjuntos de dados, os espectros de FT-IR foram adquiridos na região 4000-400  $\text{cm}^{-1}$  (128 scans) a uma resolução de 8  $\text{cm}^{-1}$  utilizando como acessório o ATR horizontal GoldenGate. A região de interesse utilizada no FT-IR correspondeu à região entre 1200-850  $\text{cm}^{-1}$ . De forma a eliminar efeitos aditivos e multiplicativos, cada espectro foi centrado e reduzido nesta região.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com o duplo objectivo de estabelecer as principais fontes de variabilidade presentes nos extractos/espectros e detectar as bandas características relacionadas com os principais grupos de extractos, foi aplicada uma análise em componentes principais (PCA) a ambos os conjuntos de dados na região 1200-850  $\text{cm}^{-1}$ .

#### 3.1 Análise do Conjunto 1

Na Figura 1a, encontram-se representadas as coordenadas factoriais (PC1 vs. PC2) que contêm 87% da variabilidade total presente nos espectros de FT-IR. Este gráfico indica a presença de três grupos principais de extractos (polissacarídeos pécnicos, extractos de KOH e resíduos celulósicos). O componente principal responsável por esta distinção está associado ao PC2. De uma forma geral, o PC2 positivo está associado aos polissacarídeos pécnicos, e o PC2 negativo aos extractos de KOH. Os resíduos celulósicos estão dispersos ao longo deste eixo apresentando uma contribuição muito próxima de zero. Estes resultados permitem seleccionar características específicas para cada um dos grupos observados. Verifica-se que os polissacarídeos pécnicos (PC2 positivo e PC1 negativo) são caracterizados por bandas localizadas a 1014 e 956  $\text{cm}^{-1}$ . Por outro lado, os extractos de KOH (PC2 e PC1 negativos) são caracterizados pela banda localizada a 1045  $\text{cm}^{-1}$ . O eixo PC1, que representa a maior quantidade de variabilidade (78%), está relacionado principalmente com a quantidade total de açúcares dos diferentes extractos (Figura 1c). Este gráfico, sendo equivalente ao observado na Figura 1a, representa a dispersão das amostras em função do teor em açúcares. Este resultado permite estabelecer uma relação entre o PC1 (contribuição factorial – Figura 1b) e a quantidade relativa de açúcares nos extractos.

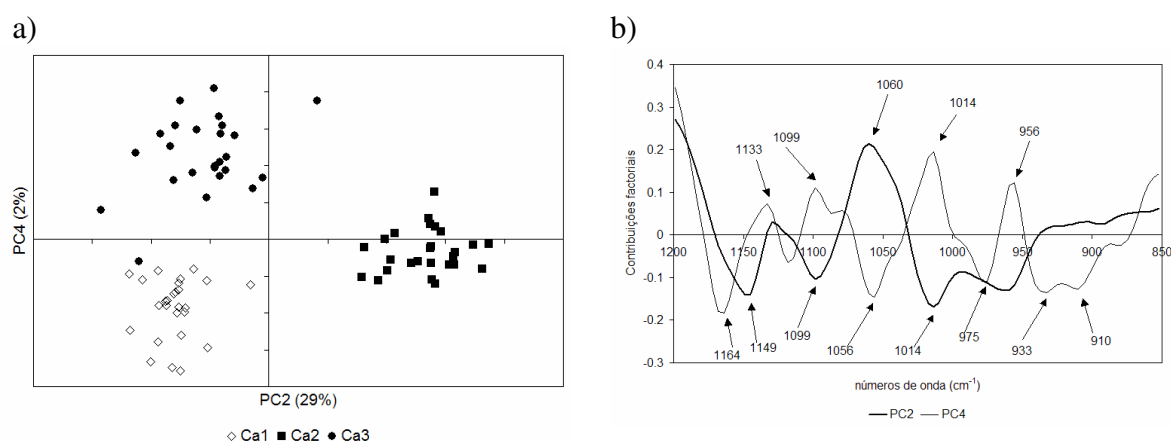


**Figura 1.** PCA da região  $1200\text{-}850\text{ cm}^{-1}$  : a) Coordenadas factoriais PC1 vs. PC2; b) Perfis das contribuições factoriais PC1 e PC2; c) Coordenadas factoriais (PC1 vs. PC2) em função do teor em açúcares

### 3.2 Análise do Conjunto 2

A relevância deste conjunto de dados prende-se com o estudo das potencialidades da técnica FT-IR para a caracterização do CWM sem recurso a qualquer fraccionamento subsequente, de forma a obter uma análise exploratória rápida das amostras. Com o objectivo de obter uma amostragem aceitável foram adquiridos 30 espectros do CWM de cada um dos três tipos de azeitona. Aplicando uma análise em componentes principais à região compreendida entre  $1200\text{-}850\text{ cm}^{-1}$ , verificou-se que o plano definido pelos PC2 e PC4, permitem uma clara distinção entre os três tipos de processamentos (Figura 2a). Pela análise do espaço das coordenadas factoriais (PC2 vs. PC4) da Figura 2a, observa-se que o eixo PC2 distingue o processamento Ca2 dos processamentos Ca1 + Ca3 (explicando 29% da variabilidade total). Este último conjunto é separado ao longo do eixo PC4, contribuindo em 2% para a variabilidade total. A análise em simultâneo das contribuições factoriais (Figura 2b) com as respectivas coordenadas factoriais (Figura 2a), permite caracterizar em termos espectrais cada um dos três grupos observados. O processamento Ca2 é, sobretudo, caracterizado pela banda localizada a  $1060\text{ cm}^{-1}$ . Os processamentos Ca1 + Ca3 são caracterizados pelas bandas localizadas a  $1149$ ,  $1099$ ,  $1014$  e  $956\text{ cm}^{-1}$  (maior teor em

polissacarídeos pécticos) (Coimbra *et al.*, 1998; Coimbra *et al.*, 1999; Ferreira *et al.*, 2001). A distinção entre os processamentos Ca1 e Ca3 é detectado ao longo do eixo PC4. Segundo este eixo, as bandas características estão localizadas para o Ca3 a 1133, 1099, 1014 e 956  $\text{cm}^{-1}$  (maior contribuição em polissacarídeos pécticos) e para o Ca1 as bandas localizadas a 1164, 1056, 975, 933 e 910  $\text{cm}^{-1}$  (maior contribuição dos polissacarídeos hemicelulósicos) (Coimbra *et al.*, 1999; Ferreira *et al.*, 2001).



**Figura 2.** PCA da região 1200-850  $\text{cm}^{-1}$ : a) Coordenadas factoriais PC2 vs. PC4; b) Contribuições factoriais PC2 e PC4.

## 4 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos demonstram que a combinação da técnica de FT-IR acoplada a uma ferramenta de análise multivariada (PCA) apresenta-se como uma mais valia no estudo de amostras complexas. Foi possível a partir de um grande conjunto de amostras a atribuição de agrupamentos de amostras semelhantes/dissimilares bem como seleccionar regiões espectrais características associadas a cada tipo de grupo observado. Os resultados mostram também que uma análise exploratória apenas do CWM permite extrair informação relevante para a distinção entre os polissacarídeos mais importantes na sua caracterização. Esta primeira aproximação revelou importantes fontes de informação para uma caracterização mais aprofundada do material em análise.

## 5 REFERÊNCIAS

- COIMBRA, M.A.; BARROS, A.; BARROS, M.; RUTLEDGE, D.; DELGADILLO, I., 1998, Multivariate analysis of uronic acid and neutral sugars in whole pectic samples by FT-IR spectroscopy, *Carbohydrate Polymers*, 37, 241-248.
- COIMBRA, M.A.; BARROS, A.S.; RUTLEDGE, D.N.; DELGADILLO, I., 1999, FT-IR spectroscopy as a tool for the analysis of olive pulp-cell wall polysaccharide extracts, *Carbohydrate Research* 317, 145-154,.
- FERREIRA, D.; BARROS, A.; COIMBRA, M.A.; DELGADILLO, I., 2001, Use of FT-IR spectroscopy to follow the effect of processing in cell wall polysaccharide extracts of a sun-dried pear, *Carbohydrate Polymers*, 45, 175-182.