

UNIVERSIDADE ESTADUAL VALE DO ACARAÚ-UVA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

EFEITO DA ESPÉCIE E INSTRUMENTEÇÃO NA PREVISÃO DA COMPOSIÇÃO DA
DIETA POR MEIO DO NIRS FECAL EM PEQUENOS RUMINANTES

YARA ARRUDA MAGALHÃES

SOBRAL – CE

JULHO – 2018

YARA ARRUDA MAGALHÃES

EFEITO DA ESPÉCIE E INSTRUMENTEÇÃO NA PREVISÃO DA COMPOSIÇÃO DA
DIETA POR MEIO DO NIRS FECAL EM PEQUENOS RUMINANTES

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Vale
do Acaraú – UVA como parte das exigências do
Curso de Mestrado em Zootecnia, para obtenção do
título de *Master Science* em Zootecnia.

Área de concentração: Nutrição Animal

Orientador: Dr. Marco Aurélio Delmondes Bomfim

Co-orientador: Dr. Hélio Henrique Araújo Costa

SOBRAL - CE

JULHO – 2018

YARA ARRUDA MAGALHÃES

EFEITO DA ESPÉCIE E INSTRUMENTEÇÃO NA PREVISÃO DA COMPOSIÇÃO DA
DIETA POR MEIO DO NIRS FECAL EM PEQUENOS RUMINANTES

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

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

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

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

Dr. Ebenézer de Oliveira Silva
(Embrapa Agroindústria Tropical)

Aos meus pais, Marcos e Sarazila, pelo apoio e ensinamentos com muito amor em todos os momentos da minha vida. À vocês, todo o meu amor e gratidão!

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, por com muito amor e cuidado, escrever minha história.

À minha família, Marcos (Pai), Sarazila (Mãe), Rebeca (Irmã) e meus sobrinhos (Yanni e Marcos Neto) por serem meu porto seguro, o motivo do meu caminhar sorridente.

À Universidade Estadual Vale do Acaraú, pelo abrigo acolhedor, onde fiz minha segunda casa e nela encontrei uma segunda família.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pela concessão da bolsa de pesquisa.

À Embrapa Caprinos e Ovinos, por conceder a estrutura necessária para realização desse trabalho. À toda família embrapiana, em especial ao Dr. Diego Galvani, Dra. Sueli dos Santos, Marcio Ponciano, Lidiane, João Ricardo, Sr. Fábio, Sr. Chinês, Tânia e a querida Dona Lidu.

Ao Dr. Marco Bomfim, pela confiança, paciência e orientação. Por ser exemplo em conduta moral e profissional, a você, meu carinho, respeito e admiração.

Ao amigo e co-orientador, Dr. Hélio Costa, por todos os ensinamentos, amizade e companheirismo, por ser presente e ter tornado essa caminhada mais fácil e feliz.

Às professoras e amigas Aline Landim, Ana Sancha, Cláudia Goulart, Deis Brito e Ângela Vasconcelos, pelas oportunidades, pela confiança, por acreditarem em mim, por terem sido a base do meu crescimento profissional.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Zootecnia pelos conhecimentos compartilhados.

Aos colegas de classe, Gizele, Mariana, Luane, Marcelo, Augusto, Elomir, Mateus, Paulo e Michely pelos momentos aprendizagem e diversão.

À amiga Joyce Sampaio, por sua alegria, atenção e disponibilidade, Você é a eficiência em pessoa na Coordenação do Programa de Pós-graduação em Zootecnia.

Ao professor Bruno Stefano pelos ensinamentos em docência, pela oportunidade e confiança concedida.

Aos colegas, Juliete, Jonh, Erlane, Hellen, Yanna, Tibério e Mika pela colaboração na execução do trabalho.

Aos colegas de apartamento, Raimundo, Paula, Dani, Felipe, Rithiele, Hevair, Pedro Vitor, Fabíola, Giszelya e os agregados, que entre tapas e beijos, bons momentos foram compartilhados.

Aos amigos Elomir, Mayara, Hellen, Renatinha, Iane, Emanuel, Felipe, Zenaide, Luciana, à minhas porquinhas (Brena, Paula, Nara e Maria Clara) e meu viado lindo (Rithiele), por me fazerem bem e me arrancarem os melhores sorrisos. Certamente tudo teria sido mais difícil sem a presença de vocês na minha vida!

Muito obrigada!

“Decida se ver com os olhos que Deus olha pra você ♪

(Fernandinho)

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	X
LISTA DE FIGURAS	XI
CAPÍTULO I – REFERENCIAL TEÓRICO	
1. INTRODUÇÃO	13
2. ESPECTROSCOPIA E REFLETÂNCIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO – NIRS. 14	
2.1 Histórico	14
2.2 Principais vantagens da técnica	14
2.3 Princípios da técnica	15
2.4 Quimiometria	16
2.4.1 Calibração	16
2.4.2 Validação	18
2.4.3 Avaliação de desempenho dos modelos	18
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	18
CAPÍTULO II - EFEITO DA ESPÉCIE E INSTRUMENTAÇÃO NA PREVISÃO DA COMPOSIÇÃO DA DIETA POR MEIO DO NIRS FECAL EM PEQUENOS RUMINANTES	
ABSTRACT	23
RESUMO	24
1. INTRODUÇÃO	25
2. MATERIAL E MÉTODOS	26
2.1 Declaração de ética no uso de animais	26
2.2 Local do experimento	26
2.3 Ensaio de digestibilidade <i>in vivo</i>	26

2.3.1 Animais, instalações e alimentos	26
2.3.2 Procedimentos e coleta das amostras de fezes e alimentos	28
2.4 Instrumentos NIRS e aquisição espectral	28
2.5 Determinação dos dados de referência	30
2.6 Quimiometria	30
2.6.1 Calibração	31
2.6.2 Validação	31
2.7 Soft Independent Modeling of Class Analogy (SIMCA)	32
2.8 Procedimento estatístico	32
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES	33
3.1 Calibração e cross-validation	33
3.2 Bandas de absorção que representam a previsão das concentrações dos nutrientes	36
3.3 Previsão bromatológica para diferentes espécies por meio dos modelos NIRS fecal	41
4. CONCLUSÃO	45
5. REFERÊNCIAS	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição químico-bromatológica dos fenos de <i>Mimosa caesalpiniaefolia</i> (Sabiá) e mix herbáceo nativo da Caatinga.	27
Tabela 2. Características dos instrumentos NIRS utilizados.	28
Tabela 3. Parâmetros estatísticos dos modelos NIR desenvolvidos utilizando PLS para predição do teor da proteína bruta e digestibilidade da matéria seca e orgânica em três instrumentos NIRS pela técnica fecal.	33
Tabela 4. Identificação das bandas relacionadas ao teor de proteína.	38
Tabela 5. Identificação das bandas relacionadas a digestibilidade da matéria seca e orgânica.	40
Tabela 6. Parâmetros de avaliação da capacidade dos modelos de caprinos preverem a composição das dietas de ovinos e modelos de ovinos preverem a composição das dietas de caprinos.	41
Tabela 7. Número de amostras fecais pertencentes às duas classes (caprino e ovino) a 5% de nível de significância (número de amostras totais/ número de amostras pertencentes a ambos os grupos). Classificação realizada pela ferramenta <i>Soft Independent Modeling of Class Analogy</i> (SIMCA).	42
Tabela 8. Efeito da utilização dos modelos fecais de uma espécie para prever composição nutricional de outra.	44

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Valores da relação de desempenho de desvio dos modelos (<i>Ratio of Performance to Deviation – RPD</i>) dos modelos para caprinos e ovinos	36
---	----

CAPÍTULO 1
REFERENCIAL TEÓRICO

1. INTRODUÇÃO

A produção de caprinos e ovinos no Nordeste é tradicionalmente desenvolvida em sistema extensivo, onde a base da alimentação predominante é a Caatinga (Torres, 2010).

Nestas regiões um dos principais desafios à produção tem sido a nutrição adequada dos rebanhos. Esses desafios se devem há uma grande variação na qualidade da forragem ao longo do ano, mais nitidamente nos teores energéticos e protéicos, além da dificuldade da estimativa da dieta consumida.

As estimativas do valor nutritivo das forragens consumidas são importantes informações para embasar o ajuste dos sistemas de alimentação conforme a deficiência do pasto, e assim, promover uma melhor interação animal x pasto (Leite e Stuth , 1995).

Todavia, a obtenção dessas informações é laboriosa devido à diversidade das espécies forrageiras, que juntamente com a seletividade animal, dificultam a estimativa da qualidade da forragem ingerida pelos animais.

Esses desafios têm estimulado a busca por técnicas que resolvam contornem a situação. Dentre diversas técnicas, a tecnologia NIRS tem se destacado por suas características de precisão que possibilita a obtenção dos resultados com mais agilidade, evita a destruição das amostras e a geração de resíduos químicos. Essa tecnologia possui capacidade de predição química das dietas através da análise fecal (NIRS fecal).

O uso do NIRS para determinar a composição da dieta de animais em pastejo teve Jerry Stuth como pioneiro, quando o mesmo desenvolveu um método para estimar proteína e digestibilidade da dieta selecionada por animais a pasto através de espectros de fezes combinados a quimiometria (Stuth e Lyons, 2003).

Desde então, diversas pesquisas foram realizadas com a técnica, nas quais foram demonstradas sua eficiência de previsão de forma acurada e simples (Leite e Stuth, 1995; Cox, 2000; Landau, 2004; Li, 2007; Sanchez, 2016; Maciel, 2016; Gindrin, 2016).

Com isso, a indústria passou a investir na modernização dos equipamentos NIRS, tornando-os cada vez mais eficientes e práticos, menores, alguns portáteis, mais robustos e de menor valor aquisitivo. Tornando a tecnologia cada vez mais usual no dia a dia.

2. ESPECTROSCOPIA E REFLETÂNCIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO – NIRS

2.1 Histórico

O termo NIR tem sua origem do inglês e significa *Near infrared reflectance spectroscopy*. A palavra espectroscopia é derivada do latim *spectrum* (imagem) e *skopia* do grego (vista aspecto). A aplicação dessa tecnologia baseia-se na interação da radiação infravermelho com a matéria combinado a quimiometria.

A radiação infravermelha foi descoberta em 1800, por Frederick William Herschel. Em experimento, o mesmo utilizou um termômetro de bulbo para medir o calor relativo em cada uma das regiões coloridas do espectro solar. Foi observado que a temperatura aumentava quando mais próximo da extremidade vermelha e mais ainda na região invisível após a vermelha. Essa região foi então denominada infravermelho (Givens, 1997).

Após essa descoberta, poucos estudos avançaram nesse tema (Pasquini, 2003), até que Karl Norris, em 1960, utilizou da técnica para determinar umidade em produtos agrícolas. Desde então, houve o despertar de interesse do setor agrícola e assim, a movimentação da comunidade científica (Magalhães, 2014).

O avançar das pesquisas também proporcionou a modernização dos equipamentos NIRS, tornando-os menores, mais robustos, de fácil manuseio e de menor valor aquisitivo, e assim, mais usual.

2.2 Principais vantagens da técnica

A técnica NIRS tem se destacado por diversas vantagens, entre elas suas características de agilidade (Pasquini, 2003). Em laboratórios convencionais, a obtenção dos resultados das análise demandam uma quantidade de tempo e ainda apresentam custo elevado. Diferentemente da análise por NIRS, que pode ser feita em cerca de 3 minutos com custo bem inferior. Além disso, a utilização dos equipamentos NIRS reduz a possibilidade de incorporar nos resultados, erros de manuseio do operador, o que torna a precisão do NIR é superior aos métodos tradicionais (Lyons e Stuth, 1992).

Em situação de animais em pastejo, a obtenção de uma amostragem representativa da dieta selecionada é dificultosa. Com a tecnologia NIRS, é possível estimar qualidade da dieta selecionada apenas com a análise espectral das fezes (Stuth e Lyons, 2003).

A tecnologia NIRS baseia-se na utilização da energia eletromagnética do infravermelho para obtenção de espectros, com isso, não ocorre qualquer alteração na natureza química ou física das amostras.

A técnica não utiliza de reagentes químicos, tornando-a mais vantajosa no ponto de vista ambiental e econômico.

Outra vantagem é a utilização de um único instrumento para as mais variadas análises conforme citadas a seguir: na pecuária para composição de diversos nutrientes em rações e plantas forrageiras; na indústria têxtil para análise das fibras de algodão (Sousa, 2013); na indústria farmacêutica, para dosagem de medicamentos (Magalhães, 2014); no setor alimentício, para estágio de maturação das frutas (Pereira, 2017); no setor petroquímico, para detectar de adulteração em combustíveis (Mendes, 2012).

Com a modernização dos equipamentos NIRS, tornando-os menores, mais robustos, de fácil manuseio e de menor valor aquisitivo, com evolução da computação e o desenvolvimento de softwares, a tendência é que cada vez mais a utilização do NIR para análises ocorra diretamente na propriedade agropecuária, na indústria, na fábrica.

2.3 Princípios da técnica

A espectroscopia é uma técnica baseada na interação da radiação eletromagnética com as moléculas. O espectro eletromagnético visível ao olho humano se estende de 400 a 780nm, enquanto o infravermelho compreende o intervalo entre 780 a 1.000.000 nm (Metrohm, 2013). Essa região é dividida em: infravermelho próximo (NIR), médio (MIR) e distante (FIR). A região infravermelho próximo compreende o intervalo de comprimentos de onda entre 780 a 2526nm.

A técnica da espectroscopia NIR tem como principio a medição da interação da luz com o material (Pasquini, 2003). Essa técnica consiste em emitir a radiação infravermelho nas amostras, provocando a vibração das ligações covalentes e conseqüentemente a absorção de energia em comprimento de onda específico e conhecido, enquanto todos os outros comprimentos de onda são refletidos (Van Kempem e Jackson, 1996). A absorção de energia ocorre quando as vibrações entre as suas ligações moleculares ocorrem na mesma frequência

da onda de radiação (Andrade, 2009). A absorção de luz é então medida por diferenças entre a quantidade de luz emitida pelo NIR e a quantidade de luz refletida pela amostra (Almeida, 2009 e Voge, 1992). O que possibilita a obtenção do espectro por meio do registro da intensidade absorvida em função do comprimento de onda da luz incidente.

Segundo Magalhães (2014), a coleta dos espectros deve ser realizada com cautela para minimizar erros e evitar dificuldades na interpretação dos espectros. Diversos fatores influenciam a natureza dos espectros, tais como: temperatura da amostra, presença de umidade, granulometria, controle de ambiente e outros. Vale ressaltar que a necessidade desses controles, varia de acordo com as características e exigências do instrumento NIR utilizado.

Uma vez obtido os espectros, os mesmos são representados matematicamente para software especializados e então submetidos à análise de regressão.

Para construção dos modelos é necessário uma base de dados significativa. Nos quais os dados químicos são utilizados como dependentes e os espectros como independentes (Stuth, 2003). Dessa forma, através de estudos quimiométricos é possível determinar as propriedades de uma amostra (Pietro, 2008).

Para Chaga (2006), para realização de análises qualitativas e quantitativas pela espectroscopia NIR, também é importante a interpretação e conhecimento sobre as bandas espectrais na região. As bandas espectrais indicam a absorção dos grupos funcionais nos comprimentos de onda. A maior parte das espécies químicas exibem bandas de absorção únicas na região espectral de NIR, que podem ser usadas quer para propósitos qualitativos ou quantitativos (Metrohm, 2013). E através dos estudos de Goddu e Delker (1960) é possível identificar a correlação com o nutriente em estudo.

2.4 Quimiometria

A quimiometria é a área da química que utiliza técnicas matemáticas e estatísticas para extração de informações a partir de dados analíticos, como os dados espectrais NIR. (Pasquini, 2003). Para Massart (1986), o sucesso da espectroscopia NIR se deve aos avanços das técnicas quimiométricas.

A quimiometria é usada para filtrar informação que se correlaciona com uma certa propriedade de uma grande quantidade de dados. (Magalhães, 2014). Para utilização da tecnologia NIR, a quimiometria é utilizada para desenvolvimento de modelos NIRS, para isso

são utilizados técnicas de pré-tratamentos matemáticos, seleção de amostras nas calibrações e validações e identificação de *outliers* (Almeida, 2009).

2.4.1 Calibração

A calibração consiste numa sequência de operações que estabelecem uma relação entre as propriedades medidas, permitindo determinar um componente de interesse em matrizes complexas ou analisar vários componentes em sistemas mais simples (Barros Neto, 2006; Martens e Naes, 1996).

Dentre as operações, inicialmente são aplicados pré-tratamentos que permitem reduzir, padronizar ou eliminar variações que causam impactos na leitura espectral, uma vez que os sinais medidos consistem em verdadeiros e ruídos aleatórios (Fernandes, 2017; Sotelo, 2006 e Siesler, 2008). Tais variações podem ser oriundas da granulometria, temperatura ou do próprio equipamento e ocasionam efeitos aditivos conhecidos como ruídos (Cozen, 2006). Contudo, podem ser corrigidos com pré-tratamentos como: *Multiplicative Scatter Correction – MSC* ou *Standard Normal Variate Method – SNV*.

Outra ferramenta importante na calibração dos modelos, segundo Burns e Ciurczak (2008), uma das mais importantes, é a análise de componentes principais – PCA. Essa técnica permite a visualização de da similaridade das amostras e detectar amostras anômalas (*outliers*).

A eliminação de *outliers* pode melhorar, de forma significativa os modelos na calibração. No entanto, vale lembrar que tal procedimento deve ser realizado com cautela, pois muitas vezes uma amostra diferente das demais, pode conter informações importantes que contribuem com o desenvolvimento do modelo. A presença de outliers pode está relacionado com a amostra utilizada para a obtenção dos espectros, que pode ter sofrido algum tipo de contaminação ou dano, por exemplo. Ou pode ser em virtude dos erros nos valores de referência que se encontram fora do intervalo previsto para os dados em questão (Andrade, 2009).

Para construir os modelos de calibração, a ferramenta mais utilizada é a Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (*Partial Least Squares - PLS*) (Brereton, 2000). Ela relaciona os dados espectrais (variáveis independentes – X) com os dados obtidos pelo método de referência (variáveis dependentes – Y) (Nunes, 2008).

2.4.2 Validação

Quando os modelos são construídos por PLS, a ferramenta utiliza das próprias amostras, separadas inicialmente automaticamente, para verificar a precisão e acurácia dos modelos, tal procedimento é chamado de validação cruzada ou *cross validation*. Contudo, ainda é recomendada a realização de validação externa para melhor averiguar a capacidade dos modelos. Para isso, é necessário um conjunto de amostras diferente do conjunto amostral da calibração, o que demanda mais tempo com avaliação e custos nos procedimentos (Sotelo, 2006).

2.4.3 Avaliação de desempenho dos modelos

O desempenho dos modelos, tanto de calibração como de validação, é avaliado principalmente pelos coeficientes de determinação (R^2) e erro médio ou raiz quadrada do erro médio quadrático de previsão (RMSEP) conforme Williams (2001).

O RMSEP (RMSEP – do inglês *Root Mean Squares Error of Prediction*) representa a exatidão dos modelos, ou seja, acurácia. Esse refere-se ao grau de concordância entre o valor de referência e o valor estipulado pelo modelo de calibração. Dessa forma, quanto menor seu valor, melhor o desempenho do modelo (Valderrama, 2007).

O R^2 representa o grau de concordância entre os resultados obtidos, em outras palavras avalia a proximidade dos resultados em uma série de replicatas. Seus valores variam de 0 a 1, e quanto mais próximos de 1, melhor a performance dos modelos (Valderrama, 2009).

Esses parâmetros são importantes dados estatísticos para outras formas de avaliação do desempenho dos modelos. Tais como o *Ratio of Performance to Deviation* (RPD).

Através dos valores de RPD, é possível classificar os modelos nas três seguintes categorias: excelente (Classe A) quando $RPD > 2,0$ e $R^2 > 0,8$; ajustado (Classe B) quando RPD de 1,4 a 2,0 e R^2 de 0,5 a 0,8 e não confiável (Classe C) quando $RPD < 1,4$ e $R^2 < 0,5$ (Chang, 2001).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, C. R. **Uso da espectroscopia no infravermelho próximo para avaliar propriedades da madeira e do carvão vegetal de Eucalyptus**. 2009. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- ALMEIDA, F. M. **Espectroscopia de Infravermelho Próximo com Transformada de Fourier (FT-NIR) na Caracterização de Farinhas para Alimentação Pueril**. 2009. Instituto Superior Técnico - Universidade Técnica de Lisboa.
- BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. 25 anos de quimiometria no Brasil. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1401-1406, 2006.
- BRERETON, R. G. Introduction to multivariate calibration in analytical chemistry. **The Analyst**, v. 125, n. 11, p. 2125–2154, 2000.
- CHAGAS, I.P. **Desenvolvimento de um Fotômetro Portátil NIR Para Determinação do Teor de Água no Álcool Combustível e do Teor de Etanol na Gasolina**. 2005 Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.
- CHANG, C.W.; LAIRD, D.A.; MAUSBACH, M.J.; et al. Near-infrared reflectance spectroscopy – principal components regression analysis of soil properties. **Soil Science Society of America Journal**, v.65, p.480-490, 2001.
- COX, M.; VASCONCELOS, V.R.; LEITE, E.R. 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**, v.2, n.1, p.31-40, 2000.
- GIVENS, D. I.; De BOEVER, J. L.; DEAVILLE, E. R. The principles, practice and future applications of near infrared spectroscopy for predicting the nutritive value of foods for animals and humans. **Nutrition Research Reviews**, v.10, p.83-114. 1997.
- GINDRI, M. **Uso do NIRS como ferramenta de diagnostico nutricional de ovinos mantidos em pastagem natural**. 2016. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.
- GODDU, F. R.; DELKER, D. A. Spectra-Structure Correlations for the Near-Infrared Region. **Anal. Chem.** v.32, n.1, p.140-141, 1960.
- LANDAU, S.; GLASSER, T.; DVASH, L; PEREVOLOTSKY, A. Fecal NIRS to monitor the diet of Mediterranean goats. **S. Afr. J. Anim. Sci.**, v. 34, n.5, p.76-80, 2004.
- LEITE, E.R., STUTH, J.W. Fecal NIRS equations to assess diet quality of free ranging goats. **Small Ruminant Research**, v.15, n.3 ,p.223–230, 1995.
- LI, H.; TOLLESON; D.; STUTH, J. et al. Fecal near infrared reflectance spectroscopy to predict diet quality for sheep. **Small Ruminant Research**, v.68, n.3, p.263–268, 2007.
- MACIEL. M.V. **Monitoramento nutricional da dieta de pequenos ruminantes utilizando espectroscopia da reflectância do infravermelho próximo (NIRS) no sertão de**

- Pernambuco**. 2016. Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.
- MAGALHÃES, D. F. **Aplicações da Espectroscopia de Infravermelho Próximo na Monitorização de Processos Farmacêuticos**. 2014. Dissertação (Mestrado) - Universidade de Lisboa.
- MARTENS, H.; NAES, T. **Multivariate calibration**. New York: Wiley, 1996.
- MENDES, G. **Deteção de adulterações em Gasolina e previsão de parâmetros físico-químicos a partir de curvas de destilação associada à ferramentas quimiométricas**. 2012. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- METROHM. A guide to near-infrared spectroscopic analysis of industrial manufacturing processes. **NIR Spectroscopy**. Herisau, Suíça. 2013.
- NUNES, P. G. A. **Uma nova técnica para seleção de variáveis em calibração multivariada aplicada às espectroscopias UV-VIS e NIR**. 2008. Tese (Doutorado) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.
- PASQUINI C. Near Infrared Spectroscopy: Fundamentals, Practical Aspects and Analytical Applications. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v.14, n. 2, p.198 – 219, 2003.
- PEREIRA, L.F.S. **Espectroscopia no NIR e processamento de imagens digitais para classificação de mamão papaia (*Caricapapaya L.*) GOLDEN**. 2017. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- PRIETO, N.; ANDRÉS, S.; GIRÁLDEZ, F.J.; et al. Discrimination of adult steers (oxen) and young cattle ground meat samples by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). In: **Meat Science**, 79, p. 198-201, 2008.
- SÁNCHEZ N.N.; CARRION, D.; BLANCO, F.P.; et al., Evaluation of botanical and chemical composition of sheep diet by using faecal near infrared spectroscopy. **Animal Feed Science and Technology**, 222 p. 1–6, 2016.
- SIESLER, H. W. Basic Principles of near-infrared analysis. In: **Burns**, 3a edição. CRC Press, v. 35, cap.2, p. 7 – 18. Estados Unidos, 2008.
- SOTELO, F. F. **Aplicação da espectroscopia de infravermelho próximo na caracterização de petróleo: simulação de uma unidade de destilação atmosférica**. 2006. 154p. Tese (Doutorado)-Universidade de São Paulo, São Paulo.
- SOUSA, G.R.M. **Aplicação da Espectroscopia NIR para Análise exploratória de plumas de algodão colorido**. 2013. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande.
- STUTH, J.; JAMA, A.; TOLLESON, D. Direct and indirect means of predicting forage quality through near infrared reflectance spectroscopy. **Field Crops Research**, v.84, n.1-2, p.45-56, 2003.

- VALDERRAMA, P.; BRAGA, J. W. B.; POPPI, R. J. Validation of multivariate calibration models the determination of sugar cane quality parameters by near infrared spectroscopy. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 2, p. 259–266, 2007.
- VALDERRAMA, P.; BRAGA, J. W. B.; POPPI, R. J. State of the art of figures of merit in multivariate calibration. **Química Nova**, v. 32, n. 5, p. 1278–1287, 2009.
- VAN K.; T. JACKSON, D. (1996). NIRS may provide rapid evaluation of amino acids. **Feedstuffs**, n.68, p.12-15, 1996.
- VOGE, A.I. **Análise química quantitativa**. 5^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. p.712.
- TORRES, J.F.; BRAGA A.P.; LIMA, G.F.C.; Utilização do feno de flor-de-seda (calotropisproceraait. R. Br) na alimentação de ovinos. **ActaVeterinaria Brasilica**.v.4, n.42, p.1-50, 2010.

CAPÍTULO II
ARTIGO

**EFFECT OF THE SPECIES AND INSTRUMENTATION ON THE PREDICTION OF
DIET COMPOSITION BY FECAL NIRS IN SMALL RUMINANTS**

**EFEITO DA ESPÉCIE E INSTRUMENTAÇÃO NA PREVISÃO DA COMPOSIÇÃO
DA DIETA POR MEIO DO NIRS FECAL EM PEQUENOS RUMINANTES**

Yara Arruda Magalhães

Marco Aurélio Delmondes Bomfim

Hélio Henrique Araújo Costa

Francisca Erlane Brito Martins

Sueli Freitas dos Santos

Abstract: Several studies point to fecal NIRS technology as a promising alternative to predict crude protein content and digestibility of diets for small ruminants and thus optimize animal production in the Caatinga. However, a representative database for the construction of the calibration models is required for its use. One way to make them less costly and laborious would be to use common models for small ruminants. Another way is to use more common instruments. Thus, the objective was to evaluate the possibility of goat models predicting the composition of sheep diets and sheep models to predict the composition of goat diets. As well, verify that the responses are the same under different diets in NIRS devices with different characteristics. The models developed for prediction of protein and digestibility for goats and sheep are considered accurate and accurate. It was observed by the high values of R^2 and low RMSECV that the goat models are more robust. The predictive capacity of the models for both species using models of only goats or sheep is influenced by the diet. When these are fed with native herbaceous hay from the Caatinga, it is possible to use models for

only one species and through it to provide for both (goats and sheep), having the option to use any of the three instruments (MicroNir 1700, Perten 7250 and Foss 5000) without affecting the accuracy of the results.

Index terms: Goats, Spectroscopy, Nutrition, Sheep, Semi-arid

Resumo: Diversas pesquisas apontam a tecnologia NIRS fecal como uma alternativa promissora para prever o teor de proteína bruta e digestibilidade das dietas para pequenos ruminantes e assim, otimizar a produção animal na Caatinga. No entanto, para sua utilização é necessário uma base de dados representativa para construção dos modelos de calibração. Uma forma de torná-las menos onerosas e laboriosas seria utilização de modelos em comum para os pequenos ruminantes. Outra forma é a utilização de instrumentos mais usuais. Dessa forma, objetivou-se avaliar a possibilidade dos modelos de caprinos preverem a composição das dietas de ovinos e modelos de ovinos preverem a composição das dietas de caprinos. Assim como, verificar se as respostas são as mesmas sob diferentes dietas em aparelhos NIRS com diferentes características. Os modelos desenvolvidos para predição de proteína e digestibilidade para caprinos e ovinos são considerados precisos e acurados. Observou-se pelos elevados valores de R^2 e baixo RMSECV, que os modelos caprinos são mais robustos. A capacidade de previsão dos modelos para ambas as espécies utilizando modelos de apenas caprinos ou ovinos é influenciado pela dieta. Quando esses são alimentados com feno herbáceo nativo da Caatinga, é possível a utilização de modelos para apenas uma espécie e através dele prever para ambas (caprinos e ovinos), tendo a opção de utilizar qualquer um dos três instrumentos (MicroNir 1700, Perten 7250 e Foss 5000) sem afetar a acurácia dos resultados.

Termos para indexação: Caprinos, Espectroscopia, Nutrição, Ovinos, Semiárido

1. INTRODUÇÃO

Diversas pesquisas apontam a tecnologia NIRS fecal como uma alternativa para os desafios da nutrição de caprinos e ovinos na Caatinga.

Através de Leite e Stuth, 1995; Cox, 2000; Landau, 2004; Li, 2007; Sanchez, 2016; Maciel, 2016; Gindrin, 2016, essa técnica mostrou-se eficiente para prever o teor de proteína bruta e digestibilidade das dietas para pequenos ruminantes. O uso desta tecnologia para este fim implica em um grande avanço na nutrição, pois esses parâmetros representam os principais limitantes na alimentação animal.

Essa técnica apresenta-se como método alternativo bastante promissor por suas características de precisão, agilidade, além de evitar a destruição das amostras e a geração de resíduos químicos. No entanto, para sua utilização é necessário uma base de dados representativa para construção dos modelos de calibração. Uma forma de tornar as calibrações menos onerosas e laboriosas seria utilização de modelos em comum para os pequenos ruminantes.

Essa possibilidade é oriunda de uma avaliação de espectros fecais de caprinos e ovinos pastejando na caatinga, realizada por Bomfim (2015). Onde foi constatado que 100% das espécies contidas nas dietas de ovinos estão contidas nas de caprinos. E 97% das espécies contidas nas dietas de caprinos estão contidas nas de ovinos. Como a técnica baseia-se no princípio que as fezes refletem a composição da dieta, essa observação de Bomfim (2015) avigora a possibilidade da construção de modelos para apenas uma espécie e através dele prever para caprinos e ovinos.

A diversidade de aplicações e utilização do NIRS tem expandido consistentemente. O que impulsionou a indústria a investir nesses aparelhos através de inovações com tamanho, peso, alcance de comprimentos de ondas, intervalos de comprimentos de ondas, tempo de leitura, controle de ambiente, entre outros.

Diversos aparelhos já foram utilizados para estimativas de proteína e digestibilidade pela técnica NIRS fecal, entretanto, pouco se sabe sobre a influência das características dos aparelhos nas calibrações, validações e previsões.

Segundo Walker (2007), as calibrações, validações e previsões também podem sofrer influência da dieta, pois essa é a maior fonte de variação capaz de ocasionar diferenças espectrais nas fezes.

Dessa forma, objetivou-se avaliar a possibilidade dos modelos de caprinos preverem a composição das dietas de ovinos e modelos de ovinos preverem a composição das dietas de caprinos. Assim como, verificar se as respostas são as mesmas sob diferentes dietas em aparelhos NIRS com diferentes características (MicroNir 1700, Perten 7250 e Foss 5000).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Declaração de ética no uso de animais

Todos os procedimentos adotados foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais em Pesquisa da Embrapa Caprinos e Ovinos (Protocolo nº 006/2015).

2.2 Local do experimento

O experimento foi conduzido nas dependências da Embrapa Caprinos e Ovinos, em Sobral, Ceará, Brasil, sob coordenadas geográficas de 3°45'00.77" latitude sul, longitude a oeste de Greenwich de 40°20'38.55" e altitude aproximada de 101 metros em relação ao nível do mar.

2.3 Ensaio de digestibilidade *in vivo*

2.3.1 Animais, instalações e alimentos

Foram utilizados dez caprinos e dez ovinos, machos, não castrados, com um ano e seis meses de idade, mestiços santa inês e anglo-nubiano, com peso vivo médio de $40,4 \pm 5,42$ kg. Os animais foram previamente vermifugados e então confinados individualmente em gaiolas de metabolismo dotadas de comedouros, bebedouros, saleiros e coletores de fezes e urina, estando essas em um galpão de alvenaria com piso de concreto.

As dietas foram projetadas para conter diferentes teores de proteína e digestibilidade visando obter duas amostragens distintas da qualidade do pasto nativo da Caatinga. Dessa forma, foram confeccionados dois tipos de feno: leguminosa arbórea nativa *Mimosa caesalpiniaefolia* (Sabiá) e mix de herbáceas nativas da Caatinga, sendo o feno herbáceo constituído predominantemente pelas seguintes espécies: *Panicum maximum*, *Merremia aegyptia*, *Dactyloctenium aegyptium* (L). Willd, *Sthylasanten humilis* e *Alternanthera tenella*. Ambos os fenos foram produzidos no mês de março, sendo o corte realizado antes do florescimento, selecionando folhas e ramos de no máximo 6 milímetros de espessura. A composição químico-bromatológica dos fenos encontra-se na tabela 1.

Tabela 1. Composição químico-bromatológica dos fenos de *Mimosa caesalpiniaefolia* (Sabiá) e mix herbáceo nativo da Caatinga.

	Feno 1	Feno 2
	<i>Mimosa caesalpiniaefolia</i>	Mix herbáceo nativo
MS (%)	83,79	81,54
<i>Nutrientes (MS%)</i>		
MO	84,14	79,94
PB	16,18	8,14
FDN	48,55	70,31
FDA	32,87	48,22
LIG	7,27	6,57
EE	5,54	1,20
DMS	43,13	59,31
DMO	41,37	56,84

MS = Matéria Seca; MO = Matéria Orgânica; PB = Proteína Bruta; FDN = Fibra em Detergente Neutro; FDA = Fibra em Detergente Ácido; LIG = Lignina; EE = Extrato Etéreo; DMS = digestibilidade da matéria seca; DMO = digestibilidade da matéria orgânica.

2.3.2 Procedimentos e coleta das amostras de fezes e alimentos

O ensaio foi conduzido em um delineamento inteiramente ao acaso em esquema fatorial 2x2 (duas espécies: 10 caprinos e 10 ovinos x dois tipos de fenos: feno de leguminosa nativa e mix de gramíneas nativas), perfazendo quatro tratamentos, com cinco repetições.

Os animais foram divididos em dois lotes homogêneos, cada um contendo cinco caprinos e cinco ovinos. Um lote foi alimentado exclusivamente com feno de *Mimosa caesalpiniaefolia* (sabiá) e o outro com feno mix herbáceo nativo.

Os fenos foram fornecidos em duas refeições iguais, tendo suas quantidades ajustadas conforme o consumo diário para não obter sobras. Os animais receberam suplementação mineral e água *ad libitum*.

O período experimental foi de treze dias, sendo dez dias de adaptação e três dias de coleta de alimentos e fezes (Schneider, 1975).

Diariamente foi coletada uma amostra do fornecido a cada animal e o total de fezes produzido individualmente.

As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos individuais e em seguida foram direcionadas para o Laboratório de Nutrição Animal da Embrapa Caprinos e Ovinos para posteriores análises.

2.4 Instrumentos NIRS e aquisição espectral

A leitura espectral foi realizada em três modelos de instrumentos de espectroscopia de infravermelho próximo. As características dos instrumentos utilizados estão descritos na tabela 2.

Tabela 2. Características dos instrumentos NIRS utilizados.

Características	Modelos dos instrumentos		
	MicroNir [®] 1700 ^a	Perten [®] 7250 ^b	Foss [®] 5000 ^c
Tipo	Portátil	Móvel	Fixo (Bancada)

Dimensão (cm)	4,5x5	51,7x37x39	26,5x43,2x41,9
Peso (kg)	0,064	20	21,5
Tempo média de leitura (s)	0,5	6	40-45
Controle de ambiente	Nenhum	Nenhum	Temperatura e umidade
Alcance espectral [¥] (nm)	910 a 1650	950 a 1650	1100 a 2500
Intervalo (nm)	6,2	5	2
Valor relativo	*	**	***

^aMicro NIR[®] 1700 (MicroNIR[®] 1700, JDS Uniphase Corporation, Califórnia, EUA); ^bNIRS PERTEN[®] DA 7250 (Pertem Instruments, Hägersten, Suécia); ^cNIRS FOSS[®] 5000 (FOSS Analytical A/S, Hillerød, Denmark); [¥]Faixa de comprimentos de onda da radiação emitida para obtenção de espectros de absorvância; *Valor relativo em ordem crescente; cm = centímetros; kg = quilogramas; s = segundos; nm = nanômetros;

As amostras de fezes coletadas diariamente passaram pelo processo de pré secagem a 60°C por 72h e moagem em moinho tipo ciclone (MA020, Marconi Equipamentos para Laboratórios Ltda., Piracicaba, SP, Brasil) provido de peneira com poros com 1 mm de diâmetro. Em seguida as amostras voltaram para estufa a 60°C por 3h para estabilizar o teor umidade (Lyons e Stuth, 1992), ao final do período, foram colocadas em dessecador por 20 minutos para resfriar à temperatura ambiente. Posteriormente, foi realizada nos três NIRS descritos a cima, a leitura espectral para obtenção dos espectros de absorvância de radiação.

A coleta dos espectros fecais foram realizadas com as amostras secas e moidas objetivando minimizar os erros de calibração, uma vez que a água absorve radiação infravermelho, podendo modificar os espectros e dificultar a interpretação dos dados (Buüning-Pfaue, 2003). Além do mais, partículas maiores produzem uma linha de base desalinhada. (Metrohm, 2013).

A leitura espectral fecal no MicroNIR[®] foi realizada com as amostras acondicionadas em células de acrílico com capacidade para 35mL, utilizando branco (reference scan) e dark current para correção dos espectros. Para uma maior segurança de amostragem, foram realizadas leituras em cinco diferentes pontos na mesma amostra, obtendo assim, uma média mais representativa.

Os espectros gerados foram arquivados em microcomputador para desenvolvimento dos modelos.

2.5 Determinação dos dados de referência

As amostras de alimentos (amostragem do fornecido) foram pré-secadas em estufa de ventilação forçada a 60°C por 72 horas e em seguida, trituradas em moinho tipo ciclone (MA020, Marconi Equipamentos para Laboratórios Ltda., Piracicaba, SP, Brasil) provido de peneira com poros com 1 mm de diâmetro (AOAC, 1990). E então foram determinados os teores de matéria seca (MS) (método 934.01; AOAC, 1990), matéria orgânica (MO) (método; 938.08; AOAC, 1990) e proteína bruta (PB) (método 968.06; AOAC, 1990) em aparelho Leco® (CN628, St. Josesh, MI, EUA).

A digestibilidade da matéria seca e orgânica (DMS e DMO) foi determinada por ensaios de digestibilidade *in vitro* utilizando incubadora automática tipo MA443 (MA443, Marconi Equipamentos para Laboratórios Ltda., Piracicaba, SP, Brasil), conforme princípios da técnica de Tilley & Terry (1963), seguida de lavagem em solução de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) em autoclave conforme Senger et al. (2008) e por fim, incineração em mufla a 550°C durante 2 horas (AOAC, 1990).

2.6 Quimiometria

Para análise quimiométrica foi utilizado o software Unscrambler® versão 10.2 (CAMO Software Inc., Oslo, Noruega).

Os espectros gerados foram trabalhados em composta por animal para reduzir o erro amostral ou variação entre coletas.

Com objetivo de minimizar os efeitos de espalhamento de luz, os espectros foram submetidos ao pré-tratamento matemático MSC (*Multiplicative Scatter Correction - MSC*).

2.6.1 Calibração

Foram construídos modelos NIRS para caprinos e ovinos separadamente, sendo um modelo para cada parâmetro bromatológico (PB, DMS e DMO) em cada instrumento (MicroNIR, Perten e Foss). Todos os modelos contém ambos os tipos de feno.

Os dados de proteína bruta (PB) e digestibilidade da matéria seca e orgânica (DMS e DMO) foram utilizados como variáveis dependentes e os espectros fecais como variáveis independentes para o desenvolvimento dos modelos de calibração.

Os modelos de calibração foram desenvolvidos utilizando o método de regressão dos mínimos quadrados parciais (PLS – *Partial Least Squares*). Após a construção dos modelos de PLS, foi realizada a detecção de *outliers*, cujo procedimento estatístico para identificação baseia-se na distancia da relação X/Y na projeção da regressão.

As amostras utilizadas para calibração foram automaticamente utilizadas para validação (*cross validation*) dos modelos e determinação dos fatores.

O desempenho dos modelos foi avaliado pelos coeficientes de determinação (R^2) e erro médio da calibração e cross-validation (RMSEC e RMSECV) (Leite e Stuth, 1995).

A performance dos modelos também foi avaliada pelo desempenho de desvio dos modelos (*Ratio of Performance to Deviation* – RPD) através do seguinte cálculo (Williams, 1987):

$$RPD = Sd/RMSECV$$

Onde Sd = Desvio padrão das amostras de referência e RMSECV = erro médio da *cross validation*.

2.6.2 Validação

No software Unscrambler®, os espectros fecais de ovinos foram utilizados nos modelos de caprinos para prever os teores de proteína bruta e digestibilidade da matéria seca e orgânica das dietas. Com a mesma finalidade, os espectros fecais de caprinos foram utilizados nos modelos de ovinos.

A capacidade de previsão dos modelos foi avaliada pelo coeficiente de determinação (R^2) e erro da validação (RMSEV).

2.7 Soft Independent Modeling of Class Analogy (SIMCA)

Para avaliar a semelhança entre os espectros fecais de caprinos e ovinos, utilizou-se a ferramenta de classificação Soft Independent Modeling of Class Analogy (SIMCA) do software Unscrambler®, versão 10.2 (Camo Inc., Oslo, Norway). A mesma realiza a análise de componentes principais (PCA) para uma comparação de amostras com as classes de modelo de acordo com a proximidade espectral que calcula a distância de cada objeto para o centro do modelo, identificando a qual classe ou grupo a amostra pertence, com uma probabilidade de 5%.

2.8 Procedimento estatístico

A fim de avaliar mais precisamente a capacidade de previsão dos modelos, os valores de previsão fornecidos pelo Unscrambler® foram comparados aos valores de referência mediante aplicação do teste de Tukey ($P < 0,05$). Os valores de previsão também foram comparados entre equipamento, a fim de verificar existência de diferença entre os três NIRS em análise. Assim como o efeito da dieta sobre a espécie animal e instrumentos. Dessa forma, as médias foram comparadas em esquema fatorial $2 \times 2 \times 3$, totalizando 12 tratamentos.

Todas as análises estatísticas foram realizadas usando o pacote estatístico SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NY, EUA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Calibração e cross-validation

Foram desenvolvidos 18 modelos de predição, nos quais se pode observar pelo coeficiente de determinação (R^2) e raiz quadrada média do erro (RMSEC), o bom desempenho dos modelos tanto para proteína como para ambas as digestibilidades (Tabela 3).

Tabela 3. Parâmetros estatísticos dos modelos NIR desenvolvidos utilizando PLS para predição do teor da proteína bruta e digestibilidade da matéria seca e orgânica em três instrumentos NIRS pela técnica fecal.

Variável nutricional	Modelo	Aparelho	Calibração			Cross Validation	
			R^2	RMSEC	Fator	R^2	RMSECV
PB	Caprino	MicroNIR	0,99	0,23	3	0,99	0,40
		Perten	0,99	0,32	2	0,99	0,45
		Foss	0,99	0,42	1	0,98	0,52
	Ovinos	MicroNIR	0,97	0,85	1	0,96	1,12
		Perten	0,98	0,55	1	0,98	0,70
		Foss	0,99	0,33	1	0,99	0,46
DMS	Caprino	MicroNIR	0,91	2,12	1	0,89	2,62
		Perten	0,95	1,47	2	0,93	2,09
		Foss	0,98	0,83	2	0,97	1,14
	Ovinos	MicroNIR	0,98	0,89	3	0,96	1,43
		Perten	0,97	1,18	1	0,96	1,46
		Foss	0,98	0,70	2	0,98	1,06
DMO	Caprino	MicroNIR	0,91	2,05	1	0,89	2,54
		Perten	0,91	2,05	1	0,89	2,54
		Foss	0,98	0,83	2	0,97	1,19
	Ovinos	MicroNIR	0,99	0,41	4	0,97	1,24
		Perten	0,96	1,19	1	0,96	1,49
		Foss	0,96	1,30	1	0,95	1,63

R^2 = coeficiente de determinação; RMSEC = raiz do quadrado médio da calibração; raiz quadrada do quadrado médio da *cross validation* (RMSECV); PB = proteína bruta; DIVMS = digestibilidade *in vitro* da matéria seca; DIVMO = digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica.

Os modelos de calibração em geral obtiveram R^2 acima de 0,91, o que indica elevada capacidade preditiva precisa e de fato, demonstra a alta correção entre os métodos. Contudo, as estatísticas da *cross validation* apresentam uma estimativa mais verdadeira do desempenho da calibração do que a estatística da própria calibração (Shenke e Westerhaus, 1993).

Na tabela 3, são apresentados os excelentes valores de R^2 da *cross validation* em todos os modelos. Esses variaram de 0,89 a 0,99 e quando comparados aos da calibração, permanecem o mesmo ou reduzem no máximo 0,2.

Os elevados coeficientes de determinação podem estar associados a presença de duas extremidades nutritivas de fenos nativos. Isso proporcionou a formação de dois grupos amostrais nas extremidades da reta linear, estando pouco dispersas e nenhum *outlier*, o que torna os modelos bem ajustados e justifica o baixo número de fatores.

Ainda na tabela 3, observa-se que os valores de erro médio da calibração e da *cross-validation* (RMSEC e RMSECV) foram baixos em sua totalidade, o que torna os modelos acurados. Esses valores são um pouco maiores na *cross validation* (RMSECV) que na calibração (RMSEC). Tal proximidade entre o erro de calibração e de validação em cada modelo também indica que o número de fatores utilizado foi adequado, não havendo sobreajuste ou subajuste (Valderrama, 2007).

Os modelos obtidos nesse trabalho apresentam melhores desempenhos que os de Leite e Stuth (1995), que são consideradas eficientes. Para Landau (2004), esses melhores resultados podem estar associados as condições da criação animal durante o experimento. Leite e Stuth (1995) trabalharam com animais a pasto e fistulados, diferentemente desse trabalho e de Landau (2004), que possivelmente o confinamento contribuiu para reduzir diversos erros amostrais.

Observa-se que os modelos desenvolvidos para predição de proteína bruta, seja para caprinos ou ovinos, obtiveram menor erro (RMSEC e RMSECV) quando comparados aos de

digestibilidade. Isso também foi observado nos trabalhos de Lyons and Stuth (1992), Leite e Stuth (1995), Ossiya (1998) e Li (2004).

Isso pode ser em virtude das moléculas de proteínas conterem em sua composição ligações orgânicas de fáceis identificações pelo NIR, tais como, N-H, C-H e C=O (Shenk, 2008), uma vez que a técnica baseia-se na interação comprimento de onda com os tipos de ligações covalentes contidas nas moléculas.

Os valores de RMSEC e RMSECV dos modelos desenvolvidos para predição de digestibilidade são comumente mais elevados devido essa estimativa ser baseada nos teores de celulose, hemicelulose, FDN, FDA e lignina. Segundo (Beelen, 2006), a identificação da lignina pelo NIRS é dificultosa, além do mais a mesma é composta por um vasto grupo de compostos aromáticos com variação nas frações químicas que dependem do tipo de espécie da planta e o estágio de maturidade (Van Soest, 1994).

Outro fator que eleva esses parâmetros para digestibilidade é a maior possibilidade de erro de análise laboratorial nas amostras de referencia, uma vez que esse incorpora tanto erros sistemáticos quanto aleatórios oriundos do método de referência (Santos, 2017).

Os valores de RMSECV obtidos para digestibilidade variaram de 0,41 a 2,12. Bomfim (2013) afirma que para esse parâmetro, erro em torno de 2 indica bom desempenho, o que confirma a acurácia dos modelos.

Nas figura 1 (a e b) são apresentados os valores da Relação de Desempenho de Desvios dos modelos (*Ratio of Performance to Deviation – RPD*).

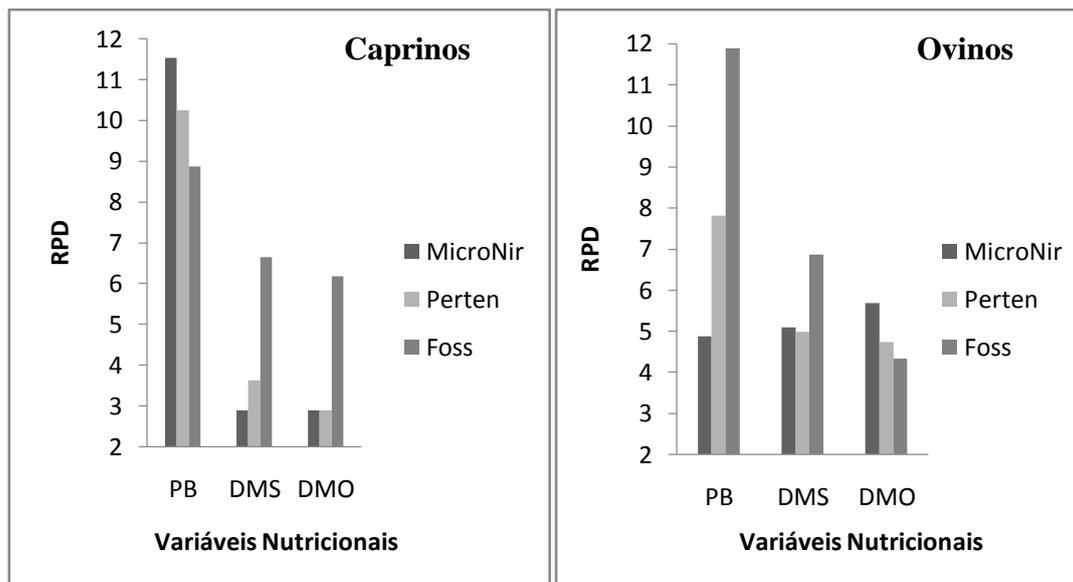


Figura 1. Valores da relação de desempenho de desvio dos modelos (*Ratio of Performance to Deviation* – RPD) dos modelos para caprinos e ovinos.

Através dos valores de RPD, Chang (2001) classifica os modelos nas três seguintes categorias: excelente (Classe A) quando $RPD > 2,0$ e $R^2 > 0,8$; ajustado (Classe B) quando RPD de 1,4 a 2,0 e R^2 de 0,5 a 0,8 e não confiável (Classe C) quando $RPD < 1,4$ e $R^2 < 0,5$.

De acordo com esse conceito e com base nas informações apresentadas nas figuras 1 (a e b) e tabela 3, todos os modelos apresentados nesse trabalho são considerados excelentes. O que evidencia mais uma vez a eficiência desses modelos matemáticos na previsão do teor de proteína e digestibilidade da matéria seca e orgânica.

Ainda na tabela 3, vale observar que, embora o NIRS Foss possua uma maior faixa espectral, com comprimentos de onda de até 2500nm, os demais aparelhos de menor alcance também foram eficientes. Isso pode ser em virtude dos modelos apresentarem várias vezes as mesmas bandas de absorção mais relevantes, o que indica que ocorre absorção das mesmas ligações nos comprimentos de ondas de alcance dos três instrumentos.

3.2 Caracterização das bandas de absorção que representam a previsão das concentrações dos nutrientes

Pode-se observar que a maioria dos comprimentos de ondas que foram mais importantes para medição de proteína nesse trabalho, são semelhantes aqueles encontrados por diversos autores (Tabela 4).

Tabela 4. Identificação das bandas relacionadas ao teor de proteína.

Fonte	Comprimentos de ondas (nm)																	
	900	1000	1100	1200	1300	1400	1500	1600	1700	1800	1900	2000	2100	2200	2300	2400	2500	2600
Aenugu (2011)							○						○					
Shenk (2008)							○						○					
Weyer (1985)							○				○		○					
McLenllan (1991)													○					
Coleman (1982) [¥]													○	○				
Shenk (1997) [¥]							○		○			○	○		○			
Coelho (1982) [¥]				○				○	○				○					
Barton (1979) [¥]		○										○	○		○			
Kaye (1954) [¥]		○				○	○				○							
Modelos para caprinos obtidos nesse trabalho																		
MicroNIR	●		●		●	●		●										
Perten						●	●	●										
Foss				●	●					●	●		●	●		●		
Modelos para ovinos obtidos nesse trabalho																		
MicroNIR	●	●			●			●										
Perten		●	●	●				●										
Foss			●	●						●	●		●	●		●		

[¥] = Citados por Shenk (1992); □ = Alcance da faixa de comprimentos de ondas; nm = nanômetros ; ○Outros autores; ● Dados dessa pesquisa

As seguintes bandas espectrais relacionadas ao teor de proteína, não foram encontradas em outros trabalhos: 908–950, 950–999, 1200–1250, 1210–1322, 1330–1340, 1300–1322, 1380–1399, 1800–1889, 2442nm. No entanto, segundo Shenk (1992), Awuma (2003) e Metrohm, (2013), nessas regiões também ocorrem vibrações de ligações presentes nas estruturas de moléculas de proteína, conforme descritas a seguir. Região de 900nm: C–H; 1200nm: C–H; 1300nm; C–H; 1800nm: C–H, O–H, C–C; 2400: C–H, C–N–C. Isso indica a possibilidade dessas regiões também serem eficientes para prever teor de proteína.

A maioria dos autores consideram as regiões de 1500 e 2100nm como as de maior influência na previsão do teor de proteína. Nessas regiões a absorção ocorre pela vibração das seguintes ligações: N–H em 1500nm e C–H, N–H e C=O em 2100nm Shenk (1992). Observa-se que as mesmas se repetem em outras faixas de comprimentos de ondas, o que avigora a previsão de proteína na faixa de 1000nm a 2500nm. Talvez em virtude disso, os três NIRS (MicroNir 1700, Perten 7250 e Foss 5000) mostraram-se eficientes.

Com exceção dos comprimentos de ondas de 900-1000nm e 1200nm, todos os comprimentos de ondas de maior importância para previsão de digestibilidade, encontram-se em comum aos de outros autores (Tabela 5).

Tabela 5. Identificação das bandas relacionadas digestibilidade da matéria seca e orgânica.

Fonte	Comprimentos de ondas (nm)																	
	900	1000	1100	1200	1300	1400	1500	1600	1700	1800	1900	2000	2100	2200	2300	2400	2500	2600
Aenugu (2011)						○			○	○		○		○	○	○		
Shenk (2008)						○			○	○		○		○	○	○		
Workman (1984)									○						○			
Shenk (1977)						○					○		○					
Coleman (1982) [¥]			○		○		○							○	○			
Shenk 48 [¥]								○	○				○		○			
Coelho (1982) [¥]							○		○				○	○				
Barton (1979) [¥]							○	○										
Kaye (1954) [¥]									○						○			
Modelos para caprinos obtidos nesse trabalho DMS																		
MicroNIR	●	●			●	●		●										
Perten					●			●										
Foss						●		●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
Modelos para ovinos obtidos nesse trabalho DMS																		
MicroNIR	●	●	●		●	●	●	●										
Perten		●						●										
Foss						●	●				●	●				●		
Modelos para caprinos obtidos nesse trabalho DMO																		
MicroNIR	●	●			●	●		●										
Perten		●	●					●										
Foss			●	●		●		●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
Modelos para ovinos obtidos nesse trabalho DMO																		
MicroNIR		●	●		●	●	●											
Perten		●	●					●										
Foss			●	●		●		●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●

[¥] = Citados por Shenk (1992);  = Alcance da faixa de comprimentos de ondas; nm = nanômetros ; ○ Outros autores; ● Dados dessa pesquisa

Avaliando a caracterização de absorção dos comprimentos de ondas na região NIRS (Shenk, 1992), observou-se que nas regiões de 900-1000nm e 1200nm, não foram encontradas absorções de ligações relacionadas aos teores de celulose, hemicelulose, FDN, FDA e lignina, ou seja, de digestibilidade dos alimentos.

Reich (2005) ainda afirma que embora a região de infravermelho proximal seja de 780 a 2526nm, as extremidades geralmente não são utilizadas. Isso gera a possibilidade de nessas regiões, os modelos não preverem exatamente teor de digestibilidade, o que pode estar relacionado com os valores de RMSEC mais elevados.

Contudo, isso não remove a capacidade de previsão dos modelos, uma vez que nos três instrumentos, as demais bandas espectrais encontram-se em comprimentos de ondas em comum com outros autores e em zonas de absorção relacionadas a própria digestibilidade.

3.3 Previsão bromatológica para diferentes espécies por meio dos modelos NIRS fecal

Uma vez evidenciado a eficiência desses modelos na previsão do teor de proteína e digestibilidade da matéria seca e orgânica, confere-se sua capacidade de prever a composição das dietas de ovinos em modelos de caprino e vice-versa.

Na tabela 6 são apresentados os parâmetros estatísticos que indicam a capacidade dos modelos de caprinos preverem a composição das dietas de ovinos e modelos de ovinos preverem a composição das dietas de caprinos.

Tabela 6. Parâmetros de avaliação da capacidade dos modelos de caprinos preverem a composição das dietas de ovinos e modelos de ovinos preverem a composição das dietas de caprinos.

Variável nutricional	Modelo NIR	Amostras Fecais	Instrumento	Teste de previsão	
				R ²	RMSECV
PB	Caprino	Ovino	MicroNIR	0,99	0,93
			Perten	0,99	1,03

			Foss	0,99	1,14
			MicroNIR	0,96	1,07
	Ovinos	Caprino	Perten	0,98	0,76
			Foss	0,99	1,22
DMS			MicroNIR	0,95	1,83
	Caprino	Ovino	Perten	0,97	1,27
			Foss	0,97	1,10
			MicroNIR	0,92	2,05
	Ovinos	Caprino	Perten	0,92	2,44
			Foss	0,98	1,18
DMO			MicroNIR	0,94	1,71
	Caprino	Ovino	Perten	0,96	1,85
			Foss	0,93	1,91
			MicroNIR	0,89	2,89
	Ovinos	Caprino	Perten	0,92	2,26
			Foss	0,96	1,43

R^2 = coeficiente de determinação; raiz do quadrado médio da validação (RMSECV); PB = proteína bruta; DIVMS = digestibilidade *in vitro* da matéria seca; DIVMO = digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica.

Observa-se pelos elevados valores de R^2 e baixo RMSECV, a capacidade precisa e acurada dos modelos de caprinos preverem a composição das dietas de ovinos e vice-versa.

Tal capacidade pode ser em virtude da similaridade das dietas entre as espécies proporcionarem a semelhança nos espectros fecais das mesmas. Isso ocorre por que além de caprinos e ovinos possuem semelhanças fisiológicas digestivas, a química fecal reflete a composição da dieta, teoria na qual o NIRS fecal se embasa (Landau, 2008; Bomfim, 2013; Hofmann, 1989). Diante dos resultados, realizou-se uma análise espectral pela ferramenta *Soft Independent Modeling of Class Analogy* (SIMCA), na qual se pode observar a semelhança dos espectros fecais entre espécies (Tabela 7).

Tabela 7. Número de amostras fecais pertencentes às duas classes (caprino e ovino) a 5% de nível de significância (número de amostras totais/ número de amostras pertencentes a ambos os grupos). Classificação realizada pela ferramenta *Soft Independent Modeling of Class Analogy* (SIMCA).

MicroNir		Perten		Foss	
Caprino	Ovino	Caprino	Ovino	Caprino	Ovino
10/10		10/10		10/10	

Com base na classificação das amostras, percebe-se que todas as amostras fecais possuem espectros semelhantes entre si, se comportando da mesma forma nos três instrumentos NIRS. Isso de fato demonstra a semelhança da química fecal de caprinos e ovinos quando submetidos as mesmas dietas.

Contudo, nota-se que mesmo os modelos de ambas as espécies trazendo consigo valores de desempenho muito parecidos, os modelos de caprinos merecem um destaque por possuírem na maioria dos modelos melhores valores de R² e menor RMSECV (tabela 5). Tais características sugerem a possibilidade de não afetar significativamente as respostas de novas amostras por variações na calibração, o que denotam que esses modelos são mais robustos (Honorato, 2007).

Tal destaque pode ser em virtude dos caprinos possuírem um mecanismo de secreção de proteínas salivares ricas em prolina capazes de se atrelarem a taninos, e assim, evitar a complexação com a proteína dietética (Landau, 2000). Outro fato é a capacidade dos caprinos de serem mais eficientes no aproveitamento dos nutrientes (Magalhães, 2016 e Rodriguez, 1998).

Diante do exposto, sugere-se que mesmo ambos os modelos possuindo capacidade de previsão inversa entre espécie, seja dada uma preferência para utilização dos modelos de caprinos.

Para fins de confirmações, foi realizada uma análise de variância entre os valores previstos e a referencia. Os valores estatísticos estão apresentados na tabela 8.

Tabela 8. Efeito da utilização dos modelos fecais de uma espécie para prever composição nutricional de outra.

Nutrientes	Instrumentos	Amostras Fecais de Caprinos					
		Arbóreo			Herbáceo		
		Previsão no modelo caprino	Previsão no modelo ovino	Referência	Previsão no modelo caprino	Previsão no modelo ovino	Referência
PB (%)	MicroNir	16,91	17,76*	16,91	8,19	8,10	8,19
	Perten	16,90	17,36*		8,19	8,69	
	Foss	16,90	18,25*		8,22	8,68	
DMS (%)	MicroNir	46,31	47,20	46,06	59,81	60,12	60,06
	Perten	46,07	48,18*		60,04	59,84	
	Foss	46,06	45,68		62,06	60,44	
DMO (%)	MicroNir	43,13	45,68*	42,89	56,28	55,71	56,53
	Perten	43,01	44,70*		56,33	55,92	
	Foss	42,88	43,27		56,53	55,80	
Amostras Fecais de Ovinos							
PB (%)	MicroNir	17,24*	18,28	18,39	8,22	8,15	8,02
	Perten	17,04*	18,35		8,13	8,15	
	Foss	16,92*	18,38		9,74	8,02	
DMS (%)	MicroNir	45,57*	46,79	46,81	59,75	60,44	60,43
	Perten	46,85	46,65		59,65	60,56	
	Foss	46,33	46,80		57,91	60,61	
DMO (%)	MicroNir	42,41	45,68*	43,40	56,22	55,71	56,54
	Perten	41,49*	43,42		57,19	56,61	
	Foss	44,11	43,43		54,24	56,60	

PB = proteína bruta; DIVMS = digestibilidade *in vitro* da matéria seca; DIVMO = digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica.

Predição = valores estimados no Unscrambler®

Referência = valores analisados em laboratório de bromatologia

* Na mesma linha se diferem estatisticamente entre modelos pelo teste de Tukey (P.<0,05)

‡ Na mesma coluna se diferem estatisticamente entre instrumentos pelo teste de Tukey (P.<0,05)

Observa-se que quando os animais são alimentados com feno arbóreo, a previsão bromatológica deve ser realizada apenas utilizando modelos da mesma espécie. Com isso, vale lembrar que o feno arbóreo é composto apenas pela espécie *Mimosa caesalpinifolia*. Segundo Beelen (2006), essa espécie contém elevados teores de taninos, chegando a 18%. Esse composto secundário em grande quantidade possui a capacidade de complexar-se a proteína e reduzir a digestibilidade do alimento (Morais, 2006 e Beelen, 2008). Caprinos se sobressaem devido seu mecanismo de produzir proteínas salivares capazes de evitar essa complexação e ainda possuem maior eficiência digestiva (Landau, 2000). Essas características lhes tornam mais adaptáveis às dietas. Ovinos não possuem essa capacidade, dessa forma, pode ser que isso dificulte a previsão de uma espécie pela outra quando alimentados com espécie com elevados valores de taninos.

Já quando alimentados com feno herbáceo, observa-se que os modelos de caprinos conseguem prever a composição da dieta de ovinos sem afetar a acurácia dos resultados ($P > 0,05$). Tal capacidade também é atribuída a modelos de ovinos na previsão nutricional da dieta de caprinos. A resposta oposta com a mudança da dieta pode ser em virtude do feno herbáceo ser composto por uma vasta diversidade de espécies e com elevada heterogeneidade em suas composições. Isso torna os modelos mais complexos e reduz a dificuldade de interpretação por algum composto elevado.

4. CONCLUSÃO

A técnica NIRS fecal mostrou-se eficiente para prever o teor de proteína bruta e digestibilidade das dietas de pequenos ruminantes. Quando esses são alimentados com feno herbáceo nativo da Caatinga, é possível a utilização de modelos para apenas uma espécie e através dele prever para ambas (caprinos e ovinos), tendo a opção de utilizar qualquer um dos

três instrumentos (MicroNir 1700, Perten 7250 e Foss 5000) sem afetar a acurácia dos resultados.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis**. 15.ed. Washington D.C., 1990. 1141p.

AWUMA, K., 2003. Application of NIRS fecal profiling and geostatistics to predict diet quality of African livestock. Ph.D. **Dissertation**. Texas A&M University, College Station, TX, USA.

BEELEN, P. M. G. et al. Characterization of condensed tannins from native legumes of the Brazilian northeastern semi-arid. **Sci. Agric.**, 63 (6), 2006.

BEELEN, P. M. G. et al. Efeito dos taninos condensados de forrageiras nativas do semiárido nordestino sobre o crescimento e atividade celulolítica de *Ruminococcus flavefaciens* FD1. **Arq Bras Med Vet Zoo**, 58: 910-917, 2006.

BEBLEN, P. M. G.; PEREIRA FILHO, J.M.; BEELEN, R.N. **Avaliação de taninos condensados em plantas forrageiras**. In: Congresso Brasileiro de Zootecnia, João Pessoa – PB, 2008.

BOMFIM, M. A. D. et al. Exploratory analysis NIR fecal spectra of goats and sheep grazing Brazilian rangelands. In: **17th International Conference on Near Infrared Spectroscopy**, anais, Foz do Iguaçu, 2015.

BOMFIM, M. A. D. NIRS as a tool to determine the nutritional value of native pasture for small ruminants. In: **50° Reunião Anual Da Sociedade Brasileira De Zootecnia**, Campinas-SP. Palestra proferida na SBZ. Campinas:SBZ, p.1-11. 2013.

BUNING-PFA. U. E. Analysis of water in food by near infrared spectroscopy. **FoodChem.**, 82: 107–115, 2003

CHANG, C.W. et al. Near-infrared reflectance spectroscopy – principal components regression analysis of soil properties. **Soil Science Society of America Journal**, 65: 480-490, 2001.

COX, M.V; VASCONCELOS, V. R.; LEITE, E. R. 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 (1):31-40, 2000.

ROFMANN, R.R. Evolutionary steps of ecophysiological adaptation and diversification of ruminants: a comparative view of their digestive system. **Oecologia**, 78: 443-457, 1989.

GINDRY, M. Uso do NIRS como ferramenta de diagnóstico nutricional de ovinos mantidos em pastagem natural. 2016. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria

Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos Nº 186. **Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA**. Resolução Normativa Nº12, de 20 de setembro de 2013.

HONORATO, F.A. et al. Transferência de Calibração em Métodos Multivariados. **Química Nova**, 30: 1301-1312, 2007.

LANDAU, S. et al. Utilization of low quality resources by small ruminants in Mediterranean agropastoral systems: the case of browse and aftermath cereal stubble. **Livest Prod Sci**, 64: 39-49, 2000.

LANDAU, S. et al. Data mining old digestibility trials for nutritional monitoring in confined goats with aids of fecal near infra-red spectrometry. **Small Ruminant Research**, 77: 146-158. 2008

LANDAU, S. et al. Fecal NIRS to monitor the diet of Mediterranean goats. **S. Afr. J. Anim. Sci.**, 34 (5): 76-80, 2004.

LEITE, E.R. STUTH, J.W. Fecal NIRS equations to assess diet quality of free-ranging goats. **Small Ruminant Research**, 15: 223–230, 1995

LI, et al. S. Faecal near infrared reflectance spectroscopy to predict diet quality for sheep. **Small Ruminant Research**, 68(3): 263–268, 2007.

LYONS, R.K.; STUTH, J.W. Fecal NIRS equations for predicting diet quality of free-ranging cattle. **Journal of Range Management**, 45(3):238-244, 1992.

MACIEL. M.V. Monitoramento nutricional da dieta de pequenos ruminantes utilizando espectroscopia da reflectância do infravermelho próximo (NIRS) no sertão de Pernambuco. 2016. Tese (Doutorado) -Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

MCLELLAN, T. M. et al. Determination of nitrogen, lignin, and cellulose content of decomposing leaf material by near infrared reflectance spectroscopy. *Can. J. For Res.* 21: 1684-1688, 1991.

MAGALHÃES, Y. A. et al., 2016. Efeito do feno do estrato herbáceo da Caatinga e do feno de sabiá em pequenos ruminantes: consumo e digestibilidade da matéria seca e orgânica. In: **XI Encontro de Pós-Graduação e Pesquisa da UVA**, Sobral, 2016.

METROHM. A guide to near-infrared spectroscopic analysis of industrial manufacturing processes. **NIR Spectroscopy**. Herisau, 2013.

REICH, G. Near-infrared spectroscopy and imaging: Basic principles and pharmaceutical applications. *Advanced Drug Delivery Review*, (57): 1109-1143, 2005.

RODRIGUEZ, N.M; NOGUEIRA, L. S.; BORGES, A. L. C. C. Eficiência digestiva em caprinos e ovinos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** 50(2): 179-83, 1998.

SÁNCHEZ N.N. et al., Evaluation of botanic and chemical composition of sheep diet by using faecal near infrared spectroscopy. **Animal Feed Science and Technology**, 222: 1-6, 2016.

SANTOS, L.R. **Métodos Alternativos para Análise Rápida de Parâmetros de Qualidade da Soja.** 2017. Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão.

Shenk, J.S.; Workman, J.J.; Westerhaus, M.O. **Application of NIR Spectroscopy to Agricultural Products.** In: Handbook of Near-Infrared Analysis, 3ed, p.347-386, 2008.

SENGER, C.C.D et al. Evaluation of autoclave procedures for fibre analysis in forage and concentrate feedstuffs. **Animal Feed Science and Technology**, 146(1-2): 169-174, 2008.

SCHNEIDER, B.H., Flatt, W.P. **The Evaluation of Feeds Through Digestibility Experiments**, 1st ed. The University of Georgia Press, Athens, USA. 1975

SHENK J.S., WESTERHAUS, M.O. Monograph: Analysis of Agriculture and Food Products by Near Infrared Reflectance Spectroscopy. **Infrasoft International, Port Matilda, PA, USA**, p. 103. 1993.

SHENK J.S.; WORKMAN, J.J.; WESTERHAUS, M.O. Application of NIR Spectroscopy to Agricultural Products. **Handbook of Near-Infrared Analysis -3ed.** 2008.

TILLEY, J.M.A; TERRY, R.A. A two-stage techniques for digestion of forage crops. **J. Br.Grass. Soc.** v.18, p.104-111, 1963.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant.** 2ed. Ithaca: Cornell, 476p. 1994

VALDERRAMA, P.; BRAGA, J. W. B.; POPPI, R. J. Validation of multivariate calibration models the determination of sugar cane quality parameters by near infrared spectroscopy. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 18(2): 259–266, 2007.

WALKER, J.W. et al. Effects of breed, sex, and age on the variation and ability of fecal near-infrared reflectance spectra to predict the composition of goat diets. **J. Anim. Sci.** 85:518-526, 2007.

WILLIAMS, P.C.; SOBERING, D.C. Comparison of commercial near infrared transmittance and reflectance instruments for analysis of whole grains and seed. **J. Near Infrared Spectros.** 1: 25-32, 1993