

NEAR İNFRARED REFLEKTANS SPEKTROSKOPİNİN HAYVAN BESLEME BİLİM ALANINDA KULLANIM İMKANLARI (DERLEME)

(The Use of Near Infrared Reflectance Spectroscopy in Animal Nutrition Science)

(A REVIEW)

Yücel ÜNAL¹

¹ Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı - KARS.

ÖZET

Kaba yemlerin besinsel değerini belirlemek için Weende analizleri, deterjanlı kimyasal analizler, *in vitro* ruminal ve enzimatik yöntemler gibi bir çok laboratuvar analiz yöntemleri geliştirilmiştir. Ancak tüm bu tekniklerin pratikte kullanımı bir çok kimyasal madde gerektirdiği için pahalı ve kapsamlı olup sonuç alma zaman almaktadır. Near infrared reflektans spektroskopisi (NİRS) ise kaba yemlerin besinsel değerini değerlendirmede hızlı, doğru ve az masraflı bir yöntemdir. NİRS teknolojisi ile yemlerde Weende ve Van Soest yöntemleriyle yapılan analizler yapılabilmektedir. Ayrıca yem tüketimi ve sindirilebilirlik gibi biyolojik parametreleri de tahmin etme kapasitesi ile gelecek vadeden bir teknolojidir.

Anahtar kelimeler: NİRS, Weende analizi, yem tüketimi, sindirilebilirlik.

SUMMARY

Many laboratory analysis methods have been developed to determine forage nutritive value such as Weende analysis, detergent chemical analysis, *in vitro* ruminal and enzymatic techniques. However, their maintenance is expensive and comprehensive to use in practice since they are required many chemicals and so that results often emerge late. Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) is a technique with great potential for rapid, accurate and cost effective evaluation of forage nutritive value. The feed analysis with the methods of Weende and Van Soest might be done with NIRS technique. In addition, NIRS has the potential to predict biological parameters such as feed intake and digestibility that promises a great future.

Key words: NIRS, Weende analysis, intake, digestibility.

GİRİŞ

Hayvan besleme çalışmalarının hedeflerinden biri hayvanlardan en yüksek verimi elde etmek için ihtiyaç duydukları besin madde düzeylerinin belirlenmesidir. Bu hedef, hızla artan dünya nüfusunun gıda ihtiyacını karşılamak için önemlidir. Ayrıca özellikle ruminant besleme çalışmaları, tane yemlerin ruminantların beslenmesinde kullanımının düşürülmesi ve tasarruf edilen bu yem maddelerinin insan ya da tek mideli diğer hayvanların beslenmesinde kullanımının artırılması yönünden de önem arz etmektedir.

Ruminantlardan et ve süt üretimi büyük ölçüde kaba yemlerin kullanımına dayanmaktadır. Ruminant beslemede kaba yemin daha verimli kullanımı üzerine bir çok çalışma yapılmıştır. Kaba yemlerin amonyak, sodyum hidroksit ve üre gibi kimyasal maddeler ile muamelesi, kaba yemlerin sindirilebilirliğini ve değerlendirilebilirliğini artırmayı amaçlayan

üre-melas mineral blokları ve ionofor antibiyotikler gibi yem katkı maddelerinin kullanımı ile ilgili çalışmalar bunlara örnek verilebilir.

Kaba yemlerin besin içeriklerini belirlemek için Weende analizleri, deterjanlı kimyasal analizler, *in vitro* ruminal ve enzimatik yöntemler gibi bir çok laboratuvar analiz yöntemleri geliştirilmiştir. *İn vitro* sindirilebilirlik kaba yemin besinsel değerinin belirlenmesinde en faydalı ve en güvenilir teknik olarak kabul görmüştür (10).

Ancak tüm bu tekniklerin pratikte kullanımı bir çok kimyasal madde gerektirdiği gibi, pahalı ve kapsamlı olması sonuç almayı zorlaştırmaktadır. Near infrared reflektans spektroskopisi (NİRS) ise yemlerin besinsel değerini tahmin etmede hızlı, doğru ve az masraflı bir yöntemdir (NİRS ile yapılan

ölçümler matematiksel regresyona dayandığı için yapılan ölçüm işlemine “analiz” yerine genellikle “tahmin” kelimesi kullanılmaktadır. Ancak bu derlemede anlam bütünlüğü için yer yer analiz kelimesi de kullanılmıştır). Ayrıca bu yöntemde kimyasal madde kullanılmadığı için çalışan insanlara ve çevreye zarar verilmez. Bir parametre için bir defa kalibrasyon yapıldıktan sonra numune hazırlama için çok gayret sarfetmeden bir çok analiz yapma imkanı vardır (3).

Tarihçe

NİRS tarım ürünlerinde ilk defa 1965 yılında Norris (13) tarafından tahıl taneleri ve tohumlarının nem oranını tespit etmek amacıyla kullanılmıştır. Norris'in çalışması gıda, yem ve tahıl endüstrisinde modern NİRS teknolojisi için bir temel oluşturmuştur. NİRS teknolojisinde en önemli gelişme ise buğdayın protein içeriğinin tespit edilmesi ile olmuştur (27). Teknik 1973 yılından beri de tahıl taneleri ve yağlı tohumların analizinde geniş şekilde kullanım alanı bulmuştur. Ayrıca NİRS teknolojisi yem sanayinde nişasta, yağ, şeker ve lif analizi yapabilecek şekilde geliştirilmiştir (24).

NİRS'nin kaba yem kalitesini de hızlı bir şekilde analiz edebilecek kapasiteye sahip olduğu ilk defa Norris ve ark. (12) tarafından gösterilmiş ve daha sonra bu konuda bir çok çalışma yapılmıştır (16, 23). Bu çalışmalarda NİRS'nin mineral madde (7) ve metabolik enerji (22) gibi parametreleri de analiz etme kapasitesinin olduğu gösterilmiştir. Bugün NİRS metodu bir çok ülkede hızlı analizin gerekli olduğu endüstrilerde rutin analiz metodu olmuştur. Bu alanlar sadece yem sanayii ile ilgili olmayıp kimya, farmakoloji ve tekstil ile ilgili endüstriyel alanları da içermektedir.

NİRS analizlerinde 1979 yılına kadar numunenin öğütülmesi gerekiyordu. Ancak Tkachuk (21)'un tane haldeki buğdayda protein ve nem analizi yapılabileceğini göstermesinden sonra tane yemlerde analiz yapmaya imkan tanıyan özel olarak dizayn edilmiş ilk ticari NİRS piyasaya çıkarılmıştır (26).

NİRS tekniği ile sadece yemlerin kimyasal kompozisyonu ile ilgili analizler değil sindirilebilirlik ve yem tüketimi gibi biyolojik parametreler de analiz edilebilmektedir (3, 18). NİRS kalibrasyonu her ne kadar yaş kimyasal analize dayansa da Shenk (16) NİRS'nin yaş kimyasal metodlardan daha düşük standart hata ile analiz yapabileceğini bildirmiştir. NİRS teknolojisinin başarısı bilgisayar teknolojisindeki gelişmeler ile paralellik gösterir. Teknikde yer alan matematiksel problemlerin çözümü bilgisayarların kullanılmasıyla mümkün olmuştur.

Tekniğin Prensibi

NİRS'nin bitkisel numunelerde değişik komponentleri (sellüloz, mineral, protein vb) algılayabilme yeteneği hidrojen bağı ile ilgili titreşimli ve değişken enerji hareketleri ile alakalıdır. Numune içindeki -CH, -OH, -NH ve -SH gibi kimyasal bağlar enerjiyi spesifik dalga boylarında emer ve numuneden çıkan radyasyon yoğunluğunu değişikliğe uğratar. Ayna yansımaları gibi yansıtılan enerji numunenin kimyasal yapısı hakkında bilgi taşır. Hidrojen bağlarının diğer atomlara olan değişken hareketleri, emilen infrared radyasyon miktarı ile indirekt olarak ölçülebilir. Atomlar arasındaki bu bağ ya da çekme-itme hareketleri diğer elementlerin mevcudiyetine göre ve bağ miktarına göre değişken olup yansıtılan radyasyonun miktarını etkiler.

NİRS tekniğinin prensibi elektromagnetik spektrumun yakın kızılötesi bölgedeki elektromagnetik radyasyonun emilimine dayanır ve bu da 700 ile 3000 nm dalga boylarını kapsar. Ancak çoğu nicel (kantitatif) yansıma analizi 1100 ile 2500 nm bölgesinde yapılır. 1100 nm altında emilim bantları çok gevşektir ve kantitatif ölçümler zordur. 2500 nm üzerinde ise emilim bantları çok kuvvetlidir ve ölçümler non-linear olabilir.

Numuneden yansıyan radyasyon, ayna benzeri (specular) ya da yaygın (diffuse) olabilir. Eski NİRS cihazlarında sadece ayna benzeri yansıma kullanılmış olmasına rağmen modern NİRS cihazlarında her iki yansımada

kullanılmaktadır. Örneğin numunenin yüzey yapısı hakkında bilgiyi sadece yaygın yansıma verebilir.

NİRS Cihazı

NİRS çalışmalarında yansıyan yaygın enerjii maksimum derecede toplamak önemlidir. Cihazın tek renkli ışığının ve alıcı (detektör) sisteminin geometrisi bunu sağlayacak şekilde dizayn edilmiştir. Cihazı yapan fabrikalar NİRS ölçümleri için değişik optik geometriler geliştirmişlerdir. Herbir geometrinin avantaj ve dezavantajları olmasına rağmen hepsi de kantitatif analiz için yeterli yansıma datası sağlar niteliktedir. Bir NİRS cihazı 6 basit parçaya sahiptir:

- Radyasyon kaynağı, genellikle tungsten telli bir lamba
- Dalga ayırma aygıtı, lambanın radyasyonunu ışıksal enerji bantlarına ayırır
- Kurşun sülfid detektör, numuneden yansıyan radyasyondaki voltaj değişikliğini ölçer
- Çeşitli elektronik yapı ve bilgisayar, kusursuz ve tam sinyal akışı sağlar
- Numune sunma aygıtı
- Cihaz parçalarını içine alan konteyner.

Kalibrasyon

NİRS'nin kalibrasyonu belli bir miktar numune kullanarak (50-150 adet) NİRS tarafından sağlanan spektral data ile laboratuvar metottan elde edilen data (referans data) arasında matematiksel ilişki kurmayı içerir. Yani herbir numune için spektral okuma datası ve yine aynı numuneler için kimyasal analiz datası bilgisayara girilir. NİRS tarafından üretilen spektral data numunenin fiziksel ve kimyasal özelliklerini gösterir. Daha açık bir ifadeyle numuneden yansıyan radyasyon

(reflectance reading (R): yansıyan okuma) dedektörler tarafından algılanır ve detektörü besleyen logaritmik amfifikatör tarafından bu data log 1/R datası haline getirilip sinyal halinde bilgisayara aktarılır.

Spektral data için bir ön işlem (pre-treatment of data) gerekir. Ön işlem log 1/R datasının regresyon analizinde kullanılmasında karşılaşılan zorlukları ortadan kaldırmak için gereklidir. Ön işlem sonucu elde edilen dataya türev (derivative) denir. Daha sonra türev data ile referans data regresyona tabii tutulur. Bu data dönüşümünün doğruluğu kalibrasyon standart hatası (KSH) (standard error of calibration, SEC) olarak ölçülür. Analizi yapılacak olan numunelerdeki doğruluk oranı ise tahmin standart hatası (TSH) (standard error of prediction, SEP) ve R² olarak belirtilir.

NİRS'nin Hayvan Besleme Alanında Kullanımı

Yemlerin Kimyasal Kompozisyonları:

NİRS teknolojisi ile kaba yem, konsantre yem ya da ham madde halindeki yemlerde Weende ve Van Soest analizleriyle yapılan ölçümler yapılabilmektedir. Ayrıca yem maddelerinde mineral madde, metabolik enerji, antinutrisyonel faktör ve karbonhidrat gibi bir çok parametre ölçümü yapılabilmektedir (Tablo 1).

Biyolojik Parametreler:

NİRS ile yapılan biyolojik parametre tahminleri başarılı sonuçlar vermiştir. *In vivo* ve *in vitro* kuru madde tüketimi (KMT), organik madde (OMS) ve kuru madde sindirilebilirliği (KMS), protein, selüloz, ADF ve NDF sindirilebilirlikleri (S) gibi bir çok parametre ile yapılan çalışmalarda başarılı sonuçlar bildirmiştir (Tablo 2).

Tablo 1. NİRS ile yem analizi tahmini yapılmış örnek çalışmalar.

Parametre, birim, yem, kaynak	Lab.		NİRS		TSH	R ²
	X	± Sx	X	± Sx		
KM, %, (buğday), (25)	10.60	0.98	10.63	- ^a	0.29	-
Ham protein, %, (Silaj) (14)	11.8	2.07	-	-	0.63	0.95
Organik mad., %, (ağaç yaprağı) (11)	93.8	3.2	-	-	0.54	0.97
NDF, %, (ağaç yaprağı) (11)	52.0	13.0	-	-	1.36	0.99
Toplam fosfor, %, (Broiler yemi) (7)	0.65	0.30	-	-	0.08	0.96
Met. enerji, kcal/g, (kanatlı yemi), (22)	2.60	0.07	2.61	0.01	0.51	0.99
Tripsin inhib., ünite/g, (bezelye), (17)	3.1	2.7	-	-	1.07	0.87
Toplam β-D-glukan, %, (arpa), (20)	4.1	-	-	-	0.68	0.92

Lab: Laboratuvar analizi.

^a: Data sunulmamıştır.**Tablo 2.** NİRS ile biyolojik parametre tahmini yapılmış örnek çalışmalar.

Parametre, birim, kaynak	Gerçek		NİRS		TSH	R ²
	X	± Sx	X	± Sx		
<i>İn vivo</i> KMT, kg/gün, (9)	19.4	5.06	19.4	5.22	0.44	0.99
<i>İn vivo</i> OMS, %, (4)	- ^a	-	-	-	3.58	0.78
<i>İn vivo</i> KMS, %, (9)	0.74	0.05	0.73	0.04	0.03	0.68
<i>İn vivo</i> KMS, %, (12)	-	-	-	-	1.99	0.90
<i>İn vitro</i> OMS, %, (5)	0.71	0.06	-	-	0.02	0.85
<i>İn vitro</i> KMS, %, (19)	0.76	0.60	-	-	1.73	0.94
<i>İn vivo</i> Protein S, %, (8)	-	-	-	-	1.31	0.82
Selüloz S, %, (6)	29.28	-	-	-	1.27	0.84
ADF S, %, (19)	31.9	7.2	-	-	1.66	0.87
NDF S, %, (18)	46.2	9.3	-	-	2.17	0.95

^a: Data sunulmamıştır.

TARTIŞMA ve SONUÇ

NİRS ile yapılmış olan çalışmaların sonuçları bu tekniğin yaş kimyasal analiz metotlarının yerini alabileceğini göstermektedir. NİRS ile yapılan tahminlerin yaş kimyasal analiz metotlarına göre çok kısa zamanda yapılabilmesi tekniğin en büyük avantajıdır. Yine kimyasal madde kullanımının olmaması az masraflı ve çevre kirliliğine neden olmadan analiz yapılabilmesine imkan vermektedir. Yem fabrikası ve tahıl alımı yapılan resmi ya da özel işletmelerde olduğu gibi tahıl kalitesinin hızlı bir şekilde tespit edilmesi gereken yerlerde NİRS büyük avantaj sağlayabilir. Avrupa ve ABD’de 1988 yılından beri bu gibi işletmeler, tahıl analizinde NİRS’yi rutin olarak kullanmaktadırlar.

NİRS’nin en büyük dezavantajı cihazın pahalı oluşudur (60.000\$). Ancak cihazla yapılacak olan analizlerin (kurutma ve öğütme gibi işlemler dışında bir ön işlem gerektirmediğinden) neredeyse maliyetsiz olarak gerçekleştirildiği düşünülürse NİRS’nin çok ucuz bir analiz metodu olduğu görülür.

NİRS için diğer bir dezavantaj kalibrasyon için tecrübe gerektirmesidir. Kalibrasyonda kullanılan numunelerin ilerde analizi yapılacak olan muhtemel numunelere benzer nitelikte olması yapılan analizlerin doğruluk yüzdesini (R²) artırıp standard hatasını düşürmektedir. Cihaz kurulduğu zaman fabrikadan gelen teknisyenler her ne

kadar bir kalibrasyon yapsa da zamanla kalibrasyonun değişen şartlara göre yeniden yapılması gerekebilmektedir. Ancak son yıllarda internet dünyasında yaşanan gelişmelerle kalibrasyon transferinin mümkün olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (1, 15). Kalibrasyon transferinde yakın zamana kadar bir analiz yapılırken bölgesel farklılığın göz önünde bulundurulması ve buna göre kalibrasyonda değişiklik yapılması gerekiyordu. Yeni çalışmalar ile bölgesel hatta ülkesel farklılığın ortadan kaldırılabilceği bildirilmektedir (2).

NİRS ile ilgili çalışmaların bir çoğunda bu metodun zamanla yaş kimyasal analizlerin yerini alabileceği bildirilmektedir. Hayvan besleme bilim alanında gerek yemlerin kimyasal yapısı ve gerekse hayvansal biyolojik parametrelerin analizinde NİRS'nin kullanılabilmesi bir çok avantaj sağlayacaktır. Bu konuda özellikle Amerika Birleşik Devletlerinde yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Ancak Türkiye'de bu konuda yapılmış çalışmalara literatürde rastlanılmamıştır.

Sonuç olarak, NİRS teknolojisi hayvan besleme bilim alanında gerek yem kalitesi ve gerekse hayvansal parametrelerin tespit edilmesi yönünden faydalı bir teknik olarak ön plana çıkmaktadır. Türkiye'de bu çalışmaların olmaması ise bir eksiklik olup konuyla ilgili projelerin üretilip araştırmacıların konu üzerinde çalışmak üzere teşvik edilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. **Anonymus** (2005) *Final Report: Near Infrared Technology to Determine Manure Nutrients*. <http://cafnr.missouri.edu/research/consortium/i14.asp>, Erişim tarihi: 14.04.2005.
2. **Anonymus** (2005) *Mapping Soil Organic Carbon with NIRS Soil Sensor Technology*. http://www.oznet.ksu.edu/ctec/Fall%20Forum%20pdf%20files/Papers_Abstacts/Laird_USDA_lowa.pdf, Erişim tarihi: 14.04.2005.
3. **Baker CW, Barnes R** (1990) *The application of near infrared spectrometry to forage evaluation in the agricultural development and advisory service*, p. 337-352. In: *Feedstuff Evaluation*, Edit.: Wiseman J, Cole DJA. Butterworths, London.
4. **Baker CW, Givens DI, Deaville ER** (1994) *Prediction of organic matter digestibility in vivo of grass silage by near infrared reflectance spectroscopy: effect of calibration method, residual moisture and particle size*. *Animal Feed Science and Technology*, 50: 17-26.
5. **Barber GD, Givens DI, Kridis MS, Offer MS, Murray I** (1990) *Prediction of the organic matter digestibility of grass silage*. *Animal Feed Science and Technology*, 28: 115-128.
6. **Berardo N** (1992) *Measuring Italian ryegrass quality by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS)*, p. 272-276. In: *Making Light Work: Advances in Near Infrared Spectroscopy*, Edit.: Murray I, Cowe IA. Ian Michael Publications, Chichester.
7. **De Boever JL, Eeckhout W, Boucque ChV** (1994) *The possibilities of near infrared reflection spectroscopy to predict total-phosphorus, phytate-phosphorus and phytase activity in vegetable feedstuffs*. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 42(4): 357-369.
8. **De la Roza B, Martinez A** (1992) *The use of near infrared reflectance spectroscopy to predict the nutritive value and in vivo digestibility of grass silage*, p. 269-271. In: *Making Light Work: Advances in Near Infrared Spectroscopy*, Edit.: Murray I, Cowe IA. Ian Michael Publications, Chichester.
9. **Garnsworthy PC, Unal Y** (2004) *Estimation of dry matter intake and digestibility in group-fed dairy cows using near infrared reflectance spectroscopy*. *Animal Science*, 79: 327-334.
10. **Goldman A, Genizi A, Yulzari A, Seligman NG** (1987) *Improving the reliability of the two stage in vitro assay for ruminant feed digestibility by calibration against in vivo data from a wide range of sources*. *Animal Feed Science and Technology*, 18: 233-245.
11. **Meuret M, Dardenne P, Biston R, Poty O** (1993) *The use of NIR in predicting nutritive value of Mediterranean tree and shrub foliage*. *Journal Near Infrared Spectroscopy*, 1: 45-54.
12. **Norris KH, Barnes RF, Moore JE, Shenk JS** (1976) *Predicting forage quality by infrared reflectance spectroscopy*. *Journal of Animal Science*, 43(4): 889-897.
13. **Norris KH, Hart JR** (1965) *Direct spectrophotometric determination of moisture content of grain and seeds*. *Proceedings 1963 International Symposium on Humidity and Moisture*, 4: 19-25.

14. **O'Keeffe M, Downey G, Brogan JC** (1987) *The use of near infrared reflectance spectroscopy for predicting the quality of grass silage*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 38: 209-216.
15. **Shenk JS** (1992) *Networking and calibration transfer*, p. 223-228. In: Making Light Work: Advances in Near Infrared Spectroscopy, Edit.: Murray I, Cowe IA. Ian Michael Publications, Chichester.
16. **Shenk JS, Westerhaus MO, Hoover MR** (1979) *Analysis of forages by infrared reflectance*. Journal of Dairy Science, 62: 807-812.
17. **Sinnaeve G, Dardenne P, Biston R** (1993) *Prediction of antinutritional factors in pea by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS)*, p. 101-105. In: Recent advantages of research in antinutritional factors in legume seeds, Edit.: Poel AFB, Huisman J, Saini HS. EAAP Publication no: 70, Wageningen.
18. **Smith KF, Flinn FC** (1991) *Monitoring the performance of a broad-based calibration for measuring the nutritive value of two independent populations of pasture using near infrared reflectance (NIR) spectroscopy*. Australian Journal of Experimental Agric., 31: 205-210.
19. **Snyman LD, Joubert HW** (1993) *Prediction of the chemical composition and in vitro dry matter digestibility of a number of forages by near infrared reflectance spectroscopy*. South African Tydskr. Veek., 23-1: 20-23.
20. **Szczodrak J, Czuchajowska Z, Pomeranz Y** (1992) *Characterization and estimation of barley polysaccharides by near - infrared spectroscopy. II. Estimation of total β -D-glucans*. Cereal Chemistry, 69(4): 419-423.
21. **Tkachuk R** (1979) *Analysis of whole wheat for protein and moisture content*. Cereal Foods World, 24: 456. Abs. No. 113.
22. **Valdes EV, Leeson S** (1992) *Near infrared reflectance analysis as a method to measure metabolizable energy in complete poultry feeds*. Poultry Science, 71: 1179-1187.
23. **Ward RG, Smith GS, Wallace JD, Urquhart NS, Shenk JS** (1982) *Estimates of intake and quality of grazed range forage by near infrared reflectance spectroscopy*. Journal of Animal Science, 54-2: 399-402.
24. **Williams PC** (1975) *Application of Near Infrared Reflectance Spectroscopy to analysis of cereal grains and oilseeds*. Cereal Chemistry, 52: 561-576.
25. **Williams PC, Norris KH, Sobering D** (1985) *Determination of protein and moisture in wheat and barley by near-infrared transmission*. J. of Agricultural and Food Chemistry, 33: 239-244.
26. **Williams PC, Sobering D** (1993) *Comparison of commercial near infrared transmittance and reflectance instruments for analysis of whole grains and seeds*. Journal of Near Infrared Spectroscopy, 1: 25-32.
27. **Williams PC, Thompson BN** (1978) *Influence of whole meal granularity on analysis of HRS wheat for protein and moisture by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS)*. Cereal Chemistry, 55: 1014-1037.