

PREDIÇÃO DO VALOR NUTRITIVO DE GRAMÍNEA NATIVA E EXÓTICA NO PANTANAL POR MEIO DO MÉTODO DE REFLECTÂNCIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO*

Jeniffer Camargo Freitas¹
Sandra Aparecida Santos²
Thierry Ribeiro Tomich²
Gumercindo Loriano Franco³

RESUMO

Objetivou-se neste estudo avaliar e comparar o método de reflectância no infravermelho proximal com os métodos de análises convencionais. Utilizaram-se 132 amostras da gramínea *Mesosetum chauseae*, coletada em diferentes fitofisionomias e estações do ano no período de 2005 a 2008, e 48 amostras da gramínea *Brachiaria humidicola*, no período de 2007 a 2008, ambas oriundas de duas sub-regiões Nhecolândia e Paiaguás do Pantanal sul-mato-grossense. O material foi analisado quanto aos teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina (LIG) fósforo (P) e digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) pelos métodos convencionais. As mesmas amostras foram analisadas em um espectrômetro NIR 900 PLS (FEMTO). Para a calibração, foi utilizado o tratamento matemático RLM (Regressão Linear Múltipla) e, posteriormente, equações de regressão foram ajustadas, tendo como variáveis independentes os resultados das análises químicas e, como variáveis dependentes, os resultados da reflectância no infravermelho proximal. Os coeficientes de correlação entre os métodos de análises de *Mesosetum chauseae*, PB, FDN, FDA, LIG, P e DIVMS, foram de 82; 92; 91; 81; 70 e 82%, respectivamente; e para *Brachiaria humidicola* 87; 89; 81; 89; 81 e 82%, respectivamente, indicando que o sistema de análises por infravermelho próximo pode substituir com vantagens os métodos convencionais sem comprometer a precisão e exatidão dos resultados.

Palavras-chave: composição química, gramínea, nirs, pastagem nativa.

PREDICTION OF THE NUTRITIONAL VALUE OF GRASSY NATIVE AND EXOTIC OF THE PANTANAL BY MEANS OF THE METHOD OF NEAR INFRARED REFLECTANCE SPECTROSCOPY

ABSTRACT

It was aimed to evaluate near infrared reflectance spectroscopy with the conventional method, using a total of 132 samples for the *Mesosetum chauseae* and 45 samples for the *Brachiaria humidicola*, collected in two sub-regions of the Pantanal (Nhecolândia and Paiaguás). Determined crude protein (CP), was neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), lignin (LIG), phosphorus (P) and *in vitro* digestibility of dry matter (IVDDM). The same samples were also analyzed by spectroscopy, using the NIR 900 PLS (FEMTO). Data was mathematically treated by the MLR (Multiple Linear Regression) and regression models were fitted, having the results from the chemical analysis as independent variables and the results from the near infrared reflectance as dependent variables. The correlation coefficients

* Apoio e financiamento: Agência: FUNDECT

¹ UFMS Ciência Animal, Produção Animal, Nutrição Animal. Contato principal para correspondência.

² EMBRAPA PANTANAL, Pesquisador e Phd em zootecnia

³ Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Professor e pesquisador Dr.

of the *Mesosetum chaseae*, CP, NDF, AFD, LIG, P and IVDDM, 82; 92; 91; 81; 70 e 82%, respectively; end for the *Brachiaria humidicola* 81, 89, 89, 89 and 82%, respectively, they indicate that the system of analyses for infrared spectroscopy, it can substitute with advantages the conventional methods without compromising the precision and exactness of the results.

Keywords: chemical composition, grass, near, rangelands.

PREDICCIÓN DEL VALOR ALIMENTICIO DE PASTO NATIVO Y EXÓTICO EN EL PANTANAL POR MEDIO DEL MÉTODO DE ESPECTROFOTOMETRÍA DE REFLECTANCIA EN EL INFRARROJO CERCANO

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar y para comparar el método de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIR) con los métodos de análisis convencionales. Fueron utilizado 132 muestras del herboso *Mesosetum chaseae*, recogido en diversos fitofisionomias y estaciones del año en el período de 2005 el 2008, y 48 muestras de la herbosa *Brachiaria humidicola*, en el período de 2007 el 2008, ambos derivan dos subregiones Nhecolândia e Paiaguás del Pantanal. El material fue analizado cuánto a los teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra en detergente neutro (FDN), fibra en detergente ácido (FDA), lignina (LIG) fósforo (P) y digestibilidad *in vitro* de matéria seca (DIVMS) con los métodos convencionales. Las mismas muestras habían sido analizadas en un espectrómetro NIR 900 PLS (FEMTO). Para la calibración, el tratamiento matemático fue utilizado RLM (Regressão Linear Múltipla) y, más adelante, ecuaciones de la regresión habían sido ajustadas, teniendo como independiente variables los resultados de los análisis químicos e, como dependientes variables, los resultados de la reflectancia en el infrarrojo cercano (NIR). Los coeficientes de correlación entre los métodos de análisis de *Mesosetum chaseae*, PB, FDN, FDA, LIG, P e DIVMS, habían estado de 82; 92; 91; 81; 70 e 82%, respectivamente; y para *Brachiaria humidicola* 87; 89; 81; 89; 81 e 82%, respectivamente, indicando que el sistema de los análisis para el rayo infrarrojo cercano pueden sustituir con ventajas los métodos convencionales sin el compromiso de la precisión y de la exactitud de los resultados.

Palabras clave: composición química, herboso, nirs, pasto nativo.

INTRODUÇÃO

No Brasil, os estudos com forrageiras nativas ainda são incipientes e, no Pantanal onde há uma grande diversidade de pastagens naturais, há pouco conhecimento acerca da composição química - bromatológica e valor nutritivo das espécies forrageiras nativas ou introduzidas na região (1).

A caracterização do valor nutritivo poderá auxiliar não somente no manejo das diferentes espécies forrageiras, como também em seu melhoramento genético e no manejo dos animais produzidos nessa região. Uma gramínea que se destaca na região do Pantanal sul-mato-grossense é a grama-do-cerrado (*Mesosetum chaseae*) por ser uma espécie forrageira preferida pelo gado, resistente à seca extrema, perene, estolonífera com afilamento intenso, resistente a solos pobres e têm ampla distribuição no Pantanal, sendo encontrada principalmente nas áreas de topografia elevada (caronal e campo cerrado) e em campos limpos esporadicamente inundáveis (1).

Uma das gramíneas exóticas adaptadas aos solos arenosos das sub-regiões pantaneiras Nhecolândia e Paiaguás, pobres e sujeitos a inundações periódicas é a *Brachiaria humidicola*, tendo como princípio da sua introdução neste local, o incremento da produtividade dos animais. No entanto, a formação de pastagens na região do Pantanal tem como o objetivo principal reduzir a estacionalidade produtiva e da qualidade nutricional das pastagens nativas, gerando uma estratégia que resulte em melhor desempenho produtivo dos rebanhos criados na região, respeitando o padrão natural das paisagens locais (2).

O conhecimento da qualidade dessas forrageiras, nativa e exótica, é de extrema importância para a definição de estratégias de manejo das pastagens. Os teores de proteína bruta (PB), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), lignina (LIG) e da composição mineral, e coeficientes de digestibilidade *in vitro* matéria seca (DIVMS) constituem informações essenciais para qualificar alimentos volumosos utilizados pelos ruminantes (3).

Os métodos tradicionais de análise bromatológica desses alimentos têm sido amplamente utilizados nos laboratórios nacionais. No entanto, geralmente são métodos demorados e de custo elevado. Como método alternativo, tem-se a espectroscopia de reflectância no infravermelho próximo (NIRS). Trata-se de um método potencialmente preciso, não destrutivo e que apresenta uma capacidade de predição das características nutricionais relevantes para os ruminantes. Sua grande vantagem em relação ao método tradicional está na análise múltipla dos constituintes, menor necessidade de mão-de-obra, rapidez e, portanto, menor custo, além de não ser poluente por não utilizar reagentes químicos (4).

Objetivou-se com este estudo desenvolver curvas de calibração via NIRS, para avaliar e comparar o valor nutritivo de duas gramíneas do Pantanal, uma nativa (*Mesosetum chaseae*) e outra exótica (*Brachiaria humidicola*) e comparar os métodos convencionais de análises químicas com o método físico NIRS.

MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi realizado com forrageiras obtidas nas sub-regiões da Nhecolândia (18° 59'S e 56° 39'W) e Paiaguás – no Pantanal sul-mato-grossense, onde há dominância das gramíneas grama-do-cerrado (*Mesosetum chaseae*) e *Brachiaria humidicola*. Coletas casuais da primeira gramínea foram feitas em diferentes fitofisionomias no período de 2005 a 2008, abrangendo diferentes estádios fenológicos (vegetativo, reprodutivo e senescente) e estações do ano, que representassem a variação existente nessas condições, num total de 132 amostras coletadas. Para a segunda gramínea foram coletadas no período de junho 2007 a julho 2008, obtendo-se 48 amostras.

O material coletado foi enviado para o Laboratório de Análises Químicas da Embrapa Pantanal, onde as amostras foram catalogadas e secas em estufa de circulação forçada de ar a 65°C. Em seguida, foram moídas a tamanho de partícula de 1 mm e acondicionadas em frascos de vidros para posterior análises químicas.

Foram determinados teores de matéria seca (MS), pela secagem a 105°C por 24 horas, segundo a metodologia da AOAC (5); proteína bruta (PB), pelo método de Kjeldahl adaptado por Galvani e Gaertner (6); fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA) e lignina (LIG), conforme o método de Van Soest et al. (7); e fósforo (P) de acordo com o método colorimétrico de Fiske e Subbarow (8). Foi separada 3 gramas de cada amostra e acondicionadas em saquinhos de plástico e depois enviada ao Laboratório de Nutrição Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FAMEZ da Universidade Federal de Mato Grosso Sul (UFMS) para análise de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), conforme descrito por Tilley e Terry (9), adaptado a incubadora *in vitro* TE-150 desenvolvido

pela TECNAL, com o procedimento conforme conduzido para o instrumento DAISY II (10). O tecido usado para confecção dos saquinhos para digestibilidade foi TNT 100 Micra e todas as determinações foram feitas em duplicatas.

Posteriormente as amostras foram analisadas pelo método físico NIRS (Near Infrared Reflectance Spectroscopy). Foi usado o aparelho NIR 900 PLS, fabricado pela FEMTO, com as seguintes especificações: faixa espectral – 1100 a 2500 nm; leitura – transmitância e refletância; tempo de varredura 70 segundos e software FemWin900. Todas as amostras analisadas convencionalmente foram novamente homogeneizadas em moinho, colocadas em estufa na temperatura de 60°C e retiradas apenas quando o interior da estufa atingisse 30°C, de modo que todas as amostras apresentassem o mesmo nível de processamento. Em seguida, cada amostra foi novamente homogeneizada e parte do material adicionado em cubeta específica do NIRS, acoplada no aparelho para leitura (varredura) da amostra, cuja leitura foi realizada nos comprimentos de onda de 1100 a 2500 nanômetros. O processo acima foi feito em triplicata para *Mesosetum chaseae* e em quadruplicata para *Brachiaria humidicola*, obtendo maior número de amostras para a calibração do aparelho.

As leituras das amostras foram convertidas em logaritmo ($\log_{10} = 1/R$) e armazenadas em arquivos disponíveis no software FemWin900. Equações de regressão foram ajustadas relacionando os dados espectrais com dados determinados por métodos convencionais. Das amostras espectrais disponíveis, foram sorteadas aleatoriamente dois grupos para a calibração e validação cruzada, respectivamente. Modelo de calibração foi desenvolvido com a utilização do método Regressão Linear Múltipla (MLR).

A melhor calibração foi selecionada de acordo com o cálculo de validação cruzada. Esta técnica quimiométrica estabelece relação matemática entre a variação nos espectros das amostras com a variação do parâmetro medido, da qual, os valores de referência observados e os preditos foram correlacionados, determinando o coeficiente de determinação (R^2) e a variância (V). Pelo valor da variância calculou-se o erro-padrão. Por meio deste cálculo de validação selecionou-se a melhor calibração de acordo com o valor mais baixo da variância e o valor mais alto do coeficiente de determinação. Realizou-se análise descritiva para obter os valores mínimos e máximos. Utilizaram-se os procedimentos GLM e as comparações de médias (dados laboratoriais x dados NIRS) pelo teste Tukey a 5%, do programa estatístico do SAS (1989).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos pelos métodos convencionais mostraram uma alta variabilidade quanto a composição, indicando uma ampla distribuição da amostragem, requisito necessário para o desenvolvimento de curvas confiáveis de predição usando o NIRS. Os valores médios apresentados na Tab. 1 não apresentaram diferenças entre os métodos convencionais (determinado) e o NIRS (predito), indicando que por meio do NIRS pode ser realizada análise dos constituintes das forragens com a mesma confiabilidade dos métodos convencionais.

Segundo Pires e Prates (11) e Fontaneli et al. (12), bons resultados devem ter alto coeficiente de determinação (R^2) e baixo erro padrão (EP), o que foi verificado para todos os nutrientes conforme Tab. 2 na validação das duas gramíneas *M. chaseae* e *B. humidicola*. A DIVMS analisada pelo NIRS apesar do alto R^2 (0,82 e 0,86) apresentou o mais alto EPV (0,16 e 0,59), respectivamente para as gramíneas *M. chaseae* e *B. humidicola* (Tab. 2).

Tabela 1. Valores médios e amplitudes de composição química e digestibilidade *in vitro* da matéria seca encontrada em análises realizadas em amostras de *Mesosetum chaseae* e *Brachiaria humidicola* pelos métodos tradicionais (determinado) e análises por infravermelho próximo – NIRS (preditos).

Parâmetros (%MS)	<i>Mesosetum chaseae</i>							
	Determinado				Predito			
	Min.	Max.	Méd.	CV %	Min.	Max.	Méd.	CV %
PB	1,97	8,00	4,94a	20,21	2,64	7,22	4,94a	16,45
FDN	68,11	79,72	74,57a	3,92	68,42	80,23	74,57a	3,64
FDA	35,42	42,14	38,39a	5,16	34,67	43,56	38,40a	4,73
Lignina	0,20	8,13	4,09a	47,32	0,69	8,55	4,09a	38,54
P	0,05	0,15	0,09a	28,43	0,05	0,13	0,09a	19,83
DIVMS	49,22	69,16	57,72a	8,75	48,86	70,78	57,72a	7,14
<i>Brachiaria humidicola</i>								
PB	1,85	5,74	3,57a	29,36	1,60	5,56	3,57a	25,40
FDN	70,73	81,35	70,60a	3,45	70,31	79,79	75,66a	3,12
FDA	32,32	46,91	39,20a	8,06	32,13	46,61	39,20a	6,55
Lignina	0,20	8,20	3,48a	53,01	0,39	6,99	3,48a	47,12
P	0,04	0,17	0,11a	27,76	0,05	0,17	0,11a	22,57
DIVMS	56,56	74,21	66,87a	6,37	58,83	75,65	66,94a	6,07

Médias seguidas por letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (*P<0,05).

Tabela 2. Valores de calibração e validação do NIRS e seus respectivos coeficientes de determinação (R²), variância (V) e erro-padrão (EP) observados para a composição química e a digestibilidade *in vitro* da matéria seca obtidos para *Mesosetum chaseae* e *Brachiaria humidicola*

Parâmetros	<i>Mesosetum chaseae</i>					
	Calibração			Validação		
	R ²	V	EPC	R ²	V	EPV
Proteína bruta	0,79	0,58	0,08	0,82	0,57	0,07
FDN	0,92	1,19	0,12	0,92	1,19	0,12
FDA	0,91	0,81	0,10	0,91	0,81	0,10
Lignina	0,81	1,12	0,10	0,81	1,12	0,10
Fósforo (P)	0,70	0,19	0,04	0,70	0,19	0,04
DIVMS	0,82	2,91	0,16	0,82	2,91	0,16
<i>Brachiaria humidicola</i>						
Proteína bruta	0,87	0,52	0,08	0,87	0,28	0,10
FDN	0,89	1,24	0,13	0,89	1,12	0,13
FDA	0,81	1,83	0,16	0,81	1,18	0,02
Lignina	0,89	0,84	0,11	0,89	1,08	0,13
Fósforo (P)	0,93	0,12	0,06	0,81	0,18	0,06
DIVMS	0,96	1,48	0,62	0,86	2,33	0,59

EPC = erro-padrão da calibração; EPV = erro-padrão da validação.

Saliba et al. (13) realizaram um experimento para a determinação da composição química do sorgo pelo NIRS e compararam com os dados obtidos pelas análises convencionais de laboratório. Para tanto, foram utilizadas 132 amostras de quatro variedades de sorgo, nos quais foram encontrados os seguintes coeficientes de determinação (%) para PB = 99,5, FDN = 96,4, FDA = 98,1 e DIVMS = 93,1 obtendo uma boa calibração.

Com relação ao grau de ajuste das equações, os altos valores de coeficiente de determinação (R^2) e baixos erros-padrões (EP) indicam uma elevada acurácia do método NIRS para os teores analisados nessas pastagens (exótica e nativa). Para o conteúdo de fósforo (P) do *M. chaseae* observou-se R^2 mais baixo (70%), considerado de razoável previsão. Segundo Fontaneli et al. (14), as estimativas de minerais têm menores coeficientes de determinação, isso ocorre devido à fração não sofrer alteração pela ação da luz infravermelha, uma vez que o NIRS mede a absorção por bandas moleculares. Minerais puros, como o fósforo, não tem bandas de absorção, portanto, há limitação dessa técnica para avaliar o conteúdo de minerais.

As curvas de calibração para predição dos constituintes das forragens apresentam valores adequados, onde o R^2 de 70-80% é considerado de razoável, de 80-90% média, e 90-100% de alta previsão, estatisticamente. Os valores de R^2 da DIVMS de *M. chaseae* (0,82) e *B. humidicola* (0,93) são superiores ao valor de R^2 encontrado por Givens et al. (15) ao trabalharem com a digestibilidade de silagem de gramíneas, e inferiores ao comparar com o R^2 obtido por Fontaneli et al. (14), na análise de silagem de milho, PB; FDA; FDN e P, que foi de 98, 99, 99 e 93%.

Nas figuras 1 e 2, a correlação entre as variáveis – valores dos métodos convencionais (valores reais) e NIRS (valores preditos) houve variação proporcional, obtendo os modelos de $R = 82\%$ e 87% (PB); 92% e 89% (FDN); 91% e 81% (FDA); 81% e 89% (LIG); 70% e 81% (P); 82% e 93% (DIVMS), respectivamente para *Mesosetum chaseae* (Fig. 1) e *Brachiaria humidicola* (Fig. 2). A correlação entre as variáveis dependentes (NIRS) e variáveis independentes (convencionais) foi positiva, demonstrando que as variáveis variam no mesmo sentido (Fig. 1 e 2). Com estes resultados selecionou-se a melhor curva de calibração para o aparelho NIRS, comprovando a eficiência do método.

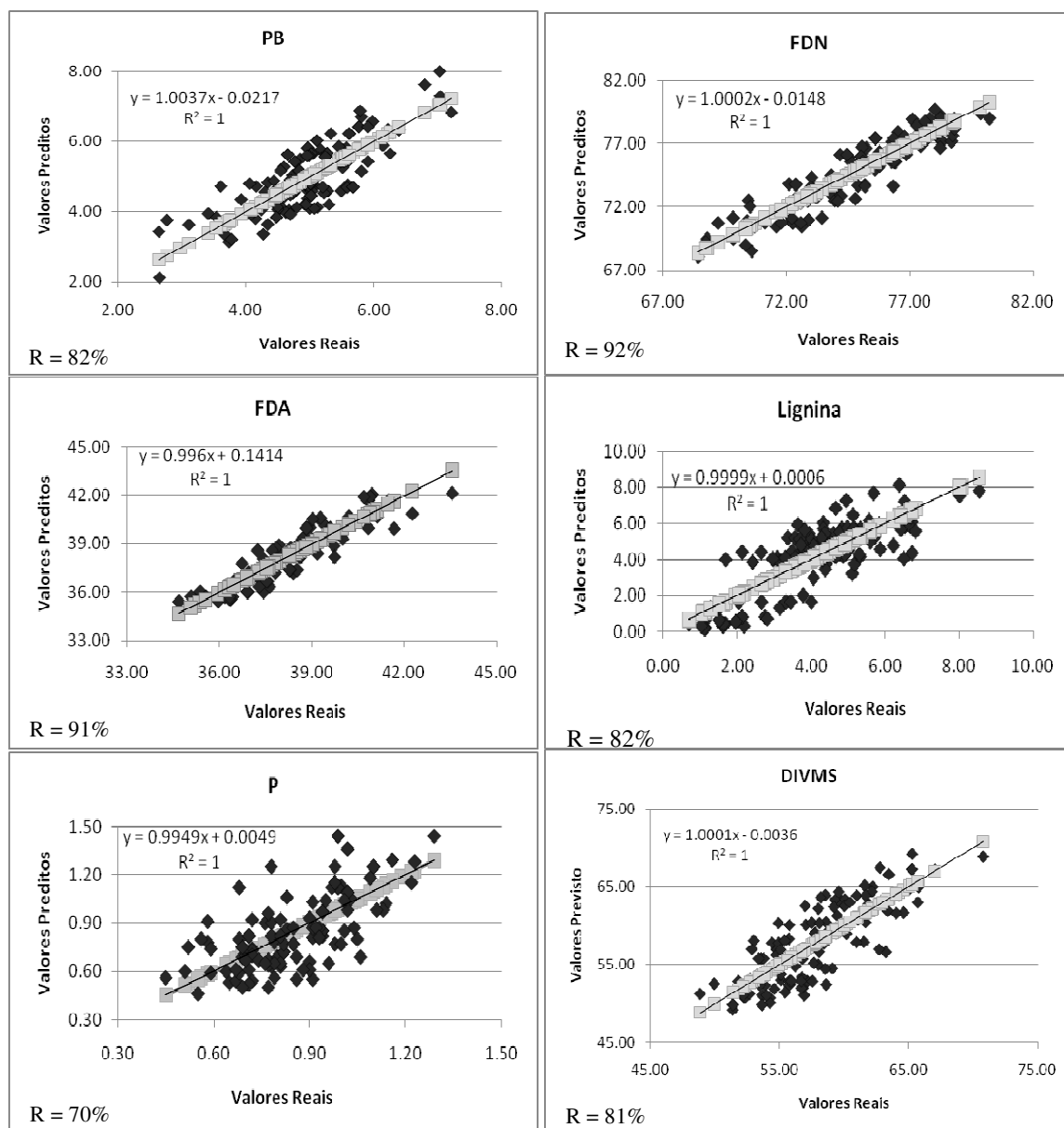


Figura 1. Distribuição de frequência de valores de coeficientes de correlação (R^2) e coeficiente de determinação (R) entre os métodos convencionais (valores reais) e NIRS (valores preditos) da forrageira *Mesosetum chaseae*.

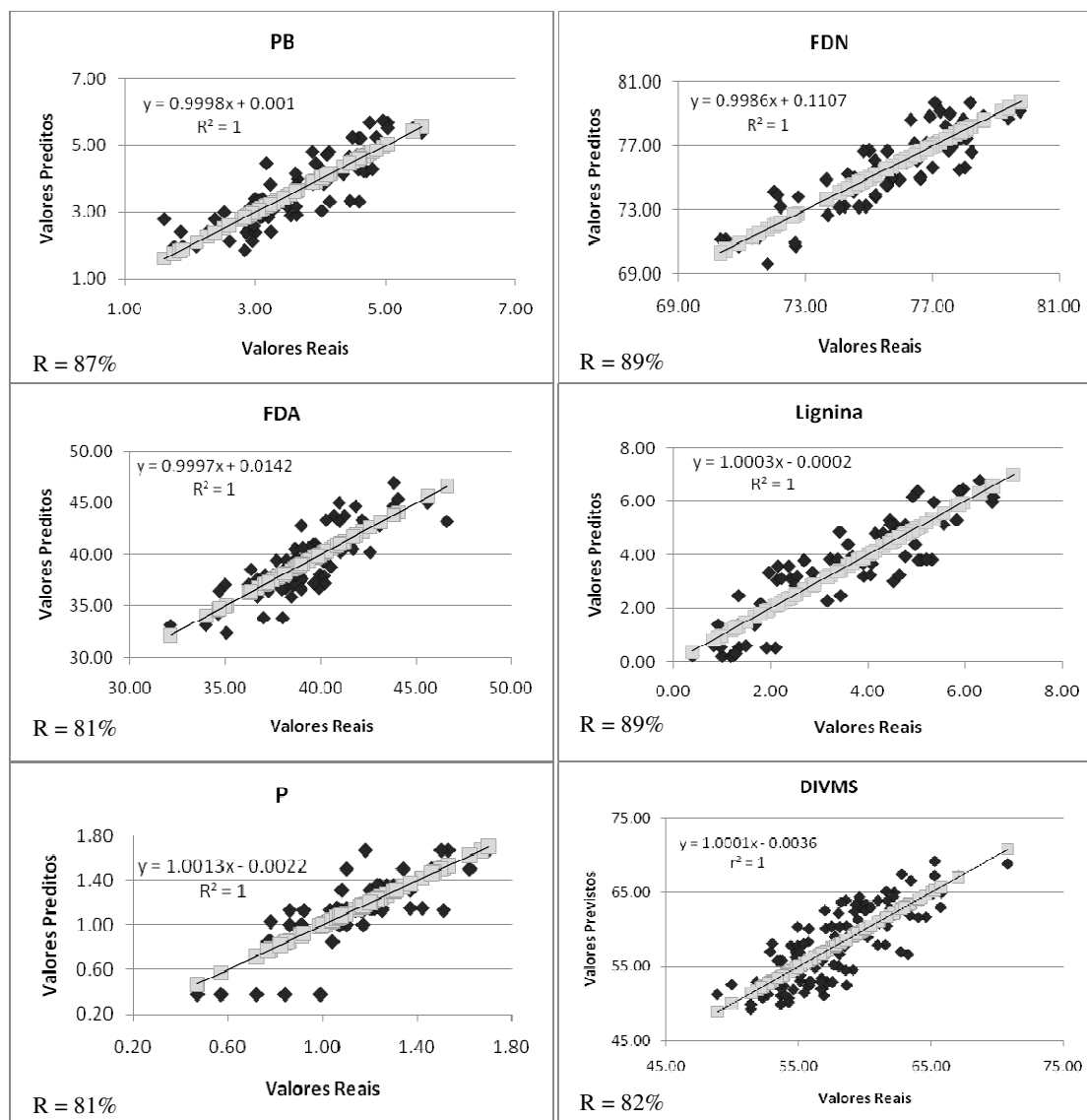


Figura 2. Distribuição de frequência de valores de coeficiente de correlação (R^2) e coeficiente de determinação entre os métodos convencionais (valores reais) e NIRS (valores preditos) da forrageira *Brachiaria humidicola*.

CONCLUSÕES

O sistema de análises por infravermelho próximo - NIRS pode ser utilizado na predição dos constituintes da forragem, com eficiência de utilização em laboratório de análises químicas após bem calibrado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Santos SA, Cardoso EL, Silva RAMS, Pellegrin AO. Princípios básicos para a produção sustentável de bovinos de corte no Pantanal. Corumbá: Embrapa Pantanal; 2002.
2. Santos SA, Abreu UGP, Souza GS, Catto JB. Condição corporal, variação de peso e desempenho reprodutivo de vacas de cria em pastagem nativa do Pantanal. Rev Bras Zootec. 2009;38:354-60.

3. Silva JD, Queiroz AC. Análises químicas: métodos químicos e biológicos. Viçosa: UFV; 2002.
4. Borges FMO, Ferreira WM, Saliba EOS. Espectroscopia de reflectância no infravermelho próximo NIRS - princípios e aplicações na nutrição e alimentação animal. Rev Cons Fed Med Vet. 2001;24:43-58.
5. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. 13th ed. Washington: AOAC; 1980.
6. Galvani F, Gaertner E. Adequação da metodologia Kjeldahl para determinação de nitrogênio total e proteína bruta [Internet]. Corumbá: Embrapa Pantanal; 2006 [cited 2008 Jan 24]. Available from: <http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/CT63>.
7. Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, on nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J Dairy Sci. 1991;74:3583-97.
8. Harris WP, Popat P. Determination of the phosphorus content of lipids. J Am Oil Chem Soc. 1954;31:124-7.
9. Tilley JMA, Terry RA. A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. Grass Forage Sci. 1963;18:104-11.
10. Ankom Technology. In vitro true digestibility using the Daisy II incubator [Internet]. Macedon NY: Ankom; 2005 [cited 2007 Sept 02]. Available from: http://www.ssc.com.tw/Ankom/PDF_file/Daisy%20method.pdf.
11. Pires FF, Prates ER. Uso da técnica da espectrofotometria de refletância no infravermelho proximal (NIRS) na predição da composição química da alfafa (*Medicago sativa*, L). Rev Bras Zootec. 1998;27:1076-81.
12. Fontaneli RS, Durr JW, Scheffer-Basso SM, Haubert F, Bortoloni F. Avaliação da qualidade de silagens de milho através da espectrometria de refletância no infravermelho proximal (NIRS). In: Anais da 37ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia; 2000; Viçosa. Viçosa: SBZ; 2000. p.1-3.
13. Saliba EOS, Gontijo Neto MM, Rodrigues NM, Miranda LF, Obeid JA, Teixeira GL, et al. Predição da composição química do sorgo pela técnica de espectroscopia de refletância no infravermelho próximo. Arq Bras Med Vet Zootec. 2003;55:357-60.
14. Fontaneli RS, Durr JW, Scheffer-Basso SM, Haubert F, Bortoloni F. Validação do método da reflectância no infravermelho proximal para análise de silagem de milho. Rev Bras Zootec. 2002;31:594-8.
15. Givens DI, De Boeve JL, Deaville ER. The principles, practices and some futures applications of Near Infrared Spectroscopy for predicting the nutritive value of foods for animals and humans. Nutr Res Rev. 1997;10:83-114.

Recebido em: 26/04/2013

Aceito em: 16/05/2016