

UNIVERSIDADE ESTADUAL VALE DO ACARAÚ
PROGRAMA DE MESTRADO EM ZOOTECNIA

**NIR PORTÁTIL PARA O MONITORAMENTO NUTRICIONAL DA DIETA
INGERIDA POR PEQUENOS RUMINANTES EM PASTAGENS SEMIÁRIDAS**

FRANCISCA ERLANE BRITO MARTINS

SOBRAL – CE
AGOSTO – 2018

FRANCISCA ERLANE BRITO MARTINS

NIR PORTÁTIL PARA O MONITORAMENTO NUTRICIONAL DA DIETA
INGERIDA POR PEQUENOS RUMINANTES EM PASTAGENS SEMIÁRIDAS

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Zootecnia, da Universidade Estadual Vale do Acaraú, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Nutrição Animal

Orientador: DR. Marco Aurélio Delmondes Bomfim

Co-orientadora: DRA. Sueli Freitas dos Santos

SOBRAL – CE

AGOSTO – 2018

Ficha catalográfica elaborada na seção de Processos Técnicos, da Biblioteca Central da UVA.

Martins, Francisca Erlane Brito
NIR portátil para o monitoramento nutricional da dieta ingerida por pequenos ruminantes em pastagens semiáridas/ Francisca Erlane Brito Martins, CE:UVA, 2018.

Nº páginas: 60

Dissertação (Mestrado em Zootecnia)-Universidade Estadual Vale do Acaraú - Centro de Ciências Agrárias e Biológicas, Sobral, 2018

Orientador: Prof. Ph.D. Marco Aurélio Delmondes Bomfim

1. espectrômetro portátil, 2. NIR SCiO, 3. previsão da composição, 4. pasto, 5. fezes I. Sobrenome, Nome (Orientador).

CDU: 636.32/38

(043.2)

FRANCISCA ERLANE BRITO MARTINS

**NIR PORTÁTIL PARA O MONITORAMENTO NUTRICIONAL DA DIETA
INGERIDA POR PEQUENOS RUMINANTES EM PASTAGENS SEMIÁRIDAS**

Dissertação defendida e aprovada em: ____ / ____ / ____ pela Comissão Examinadora:

Dr. Marco Aurélio Delmondes Bomfim
(Embrapa Caprinos e Ovinos)
Orientador

Dra. Sueli Freitas dos Santos
(Embrapa Caprinos e Ovinos)

Dr. Hélio Henrique Araújo Costa
(Universidade Estadual Vale do Acaraú)

Dr. Everaldo Paulo de Medeiros
(Embrapa Algodão)

AGRADECIMENTOS

Sobre tudo, a Deus: eu te agradeço meu Deus, por todas as bênçãos que recebi e irei receber, pois sei que nunca me abandonarás!

Aos meus pais, Terezinha Brito e Nazareno Martins, e aos meus irmãos Andreza Martins e Anderson Martins por todo amor, carinho e apoio.

Ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual Vale do Acaraú e Embrapa Caprinos e Ovinos pela oportunidade de estudo e formação profissional.

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, através do Centro Nacional de Pesquisas de Caprinos e Ovinos (CNPQ), pelo apoio financeiro para execução desta pesquisa.

Fundação Cearense de apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico – FUNCAP, pelo apoio financeiro concedido durante o Mestrado.

Ao Dr. Marco Aurélio Delmondes Bomfim pela orientação e confiança na execução deste trabalho.

A Sueli Freitas dos Santos pela orientação e conhecimentos compartilhados.

Aos professores do Programa de Pós Graduação em Zootecnia pelos conhecimentos repassados.

Aos colegas de mestrado Ivanderlete, Vidal, Renata, Luísa, Paulo, Diana e Ronaldo, pelos momentos compartilhados de estudos e amizade.

Aos colegas Mikaelle Dutra, Yara Arruda John Clay pela colaboração no decorrer deste trabalho.

Ao Fernando Guedes pelo apoio, compreensão e disposição em me ajudar.

As amigas Gizele Rodrigues e Thaís Sena pela grande amizade, carinho e apoio tanto na vida acadêmica como fora dela.

Ao Hélio Henrique Araújo Costa pela amizade, conselhos e conhecimentos compartilhados.

Aos laboratoristas Liduína Alves (Dona Lidú) e Márcio Ponciano, pela colaboração nas atividades em laboratório.

A Joyce Sampaio, secretária da Coordenação da Pós-graduação em Zootecnia UVA, pela sua disponibilidade e atenção.

Aos colegas de equipe Juliete Lima e Michel Maciel por compartilhar informações para o desenvolvimento deste trabalho.

E a todos que direto ou indiretamente me ajudaram na realização deste trabalho.

Muito obrigada!

Dedico

*Aos meus pais, **Maria Terezinha Brito e Manoel Nazareno Martins Brito** pelo amor e apoio em todos os momentos de minha vida. A vocês todo o meu amor e minha eterna gratidão.*

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	X
LISTA DE FIGURAS.....	XI
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	XII
RESUMO GERAL.....	13
GENERAL ABSTRACT.....	14
CAPITULO 1 – REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
1. INTRODUÇÃO.....	14
2. A IMPORTÂNCIA DA NUTRIÇÃO DE PRECISÃO NA PRODUÇÃO ANIMAL.....	16
3. ESPECTROSCOPIA DE REFLECTÂNCIA DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO.....	17
3.1. Histórico.....	18
3.2. Princípios Básicos.....	19
3.3. Região Espectral NIR.....	20
3.4. Instrumentação NIR.....	22
3.4.1. Fonte de luz	22
3.4.2. Monocromatores.....	22
3.4.3. Suporte de amostras.....	23
3.4.4. Detectores.....	23
4. ESPECTRÔMETRO NIR SCiO....	24
5. QUIMIOMETRIA.....	25
6. APLICAÇÃO DO NIRS À ANALISE DA COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS E DIETA ANIMAL.....	29
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30
CAPITULO 2 - NIR PORTÁTIL PARA A ESTIMATIVA DA COMPOSIÇÃO DA DIETA DE PEQUENOS RUMINANTES EM PASTAGEM NATIVA.....	36
RESUMO.....	37
ABSTRACT.....	38
1. INTRODUÇÃO.....	39

2. MATERIAL E MÉTODOS.....	40
2.1.Descrição dos Experimentos.....	40
2.1.1.Coleta das amostras e análises bromatológicas	41
2.2.Coleta dos espectros fecais.....	42
2.3. Análises Quimiométricas.....	44
2.3.1.Validação dos modelos.....	44
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	46
3.1. Modelos de calibração.....	46
3.2. Validação independente.....	52
4. CONCLUSÃO.....	58
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

	Página
Tabela 1. Modelo esquemático dos perfis da coleta dos espectros das amostras no equipamento NIR SCiO.....	43
Tabela 2. Modelo esquemático dos perfis da coleta dos espectros das amostras de validação no equipamento NIR SCiO.....	45
Tabela 3. Parâmetros estatísticos dos modelos de calibração da proteína bruta.....	47
Tabela 4. Parâmetros estatísticos dos modelos de calibração de digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca.....	49
Tabela 5. Parâmetros estatísticos dos modelos de calibração de digestibilidade <i>in vitro</i> de matéria orgânica.....	50
Tabela 6. Parâmetros estatísticos de validação externa dos modelos de proteína bruta, digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca e digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica das dietas de caprinos e ovinos, usando amostras individuais (experimento 2) para validação	56
Tabela 7. Parâmetros estatísticos de validação externa dos modelos de proteína bruta, digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca e digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria orgânica das dietas de caprinos e ovinos, usando amostras compostas (experimento 2) para validação.....	57

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

	Página
Figura 1. NIR no espectro eletromagnético.....	19
Figura 2. Reflectância Difusa.....	20
Figura 3. Sobretons e bandas de combinação em NIR.....	21
Figura 4. Configuração básica de um espectrômetro NIR.....	22

CAPÍTULO II

	Página
Figura 1. Representação do fluxo de trabalho usando o espectrômetro NIR SCiO na coleta de espectros fecais.....	43
Figura 2. Comprimentos de onda associados aos modelos de previsão do teor de proteína, celulose e lignina na região NIR.....	52
Figura 3. PLS da validação do modelo de transição seca chuva para proteína bruta.....	54

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AOAC – *Association of Official Analytical Chemists*

Bias – Erro sistemático

CV – Validação Cruzada (*Cross Validation*)

DIVMS – Digestibilidade *in vitro* da Matéria Seca

DIVMO – Digestibilidade *in vitro* da Matéria Orgânica

DP – Desvio Padrão

MEMS - Micro Electro Mechanical Systems

NIR - Reflectância no Infravermelho Próximo (*Near Infrared Reflectance*)

NIRS – Espectroscopia de Reflectância no Infravermelho Próximo (*Near Infrared Reflectance Spectroscopy*)

PB – Proteína Bruta

PCA – Análise de Componentes Principais (*Principal Component Analysis*)

PC – Componente Principal (*Principal Component*)

PLS – Regressão por Mínimos de Quadrados (*Partial Least Squares*)

RMSE - *Root Mean Square Error*

RMSEC – Raiz do quadrado médio do erro de calibração (*Root Mean Square Error of Calibration*)

RMSECV - Raiz do quadrado médio do erro de validação (*Root Mean Square Error of Cross Validation*)

RMSEP – Raiz do quadrado médio do erro de previsão (*Root Mean Square Error of Prediction*)

R² - Coeficiente de Determinação

R² cal – Coeficiente de Determinação da Calibração

R² val – Coeficiente de Determinação da Validação

RPD - Desvio Residual de Previsão (*Residual Prediction Deviation*)

SNV - Transformação Padrão de Normal de Variação (*standard normal variate*)

TCS – Transição Chuva Seca

TSC – Transição Seca Chuva

RESUMO GERAL

A Espectroscopia de Refletância do Infravermelho Próximo (NIRS) é uma técnica analítica que efetua análises em amostras orgânicas e algumas inorgânicas, e vem sendo utilizada como uma alternativa aos métodos tradicionais de análises químicas. Nos últimos anos, os dispositivos espectroscópicos portáteis tornaram-se comercialmente disponíveis, apresentando vantagens pelo fato de possibilitar medidas diretamente no campo e pelo custo de aquisição relativamente baixo, quando comparado aos equipamentos NIR de bancada. Por outro lado, os aparelhos NIRS portáteis geralmente possuem uma curta janela de aquisição espectral, além disso, essa faixa espectral pode estar localizada na terceira “overtone” do espectro NIR, que apresenta intensidades de bandas mais fracas quando comparada as demais “overtones”. Assim, objetivou-se avaliar o potencial de um espectrômetro NIR portátil de baixo custo usando uma faixa NIR de comprimento de onda curto para a estimativa do valor nutricional da dieta de pequenos ruminantes em pastagem. Foi utilizado um banco de amostras de fezes e extrusas da Embrapa Caprinos e Ovinos. As amostras de extrusas e fezes foram obtidas de experimentos realizados nos estados de Pernambuco (experimento 1) e Ceará (experimento 2). Nas amostras de extrusa foram determinados os teores de proteína bruta (PB), digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO) e da matéria seca (DIVMS). As amostras de fezes tiveram os espectros coletados e equipamento NIR portátil SCiO (*Consumer Physics Inc*). Previamente à coleta de espectros, as amostras passaram por uma pre-secagem adicional para padronização da umidade em estufa de ventilação forçada a 55°-65° C por três horas, posteriormente alocadas em dessecador por 30 minutos para resfriar em temperatura ambiente, colocados no suporte de amostras, e imediatamente coletados os espectros fecais no equipamento NIR. Os modelos foram desenvolvidos usando a técnica dos Quadrados Mínimos Parciais (PLS), no software SCiO lab™, e selecionados com base no coeficiente de determinação (R^2), raiz do quadrado médio do erro de calibração (RMSEC), bem como na taxa de desvio da performance dos modelos (RPD). Para a validação foram selecionados 25% dos modelos de cada parâmetro (PB, DMS e DMO) com maior R^2 e menor RMSEC. Para o processo de validação, amostras do experimento 2 (individuais e compostas) foram selecionadas a partir da ferramenta “*Evenly Distributed Samples*”, no software *The Unscrambler*®, versão 10.2 (Camo Inc, Oslo, Norway), para compor o banco de validação. A validação foi avaliada com base no coeficiente de determinação da validação (R^2), raiz do quadrado médio do erro de previsão (RMSEP), “bias” e a relação de desempenho de desvio dos modelos (*Ratio of Performance to Deviation* – RPD). No desempenho dos modelos de calibração, àqueles desenvolvidos para a espécie ovina e modelos desenvolvidos com amostras compostas apresentaram um melhor desempenho, em relação aos demais modelos, sendo considerados modelos ajustados. Para a previsão dos parâmetros de proteína bruta e digestibilidade os modelos desenvolvidos são considerados não confiáveis, por outro lado, o modelo para de transição seca chuva poderia ser utilizado nas previsões do teor de proteína bruta. A utilização do equipamento considera-se um nível de acurácia e precisão toleráveis em função do baixo custo e praticidade que o equipamento oferece.

Palavras-chave: Previsão da composição, NIR portátil, Análises Químicas, espectroscopia NIR

GENERAL ABSTRACT

The Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) is an analytical technique that performs analyzes on organic and some inorganic samples and has been used as an alternative to traditional methods of chemical analysis. In recent years, portable spectroscopic devices have become commercially available and have advantages in that they enable measurements directly in the field and at a relatively low acquisition cost when compared to bench-top NIR devices. On the other hand, portable NIRS devices usually have a short window of spectral acquisition, in addition, this spectral band may be located in the third overtone of the NIR spectrum, which presents lower band intensities when compared to other overtones. The objective of this study was to evaluate the potential of a low cost portable NIR spectrometer using a short wavelength NIR range for estimating the nutritional value of the diet of small ruminants in pasture. It was used the bank sample of faeces and extrusas of Embrapa Goats and Sheep. The samples of extrusas and faeces were obtained from experiments carried out in the states of Pernambuco (experiment 1) and Ceará (experiment 2). In the extrusa samples the crude protein (CP), in vitro dry matter digestibility (IVDMD) and organic matter (IVOMD) were determined in the extrusa samples. Faeces samples had the spectra collected and SCiO portable NIR equipment (*Consumer Physics Inc.*). Prior to the collection of spectra, the samples were subjected to an additional pre-drying to standardize the humidity in a forced ventilation oven at 55°-65° C for three hours, then stored in the desiccator for 30 minutes to cool to room temperature, and immediately collected the fecal spectra in the NIR SCiO equipment. The models were developed using the Partial Least Squares (PLS) technique in the SCiO lab™ software, and were selected based on the coefficient of determination (R^2), root mean square of the calibration error (RMSEC), and the model performance deviation (RPD). The validation was evaluated based on the coefficient of determination of the validation (R^2), root mean square of the prediction error (RMSEP), bias and the relation of performance of deviation of the models (Ratio of Performance to Deviation - RPD). In the performance of the calibration models, the models developed for the ovine species and models developed with composite samples presented a better performance, in relation to the other models, being considered adjusted according to the RPD. For the prediction of the parameters of crude protein and digestibility the developed models were considered unreliable, on the other hand, the model for transition dry rain could be used in predictions of crude protein content. The use of the equipment is considered a level of accuracy and precision tolerable due to the low cost and practicality that the equipment offers.

Keywords: Composition prediction, portable NIR, Chemical Analysis, NIR spectroscopy

CAPÍTULO 1

REFERENCIAL TEÓRICO

1. INTRODUÇÃO

Na nutrição animal, a análise de alimentos é uma ferramenta de grande importância para as formulações de dietas, uma vez que a composição dos alimentos pode sofrer alterações em função de fatores como espécie, gênero e tipo de manejo, contribuindo para adequado balanceamento da dieta, que implica no suprimento de nutrientes para a produção, saúde animal e na eficiência econômica da atividade evitando o desperdício de alimentos e assim perdas econômicas.

Existem várias técnicas de análises químicas utilizadas para quantificar os atributos de qualidade dos alimentos e fornecer subsídios para a formulação de dietas. No entanto, as metodologias tradicionais utilizadas pelos laboratórios de nutrição animal, levam um tempo para realização completa dessas análises. Outro fator limitante é a geração de resíduos químicos além dos custos que representam barreiras que dificultam o acesso, principalmente dos médios e pequenos produtores.

A Espectroscopia de Refletância do Infravermelho Próximo (NIRS - Near Infrared Reflectance Spectroscopy) vem se destacando como uma alternativa aos métodos analíticos tradicionais para determinar o valor nutritivo dos alimentos e também na previsão da composição da dieta de animais em pastagens. A tecnologia NIRS não demanda por reagentes (não gera resíduos), não destrói as amostras (preserva a amostra para análises posteriores) e efetua análises rápidas a um baixo custo.

A utilização do NIRS pelo método fecal em pastagens apresenta-se como um método promissor, devido às dificuldades nas coletas de amostras, principalmente pela diversidade de plantas que compõem a dieta dos animais. Inúmeros estudos destacam o potencial do NIRS aplicado à análise da dieta de animais a pasto, promovendo o uso desta técnica analítica para rápida determinação da composição da dieta animal a partir da análise fecal.

Nos últimos anos a tecnologia NIR alcançou considerável progresso em termos de miniaturização e portabilidade dos dispositivos espectroscópicos. Os equipamentos NIR portáteis apresentam vantagens por possibilitar medidas *in situ* e pelo custo de aquisição relativamente baixo, quando comparados aos equipamentos NIR de bancada. Assim, objetivou-se com esta revisão apresentar a aplicação da técnica NIRS como alternativa aos métodos tradicionais de determinação da composição química dos alimentos e da dieta de animais a pasto, bem como apresentar a técnica NIR e introduzir uma breve abordagem sobre um dispositivo NIR portátil de baixo custo.

2. A IMPORTÂNCIA DA NUTRIÇÃO DE PRECISÃO NA PRODUÇÃO ANIMAL

O manejo nutricional é considerado um dos mais importantes dentro do sistema produtivo, pois é a partir dos alimentos que os animais irão receber o aporte de nutrientes para o desempenho de suas funções vitais. Além disso, uma dieta que atenda as necessidades dos animais é um fator de importância, uma vez que a deficiência de nutrientes pode ocasionar doenças, perda de peso, baixa produtividade e conseqüentemente prejuízos econômicos. Por outro lado, a alimentação é o componente que mais contribui para a elevação dos custos na maioria dos sistemas produtivos. Portanto, a adoção de medidas e tecnologias que busquem reduzir os custos de produção implica em maior lucratividade ao produtor, contudo, é necessário que a nutrição de precisão seja aplicada.

A nutrição de precisão é consiste no fornecimento de alimentos aos animais de maneira que atendam as exigências nutricionais (sem excesso ou escassez), para ótima eficiência produtiva, contribuindo para preservação do meio ambiente, e ao mesmo tempo, garantindo a rentabilidade da atividade¹.

A criação de precisão é a gestão dos sistemas de produção pecuária utilizando os princípios e a tecnologia da engenharia de processos, tais como equipamentos, dados ou *softwares* que permitam o uso de informações para direcionar decisões, insumos e tratamentos com maior precisão, utilizando-se também dos conhecimentos de nutrição e manejo, o que contribui também para minimizar o impacto da produção de alimentos de origem animal sobre o meio ambiente^{2,3}.

Nos últimos anos, em decorrência do aumento dos custos de produção, principalmente àqueles relacionados à alimentação, o uso da nutrição de precisão tornou-se cada vez mais frequente no dia a dia das fazendas, o que implica diretamente na diminuição da compra de alimentos, reduzindo a concentração total dos teores de proteína e fósforo na alimentação fornecida, minimizando assim o impacto ambiental pela redução das concentrações desses nutrientes no ambiente^{4,5,6}.

Uma das ferramentas para aplicação da nutrição de precisão é formulação de ração mais precisa, com base no conhecimento das exigências nutricionais dos animais e no valor nutricional de cada lote de ingrediente, pesagem e mistura adequada dos ingredientes, aditivos para alimentação animal e técnicas de processamento de alimentação melhoradas¹.

Para formulação de uma dieta precisa é necessário fazer a análise química, para conhecer o valor nutricional de cada alimento. Atualmente estão disponíveis procedimentos rápidos de análise química, tecnologias como análise de infravermelho próximo (NIRS), espectroscopia de fluorescência de raio X, tecnologia laser e ensaios *in vitro*. Equações de predição podem ser desenvolvidas a partir das informações obtidas com essas tecnologias, e assim conhecer o valor dos nutrientes contidos nos ingredientes das rações, para ajudar a obter uma formulação de dieta mais precisa¹.

3. ESPECTROSCOPIA DE REFLECTÂNCIA DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (NIRS)

3.1. Histórico

Em 1666, o experimento clássico de Newton explicou pela primeira vez de forma clara, o fenômeno da decomposição da luz, quando a luz branca passando por um prisma resultou na separação dos seus constituintes em espectros de diferentes cores, onde se obtiveram as sete cores do arco-íris. Posteriormente, em 1800, William Herschel estudou uma região desse espectro, colocando o bulbo de um termômetro em cada uma das regiões coloridas do espectro solar, foi observado que a temperatura do mercúrio aumentava pela incidência da luz, mas esse aumento era mais rápido quanto mais próximo da extremidade vermelha, e ao testar a região não iluminada depois do vermelho, descobriu que a temperatura subia ainda mais rapidamente. A radiação invisível que provocava aumento de temperatura nessa região foi denominada, mais tarde de infravermelho^{7,8}.

O surgimento do primeiro espectrofotômetro NIR se deu em 1954, quando a indústria de plásticos juntamente com o setor agrícola impulsionaram o desenvolvimento e modernização dos equipamentos NIR. Em 1960, Karl Norris do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, deu início à investigação de novos métodos para determinação da umidade em produtos agrícolas. Aplicando o NIR à análise desses produtos, reconheceu o potencial da medição da reflectância difusa na região NIR para análise rápida de grãos, verificando que estes materiais agrícolas exibiam bandas de absorção específicas na região NIR. O primeiro resultado foi publicado em 1965, mas foi apenas em 1980 que os instrumentos NIR se tornaram disponíveis^{9,10}.

Desde então, a tecnologia NIRS tem sido aplicada a diversas áreas como a agrícola, médica, ambiental, petroquímica e farmacêutica. Quando comparada aos outros métodos de análise, a espectroscopia NIR tem mais vantagens, pois, em geral, não precisa de preparação de amostras, não gera resíduo, sendo uma análise rápida e não destrutiva¹¹.

3.2. Princípios Teóricos

A região espectral do Infravermelho Próximo (Figura 1) compreende a região do espectro eletromagnético posterior ao visível (750nm a 2500nm), região indicativa das vibrações da molécula de hidrogênio: C-H, S-H, O-H e N-H¹².

O espectro NIR é originário da energia de radiação transferida para energia mecânica associada ao movimento de átomos mantidos em conjunto por ligações químicas em uma molécula. Nas moléculas, os átomos ou o grupo de átomos que participam de ligações químicas estão em constante movimento, se deslocando um em relação ao outro, designados movimentos vibracionais. As amplitudes dessas vibrações são de alguns nanômetros e aumentam caso alguma energia for transferida para a molécula. Essa energia pode ser transferida de um fóton de um determinado comprimento de onda^{12,13}.

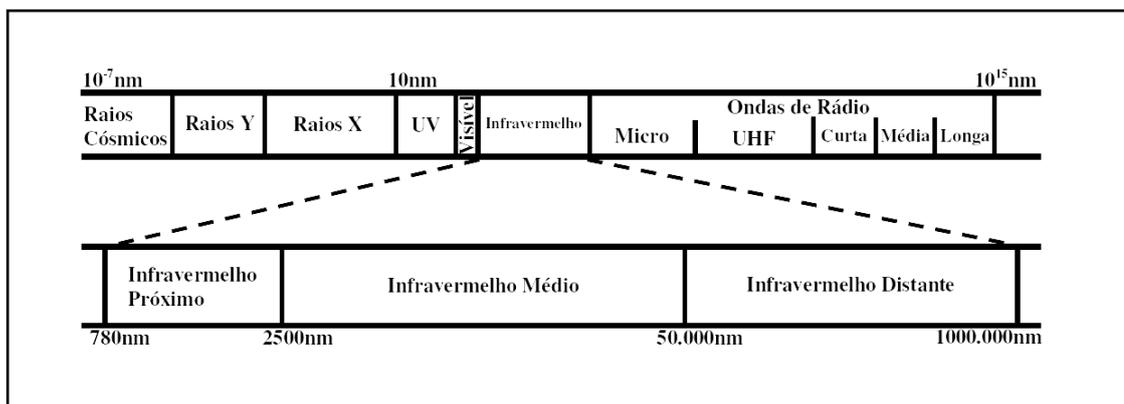


Figura 1. NIR no Espectro Eletromagnético¹⁴

Um dos princípios da espectroscopia é a interação das vibrações moleculares originadas pela incidência da radiação eletromagnética na amostra, que se dá quando a radiação incide na molécula provocando a excitação dos modos vibracionais, e com isso é possível que ocorra absorção por parte da molécula. O princípio mecânico seria incidir uma

luz de comprimento específico e conhecido da região do infravermelho próximo sobre uma amostra, que irá absorver a energia, e o que não for absorvido será refletido e captado pelos detectores. O espectro, portanto, é o resultado da diferença entre a energia de radiação emitida e a refletida (absorvida) na forma de luz por moléculas orgânicas^{12,15}.

Os espectros resultantes podem ser utilizados para identificar compostos químicos, uma vez que a energia absorvida por par de átomos é específica, assim como para o tipo e número de átomos em questão, e desse modo é possível diferenciar o conjunto de átomos, ou seja, os componentes químicos da amostra^{16,17}.

As interações da radiação eletromagnética com a matéria podem ocorrer, por meio de absorvância, reflectância, transmitância e transfectância, dependendo do instrumento usado para análise. Os mais utilizados são reflectância e transmitância, o primeiro para sólidos e o outro para líquidos¹⁸. O método de reflexão difusa (Figura 2) é aplicado geralmente aos sólidos, e permite à medida da reflectância uma relação entre a intensidade da luz refletida pela amostra e a refletida por uma superfície refletora. A radiação pode penetrar a uma profundidade substancial no interior da amostra, sendo absorvida pelas combinações de vibrações e ressonâncias parciais das substâncias em análise presentes na amostra¹³.

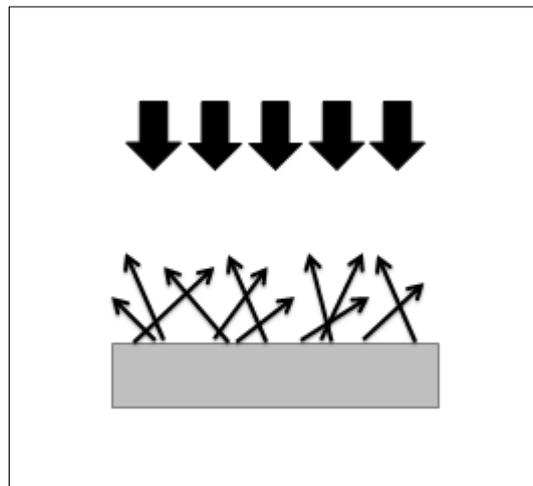


Figura 2. Reflectância Difusa. Adaptado¹⁹

3.3.Região Espectral NIR

As vibrações moleculares existem na região NIR na forma de X-H, onde X é carbono, nitrogênio ou oxigênio. A matéria orgânica presente nas amostras tem impressões

espectrais distintas na região NIR devido à absorção relativamente forte de sobretons e modos de combinação em relação a vários grupos funcionais, como C-H (alifático), C-H (aromático), C-O (carboxilo), O-H (hidroxilo) e N-H (amina e amida), geralmente presentes nos compostos orgânicos. Os sobretons são bandas com valores de frequência correspondentes a múltiplos inteiros dos modos normais de vibração, enquanto as combinações surgem pela interação de duas ou mais vibrações ocorrendo ao mesmo tempo^{9,12,20}.

As moléculas orgânicas possuem padrões de absorção específicos na região do infravermelho próximo, e assim, é possível prever a composição química do material a ser analisado. Uma banda de absorção NIR é produzida quando a radiação NIR a uma frequência específica vibram à mesma frequência que uma ligação molecular na amostra. Um pico de absorção é definido como a maior absorção em uma banda, e as absorções são definidas por três parâmetros: localização, altura e largura^{9,20}.

De acordo com as vibrações moleculares, a faixa de frequência NIR pode ser dividida em quatro intervalos (Figura 3): terceiro sobreton (700-1000nm), segundo sobreton (1000-1408nm), primeiro sobreton (1408-2040nm) e região de combinação (2040-2500nm)¹⁹. Os sinais das bandas envolvidas tornam-se mais fracas por uma ordem de grandeza: o terceiro sobreton apresenta intensidades de banda consideravelmente mais fracas quando comparadas aos segundo e primeiro sobreton^{21,22}.

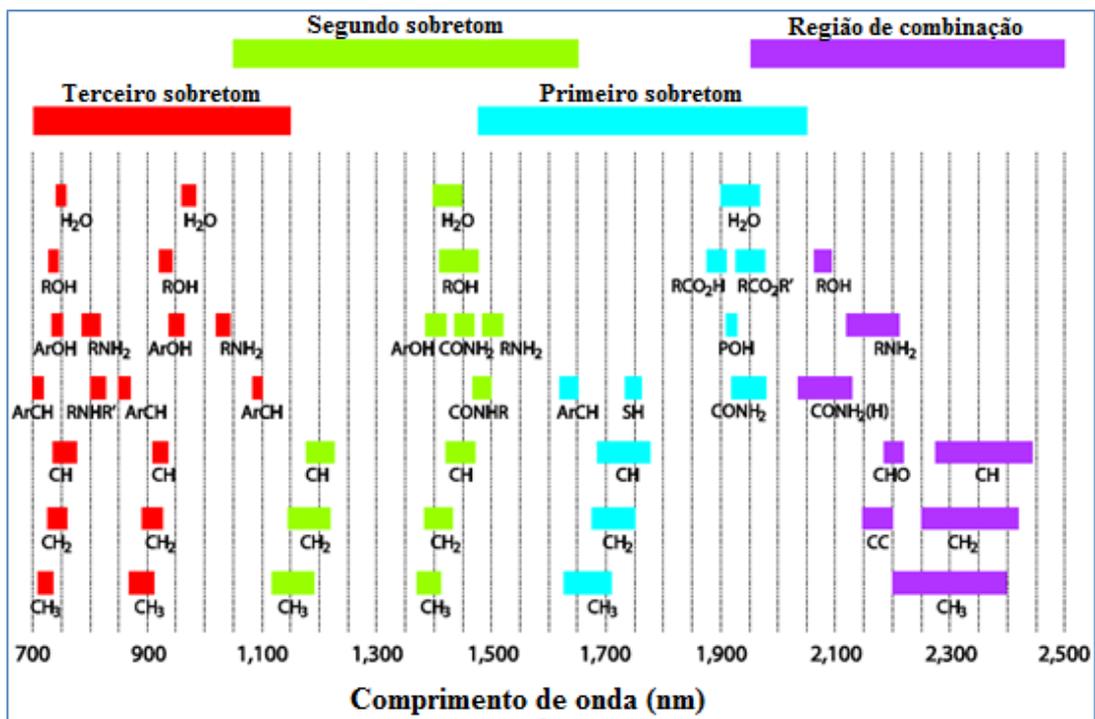


Figura 3. Sobretons e bandas de combinação em NIR²³

3.4. Instrumentação NIRS

O espectrômetro NIR é composto por uma fonte de luz, um monocromador, um suporte de amostra e um detector que permite medições de transmitância ou reflexão (Figura 4). A escolha e combinação desses dispositivos em um instrumento determinam sua faixa de operação, características espectrais e eficiência ²⁴.

3.4.1. Fonte de luz

Geralmente é uma lâmpada de halogêneo de tungstênio. Espectrômetros de matriz de diodos empregam uma série de diodos emissores de infra-vermelho, que funcionam como fonte de luz e sistema de seleção de comprimento de onda. O instrumento da matriz de diodos cobre periodicamente o intervalo de 400-1700 nm, e possui a vantagem da medida ser muito rápida e não invasiva. Esses recursos são particularmente úteis quando é necessária uma alta taxa de transferência de amostras ou medidas on-line ultrarrápidas ^{25,26}.

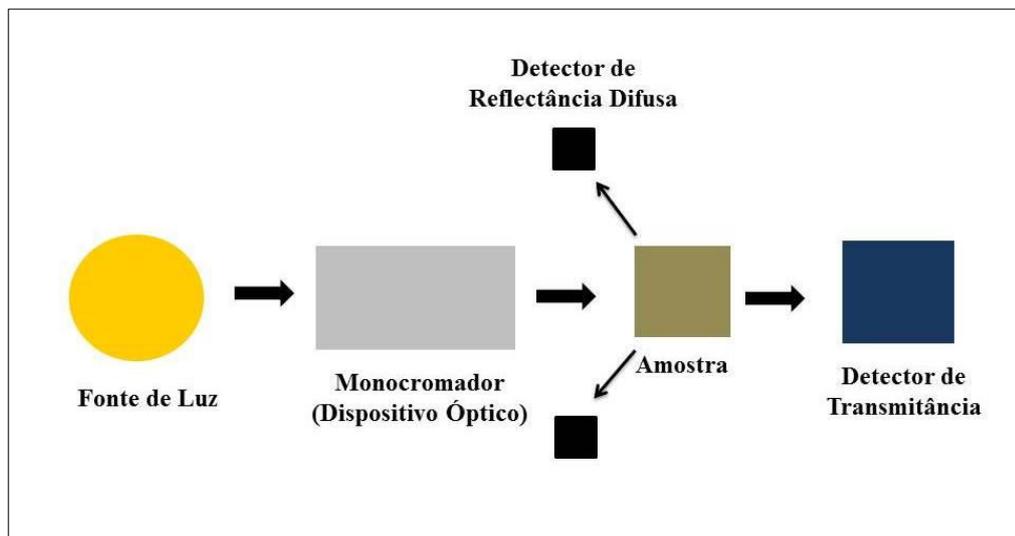


Figura 4. Configuração básica de um espectrômetro NIR. Adaptado¹⁹

3.4.2. Monocromadores

São usados para medir o espectro visível completo de NIR e podem ser usados no modo de transmitância ou reflectância²⁶.

3.4.3. Suporte de amostras

Existem vários tipos de suporte de amostras, e as células são de tamanhos e materiais variados, como de quartzo, copos e suportes de amostra ajustados para comprimidos e capsulas. Alguns instrumentos usam copos de amostra redondos para amostras secas, sólidas e granuladas que giram para “escanear” e eliminar a falta de homogeneidade da amostra²⁷.

3.4.4. Detectores

Existem três tipos de detectores diferentes, um detector de silício que cobre a faixa de 400-1100 nm, um de arsenieto de índio e gálio que cobre a faixa de 800-1700 nm e um sulfeto de chumbo na faixa de 1100-2500 nm. Alguns instrumentos contêm detectores de sulfeto de silício e chumbo (dando-lhes uma faixa de comprimento de onda de 400-2500 nm), alguns apenas o sulfeto de chumbo²⁶.

Os equipamentos NIR podem apresentar algumas particularidades de acordo com o fabricante ou quanto ao tipo de equipamento, portátil ou de bancada (fixo). Em geral, os equipamentos NIR de bancada são equipados com interferômetros e melhores propriedades ópticas (por exemplo, melhor relação sinal-ruído, sensibilidade e resolução óptica). Nos últimos dois anos, a maioria dos instrumentos portáteis foram avaliados para aplicações em praticamente todas as áreas, onde os espectrofotômetros de bancada convencionais foram originalmente empregados²⁹. Em geral os resultados demonstraram um bom desempenho, embora inferior, comparados aos instrumentos convencionais, como avaliado em algumas pesquisas^{28,29,30,31}.

O avanço progressivo da instrumentação NIRS nos últimos anos tornaram os instrumentos portáteis disponíveis, e alguns fabricantes aproveitaram ao máximo os avanços nos processos de microeletrônica e MEMS (Micro Electro Mechanical Systems) ou micro-fabricação, para produzir pequenos dispositivos que são usados para montar instrumentos completos. Esses instrumentos são alimentados por bateria, possuem fontes de radiação internas (destinadas a medições de refletância) e oferecem tecnologias modernas de troca de dados digitais sem fio, como o *Bluetooth*®. Eles operam de modo autônomo e são chamados

de instrumentos “micro” devido ao seu baixo peso (cerca de 100 g) e tamanho compacto, aproximando-se em média de uma caixa de 10 X 10 X 10 cm ou menor²⁹.

4. ESPECTRÔMETRO NIR SCiO

O NIR SCiO é um sensor novo e de baixo custo produzido pela empresa israelense *Consumer Physics Inc*®. É um espectrômetro NIR de bolso, que possui tamanho de 6,8 x 4,1 x 1,9 cm, com peso de 0,035 kg, usando uma faixa NIR de comprimento de onda curto, estendendo-se de 700nm a 1070nm, na região do terceiro “overtone” no espectro NIR, com intervalo de leitura de 50 nm, onde a fonte de luz é incorporada a um detector de silício³².

A coleta de dados é controlada através do aplicativo móvel SCiO Lab™ para Adroid ou iOS, podendo ser operado por um smartphone, tablet ou iPhone, onde o equipamento NIR se conecta pela tecnologia sem fio *Bluetooth*. Os espectros coletados são automaticamente armazenados em um conjunto de dados em base de nuvem com seus valores de referência correspondentes, no aplicativo SCiO lab™, no qual os espectros podem ser explorados via internet. O aplicativo SCiO lab™ é um kit de desenvolvimento de aplicativos, onde os usuários podem criar seus próprios aplicativos para análise de materiais com o uso do SCiO.

O equipamento oferece praticidade e facilidade para análise de amostras, que pode ser efetuado de modo relativamente simples: com o equipamento conectado ao *Bluetooth* do smathphone ou tablet, é só apontar o equipamento na amostra desejada, escaneá-la, e em alguns segundos na tela do celular ou tablet apresentará os parâmetros de análise da amostra. O equipamento é constituído com acessórios de suporte de amostras e de sombra, que ajudam a evitar a influência da luz externa quando os espectros são coletados, além disso, ajuda a manter a mesma distância de 1 cm entre a luz e a amostra, em todos os espectros coletados.

Trabalhos apontam o potencial desse dispositivo na detecção de comprimidos falsificados³², na determinação do tempo de armazenamento de ovos³³ e na análise qualitativa de manchas de sangue³⁴, destacando o baixo custo de aquisição e a facilidade de uso do equipamento.

5. QUIMIOMETRIA

O NIRS é uma tecnologia na qual se utiliza dos métodos computacionais para analisar dados químicos, para que a compreensão desses dados é necessário utilizar ferramentas que auxiliem na extração de informações. Para isso, aplica-se a quimiometria, que é uma área da química analítica destinada à análise de dados químicos de natureza multivariada, utilizando-se técnicas matemáticas e estatísticas para extração de informações relevantes a partir de dados analíticos, facilitando assim a interpretação^{12,35,36}.

A quimiometria surgiu na década de 70, porém somente na década de 80 começou a se expandir e, desde então, devido à capacidade dos equipamentos de adquirir grandes quantidades de dados, a quimiometria tornou-se ferramenta indispensável para análise de dados químicos. A quimiometria abrange diversas áreas, dentre as quais o planejamento de experimentos, o reconhecimento de padrões e a calibração multivariada. A calibração multivariada procura determinar um modelo que relacione medidas químicas ou espectrais com determinadas propriedades (concentração de um componente, por exemplo)^{37,38,39}.

O uso de instrumentos computadorizados nos laboratórios para analisar dados químicos é, sem dúvida, uma técnica formidável. No entanto, esses instrumentos não produzem exatamente a concentração de um determinado composto químico em uma amostra, um exemplo disso é o espectrofotômetro NIR que registra as absorvâncias nos determinados comprimentos de onda em uma amostra³⁵. Portanto, para a obtenção de uma resposta analítica em NIRS é necessário que o equipamento seja calibrado.

A calibração consiste no processo de criação de um modelo de predição, onde são correlacionadas informações químicas contidas nos espectros com informações de análises químicas tradicionais como referência, e assim desenvolvidas equações matemáticas de previsão dos componentes químicos de interesse em uma amostra. Em outras palavras, objetivo da calibração é relacionar os espectros observados, de forma preditiva, a uma propriedade de interesse. Para o processo de calibração é selecionado um conjunto de amostras, cuidadosamente com critérios pré-estabelecidos, de forma a obter amostras representativas, que serão utilizadas na construção de um modelo, sendo essas relacionadas as respostas instrumentais com a informação desejada^{18,40,41}.

Um dos métodos mais importantes utilizados para análise de dados quimiométricos é a análise de componentes principais (*Principal Component Analysis*, PCA), que é utilizada para visualização da estrutura dos dados, além de propiciar a verificação de similaridades

entre amostras, na detecção de amostras anômalas (“outliers”) e reduzir a dimensionalidade do conjunto de dados através da representação do conjunto de dados em um novo sistema de eixos, denominados componentes principais (PC), essas são organizadas em ordem decrescente de importância, onde a primeira PC (PC1) descreve a máxima variância dos dados originais, a segunda PC (PC2) descreve a máxima variância que não foi considerada pela PC1, e as próximas PCs descrevem a máxima variância restante. A PCA é a base para a calibração multivariada, permitindo a visualização da natureza multivariada dos dados em poucas dimensões^{39,42}.

A aplicação bem sucedida de métodos de calibração multivariada depende do grau de variância não informativa nos espectros NIR. Portanto, a etapa de pré-processamento dos dados é fundamental para o sucesso da análise multivariada, sendo necessário muitas vezes realizar alguns pré-processamentos nos espectros. Os pré-processamentos visam remover informações físicas e/ou instrumentais (ruído de dados) que não estão relacionadas à informação química de interesse da amostra, tornando a matriz de dados melhor condicionada para a análise, possibilitando a subsequente análise exploratória do conjunto de dados com eficiência^{39,41,4}. Dentre os pré-tratamentos os mais utilizados são a correção de dispersão multiplicativa (MSC), a variação padrão normal (SNV) e métodos de remoção de problemas de linha de base.

A correção de dispersão multiplicativa (*Multiple Scatter Correction* - MSC) reduz o efeito da luz dispersa na reflexão difusa e na transmissão dos espectros NIR, removendo a influência de efeitos físicos nos espectros como o tamanho de partícula, a rugosidade e opacidade, os quais não trazem informações químicas sobre as amostras e introduz variações espectrais, como o deslocamento da linha de base. A variação padrão normal (*Standard Normal Variate* - SNV) reduz a influência de variações indesejadas presentes no conjunto de dados, garantindo que cada observação seja representada de forma adequada e consistente^{39,44,45}.

O Savitzky-Golay é considerado um dos melhores métodos na remoção de problemas da linha de base. Nesse método, seleciona-se uma janela, constituída por um certo número de variáveis. Os pontos na janela são utilizados para determinar o valor no ponto central, assim, o tamanho da janela influencia diretamente o resultado do alisamento. A 1ª derivada de um espectro é uma medida do declive da curva espectral em cada ponto. A inclinação da curva não é afetada pelos deslocamentos da linha de base do espectro e, assim, a

primeira derivada é um método muito eficaz para remover os efeitos de base, porém tem a desvantagem de os espectros resultantes serem complexos^{13,39}.

A regressão por Quadrados Mínimos Parciais (*Partial Least Squares*, PLS) é um dos métodos de calibração multivariada mais utilizado, em que usa a análise de componentes principais para redução da dimensionalidade do conjunto de dados para posterior correlação os espectros (matriz X) e as propriedades de interesse (matriz Y). O PLS utiliza a informação da matriz de dados X (variáveis independentes - dados espectrais) e da matriz Y (variáveis dependentes - propriedade a ser analisada, concentração), obtendo-se novas variáveis denominadas variáveis latentes, fatores ou componentes (equivalentes as PCs na PCA). Além disso, no PLS é possível diagnosticar de forma fácil a presença de “outliers”, que podem ser identificados a partir da observação das amostras com valores de resíduos superiores aos da média do conjunto de calibração, que são removidas^{43,46}.

Uma amostra que apresenta características substancialmente diferentes das demais do conjunto de calibração é determinada como “outlier”, e essas diferenças podem ser o resultado de erros de técnicas de calibração primária, erros de transição de dados, erro do espectrofotômetro, erros de manipulação de amostras ou variação das condições ambientais (temperatura e umidade). Os “outliers” podem ser detectados com o uso das ferramentas de diagnóstico dos métodos multivariados, sendo o número típico e aceitável de 5% a 10% do conjunto da calibração¹³.

Depois de calibrada, a equação deve ser validada, processo que consiste em avaliar a capacidade de predição da equação de calibração desenvolvida. A validação que pode ser feita por dois métodos geralmente utilizados em calibrações NIRS: na validação externa, utilizam-se amostras diferentes daquelas usadas no processo de calibração, com valores de referência conhecidos; na validação cruzada (CV – do inglês, *Cross Validation*), cada amostra ou uma proporção pré-determinada de amostras são removidas sequencialmente do conjunto de calibração, e predita por uma equação desenvolvida com as demais amostras^{41,47}.

A eficiência dos modelos é determinada normalmente pela acurácia e precisão, e são avaliados pelo cálculo dos valores do erro médio de calibração (RMSE – do inglês, *Root Mean Square Error*) e coeficiente de determinação (R^2) dos valores previstos e de referência. Estes valores expressam a exatidão do modelo, ou seja, a proximidade entre o valor calculado pelo modelo (y_{prev}) e o valor verdadeiro ou obtido por um método de referência (y_{real}). Esses erros podem ser calculados a partir da auto-predição das amostras de calibração (raiz do quadrado médio do erro de calibração - RMSEC), da validação cruzada das mesmas (raiz do

quadrado médio do erro de validação cruzada – RMSECV) e da predição de amostras externas (raiz do quadrado médio do erro de previsão - RMSEP) ^{48,49,50}. O RMSEC e o RMSEP podem ser calculados de maneira similar, através da fórmula:

$$RMSEP (RMSEC) = \sqrt{\sum_{i=1}^{Np} \frac{(y_{prev} - y_{real})^2}{N}}$$

Onde:

y_{prev} = valor previsto de cada amostra;

y_{real} = valor de referência de cada amostra;

N = número de amostras.

Outro fator considerado útil para avaliar a qualidade da eficiência dos modelos é Desvio Residual de Previsão (*Residual Prediction Deviation* – RPD), que permite comparações entre calibrações para diferentes variáveis, uma vez que possibilita a padronização do erro padrão da previsão, e assim com base no valor da RPD e na finalidade da predição, a adequação de um modelo de calibração pode ser decidida ^{48,51,52,53}. O valor de RPD é a relação entre o desvio padrão dos dados de referência (SD) o erro padrão da validação cruzada (SECV) ou erro padrão da validação externa (SEP):

$$RPD = Sd / RMSEP$$

Onde:

RMSEP= erro médio de validação;

Sd = desvio padrão da amostra.

O RPD pode ser agrupado em três classes: na classe “A” modelos com RPD > 2,0 são considerados modelos excelentes, apresentando valores de R² entre 0,80 e 1,00; classe “B” modelos com RPD entre 1,4 a 2,0 são considerados modelos ajustados, apresentando R² variando entre 0,5 e 0,8 e classe “C” modelos com RPD <0,5 são considerados não confiáveis, apresentando R² <0,5 ⁵⁴.

6. APLICAÇÃO DO NIRS À ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS E DIETA ANIMAL

A tecnologia NIRS tem sido aplicada para previsão da composição de alimentos e dieta de animais a pasto. É uma técnica vantajosa, pois não requer o uso de reagentes (não gera resíduos), não é destrutiva (amostra preservada para análises posteriores), análise rápida (alguns segundos) e permite a análise de vários parâmetros em uma única análise⁴⁷.

A tecnologia NIRS é aplicada a partir dos métodos direto e indireto, em que o método direto consiste em correlacionar o espectro do alimento com análise química como referência. O método indireto por sua vez, consiste na correlação do espectro fecal com a análise química da dieta como referência, para prever a qualidade da dieta consumida pelos animais⁴⁷. Lyons e Stuth⁵⁵ foram os primeiros a aplicar o método indireto, o que logo deu início a vários trabalhos realizados utilizando o NIRS fecal, pelo mundo: ovinos⁵⁶, bovinos^{55,57} e caprinos^{58,59,60}.

No NIR fecal os produtos finais de digestão ou fermentação podem ser escaneados, e os componentes primários que contribuíram para formação desses produtos podem ser previstos, uma vez que à medida que a química da dieta muda, os subprodutos da digestão (resíduos vegetais, corpos microbianos, metabolitos secundários, tecido moído, etc.) também mudam, assim a utilização da análise fecal para prever a qualidade da dieta do animal consiste da teoria que a química fecal reflete amplamente a composição da dieta, e partir disso é possível calibrar equações para prever a composição da dieta a partir do espectro fecal^{47,61}.

Para efetuar a coleta de fezes e correlacioná-la com a respectiva dieta, é preciso que a coleta seja feita no intervalo de tempo em que a matéria indigestível das fezes represente a dieta, e para isso o protocolo geral para pequenos ruminantes em áreas de pastagens é realizar a coleta das fezes 24h após a amostragem da dieta. O mesmo procedimento não se aplica para animais que pastejam em gramíneas tropicais: ovelhas pastejando em gramíneas tropicais excretam a matéria indigestível até 48h após a ingestão, desse modo, a coleta para animais em pastagens tropicais deve ser feita 48h após a coleta de amostra da dieta^{61,62, 63}.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. D.V. Reddy, and N. Krishna, “Precision animal nutrition: a tool for economic and ecofriendly animal production in ruminants”, *Livestock Research for Rural Development* 21(3) (2009).
2. A.F. Blanco, and M.P. Osmari, “Nutrição de precisão e impacto ambiental”, IV Congresso Latino Americano de Nutrição Animal, Campinas, São Paulo: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal 600: 307-316 (2010).
3. C.M. Wathes, H.H. Kristensen, J.M. Aerts, and D. Berckmans, “Is precision livestock farming an engineer's daydream or nightmare, an animal's friend or foe, and a farmer's panacea or pitfall?”, *Computers and Electronics in Agriculture* 64: 2–10 (2008).
4. R.E. James and B. Cox, “Feeding management to reduce the environmental impact of dairy farms”, *Florida Dairy Production Conference 45th*, .Proceedings 45th Florida Dairy Production Conference, Gainesville. University of Florida, p.31-42 (2008).
5. S. Cela, Q.M. Ketterings, K. .; Czymmek, M. Soberon and C. Rasmussen, “Characterization of nitrogen, phosphorus, and potassium mass balances of dairy farms in New York State”. *Journal of Dairy Science* 97:7614-7632 (2014).
6. S. Cela, Q.M. Ketterings, K. .; Czymmek, M. Soberon and C. Rasmussen, “Long-term trends of nitrogen and phosphorus mass balances on New York State dairy farms”, *Journal of Dairy Science* 98: 7052-7070 (2015).
7. M. Blanco and I. Villarroya, “NIR Spectroscopy: A Rapid-Response Analytical Tool”, *Trends in Analytical Chemistry* 21:240-250 (2002).
8. R.A. Oliveira e A.P.B. Silva, “William Herschel, os raios invisíveis e as primeiras ideias sobre radiação infravermelha”, *Revista Brasileira de Ensino de Física* 36(4): 4603 (2014).
9. J.S. Shenk, J.J. Workman and M.O. Westerhaus, “Application of NIR spectroscopy to agricultural products”, in: Burns, D.A.; Ciurczak, E.W. *Handbook of near-infrared analysis*. 3.ed. cap.17, London: New York, p. 347-386 (2008).
10. L.O Ceitil, “Process Analytical Technology in Active Pharmaceutical Ingredients Production”, *Dissertação (Doutorado em Engenharia Química)*. Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa (2007).
11. F.B. Gonzaga, F. B. 2006. “Desenvolvimento de um Espectrômetro de Emissão para a Região no Infravermelho Próximo”, Campinas. Tese (Doutorado em Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas (2006).

12. C. Pasquini, C. “Near infrared spectroscopy: fundamentals practical aspects and analytical applications”, *Journal of the Brazilian Chemical Society* 14:138-219 (2003).
13. P.F. Costa, “Aplicações da Espectroscopia de Radiação Infravermelha Próxima FT-NIR na Monitorização de Processos Farmacêuticos”, Lisboa, Portugal: Instituto Superior Técnico - Universidade Técnica de Lisboa, Tese (Mestrado em Biotecnologia) - Instituto Superior Técnico (2000).
14. A. M. Araújo, “Monitoramento de processos em tempo real via espectrofotometria no infravermelho próximo”. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos). Universidade Tiradentes, Aracajú (2007).
15. M. F. Almeida, “Espectroscopia de Infravermelho Próximo com Transformada de Fourier (FT-NIR) na Caracterização de Farinhas para Alimentação Pueril”. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biológica). Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa (2009).
16. G. Reich, “Near-infrared spectroscopy and imaging: Basic principles and pharmaceutical applications”, *Advanced Drug Delivery Reviews* 57: 1109–1143 (2005).
17. A. L. Vogel, “Análise química quantitativa”. 5. ed. Ed. Guanabara Koogan S.A. 712p (1992).
18. J.S. Shenk and M.O. Westerhaus. ‘Calibration the ISI way’, in: Davies, A.M.C., Williams, P. (Eds.), *Near Infrared Spectroscopy: The Future Waves*. NIR Publications, West Sussex, UK p. 198–202 (1996).
19. L.C. Barbosa, *Espectroscopia no infravermelho: na caracterização de compostos orgânicos*, Viçosa: Ed. UFV (2007).
20. Z. Xiaobo, M.J.W. Jiewen, M. Povey, M. Holmes and M. Hapin. Variables selection methods in near-infrared spectroscopy. *Analytica Chimica Acta* 667:14–32 (2010).
21. L. G. Weyer, “Near-infrared spectroscopy of organic substances”, *Applied Spectroscopy Reviews*, 21: 1- 43 (1985).
22. B. G. Osborn, T. Fearn and P. H. Hindle, *Practical NIR spectroscopy with applications in food and beverage analysis (2nd ed.)*. Harlow, UK: Longman Scientific and Technical (1993).
23. Metrohm, “NIR Spectroscopy. A guide to near-infrared spectroscopic analysis of industrial manufacturing processes” Herisau, Suíça: Metrohm (2013).
24. F. E. Barton, “Near infrared equipment through the ages and into the future”, *NIR News* 27: 41-43(2016).

25. S. Kawata, “New techniques in near-infrared spectroscopy”, in: *Near Infrared Spectroscopy: Principles, Instruments*, Edited by H.W. Siesler, Y. Ozaki, S. Kawata, H.M. Heise (Eds.) Applications, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, p. 75–84 (2002).
26. B. G. Osborn, *Near-infrared Spectroscopy in Food Analysis*. In: John Wiley & Sons, Ltd. *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, Online © 2006. BRI Australia Ltd, North Ryde, Australia (2006).
27. S. Kawano, S, “Sampling and sample presentation”, in: *Near Infrared Spectroscopy: Principles, Instruments*, edited by H.W. Siesler, Y. Ozaki, S. Kawata, H.M. Heise, Applications, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, , p. 115–124 (2002).
28. C. A. T. Santos, M. Lopo, R. N.M.J. Páscoa and J. A. Lopes. A Review on the Applications of Portable Near-Infrared Spectrometers in the Agro-Food Industry. *Applied Spectroscopy* 67: 1215-1233 (2013).
29. C. Pasquini, “Near Infrared Spectroscopy: a mature analytical technique with new perspectives: A review”, *Analytica Chimica Acta* 1026:8-36 (2018).
30. P. Paz, M.T. Sanchez, D. Perez-Marin, J. E. Guerrero and A. Garrido-Varo, “Evaluating NIR instruments for quantitative and qualitative assessment of intact apple quality”, *Journal of the Science of food and Agriculture* 89:781-790 (2009).
31. J. M. Sori, ano-Disla, L.J. Janik, D.J. Allen and M.J. McLaughlin, “Evaluation of the performance of portable visible-infrared instruments for the prediction of soil properties. *Biosystems engineering* 161:24-36 (2017).
32. A. Guillemain, K. Dégardin and Y. Roggo, “Performance of NIR handheld spectrometers for the detection of counterfeit tablets”, *Talanta* 165:632-640 (2017).
33. J. C. Reyes, I. R. Morales, E. F Blanco, D. Rivero and A. Pazos, “Determination of egg storage time at room temperature using a low-cost NIR spectrometer and machine learning techniques”, *Computers and Electronics in Agriculture* 145: 1–10 (2018).
34. A. V. Morillas, J. Gooch and N. Frascione, Feasibility of a handheld near infrared device for the qualitative analysis of bloodstains. *Talanta* 184:1-6 (2018).
35. M. M. C. Ferreira, A. M. Antunes, M. S. Mergo e P. L. O. Volpe. *Quimiometria I: Calibração Mutivariada, um Tutorial*. *Química Nova*, 22:724-731 (1999).
36. J. A. Nascimento, A. G. G. Dionísio, E. C.L. Nascimento, S K. B. Freitas e M. C. U. Araujo, “Análise screening de vinhos empregando um analisador fluxo-batelada, espectroscopia uv-vis e quimiometria”, *Química Nova* 33(2): 351-357 (2010).

37. R. G. Brereton, *Applied Chemometrics for Scientists*. 1th ed. John Wiley & Sons, Ltd, The Atrium, Southern Gate, Chinchester ,West Sussex, England (2007).
38. R. G. Brereton, *Chemometrics for Pattern Recognition*, 1th ed., John Wiley & Sons, Ltd . The Atrium, Southern Gate, Chinchester, West Sussex, United Kington (2009).
39. A.M. Souza e R. J. Poppi. Experimento didático de quimiometria para análise exploratória de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio e análise de componentes principais: um tutorial, parte I. *Química Nova* 35(1): 223-229 (2012).
40. R. G. Brereton, *Chemometrics: Data Analysis for the laboratory and Chemical Plant*. John Wiley & Sons, Ltd, The Atrium, Southern Gate, Chinchester, West Sussex, England (2003).
41. M.K. Boysworth, and K. S. Booksh, “Aspects of Multivariate Calibration Applied to Near-Infrared Spectroscopy. In: *Handbook of near-infrared analysis*, Edited by D. A. Burns and E. W. Ciurczak, 3.ed. cap.10, London: New York. p. 207-229 (2008).
42. P. R. M. Correia e M.M. Ferreira, 2007. “Reconhecimento de padrões por métodos não supervisionados: explorando procedimentos quimiométricos para tratamento de dados analíticos”, *Química Nova* 30(2): 481-487 (2007).
43. A.M. Souza, M.C. Breitzkreitz, P. R. Filgueiras, J.J.R. Rohwedder e R. J. Poppi, “Experimento didático de quimiometria para análise exploratória de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio e análise de componentes principais: um tutorial, parte I”, *Química Nova* 36(7): 1057-1065(2013).
44. P. Geladi, D. MacDougall and H. Martens,”Linearization and Scatter-Correction for Near-Infrared Reflectance Spectra of Meat”, *Appl. Spectrosc.* 39: 491–500 (1985).
45. T. Isaksson and T. Naes, “ The Effect of Multiplicative Scatter Correction and Linearity Improvement on NIR Spectroscopy”, *Appl. Spectrosc.* 42: 1273–1284 (1988).
46. P. G. A. Nunes, “Uma Nova Técnica para Seleção de Variáveis em Calibração Multivariada aplicada as Espectrometrias UV-VIS e NIR”, Tese (Doutorado), Universidade Federal da Paraíba, Paraíba, Brasil (2008).
47. J. Stuth, A. Jama and D. Tolleson, “Direct and indirect means of predicting forage quality through near infrared reflectance spectroscopy”, *Field Crops Research* 84:45-56 (2003).
48. P. C. Williams, and D. C. Sobering, “Comparison of commercial near infrared transmittance and reflectance instruments for analysis of whole grains and seed”, *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, Amsterdam 1(1): 25-33 (1993).

49. P. C. Williams, "Implementation of near-infrared technology", in: Near-infrared technology in the agricultural and food industries. 2. ed. Edited by P.C. Williams, P. C. and K. H. Norris. St. Paul: American Association of Cereal Chemists, p. 145-169 (2001).
50. J. T. C. Rocha, "Emprego de Espectrometria no Infravermelho e Métodos quimiométricos para a identificação e quantificação de petróleos a partir de misturas de frações de diesel", Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória (2009).
51. K. Islam, B. Singh and A. McBratney, "Simultaneous estimation of several soil properties by ultra-violet, visible, and near-infrared reflectance spectroscopy". Aust J Soil Res 41:1101-1114 (2003).
52. A. Pirie, B. Singh and K Islam, "Ultra-violet, visible, near-infrared, and mid-infrared diffuse reflectance spectroscopic techniques to predict several soil properties", Aust J Soil Res 43:713-721 (2005).
53. R. S. Kookana, L. J. Janik, M. Forouzanoghar and S. T. Forrester, "Prediction of atrazine sorption coefficients in soils using mid-infrared spectroscopy and partial least-squares analysis", J Agric Food Chem 56: 3208-3213 (2008).
54. C. W. Chang, D. A. Laird, M. J. Mausbach, C. R. Hurburgh Jr, "Near infrared reflectance spectroscopy – principal components regression analysis of soil properties", Soil Science Society of America Journal 65: 480-490 (2001).
55. R. K. Lyons and J. W. Stuth, "Fecal NIRS equations for predicting diet quality of free-ranging cattle", Journal of Range Management 45:238-244 (1992).
56. H. Li, D. Tolleson, J. Stuth ; K. Bai,; F. Mo S. and Kronberg, "Faecal near infrared reflectance spectroscopy to predict diet quality for sheep", Small Ruminant Research 68: 263-268 (2007).
57. M. Boval, D. B. Coates, P. Lecomte, V. Decruyenaere and H. Archimède, "Faecal near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to assess chemical composition, in vivo digestibility and intake of tropical grass by Creole cattle", Animal Feed Science and Technology 114: 19-29 (2004).
58. E.R. Leite, and J.W. Stuth, "Fecal NIRS equations to assess diet quality of free ranging goats", Small Ruminant Research 15: 223–230 (1995).
59. S.Landau, M. Dvash, A. Decandia, A. Cabiddu, F. Shapiro, G. Molle and N. Silanikove, "Determination of poly(ethylene glycol)-binding to browse foliage, as an assay of tannin,

- by near- reflectance spectroscopy”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 638-642 (2004).
60. J. W. Walker, E. S. Campbell, C. J. Lupton, C. A. Taylor Jr., D. F and S. Y Landau, “Effects of breed, sex, and age on the variation and ability of fecal near-infrared reflectance spectra to predict the composition of goat diets”, *Journal of Animal Science* 85: 518-526 (2007).
 61. M. A. D. Bomfim, “NIRS as a tool to determine the nutritional value of native pasture for small ruminants, in: *Anais da 50^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Campinas* (2013).
 62. M. Cox, V. R. Vasconcelos, e E. R. Leite, “Utilização da técnica da Espectroscopia e Reflectância do Infra- Vermelho Próximo (NIRS) na determinação do valor nutricional da dieta de ovinos em caatinga”, *Revista Científica de Produção Animal* 2:31-40(2000).
 63. I. V. S. Bueno, D. M. S. S. Vitty, A. L. Abdalla e H. Louvandini, “Consumo voluntário, digestibilidade aparente e cinética digestiva de três forrageiras em ovinos”, *Ciência Animal Brasileira* 8:713-722 (2007).

CAPITULO 2

DESENVOLVIMENTO DE MODELOS DE PREDIÇÃO USANDO NIR PORTÁTIL PARA O MONITORAMENTO NUTRICIONAL DE PEQUENOS RUMINANTES EM PASTAGEM DE SEMIÁRIDO

RESUMO

A Espectroscopia de Refletância do Infravermelho Próximo (NIRS), nos últimos anos, obteve considerável progresso com a disponibilização dos dispositivos espectroscópicos portáteis. Entretanto, estes equipamentos possuem uma curta janela de aquisição espectral, que pode estar localizada no terceiro sobretom do espectro NIR, que apresenta intensidades de bandas mais fracas. Assim, objetivou-se avaliar o potencial de um espectrômetro NIR portátil de baixo custo para estimativa da composição da dieta de pequenos ruminantes em pasto nativo por meio da análise espectral fecal. Foi utilizado um banco de amostras provenientes de experimentos realizados nos estados de Pernambuco (experimento 1) e Ceará (experimento 2), onde foram realizadas coletas de extrusas (valores de referência) e fezes dos animais (coleta espectral) mensalmente, durante um ano. Para obtenção dos espectros fecais utilizou-se um equipamento NIR portátil SCiO (*Consumer Physics Inc*). Nas extrusas foram determinados os valores de referência dos parâmetros por meio de metodologias tradicionalmente obtidas em laboratório de nutrição animal. Amostras do experimento 1 foram utilizadas para desenvolvimento do modelo, e amostras do experimento 2 para a validação. Os modelos foram desenvolvidos usando Quadrados Mínimos Parciais (PLS), no *software* SCiO lab™, e selecionados com base no coeficiente de determinação (R^2), raiz do quadrado médio do erro de calibração (RMSEC), e taxa de desvio da performance dos modelos (RPD). Foram selecionados 25% dos modelos de cada parâmetro (PB, DMS e DMO), que foram validados a partir de amostras selecionadas do experimento 2. A previsão dos modelos foi avaliada com base no coeficiente de determinação da validação (R^2), raiz do quadrado médio do erro de previsão (RMSEP), “bias”, e relação de desempenho de desvio dos modelos (*Ratio of Performance to Deviation* – RPD). Os modelos de previsão de proteína bruta e digestibilidade *in vitro* foram considerados acurados, mas de baixa precisão. Modelos desenvolvidos para espécie ovina e com amostras compostas apresentaram melhor desempenho, em relação aos demais modelos, influenciados pela dieta animal e pelo tipo de amostra. Para previsão dos parâmetros de proteína bruta e digestibilidade os modelos desenvolvidos foram considerados não confiáveis, exceto para previsão da composição em proteína na época de transição seca chuva.

Palavras-chave: espectrômetro portátil, NIR SCiO, previsão da composição, pasto, fezes

ABSTRACT

Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) in recent years has made considerable progress with the availability of portable spectroscopic devices. However, these equipments have a short spectral acquisition window, which can be located in the third overtone NIR spectrum, which has weaker band intensities. The objective of this study was to evaluate the potential of a low cost portable NIR spectrometer to estimate the composition of the diet of small ruminants in native pasture by fecal spectral analysis. A bank of samples from experiments conducted in the states of Pernambuco (experiment 1) and Ceará (experiment 2) was used, where the samples were collected monthly (reference values) and animal feces (spectral collection) for one year. A SCiO portable NIR device (Consumer Physics Inc.) was used to obtain the fecal spectra. In the extrusas, the reference values of the parameters were determined through methodologies traditionally obtained in an animal nutrition laboratory. Samples from experiment 1 were used to develop the model, and samples from experiment 2 were used for validation. The models were developed using Partial Least Squares (PLS) in SCiO lab™ software, and were selected based on the coefficient of determination (R^2), root mean square of the calibration error (RMSEC), and rate of deviation of the performance of the models (RPD). We selected 25% of the models of each parameter (CP, DMD and OMD), which were validated from samples selected from experiment 2. The prediction of the models was evaluated based on the coefficient of determination of the validation (R^2), square root (RMSEP), bias, and the Ratio of Performance to Deviation (RPD). The predictive models of crude protein and in vitro digestibility were considered accurate, but of low precision. Models developed for sheep and composite samples presented better performance, in relation to the other models, influenced by the animal diet and the type of sample. In order to predict the parameters of crude protein and digestibility, the models developed were considered unreliable, except for prediction of protein composition in the rainy season.

Keywords: portable spectrometer, NIR SCiO, composition forecast, pasture, fezes

1. INTRODUÇÃO

A Espectroscopia de Refletância do Infravermelho Próximo (NIRS) é uma técnica analítica que efetua análises em amostras orgânicas e algumas inorgânicas, empregando a energia eletromagnética, para obter informações sobre as propriedades de uma determinada amostra. Como principais vantagens da técnica destaca-se o fato de não ser destrutiva, de rápida determinação além de permitir a análise de vários parâmetros ao mesmo tempo. Outro aspecto relevante é o não uso de reagentes, o que contribui para a redução dos custos e da poluição com o descarte de resíduos químicos no meio ambiente¹.

O NIRS no campo da nutrição animal, vem sendo aplicado para previsão da composição de alimentos, e para estimar a composição da dieta de animais em pastejo por meio da análise fecal. Vários trabalhos utilizando a espectroscopia NIR têm sido desenvolvidos como alternativa às metodologias de rotina em laboratórios de nutrição animal, assim como inúmeras pesquisas já vêm demonstrando o potencial da espectroscopia NIR para análise da dieta de animais a partir da análise fecal^{2,3,4,5,6,7}.

Nos últimos dez anos, a tecnologia NIR avançou de forma considerável com a miniaturização e a portabilidade dos instrumentos. As principais vantagens estão relacionadas ao baixo custo de aquisição, tamanho, peso, à robustez e à possibilidade de análises *in situ* e em tempo real. A disponibilização de espectrômetros portáteis de baixo custo, que podem se conectar via *bluetooth* à smartphones ou tablets, pode revolucionar a abordagem dos futuros procedimentos analíticos, além de tornar a tecnologia NIR mais acessível a um público em geral^{8,9}.

Embora apresente várias vantagens, os equipamentos NIRS portáteis, em geral, possuem uma estreita janela de aquisição espectral, que, muitas vezes, está situada em regiões de terceiro sobretom do espectro NIR, em virtude de serem, estes detectores mais baratos. Por outro lado, estas regiões apresentam também intensidades de bandas mais fracas quando comparada aos demais sobretoms^{10,11,12}. Portanto, é importante avaliar para cada amostra ou analito de interesse, se os equipamentos NIR portáteis podem gerar análises confiáveis. Assim, objetivou-se avaliar o potencial de um espectrômetro NIR portátil de baixo custo, para a estimativa da composição da dieta de pequenos ruminantes em pasto nativo, por meio da análise espectral fecal.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Para o desenvolvimento deste trabalho utilizou-se um banco de amostras e dados da Embrapa Caprinos e Ovinos. As amostras foram obtidas de pesquisas para desenvolvimento de modelos de NIR fecal^{13,14}, realizadas nos estados de Pernambuco (Experimento 1) e Ceará (Experimento 2), descritos a seguir.

2.1. Descrição dos experimentos

Experimento 1

Este experimento, cujos dados foram utilizados para o desenvolvimento do modelo, foi realizado no período de janeiro a dezembro de 2014, no município de Sertânia, localizada no estado de Pernambuco (latitude 08° 04' 25" Sul; longitude 37° 15' 52" Oeste). Os animais pastejavam em área de Caatinga, onde tipo de estrato predominante é o herbáceo (46,15%) seguido dos estratos arbóreos (25,64%) arbustivo (15,38%) e cactáceas (8,97%)¹³. Para a coleta de extrusas (valores de referência), e fezes dos animais (para coleta espectral), foram utilizados seis caprinos da raça Moxotó e cinco ovinos da raça Morada Nova, com peso médio de 32,68±1,14 kg e 32,62±2,37, respectivamente, todos com fístula permanente no rúmen (protocolo CEUA/UVA nº 032.12). As coletas de fezes e extrusas foram realizadas mensalmente, durante cinco dias consecutivos, por 12 meses, totalizando 660 amostras (individuais). Após as coletas, as amostras foram compostas por animal e por mês de coleta, gerando um banco de 132 extrusas e suas respectivas amostras fecais.

Experimento 2

Este experimento, cujos dados foram utilizados para validação do modelo, foi realizado no período de maio de 2014 a abril de 2015, no município de Independência, localizada no estado do Ceará (Latitude: 05° 23' 47" Sul; Longitude: 40° 18' 31" Oeste). Os animais pastejavam em área de Caatinga, onde o tipo de vegetação predominante na região é a caatinga arbustiva aberta e floresta caducifólia espinhosa, com predominância do estrato herbáceo (77,78%), seguido do estrato arbóreo (16,05%), arbustivo (3,70%) e subarbustivo (2,47%)¹⁴. Para as coletas de extrusas (valores de referência), e fezes dos animais (para coleta

espectral), foram utilizados cinco caprinos das raças Moxotó, Saanen e Canindé, e cinco ovinos das raças Morada Nova e Mestiços de Somalis, com peso médio de 35,87+4,69 e 33,45+4,34 Kg, respectivamente, todos com fístula permanente no rúmen (protocolo CEUA/UVA nº 032.12). As coletas de fezes e extrusas foram realizadas mensalmente, durante seis dias consecutivos, por 12 meses totalizando 720 amostras (individuais). Após as coletas, as amostras foram compostas por animal e por mês de coleta, gerando um banco de 119 extrusas e suas respectivas amostras fecais.

2.1.1. Coletas das amostras e análises bromatológicas

Durante todo período experimental, para ambos experimentos 1 e 2, o manejo nutricional dos animais constituiu-se exclusivamente de pastejo na vegetação nativa com suplementação mineral, específica para cada espécie, e água *ad libitum*. As coletas de extrusas foram realizadas mediante técnica de evacuação ruminal¹⁵, onde os animais tinham seu rúmen evacuado pela manhã (por volta das 07:00 h) e liberados para a área de pastagem, onde permaneciam por aproximadamente 40 minutos. Após este período as extrusas foram coletadas diretamente do rúmen para representar a dieta selecionada. O conteúdo ruminal era então retornado ao rúmen e os animais liberados para a área de pastagem onde permaneciam durante todo o dia.

As coletas de fezes foram realizadas usando bolsas fecais adaptadas aos animais, onde o material foi recolhido pela manhã (às 07:00 h) antes dos animais seguirem para o pasto, e logo após seu retorno do pasto no final da tarde (às 17:00 h). Posteriormente, as amostras de fezes e extrusas foram acondicionadas em sacos plásticos identificados, e congeladas em “freezers”, com temperatura de -20°C, para análises.

Para relacionar o espectro fecal de cada amostra com os dados de referência (composição da extrusa), amostras de extrusa do dia 1 foram usados como referência para o dia 2 de amostragem fecal, assim como dados da dieta do dia 2 foram referência para o dia 3 de amostragem fecal, e assim seguindo o mesmo protocolo para os demais dias, resultando em um intervalo de 24 horas entre a ingestão a excreção¹⁶.

Para obtenção dos valores de referência, as amostras de extrusas provenientes dos experimentos foram pré-secas em estufa a 55° C, até atingir o peso constante e posteriormente moídas em moinho tipo Wiley com peneiras com poros de 1 mm. Foi determinado o teor de

nitrogênio total em sistema de combustão (AOAC¹⁷; Leco[®] CN628, St. Josesh, MI, EUA). Para conversão dos valores de N para proteína bruta (PB) foi utilizado o fator 6,25. A digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) foi determinada nas extrusas seguindo metodologia de Tilley e Terry¹⁸, em incubadora automática tipo MA443 (MA443 Marconi equipamentos para laboratórios Ltda., Piracicaba, SP, Brasil), seguido de lavagem em solução de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) em autoclave¹⁹ e posteriormente incinerados em mufla a 550°C durante 2 horas¹⁷ para a obtenção da digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO).

2.2. Coleta dos espectros fecais

As amostras fecais foram pré-secas em estufa a 55°C até atingir peso constante e moídas em moinho tipo Wiley dotado de peneiras de 1mm. Os espectros fecais foram coletados em equipamento NIR portátil SCiO™ (*Consumer Physics Inc*®), com leitura em uma faixa espectral de 740 a 1070nm, e intervalo espectral de 50nm. A coleta de dados foi controlada por meio do aplicativo móvel SCiO Lab™ para Android. Previamente à coleta de espectros, as amostras foram submetidas a uma pré-secagem adicional para padronização da umidade, em estufa de ventilação forçada a 55-65°C por três horas², e, em seguida colocadas em um dessecador por 30 minutos para atingir a temperatura ambiente, e os espectros fecais coletados.

Os espectros foram obtidos em três pontos em cada amostra, usando o acessório de suporte de amostras SCiO™. O uso do acessório de suporte de amostras ajuda a evitar a influência da luz externa quando os espectros são coletados, além disso, também ajuda a manter a mesma distância de 1 cm da amostra em todos os espectros coletados, conforme recomendação do fabricante. A cada coleta espectral as amostras foram homogeneizadas para garantir que os espectros fossem coletados em diferentes pontos. Os dados espectrais foram automaticamente armazenados em um conjunto de dados baseado em nuvem com os valores de referência correspondentes no aplicativo SCiO lab™ para posteriores pré-processamentos e construção dos modelos (Figura 1).

Os espectros fecais das amostras foram coletados em perfis criados de acordo com as variáveis: espécie (caprino /ovino), época do ano (chuvosa, transição chuva/seca - TCS, seca e transição seca/chuva - TSC) e tipo de amostra (composta ou individual) (Tabela 1), visando

avaliar o efeito da espécie, época do ano e tipo de amostra sobre o desempenho dos modelos. Para a denominação da época do ano, o período chuvoso (chuva) foi considerado os meses de janeiro a maio, transição chuva seca (TCS) os meses de junho e julho, período seco (seca) os meses de agosto e setembro, e transição seca chuva (TSC) os meses de outubro a dezembro.



Figura 1. Representação do fluxo de trabalho usando o espectrômetro NIR SCiO® na coleta de espectros fecais. Adaptado²⁰

Tabela 1. Modelo esquemático dos perfis da coleta dos espectros das amostras no equipamento NIR SCiO, das amostras do experimento 1

Espécie	Época do Ano†	Tipo de amostra	Nº de Amostras
Caprino	Geral	Individual	288
Ovino	Geral	Individual	240
Caprino e Ovino	Chuvosa	Individual	220
Caprino e Ovino	TCS	Individual	44
Caprino e Ovino	Seca	Individual	132
Caprino e Ovino	TSC	Individual	132
Caprino	Geral	Composta	72
Ovino	Geral	Composta	60
Caprino e Ovino	Chuvosa	Composta	55
Caprino e Ovino	TCS	Composta	11
Caprino e Ovino	Seca	Composta	32
Caprino e Ovino	TSC	Composta	33

†Geral: todas as estações; TCS: Transição Chuva/ Seca; TSC: Transição Seca/Chuva

2.3. Análises Quimiométricas

As análises foram realizadas com as ferramentas de *software* on-line SCiO lab™ fornecidas pela *Consumer Physics*® especificamente para o dispositivo, onde proteína bruta e digestibilidade *in vitro* da matéria seca e da matéria orgânica foram usadas como variáveis dependentes e os espectros fecais como variáveis independentes para o desenvolvimento dos modelos.

Para minimizar os efeitos ocasionados por problemas de linha de base devido à dispersão da luz e aumentar a relação sinal/ruído, os espectros foram submetidos a diferentes pré-tratamentos matemáticos, como transformação normal de variância (SNV) associado ou não à transformação pela primeira ou segunda derivada (Savitzky-Golay), disponíveis no *software* do fabricante.

Os modelos foram desenvolvidos por meio de regressão usando Quadrados Mínimos Parciais (PLS - *Partial Least Squares*), onde as duas matrizes são correlacionadas: os espectros (matriz X) e as análises referência (matriz Y). Para todos os modelos desenvolvidos, foi acionada a função de “detecção de outliers”, forçando o dispositivo a dar um resultado nulo se não fosse capaz de combinar o espectro de uma nova amostra com os espectros da coleta de dados de calibração.

Os modelos foram avaliados com base no coeficiente de determinação (R^2), bem como na raiz do quadrado médio do erro de calibração (RMSEC). Posteriormente, também foi calculada a relação de desempenho de desvio dos modelos (*Ratio of Performance to Deviation* – RPD)^{21,22,23}.

2.3.1. Validação dos modelos

Foram desenvolvidos 30 modelos para proteína bruta, 30 para digestibilidade *in vitro* da matéria seca e 27 para digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica, e desses, foram selecionados 25% dos modelos de cada parâmetro analítico (PB, DIVMS e DIVMO), para validação. Para o banco de dados de validação (experimento 2), foram selecionadas amostras utilizando a ferramenta “*Evenly Distributed Samples*”, do *software The Unscrambler*®, versão 10.2 (Camo Inc, Oslo, Norway), a partir de espectros coletados em um equipamento FOSS® NirSystem 5000, para compor o banco de validação independente.

Na ferramenta *Evenly Distributed Samples* são selecionadas amostras mais distantes no conjunto de dados. Foram então selecionadas de 20 a 25 amostras para o banco de validação, que foram preparadas da mesma forma descrita no item 2.2., que também seguiram o mesmo protocolo de coleta de espectros em perfis de acordo com as variáveis (Tabela 2). A validação foi realizada tanto com amostras individuais como com amostras compostas.

Após a seleção, os modelos de calibração foram avaliados quanto sua acurácia e precisão de previsão, por meio do coeficiente de determinação da validação (R^2), da raiz do quadrado médio do erro de previsão (RMSEP), do “bias” e da relação de desempenho de desvio dos modelos (*Ratio of Performance to Deviation* – RPD). Após a validação, foi realizada a análise de variância dos valores preditos em relação aos valores de referência, utilizando-se o *software* R versão 3.4.4.

Tabela 2. Modelo esquemático dos perfis da coleta dos espectros das amostras de validação no equipamento NIR SCiO (experimento 2)

Espécie	Época do ano†	Tipo de amostra
Caprino	Geral	Individual
Ovino	Geral	Individual
Caprino e Ovino	Chuvosa	Individual
Caprino e Ovino	TCS	Individual
Caprino e Ovino	Seca	Individual
Caprino e Ovino	TSC	Individual
Caprino	Geral	Composta
Ovino	Geral	Composta
Caprino e Ovino	Chuvosa	Composta
Caprino e Ovino	TCS	Composta
Caprino e Ovino	Seca	Composta
Caprino e Ovino	TSC	Composta

†Geral: todas as estações; TCS: Transição Chuva/ Seca; TSC: Transição Seca/Chuva

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. Modelos de calibração

Os modelos de previsão do teor de proteína bruta apresentaram R^2 menor que 0,7 (entre 0,01 e 0,67) e RMSEC variando de 1,2 a 2,71 (Tabela 3). Modelos com $R^2 = 0,00$ foram desconsiderados e não incluídos na apresentação dos dados. Bomfim²⁴, compilando dados de performance de modelos de NIRS fecal para previsão do teor de proteína bruta em equipamentos de bancada, reportou valores de R^2 variando de 0,84 a 0,98, e de RMSEC entre 0,06 e 3,21. Os modelos apresentados na Tabela 3 apresentaram valores de RMSEC semelhantes aos relatados por Bomfim²⁴, no entanto, os valores de R^2 apresentaram valores menores ao reportado na literatura, sendo que os modelos desenvolvidos para espécie ovina e o modelo geral no período de transição seca chuva (usando-se amostras compostas para ambos) foram os que apresentaram maior R^2 , quando comparado aos demais modelos.

A relação de desempenho de desvio (RPD) é outro indicador muito utilizado para avaliar a qualidade e confiabilidade do modelo, podendo ser classificados como: modelos com $RPD > 2,0$ são excelentes; modelos com RPD entre 1,4 a 2,0 são considerados modelos ajustados e modelos com $RPD < 1,4$ são considerados não confiáveis²³. Os modelos para previsão do teor de proteína bruta para a espécie ovina (tanto compostas quanto individuais) apresentaram RPD entre 1,41 e 1,43, ou seja, considerados ajustados, enquanto os demais modelos apresentaram $RPD < 1,4$, classificados como não confiáveis.

Maciel¹³ trabalhando com os mesmos dados para o desenvolvimento de modelos de previsão para o teor de proteína bruta da dieta de caprinos e ovinos por estações, com espectros fecais obtidos em um equipamento NIR de bancada (FOSS® NirSystem 5000, com leitura em uma faixa de 1100 a 2500 nm na região do infravermelho próximo), obteve valores de R^2 e RMSEC da calibração de 0,54 e 2,01 respectivamente para modelo do período chuvoso; valores de R^2 e RMSEC da calibração de 0,40 e 1,44 respectivamente, para os modelos do período de TCS; valores de R^2 e RMSEC da calibração e validação foram de 0,49 e 1,14 respectivamente, para os modelos do período seco; valores de R^2 e RMSEC da calibração e foram de 0,69 e 1,66, respectivamente para os modelos do período de TSC.

Ainda o autor, quando desenvolveu modelos por espécies (caprina e ovina), obteve valores de R^2 e RMSEC da calibração de 0,70 e 1,90 respectivamente, nos modelos para a espécie caprina e valores de R^2 e RMSEC da calibração e validação de 0,75 e 1,70

respectivamente, para modelos da espécie ovina. Comparando-se os modelos desenvolvidos no equipamento de bancada com os desenvolvidos no equipamento portátil SCiO, avaliando-se indicadores, observou-se um melhor desempenho para aqueles desenvolvidos com espectros coletados no equipamento NIR de bancada, principalmente para aqueles desenvolvidos por espécies (caprina e ovina). Isso se deve, provavelmente, à região espectral de alcance de cada equipamento.

Tabela 3. Parâmetros estatísticos dos modelos de calibração da proteína bruta

Espécie	Época do Ano‡	Nº de amostras	Tratamento	R ² cal	RMSEC	RPD
Compostas†						
Caprino	Geral	72	SNV	0,53	2,22	1,22
Caprino	Geral	72	SNV+1 derivada	0,54	2,20	1,28
Ovino	Geral	58	SNV	0,60	2,19	1,39
Ovino	Geral	58	SNV+1 derivada	0,61	2,17	1,41
Ovino	Geral	58	SNV+2 derivada	0,63	2,12	1,43
Caprino e Ovino	Chuvosa	54	SNV	0,41	1,83	1,06
Caprino e Ovino	Chuvosa	54	SNV+1 derivada	0,39	1,87	1,11
Caprino e Ovino	Seca	33	SNV	0,36	1,23	1,06
Caprino e Ovino	Seca	33	SNV+1 derivada	0,39	1,20	1,04
Caprino e Ovino	TSC	31	SNV	0,67	1,56	1,37
Caprino e Ovino	TSC	31	SNV+2 derivada	0,65	1,60	1,34
Individuais†						
Caprino	Geral	287	SNV	0,46	2,69	1,30
Caprino	Geral	287	SNV+2 derivada	0,47	2,66	1,31
Ovino	Geral	238	SNV	0,53	2,65	1,38
Ovino	Geral	238	SNV+1 derivada	0,52	2,71	1,37
Ovino	Geral	238	SNV+2 derivada	0,57	2,56	1,43
Caprino e Ovino	Chuvosa	220	SNV	0,20	2,69	1,06
Caprino e Ovino	Chuvosa	220	SNV+1 derivada	0,22	2,65	1,07
Caprino e Ovino	TCS	44	SNV	0,36	1,46	1,00
Caprino e Ovino	TCS	44	SNV+1 derivada	0,31	1,51	0,94
Caprino e Ovino	Seca	132	SNV	0,01	1,96	0,99
Caprino e Ovino	Seca	132	SNV+1 derivada	0,23	1,73	1,04
Caprino e Ovino	TSC	131	SNV	0,51	2,08	1,22
Caprino e Ovino	TSC	131	SNV+1 derivada	0,52	2,06	1,22
Caprino e Ovino	TSC	131	SNV+2 derivada	0,54	2,01	1,22

‡Geral: todas as estações; TCS: Transição Chuva Seca; TSC: Transição Seca Chuva. †Tipo de amostra usada no desenvolvimento do modelo de calibração. SNV - *standard normal variate*. Derivada- Derivadas Savitzky-Golay, primeira e segunda derivativa, respectivamente. R² = coeficiente de determinação. RMSEC = erro médio de calibração. RPD- *Ratio of Performance to Deviation*

Os comprimentos de onda mais comumente associados aos modelos de previsão do teor de proteína têm sido relatados como sendo 1510, 1980, 2055, 2060, 2175, 2180, 2300, 2470 e 2530nm^{10,25,26,27} (Figura 2). Esses comprimentos de onda encontram-se nas regiões da primeira “overtone” e região de combinação, enquanto os espectros coletados no equipamento NIR SCiO, que opera na faixa espectral de 740-1070nm, encontram-se na terceira “overtone” do espectro NIR, onde as intensidades de banda são consideravelmente mais fracas^{10,11}, o que provavelmente pode explicar o baixo desempenho dos modelos do teor de proteína bruta desenvolvidos com espectros coletados neste equipamento, quando comparados a modelos desenvolvidos com espectros coletados em equipamento NIR de bancada.

Os modelos de digestibilidade *in vitro* da matéria seca apresentaram R² variando de 0,14 a 0,61 e RMSEC variando entre 2,44 a 5,75 (Tabela 4). Modelos com R² = 0,00 foram desconsiderados e não incluídos nos dados apresentados. Bomfim²⁴ compilando dados de performance de modelos de NIRS fecal para a previsão do teor de digestibilidade em equipamentos de bancada, reportou valores de R² entre 0,79 a 0,98, com mais frequência de 0,98, enquanto o RMSEC variou de 0,02 a 4,07, com média próxima de 2,0. Os modelos de calibração para digestibilidade *in vitro* da matéria seca apresentados na Tabela 4 apresentaram precisão menor às reportadas por Bomfim²⁴, enquanto que o RMSEC dos modelos dos períodos chuvoso, seco e transição seca chuva, desenvolvidos com amostras compostas, apresentaram-se semelhantes. Ainda na Tabela 4 observa-se que os modelos desenvolvidos com amostras compostas, para espécie ovina apresentaram maior R² em relação aos demais modelos.

Os modelos para previsão da digestibilidade *in vitro* da matéria seca da espécie ovina (compostas) apresentaram RPD entre 1,48 e 1,49, que foram considerados como ajustados, enquanto os demais apresentaram RPD <1,4, que são considerados como não confiáveis.

Os modelos de digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica apresentaram valores de R² entre 0,13 a 0,67, enquanto o RMSEC varia entre 2,50 a 5,63 (Tabela 5). Modelos com R² = 0,00 foram desconsiderados e não incluídos na tabela. Quando comparados aos valores relatados por Bomfim²⁴, os modelos de calibração para digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica apresentam R² inferiores, enquanto o RMSEC dos modelos desenvolvidos com amostras compostas para a espécie caprina, períodos de chuva, seca e transição seca chuva, apresentaram-se dentro da faixa reportada pela literatura. Os modelos desenvolvidos com amostras compostas para a espécie ovina também apresentaram maior precisão em relação aos demais modelos.

Tabela 4. Parâmetros estatísticos dos modelos de calibração da digestibilidade *in vitro* da matéria seca

Espécie	Época do Ano‡	Nº de amostras	Tratamento	R ² cal	RMSEC	RPD
Compostas†						
Caprino	Geral	72	SNV+1 derivada	0,28	4,98	0,86
Ovino	Geral	58	SNV	0,62	4,42	1,49
Ovino	Geral	58	SNV+1 derivada	0,61	4,49	1,48
Caprino e Ovino	Chuvosa	54	SNV	0,48	3,00	1,16
Caprino e Ovino	Chuvosa	54	SNV+1 derivada	0,49	2,98	1,17
Caprino e Ovino	Seca	33	SNV	0,16	3,32	0,89
Caprino e Ovino	Seca	33	SNV+1 derivada	0,17	3,29	0,90
Caprino e Ovino	TSC	31	SNV	0,39	2,44	1,05
Caprino e Ovino	TSC	31	SNV+1 derivada	0,37	2,48	1,02
Individuais†						
Caprino	Geral	287	SNV	0,36	4,95	1,22
Caprino	Geral	287	SNV+2 derivada	0,37	4,94	1,22
Ovino	Geral	238	SNV	0,51	5,75	1,37
Ovino	Geral	238	SNV+2 derivada	0,52	5,67	1,38
Caprino e Ovino	Chuvosa	220	SNV	0,32	4,78	1,17
Caprino e Ovino	Chuvosa	220	SNV+1 derivada	0,34	4,73	1,19
Caprino e Ovino	Chuvosa	220	SNV+2 derivada	0,33	4,75	1,18
Caprino e Ovino	TCS	44	SNV	0,16	4,50	0,86
Caprino e Ovino	TCS	44	SNV+1 derivada	0,14	4,54	0,89
Caprino e Ovino	Seca	132	SNV	0,17	4,85	0,98
Caprino e Ovino	TSC	131	SNV	0,24	4,27	1,07
Caprino e Ovino	TSC	131	SNV+2 derivada	0,25	4,25	1,06

‡Geral: todas as estações; TCS: Transição Chuva Seca; TSC: Transição Seca Chuva. †Tipo de amostra usada no desenvolvimento do modelo de calibração. SNV - *standard normal variate*. Derivadas Savitzky-Golay, primeira e segunda derivativa, respectivamente. R² = coeficiente de determinação. RMSEC = erro médio de calibração RPD- *Ratio of Performance to Deviation*.

O RPD dos modelos de calibração de digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica para a espécie ovina usando amostras compostas e individuais apresentou-se entre 1,44 e 1,61, sendo considerados ajustados, enquanto os demais modelos apresentaram RPD <1,4, ou seja, considerados não confiáveis.

O modelos obtidos de Maciel¹³, em equipamento NIR de bancada (FOSS® NirSystem 5000) apresentaram valores de R² e RMSEC da calibração de 0,45 e 4,55 respectivamente para modelo do período chuvoso; valores de R² e RMSEC de 0,42 e 3,75 respectivamente, para os modelos do período de TCS; valores de R² e RMSEC foram de 0,64 e 2,80 respectivamente, para os modelos do período seco; valores de R² e RMSEC de 0,48 e 3,32, respectivamente para os modelos do período de TSC. Ainda o mesmo autor, quando

desenvolveu modelos de calibração por espécies (caprina e ovina), obteve valores de R² e RMSEC de 0,57 e 4,22 respectivamente, nos modelos para a espécie caprina e valores de R² e RMSEC de 0,65 e 4,00 respectivamente, para os modelos da espécie ovina. Comparando-se os modelos desenvolvidos no equipamento NIR de bancada com os desenvolvidos do equipamento NIR SCiO, os modelos ovino, TCS e TSC tiveram um desempenho semelhante aos modelos desenvolvidos com espectros coletados no equipamento NIR de bancada, enquanto os demais modelos apresentaram desempenho inferior.

Tabela 5. Parâmetros estatísticos dos modelos calibração de digestibilidade *in vitro* de matéria orgânica

Espécie	Época do Ano‡	Nº de amostras	Pré-tratamento	R ² cal	RMSEC	RPD
Compostas†						
Caprino	Geral	72	SNV	0,55	3,69	1,26
Caprino	Geral	72	SNV+1 derivada	0,54	3,74	1,30
Ovino	Geral	58	SNV	0,68	4,16	1,61
Ovino	Geral	58	SNV+1 derivada	0,66	4,29	1,56
Ovino	Geral	58	SNV+2 derivada	0,67	4,19	1,56
Caprino e Ovino	Chuvosa	54	SNV	0,51	3,23	1,14
Caprino e Ovino	Chuvosa	54	SNV+1 derivada	0,50	3,24	1,15
Caprino e Ovino	Seca	33	SNV	0,15	3,63	0,89
Caprino e Ovino	Seca	33	SNV+1 derivada	0,14	3,65	0,91
Caprino e Ovino	TSC	31	SNV	0,54	2,5	1,23
Caprino e Ovino	TSC	31	SNV+1 derivada	0,51	2,57	1,20
Caprino e Ovino	TSC	31	SNV+2 derivada	0,52	2,56	1,17
Individuais†						
Caprino	TA	287	SNV	0,38	5,63	1,18
Ovino	TA	238	SNV	0,56	5,49	1,44
Ovino	TA	238	SNV+2 derivada	0,58	5,39	1,45
Caprino e Ovino	TCS	44	SNV	0,21	4,24	0,87
Caprino e Ovino	TCS	44	SNV+1 derivada	0,20	4,27	0,91
Caprino e Ovino	Seca	33	SNV	0,13	5,10	0,97
Caprino e Ovino	TSC	131	SNV	0,27	4,55	1,09
Caprino e Ovino	TSC	131	SNV+1 derivada	0,26	4,56	1,09

‡Geral: todas as estações; TCS: Transição Chuva Seca; TSC: Transição Seca Chuva. †Tipo de amostra usada no desenvolvimento do modelo de calibração. SNV - *standard normal variate*. Derivadas Savitzky-Golay, primeira e segunda derivativa, respectivamente. R² = coeficiente de determinação. RMSEC = erro médio de calibração RPD- *Ratio of Performance to Deviation*.

A literatura tem reportado alta correlação entre a digestibilidade à composição do alimento em celulose e lignina²⁸. A composição em lignina tem sido associada às informações coletadas nos comprimentos de onda entre 2250 e 2270nm^{29,30,31}, enquanto que para celulose

os espectros apresentam maior correção nos comprimentos de onda de 1490, 1780, 1820, 2060, 2270, 2335, 2352 e 2488nm^{26,27} (Figura 2). Os comprimentos de onda relatados associados aos modelos de previsão do teor de lignina e celulose encontram-se nas regiões da primeira-segunda “overtones” e região de combinação, enquanto os espectros coletados em equipamento NIR SCiO que opera na faixa espectral de 740-1070nm, estão localizados na terceira “overtone” do espectro NIR, onde as intensidades de banda são consideravelmente mais fracas quando comparada as demais “overtones”^{10,11}, o que pode explicar o baixo desempenho de alguns dos modelos de digestibilidade desenvolvidos com espectros coletados neste instrumento, quando comparado a modelos desenvolvidos com espectros coletados em equipamento NIR de bancada.

A análise dos dados indica um melhor desempenho nos modelos desenvolvidos para espécie ovina em todos os parâmetros avaliados (PB, DIVMS e DIVMO). Tais resultados podem estar associados às diferenças relativas ao hábito alimentar entre espécies. Segundo este critério, os caprinos são classificados como animais ramoneadores e os ovinos como pastejadores³². A principal implicação é que os caprinos são mais seletivos, se alimentando preferencialmente de espécies do estrato arbóreo/arbustivo, enquanto os ovinos têm preferência alimentar por gramíneas ou dicotiledôneas herbáceas³³. Essa seletividade reflete em uma maior diversidade de compostos químicos na dieta da espécie caprina, o que pode ter influenciado na informação útil para os modelos³⁴. Esta interferência pode ter sido mais acentuada considerando o sinal de menor intensidade oriundo da terceira “overtone”, o que pode ter resultado em um melhor desempenho nos modelos da espécie ovina, em relação aos da espécie caprina.

No geral, os modelos desenvolvidos com amostras compostas em todos os parâmetros (PB, DIVMS e DIVMO) apresentaram maiores valores de R^2 e menores de RMSEC em relação àqueles desenvolvidos com amostras individuais. Quando se utiliza as amostras de forma compostas, são retiradas as variações entre os dias de coleta, resultando em um melhor desempenho dos modelos desenvolvidos com as mesmas. Por outro lado, estes modelos podem ter menor robustez, pela redução na variabilidade¹³.

Os valores de RMSEC dos modelos de previsão do teor de digestibilidade apresentam-se são mais elevados que o dos modelos de previsão do teor de proteína bruta. Este fato pode estar associado à estimativa do teor de digestibilidade ser baseada nos teores de celulose e lignina, resultando em uma maior complexidade dos modelos previsão do teor de digestibilidade.

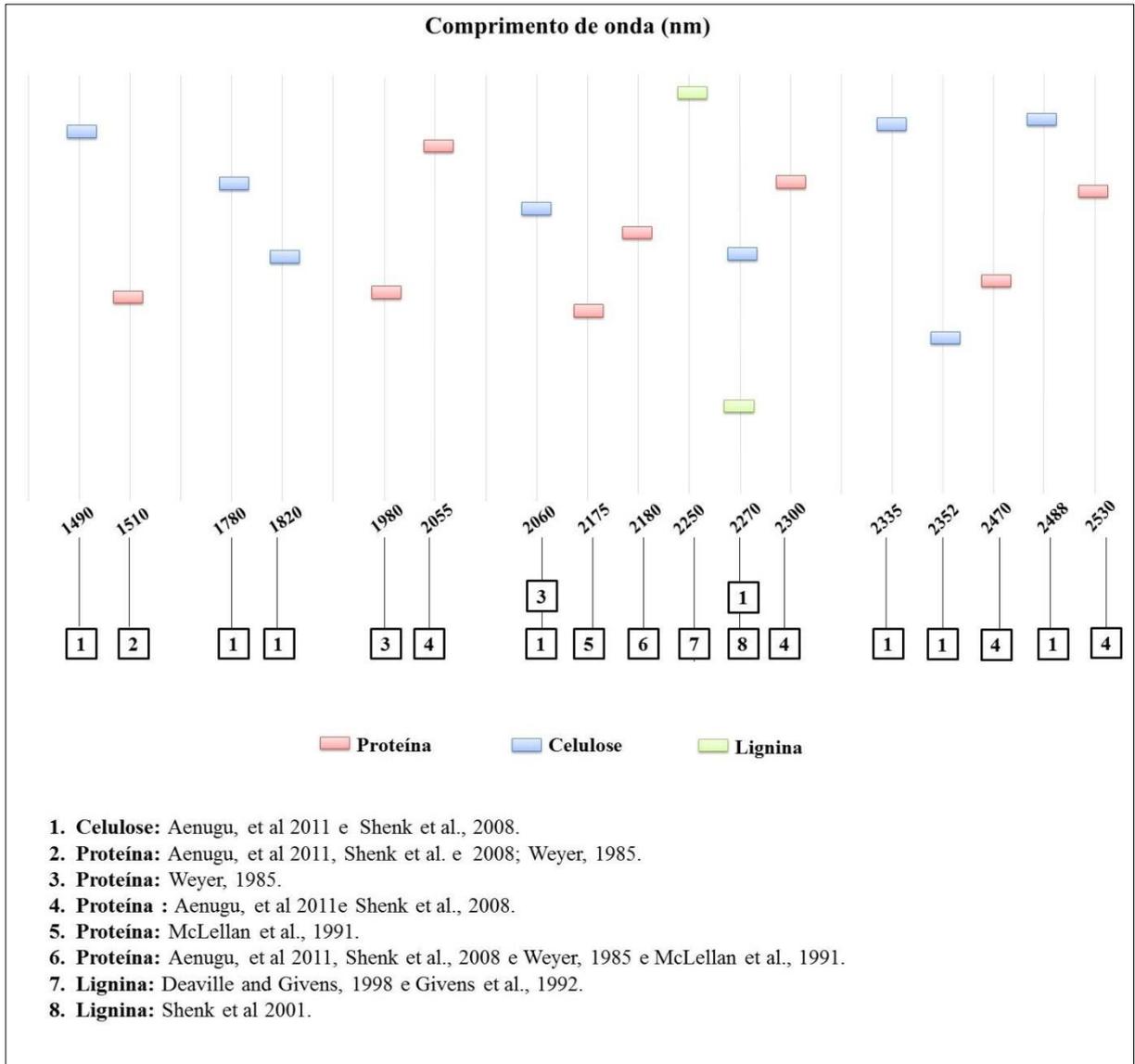


Figura 2. Comprimentos de onda associados aos modelos de previsão do teor de proteína, celulose e lignina, na região NIR.

3.2. Validação independente

A validação do modelo para o teor de PB, usando amostras individuais para a validação, apresentaram R^2 entre 0,02 a 0,52 e RMSEP entre 2,87 e 6,29; os modelos de DIVMS, por sua vez, apresentaram R^2 entre 0,00 a 0,12 e RMSEP entre 13,70 a 17,92, enquanto para DIVMO apresentaram R^2 entre 0,00 e 0,05 e RMSEP entre 15,71 a 20,23 (Tabela 6).

Os valores de *bias* na validação com amostras individuais apresentaram-se entre -5,79 e -3,42 (subestimativa) e 1,00 a 3,91 (superestimava) para proteína bruta; 9,09 a 15,44

(superestimativa) para digestibilidade *in vitro* da matéria seca, enquanto para digestibilidade da matéria orgânica foram observados valores de 10,75 a 15,11 (superestimativa) (Tabela 6). Por outro lado, o modelo de previsão transição seca chuva apresentou *bias* igual a 1,00, sendo o menor valor encontrado quando comparado aos demais, indicando um menor erro sistemático do modelo.

Observa-se que os modelos de proteína bruta apresentaram *bias* menores quando comparados aos de digestibilidade. Os modelos de previsão do teor de digestibilidade geralmente agregam maiores erros devido à dificuldade de estimativa do teor de digestibilidade, por ser uma análise mais laboriosa quando comparada a análise de proteína bruta, o que resulta na incorporação de erros sistemáticos e aleatórios nos modelos de previsão³⁵.

Isso também pode estar associado a efeitos físicos, instrumentais, características de cada amostra ou pelos efeitos de preparação da amostra, o que leva a modificações na intensidade e perfil dos picos³⁶, ocasionando um maior “*bias*” pela incorporação de características não inerentes à amostra, resultando em uma super ou subestimativa dos modelos de previsão.

A validação do modelo (com amostras individuais) apresentaram RPD <1,4 (Tabela 6), indicando que a previsão dos modelos foi considerada não confiável.

A predição dos modelos mostrou diferença significativa em relação ao valor de referência de acordo com o teste de F (Tabela 7), para a validação dos modelos usando amostras individuais, exceto para o modelo de transição seca chuva (Figura 3) desenvolvido com amostra individual de tratamento SNV+ 2 derivada, que apresentou uma média de previsão de 19,77 enquanto o valor de referência foi de 18,77%.

Os modelos de validação (usando amostras compostas) apresentaram R² entre 0,01 a 0,69 e RMSEP entre 1,88 e 6,16 para PB; R² entre 0,00 a 0,13 e RMSEP entre 11,00 a 17,80, para DIVMS, enquanto para DIVMO apresentaram R² entre 0,01 e 0,07 e RMSEP entre 11,29 e 14,22 (Tabela 7).

Nos modelos de validação, observam-se valores de “*bias*” entre -5,74 a -3,76 (subestimativa) e 1,13 a 2,17 (superestimativa) para PB; 8,30 a 17,02 (superestimativa) para DIVMS, enquanto para DIVMO foram observados valores de 7,26 a 12,72 (superestimativa) (Tabela 8). Da mesma forma que para a validação dos modelos para proteína bruta usando amostras individuais, os modelos de validação para proteína bruta usando amostras compostas apresentaram *bias* menores quando comparados aos de digestibilidade, indicando um maior

erro sistemático para os modelos de digestibilidade. Também se observa que o modelo de previsão transição seca chuva (individual) apresentou *bias* igual a 1,31, sendo o menor valor encontrado quando comparado aos demais.

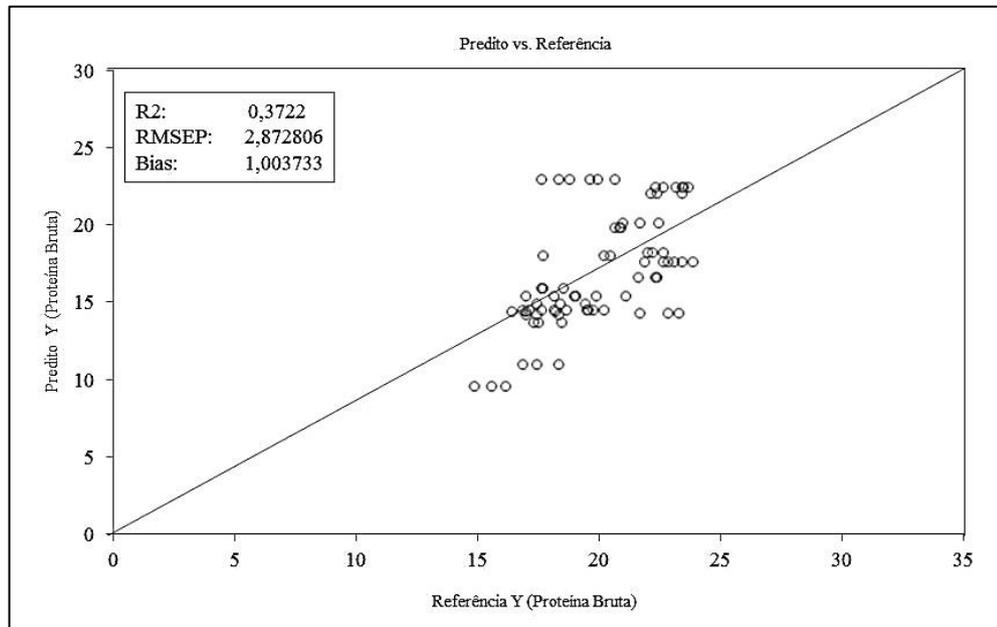


Figura 3. PLS da validação do modelo de transição seca chuva para proteína bruta

A predição dos modelos mostrou diferença significativa em relação ao valor de referência de acordo com o teste de F (Tabela 7), para a validação dos modelos usando amostras compostas. Em relação ao RPD todos os modelos apresentaram-se $<1,4$ (Tabela 7), indicando que a previsão dos modelos foi considerada não confiável.

Os dados indicam que os modelos desenvolvidos com espectros coletados em equipamento SCiO apresentaram um menor desempenho em relação aos equipamentos de bancada, o que pode ser atribuído à faixa espectral do equipamento NIR SCiO, localizada na terceira “overtone”, que apresenta intensidades de bandas de absorção mais fracas quando comparada às demais “overtones”^{10,11}.

Vasconcelos³⁷ trabalhando nas regiões “overtones” em NIR para determinação do conteúdo de biodiesel e adulteração de misturas diesel / biodiesel com óleos vegetais relatam modelos de calibração baseados no algoritmo de projeções sucessivas, com desempenho inferior quando usaram a região espectral de 887 a 965nm (terceira “overtone”), devido aos sinais mais fracos de absorção obtidos nessa região. Embora o material analisado no presente trabalho seja de natureza distinta daquele analisado no trabalho de Vasconcelos³⁷ o resultado

relatado por este fortalece a razão do desempenho inferior de modelos desenvolvidos com espectros coletados na terceira “overtone” da região NIR, uma vez que o espectrômetro NIR SCiO é equipado com um detector de silício, que abrange uma estreita faixa espectral na região do infravermelho próximo, entre 400 e 1100nm³⁸, que pode ser a razão pelo qual o equipamento NIR SCiO não apresentou performance comparável aos equipamentos NIR de laboratório, que na maioria das vezes são equipados com interferômetros e melhores propriedades ópticas (por exemplo, melhor relação sinal-ruído, sensibilidade e resolução óptica)³⁹.

Tabela 6. Parâmetros estatísticos de validação externa dos modelos de proteína bruta, digestibilidade *in vitro* da matéria seca e digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica das dietas de caprinos e ovinos, usando amostras individuais (experimento 2) para validação

Espécie	Amostra†	Estação‡	Pré-tratamento	R ²	RMSEP	Bias	Variáveis Latentes	RPD	Previsão	Referência
PB										
Ovino	Composta	Geral	SNV	0,52	6,29	-5,79	5	0,55	11,59**	17,38
Ovino	Composta	Geral	SNV+1 derivada	0,49	4,88	-4,17	5	0,71	13,21**	17,38
Ovino	Composta	Geral	SNV+ 2 derivada	0,46	4,28	-3,42	5	0,81	13,96**	17,38
Caprino e Ovino	Composta	TSC	SNV	0,02	5,41	3,91	5	0,63	22,68**	18,77
Caprino e Ovino	Composta	TSC	SNV+1 derivada	0,09	4,56	3,17	5	0,75	21,94**	18,77
Ovino	Individual	Geral	SNV+2 derivada	0,39	4,93	-4,07	5	0,70	13,32**	17,38
Caprino e Ovino	Individual	TSC	SNV+2 derivada	0,37	2,87	1,00	5	1,19	19,77	18,77
DIVMS										
Ovino	Composta	Geral	SNV	0,03	16,32	12,08	5	0,64	50,40**	38,32
Ovino	Composta	Geral	SNV+1 derivada	0,06	17,92	14,03	5	0,58	52,35**	38,32
Caprino e Ovino	Composta	Chuvosa	SNV+2 derivada	0,12	17,32	15,44	5	0,49	56,20**	40,76
Caprino e Ovino	Composta	Chuvosa	SNV	0,06	16,40	14,24	5	0,52	55,00**	40,76
Ovino	Individual	Geral	SNV+2 derivada	0,01	13,70	9,09	5	0,76	47,42**	38,32
Ovino	Individual	Geral	SNV	0,00	14,41	9,68	5	0,72	48,00**	38,32
DIVMO										
Ovino	Composta	Geral	SNV	0,00	17,07	10,78	5	0,78	61,92**	51,14
Ovino	Composta	Geral	SNV+1 derivada	0,00	18,50	12,83	5	0,72	63,97**	51,14
Ovino	Composta	Geral	SNV+ 2 derivada	0,00	20,23	15,11	5	0,66	66,26**	51,14
Caprino	Composta	Geral	SNV	0,03	15,71	12,52	5	0,69	61,21**	48,69
Caprino	Composta	Geral	SNV+1 derivada	0,05	17,66	14,81	5	0,61	63,49**	48,69
Ovino	Individual	Geral	SNV+ 2 derivada	0,02	16,88	10,75	5	0,79	61,89**	51,14

†Tipo de amostra usada no desenvolvimento do modelo de calibração. ‡TSC: Transição Seca Chuva; Geral: todas as estações. SNV - *standard normal variate*. Derivadas Savitzky-Golay, primeira e segunda derivativa, respectivamente. R² = coeficiente de determinação. RMSEC = erro médio de validação. Bias: Erro sistemático (viés). RPD- *Ratio of Performance to Deviation*. PB: Proteína Bruta; DIVMS: Digestibilidade *in vitro* da Matéria Seca; DIVMO: Digestibilidade *in vitro* da Matéria Orgânica. **Valores de previsão diferem estatisticamente do valor de referência pelo teste de F a 1% de significância.

Tabela 7. Parâmetros estatísticos de validação externa dos modelos de proteína bruta, digestibilidade *in vitro* da matéria seca e digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica das dietas de caprinos e ovinos, usando amostras compostas (experimento 2) para validação

Espécie	Amostra†	Estação‡	Pré-tratamento	R ²	RMSEP	Bias	Variáveis Latentes	RPD	Previsão	Referência
PB										
Ovino	Composta	Geral	SNV	0,69	6,16	-5,74	5	0,66	12,88**	18,62
Ovino	Composta	Geral	SNV+1 derivada	0,61	5,13	-4,09	5	0,80	14,53**	18,62
Ovino	Composta	Geral	SNV+ 2 derivada	0,52	4,67	-3,76	5	0,88	14,86**	18,62
Caprino e Ovino	Composta	TSC	SNV	0,01	2,89	2,17	5	0,54	20,20**	18,04
Caprino e Ovino	Composta	TSC	SNV+1 derivada	0,05	2,00	-1,88	5	0,78	16,16**	18,04
Ovino	Individual	Geral	SNV+2 derivada	0,39	5,22	-4,16	5	0,78	14,46**	18,62
Caprino e Ovino	Individual	TSC	SNV+2 derivada	0,35	1,88	1,31	5	0,82	19,35**	18,04
DIVMS										
Ovino	Composta	Geral	SNV	0,04	11,07	8,30	5	0,65	50,17**	41,87
Ovino	Composta	Geral	SNV+1 derivada	0,02	12,56	10,07	5	0,57	51,94**	41,87
Caprino e Ovino	Composta	Chuvosa	SNV+2 derivada	0,02	17,80	17,02	5	0,28	57,01**	39,99
Caprino e Ovino	Composta	Chuvosa	SNV	0,00	17,62	16,74	5	0,28	56,73**	39,99
Ovino	Individual	Geral	SNV+2 derivada	0,13	11,45	9,37	5	0,62	51,24**	41,87
Ovino	Individual	Geral	SNV	0,11	11,00	8,66	5	0,65	50,54**	41,87
DIVMO										
Ovino	Composta	Geral	SNV	0,03	11,29	7,26	5	0,74	61,93**	54,67
Ovino	Composta	Geral	SNV+1 derivada	0,01	12,54	8,97	5	0,66	63,64**	54,67
Ovino	Composta	Geral	SNV+ 2 derivada	0,02	13,71	10,55	5	0,61	65,22**	54,67
Caprino	Composta	Geral	SNV	0,01	12,31	10,45	5	0,35	56,54**	46,09
Caprino	Composta	Geral	SNV+1 derivada	0,01	14,22	12,72	5	0,30	58,81**	46,09
Ovino	Individual	Geral	SNV+ 2 derivada	0,07	12,45	9,58	5	0,67	64,25**	54,67

†Tipo de amostra usada no desenvolvimento do modelo de calibração. ‡TSC: Transição Seca Chuva; Geral: todas as estações. SNV - *standard normal variate*. Derivadas Savitzky-Golay, primeira e segunda derivativa, respectivamente. R² = coeficiente de determinação. RMSEC = erro médio de validação. Bias: Erro sistemático (viés). RPD- *Ratio of Performance to Deviation*. PB: Proteína Bruta; DIVMS: Digestibilidade *in vitro* da Matéria Seca; DIVMO: Digestibilidade *in vitro* da Matéria Orgânica. **Valores de previsão diferem estatisticamente do valor de referência pelo teste de F a 1% de significância.

4. CONCLUSÃO

Os modelos para previsão de proteína bruta e digestibilidade *in vitro* da dieta de animais em pastejo desenvolvidos com espectros fecais coletados em instrumento NIR SCiO, foram considerados acurados, mas de baixa precisão. Estes modelos foram considerados não confiáveis, exceto para a previsão da composição em proteína na época de transição seca-chuva. A recomendação do uso desta instrumentação para previsão da composição em proteína e digestibilidade *in vitro* da dieta por meio do NIR fecal deve considerar a boa acurácia, mas também a baixa precisão, em relação ao baixo custo e praticidade que o equipamento oferece.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. J. Stuth, A. Jama and D. Tolleson, “Direct and indirect means of predicting forage quality through near infrared reflectance spectroscopy”, *Field Crops Research* 84:45-56 (2003).
2. R. K. Lyons and J. W. Stuth, “Fecal NIRS equations for predicting diet quality of free-ranging cattle”, *Journal of Range Management* 45:238-244 (1992).
3. E.R. Leite, and J.W. Stuth, “Fecal NIRS equations to assess diet quality of free ranging goats”, *Small Ruminant Research* 15: 223–230 (1995).
4. M. Boval, D. B. Coates, P. Lecomte, V. Decruyenaere and H. Archimède, “Faecal near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to assess chemical composition, in vivo digestibility and intake of tropical grass by Creole cattle”, *Animal Feed Science and Technology* 114: 19-29 (2004).
5. S.Landau, M. Dvash, A. Decandia, A. Cabiddu, F. Shapiro, G. Molle and N. Silanikove, “Determination of poly(ethylene glycol)-binding to browse foliage, as an assay of tannin, by near- reflectance spectroscopy”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 638-642 (2004).
6. H. Li, D. Tolleson, J. Stuth ; K. Bai,; F. Mo S. and Kronberg, “Faecal near infrared reflectance spectroscopy to predict diet quality for sheep”, *Small Ruminant Research* 68: 263-268 (2007).
7. J. W. Walker, E. S. Campbell, C. J. Lupton, C. A. Taylor Jr., D. F and S. Y Landau, “Effects of breed, sex, and age on the variation and ability of fecal near-infrared reflectance spectra to predict the composition of goat diets”, *Journal of Animal Science* 85: 518-526 (2007).
8. S. A. Haughey, P. Galvin-Kinga, A. Malechauxb and C. T. Elliotta, “The Use of Handheld Near-Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) for the Proximate Analysis of Poultry Feed and to Detect Melamine Adulteration of Soya Bean Meal”, *Anal. Methods*, **7**: 181-186 (2014).
9. F. E. Barton, “Near infrared equipment through the ages and into the future”, *NIR News* 27: 41-43 (2016).
10. L. G. Weyer, “Near-infrared spectroscopy of organic substances”, *Applied Spectroscopy Reviews*, 21: 1- 43 (1985).

11. B. G. Osborn, T. Fearn and P. H. Hindle, Practical NIR spectroscopy with applications in food and beverage analysis (2nd ed.)". Harlow, UK: Longman Scientific and Technical (1993).
12. R. M. Correia, F. Tosato, E. Domingos, R. R. T. Rodrigues, F. L. M. Aquino, F.L.M., P.R. Filgueiras, V. Lacerda Jr., and W. Romão, "Portable near infrared spectroscopy applied to quality control of Brazilian coffee", *Talanta* 176: 59-68 (2018).
13. M. V. Maciel, "Monitoramento nutricional da dieta de pequenos ruminantes utilizando espectroscopia da reflectância do infravermelho próximo (NIRS) no sertão de Pernambuco", Tese (D. Sc.). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil (2016).
14. J. L. Gonçalves, "Monitoramento da Nutrição de Pequenos Ruminantes na Caatinga Cearense, Utilizando a espectroscopia NIR", Tese (D.Sc.). Universidade Federal da Paraíba, Areia, Brasil (2018).
15. G. R. A. Santos, A. V. Batista, A. Guim, M. V. F. Santos, M. J. A. Silva and V. L. A. Pereira, "Determinação da Composição Botânica da Dieta de Ovinos em Pastejo na Caatinga", *Revista Brasileira de Zootecnia. Brazilian Journal of Animal Science*, 37:1876-1883 (2008).
16. M. Cox, V. R. Vasconcelos, e E. R. Leite, "Utilização da técnica da Espectroscopia e Reflectância do Infra- Vermelho Próximo (NIRS) na determinação do valor nutricional da dieta de ovinos em caatinga", *Revista Científica de Produção Animal* 2:31-40(2000).
17. AOAC - Associação de Química Analítica Oficial. "Métodos oficiais de análise" 15º ed. AOAC International, Washington (1990).
18. J.M.A., Tilley and R.A. Terry, "A two-stage techniques for digestion of forage crops", *J.Br. Grass. Soc.* 18:104-111 (1963).
19. C.C.D. Senger, G.V. Kozloski, L.M.B. Sanchez, F.R.Mesquita, T.P. Alves, D.S. Castagnino, "Evaluation of autoclave procedures for fibre analysis in forage and concentrate feedstuffs", *Animal Feed Science and Technology* 146:169-174 (2008).
20. A. V. Morillas, J. Gooch and N. Frascione, Feasibility of a handheld near infrared device for the qualitative analysis of bloodstains. *Talanta* 184:1-6 (2018).
21. P. C. Williams, and D. C. Sobering, "Comparison of commercial near infrared transmittance and reflectance instruments for analysis of whole grains and seed", *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, Amsterdam 1(1): 25-33 (1993).

22. P. C. Williams, "Implementation of near-infrared technology", in: Near-infrared technology in the agricultural and food industries. 2. ed. Edited by P.C. Williams, P. C. and K. H. Norris. St. Paul: American Association of Cereal Chemists, p. 145-169 (2001).
23. C. W. Chang, D. A. Laird, M. J. Mausbach, C. R. Hurburgh Jr, "Near infrared reflectance spectroscopy – principal components regression analysis of soil properties", *Soil Science Society of America Journal* 65: 480-490 (2001).
24. M. A. D. Bomfim, "NIRS as a tool to determine the nutritional value of native pasture for small ruminants, in: Anais da 50^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Campinas (2013).
25. T.M. McLellan, J. D. Aber, M. E. Martin, J. M. Melillo and K.J. Nadelhoffer, "Determination of lignin and cellulose content of decomposing leaf material by near reflectance spectroscopy" *Can. J. For. Res.* 21: 1684-1688 (1991).
26. H. P. R. Aenugu, D. S. Kumar, P. N. Srisudharson, S. S. Ghosh, and D. Banji, "Near infrared spectroscopy - an overview". *Int. J. ChemTech Res.* 3:825-836 (2011).
27. J.S. Shenk, J.J. Workman and M.O. Westerhaus, "Application of NIR spectroscopy to agricultural products", in: Burns, D.A.; Ciurczak, E.W. *Handbook of near-infrared analysis*. 3.ed. cap.17, London: New York, p. 347-386 (2008).
28. I. Murray, "Application of NIRS in agriculture", in: *Proceedings of the Second International Near Infrared Spectroscopy Conference*. Edited by M. Iwamoto and S. Kawano, Korin Publishing Co. Ltd., Tokyo, Japan, p.11-20 (1990).
29. D. I. Givens, C. W. Baker and B. Zamime, "Regions of normalised near infrared reflectance difference spectra related to the rumen digestion of straws", *Animal Feed Science Technology* 36:1-12 (1992).
30. E.R. Deaville, and D. I. Givens, D.I., "Regions of normalised near infrared reflectance difference spectra related to the rumen degradation of fresh grass, grass silage and maize silage", *Animal Feed Science Technology* 72: 41–51 (1998).
31. J. Shenk, J. J. Workman, and M. O. Westerhaus, "Application of NIR spectroscopy to agricultural products", in: *Handbook of Near-Infrared Analysis*. 2 ed. Chap. 16. Edited by D. A. Burns and E. W., Revised And Expanded. Pub. Marcel Dekker, New York, p. 419-474. (2001)
32. E. A. Gihad, "Intake, digestibility and nitrogen utilization of tropical natural grass hay by goats and sheeps", *Journal of Animal Science*, 43:879-883 (1976).

33. J. M. Pereira Filho, J.A. Araújo Filho, F. C. Carvalho e M. C. Rego, “Disponibilidade de fitomassa do estrato herbáceo de uma Caatinga raleada submetida ao pastejo alternado ovino-caprino”, *Livestock Research for Rural Development* 19, n.2. (2007).
34. M. A. D. B. Bomfim, A. N. Medeiros, A. M. B. Vieira, J. K. Silva, M. V. Maciel, A. C. R. Cavalcante, D. B. Galvani e F. E. B. Martins, “Exploratory analysis NIR fecal spectra of goats and sheep grazing Brazilian rangelands” In *Proceedings 17th International Conference on Near Infrared Spectroscopy*, Foz do Iguaçu (2015).
35. P.M.G. Beelen, T.T. Berchielli, R. Beelen, J. A Filho, S. G. Oliveira, “Characterization of condensed tannins from native legumes of the Brazilian northeastern semi-arid”, *Sci. Agric.*, 63 (2006).
36. L.R. Santos, “Métodos Alternativos para Análise Rápida de Parâmetros de Qualidade da Soja” *Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão* (2017).
37. F. V. V. Vasconcelos, P. F. B. Souza Jr., M. F. Pimentel, M. J. C. Pontes and C. F. Pereira, “Using near-infrared overtone regions to determine biodiesel content and adulteration of diesel/biodiesel blends with vegetable oils”, *Analytica Chimica Acta* 716: 101– 107 (2012).
38. B. G. Osborn, *Near-infrared Spectroscopy in Food Analysis*. In: John Wiley & Sons, Ltd. *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, Online © 2006. BRI Australia Ltd, North Ryde, Australia (2006).
39. C. A. T. Santos, M. Lopo, R. N.M.J. Páscoa and J. A. Lopes. *A Review on the Applications of Portable Near-Infrared Spectrometers in the Agro-Food Industry*. *Applied Spectroscopy* 67: 1215-1233 (2013).