

Procjena kvalitete krme na uzorcima fecesa sa NIR spektroskopijom

Marina VRANIĆ, Mladen KNEŽEVIĆ, Krešimir BOŠNJAK, Goran PERČULIJA, Josip LETO, Hrvoje KUTNJAK, Jelena MIŠA

Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Hrvatska, (e-mail: mvranic@agr.hr)

Sažetak

Cilj istraživanja bio je utvrditi mogućnosti korištenja NIR spektroskopije za procjenu hranjivosti krme skeniranjem uzoraka fecesa. Korišteno je 66 uzoraka fecesa kastriranih ovnova hranjenih fermentiranom voluminoznom krmom. Uzorci su skenirani na NIRS aparatu (Foss, Model 6500) u rasponu valnih duljina 1100-2500 nm. Nakon pridruživanja referentnih vrijednosti spektralnim podacima, model je razvijen modificiranom metodom parcijalnih najmanjih kvadrata (MPLS).

Obzirom na determinacijski koeficijent (R^2), standardnu grešku kalibracije (SEC) i standardnu grešku unakrsne validacije (SECV), razvijeni model se pokazao najprihvatljivijim za procjenu pH vrijednosti (0,82; 0,52 i 0,28, respektivno), zatim za probavljivost suhe tvari (ST) (0,78; 57,03 g kg⁻¹ ST i 65,57 g kg⁻¹ ST, respektivno), probavljivost organske tvari (OT) (0,76; 59,79 g kg⁻¹ ST i 70,37 g kg⁻¹ ST, respektivno) i sadržaj ST (0,76; 61,01 g kg⁻¹ svježeg uzorka i 68,69 g kg⁻¹ svježeg uzorka, respektivno).

Relativno niske R^2 vrijednosti i visoke SEC vrijednosti vjerojatno su rezultat korištenja seta uzoraka koji nije zadovoljio uobičajene kriterije odabira uzoraka za razvoj primjenjive kalibracije (premalen broj uzoraka, prevelika varijabilnost krme) što je ograničilo razvoj pouzdanijeg kalibracijskog modela.

Ključne riječi: NIR spektroskopija, hranidbena vrijednost krme, feces

Faecal NIR for predicting forage quality in sheep

Abstract

The objective of the research was to determine the potential of NIR spectroscopy for prediction of fermented forage quality from sheep faeces. Sixty-six faecal samples originated from wether sheep fed fermented forage were used in the experiment. Samples were analyzed by chemical and NIRS procedures (1100-2500 nm). A calibration equation was established using modified partial least square (MPLS) procedure.

Based on the coefficient of determination (R^2), standard error of calibration (SEC) and standard error of cross validation (SECV) reliable estimates were developed for pH prediction (0.82; 0.52 and 0.28, respectively), dry matter (DM) digestibility (0.78; 57.03 g kg⁻¹ DM and 65.57 g kg⁻¹ DM, respectively), organic matter (OM) digestibility (0.76; 59.79 g kg⁻¹ DM and 70.37 g kg⁻¹ DM, respectively), DM concentration (0.76; 61.01 g kg⁻¹ fresh sample and 68.69 g kg⁻¹ fresh sample, respectively).

A development of more reliable calibration models was limited due to low number of samples highly variable in regard to nutrient concentration and feeding value.

Key words: NIR spectroscopy, feeding value, faeces

Uvod

Refleksijska spektroskopija u bliskom infracrvenom području (engl. Near Infrared Reflectance Spectroscopy) (NIRS), bazira se na pozitivnoj korelaciji između kemijskih osobina uzoraka utvrđenih klasičnim kemijskim metodama ("mokra" kemija) i apsorpciji svjetla na različitim valnim duljinama u bliskom infracrvenom području, mjereno pomoću refleksije koja se za procjenu kemijskog sastava oslanja na kalibracije (Batten, 1998).

NIR spektroskopija je brza, fizikalna, nedestruktivna metoda koja može davati precizne i točne rezultate uz minimalnu ili nikakvu pripremu uzoraka, a nakon analize uzorci ostanu sačuvani. Osim toga, NIR spektroskopija je multikomponentna tehnika budući da paralelno procjenjuje nekoliko kemijskih i/ili bioloških parametara. Kod primjene NIR spektroskopije nema korištenja kemikalija, pa je ekološki potpuno prihvatljiva.

Osnova hranidbenih programa je analiza krme koju će životinje konzumirati, ali ukoliko se želi utvrditi hranjivost konzumiranih obroka, pouzdanim se pokazalo NIR spektroskopijom razvijati kalibracijske modele skeniranjem uzoraka fecesa. S tim u svezi su provedena brojna istraživanja korištenjem fecesa goveda (Boval i sur., 2004), ovaca (Li i sur., 2007) i koza (Landau i sur., 2004), koja ukazuju na visoki potencijal NIR spektroskopije za procjenu kemijskih i bioloških parametara konzumirane krme.

Hipoteza istraživanja bila je da se skeniranjem uzoraka fecesa, NIR spektroskopijom, može procjenjivati hranjivost krme koju je životinja konzumirala. Cilj istraživanja bio je skeniranjem uzoraka fecesa utvrditi mogućnosti korištenja NIR spektroskopije za procjenu hranjivosti krme.

Materijal i metode

U Centru za travnjaštvo Agronomskog fakulteta je tijekom 2005. godine provedeno istraživanje utjecaja dodatka kukuruzne silaže (33% vs. 67% bazirano na ST) travnoj silaži različitih rokova košnje na *in vivo* probavljivost obroka u hranidbi kastriranih ovnova, a 2007. godine istraživanje utjecaja dodatka aditiva sjenazi crvene djeteline i lucerne na hranjivost obroka u hranidbi kastriranih ovnova.

Prikupljeni uzorci (66 uzoraka hrane, 66 uzoraka ostataka hrane, 66 uzoraka fecesa) su osušeni na temperaturi od 60°C radi utvrđivanja sadržaja ST, zatim su samljeveni na mlinu čekičaru kroz sito promjera 1mm i analizirani referentnim kemijskim metodama radi utvrđivanja laboratorijske suhe tvari (ST) po ISO 6496, sadržaja organske tvari (OT) po ISO 5984, sadržaja N po ISO 5983, pH vrijednosti (Serale, 1984), sadržaja neutralnih detergent vlakana (NDV) i sadržaja kiselih detergent vlakana (KDV) (Van Soest i sur., 1991).

Ukupno 66 uzoraka fecesa (50 iz prvog istraživanja i 16 iz drugog istraživanja) je dosušeno tijekom 5 sati na temperaturi od 105°C, a zatim skenirano na NIR aparatu (Foss, Model 6500), u ISI SCAN programu u rasponu valnih duljina od 1100 do 2500 nm. Svaki uzorak je skeniran po dva puta, a spektralni podatci su bilježeni svaka 2 nm, čime je dobiveno po 700 podataka po jednom spektru. Spektralni podatci skeniranih uzoraka su obrađeni u WIN ISI III programskom paketu gdje su im dodijeljene referentne vrijednosti praćenih kemijskih i bioloških parametara hranjivosti krme.

Korišteno je 66 uzoraka fecesa, poznatih referentnih vrijednosti, koji su odabrani metodom slučajnosti pomoću WIN ISI III programa. Za modeliranje rezultata istraživanja je primijenjena modificirana metoda parcijalnih najmanjih kvadrata (MPLS) koja koristi sve valne duljine za razvoj kalibracije i najčešće se primjenjuje za razvoj kalibracija za poljoprivredne proizvode.

Pouzdanost razvijene kalibracije je ocijenjena statističkim parametrima; standardnom greškom kalibracije (SEC), koeficijentom determinacije (R^2), standardnom greškom unakrsne validacije (SECV) i standardnom greškom procjene (SEP).

Rezultati i rasprava

U prikazu hranjivosti uzoraka krme, od koje su porijeklom skenirani uzorci fecesa, (tablica 1) vidljive su varijacije sadržaja svih utvrđivanih parametara hranjivosti radi različitosti vrsta krme: 5 uzoraka su kukuruzne silaže, 15 uzoraka su travno-djetelinske sjenaze, 30 uzoraka su kombinacije travno-djetelinskih sjenaza i kukuruzne silaže, 8 uzoraka su sjenaze lucerne (4 silirane bez aditiva, a 4 silirane s dodatkom aditiva), a 8 uzoraka su sjenaze crvene djeteline (4 silirane bez aditiva, a 4 silirane s dodatkom aditiva).

Tablica 1. Kemijski sastav korištenih uzoraka krme utvrđen "mokrom" kemijom i *in vivo* istraživanjima hranjivosti (n=66)

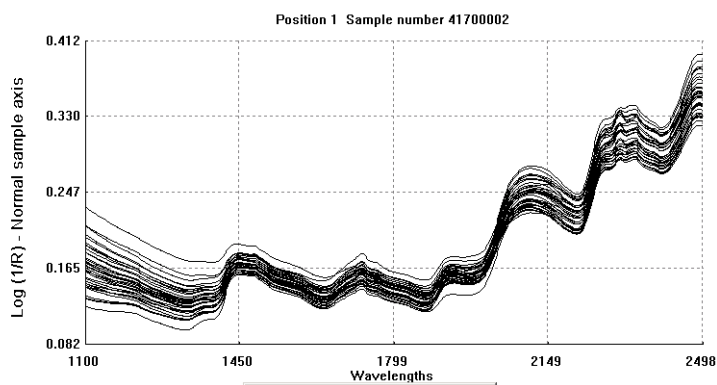
Kemijski parametar	minimalno	maksimalno	srednja vrijednost	STD
ST (g kg ⁻¹ svježeg uzorka)	214,2	744,59	430,53	127,22
OT (g kg ⁻¹ ST)	867,06	971,25	918,86	15,66
SP (g kg ⁻¹ ST)	64,02	143,59	103,76	22,3
pH vrijednost	3,63	6,93	4,59	0,64
NDV (g kg ⁻¹ ST)	540,66	856,52	669,52	83,53
KDV (g kg ⁻¹ ST)	268,48	482,8	398,87	46,39
Probavljivost ST (g kg ⁻¹)	300,09	487,43	418,37	163,41
Probavljivost OT (g kg ⁻¹)	330,96	766,5	588,67	120,12

ST, suha tvar; OT, organska tvar; SP, sirovi proteini; NDV, neutralna detergent vlaknina; KDV, kisela detergent vlaknina; STD, standardna devijacija

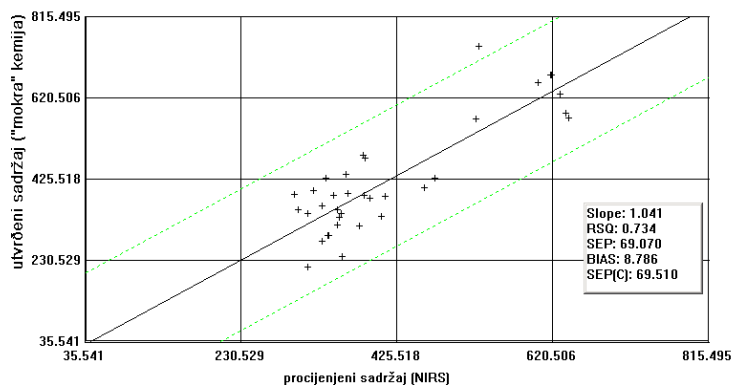
Tablica 2. Procjena kemijskih i bioloških parametara hranjivosti krme pomoću MPLS metode

Kemijski parametar	N	Srednja vrijednost	SD	Minimalna vrijednost	Maksimalna vrijednost	SEC	RSQ	SECV
ST (g kg ⁻¹ svježeg uzorka)	33	414,21	126,07	36,02	792,52	61,01	0,76	68,69
OT (g kg ⁻¹ ST)	32	916,58	10,26	885,79	947,37	9,38	0,16	10,90
SP (g kg ⁻¹ ST)	35	106,03	22,70	37,93	174,13	15,08	0,55	15,93
pH	33	4,53	0,59	2,76	6,31	0,25	0,82	0,28
NDV (g kg ⁻¹ ST)	24	660,98	76,79	430,61	891,35	56,44	0,45	66,75
KDV (g kg ⁻¹ ST)	35	397,29	48,77	250,96	543,62	41,07	0,29	45,90
Probavljivost ST (g kg ⁻¹)	34	574,55	122,45	207,18	941,93	57,03	0,78	65,57
Probavljivost OT (g kg ⁻¹)	34	591,22	122,53	223,61	958,83	59,79	0,76	70,37

ST, suha tvar; OT, organska tvar; SP, sirovi proteini; NDV, neutralna detergent vlaknina; KDV, kisela detergent vlaknina; STD, standardna devijacija; SEC, standardna greška kalibracije; RSQ, koeficijent determinacije; SECV, standardna greška unakrsne validacije.



Grafikon 1. Spektralni prikaz uzoraka fecesa korištenih za razvoj kalibracije



Grafikon 2. Utvrđeni i procijenjeni sadržaj suhe tvari

Da bi bio prihvatljiv, minimalni determinacijski koeficijent (R^2) NIR kalibracijskog modela treba biti $>0,80$. U ovom istraživanju (tablica 2) je visoki R^2 utvrđen za pH vrijednost ($R^2=0,82$).

Za probavljivost OT je R^2 iznosio 0,76 što je nešto niže od R^2 u sličnom istraživanju koje su korištenjem PLS metode proveli Li i sur. (2007) ($R^2=0,80$) ili Boval i sur. (2004.) skeniranjem fecesa goveda ($R^2 = 0,98$).

Za sadržaj ST uzoraka krme je utvrđen viši R^2 (0,78) nego u istraživanju koje su proveli Landau i sur. (2004) ($R^2=0,72$) korištenjem fecesa ovaca. Nizak R^2 je utvrđen za sadržaj OT ($R^2=0,16$).

Zaključci

Procjena kemijskih i bioloških parametara hranjivosti krme pomoću NIR spektroskopije je relativno jeftina i brza metoda u usporedbi s "mokrom" kemijom. Potrebna je mala količina uzorka za analiziranje, nekoliko kemijskih parametara može procijeniti paralelno, ne koriste se kemikalije, a uzorak ostane sačuvan nakon analize. Pouzdanost NIR analiza najvećim je dijelom ovisna o odabiru i točnosti analiza "moke" kemije uzoraka koji se koriste za razvoj kalibracije.

Procjena kemijskog sastava i hranjive vrijednosti krme koje su konzumirale ovce govori o visokom potencijalu NIR spektroskopije a procjenu pH vrijednosti ($R^2=0,82$) u ovom istraživanju. Visoke SEC vrijednosti za pojedine istraživane parametre su vjerojatno rezultat odabira seta uzoraka koji nije zadovoljio uobičajene kriterije odabira uzoraka za razvoj šire primjenjive kalibracije (visoka varijacija hranjivosti između krmiva, te mali broj korištenih uzoraka), što je ograničilo razvoj modela.

Literatura

- Boval M., Coates D.B., Lecomte P., Decryenaere V., Archimède H. (2004). 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.
- Batten G.D. (1998). Plant analysis using near infrared reflectance spectroscopy: the potential and the limitations. *Australian Journal of the Experimental Agriculture*. 38: 697-706.
- ISO (International Standard Organization) (1979). *Animal Feedstuffs*, ISO 6496, ISO 5983., ISO 5984, International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland
- Landau S., Glasser T., Dvash L., Perevolotsky A. (2004). Faecal NIRS to monitor the diet of Mediterranean goats. *Journal of Animal Science* 34 (Suppl I): 76-80.
- Li H., Tolleson D., Stuth J., Bai K., Mo F., Kronberg S. (2007). Faecal near infrared reflectance spectroscopy to predict diet quality for sheep. *Small Ruminants Research* 68: 263-268.
- Serale P.L. (1984). The Berthelot of indophenol reaction and its use in the analytical chemistry of nitrogen. A review. *Analyst*. 109: 549-568.
- Van Soest P.J., Robertson J.B., Lewis B.A. (1991). Method for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74: 3583-3597.

sa2011_0719