KABA YEMLERİN BESİN MADDE ANALİZİNDE NIR TEKNOLOJİSİNDEN FAYDALANMA

Şerife ERGÜL

Danışman
Doç. Dr. Uğur SERBESTER

Doktora Semineri
Adana/ 2019

Kaba Yem Analizinin Önemi

Kaba yemlerin kullanımı ruminant hayvanların rasyonlarında, hem hayvanın sindirim fizyolojisi bakımından hem de maliyet ekonomisi açısından bir gerekliliktir. Hayvanların beslenmesinde kullanılacak kaba yemlerin özelliklerinin ve kalitesinin bilinmesi hali hazırdaki kaba yemin, hayvanın fizyolojik evrelerinin hangi aşaması için daha uygun olduğunun bilinmesi ve kaba yemin fiyatlandırılması açısından önemlidir.

Kaba yemin kalitesindeki değişikliklerin; rasyon enerji yoğunluğu, protein miktarı, rasyona ilave edilecek kesif yem, kuru madde tüketimi (KMT), laktasyon performansı, hayvan sağlığı ve yemleme maliyeti üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir. Kaba yemin kalitesi kaba yemin çeşidine göre değişkenlik gösterir. İklim, üretim ve hasat uygulamaları, hasattaki olgunluk, biçim yüksekliği ve sayısı, çeşitlilik, silolama ve depolama yöntemi uygulamaları kaba yem kalitesi üzerinde etkilidir.

Kaba Yemlerde Kullanılan Analiz Yöntemleri

Fiziksel analizler; görünüş, koku, tat, sertlik, irilik, kaba yemlerde yaprak, sap oranı, rasyonda kaba/kesif yem oranı ve sıcaklıktır.

Kimyasal analizler; ham protein, ham yağ, ham selüloz, ham kül ve nitrojensiz öz maddeleri kapsayan besin madde analizleridir ve Weende analiz sistemine göre yapılır (ADF ve NDF ise Van Soest).

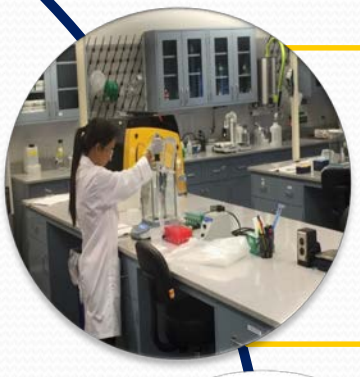
Yemlerin sindirilebilirliklerinin belirlenmesinde; in vivo, in situ (*Naylon kese tekniği*), in vitro (*Tilley- Terry metodu*, *Gaz üretimi tekniği)* yöntemler kullanılır.

Yakın Kızıl Ötesi Yansıma Spektroskopisi (NIRS)

- NIRS William Herschel tarafından 18.yy'da keşfedilmesine karşın, 20.yy'ın ikinci çeyreğinden sonra kullanılmaya başlanmıştır.

- ABD Tarım Bakanlığı'ndan Karl Norris, bu analitik tekniğin potansiyelini tanımış ve modern NIRS' ı endüstriyel uygulamaya sokmuştur.

- 2002 yılında Ulusal Kaba Yem Test Birliği, NIR test yöntemini kabul edilen ve doğru yem analiz yöntemi olarak onaylamıştır. NIR cihazlarındaki son gelişmeler, bu aletlerin büyüklüğünü ve ağırlığını azaltmış ve kolayca taşınabilir hale getirmiştir.



NIRS tekniği ile sadece yemlerin kimyasal kompozisyonu ile ilgili analizler değil, in vivo ve in vitro teknikler esas alınarak, NIR ile yapılan kuru madde tüketimi (KMT),

organik madde sindirilebilirliği (OMS) ve kuru madde sindirilebilirliği (KMS), protein, selüloz, ADF ve NDF sindirilebilirlikleri gibi birçok biyolojik parametre için yapılan analizlerde başarılı sonuçlar alınmıştır,

ayrıca toplam yapısal olmayan ve suda çözünür karbonhidrat içeriği ile birlikte protein fraksiyonları da başarıyla ölçülmüştür.

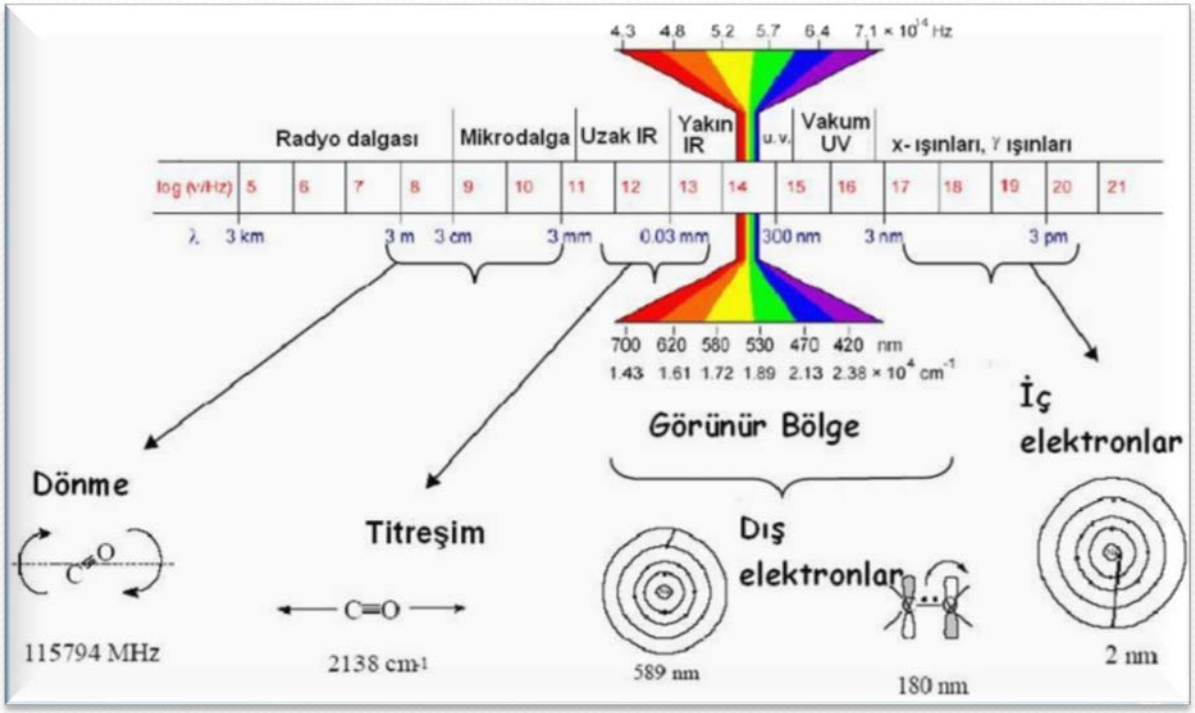
NIRS' ın Avantajları

- ✓ Ölçme ve sonuç bildirimi basit ve hızlıdır.
- ✓ Örneğe ait birkaç analiz aynı anda yapılabilmektedir.
- ✓ Numune hazırlamaya her zaman ihtiyaç olmamaktadır.
- ✓ Örneğin yapısına zarar vermediği için tekrar kullanımına olanak sunar.
- ✓ Kullanılan örnek miktarı çok azdır.
- ✓ Kimyasal madde harcanması ve diğer laboratuvar malzemelerine gereksinim olmadığı için maliyeti en aza indirir,
- ✓ Ağır kimyasal kullanımından doğacak tehlikeyi önler ve çevreye karşı kimyasal maddeler gibi bir zararı yoktur.

Dezavantajları;

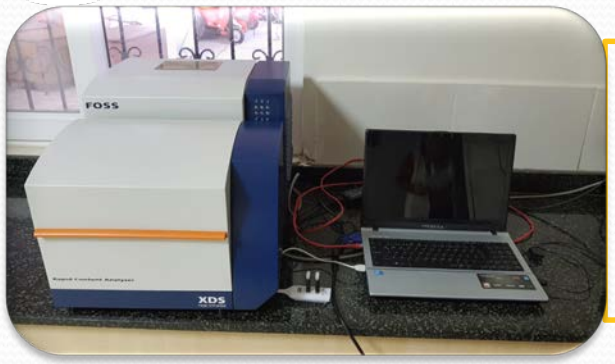
- ✓ Kullanılabilirliği yüksek kalibrasyon modelleri elde etmek zor ve zaman alıcıdır.
- ✓ Genellikle majör bileşenlerin analizinde kullanılmakta olup, minör bileşenlerde hassasiyet düşmektedir.
- ✓ NIRS göreceli bir teknik olduğu için, onu kullanarak modeller oluşturmak ve gereken hedef parametrenin değeriyle ilgili ön bilgi gerektirmektedir.
- ✓ NIR ölçümleri için gerekli bilginin elde edileceği verileri modellemek için kemometri tekniklerin kullanılması gerekmektedir.

NIRS' ın Çalışma Prensibi



NIRS, numune özelliklerine bağlı kalibrasyon eğrilerini geliştirmek için 400 ila 2500 nm (yakın kızılötesi bölge) bölgedeki bir dizi örnek tarafından absorbe edilen radyasyonu kullanan bir tekniktir.

Spektroskopik analizler genel olarak, numunelerin ışığı absorbe etmesi, geçirmesi veya yansıtması gibi özelliklerinin ölçülmesine dayanan enstrümantal analizlerdir.



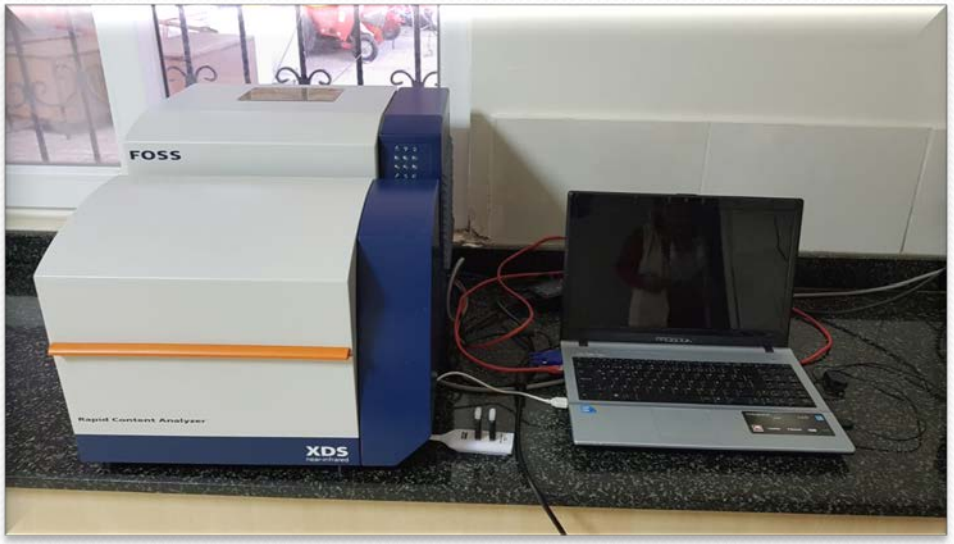
- NIRS, yapı içerisindeki O-H, C-H, C-O ve NH gibi moleküler bağların titreşimleri ile ilgili olarak absorbsiyon bantları oluşturmaktadır.

- Bu bağlar titreşimsel enerji değişikliklerine maruz kalmakta ve bunun sonucu olarak da moleküller titreştiği zaman NIR bölgesindeki organik moleküllerin enerji absorpsiyonu meydana gelmektedir.

- Yansıyan enerji, logaritma (log 1/R) şeklinde depolanır ve spektra, örnekteki kimyasal bağlar hakkında bilgi verebilecek şekle çevrilir.

NIRS' ın Kalibrasyonu ve Validasyonu

Genellikle iki aşamada gerçekleşir, metodun kalibrasyonu ve örneğin bilinmeyen değerinin tespitidir. Bir modeli elde etmek için, doğrulama yapılmak zorundadır. Gerçek değer ile tahmin edilen değerin karşılaştırılması modelin doğruluğunu gösterir. Doğrulama yapmak için '*Cross Validation*' yani çapraz doğrulama kullanılır.



NIR, kalibrasyonlarında "kemometrik" olarak tanımlanan istatistik analizleri temel alır. Her bir reflektans nokta log 10 tabanında log (1/R) şeklinde bir spektra noktasına dönüştürülür.

Bu spektral noktalar ile klasik laboratuvar yöntemleri ile belirlenmiş değerler arasında bahsedilen kemometrikler vasıtasıyla bir ilişki kurulur.

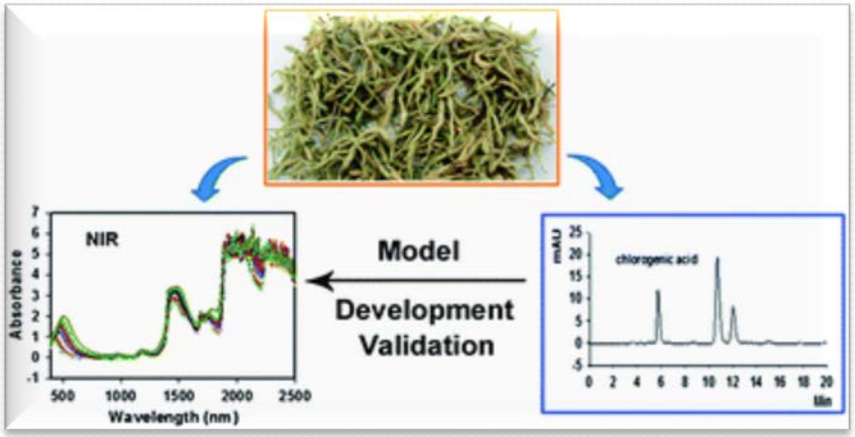
Bu istatistiksel ilişki metodu kalibrasyonun temelini oluşturur. Kalibrasyon kalitesi R^2 belirleme katsayısının değeri tarafından hesaplanır. R^2 değeri %100' e yaklaştıkça kalibrasyon setinin doğruluğunun yüksek olduğu ifade edilmektedir.

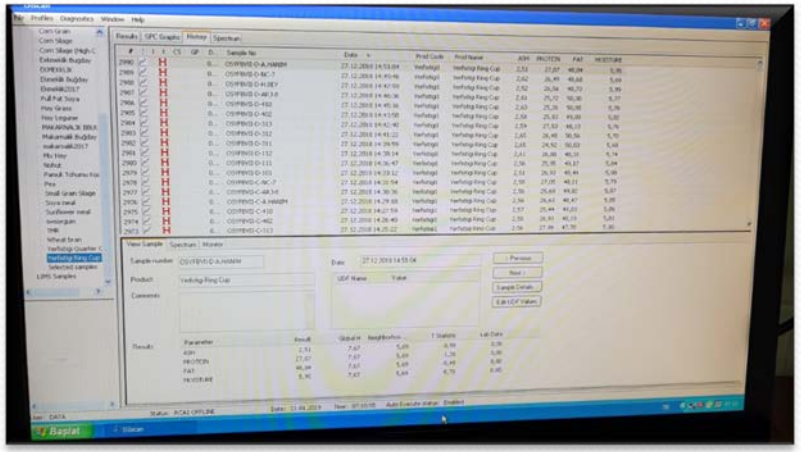
Kemometri, istatistik ve matematik ile birlikte bilgisayar kullanılarak analitik verilerin işlenmesini kapsayan bir kimya disiplinidir. Kimyasal analizlerde, kimyasal verilerden gerçek bilgilerin açığa çıkarılmasına olanak tanıyan güçlü bir araçtır. Temel uygulama alanlarından biri analitik kimyadır.

Kemometri konularını; tanımlayıcı ve açıklayıcı istatistik, sinyal işleme, deneysel tasarım, modelleme, kalibrasyon, optimizasyon, yapı tanıma, sınıflandırma, yapay akıl yöntemleri, resim işleme, bilgi ve sistem kuramı gibi kavram ve uygulamaları oluşturmaktadır.

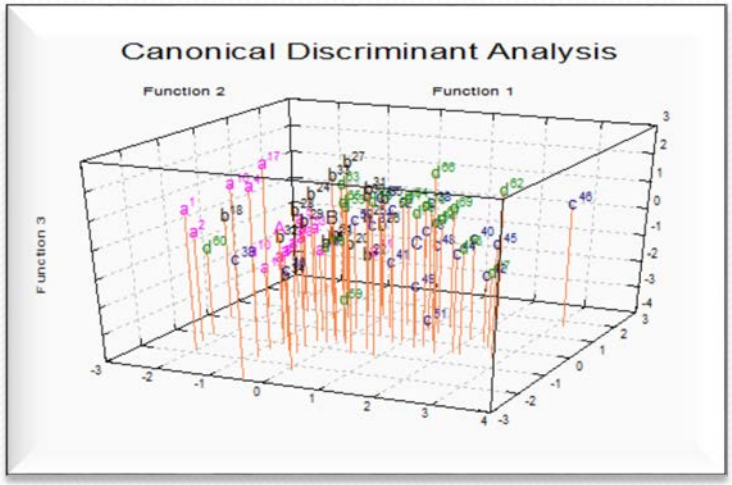
Sinyallerin işlenmesi (fourier ve dalgacık dönüşümü), düzleştirme, filtreleme, türev ve integrasyon için kullanılan algoritmalar vasıtasıyla gerçekleştirilir (Dinç, 2007).

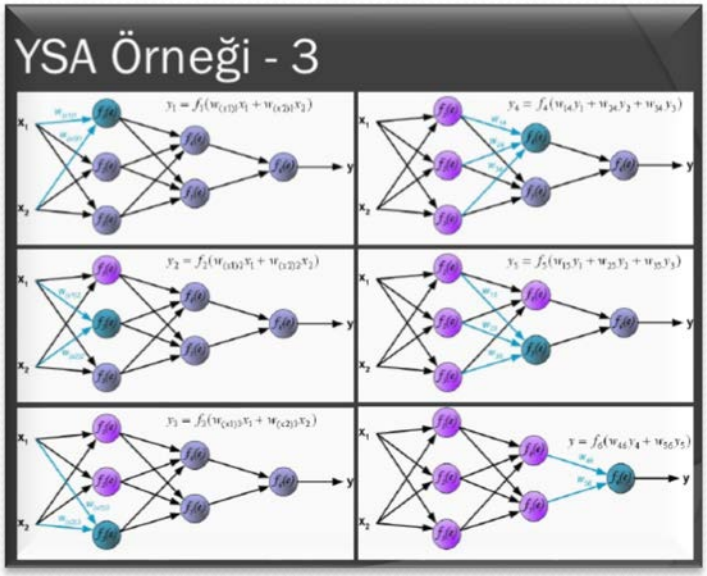
Bu kalibrasyonlar genellikle kısmi en küçük kareler regresyonu (PLS) veya çoklu doğrusal regresyon (MLR) kullanılarak geliştirilmiştir. Araştırmacılar temel analitik uygulamaların ötesine geçtikçe, sonuçları yorumlamaya yardımcı olmak için farklı kemometrik tekniklerin gerekli olduğu kanısına varmışlardır (Kramer ve ark., 2004).





Tek değişkenli gruplar için temel bileşen analizi (PCA) ve çoklu değişken gruplar için kanonik diskriminant analizi (CDA) gibi teknikler, nitel veri kategorileri ve değişkenler arasındaki ilişkileri içeren çalışmalar için geliştirilmiştir. Son gelişmeler, verilerdeki doğrusal olmayan modelleri tanımlamak için yapay sinir ağı (YSA) analizini içermektedir.



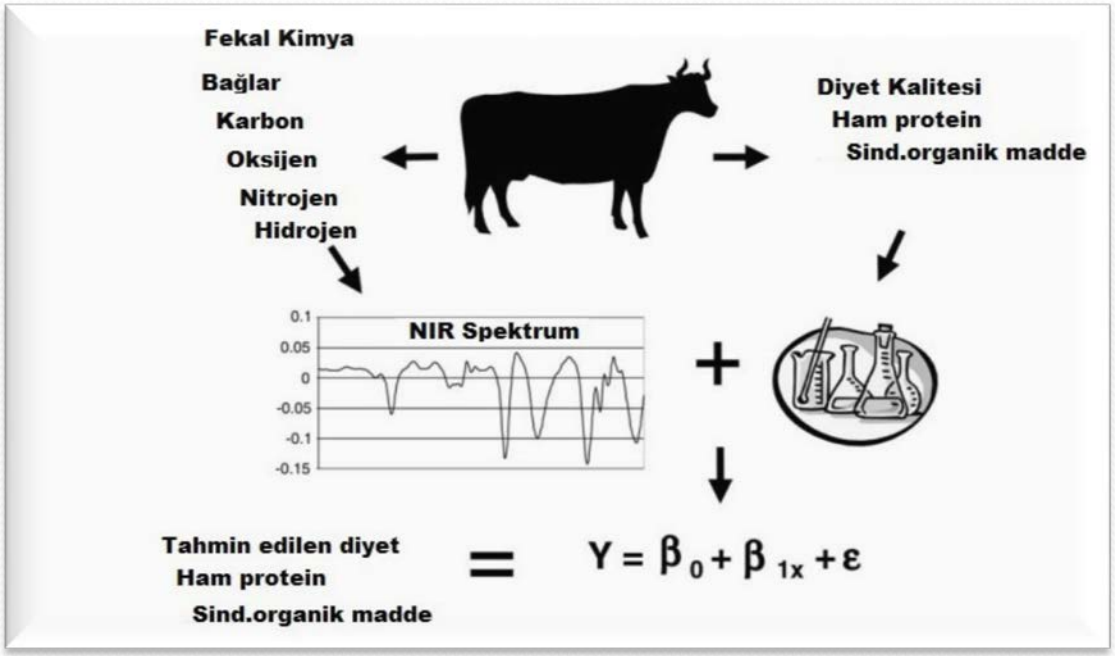


Kaba Yem Kalitesi ve Sindirilebilirlik Analizinde NIRS' ın Kullanılması

Yapılan bir araştırmada (Cozzolino ve ark., 2006) mısır silajı örneklerinde KM, ADF, NDF, HP ve pH tahmini için NIRS kullanılmıştır. 90 örnek, referans metodlar ve NIRS (400-2500 nm) kullanılarak analiz edilmiştir. Tahmin edilen denklemler, ham spektrum veya ikinci türev kullanılarak tam çapraz doğrulamaya sahip modifiye kısmi en küçük kareler (MPLS) kullanılarak geliştirilmiştir. Kalibrasyonda R^2 HP için 0.91, KM ve ADF için 0.85 olarak bulunmuştur. NIR spektroskopisinin, mısır silajı örneklerinde KM, HP ve ADF tahmininde uygun bir yöntem olabileceği sonucuna varılmıştır. Çalışma sonucunda partikül boyutunun mısır silajı numunelerinin kalibrasyonu üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi için daha fazla çalışmalar yapılması gerektiği bildirilmiştir.

Yürütülen bir çalışmada (Cozzolino ve Moron, 2004), NIRS ile iz element konsantrasyonlarının tahmin edilmesi araştırılmıştır. Farklı bölgelerden toplanan ak üçgül (n = 97) ve yonca (n = 235), sodyum, sülfür, bakır, demir, manganez, çinko ve bor için analiz edilmiştir. Numuneler NIRS cihazında (400-2500 nm) taranmıştır. Kalibrasyon modelleri (n = 262) çapraz doğrulamaya dayalı olarak modifiye edilmiş kısmi en küçük kareler regresyonu (MPLS) kullanılarak geliştirilmiştir. R^2 değerleri Na için 0,83, S için 0,86 ve B, Zn, Mn, Cu ve Fe için sırasıyla 0.80, 0.80, 0.78, 0.76 ve 0.57 olarak tespit edilmiştir. Sülfür, sodyum ve bor bir doğrulama setinde NIRS tarafından doğru olarak tahmin edilmiştir.

Aynı zamanda araştırıcılar (Lyons ve Stuth, 1992), kaba yem kalitesini ve dışkı örneklerinin NIRS kullanarak izlemenin uygun bir yöntem olduğunu bulmuşlardır. Otların in vivo sindirilebilirliğinin, geleneksel analiz yöntemleriyle elde edilenle aynı doğrulukta dışkıya uygulanan NIRS ile tahmin edilebileceğini göstermişlerdir.



Yapılan bir çalışmada (Decruyenaerea ve ark., 2009), birçok kaba yem için in vivo organik madde sindirilebilirliğini (OMD) tahmin etmek ve organik madde tüketimini (OMVI, g / kg) hesaplamak için yem ve dışkıya uygulanan NIRS potansiyelini değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Dışkı spektrumları üzerinde çalışmak hem OMD hem de OMVI tahmini için en iyi kalibrasyon denklemlerini geliştirilmesini sağlamıştır. Belirleme katsayısı (R^2) 0.8' den büyük bulunmuştur. Çalışma sonucunda, NIRS‘ ın dışkıya uygulanması, otlayan ruminant hayvanların yönetimi ve performansının optimize edilmesi için hızlı ve kolay bir analitik yöntem olduğunu bildirmişlerdir.

Yürütülen bir çalışmada (Andres ve ark.,2005) , 107 adet yem bitkileri örneklerinin kimyasal bileşimini ve in vitro sindirilebilirliğini tahmin etmek için NIRS teknolojisinin potansiyelini değerlendirmek amaçlanmıştır. Çalışmada elde edilen kalibrasyon ve validasyon istatistikleri, NIRS teknolojisinin botanik olarak karışık ot örneklerinin, özellikle de HP ve NDF içeriğinin kimyasal bileşimini doğru bir şekilde tahmin etme potansiyelini göstermiştir. Örneklerin sayısının daha büyük ve çalışılan yemlerin botanik olarak daha homojen olması gerektiği sonucuna varılmıştır.

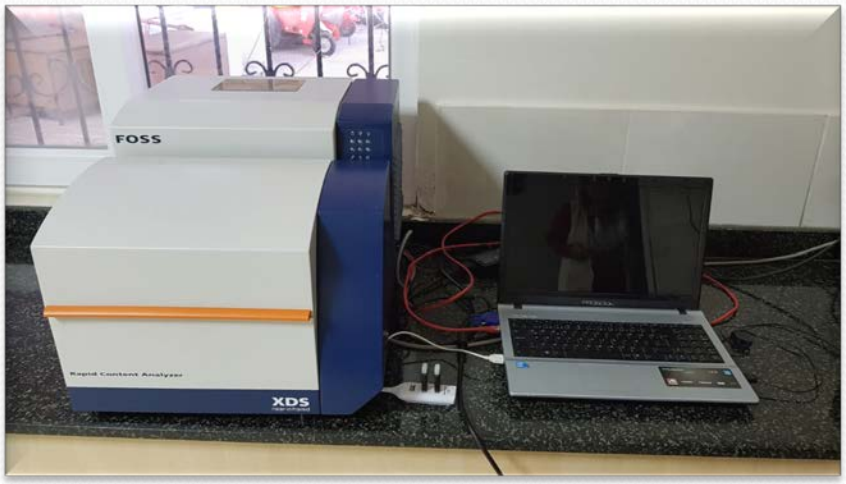
Yapılan bir çalışmada (Ohlsson ve ark., 2007), kaba yem numunelerinin yıkılabilirlik parametrelerini ve efektif parçalanmayı (EP) tahmin etmek için NIRS kullanılıp kullanılamayacağı amaçlanmıştır. 61 adet ryegrass ve domuz ayrığının KM, HP ve NDF parçalanabilirliği in situ tekniği kullanılarak test edilmiştir. Kaba yem örneklerinde HP ve NDF konsantrasyonları NIRS kullanılarak tahmin edilmiş ve R^2 değeri HP için 0.98 ve NDF için 0.92 olarak bulunmuştur. Numunelerin taramalarından elde edilen NIRS tahminlerinin kullanılmasının, ruminant yemlerinde KM, HP ve NDF' nin etkili bir şekilde yıkılması için değerlerin elde edilmesinin uygun bir yöntem olduğu ancak daha yüksek bir doğruluk elde etmek için daha büyük kalibrasyon setlerinin gerekli olduğu sonucuna varılmıştır.

Yürütülen bir çalışmada (Decruyenaerea ve ark., 2012), konsantre yem takviyeli otlayan süt ineklerinin ot kuru madde tüketimini (G-DMI, kg / gün) ve otların in vivo organik madde sindirilebilirliğini (G-OMD) hesaplamak için dışkıya uygulanan NIRS' ı (FNIRS) doğrulamak amaçlanmıştır. Rotasyonlu otlatma planı ile iki otlatma alanında inek ve sürü düzeyinde analiz edilmiştir. Hem G-OMD hem de G-DMI için FNIRS tahminlerinin diğer tahminleyici yöntemlerle (G-OMD için r = 0.61 ve G-DMI için r = 0.63-0.88) ilişkili olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Tahmin yöntemine bağlı olarak, G-OMD 0.689 (FNIRS) ila 0.773 (FNI) arasında değişmiştir. FNIRS'in ot sindirilebilirliğini ve otlayan ineklerin tüketimini hızlı ve kolay bir şekilde kaydetmek için kullanılabileceğini önermişlerdir.

SONUÇ

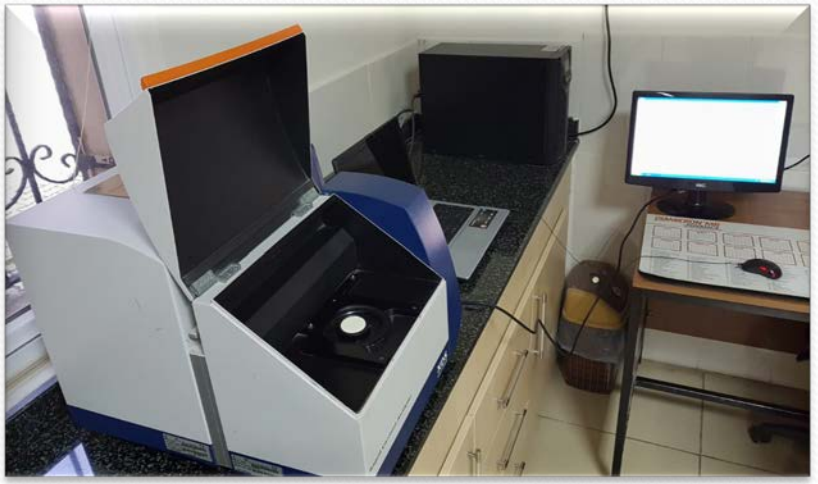
Ruminant hayvanların ana yem kaynağını oluşturan kaba yemler besin madde içerikleri bakımından; yetiştirildiği iklime, toprak yapısına, verilen gübre miktarına, hasat zamanı ve hasat şekli vb. birçok faktörün etkisi altındadır. Bu nedenle dane yemlere nazaran besin madde içerikleri aynı üründe bölgeden bölgeye hatta tarladan tarlaya dahi değişkenlik gösterebilmektedir. Çiftliklerde hazırlanan TMR' deki kaba yemlerin besin madde bileşiminin tayini için gerekli laboratuvar analizleri yapılmaktadır.

Bu da işletmenin ihtiyaca yönelik hazırlanan rasyonların daha dengeli olabilmesi ve besleme yönetimindeki stratejilerin belirlenmesinde daha çabuk ve etkin karar vermede bir gerekliliktir. Fakat yaygın olarak kullanılan laboratuvar analizleri ektra maliyet, iş gücü, fazla kimyasal kullanımından dolayı çevre kirliliğine neden olması ve en önemlisi bu analizlerin yapımı için çok fazla zaman harcanmasından dolayı dezavantajlıdır.

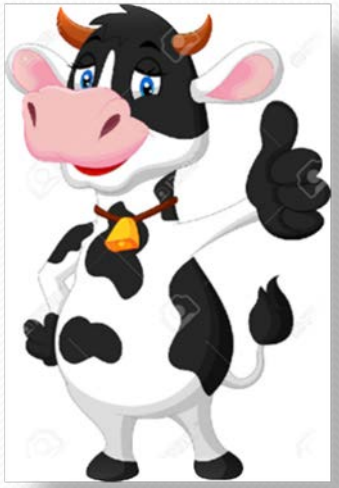


Bu dezavantajı ortadan kaldırmak için son zamanlarda geliştirilen NIRS teknolojisinin kullanımı çok yaygınlaştırılmıştır. Ancak dane yemlerde besin madde içeriğinin çok fazla değişkenlik göstermemesinden dolayı NIRS teknolojisi çok daha doğru tahminleme yapabilirken, kaba yemlerin değişken besin madde içeriği yüzünden daha fazla kalibrasyona ihtiyaç duyulup örnekleme sayılarının artırılması gerekmektedir.

Ayrıca besin madde içeriğinin belirlemesinin yanında besleme manüplasyonlarını etkileyen besin madde sindirilebilirliği tahmini içinde kullanılması NIRS teknolojisine olan ilgiyi daha da arttırmıştır. Bu yöntemin sayısız avantajlarına ve uygulanabilirliğine rağmen, çiftlik dışı yem formülasyonlarının test edilmesinde NIRS kullanımının teknik ve ekonomik uygulanabilirliğini değerlendirmek için daha fazla araştırmalara gereksinim duyulmaktadır.



DİNLEDİĞİNİZ İÇİN TEŞEKKÜR EDERİM…



KAYNAKLAR

1. Aenugu, H. P. R, Kumar, D.S., Srisudharson, Parthiban, N., Ghosh, S. S., Banji, D., 2011. Near Infra Red Spectroscopy- An Overview. International Journal of ChemTech Research. Vol. 3, No.2, pp 825-836.

2. Andres, S., Giraldez, F. J., Lopez, S., Mantecon A. R. and Calleja, A., 2005b. Nutritive Evaluation of Herbage from Permanent Meadows by Near-İnfrared Reflectance Spectroscopy: 1. Prediction of Chemical Composition and İn Vitro Digestibility. J Sci Food Agric 85: 1564–1571.

3. Cozzolino, D., Fassio, A., Fernandez, E., Restaino, E., La Manna, A., 2006. Measurement of Chemical Composition in Wet Whole Maize Silage by Visible and Near İnfrared Reflectance Spectroscopy. Animal Feed Science and Technology 129: 329–336.

4. Cozzolino, D., Moron, A., 2004. Exploring the Use of Near İnfrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) to Predict Trace Minerals in Legumes. Animal Feed Science and Technology 111: 161–173.

5. Decruyenaerea, V., Froidmonta, E., Bartiaux-Thilla, N., Buldgenc, A., Stilmant, D., 2012. Faecal Near-İnfrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) Compared with Other Techniques for Estimating the İn Vivo Digestibility and Dry Matter İntake of Lactating Grazing Dairy Cows. Animal Feed Science and Technology 173: 220–234.

6. Decruyenaerea, V., Lecomteb, Ph., Demarquillyc, C., Aufrerec, J., Dardenned, P., Stilmanta, D., Buldgene, A., 2009. Evaluation of Green Forage İntake and Digestibility in Ruminants Using Near İnfrared Reflectance Spectroscopy (NIRS): Developing a Global Calibration. Animal Feed Science and Technology 148: 138–156.

7. Dinç, E., 2007. Kemometri Çok Değişkenli Kalibrasyon Yöntemleri. Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Dergisi Cilt 27 / Sayı 1 / ss. 61-92.

8. Kramer, R., Workman, J. J., Reeves, J. B. III., 2004. Qualitative Analysis. In: Roberts CA, Workman JJr, Reeves JB III, editors. Near-İnfrared Spectroscopy in Agriculture. Madison, Wis. American Society of Agronomy Inc. Crop Science Society of America Inc. and Soil Science Society of America Inc. Publishers. P 175–206.

9. Lyons, R.K., Stuth, J.W., 1992. Faecal NIRS Equations for Predicting Diet Quality of Free-Ranging Cattle. J. Range Manage. 45: 238–244.

10. Ohlsson, C., Houmøller, L. P., Weisbjerg, M. R., Lund, P. and Hvelplund, T. , 2007. Effective Rumen Degradation of Dry Matter, Crude Protein and Neutral Detergent fibre in Forage Determined by Near İnfrared Reflectance Spectroscopy. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 91: 498–507.

11. Kutlu, H.R., 2008. Yem Değerlendirme ve Analiz Yöntemleri. Ders Notu. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fak., Zootekni Bölümü.