

ارزیابی عناصر پرمصرف در گیاهان فورب با بکارگیری طیفسنجی مادون قرمز نزدیک

حسین ارزانی^۱، فرج‌الله ترنیان^{۲*}، جواد معتمدی^۳، حمزه‌علی شیرمردی^۴، فرهاد آقاجانلو^۵، کاظم ساعدی^۶ و محمدرضا نجیب‌زاده^۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۱/۲۳ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۸/۰۸/۱۶

چکیده

طیف‌سنج مادون قرمز نزدیک (NIRS) روشی است که به‌عنوان یک جایگزین برای روش‌های تجزیه قدیمی اندازه‌گیری ارزش غذایی علوفه استفاده می‌شود. هدف از این مطالعه، بررسی امکان ارزیابی سریع عناصر غذایی پرمصرف (کلسیم، منیزیم، فسفر، سدیم و پتاسیم) به کمک تکنولوژی مادون قرمز نزدیک و ارزیابی معادلات مربوطه است. در ابتدا عناصر مربوط به ۳۰۰ نمونه گیاهی فورب در آزمایشگاه اندازه‌گیری و در مرحله بعد نمونه‌های گیاهی آسیاب شده با دستگاه NIR اسکن شدند. برای ایجاد معادلات رگرسیون از نرم‌افزار *Unscrambler* استفاده شد و از روش Partial least squares type 1، بهترین معادله کالیبراسیونی برای هر عنصر با توجه به ضریب تعیین و اشتباه معیار کالیبراسیون به‌دست آمد. نتایج نشان داد که معادلات پتاسیم ($Y = 0.99X$) با $R^2 = 0.99$ و $SEC = 0.004$ و کلسیم ($Y = 2.006/84X$) با $R^2 = 0.84$ و $SEC = 2.22$ از صحت کافی برخوردار هستند و معادله مربوط به عنصر فسفر ($Y = 0.026/87X$) با $R^2 = 0.87$ و $SEC = 0.31$ نیز می‌توانند برای تخمین داده‌های خام با دستگاه NIR به‌کار برده شود. در بهترین حالت، معادله به‌دست آمده برای عنصر منیزیم ($Y = 1.006/69X$) دارای $R^2 = 0.69$ و $SEC = 1.60$ و برای سدیم ($Y = 0.085/85X$) دارای $R^2 = 0.84$ و $SEC = 0.91$ بود که به‌نظر می‌رسد نمی‌توانند دقت قابل قبولی داشته باشند.

واژه‌های کلیدی: ارزش غذایی علوفه، عناصر معدنی، تجزیه شیمیایی، NIRS.

^۱ - استاد گروه احیا مناطق خشک و کوهستانی، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.

^۲ - استادیار گروه مرتع و آبخیزداری، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه لرستان، لرستان، ایران.

* نویسنده مسئول: tarnian.fa@lu.ac.ir

^۳ - دانشیار پژوهشی، بخش تحقیقات مرتع، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.

^۴ - عضو هیئت علمی بخش تحقیقات جنگل و مرتع، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری، ایران.

^۵ - عضو هیئت علمی بخش تحقیقات جنگل و مرتع، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان زنجان، ایران.

^۶ - عضو هیئت علمی بخش تحقیقات جنگل و مرتع، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کردستان، ایران.

^۷ - عضو هیئت علمی بخش تحقیقات جنگل و مرتع، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی، ایران.

مقدمه

متخصصان علوم تغذیه دام مدت‌های زیادی است که به اهمیت اندازه‌گیری ارزش غذایی در خوراک‌ها و علوفه‌های فراهم‌شده برای دام‌ها پی برده‌اند. روش‌های تجزیه شیمیایی متفاوتی جهت کمی کردن پارامترهای کیفیت علوفه از قبیل پروتئین‌خام، انرژی و عناصر معدنی ایجاد شده‌اند که بعضی مواقع هزینه‌بر، وقت‌گیر و در بعضی مواقع از نظر شیمیایی مضر می‌باشند. افزایش قابلیت‌های کامپیوتری و استفاده گسترده از این ابزار، به‌همراه توسعه آمار چندمتغیره در زمینه مباحث شیمی کمی، باعث افزایش استفاده از طیف‌سنجی مادون قرمز نزدیک (NIRS)^۱ به‌عنوان یک روش جایگزین برای اندازه‌گیری ارزش غذایی علوفه شده است. روش NIRS سریع است و معمولاً نیاز به نیروی کار زیاد ندارد و نمونه‌های زیادی می‌تواند در این روش به‌کار گرفته شوند. زمان تصمیم‌گیری به‌موقع برای استفاده از مکمل‌های غذایی یا تنظیم جیره غذایی برای تولید پایدار گوشت، شیر و یا فیبر می‌تواند توسط این روش تسهیل شود. اگرچه توسعه آزمایشگاه NIRS مستلزم هزینه‌های شروع (هزینه پایه) زیادی است ولی به‌طور نسبی در طولانی مدت، ارزان می‌باشد. NIRS مزیت‌های دیگری نسبت به روش‌های تجزیه شیمیایی سنتی دارد که (۱) مخرب نیست، (۲) به مواد آزمایشگاهی نیاز ندارد و (۳) با آن می‌توان فاکتورهای زیادی از قبیل پروتئین‌خام، هضم‌پذیری ماده خشک و دیواره سلولی منهای همی سلولز و غیره را در یک مرحله اندازه‌گیری کرد.

عناصر معدنی بخش مهمی از جیره غذایی دام‌ها را تشکیل می‌دهند که وظایف مهمی از جمله تنظیم انقباض ماهیچه‌ها، انعقاد خون، قدرت انتقال تحرکات عصبی و تعادل اسمزی در بدن دام‌ها را بر عهده دارند. کمبود مواد معدنی و نامتعادل بودن مقادیر آنها باعث ضعیف شدن دام، افزایش مرگ و میر و تولید مثل ضعیف می‌شود (۱۴).

آنالیز غلظت عناصر با NIRS نتایج پیچیده‌ای را به‌دست داده است چرا که عناصر در منطقه مادون قرمز نزدیک جذب نمی‌شوند و غلظت آنها در بافت‌های گیاهی پائین است. هرچند، آشکارسازی عناصر معدنی با NIRS

به‌خاطر ترکیبات پیچیده‌ای که با اجزاء معدنی تشکیل می‌دهند، می‌توانند ممکن باشد ولی مقدار زیادی از آنها در بین گونه‌های مختلف متفاوت است (۳). سطوح و دامنه کم در گیاهان علوفه‌ای همچنین باعث ایجاد محدودیت تخمین عناصر معدنی به‌وسیله NIRS می‌شود. تلاش‌های اولیه برای تخمین عناصر به‌وسیله NIRS بر روی کلسیم، فسفر، منیزیم، پتاسیم، مس، روی، منگنز، سدیم و آهن در گونه *Agropyron cristatum* و شبدر (*Trifolium sp.*) بوده است (۳). از این عناصر، تنها کالیراسیون عناصر ماکرو شامل کلسیم، فسفر، منیزیم و پتاسیم قابل قبول بود. Flinn و همکاران (۱۹۹۶) نتایج مشابهی را گزارش کردند. مطالعات بعدی تلاش کردند تا کالیراسیونی برای باریم، لیتیم، مولیبدن، نیکل، سرب، وانادیوم، آلومینیوم، گوگرد، سیلیس و سلنیوم در *Agropyron cristatum* و شبدر (*Trifolium sp.*) ارائه دهند (۳). محققان در این مطالعات تنها برای لیتیم و وانادیوم در *Festuca arundinacea* معادله قابل قبولی را گزارش دادند ولی برای دو علوفه دیگر این چنین نبود. شولتر و همکاران (۲۰۰۹) به بررسی ترکیبات شیمیایی یونجه (*Medicago sativa L.*) به‌وسیله NIRS پرداختند، آنها بیان کردند که RPD^۲ عناصر پرمصرف کلسیم، فسفر، منیزیم، پتاسیم، سدیم و گوگرد نسبت به ماده خشک، پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، الیاف نامحلول در شوینده خنثی، لیگنین، خاکستر و کلر پائین و کمتر از ۲/۳۱ بود. در این مطالعه R^۲ و RPD مربوط به کلر برابر ۰/۹۵ و ۳/۷۴ بود. کازولینو و مورون (۲۰۰۴) امکان ارزیابی عناصر غذایی در لگوم را با استفاده از NIRS مورد بررسی قرار دادند. آنها میزان ضریب تعیین کالیراسیون (R^۲_{CAL}) و SEC^۳ را برای سدیم ۰/۸۳ و ۱۰/۶ و برای گوگرد ۰/۸۶ و ۲/۵ و برای بور، روی، منگنز، مس و آهن به‌ترتیب ۰/۸ و ۴/۴ و ۰/۸ و ۱۰/۶، ۰/۷۸ و ۲۲/۹، ۰/۷۶ و ۰/۸۳ و ۰/۵۷ و ۲۵/۷ به‌دست آوردند. آنها بیان کردند که گوگرد، سدیم و بور به‌خوبی توسط NIRS قابل پیش‌بینی‌اند. در مطالعه‌ای دیگر نیز رانو-رومس و همکاران (۱۹۹۹) عناصر معدنی پرمصرف را با روش NIRS مورد ارزیابی قرار دادند. آنها بیان کردند که

^۳ - Standard Error of Cross Validation

^۱ - near infrared reflectance spectroscopy (NIRS)

^۲ - Ratio performance deviation

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه و تجزیه شیمیایی

در ابتدا ۳۹ گونه گیاهی فورب که از مراتع کرسنک چهارمحال و بختیاری (شامل *Centaurea Aucheri*، *Silene spergulifolia*، *Onobrychis guabae*، *Taraxacum montanum*، *Cousina calcitrapa*، *Astragalus curirrostris*، *Centaurea virgata*، *Scorzonera seidlitzia*، *Astragalus effusus*، *Silene*، *Gypsophila bicolor*، *Trigonella elliptica*، *Asperula*، *Eryngium billardieri*، *caesarea*، *Astragalus ovinus*، *Annual forbs*، *molluginoides*، *Marrubium cuneatum*، *Astragalus brachystachys*، *Tanacetum polycephalum*، *Achillea wilhelmsii*، *Phlomis persica*، *Stachys lavandulifolia*، *Tragopogon longirostris*، و *Bellevia glauca*)، بادمستان زنجان (شامل *Chaerophyllum macropodum*، *Tanacetum*، *Prangos*، *ferulacea*، *Centaurea*، *Nepeta heliotropifolia*، *polycephalum*، *Hypericum scabrum*، و *Centaurea virgata*، *Aucheri*)، ارشدچمن سهند تبریز (شامل *Astragalus aureus*، *Arenaria dianthoides*، و *Cirsium haussknechtii*) و سارال کردستان (شامل *Rumex*، *Eryngium*، *Ferula*، *Tanacetum polycephalum*، و *Cerophyllum*) که در سه مرحله رشد رویشی، گلدهی و بذردهی به‌روش کاملاً تصادفی طی فصول بهار و تابستان سال ۱۳۸۷ و ۱۳۸۸ برای تعیین طرح کیفیت علوفه کشور جمع‌آوری شده بودند، مورد تجزیه شیمیایی قرار گرفتند. لازم به ذکر است که در هر مرحله رشد (رویشی، گلدهی و بذردهی)، سه تکرار در نظر گرفته شد و در هر تکرار، پنج پایه گیاهی به‌صورت تصادفی انتخاب شد. در مرحله بعد، نمونه‌های گیاهی پودر شده به‌صورت زیر با دستگاه NIRS اسکن و آنالیز شدند.

تهیه عصاره گیاهی

نمونه‌های گیاهی به آزمایشگاه تجزیه گیاه در دانشکده منابع طبیعی منتقل شدند. جهت خشک شدن کامل، نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در آون قرار گرفتند و پس از خشک شدن کامل، توسط دستگاه آسیاب پودر شده و در پاکت‌های پلاستیکی برچسب‌دار که بر روی آن‌ها نام گونه،

این روش، دقت قابل قبولی برای پیش‌بینی فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم دارد. لاورنسیس و همکاران (۲۰۰۲) به ارزیابی عناصر معدنی با روش NIRS پرداختند. آنها برای کلسیم، فسفر، منیزیم و پتاسیم، میزان صحت بالایی با میزان ضریب تشخیص ۰/۹۶، ۰/۸۸، ۰/۸۹ و ۰/۹۴ به‌ترتیب به‌دست آوردند. آنها همچنین بیان کردند که این عناصر ممکن است وابسته به ترکیبات آلی از قبیل دیواره سلولی (کلسیم و منیزیم)، کلرفیل (منیزیم)، فیتات‌ها، فسفولیپیدها، فسفوپروتئین‌ها و اسید نوکلئیک (فسفر) و اسیدهای ارگانیک از قبیل مالات (پتاسیم) باشند. در این مطالعه، معادلات عنصری همچون سدیم، روی، منگنز و سلنیوم به‌ترتیب با میزان ضریب تشخیص ۰/۵۲، ۰/۶۴، ۰/۴۳ و ۰/۱۹ دارای صحت بالایی نبودند. گونزالز-مارتین و همکاران (۲۰۱۵) از تکنولوژی مادون قرمز نزدیک برای ارزیابی عناصر معدنی و سمی استفاده کردند. آنها بیان کردند که این روش، ظرفیت پیش‌بینی خوبی برای عناصر پتاسیم، روی و فسفر و همچنین ظرفیت پیش‌بینی قابل قبولی برای آلومینیوم، کلسیم، منیزیم، آهن و روی دارد. مطالعه دیگری توسط مارتینز-والدیویزو و همکاران (۲۰۱۴) بر تشخیص عناصر معدنی میوه *Cucurbita pepo* انجام گرفت. آنها ضریب تشخیص را برای فسفر ۰/۷۴ و ۰/۶۲؛ برای پتاسیم ۰/۸۳ و ۰/۶۷؛ برای کلسیم ۰/۵۷ و ۰/۶ و برای منیزیم ۰/۷۸ و ۰/۴۵ به‌ترتیب برای پوست و قسمت آبدار میوه به‌دست آوردند. آنها بیان کردند که این روش می‌تواند روش مفیدی برای ارزیابی عناصر معدنی باشد. لازم به ذکر است که این روش‌ها نیز برای ارزیابی فاکتورهای کیفیت علوفه مثل پروتئین‌خام، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، هضم‌پذیری ماده خشک، و انرژی متابولیسمی نیز مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۱).

به‌لحاظ اینکه عناصر غذایی از اهمیت زیادی در جیره غذایی دام‌ها برخوردار می‌باشند، این تحقیق تلاش می‌کند تا امکان ارزیابی سریع عناصر غذایی پرمصرف (کلسیم، منیزیم، فسفر، سدیم و پتاسیم) را به کمک تکنولوژی مادون قرمز نزدیک مورد بررسی قرار دهد و معادلات مربوطه به آنها ارائه دهد.

۵ نانومتر از ۹۵۰ تا ۱۶۵۰ نانومتر) ثبت گردید. سپس داده‌های مربوط به هر مرحله، به تنهایی و مجموع کل مراحل از دستگاه NIR دریافت شد و با استفاده از نرم افزار آماری Unscrambler (CAMOAS، نسخه ۹/۵، نروژ) معادلات رگرسیونی مربوطه، محاسبه گردید. داده‌های طیفی به‌عنوان متغیر مستقل و داده‌های آزمایشگاهی به‌عنوان متغیر وابسته در نظر گرفته شدند.

ایجاد معادله‌های کالیبراسیون

هدف ایجاد یک مدل، پیشگویی است تا از طریق آن کاربر بتواند با استفاده از NIRS، جزء مورد نظر را بدون استفاده از روش‌های مرجع آزمایشگاهی کمی کند. روش‌های رگرسیونی چندمتغیره زیادی وجود دارند که برای داده‌های طیفی بکار گرفته شده‌اند. به‌طور کلی مراحل کالیبراسیون به‌صورت زیر می‌باشد:

۱- داده‌های حاصل از پرتوتابی، جهت آنالیز رگرسیون چندمتغیره، به نرم‌افزار Unscrambler منتقل شدند.

۲- قبل از برازش مدل، برای یکنواخت و نرمال‌سازی پراکنش داده‌ها، از روش $S.Golay^1$ (ساویتزکی و گولی) و SNV^2 استفاده شد. از نمودارهای نمره‌ها (Scores)، leverage، واریانس نمونه‌های باقی‌مانده (residual sample variance) و Influence برای انتخاب و حذف داده‌های پرت استفاده شد.

۳- برای ایجاد معادله کالیبراسیون از روش $PLS1^3$ استفاده و اعتبارسنجی مدل به‌روش cross validation انجام گردید. در ارزیابی متقابل (cross validation)، هر نمونه یا یک بخش تعیین شده از قبل از نمونه‌ها، به‌صورت پی‌درپی از دسته کالیبراسیون حذف می‌گردد و مقدار آن نمونه تخمین زده می‌شود و در نهایت با استفاده از داده‌های تخمین زده شده و داده‌های واقعی، معادله‌ای به‌دست می‌آید که از پارامترهای آن برای ارزیابی عملکرد معادلات کالیبراسیون استفاده می‌شود. اگر جمعیت تعریف شده برای جیره غذایی دارای تنوع (مثل تنوع گونه‌ای، فصل، کیفیت و غیره) باشد، به‌طور منطقی روش ارزیابی متقابل می‌تواند به‌عنوان بهترین تخمین‌گر برای قابلیت پیشگویی یک معادله NIRS باشد (۱۸ و ۲۰). از این‌رو محققان زیادی از این روش برای

سایت، مرحله رویشی، شماره تکرار و تاریخ برداشت نوشته شده بود، قرار داده شدند. سپس با جدا کردن دو گرم از نمونه‌های آسیاب‌شده و ریختن آن‌ها در کروزه و قرار دادن کروزه‌ها در کوره با دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت شش ساعت، نمونه‌های گیاهی جهت تهیه عصاره آماده شدند. برای تهیه عصاره گیاهی به هر کدام از نمونه‌ها، ۱۰ سی‌سی اسیدکلریدریک دو نرمال و آب مقطر اضافه شد و پس از دیدن حرارت لازم با کاغذ واتمن در بالن ۱۰۰ میلی‌لیتری صاف گردید و نمونه‌ها با آب مقطر به حجم ۱۰۰ سی‌سی رسیدند. در نهایت از این عصاره گیاهی برای اندازه‌گیری عناصر معدنی استفاده شد. در مجموع در این مطالعه ۳۰۰ نمونه مورد آزمایش قرار گرفت که ۹۶ نمونه مربوط به مرحله رویشی، ۱۰۴ نمونه مربوط به مرحله گلدهی و ۱۰۰ نمونه مربوط به مرحله بذردهی بودند. باید توجه کرد که در بعضی از مراحل، نمونه‌های گیاهی برداشت نشده بودند.

اندازه‌گیری عناصر پرمصرف

مقدار کلسیم و منیزیم در نمونه‌های گیاهی با روش تیتراسیون مشخص شد. برای اندازه‌گیری مقدار فسفر نمونه‌ها از دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد. مقدار سدیم و پتاسیم نمونه‌ها با استفاده از دستگاه فلیم فتومتر مدل PFP7 اندازه‌گیری شد.

اسکن نمونه‌های گیاهی با دستگاه NIR

در مرحله بعد، نمونه‌های گیاهی آسیاب شده به آزمایشگاه آنالیز و ارزیابی مراتع در دانشکده منابع طبیعی کرج انتقال داده شدند. با استفاده از دستگاه NIR Pertin DA7200 اسکن نمونه‌ها انجام گرفت. قبل از اسکن نمونه‌های گیاهی پودر شده، داده‌های مربوط به عناصر کلسیم، منیزیم، فسفر، سدیم و پتاسیم اندازه‌گیری به روش شیمیایی، در ۴ پوشه جداگانه که یکی مربوط به کل مراحل رشد و سه مورد دیگر مربوط به مراحل رشد رویشی، گلدهی و بذردهی بود، وارد دستگاه شدند. سپس نمونه گیاهی پودر شده مربوط به آنها با دو تکرار در دو ظرف مخصوص دستگاه ریخته شد و هر ظرف دو بار توسط دستگاه اسکن گردید و داده‌های مربوط به طیف‌ها (در مجموع ۱۴۱ طیف با اختلاف

³ - Partial least squares type 1

¹ - Savitzky-Golay

² - Standard Normal Variate

۶/۸۷	۱۴/۲۸	۳۰۰	Ca(gr/kg)
۳/۶	۶/۶۶	۳۰۰	Mg(gr/kg)
۰/۲۸	۰/۹۷	۳۰۰	P(gr/kg)
۰/۱۸	۰/۳۵	۳۰۰	Na(gr/kg)
۱۰/۹	۱۹/۷	۳۰۰	K(gr/kg)

N^۱ تعداد نمونه اندازه گیری شده به روش آزمایشگاهی

بعد از نرمال سازی داده ها (شکل ۱ و ۲) و حذف داده های پرت، نمونه ها برای محاسبه بهترین معادله کالیبراسیون آماده شدند. اجزاء و مولفه های اعتبارسنجی بهترین معادله کالیبراسیون و معادله پیش بینی به دست آمده برای عناصر مختلف که با حذف حداکثر ۲۰ درصد داده ها به دست آمده و در جدول ۲ و ۳ آورده شده است. نتایج نشان می دهد که دقت برآورد پتاسیم بسیار بالا می باشد (بدون حذف هیچ داده ای ضریب تشخیص برای معادله کالیبراسیون و پیش بینی برابر ۰/۹۹ و ۰/۹۹ است) ولی کمترین دقت برآورد مربوط به عنصر منیزیم می باشد (با حذف بیشتر از ۲۵ درصد داده ها مقدار ضریب تشخیص به ۰/۶۹ و ۰/۶۴ برای معادله کالیبراسیون و پیش بینی رسیده است).

ارزیابی عملکرد معادلات کالیبراسیون استفاده کرده اند (۲)، ۵، ۸ و ۱۵).

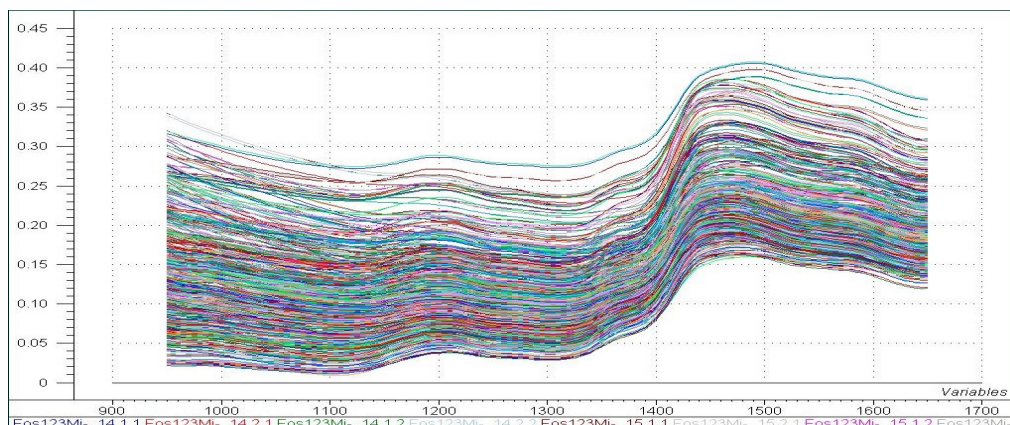
۴- قابلیت پیش بینی مدل های ایجاد شده، از طریق ضریب تعیین (R²)، RMSEC (Root mean square error of calibration) و RPD ارزیابی شدند. همچنین اشتباه معیار پیش بینی (SEP= Standard error prediction) برای داوری در مورد توانایی پیشگویی یک معادله کالیبراسیون مورد استفاده قرار می گیرد. همانند اشتباه معیار کالیبراسیون (SEC= standard error of calibration)، اشتباه معیار پیش بینی (SEP) نیز باید به اندازه ممکن کوچک تر و مشابه SEC باشد. برای فرمول معادلات به منبع ۱۹ مراجعه شود.

نتایج

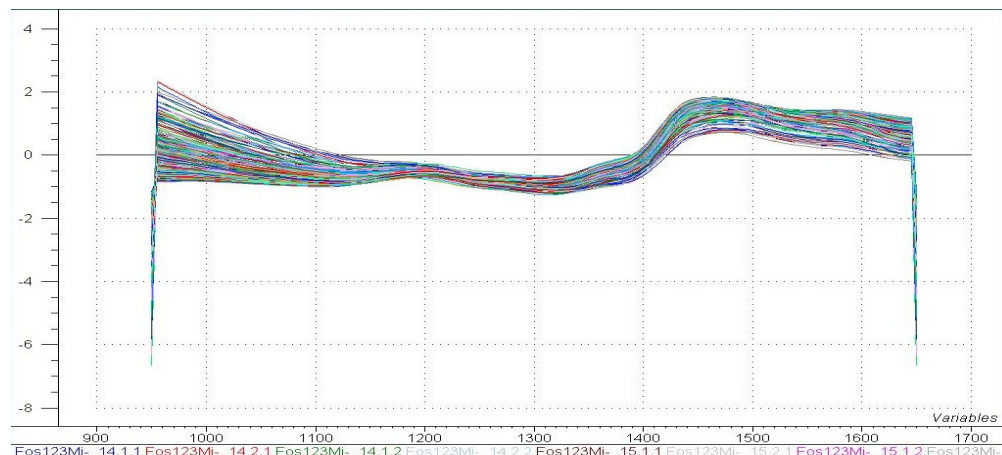
جدول (۱) آماره های توصیفی عناصر مورد مطالعه را نشان می دهد. نتایج نشان می دهد که عنصر سدیم، کمترین میزان و عنصر پتاسیم، بیشترین میزان را در گیاهان مورد مطالعه دارا بودند.

جدول ۱: آماره های توصیفی عناصر مورد ارزیابی

متغیر	N ^۱	متوسط	انحراف معیار
-------	----------------	-------	--------------



شکل ۱: داده های طیفی قبل از نرمال سازی



شکل ۲: داده‌های طیفی بعد از نرمال‌سازی

جدول ۲: آماره‌های مدل‌های کالیبراسیون برای متغیرهای مختلف

متغیر	N ¹	N ²	SEC	R ²	Slope	Offset	RMSEC	RPD	معادله
Ca (gr/kg)	۱۱۴۴	۹۷۹	۲/۲۲	۰/۸۴	۰/۸۴	۲/۰۶	۲/۲۲	۳/۱۲	$Y = ۲/۰۶ + ۰/۸۴X$
Mg (gr/kg)	۱۱۴۴	۸۴۷	۱/۶۰	۰/۶۹	۰/۶۹	۲/۰۰	۱/۶۰	۲/۲۵	$Y = ۱/۶۰ + ۰/۶۹X$
P (gr/kg)	۱۱۴۴	۱۰۷۲	۰/۳۱	۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۲۶	۰/۳۱	۰/۸۷	$Y = ۰/۲۶ + ۰/۸۷X$
Na (gr/kg)	۱۱۴۴	۱۰۷۱	۰/۹۱	۰/۸۵	۰/۸۵	۰/۸۵	۰/۹۰	۰/۲	$Y = ۰/۸۵ + ۰/۸۵X$
K (gr/kg)	۱۱۴۴	۱۱۴۴	۰/۰۴	۰/۹۹	۰/۹۹	۰/۰۰	۰/۰۴	۲۴۲۲	$Y = ۰/۹۹X$

N¹ تعداد کل داده‌ها بعد از حذف داده‌های پرت و N² تعداد داده‌هایی که وارد محاسبات شده‌اند. SEC= Standard error of calibration, RMSEC= root mean square error of calibration, RPD= ratio performance deviation= SD/RSMSEC, SEC= اشتباه معیار کالیبراسیون و RMSEC= جذر میانگین مربعات خطای کالیبراسیون

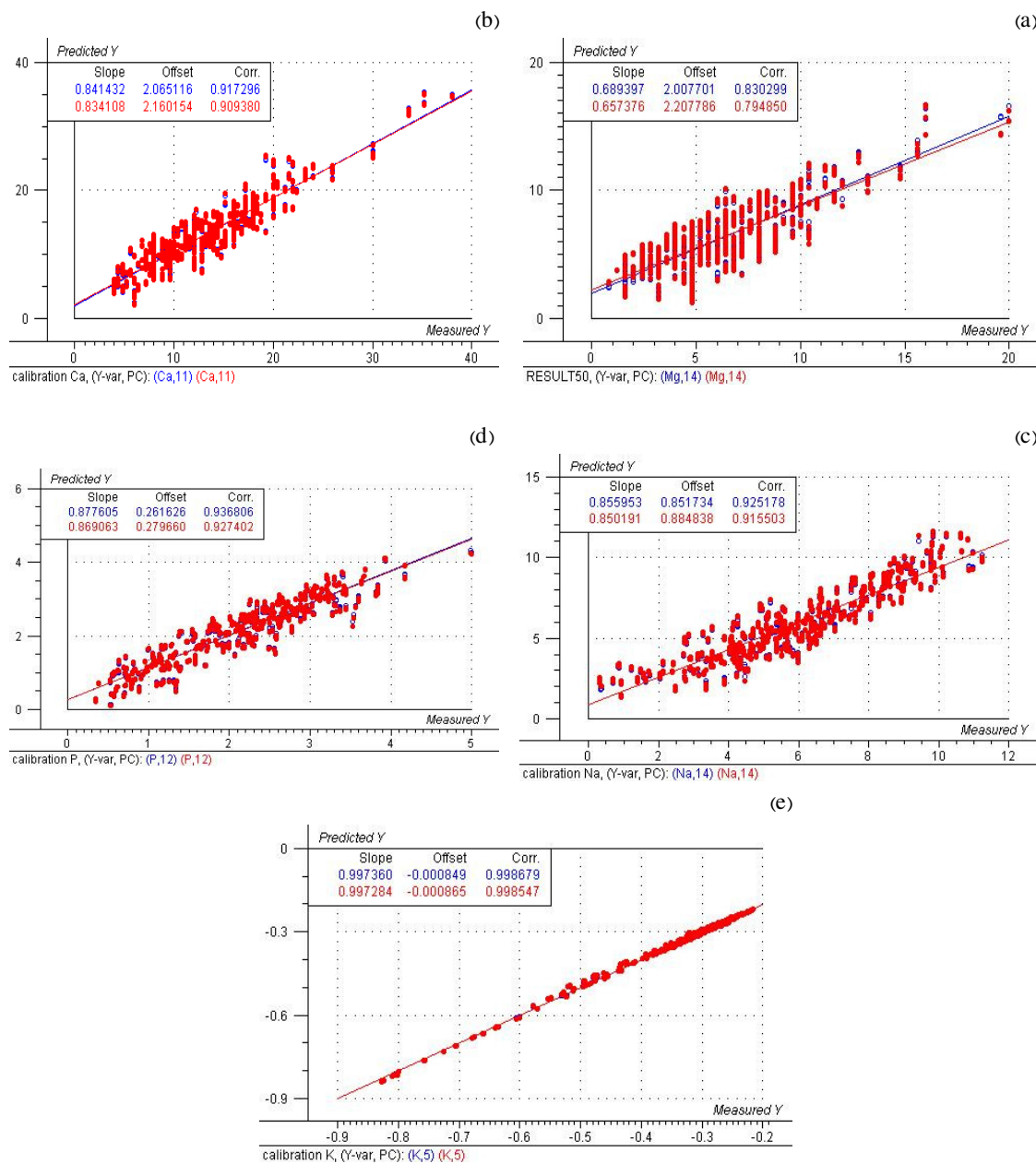
جدول ۳: آماره‌های اعتبارسنجی مدل‌های پیش‌بینی برای متغیرهای مختلف

متغیر	N ¹	N ²	SEP	R ²	Slope	Offset	RMSEP	RPD	معادله
Ca (gr/kg)	۱۱۴۴	۹۷۹	۲/۳۲	۰/۸۲	۰/۸۲	۲/۱۶	۲/۳۲	۲/۹۶	$Y = ۲/۱۶ + ۰/۸۲X$
Mg (gr/kg)	۱۱۴۴	۸۴۶	۱/۷۵	۰/۶۴	۰/۶۶	۲/۲۰	۱/۷۵	۲/۰۵	$Y = ۲/۲۰ + ۰/۶۶X$
P (gr/kg)	۱۱۴۴	۱۰۷۲	۰/۳۳	۰/۸۶	۰/۸۷	۰/۲۷	۰/۳۳	۰/۸۴	$Y = ۰/۲۷ + ۰/۸۷X$
Na (gr/kg)	۱۱۴۴	۱۰۷۱	۰/۹۶	۰/۸۳	۰/۸۵	۰/۸۸	۰/۹۶	۰/۱۸	$Y = ۰/۸۸ + ۰/۸۵X$
K (gr/kg)	۱۱۴۴	۱۱۴۴	۰/۰۴	۰/۹۹	۰/۹۹	۰/۰۰	۰/۰۴	۲۴۲۲	$Y = ۰/۹۹X$

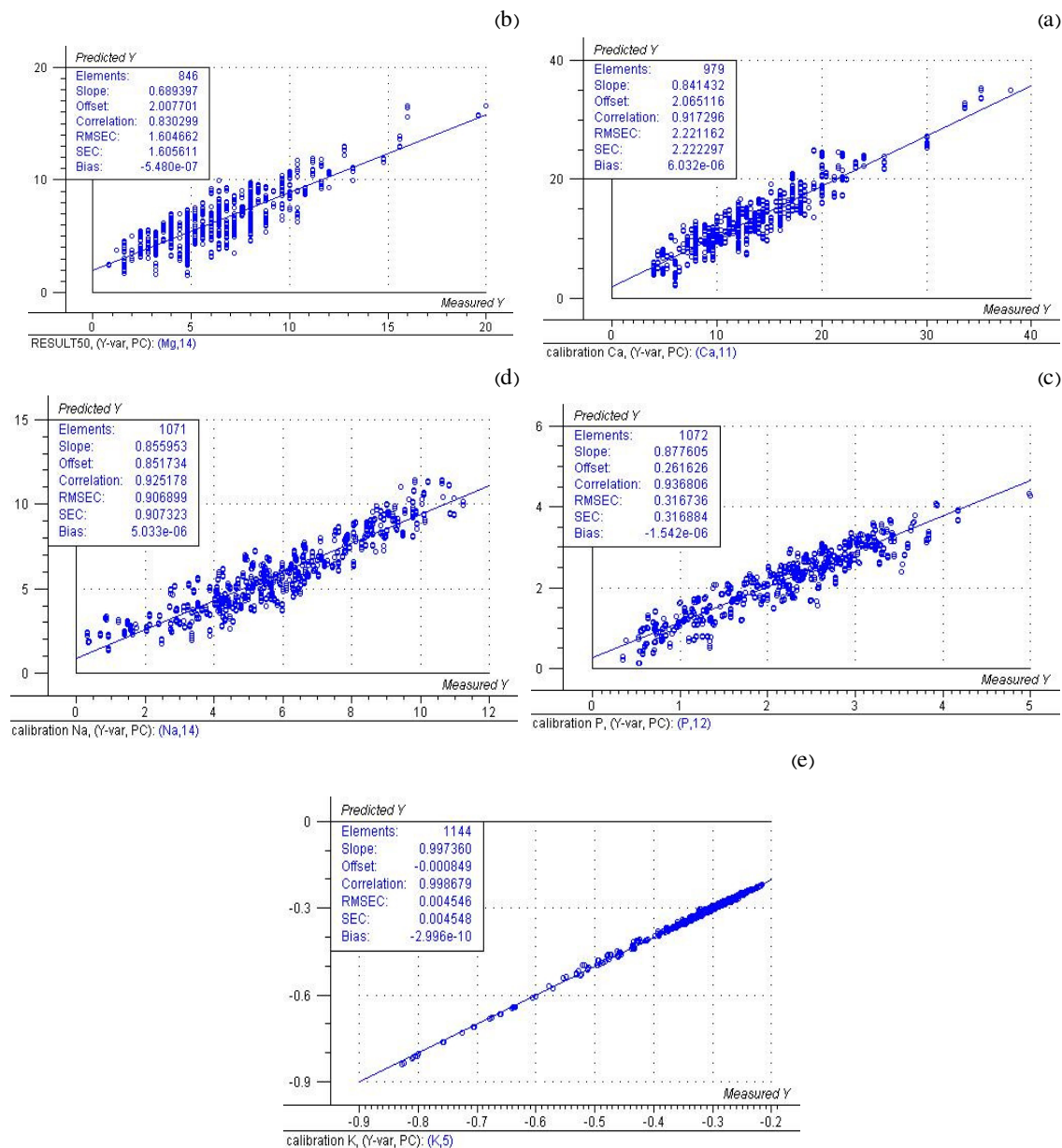
N¹ تعداد کل داده‌ها بعد از حذف داده‌های پرت و N² تعداد داده‌هایی که وارد محاسبات شده‌اند. RMSEP= root mean square error of prediction, SEP= standard error of prediction, RPD= ratio performance deviation= SD/RMSEP, SEP= اشتباه معیار اعتبارسنجی و RMSEP= جذر میانگین مربعات خطای پیش‌بینی

کلسیم (a)، منیزیم (b)، فسفر (c)، سدیم (d) و پتاسیم (e) نشان می‌دهند.

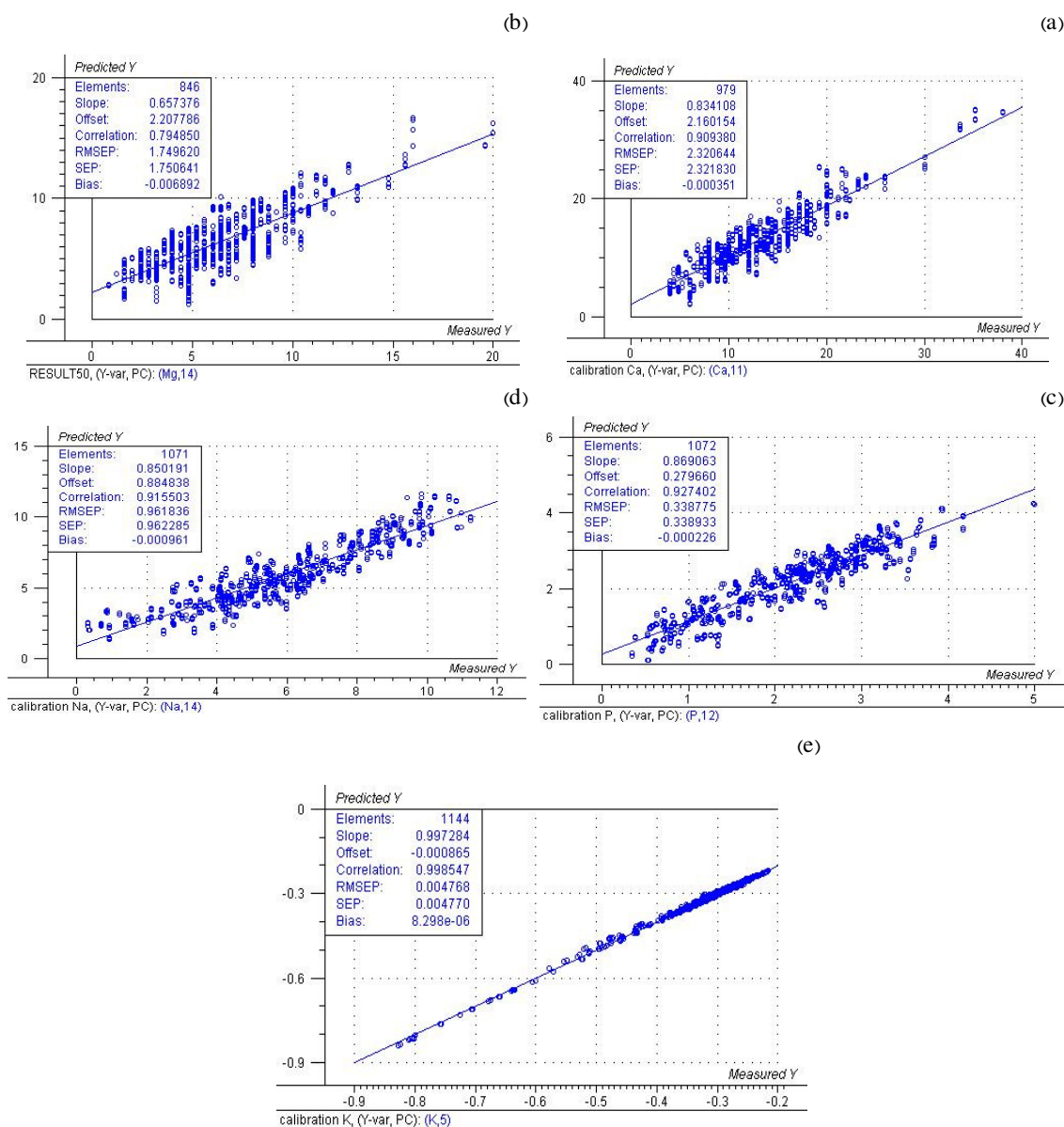
اگرچه داده‌های مربوط به معادلات کالیبراسیون و پیش‌بینی در جداول مربوطه آمده است؛ نتایج مربوط به نمودارهای آنها، نحوه پراکنش داده‌ها و همچنین اطلاعات تکمیلی در ادامه ارائه شده است. شکل ۳، شیب خط، عرض از مبدا و همبستگی معادله رگرسیون کالیبراسیون (اعداد بالا، رنگ آبی) و معادله پیش‌بینی (اعداد پایین، رنگ قرمز) به ترتیب برای کلسیم (a)، منیزیم (b)، فسفر (c)، سدیم (d) و پتاسیم (e) را نشان می‌دهد. شکل‌های ۴ و ۵، مشخصات معادله رگرسیون کالیبراسیون و پیش‌بینی را به ترتیب برای



شکل ۳: شیب خط (slope)، عرض از مبدا (offset) و همبستگی (correlation) معادله رگرسیون کالیبراسیون (اعداد بالا، رنگ آبی) و معادله پیش‌بینی (اعداد پایین، رنگ قرمز) به ترتیب برای کلسیم (a)، منیزیم (b)، فسفر (c)، سدیم (d) و پتاسیم (e)



شکل ۴: مشخصات معادله رگرسیون کالیبراسیون به ترتیب برای کلسیم (a)، منیزیم (b)، فسفر (c)، سدیم (d) و پتاسیم (e)



شکل ۵: مشخصات معادله رگرسیون پیش‌بینی به‌ترتیب برای کلسیم (a)، منیزیم (b)، فسفر (c)، سدیم (d) و پتاسیم (e)

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه از مدل‌سازی در زمینه‌های مختلف مثل شبیه‌سازی محیط، ارزیابی سریع ارزش غذایی برای انسان و دام و بسیاری از موارد دیگر استفاده می‌شود. در مدل‌سازی، بهترین مدل، مدلی است که دارای انحراف معیار، عرض از مبدا و جذر میانگین مربعات خطای ناچیز و ضریب رگرسیون و شیب خط نزدیک به یک است (۱۰). بنا به نظر ویلیامز (۲۰۰۴)، معادله‌ای که دارای ضریب تشخیص

بالاتر از ۰/۸ و RPD بالاتر از سه باشد، به‌عنوان معادله پیش‌بینی، قابل قبول می‌باشد. با بررسی ضریب تشخیص، انحراف معیار کالیبراسیون و RPD برای اعتبارسنجی معادلات مرتبط با عناصر مختلف مشخص گردید که معادلات پتاسیم و کلسیم از صحت کافی برخوردار می‌باشند و معادلات مربوط به عنصر فسفر نیز می‌توانند برای تخمین داده‌های خام با دستگاه NIRS بکار برده شوند. البته باید توجه داشت که مقدار RPD این عنصر پائین می‌باشد و

تفسیر میزان RPD در مقالات مختلف متفاوت است. ویلیامز (۲۰۰۴) حداقل میزان آن را ۳/۱-۴/۹ و برای حالت مطمئن از ۵ تا ۶/۴ می‌داند. از طرف دیگر ادنی و همکاران (۱۹۹۴)، حداقل آن را ۲/۵ تا ۳ و در حالت مطمئن از ۳ تا ۵ می‌دانند. ماتیسون و همکاران (۱۹۹۹) عقیده دارند که مقدار RPD بالاتر از ۲/۵ برای هر معادله برای انجام تخمین قابل پذیرش، مورد نیاز است. در بهترین حالت (یعنی با حذف ۲۵ درصد داده‌های پرت)، معادله به‌دست آمده برای عنصر منیزیم، دارای ضریب تشخیص ۰/۶۹ بود که با این حال، طبق نظر ویلیامز (۲۰۰۴)، به‌نظر می‌رسد نمی‌تواند معادله قابل قبولی باشد. نتایج مربوط به عنصر سدیم نشان می‌دهد، اگرچه مقدار ضریب تشخیص آن بالا می‌باشد، ولی مقدار اشتباه معیار کالیبراسیون آن نیز به‌نسبت بالا می‌باشد. بنابراین به‌نظر نمی‌رسد که معادله‌ای با دقت قابل قبول ارایه دهد. بهترین معادله کالیبراسیون $(Y = 0.99X)$ ، مربوط به عنصر پتاسیم با ضریب تشخیص ۰/۹۹، اشتباه معیار کالیبراسیون ۰/۰۰۴ و RPD، ۲۴۲۲ بود.

در تحلیل معادلات ارائه شده برای هر عنصر و میزان صحت هر معادله، می‌توان از داده‌های کمی آنالیز شده به‌روش شیمیایی در هر مرحله رشد کمک گرفت. نتایج مربوط به عنصر کلسیم نشان می‌دهد که میزان این عنصر در مرحله رویشی، گلدهی و بذردهی، به‌ترتیب برابر ۱۵/۸، ۱۲/۹ و ۱۴/۱۸ گرم بر کیلوگرم در نمونه‌های مورد بررسی می‌باشد (۲۱). همانطور که این اعداد نشان می‌دهد، تغییرات آن از مرحله گلدهی و به بذردهی نامشخص و دامنه تغییرات آن کم می‌باشد. بنابراین می‌توان این‌طور نتیجه‌گیری کرد که اگرچه مقدار این عنصر در گیاه به‌نسبت زیاد است که می‌تواند به مدل‌سازی این عنصر کمک کند ولی عدم وجود تغییرات مشخص و دامنه تغییرات کم، ممکن است یک عامل منفی محسوب شود (۳). تحقیقات نشان داده است که این عنصر، مدل قابل قبولی به‌دست داده است (۳، ۷، ۹، ۱۱ و ۱۶). نتایج آنالیز شیمیایی مربوط به عنصر منیزیم نشان می‌دهد که میزان این عنصر در مرحله رویشی، گلدهی و بذردهی به‌ترتیب برابر ۷/۳، ۶/۶۵ و ۶/۱ گرم بر کیلوگرم در نمونه‌های مورد بررسی می‌باشد (۲۱). از این داده‌ها، می‌توان فهمید که میزان این عنصر در گیاهان مورد مطالعه کمتر از کلسیم می‌باشد. بنابراین به‌نظر می‌رسد که

مدل‌سازی آن از دقت پائین‌تری نسبت به عنصر کلسیم برخوردار باشد که اتفاق افتاد ولی با توجه به این‌که عنصر فسفر (با ۱/۱، ۰/۹ و ۰/۹ گرم بر کیلوگرم به‌ترتیب برای مرحله رویشی، گلدهی و بذردهی) مقدارش در گیاهان مورد مطالعه از منیزیم کمتر است و معادله بهتری را به‌دست داد؛ مقداری ضد و نقیض به‌نظر می‌رسد. شاید این تناقض نشان دهد علاوه بر این‌که مقدار کمی عنصر موجود در گیاه می‌تواند بر روی مدل‌سازی آن عنصر تاثیر بگذارد، عوامل دیگری مثل پیوند عنصر با ترکیبات دیگر نیز بتواند در مدل‌سازی عناصر مختلف نقش بازی کنند (۳). تحقیقات نشان داده است که منیزیم از مدل‌سازی قابل قبولی پیروی می‌کند (۳، ۷، ۹، ۱۱ و ۱۶) ولی در این مطالعه این چنین نشد. نتایج مربوط به آنالیز شیمیایی سدیم در این تحقیق نشان داد که مقدار آن در گیاهان مورد مطالعه از بقیه عناصر کمتر می‌باشد (مقدار سدیم با ۰/۴، ۰/۳۳ و ۰/۳۰ گرم بر کیلوگرم به‌ترتیب برای مرحله رویشی، گلدهی و بذردهی). همانطور که نشان داده شد، دامنه تغییرات عناصر سدیم و فسفر خیلی کم است. لاورنسیس و همکاران (۲۰۰۲) گزارش دادند که مدل ایجاد برای عنصر سدیم از دقت قابل قبولی برخوردار نبوده است ولی کازولینو و مورون (۲۰۰۴) بیان کردند که مدل ایجاد برای سدیم قابل قبول بود. در این مطالعه دیده شد که مقدار R^2 سدیم، به‌نسبت بالا می‌باشد ولی آن چیزی که مشکل ایجاد می‌کند، اشتباه معیار کالیبراسیون این عنصر است که بالا می‌باشد و خطای بالای مدل را به نمایش می‌گذارد. بنابراین می‌توان انتظار داشت که مدل ایجاد برای سدیم از کارایی لازم برخوردار نباشد ولی روی مدل ایجاد برای فسفر می‌توان تکیه کرد. چرا که اشتباه معیار کالیبراسیون فسفر به‌نسبت کم است و مقدار R^2 آن نیز به‌نسبت بالا است. مطالعات نشان داده که مدل‌های ایجاد برای فسفر از دقت لازم برخوردار است (۳، ۷، ۹، ۱۱ و ۱۶). همانطور که ذکر گردید، بهترین مدل برای عنصر پتاسیم به‌دست آمد. نتایج آنالیز شیمیایی مربوط به این عنصر نشان می‌دهد که میزان آن در مرحله رویشی، گلدهی و بذردهی به‌ترتیب برابر با ۲۵/۹، ۱۹/۹۵ و ۱۴/۲ گرم بر کیلوگرم در نمونه‌های مورد بررسی می‌باشد (۲۱). بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که میزان این عنصر در گیاه به‌نسبت زیاد است و دامنه تغییرات آن نیز نسبت به

مقدار اشتباه معیار در سدیم بالا است، به نظر نمی‌رسد معادلات بدست آمده از دقت قابل قبولی برخوردار باشند.

سپاسگزاری

این مقاله مرتبط با طرح "بررسی عناصر معدنی تعدادی از گیاهان غالب مراتع خشک و نیمه‌خشک" است که هزینه آن توسط معاونت علمی و فناوری ریاست جمهوری تامین شده است. بنابراین از آن معاونت و صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور سپاسگزاری می‌شود.

دیگر عناصر، بیشتر می‌باشد. ممکن است این عوامل مهمترین عامل تاثیرگذار بر روی مدل‌سازی این عنصر باشند. تحقیقات نشان داده است این عنصر قابل مدل‌سازی است (۳، ۷، ۹، ۱۱ و ۱۶).

به‌طور کلی در این مطالعه نشان داده شد که می‌توان برای ارزیابی عناصر پتاسیم، کلسیم و فسفر از فنون مادن قرمز استفاده کرد. بیشترین دقت اندازه‌گیری مربوط به عنصر پتاسیم و کمترین دقت آن مربوط به منیزیم و سدیم بود. از آنجائی که مقدار R^2 در عنصر منیزیم پائین است و

References

1. Arzani, H., M. Allahmoradi, J. Motamedi & M. Akhshi, 2015. Application of near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) calibration for predicting forage quality of forbs. Journal of Rangeland, 9(1): 1-13. (in Persian)
2. Bruno-Soares, A.M., I. Murray, R.M. Paterson & J.M.F. Abreu, 1998. Use of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) for the prediction of the chemical composition and nutritional attributes of green crop cereals. Animal Feed Science and Technology, 75: 15-25.
3. Clark, D.H., H.F. Mayland & R.C. Lamb, 1987. Mineral analysis of forages with near IR reflectance spectroscopy. Agronomy Journal, 79:485-490.
4. Cozzolino, D. & A. Moron, 2004. Exploring the use of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to predict trace minerals in legumes. Animal Feed Science and Technology, 111: 161-173.
5. Decruyenaere, V., Ph. Lecomte, C. Demarquilly, J. Aufrere, P. Dardenne, D. Stilmant & A. Buldgen, 2009. Evaluation of green forage intake and digestibility in ruminants using near infrared reflectance spectroscopy (NIRS): Developing a global calibration. Animal Feed Science and Technology, 148: 138-156.
6. Edney, M.J., J.E. Morgan, P.C. Williams & L.D. Campbell, 1994. Analysis of feed barley by near infrared reflectance spectroscopy. J. Near Infrared Spectrosc, 2: 33-41.
7. Flinn, P.C., N.J. Edwards, C.M. Oldham & D.M. McNeill, 1996. Near infrared analysis of the fodder shrub tagasaste (*Chamaecytisus proliferus*) for nutritive value and anti-nutritive factors. In: Davies, A.M.C., Williams, P.C. (Eds.), Near Infrared Spectroscopy: The Future Waves. NIR Publications, Chichester, UK, pp. 576-580.
8. Garcia J. & D. Cozzolino, 2006. Use of Near Infrared Reflectance (NIR) Spectroscopy to Predict Chemical Composition of Forages in Broad-Based Calibration Models. Agricultura Técnica (Chile), 66: 41-47.
9. González-Martín, M.I., O. Escuredo, I. Revilla, A.M. Vivar-Quintana, M.C. Coello, C.P. Riocerezo & G.W. Moncada 2015. Determination of the Mineral Composition and Toxic Element Contents of Propolis by Near Infrared Spectroscopy. Sensors, 15: 27854-27868; doi:10.3390/s151127854.
10. Krebs G.L., M.B.P. Kumara Mahipala, P. McCafferty & K. Dods, 2010. Determining the quality of diets of grazing animals. Proceedings of the 25th Annual Conference of The Grassland Society of NSW. 28-29 JULY 2010 – Dubbo NSW. P: 80-84.
11. Lavrenčič, A., B. Stefanon & A. Orešnik, 2002. Estimation of mineral content in forages by near infrared reflectance spectroscopy. Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, Kmetijstvo. Zooteh, 80: 41-49.
12. Martínez-Valdivieso, D., R. Font, P. Gómez, T. Blanco-Díaz & M. Del Río-Celestino 2014. Determining the mineral composition in *Cucurbita pepo* fruit using near infrared reflectance spectroscopy. Journal of the Science of Food and Agriculture, 94(15): 3171-3180, DOI: 10.1002/jsfa.6667.
13. Mathison, G.W., H. Hsu, R. Soofi-Siawash, G. Recinos-Diaz, E.K. Okine, J. Helm & P. Juskiw 1999. Prediction of composition and ruminal degradability characteristics of barley straw by near infrared reflectance spectroscopy. Canadian Journal of Animal Science, 79: 519-523.
14. Mesdaghi, M., 2009. Range management (principals and practices), central university press. 736p. (in Persian)

15. Nousiainen, J., S. Ahvenjärvi, M. Rinne, M. Hellämäki & P. Huhtanen, 2004. Prediction of indigestible cell wall fraction of grass silage by near infrared reflectance spectroscopy. *Animal Feed Science and Technology*, 115: 295–311.
16. Ruano-Ramos, A., A. García-Ciudad & B. García-Criado, 1999. Near infrared spectroscopy prediction of mineral content in botanical fractions from semi-arid grasslands. *Animal Feed Science and Technology*, 77: 331-343.
17. Scholtz, G.D.J., H.J. van der Merwe & T.P. Tylutki, 2009. Prediction of chemical composition of South African *Medicago sativa* L. hay from a near infrared reflectance spectroscopy spectrally structured sample population. *South African Journal of Animal Science*, 39: 183-187.
18. Shenk, J.S. & M.O. Westerhaus, 1996. Calibration the ISI way. In: Davies, A.M.C., Williams, P. (Eds.), *Near Infrared Spectroscopy: The Future Waves*. NIR Publications, West Sussex, UK, pp. 198–202.
19. Software ASC 2013. *The unscrambler® appendices: method references*. PDF from CAMO website. [http://www.camo.com/downloads/U9.6 pdf manual/The Unscrambler Method References.pdf](http://www.camo.com/downloads/U9.6%20pdf%20manual/The%20Unscrambler%20Method%20References.pdf). 45p.
20. Stuth J., A. Jama & D. Tolleson, 2003. Direct and indirect means of predicting forage quality through near infrared reflectance spectroscopy. *Field Crops Research*, 84: 45–56.
21. Tarnian, F., 2015. Determination of macro elements on forb species by using chemical analysis and NIRS. Ph. D. seminar 1, Department of rehabilitation of arid and mountainous regions, Faculty of natural resources, Tehran University. 55p.
22. Williams, P., 2004. 'Near-infrared technology, getting the best out of light.' A short course in the practical implementation of Near-infrared spectroscopy for the user. PDK Grain, Nanaimo, British Columbia, and Winnipeg, Manitoba, Canada, pp. 12-13.