

USO DA ESPECTROSCOPIA DE INFRAMERVELHO PRÓXIMO (NIRS) PARA A DETERMINAÇÃO DA QUALIDADE BROMATOLÓGICA DE SILAGEM¹

Andressa Gottardo², Tania Regina Tiecher³, Marieli Milczarek⁴, Lisandre De Oliveira⁵.

¹ Pesquisa desenvolvida pelo Departamento de Estudos Agrários da Unijui

² Acadêmica do curso de Medicina Veterinária da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – Unijui, (andressa-gottardo@bol.com.br).

³ Técnica do Laboratório de Bromatologia da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (tania.tiecher@unijui.edu.br).

⁴ Acadêmica do curso de Agronomia da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – Unijui.

⁵ Professora do Curso de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade Regional do Noroeste do Estado (lisandre.oliveira@unijui.edu.br).

Introdução

A espectroscopia do infravermelho próximo (NIRS) surgiu há 40 anos e tem sido frequentemente aplicada de forma vantajosa para a determinação de moléculas orgânicas (DRENNEN;KRAEMER;LODDER, 1991). A análise consiste em incidir sobre uma amostra uma radiação (feixe de luz) de comprimento de onda específico e conhecido da região do infravermelho próximo. Quando isso acontece, as ligações covalentes das substâncias orgânicas absorvem essa energia. Essa absorção é utilizada para estimar o número e tipo de ligações moleculares na amostra, sendo medida pela diferença entre a quantidade de luz emitida pelo NIRS e a quantidade de luz refletida pela amostra (VAN KEMPEN;JACKSON, 1996).

O NIRS é uma técnica analítica que permite uma medida rápida, não destrutiva e de baixo custo de diversos constituintes da matéria orgânica. Em termos de exatidão, precisão, velocidade e custo por unidade de análise, a técnica NIRS, desde que seja calibrada corretamente, é preferível a métodos laboratoriais tradicionais. Entretanto, a técnica, em última análise, consiste em um conjunto de análises padrões de amostras, cuja composição foi determinada por métodos tradicionais (análises químicas)(CANESIN;FIORENTINI;BERCHIELLI, 2012). Ou seja, para o seu pleno funcionamento, é necessária a adequação das curvas de calibração utilizadas no equipamento para a realidade local.

No ano de 2013 foi inaugurado o Centro de Inovação Tecnológica em Produção e Saúde Animal na UNIJUI, este centro foi instaurado com o objetivo de apoiar o processo produtivo e de saúde animal regional. Dentre os equipamentos adquiridos, consta o equipamento NIRS (do inglês Near Infrared

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico

Evento: XXII Seminário de Iniciação Científica

Reflectance Spectroscopy) que tem sido considerado como uma alternativa para complementar ou até mesmo substituir métodos analíticos convencionais de qualidade de alimentos. Para realizar a leitura da amostra no laboratório, é necessário realizar previamente o enquadramento da mesma dentro de uma curva de calibração. No caso das silagens, por exemplo, é utilizada a curva de calibração para forrageiras, ou seja, alimentos volumosos provenientes de plantas empregadas na alimentação animal. Sendo assim, este trabalho objetiva estudar a relação entre os resultados de qualidade de amostras de silagem analisadas segundo métodos tradicionais (análises químicas e bromatológicas) ou segundo o NIRS. Com base nesta informação, vislumbra-se a liberação do equipamento para análises de rotina ou adequação da curva de calibração com base nos desvios encontrados ou ainda a construção de uma curva de calibração própria.

Material e Métodos

Foram analisadas 19 amostras de silagens que deram entrada na rotina do Laboratório de Bromatologia e Nutrição Animal da UNIJUI. As amostras colhidas foram pesadas e secas em estufa a ar forçado a 60 °C por no mínimo 72 horas, pesadas novamente e moídas em moinho tipo Willey para posterior análise. O teor de matéria seca (MS) da forragem foi obtido por secagem em estufa a 105°C durante pelo menos 12 horas, e a matéria mineral (MM) pela queima em mufla a 600 °C durante três horas. O nitrogênio (N) foi determinado pelo método Kjeldhal (AOAC, 1995). O teor de fibra em detergente neutro (FDN) foi determinado, sem uso de sulfito de sódio, conforme Mertens (2002), exceto que as amostras foram pesadas em sacos de poliéster e tratadas com detergente neutro em aparelho automatizado FIBREITHERM (Gerhardt). Os teores de fibra em detergente ácido (FDA) foram determinados de acordo com AOAC (método 973.18, AOAC, 1995), mas sem uso de amianto também em aparelho automatizado FIBREITHERM (Gerhardt). Os teores de extrato etéreo (EE) das amostras foram obtidos por extração com éter etílico em um sistema de refluxo a 180°C durante 3 horas (Soxtherm, Gerhardt).

Os resultados das análises químicas e bromatológicas bem como os dados das análises espectrais do NIRS foram comparados por análise de regressão utilizando o pacote estatístico SAS (2002). Duas equações foram criadas, uma para expressar o grau de precisão das estimativas. A segunda teve o intercepto forçado à origem para representar o grau de desvio médio das estimativas.

Resultados e Discussão

Na Figura 1 são apresentadas duas equações e duas linhas. Uma das equações (linha cheia) expressa o grau de precisão das estimativas, em quanto que a outra foi forçada a origem (linha tracejada) e expressa o grau de desvio médio das estimativas. Com base na equação em que a intercepta (a) é forçada a origem (0), observa-se os desvios conforme o componente estimado. O Coeficiente de determinação (R²) é uma medida de ajustamento de um modelo estatístico linear aos valores

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXII Seminário de Iniciação Científica

observados, ou seja, o quanto o modelo consegue explicar os valores observados. Neste caso, quanto maior o R², mais os resultados observados são explicados pelo modelo.

Quando uma amostra é submetida à secagem, a fração sólida que permanece é denominada Matéria Seca (MS) e considera-se que é esta fração que pode ser convertida em nutrientes pelos animais. Nas estimativas dos teores de MS (Figura 1a) o desvio apresentado pelas estimativas através do NIRS foi de 0,2% e a relação entre o teor medido e estimado apresentou alto coeficiente de determinação (R²=0,99), sendo esta a fração de melhor confiabilidade quando estimada pelo NIRS dentre os parâmetros avaliados.

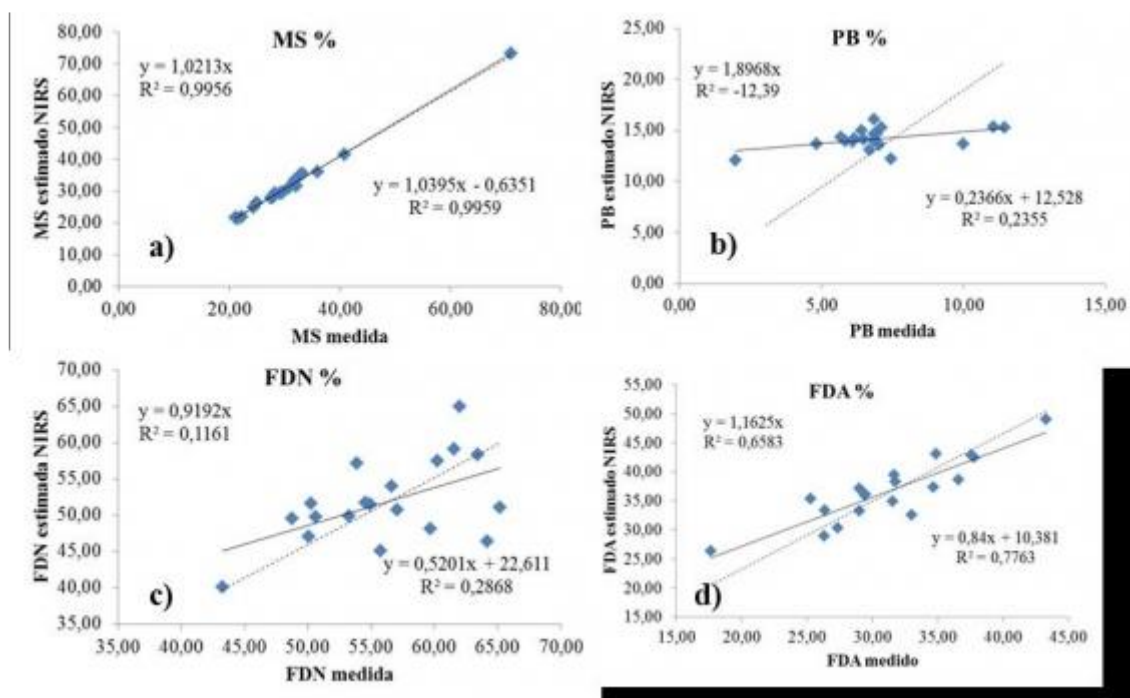


Figura 1. Relação entre parâmetros medidos através de análises químicas e bromatológicas ou estimados pelo NIRS. a) Matéria seca (MS) medida ou estimada. b) Proteína Bruta (PB) medida ou estimada. c) Fibra em detergente neutro (FDN) medida ou estimada. d) Fibra em detergente ácido (FDA) medida ou estimada. Equações apresentam $P < 0,05$.

A proteína bruta é analisada quimicamente pela determinação do teor de nitrogênio que a amostra apresenta. Na maioria dos alimentos o N corresponde aproximadamente a 16% do peso da proteína,

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico

Evento: XXII Seminário de Iniciação Científica

o que implica indiretamente que em 100 g de proteína tem-se 16 g de N, e $100/16 = 6,25$, que corresponde ao fator de conversão de nitrogênio:proteína (N:P) (JONES, 1931). As estimativas de PB (Figura 1b) obtiveram o maior desvio de todos os parâmetros (90%) e também um coeficiente de determinação muito baixo ($R^2=0,23$). As amostras avaliadas variaram entre 5,7% e 14,4% de PB, enquanto os teores estimados apresentam variações entre 10% e 13,7%. Aparentemente, independentemente dos valores encontrados nas análises químicas, os teores estimados de proteína bruta apresentam valores em torno de 14% (± 1), enquanto a média das análises químicas foi de 7% (± 2).

A Fibra em Detergente Neutro (FDN) é a estimacão do teor de fibra insolúvel que é convenientemente efetuada por meio da extração ou digestão da amostra do alimento com solução detergente neutro que resulta em um preparado fibroso denominado fibra em detergente neutro (BERCHIELLI; PIRES; OLIVEIRA, 2006). A comparação entre os valores estimados e medidos de FDN (Figura 1c), também apresentou um baixo coeficiente de determinação ($R^2=0,28$) e um desvio das estimativas pelo NIRS de 10%. O que dificulta ainda mais a adaptação da curva de calibração é que em parte das estimativas ocorre subestimacão e em parte, superestimacão (visualizado através da linha cheia em relação à linha pontilhada, portanto, não há como criar um fator de correção para ajuste. Os valores de FDN são altamente variáveis mesmo dentro de cada espécie avaliada, pois são influenciados pelo estágio de desenvolvimento da planta e teores de lignina (VAN SOEST, 1994). Em geral, o NIRS subestima a percentagem de FDN em 4,3 pontos, em média. A FDN é relacionada com preenchimento físico criado pelo alimento no rúmen e, portanto, potencial de consumo (VAN SOEST, 1994). Neste sentido, visando atender as necessidades nutricionais para a produção de leite, a capacidade máxima de ingestão de FDN para vacas no meio até o fim da lactação foi estimada por Mertens (1992) em 1,2% do peso vivo (PV). Preconiza-se que a dieta para vacas leiteiras deva apresentar entre 28 a 30% de FDN na matéria seca, sendo que pelo menos 75% deste sejam provenientes de volumoso de fibra longa (NRC, 1989). As dietas têm sido calculadas para atender as demandas de FDN visando estimular a ruminação, o fluxo de saliva, o tamponamento ruminal, a saúde e a funcionalidade da parede do rúmen (FOX et al., 1992), desta forma, superestimar os teores de FDN da dieta seriam ainda mais graves sob a possibilidade de que a dieta não apresente o mínimo de fibra efetiva, que estimula a mastigação, a ruminação e a manutenção do pH ruminal, podendo levar a quadros de acidose ruminal, laminites e outros desbalanços nutricionais e em casos mais graves até a morte.

As estimativas do FDA (Figura 1d) tampouco podem ser realizadas pelo NIRS com confiabilidade utilizando a curva de calibração para forragens pois apesar do coeficiente de determinação poder ser considerado adequado ($R^2=0,77$), o desvio das estimativas foi de 16%. Da mesma maneira que o FDN, a adaptação através de um fator de correção não é possível visto que parte das estimativas são sub e parte superestimadas. No entanto, na média, os teores de FDA são superestimados em 5,4 pontos percentuais ($\pm 2,7$).

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXII Seminário de Iniciação Científica

Quando comparados os valores dos parâmetros de qualidade medidos através de análises químicas e bromatológicas ou estimados pelo NIRS, percebe-se pouca relação entre eles. Provavelmente, se deve ao fato de que o equipamento não possui uma curva de calibração para silagem, sendo recomendada pelo fabricante a leitura na curva de forrageiras. A silagem é considerada uma forrageira, no entanto, como os teores de grãos na silagem são variáveis, ela pode possuir graus variáveis de amido e fibras. Sendo assim, a composição bromatológicas de uma silagem pode diferir enormemente, por exemplo, de um capim elefante, o que torna muito difícil que a mesma curva de calibragem seja adequada para ambas às forragens.

Conclusão

O único parâmetro que pode ser adequadamente estimado é o teor de matéria seca da amostra, inviabilizando a liberação do equipamento para prestação de serviços. Como a proteína bruta apresentou variação de mais de 90% entre o medido e o estimado, torna-se inviável adequação da curva de calibração. Desta forma, é necessária a confecção de uma curva de calibração própria para silagens.

Palavras-chave: NIRS, análise, nutrição de ruminantes, silagem

Agradecimentos:

Andressa Gottardo agradece a Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul (Fapergs) pela concessão de bolsa de estudos (PROBIC/FAPERGS 2013-2014).

Referências Bibliográficas.

AOAC. Official methods of analysis Washington: Association of Official Analytical Chemists, 1995.1094 p.

BERCHIELLI; T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. Nutrição de ruminantes. Funep, 2006 - 583 páginas.

CANESIN, R. C.; FIORENTINI, G.; BERCHIELLI, T. T. Inovações e desafios na avaliação de alimentos na nutrição de ruminantes. Rev. Bras. Saúde Prod. Anim., v. 13, n. 4, p. 938-953, 2012. ISSN 1519 9940. Disponível em: <<http://www.rbspa.ufba.br>>.

DRENNEN, J. K.; KRAEMER, E. G.; LODDER, R. A. Advances and Perspectives in Near-Infrared Spectrophotometry. BATC, v. 22, n. 6, p. 443-475, 1991. ISSN 1040-8347. Disponível em: <http://pubget.com/paper/pgtmp_c7e75b9a4924b8a43dd7478e447915c9
<http://www.informaworld.com/10.1080/10408349108051642>>.

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXII Seminário de Iniciação Científica

FOX, D. G.; SNIFFEN, C. J.; O'CONNOR, J. D. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: III. Cattle requirements and diet adequacy. J.Anim. Sci. , v. 70, p. 3578-3596, 1992.

JONES, D.B. Factors for converting percentages of nitrogen in foods and feeds into percentages of protein. U. S., Dep. Agric., Circ., Washington, v.183, p.1-21, 1931.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requirements of dairy cattle. 6.rev.ed. Washinton, D.C.: 1989. 157p.

VAN KEMPEN, T. A. T. G.; JACKSON, D. NIRS may provide rapid evaluation of amino acids. . Feedstuffs, v. 68, p. 12-15, 1996.

VAN SOEST, P.J. Nutritional ecology of ruminant . 2.ed. Ithaca, NY: Cornell University Press, 1994. 476p.