



<http://dx.doi.org/>
<http://www.nutricaoanimal.ufc.br>

Artigo Científico
Medicina Veterinária

Desenvolvimento de equações para predição da composição química do capim-elefante (*Pennisetum purpureum*) através de espectroscopia no infravermelho próximo

*Development of equations for chemical composition prediction of elephant grass (*Pennisetum purpureum*) by the near infrared spectroscopy (nirs)*

Cristiane Sitta¹, Jakeline Vieira Romero², Carla Maris Machado Bittar³, Flávio Augusto Portela Santos³, Jackeline Thaís da Silva⁴, Catarina Alves dos Santos⁵

Resumo: O objetivo deste trabalho foi desenvolver equações de calibração para a predição de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), nitrogênio total (NT), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), proteína insolúvel no FDN (PIFDN), proteína insolúvel no FDA (PIFDA), lignina (LIG), proteína solúvel (P-SOL), nitrogênio não protéico (NNP), extrato etéreo (EE), carboidratos totais (CHO totais) e carboidratos não fibrosos (CNF) em amostras de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum. Cultivar *Cameroon*), as quais foram analisadas por métodos químicos de referências e espectroscopia de reflectância no infravermelho próximo (NIRS). Os espectros de reflectância foram obtidos em espectrômetro FOSS NIRSystem 5.000, de 1.100 a 2.498 nm, e os dados foram processados em software WINISI II 1.5. Alguns constituintes como PB, NT e CHOt apresentaram excelentes valores do coeficiente de determinação (R^2) e de valores da validação cruzada (1-VR), superiores a 0,95 e 0,92, respectivamente; demonstrando alta acurácia de predição. No entanto, as curvas de calibração para predição de MM, P-SOL, NNP, FDN e CNF apresentaram valores de R^2 adequados mas 1-VR insatisfatórios, mostrando que pode haver erro na predição de outras amostras.

Palavras-chave: NIRS, FDN, FDA, CNF, fracionamento de proteína, CNCPS

Abstract: The objective of this trial was the calibration equations development for dry matter (DM), ashes (ASH), total nitrogen (TN), crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), neutral detergent fiber insoluble protein (NDFIP), acid detergent fiber insoluble protein (ADFIP), lignin (LIG), soluble protein, non protein nitrogen (NPN), ether extract (EE), total carbohydrates and non structural carbohydrates of *Pennisetum purpureum* using near infrared spectroscopy (NIRS). Reflectance spectra were obtained with a FOSS NIRSystem 5.000, from 1.100 to 2.498 nm, being data processed by the software WINISI 1.5. Some constituents such as PB, NT and CHOt presented high values of R^2 and cross validation values (1-VR), superior 0,95 and 0,92, respectively; demonstrating high prediction accuracy. However, the calibration curves for MM, P-SOL, NNP, FDN and CNF prediction presented values

of R^2 adequate but unsatisfactory 1-VR, showing that it may result in errors of prediction of other samples.

Keywords: NIRS, NDF, ADF, NFC, protein fractions, CNCPS

Autor para correspondência. E, Mail:

Recebido em 20.04.2010. Aceito em 30.08.2010

¹ Zootecnista, departamento de Zootecnia, ESALQ/USP

¹ Aluna de Doutorado em Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá - PR

² Depto. de Zootecnia, ESALQ/USP – Piracicaba – SP

³ Aluna de Mestrado em Ciência Animal e Pastagens, ESALQ/USP – SP

⁴ Instituto Superior de Agronomia, Lisboa – Portugal.

Introdução

O monitoramento de alterações no valor nutritivo de forragens tropicais é fator determinante na produção animal, uma vez que sua redução compromete o consumo e a utilização da forragem disponível. Segundo Lanzas (2007), os sistemas de fracionamento da proteína dos alimentos têm sido integrados em modelos nutricionais para informar sobre diferenças na disponibilidade e utilização da fração protéica.

Os métodos tradicionais de avaliação do valor nutritivo de forrageiras envolvem processos químico-físicos e têm como principal limitação o longo tempo para sua realização, alto custo e utilização de reagentes químicos.

A espectroscopia de reflectância no infravermelho próximo (NIRS) tem se apresentado como método alternativo, potencialmente preciso e

não destrutivo, com aplicação em diversas áreas da ciência. O princípio de análise através do NIRS consiste na absorção da luz na região do infravermelho próximo (1.100 a 2.500 nm) por compostos orgânicos. O método se baseia no fato de que cada um dos principais componentes dos alimentos tem características específicas de absorção, onde ocorrem vibrações das ligações covalentes induzidas pelo calor nos grupos funcionais das moléculas (SHENK E WESTERHAUS, 1993).

O objetivo deste trabalho foi desenvolver equações de calibração para a determinação de matéria seca, matéria mineral, nitrogênio total, proteína bruta, fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido, lignina; proteína insolúvel no FDN e proteína insolúvel no FDA, proteína solúvel, nitrogênio não protéico, extrato etéreo, carboidratos totais e carboidratos

não fibrosos através de espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS), utilizando-se amostras de capim-elefante após sua análise química em laboratório.

Material e Métodos

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Bromatologia, Departamento de Zootecnia, da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”- ESALQ/ USP. Trinta amostras de capim-elefante foram colhidas pelo método “hand plucking” em três estações do ano. As amostras foram secas em estufa de circulação forçada de ar a 65°C, onde permaneceram até peso constante. Após a secagem, o material foi moído em moinho tipo Wiley, com peneira com malha de um milímetro.

Foram determinados em duplicata, os teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), extrato etéreo (EE) e proteína bruta (PB) conforme Campos et al (2004); fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina (LIG) de acordo com Campos et al (2004); proteína insolúvel no FDN (PIFDN) e proteína insolúvel no FDA (PIFDA), proteína solúvel (P-SOL), nitrogênio não protéico (NNP) conforme Campos et al. (2004); sendo estimados através de cálculo os teores de carboidratos

totais (CHOt) e carboidratos não fibrosos (CNF).

As amostras tiveram seus espectros colhidos em duplicata utilizando-se um espectrômetro FOSS NIRSystem 5.000, na faixa de comprimento de onda de 1.100 A 2.498 nm, sendo as leituras dos espectros armazenadas no software WINISI II 1.5 (Infrasoft International, Silver Spring, MD) na forma do logaritmo do inverso da reflectância ($\log 1/R$).

Assim, formou-se um conjunto de 60 espectros os quais foram associados aos teores dos nutrientes determinados em laboratório. Antes da calibração, uma etapa de pré-tratamento foi efetuada utilizando-se Análise de Principais Componentes (PCA) para avaliar a distribuição da população e identificar possíveis “outliers”, de acordo com a distância GH (Mahalanobis) superior a 3.0 (SHENK E WESTERHAUS, 1993).

Para desenvolvimento das equações de calibração utilizou-se o método de Regressão Modificada dos Quadrados Mínimos Parciais (MPLS) e diversos tratamentos matemáticos (1,4,4,1; 1,10,10,1; 2,4,4,1; 2,10,10,1; 2,20,20,1, para derivada, gap, smooth, segundo smooth, respectivamente), com correções de ruído eletrônico e variações no tamanho da partícula

(variação normal padrão (SNV) detrend (DET), correção multiplicativa da difusão padrão e balanceada (MSC e MMSC)). Optou-se pela regressão com validação cruzada, sendo então obtidos os valores de SECV (erro padrão da validação cruzada) para cada equação desenvolvida.

As melhores equações foram selecionadas com base nos maiores valores de coeficientes de calibração, ou seja, o coeficiente de determinação (R^2) e o coeficiente de determinação da validação cruzada (1-VR) (Saliba et al, 2003), combinados ao menor valor do erro padrão de calibração (SEC).

Tabela 1. Composição química-bromatológica de amostras de pastejo simulado de pastagem de capim-elefante através de espectroscopia de reflectância no infravermelho próximo (NIRS)

Constituent	Mean	SD	SEC	RSQSECV1-VR			Modelo	Scatter
MS	92,45	0,8776	0,5382	0,6239	0,7053	0,3602	1,10,10,1	DET
MM	10,3491	1,7787	0,4221	0,9437	0,6789	0,8538	2,4,4,1	NSVD
EE	2,3917	0,3821	0,189	0,7554	0,2206	0,6645	2,20,20,1	MSC
LIG	3,1479	0,4343	0,2749	0,5995	0,3561	0,3439	2,4,4,1	NSVD
PB	17,6125	2,3048	0,3661	0,9748	0,6109	0,9288	2,4,4,1	MMSC
PSOL	4,5014	1,3916	0,4105	0,913	0,4847	0,8774	2,4,4,1	DET
NT	2,8268	0,3653	0,0617	0,9715	0,0964	0,9293	2,4,4,1	MMSC
NNP	0,6573	0,223	0,0779	0,8781	0,0966	0,8115	2,4,4,1	DET
PIFDN	7,1396	1,3345	0,6396	0,7703	0,6783	0,7392	1,4,4,1	DET
PIFDA	1,1829	0,1458	0,104	0,4915	0,1138	0,3937	2,10,10,1	DET
FDN	64,3505	3,0897	1,1933	0,8508	1,5788	0,7424	2,4,4,1	NSVD
FDA	31,4464	1,7247	0,8495	0,7574	0,968	0,681	2,10,10,1	MSC
CHOT	69,5651	2,8103	0,5688	0,959	0,7469	0,9286	1,10,10,1	MSC
CNF	16,143	4,4496	2,0093	0,7961	2,3196	0,7263	1,10,10,1	MSC

Vários trabalhos de pesquisa têm obtido boas curvas de calibração para PB (Nussio et al., 2005; Pires e Prates, 1998; SALIBA et al., 2003). Utilizando

Resultados e Discussão

Após a transformação dos espectros em escores e da caracterização da distribuição da população, não foram identificadas amostras consideradas como “outlier”, ou seja, com $GH > 3.0$, de forma que os 60 espectros foram utilizados para a elaboração das curvas de calibração.

Conforme pode ser observado na Tabela 1, alguns constituintes como PB, NT e CHOt apresentaram excelentes valores de R^2 e de 1-VR (superiores a 0,95 e 0,92, respectivamente), demonstrando alta acurácia de predição.

amostras de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, Nussio et al. (2005) também obtiveram curvas de calibração satisfatórias para PB, no entanto valores

intermediários para as frações fibra. Dentre os constituintes estudados, a PB apresentou as melhores curvas, independentemente do tratamento matemático aplicado, com altos valores de R^2 e 1-VR, e baixos valores de SEC e SECV.

No entanto, o tratamento 2,4,4,1, resultou nas melhores curvas de calibração, juntamente com a correção multiplicativa da difusão. Segundo Shenk e Westerhaus (1993) a obtenção de boas curvas para compostos nitrogenados se deve a forte definição da faixa de comprimento de onda absorvido por estes compostos.

Embora os valores de CHOt tenham sido obtidos através de cálculos, utilizando-se valores de determinação de PB, EE e MM, a curva de calibração para predição deste constituinte apresentou qualidade satisfatória podendo ser utilizada para predição deste constituinte.

As curvas de calibração para predição de MM, P-SOL, NNP, FDN e CNF apresentaram valores de R^2 adequados mas valores da validação cruzada (1-VR) insatisfatórios mostrando que pode haver erro na predição de outras amostras.

As curvas de calibração com menores valores de R^2 e de 1-VR tiveram seu banco de dados reavaliado, sendo detectado que estes constituintes apresentaram distribuição normal.

De acordo com Shenk e Westerhaus (1993), o banco de dados para calibração deve apresentar boa distribuição, de preferência achatada, dentro da de valores das amostras a serem preditas. Assim, de forma a se obter uma distribuição achatada, foram retirados dados de cada um dos constituintes (cinco valores de MS, dois de PIFDA e quatro de LIG).

Novas curvas de calibração foram elaboradas a partir deste novo banco de dados (Tabela 2), resultando em melhoria nos valores de R^2 , principalmente para MS, mas ainda insatisfatórios valores de 1-VR, ou seja, baixa habilidade de predição. É provável que a baixa habilidade de predição de algumas curvas de calibração, com baixos valores de R^2 e 1-VR, se deva a erros associados à precisão da análise convencional, utilizada como referência para calibração. Entretanto, os valores de análise das duplicatas estiveram sempre com variação abaixo de 5%.

Tabela 2. Desenvolvimento das curvas de calibração para matéria seca (MS), lignina (LIG) e proteína insolúvel no FDA (PIFDA) de amostras de pastejo simulado de pastagem de capim-elefante através de espectroscopia de reflectância no infravermelho próximo (NIRS)

Constituent	Mean	SD	SEC	RSQ	SECV	1-VR	Modelo	Scatter
MS	92,557	0,7581	0,3138	0,8286	0,4489	0,6465	1,4,4,1	NSV MMS
LIG	3,1909	0,3849	0,1967	0,7389	0,3116	0,3607	2,4,4,1	C MMS
PIFDA	1,1791	0,1442	0,0978	0,5403	0,104	0,4933	2,20,20,1	C

A obtenção de curvas de calibração de boa qualidade para predição da composição química de forragens tropicais de acordo com o CNCPS diminuiria o tempo para obtenção de resultados, o custo de análise assim como a geração de resíduos químicos, reduzindo assim o tempo para tomada de decisão.

Conclusões

Boas curvas de calibração foram obtidas para a maioria dos constituintes sendo aquelas para NT, PB e CHOt as mais satisfatórias. A obtenção de dados com distribuição achatada foi insuficiente para adequar as curvas de calibração de MS, LIG e PIFDA. Deve-se aumentar o número de amostras para elaboração de curvas de calibração para predição da composição química de capim-elefante conforme o CNCPS.

Referências Bibliográficas

CAMPOS, F. P.; NUSSIO, C.M.B.; NUSSIO, L.G. **Métodos de análises de alimentos**. Piracicaba: FEALQ, 2004. 135p.

LANZAS, C. **Models to predict ruminal carbohydrate and nitrogen supply and nitrogen excretion in cattle**. Ithaca, NY, 2007. 235 p. Ph.D. Dissertation – *Cornell University*, 2007. PIONEER. **Pioneer forage manual** a nutritional guide. Iowa: Pioneer Hi-Bred International, 1995. 54p.

NUSSIO, C.M.B.; SÁ, S.M.O.; ANDRADE, F.M.E.; SILVA, S.C.; BELUCCI, L.; SARMENTO, D.O.L. Desenvolvimento e validação de equações para predição da composição química de *Brachiaria brizantha* (cv. Marandu) através de espectroscopia no infravermelho próximo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 42, 2005, Goiânia **Anais...** Goiânia: SBZ, 2005. 1 CD-ROM.

PIRES, F.F.; PRATES, E.R. Uso da Técnica de Reflectância no Infravermelho Proximal (NIRS) na Predição da Composição Química da Alfafa (*medicago sativa*, L.). *R. Bras. Zootec.*, v. 27, n.6, p. 1076-1081, 1998.

SALIBA E.O.S.; GONTIJO NETO, M.M.; RODRÍGUEZ, N.M.; MIRANDA, L.F.; OBEID, J.A.; TEIXEIRA, G.L.; OLIVEIRA, M.A.. Predição da composição química do sorgo pela técnica de espectroscopia de reflectância no infravermelho próximo. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, vol.55, no.3, p.357-360, 2003.

SHENK, J., WESTERHAUS, M. *Analysis of agriculture and food products by near infrared spectroscopy*. USA: Penn State University and Intrasoft International, 1993, 116p.