

Pecuária leiteira de precisão: espectroscopia de infravermelho médio do leite para estimar características zootécnicas



***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Gado de Leite
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento***

DOCUMENTOS 228

Pecuária leiteira de precisão: espectroscopia de infravermelho médio do leite para estimar características zootécnicas

*Laís Trindade de Castro Ornelas
Thierry Ribeiro Tomich
Cláudio Antonio Versiani Paiva
Mariana Magalhães Campos
Fernanda Samarini Machado
Marcelo Bonnet Alvarenga
Luiz Gustavo Ribeiro Pereira*

Autores

***Embrapa Gado de Leite
Juiz de Fora, MG
2018***

Comitê Local de Publicações da Unidade
Responsável

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Gado de Leite
Rua Eugênio do Nascimento, 610 – Dom Bosco
CEP: 36038-330 – Juiz de Fora/MG
Telefone: (32)3311-7400
Fax: (32)3311-7424
<http://www.embrapa.br>
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Presidente
Pedro Braga Arcuri

Secretária-Executiva
Inês Maria Rodrigues

Membros
Jackson Silva e Oliveira, Leônidas Paixão Passos, Alexander Machado Aua, Fernando Cesar Ferraz Lopes, Francisco José da Silva Lédo, Pérsio Sandir D'Oliveira, Fábio Homero Diniz, Frank Ângelo Tomita Bruneli, Nívea Maria Vicentini, Leticia Caldas Mendonça, Rita de Cássia Bastos de Souza, Rita de Cássia Palmyra da Costa Pinto, Virgínia de Souza Columbiano Barbosa

Supervisão editorial
Mariana Magalhães Campos

Normalização bibliográfica
Inês Maria Rodrigues

Tratamento das ilustrações e editoração eletrônica
Carlos Alberto Medeiros de Moura

Arte da Capa
Adriana Barros Guimarães

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

1ª edição
On line (2018)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Gado de Leite

Pecuária leiteira de precisão: espectroscopia de infravermelho médio do leite para estimar características zootécnicas / Laís Trindade de Castro Ornelas ... [et al.]. – Juiz de Fora : Embrapa Gado de Leite, 2018.
26 p. (Embrapa Gado de Leite. Documentos, 228).

ISSN 1516-7453

1. Pecuária leiteira. 2. Precisão. 2. Espectroscopia 3. Infravermelho. 4. Zootécnicas. I. Ornelas, Laís Trindade de Castro. II. Tomich, Thierry Ribeiro. III. Paiva, Cláudio Antônio Versiani. IV. Campos, Mariana Magalhães. V. Machado, Fernanda Samarini. VI. Alvarenga, Marcelo Bonnet. VII. Pereira, Luiz Gustavo Ribeiro. VIII. Série.

CDD 636.2142

Autores

Laís Trindade de Castro Ornelas

Zootecnista, M.Sc., Bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Capes, Juiz de Fora, MG

Thierry Ribeiro Tomich

Médico-veterinário, D.Sc., Pesquisador – Embrapa Gado de Leite

Cláudio Antonio Versiani Paiva

Médico-veterinário, D.Sc., Analista – Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG

Mariana Magalhães Campos

Médica-veterinária, D.Sc., Pesquisadora – Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG

Fernanda Samarini Machado

Médica-veterinária, D.Sc., Pesquisadora – Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG

Marcelo Bonnet Alvarenga

Engenheiro de Alimentos, Ph.D., Analista – Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS

Luiz Gustavo Ribeiro Pereira

Médico-veterinário, D.Sc., Pesquisador – Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG

Apresentação

A composição do leite é ponto central para os laticínios, pois do seu conhecimento é que as empresas processadoras de leite definem as estratégias que devem implementar na geração de sua cadeia de valor, que varia em cada empresa e se inicia no laticínio e termina na mesa do consumidor. Para os laticínios focados em qualidade, é da sua rotina a adoção de procedimentos que avaliem a composição da matéria prima utilizada, principalmente no que se refere a sólidos totais, teores de gordura, proteína e lactose, bem como no que se refere à acidez do leite recebido dos fornecedores. Estes laticínios focados na qualidade, e não são todos, estabelecem um rígido padrão de controle de qualidade no seu processo de *Supply Chain Management*.

O processo de identificar as características do leite recebido pelo laticínio ocorre frequentemente por meio do método MIR, ou seja, da “espectroscopia de infravermelho médio”. Todavia, este método também pode ser usado com outros propósitos na cadeia do leite, mas com o olhar voltado para as unidades produtivas. O método MIR vem demonstrando viabilidade técnica e econômica também para uso em tomada de decisões que requerem informações clínicas e zootécnicas. Por este motivo, o MIR vem demonstrando potencial para ser suporte a decisões relacionadas a manejo de rebanhos e ao melhoramento genético animal.

A presente publicação resulta de um esforço em disseminar o entendimento e a aplicação deste método. Nas páginas que se seguem são discutidas as gorduras do leite e seus perfis. Os ácidos graxos são um tópico ainda pouco conhecido, e que está se tornando ponto referencial na captura de valor

para os produtos lácteos. A tendência recentemente revelada mostra que o senso comum já mudou sobre o binômio gordura do leite e saúde! Gordura do leite é demandada. É riqueza e não resíduo. Pois, esta publicação perpassa por eficiência alimentar, pelo balanço energético dos animais produtivos e lança luz na sempre presente discussão sobre emissão de um dos gases de efeito estufa.

Portanto, o mérito desta publicação está em reunir conhecimento existente sobre o método MIR em sua aplicação não tradicional, sempre focada no laticínio. Portanto, assim se amplia a visão de qualidade do leite, que deve ser vista não apenas na matéria-prima que chega no laticínio, mas no tipo de rebanho existente e no manejo adotado nas unidades produtivas. Portanto, evidencia-se, assim, um caminho cada vez mais relevante a ser trilhado, que correlaciona alimentação com a composição do leite a ser processado.

Paulo do Carmo Martins
Chefe-geral da Embrapa Gado de Leite

Sumário

1. Introdução.....	9
2. Espectroscopia do infravermelho médio (MIR)	10
3. MIR na avaliação do perfil de ácidos graxos do leite	13
4. Utilização da MIR na estimativa do consumo de matéria seca e eficiência alimentar	15
5. Uso da MIR para avaliar balanço energético em vacas leiteiras.....	17
6. Uso da MIR para avaliação da emissão de metano entérico	19
7. Considerações finais	21
8. Referências	21

1. Introdução

A “espectroscopia de infravermelho médio” (MIR) permite a avaliação da composição do leite e é amplamente empregada no controle de qualidade nas indústrias de produtos lácteos (De Marchi et al., 2009). O método envolve a medição da intensidade da absorção em comprimentos de onda na faixa espectral de 200 a 4.000 cm^{-1} . O comprimento de onda em que ocorre a absorção é influenciado pelos tipos de ligações químicas entre as moléculas. Nos últimos anos, a MIR vem sendo estudada como método de baixo custo para avaliação de variáveis de interesse zootécnico e clínico, apresentando assim, potencial de aplicação em programas de melhoramento genético e na geração de métricas para o manejo de precisão em rebanhos leiteiros.

Na região do infravermelho médio, quando a amostra é atravessada por radiação eletromagnética, as ligações das moléculas realizam movimento vibracional ou rotacional, que envolve absorção mais ou menos acentuada da energia fornecida. Com base na energia fornecida e na quantidade absorvida, e com a utilização de dados matemáticos de espectros de referência, é possível determinar a composição química da amostra e os compostos correlacionados (Marchi et al., 2014).

Essa técnica vem sendo utilizada para coletar dados populacionais e permite a avaliação da composição (sólidos totais, gordura, proteína, lactose) e da acidez do leite. A MIR é usada na geração dos dados de componentes do leite, já empregados nos atuais programas de seleção genética, mas existem perspectivas para a inclusão de novas características de interesse zootécnico que podem ser preditas. O perfil de ácidos graxos de cadeia longa (AGCL) do leite pode ser predito com precisão por MIR (Soyeurt et al., 2011). Outras características de interesse zootécnico que vêm sendo avaliadas por MIR com base em amostras de leite incluem consumo de matéria seca, produção de metano entérico, diagnóstico de cetose e avaliação do balanço energético em vacas leiteiras.

A técnica do MIR vem ganhando atenção nos últimos anos por permitir a obtenção de respostas rápidas, por exigir pouca manipulação e preparo de amostra, e tempo de análise, além de apresentar alta precisão e facilidade de aplicação no campo. Para a geração de fenótipos qualificados por MIR

é necessário desenvolver equações de predição da variável de interesse zootécnico/clínico (variável resposta, ou dependente) com base na absorbância dos diferentes comprimentos de onda do infravermelho médio pela amostra do leite (variável independente). No entanto, a necessidade de calibração e os cuidados preliminares com o método de referência e a variabilidade capaz de representar toda a faixa de trabalho, pode dificultar a utilização desse método (Soyeurt; Misztal; Gengler, 2010).

Nesse trabalho são apresentados os potenciais e limitações da utilização da MIR para a geração de fenótipos qualificados, que podem ser empregados em programas de melhoramento genético ou na geração de métricas para o manejo de precisão dos rebanhos leiteiros.

2. Espectroscopia do Infravermelho Médio (MIR)

A região espectral conhecida como radiação infravermelha é relativamente ampla, envolvendo números de onda entre 12.800 a 10 cm^{-1} , comprimentos de onda entre 780 a 100.000 nm , e frequências de $3,8 \times 10^{14}$ até $3,0 \times 10^{11}\text{ Hz}$. De fato, a região infravermelha se estende desde o extremo vermelho do espectro visível até as micro-ondas. A técnica é rápida, requer o mínimo necessário de preparo de amostras e não gera resíduos e subprodutos tóxicos (Marchi et al., 2014).

Para fins de aplicações analíticas, o espectro infravermelho é dividido em três regiões: infravermelho próximo (NIR, *Near-Infrared*), médio (MIR, *Mid-Infrared*) e distante (FIR, *Far-Infrared*) (Skoog; Holler; Nieman, 2002). Na Tabela 1 são apresentadas as faixas de características típicas para cada uma dessas três regiões.

Tabela 1. Faixas de características típicas das três regiões do espectro de radiação infravermelha.

Região	Número de onda ($\bar{\nu}$) cm^{-1}	Comprimento de onda (λ), nm	Frequência (Hz)
NIR (Near-Infrared)	12.800 - 4.000	780 - 2.500	$3,8 \times 10^{14}$ - $1,2 \times 10^{14}$
MIR (Mid-Infrared)	4.000 - 200	2.500 - 5.000	$1,2 \times 10^{14}$ - $6,0 \times 10^{12}$
FIR (Far-Infrared)	200 - 10	5.000 - 100.000	$6,0 \times 10^{12}$ - $3,0 \times 10^{11}$

Fonte: Adaptado de Skoog; Holler, Nieman (2002).

A MIR foi utilizada, inicialmente, no final da década de 50 para a análise qualitativa de compostos orgânicos. O infravermelho médio envolve faixa

espectral conhecida como região de impressão digital da molécula, em que pequenas alterações na sua estrutura resultam em mudanças significativas na distribuição dos picos de absorção do espectro. A identificação de compostos pode ser realizada pela relação existente entre o espectro e o banco de dados obtidos por método de referência (Skoog; Holler; Nieman, 2002).

Na região do infravermelho médio, quando a matéria é atravessada por radiação eletromagnética, as ligações das moléculas fazem movimentos (vibração e rotação) que envolvem uma absorção mais ou menos acentuada da energia fornecida. Com base na energia fornecida e na quantidade absorvida pela amostra irradiada, e utilizando pré-tratamentos matemáticos de espectros, é possível determinar a composição química da amostra e os compostos correlacionados (Marchi et al., 2014).

A MIR foi melhorada com o uso do interferômetro e foi denominado de espectroscopia no infravermelho médio com transformada de Fourier (*Fourier Transform Infrared*, FTIR). Esta técnica possui maior número de aplicações, desde a análise de pequenas moléculas ou complexos moleculares até a análise de células ou tecidos. A FTIR se baseia no padrão de absorção, pela amostra, de radiação de um feixe de luz composto por vários comprimentos de onda (policromática) na região do infravermelho, o que gera um sinal. Em seguida, outro feixe de luz policromático, composto por outra combinação de comprimentos de onda é aplicado, gerando outro sinal, e assim sucessivamente. Os sinais gerados são processados por computador acoplado ao instrumento para determinar a absorbância da amostra em cada comprimento de onda. Esse processamento é executado por um algoritmo clássico denominado FTIR (Berthomieu; Hienerwadel, 2009).

Por sua vez, os feixes de luz contendo variadas combinações de comprimentos de onda são gerados por um espelho móvel que, segundo sua posição, interfere na composição espectral do feixe, modulando os diferentes comprimentos de onda que compõem o feixe a taxas distintas. Isso faz com que cada feixe de luz gerado no interferômetro (e aplicado à amostra) tenha espectro diferente, a cada momento. A FTIR permite analisar as propriedades de quase todos os grupos químicos e, notavelmente, de aminoácidos e moléculas de água, que dificilmente podem ser observadas por outras técnicas de espectroscopia (Berthomieu; Hienerwadel, 2009).

A técnica de MIR tem sido utilizada na determinação rápida e precisa da composição do leite, como teores de proteína, lactose, gordura, caseína e ureia, bem como em propriedades tecnológicas, como acidez e coagulação do leite. Além disso, demonstrou-se que alguns ácidos graxos (AG) do leite podem ser preditos com precisão via MIR (Soyeurt et al., 2006). As principais regiões do MIR que estão implicadas na estimativa do perfil de AG foram localizadas entre 1.736 e 1.805 cm^{-1} e entre 2.823 e 3.016 cm^{-1} (Soyeurt et al., 2006).

De Marchi et al. (2009) investigaram a aplicação potencial da MIR para prever o potencial de coagulação, a acidez titulável e o pH das amostras individuais de leite de vacas da raça Pardo Suíço e concluíram que a MIR é um método não destrutivo e fornece avaliações instantâneas de composição do leite, que podem ser utilizadas para estimar o rendimento e aprimorar os processos na indústria láctea.

Para o desenvolvimento das equações de predição por MIR para determinada característica, geralmente é utilizado o modelo de regressão de mínimos quadrados parciais (PLS, *Partial Least Squares*) e para estimar a qualidade da calibração, é necessário calcular o desvio padrão. Para o uso potencial das equações, o coeficiente de determinação da validação cruzada deve ser elevado (Soyeurt et al., 2006).

Bonfatti et al. (2017) testaram vários modelos de regressão bayesiana como método alternativo ao PLS para o desenvolvimento das equações de predição e reportaram pequenas diferenças entre os modelos utilizados para as variáveis testadas. As diferenças foram atribuídas principalmente à capacidade do PLS em lidar com o ruído do espectro. A presença de comprimentos de ondas não informativos e o uso de espectros brutos afetaram a precisão da predição pelo PLS em comparação aos modelos bayesianos. Contudo, esses resultados foram anulados depois que o ruído foi reduzido por tratamentos matemáticos dos espectros (Bonfatti et al. 2017).

3. MIR na Avaliação do Perfil de Ácidos Graxos do Leite

A gordura do leite é constituída por 95% de AG ligados à triacilgliceróis e, em proporção menor, por mono e diacilgliceróis, fosfolípidios, ésteres de colesterol e AG livres. Os AG diferem em comprimento de cadeia e insaturação, posição e orientação de duplas ligações. Os AG saturados e insaturados constituem cerca de 65% a 35%, respectivamente (Jensen, 2002).

A produção de leite bovino e seu perfil de AG podem ser alterados por fatores individuais, como raça e estágio de lactação, além da alimentação fornecida aos animais. Dietas com maior concentração de forragem reduzem os toeres de AG saturados e aumentam os teores de AG considerados favoráveis à saúde humana (e.g. C18:1 *cis*-9, C18:3 n-3 e CLA *cis*-9, *trans*-11), em comparação com dietas baseadas em silagem de milho e concentrados (Chilliard, Yves et al., 2007).

A seleção genética dos animais pode ser uma estratégia para alterar o perfil de AG do leite, já que existe variação genética para essa característica (Soyeurt et al., 2006). Bastin et al. (2012) mostraram herdabilidade variando de alta a média para vários AG no leite de vacas da raça Holandês, indicando a viabilidade de seleção de animais que apresentem perfil de AG desejáveis no leite.

As análises do perfil de AG de cadeia longa (AGCL) e média (AGCM) do leite geralmente são realizadas por cromatografia gasosa (CG), envolvendo técnicas laboriosas e de custos elevados. Assim, a MIR vem sendo utilizada como método alternativo para esse propósito que, além de aumentar a capacidade laboratorial e reduzir os custos analíticos, pode fornecer resultados mais precisos e passíveis de serem utilizados em programas de melhoramento genético (Narayana et al., 2017).

O perfil de AG do leite é influenciado pelos status metabólico dos animais, assim, se estimado por MIR pode ser utilizado para inferir e prever o balanço energético dos animais (McParland et al., 2011), a emissão de metano entérico (Dehareng et al., 2012) e a eficiência alimentar em vacas leiteiras (McParland et al., 2014).

Soyeurt et al. (2006) desenvolveram as primeiras equações de calibração para estimar o perfil de AG por MIR e os teores de C10:0, C12:0, C14:0, C16:0, C16:1 *cis*-9, C18:1, e AG saturados e monoinsaturados foram determinados com elevada confiabilidade.

Rutten et al. (2009) relataram que a acurácia de predição de AG por MIR é aumentada quando se aumenta o número de observações. Avaliaram também a sensibilidade das equações de predição para detecção das variações sazonais (verão e inverno) na composição da gordura do leite. As estações tiveram pouca influência no perfil de AG quando expressos na base de leite (g/dL de leite). Porém quando expressos na base de gordura (g/100 g), as diferenças foram maiores (Rutten et al., 2009). Já Soyeurt et al. (2006) reportaram que a MIR é realizada em amostras de leite, enquanto a análise por CG é realizada em amostras de gordura. Esses autores reportaram maior precisão quando os AG foram expressos na base de leite comparado à base de gordura e alegaram que quando se prediz os AG por MIR é gerado efeito de combinação da predição do teor e composição da gordura.

Em trabalho avaliando várias raças, países e sistemas de produção foram avaliados métodos para desenvolver equações de calibração para estimar o perfil de AG no leite por MIR (Soyeurt et al., 2011). Os métodos que utilizaram o pré-tratamento de dados espectrais, empregando primeira derivação, geraram os melhores resultados. A melhor precisão de predição foi observada para os AG C4:0, C6:0, C8:0, C10:0, C12:0, C14:0, C16:0, C18:0, C18:1 *trans*, C18:1 *cis*-9, C18:1 *cis* e os grupos de AG saturados. As predições de AG na gordura foram menos precisas em relação as que levavam em consideração o leite. O grande número e a representatividade de amostras garantiram a elevada precisão e confirmaram o potencial da metodologia para ser utilizada em sistemas de bonificação no pagamento do leite pelas indústrias (Soyeurt et al., 2011).

Ferrand-Calmels et al. (2014) comprovaram o potencial da MIR para prever a composição de AG dos leites de vaca, cabra e ovelha. Esses autores foram os primeiros a proporem equações para prever o perfil de AG dos leites de cabra e ovelha e reportaram a importância da remoção do ruído espectral para melhorar a robustez das equações. Para isso, indicaram a seleção de comprimentos de onda informativos usando algoritmos que aplicavam coeficientes nulos a comprimentos de onda não informativos e,

consequentemente, evitaram o acúmulo de erros associados aos espectros (Ferrand-Calmels et al., 2014).

O comprimento da cadeia e o perfil de saturações dos AG foram preditas com precisão utilizando a MIR e foram desenvolvidos e validados modelos de regressão parcial de mínimos quadrados para prever essas características. Entretanto, o desempenho dessas equações pode ser influenciado pela marca do espectrômetro, sensibilidade de homogeneização, tipo e concentração do conservante e variação da temperatura da amostra (Wojciechowski; Barbano, 2016).

4. Utilização da MIR na Estimativa do Consumo de Matéria Seca e Eficiência Alimentar

O consumo de matéria seca (CMS) é importante na nutrição porque estabelece a quantidade de nutrientes disponíveis para um animal manter a saúde e a produção (NRC, 2007). Mertens (1994) relatou a ação de mecanismos físicos, fisiológicos e psicogênicos que atuam em curto ou longo prazo na regulação do consumo voluntário em ruminantes. Fatores como a composição do alimento (densidade energética, fibra, volume), animal (peso, nível de produção, estado fisiológico) e condição de alimentação (disponibilidade de alimento, frequência de alimentação) influenciam diretamente o CMS.

De acordo com Van Soest (1994), o consumo também é dependente da fração de fibra em detergente neutro (FDN) das dietas, bem como da proporção de lignina, existindo correlação negativa entre parede celular ou lignina e CMS, já que a fermentação e taxa de passagem de FDN pelo retículo-rúmen são mais lentas quando comparadas às frações não fibrosas do alimento. Ao mesmo tempo, vacas leiteiras requerem teores de FDN suficientes nas dietas para manter a função do rúmen e maximizar a produção de leite. Recomenda-se que as dietas contenham pelo menos 25% de FDN, e que 19% de FDN deve ser proveniente de forragens (NRC, 2001).

Os alimentos com maiores teores de lipídios podem promover a redução no CMS devido ao maior aporte energético para o animal e, consequente regulação química inibitória do consumo (Petit et al., 1997).

O custo com alimentação é o fator que mais onera a produção de leite. Assim, a busca por animais de maior eficiência alimentar pode impactar positivamente nos sistemas de produção. A avaliação da eficiência alimentar depende da mensuração do CMS. Assim, a estimativa do CMS por MIR pode viabilizar a obtenção de dados e inclusão dessa característica em programas de melhoramento genético. Ademais, as técnicas de análises químicas, e de pesagens dos alimentos e respectivas sobras, necessárias para a mensuração do CMS, são laboriosas e de elevado custo.

O consumo alimentar residual (CAR) é um dos índices de eficiência alimentar, definido como a diferença entre a ingestão real de matéria seca do animal e a ingestão de matéria seca esperada. O cálculo do CAR requer a estimativa da ingestão de matéria seca esperada, que pode ser predita a partir de dados de produção, utilizando as normas e padrões de alimentação, ou por regressão, utilizando dados de alimentação real do ensaio (Herd; Arthur, 2009).

A MIR em amostras de leite foi avaliada como método de estimativa do CMS e do CAR em vacas leiteiras (Shetty et al., 2017). Os autores predisseram o CMS e CAR com base nos teores de gordura, proteína e lactose obtidos por MIR, em vez de utilizarem os espectros completos, indicando que os dados espectrais não implicaram em informações significativas para melhorar os modelos de predição para CMS e CAR. Para CMS, a região da gordura do leite foi responsável pela maior variação nos espectros de leite. Já para o CAR, a principal variação nos espectros de leite estava associada à região da proteína do leite. Os lipídeos presentes nos alimentos sofrem hidrólise de suas ligações ésteres e os ácidos graxos insaturados podem ser biohidrogenados no rúmen. Os ácidos graxos que chegam a glândula mamária são reesterificados para a formação da gordura do leite que também é originada pela síntese de novo a partir de precursores como acetato e β -hidroxibutirato absorvidos do sangue. Já a proteína bruta é reduzida a aminoácidos e peptídeos, posteriormente, formando as diferentes frações proteicas do leite, enquanto que os carboidratos são fermentados a propionato, que é convertido a glicose (gliconeogênese); esta, por fim, é parcialmente epimerizada a galactose para formação da lactose do leite. Essas foram as justificativas dos autores para explicar a relação existente do perfil espectral das regiões de gordura, proteína e lactose com o CMS e CAR (Shetty et al., 2017).

Klaffenböck et al. (2017) avaliaram se as quantidades de ingestão de matéria seca e as proporções de concentrado, feno, silagem de capim, silagem de milho e pastagem na ração total poderiam ser estimadas por MIR. Concluíram que nem todos os componentes da ração podem ser estimados com igual precisão.

O método Melhor Predição Linear Não Viesada (BLUP) foi utilizado e comparado ao método PLS para desenvolver modelos de predição de consumo de vacas de raça local da Noruega, visando à aplicação em programas de melhoramento (Wallén et al., 2018). O procedimento BLUP não foi melhor que o PLS e a justificativa foi a utilização do comprimento de onda com base em valores de precisão de predição e validação externas ao invés de ser estimado usando componentes de variância (Wallén et al., 2018).

Já Dorea et al. (2018) avaliaram se os espectros de leite podem adicionar informações às predições de CMS usando Rede Neural Artificial (RNA) e PLS e concluíram que a utilização de RNA propiciou melhores predições em comparação ao PLS. A superioridade da RNA indica que a relação entre o CMS e alguns comprimentos de ondas pode ser não linear.

A utilização da MIR para estimativa de CMS e eficiência alimentar é recente e os resultados iniciais indicam a possibilidade de uso futuro da metodologia para essas variáveis.

5. Uso da MIR para Avaliar Balanço Energético em Vacas Leiteiras

A média da produção de leite por lactação tem aumentado significativamente nas últimas décadas, principalmente devido ao melhoramento genético dos animais. O principal desafio enfrentado pelas vacas é o aumento drástico das exigências nutricionais para a produção de leite e as condições fisiológicas que limitam o CMS no início da lactação e geram mobilização de reservas. Assim, as vacas entram em balanço energético negativo, fisiologicamente inevitável nesse estágio (Ingvarsen, 2006). O balanço energético negativo gera mobilização de gordura e aumento dos corpos cetônicos, podendo levar aos quadros de cetose subclínica ou clínica (Schulz et al., 2014). O monitoramento do balanço energético é importante e pode direcionar a

adoção de práticas de manejo e intervenções clínicas que minimizem os efeitos negativos na produção, saúde e reprodução das vacas.

Os ácidos graxos não esterificados (NEFA), β -hidroxibutirato (BHBA), glicose, colesterol e triglicerídeos presentes no sangue e leite são os principais metabólitos associados ao balanço energético (Aeberhard; Bruckmaier; Blum, 2001). As concentrações desses compostos são utilizadas para o monitoramento do status energético do animal e a MIR pode ser método alternativo para estimativas dessas variáveis.

Van Kneysel et al. (2010) apontaram a possibilidade de uso da MIR para predição de corpos cetônicos no leite e identificação de vacas com hipercetonemia no início da lactação. Os autores alertaram quanto à aplicabilidade dessa prática devido à alta incidência de testes falso-positivos.

Segundo o trabalho de Friggens; Ridder; Løvendahl (2007), em relação aos constituintes do leite, tanto a relação entre gordura e proteína como a composição de AG do leite, estão relacionados ao balanço energético dos animais. Assim, os dados espectrais obtidos por MIR podem apresentar correlação com o balanço energético de vacas em lactação. McParland et al. (2011) avaliaram a viabilidade de usar a MIR na avaliação do balanço energético de vacas e concluíram que o método foi preciso para predizer tanto o consumo de energia como o balanço energético em vacas leiteiras.

Belay et al. (2017) indicaram avaliações de BHBA entre os dias 11 a 60 da lactação como o período mais apropriado para a avaliação genética de rotina para a ocorrência de cetose, pois os valores obtidos para BHBA nesse período apresentam maior correlação genética em relação ao período de 61 a 120 dias de lactação. Assim, os autores apontaram a predição do valor de BHBA do sangue, previsto a partir da avaliação do leite por MIR, como método alternativo e prático para identificação de animais de menor susceptibilidade à cetose e reportaram que as menores concentrações de BHBA foram geneticamente correlacionadas aos maiores teores de proteína e lactose do leite.

6. Uso da MIR para Avaliação da Emissão de Metano Entérico

O metano (CH_4) é um dos gases de efeito estufa (GEE), que se destaca por grande parte de sua emissão ser antropogênica e por possuir potencial de aquecimento global 25 vezes maior que o dióxido de carbono (IPCC, 2007). Segundo a FAO (2014), em 2014, o total de emissões de metano pela agricultura brasileira foi estimado em 27,91 milhões de toneladas, do qual 26,50 milhões de toneladas foram atribuídas à fermentação entérica.

A fermentação microbiana que ocorre no rúmen é o processo que viabiliza a obtenção de nutrientes aos ruminantes a partir dos alimentos fibrosos. A microbiota do rúmen é capaz de degradar e extrair nutrientes da dieta e produzir proteína microbiana, que será disponibilizada como fonte de proteína para o organismo do animal. De forma similar, a produção dos AG voláteis (AGV), representados pelo acetato, propionato e butirato, constitui a principal fonte de energia disponível para que os ruminantes possam exercer suas funções de crescimento, manutenção, produção e reprodução (NRC, 2007).

Este processo de fermentação ruminal necessita de equilíbrio do sistema, no qual as Archaeas metanogênicas preenchem um nicho importante por reduzir o dióxido de carbono e o hidrogênio (H_2) a metano e água (Beauchemin et al., 2008).

A produção de CH_4 representa perdas que podem variar de 2% a 12% do potencial energético dos alimentos consumidos, uma vez que o CH_4 produzido não pode ser metabolizado no organismo, sendo a maior parte eliminada na atmosfera por meio do processo de eructação/respiração (Johnson; Johnson, 1995).

As técnicas utilizadas para quantificar a produção de CH_4 pelos ruminantes são laboriosas e dispendiosas. Assim, novas metodologias vêm sendo desenvolvidas para contornar esses problemas.

Chilliard et al. (2009) descreveram que muitos estudos relatam mudanças simultâneas na produção de CH_4 e na composição de AG no leite após suplementação lipídica na dieta de vacas leiteiras. Dessa forma os autores avaliaram a correlação entre a composição de AG no leite individual e a

produção de CH_4 , medidas nas mesmas vacas e dietas. Concluíram que o aumento da disponibilidade do óleo de linhaça no rúmen inibiu a secreção de gordura do leite, simultaneamente com a diminuição da produção de CH_4 , e aumentou as concentrações de vários AG *trans* na gordura do leite. Assim, o perfil de AG do leite pode ser considerado um indicador potencial de produção de CH_4 *in vivo*. No entanto, a validade das correlações que foram estabelecidas foi limitada às condições em que o experimento foi realizado (dietas com variações no fornecimento e disponibilidade de ácido linoleico).

Vários AG do leite apresentam relações moderadas com a produção de CH_4 . Os teores dos AG C14:0, C15:0 *iso* e C17:0 anteiso foram positivamente relacionados com a produção de CH_4 , enquanto que os teores de C17:1 *cis*-9 e de vários outros AG intermediários de reações de biohidrogenação ruminal foram negativamente relacionados. Como existem relações entre a emissão de CH_4 e o perfil de AG, Dijkstra et al. (2011) avaliaram o potencial da MIR para estimar a emissão de CH_4 de vacas leiteiras, por meio das estimativas do perfil de AG. Concluíram que a técnica é promissora, mas indicaram a necessidade de estudos adicionais envolvendo animais de diferentes grupos genéticos e raças, alimentados com dietas distintas e produzidos em diversos ambientes, para melhorar o desempenho dos modelos.

As equações de predição do MIR que incorporam o estágio da lactação permitiram o desenvolvimento de melhores modelos para predição de emissão de CH_4 por vacas leiteiras (Vanlierde et al., 2015).

Segundo Kandel et al. (2017), devido à herdabilidade e variabilidade genética, a emissão diária (g/dia) e a intensidade de emissão de CH_4 (g/kg de leite) preditas por MIR podem ser introduzidas nos índices de seleção, contemplando variáveis relacionadas ao menor impacto negativo ao ambiente.

Vanrobays et al. (2016) também verificaram que as correlações fenotípicas e genéticas entre a composição da gordura do leite, mensuradas por MIR, e a produção predita de CH_4 (g/dia) variaram ao longo da lactação. Dessa forma, o padrão dessas correlações poderia estar associado ao estado metabólico esperado das vacas após o estágio de lactação, bem como com a origem dos AG no leite.

Para melhorar a precisão das equações de predição para a produção de CH_4 , faz-se necessário utilizar, de modo simultâneo, características como produção diária de leite, paridade, estágio de lactação e estação do ano. Os espectros refletem principalmente informações relacionadas à produção diária de leite, estágio de lactação e rebanho, já que os AGs individuais, geralmente são mais associados à emissão de CH_4 . Portanto, aparentemente, não é possível prever com precisão a emissão de CH_4 com base única nos espectros obtidos por MIR (Shetty; Difford; et al., 2017).

7. Considerações Finais

Por ser uma metodologia rápida, barata e precisa, a utilização da técnica de espectrometria do infravermelho médio é uma alternativa para a avaliação de várias características do leite e do *status* de vacas leiteiras. Para a avaliação do perfil de AG já existem opções de modelos precisos. Porém, para as variáveis produção de metano e consumo de matéria seca são necessários estudos adicionais que forneçam dados de animais com divergência genética e de diferentes raças, alimentados com dietas variadas e produzidos em diferentes ambientes e condições, para melhorar e adaptar as equações de predições das variáveis de interesse clínico e zootécnico.

8. Referências

- AEBERHARD, K.; BRUCKMAIER, R. M.; BLUM, J. W. Metabolic, Enzymatic and Endocrine Status in High-Yielding Dairy Cows - Part 2. **Journal of Veterinary Medicine Series A: Physiology Pathology Clinical Medicine**, v. 48, n. 2, p. 111–127, 2001.
- BASTIN, C; BERRY, D. P.; SOYEURT, H.; GENGLER, N. Genetic correlations of days open with production traits and contents in milk of major fatty acids predicted by mid-infrared spectrometry. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 10, p. 6113–6121, 2012.
- BEAUCHEMIN, K. A.; KREUZER, M.; O'MARA, F.; McALLISTER, T. A. Nutritional management for enteric methane abatement: A review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 48, n. 1–2, p. 21–27, 2008.

BELAY, T. K.; SVENDSEN, M.; KOWALSKI, Z. M.; ADNØY, T. Genetic parameters of blood β -hydroxybutyrate predicted from milk infrared spectra and clinical ketosis, and their associations with milk production traits in Norwegian Red cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 8, p. 6298–6311, 2017.

BERTHOMIEU, C.; HIENERWADEL, R. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. **Photosynthesis Research**, v. 101, n. 2–3, p. 157–170, 2009.

BONFATTI, V.; TIEZZI, F.; MIGLIOR F.; CARNIER, P. Comparison of Bayesian regression models and partial least squares regression for the development of infrared prediction equations. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 9, p. 7306–7319, 2017.

CHILLIARD, Y.; MARTIN, C.; ROUEL, J.; DOREAU, M. Milk fatty acids in dairy cows fed whole crude linseed, extruded linseed, or linseed oil, and their relationship with methane output. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 10, p. 5199–5211, 2009.

CHILLIARD, Y.; GLASSER, F.; FERLAY, A.; BERNARD, L. ROUEL, J.; DOREAU, M. Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 109, n. 8, p. 828–855, 2007.

DE MARCHI, M.; FAGAN, C. C.; O'DONNELL, C. P.; CECCHINATO, A.; DAL ZOTTO, R.; CASSANDRO, M.; PENASA, M.; BITTANTE, G. Prediction of coagulation properties, titratable acidity, and pH of bovine milk using mid-infrared spectroscopy. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 1, p. 423–432, 2009.

DEHARENG, F.; DELFOSSE, C.; FROIDMONT, E. SOYEURT, H.; MARTIN, C.; GENGLER, N.; VANLIERDE, A.; DARDENNE, P. Potential use of milk mid-infrared spectra to predict individual methane emission of dairy cows. **Animal**, v. 6, n. 10, p. 1694–1701, 2012.

DOREA, J. R. R.; ROSA, G. J. M.; ARMENTANO, L. E. Mining data from milk infrared spectroscopy to improve feed intake predictions in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 7, p. 1–12, 2018.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Dados da emissão de gases**. FAO, Rome, 2014. Disponível em:< <http://faostat3.fao.org/download/G1/GE/E>>. Acesso em: 29 de ago. 2017.

FERRAND-CALMELS, M.; PALHIÈRE, I.; BROCHARD, O.; LERAY, O.; ASTRUC, J. M.; AUREL, M. R.; BARBEY, S.; BOUVIER, F.; BRUNSCHWIG, P.; CAILLAT, H.; DOUGUET, M.; FAUCON-LAHALLE, F.; GELÉ, M.; THOMAS, G.; TROMMENSCHLAGER, J. M.; LARROQUE, H. Prediction of fatty acid profiles in cow, ewe, and goat milk by mid-infrared spectrometry. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 1, p. 17–35, 2014.

FRIGGENS, N. C.; RIDDER, C.; LØVENDAHL, P. On the Use of Milk Composition Measures to Predict the Energy Balance of Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 12, p. 5453–5467, 2007.

HERD, R. M.; ARTHUR, P. F. Physiological basis for residual feed intake. **Journal of Animal Science**, v. 87, n. 14, p. 64–71, 2009.

INGVARTSEN, K. L. Feeding- and management-related diseases in the transition cow: Physiological adaptations around calving and strategies to reduce feeding-related diseases. **Animal Feed Science and Technology**, v. 126, n. 3–4, p. 175–213 , 2006.

IPCC - INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE. Climate Change. The Physical Science Basis. p. 1-996, 2007.

JENSEN, R. G. The Composition of Bovine Milk Lipids: January 1995 to December 2000. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 2, p. 295–350 , 2002.

JOHNSON, K. A.; JOHNSON, D. E. Methane emissions from cattle. **Journal Animal Science**, v. 73, n. 1 , p. 2483–2492 , 1995.

KANDEL, P. B.; VANROBAYS, M. L.; VANLIERDE, A.; DEHARENG, F.; FROIDMONT, E.; GENGLER, N.; SOYEURT, H. Genetic parameters of mid-infrared methane predictions and their relationships with milk production traits in Holstein cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 7, p. 5578–5591, 2017.

KLAFFENBÖCK, M.; STEINWIDDER, A.; FASCHING, C.; TERLER, G.; GRUBER, L.; MÈSZÁROS, G. SOLKNER, J. The use of mid-infrared

spectrometry to estimate the ration composition of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 7, p. 5411–5421, 2017.

MARCHI, M.; TOFFANIN, V.; CASSANDRO, M.; PENASA, M. Invited review: Mid-infrared spectroscopy as phenotyping tool for milk traits 1. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 3, p. 1171–1186, 2014.

MCPARLAND, S.; LEWIS, E.; KENNEDY, E.; MOORE, S. G.; MCCARTHY, B. O'DONOVAN, M.; BUTLER, S. T.; PRYCE, J. E. BERRY, D. P. Mid-infrared spectrometry of milk as a predictor of energy intake and efficiency in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 9, p. 5863–5871, 2014.

MCPARLAND, S.; BANOS, G.; WALL, E.; COFFEY, M. P.; SOYEURT, H.; VEERKAMP, R. F.; BERRY, D. P. The use of mid-infrared spectrometry to predict body energy status of Holstein cows¹. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 7, p. 3651–3661, 2011.

MERTENS, D. R. Rate and extent of digestion. In: FORBES, J. M., FRANCE, J. **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**. 1994. 14-51 f. CAB International, Londres.

NARAYANA, S. G.; SCHENKEL, F. S.; FLEMING, A.; KOECK, A.; MALCHIODI, F.; JAMROZIK, J.; JOHNSTON, J.; SARGOLZAEI, M.; MIGLIOR, F. Genetic analysis of groups of mid-infrared predicted fatty acids in milk. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 6, p. 4731–4744, 2017.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 2001. 381 f. National Academy of Sciences, Washington, D.C.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids**. 2007. 384 f. National Academic Press, Washington, D.C.

PETIT, H. V.; RIOUX, R.; D'OLIVEIRA, P. S.; PRADO, I. N. Performance of growing lambs fed grass silage with raw or extruded soybean or canola seeds. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 77, n. February, p. 455–463, 1997.

RUTTEN, M. J. M.; BOVENHUIS, H.; HETTINGA, K. A.; VAN VALENBERG, H. J. F.; VAN ARENDONK, J. A. M. Predicting bovine milk fat composition

using infrared spectroscopy based on milk samples collected in winter and summer. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 12, p. 6202–6209, 2009.

SCHULZ, K.; FRAHM, J.; MEYER, U.; KERSTEN, S.; REICHE, D.; REHAGE, J.; DANICKE, S. Effects of prepartal body condition score and peripartal energy supply of dairy cows on postpartal lipolysis, energy balance and ketogenesis: An animal model to investigate subclinical ketosis. **Journal of Dairy Research**, v. 81, n. 3, p. 257–266, 2014.

SHETTY, N.; DIFFORD, G.; LASSEN, J.; LØVENDAHL, P.; BUITENHUIS A. J. Predicting methane emissions of lactating Danish Holstein cows using Fourier transform mid-infrared spectroscopy of milk. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 11, p. 1–9, 2017.

SHETTY, N.; LØVENDAHL, P.; LUND, M. S.; BUITENHUIS, A. J. Prediction and validation of residual feed intake and dry matter intake in Danish lactating dairy cows using mid-infrared spectroscopy of milk. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 1, p. 253–264, 2017.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. 836 p.

SOYEURT, H.; DARDENNE, P. DEHARENG, F.; LOGNAY, F.; VESELKO, D.; MARLIER, M.; BERTOZZI, C.; MAYERES, P.; GENGLER, N. Estimating Fatty Acid Content in Cow Milk Using Mid-Infrared Spectrometry. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 9, p. 3690–3695, 2006. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030206724092>>. Acesso em: 19 jul. 2018. 1525-3198 (Electronic)r0022-0302 (Linking).

SOYEURT, H.; DEHARENG, F.; GENGLER, N.; MCPARLAND, S.; WALL, E.; BERRY, D. P.; COFFEY, M.; DARDENNE, P. Mid-infrared prediction of bovine milk fatty acids across multiple breeds, production systems, and countries. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 4, p. 1657–1667, 2011.

SOYEURT, H.; MISZTAL, I.; GENGLER, N. Genetic variability of milk components based on mid-infrared spectral data. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 4, p. 1722–1728, 2010.

VAN KNEGSEL, A. T. M.; MOLLENHORST, H.; ANTUNES-FERNANDES, E. C.; HETTING, K. A.; VAN BURGSTEDEN, G. G.; DIJKSTRA, J.;

RADEMAKER, J. L. W. Short communication: Ketone body concentration in milk determined by Fourier transform infrared spectroscopy: Value for the detection of hyperketonemia in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 7, p. 3065–3069, 2010.

VANLIERDE, A.; VANROBAYS, M. L.; DEHARENG, F.; FROIDMONT, E.; SOYEURT, H.; MCPARLAND, S.; LEWIS, E.; DEIGHTON, M. H.; GRANDL, F.; KREUZER, M.; GRENDLER, B.; DARDENNE, P.; GENGLER, N. Hot topic: Innovative lactation-stage-dependent prediction of methane emissions from milk mid-infrared spectra. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 8, p. 5740–5747, 2015.

VANROBAYS, M.-L.; BASTIN, C.; VANDENPLAS, J.; HAMMAMI, H. SOYEURT, H.; VANLIERDE, A.; DEHARENG, F.; FROIDMONT, E.; GENGLER, N. Changes throughout lactation in phenotypic and genetic correlations between methane emissions and milk fatty acid contents predicted from milk mid-infrared spectra. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 9, p. 7247–7260, 2016.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 1994. Cornell University Press, Ithaca.

WALLÉN, S. E.; PRESTLØKKEN, E.; MEUWISSEN, T. H. E.; MCPARLAND, S.; BERRY, D. P.. Milk mid-infrared spectral data as a tool to predict feed intake in lactating Norwegian Red dairy cows. **Journal of Dairy Science**, n. 2014, p. 1–12, 2018.

WOJCIECHOWSKI, K. L.; BARBANO, D. M. Prediction of fatty acid chain length and unsaturation of milk fat by mid-infrared milk analysis1. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 11, p. 8561–8570, 2016.



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO