

ایجاد مدل کالیبراسیون طیف سنج مادون قرمز نزدیک انعکاسی (NIRS) به منظور برآورد کیفیت علوفه گونه‌های علفی (فورب)

حسین ارزانی^۱، مهدخت اله مرادی^{۲*}، جواد معتمدی^۳ و مجید آخشی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۲/۳۱ تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۱۱/۰۱

چکیده

کاربرد طیف سنجی انعکاسی مادون قرمز نزدیک (NIRS) در تعیین شاخص‌های کیفیت علوفه از ۱۹۷۰ گزارش شده است. این روش علاوه بر ایمنی، دارای سرعت زیاد می‌باشد. ولی نیازمند کالیبراسیون مناسب دستگاه با نمونه‌هایی است که نماینده تغییرات جمعیتی که این روش برای آنها به کار می‌رود، باشند. بنابراین هدف از این پژوهش ارائه مدل کالیبراسیون NIRS برای گونه‌های علفی (فورب) است. برای این منظور در مجموع، ۶۴۱ نمونه از مراحل رشد رویشی، گل‌دهی و بذردهی به منظور برآورد پنج شاخص ازت (N)، پروتئین خام (CP)، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF)، ماده خشک قابل هضم (DMD) و انرژی متابولیسمی (ME) از طریق NIRS، توسط دستگاه DA7200 Perten، پرتوتابی شد. داده‌های حاصل از پرتوتابی برای آنالیز چند متغیره، به نرم‌افزار Unscrambler منتقل شد. قبل از برازش مدل، برای یکنواخت و نرمال‌سازی پراکنش داده‌ها از روش S.Golay و SNV استفاده شد. ایجاد مدل کالیبراسیون با روش PLS1 نوع یک و اعتبارسنجی مدل با روش CrossValidation انجام شد. قابلیت پیش‌بینی مدل‌ها، از طریق ضریب تشخیص (R^2)، RMSECV و RPD ارزیابی شد. نتایج، حاکی از آن است که روش NIRS به ترتیب در برآورد شاخص‌های N و CP در مقایسه با سایر شاخص‌ها، کارایی بهتری دارد. ضمن اینکه به‌طور کلی در برآورد شاخص‌های مورد بررسی در این پژوهش، از دقت قابل قبولی برخوردارست. بنابراین می‌توان نمونه‌های کیفیت علوفه گیاهان علفی (فورب‌ها) را به منظور برآورد شاخص‌های مذکور، توسط روش طیف‌سنجی NIRS مورد تجزیه و تحلیل قرار داد. اما باید توجه داشت که دقت پیش‌بینی حاصل از کالیبراسیون‌های ایجاد شده توسط این روش (بر اساس مقادیر PRD اعتبارسنجی) برای برخی شاخص‌های مورد بررسی در مراحل مختلف رشد، اندکی پایین‌تر از حد کافی برای اهداف تحلیلی است.

واژه‌های کلیدی: کیفیت علوفه، روش آزمایشگاهی، طیف سنجی، گونه‌های علفی.

۱- استاد دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران

* نویسنده مسئول: mallahmoradi@ut.ac.ir

۳- استادیار دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه

۴- کارشناس آزمایشگاه، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران

مقدمه

تولید علوفه مراتع به گیاهانی متکی است که به صورت خودرو در عرصه مراتع می‌رویند و بر اساس ویژگی‌های ذاتی و محیطی دارای خصوصیات متفاوتی خواهند بود. از جمله این اختلاف‌ها، تفاوت در کیفیت علوفه آنهاست (۶). از طرفی یکی از اهداف اصلی مرتعداری، تولید محصولات دامی است و بازده عملکرد دام در مرتع نیز، وابستگی زیادی به کیفیت علوفه در دسترس آن دارد (۳۶). بنابراین برای رسیدن به عملکرد دام در سطح مطلوب، تأمین نیاز غذایی آن از نظر انرژی، پروتئین، مواد معدنی و ویتامین‌ها، ضروری است (۲۰). این موضوع زمانی امکان‌پذیر است که کیفیت علوفه گیاهان مرتعی از نظر ترکیبات شیمیایی مطالعه شده باشد (۶). به علاوه تعیین شدت دامگذاری در مرتع نیز منوط به آگاهی از کیفیت علوفه گیاهان مرتعی و نیاز غذایی دام است (۴).

روش‌های اندازه‌گیری کیفیت علوفه به طور کلی شامل سه روش استفاده از دام زنده (In vivo)، تلفیق آزمایشگاه و دام (In situ) و آزمایشگاهی (In vitro) هستند (۶). اما تمامی این روش‌ها پرهزینه و زمان‌بر هستند به خصوص زمانی که برای تعداد زیادی نمونه بکار می‌روند.

کاربرد طیف سنجی مادون قرمز نزدیک انعکاسی (NIRS)^۱ در تعیین شاخص‌های کیفیت علوفه از ۱۹۷۰ گزارش شده است (۲۵، ۲۳، ۳۴، ۱۷، ۱ و ۹).

NIRS بر پایه ارتباط بین خصوصیات شیمیایی تعیین شده توسط روش‌های آزمایشگاهی و میزان جذب طیف مادون قرمز نزدیک در طول موج‌های مختلف توسط نمونه‌های پودر شده، قرار دارد (۱۰). در این روش، هیچ‌گونه محلول شیمیایی به کار نمی‌رود و علاوه بر ایمنی، دارای سرعت فوق‌العاده زیادی است اما نیازمند کالیبراسیون مناسب دستگاه با نمونه‌هایی است که نماینده تغییرات جمعیتی که این روش برای آنها به کار می‌رود، باشند (۲۹).

واکرز و همکاران^۲ (۲۰۰۳)، برآورد کیفیت علوفه ذرت را از نظر شاخص‌های میزان پروتئین خام و انرژی

خالص، توسط فناوری NIRS مورد بررسی قرار دادند. این پژوهش به ایجاد معادلات کالیبراسیونی با دقت بالا و دارای اشتباه استاندارد کمتر از ۰/۳ MJ NEL kgDM-1 برای انرژی خالص و کمتر از ۱ g kg⁻¹ ماده‌ی خشک برای پروتئین خام انجامید که حاکی از رضایت بخش بودن برآورد این دو شاخص توسط فناوری NIRS است.

اعتبارسنجی معادلات کالیبراسیونی ایجاد شده در پژوهشی که توسط نوسیانن و همکارانش^۳ (۲۷) در رابطه با ارزیابی قابلیت NIRS برای برآورد^۴ INDF و^۵ DNDF صورت گرفت، خطای برآورد این معادلات را به ترتیب ۱۰ و ۱۹/۱ g/kg ماده خشک و ضریب تشخیص آنها را به ترتیب ۰/۹۱ و R² = ۰/۸۲۳ نشان داد. دکروینر و همکاران^۶ (۱۳) نیز به ارزیابی دو شاخص^۷ OMD و^۸ OMVI با استفاده از NIRS پرداخته و یک مدل کالیبراسیون جهانی ایجاد کردند. ضریب تشخیص این مدل بیش از ۰/۸، اشتباه استاندارد برای این دو شاخص به ترتیب ۰/۰۲۱ g/kg BW^{۰.۷۵} و ۴/۵۱ g/kg BW^{۰.۷۵} و دقت آن به اندازه سایر روش‌های برآورد، ارزیابی شد. در پژوهش دیگری که توسط پوچیک و همکارانش (۲۹) به انجام رسید نیز قابلیت روش NIRS برای برآورد دقیق میزان خاکستر لگوها، مورد تأیید قرار گرفت.

اگرچه در این زمینه، در ایران پژوهش‌های معدودی صورت گرفته است اما در همین پژوهش‌های محدود نیز، کارایی این شیوه برای تعیین کیفیت علوفه گیاهان، مورد تأیید است.

در این راستا، جعفری (۲۰۰۱) امکان استفاده از NIRS را در تخمین قابلیت هضم در گندمیان علوفه‌ای، احمدی (۱) کیفیت علوفه چندگونه مرتعی را در مراحل مختلف فنولوژیکی با استفاده از روش آزمایشگاهی و NIRS، چاره‌ساز (۲۰۱۲) برآورد پارامترهای کیفیت علوفه را در چند گونه مرتعی توسط NIRS و ارزانی و همکاران (۲۰۱۱) نیز قابلیت NIRS در برآورد ترکیبات غذایی

2. Volkers

3. Nousiainen

4. Indigestible neutral detergent fibre

5. Digestible neutral detergent fibre

6. Decruyenaere

7. Organic matter digestibility

8. Organic matter voluntary intake

1. Near Infrared Reflectance Spectroscopy

Bromus tomentellus را مورد مطالعه قرار دادند و در نهایت همگی، روش NIRS را به عنوان یک روش جدید، سریع، دقیق و کارآمد در اندازه گیری کیفیت علوفه گیاهان مرتعی ارزیابی نمودند.

بر همین اساس هدف از پژوهش حاضر، ارائه ی مدل های کالیبراسیونی برای طیف سنج مادون قرمز نزدیک انعکاسی (NIRS) به منظور برآورد مقادیر شاخص های کیفیت علوفه گونه های علفی (فوربها) است تا ضمن صرفه جویی در وقت و هزینه، با دقتی مناسب بتوان درصد نیتروژن (N)، پروتئین خام (CP)، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF)، ماده خشک قابل هضم (DMD) و انرژی متابولیسمی (ME)، برآورد کرد.

مواد و روش ها

منطقه مورد مطالعه

برای انجام پژوهش حاضر، در گام اول نتایج مربوط به مقادیر شاخص های کیفیت علوفه ی گونه های علفی (فوربها) که مرتبط با نتایج کیفیت علوفه ۵۰۰ گونه مرتعی در مناطق مختلف آب و هوایی کشور است (۷)، از بانک اطلاعاتی موجود استخراج گردید.

در جدول ۱، گونه های علفی (فورب) مورد بررسی و گسترش آنها در مکان های انتخابی مناطق مختلف رویشی کشور ارائه شده است.

برای این منظور از هر گونه در هر مرحله رشد (شامل رشد رویشی، گلدهی و بذردهی)، سه نمونه و برای هر نمونه حداقل ۵ پایه گیاهی بطور تصادفی از نقاط مختلف مرتع جمع آوری شده است (۷) و مقادیر شاخص های کیفیت علوفه آنها طبق دستورالعمل AOAC^۱ (۱۹۹۵) و به شرح ذیل در آزمایشگاه اندازه گیری شده است.

برای این منظور، پس از اندازه گیری درصد نیتروژن (N) به روش کج لیدال با استفاده از رابطه ۱، درصد پروتئین خام (CP) نمونه ها برآورد شد.

رابطه ۱: $CP = 6.25 \times N\%$ پروتئین خام (CP)
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) با استفاده از روش ارائه شده توسط Van Soest (۱۹۶۳) اندازه گیری

شد. درصد ماده خشک قابل هضم (DMD) نمونه ها توسط معادله پیشنهادی Oddy (۱۹۸۳) (رابطه ۲)، بر مبنای درصد ازت (N) و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) نمونه ها برآورد شد.

رابطه ۲: $DMD\% = 83.58 - 0.824 ADF\% + 2.262 N\%$

انرژی متابولیسمی (ME) گونه های گیاهی توسط معادله پیشنهادی SCA (۱۹۹۰) (رابطه ۳) انجام گرفت.

رابطه ۳: $ME(Mj/kg) = 0.17 DMD(\%) - 2$

که در آن، DMD% درصد هضم پذیری ماده خشک نمونه ها و ME، انرژی متابولیسمی برحسب مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک می باشد.

در گام بعد، از بین نمونه های مربوط به گونه های فورب مورد بررسی، تعدادی نمونه به منظور برآورد شاخص های کیفیت علوفه با استفاده از روش NIRS و مقایسه نتایج با روش آزمایشگاهی، در مراحل مختلف رشد و سال های متفاوت نمونه برداری، انتخاب گردید. در مجموع، ۲۰۸ نمونه از مرحله ی رشد رویشی، ۲۵۳ نمونه از مرحله گلدهی و ۱۸۰ نمونه از مرحله ی بذردهی به منظور برآورد درصد نیتروژن (N)، پروتئین خام (CP)، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF)، ماده خشک قابل هضم (DMD) و انرژی متابولیسمی (ME)، با استفاده از روش NIRS انتخاب شد.

سپس توسط دستگاه DA7200 Perten (سوئد) با محدوده طول موج ۱۶۵۰-۹۵۰ نانومتر، هر نمونه چهار بار (به ازای هر نمونه، دو ظرف و هر یک دو بار) پرتوتابی و طیف بازتاب شده از نمونه ها (R) به صورت $\log(1/R)$ در فواصل دو نانومتری ثبت شد و فرآیند کالیبراسیون به ترتیب ذیل انجام گرفت:

داده های حاصل از پرتوتابی به منظور آنالیز چند متغیره، به نرم افزار Unscrambler (CAMOAS)، نسخه ۹.۵، نروژ) منتقل شد. قبل از برازش مدل، برای یکنواخت و نرمال سازی پراکنش داده ها از روش S.Golay^۲ (۱۹۶۴) و SNV^۳ استفاده شد. برای هر مرحله رویشی، نمونه ها به دو مجموعه تحت عنوان مجموعه نمونه های کالیبراسیون

^۲. Savitzky-Golay

^۳. Standard Normal Variate

^۱. Association of Official Analytical Chemists (AOAC)

مجموعه کالیبراسیون (N)، خطای استاندارد کالیبراسیون (SEC)، ضریب تعیین کالیبراسیون (R^2) شیب (slope) و عرض از مبدأ (Offset) کالیبراسیون، جذر میانگین مربعات خطای اعتبار سنجی (RMSECV) و نسبت انحراف عملکرد کالیبراسیون ($RPD = SD / RMSECV$) در جدول (۳) قابل مشاهده است.

همچنین آماره‌های مربوط به اعتبارسنجی مدل‌های کالیبراسیونی ایجاد شده برای تمام شاخص‌های مورد نظر در مراحل رشد رویشی، گلدهی و بذردهی، شامل تعداد نمونه اعتبارسنجی (N)، خطای استاندارد پیش‌بینی (SEP)، متوسط بین مقادیر حاصل از روش NIRS و روش مرجع (Bias)، ضریب تعیین اعتبارسنجی (R^2)، شیب (slope) و عرض از مبدأ (Offset) اعتبار سنجی و نسبت انحراف عملکرد کالیبراسیون ($RPD = SD / SEP$) در جدول (۴) ارائه شده است.

در بردارنده‌ی ۷۵ درصد کل نمونه‌ها) و مجموعه نمونه‌های اعتبارسنجی (۲۵ درصد کل نمونه‌ها) تقسیم شد. پس از آن ایجاد مدل کالیبراسیون با روش $PLS1^1$ نوع ۱ (۲۱ و ۲۲) و اعتبار سنجی مدل به روش Cross Validation انجام شد. سپس قابلیت پیش‌بینی مدل‌های ایجاد شده، از طریق ضریب تعیین (R^2)، $RMSECV^2$ (۳۹) و RPD^3 (۴۰ و ۴۱) ارزیابی شد. مدل‌های کالیبراسیون ایجاد شده، با استفاده از مجموعه نمونه‌های اعتبارسنجی، مورد آزمون قرار گرفتند و سپس از آماره‌های SEP، Bias و Slope برای ارزیابی کالیبراسیون‌ها استفاده شد (۸).

از آنجائیکه تنوع رویشگاه‌ها و به تبع آن تنوع در اقلیم، خاک و گونه‌ها، واریانس بالایی در میزان شاخص‌های مورد بررسی ایجاد کرده است؛ برای هر یک از شاخص‌های N ، CP، ME، ADF و DMD، به ازای هر یک از مراحل رشد (رشد رویشی، گلدهی و بذردهی، مدل کالیبراسیون مجزا (با ازای هر شاخص چهار کالیبراسیون) ایجاد شد.

نتایج

خلاصه نتایج تجزیه شمیایی به روش آزمایشگاهی برای تمام شاخص‌های مورد نظر در مراحل رشد رویشی، گلدهی و بذردهی شامل تعداد نمونه (N)، دامنه تغییرات (Range)، میانگین (Mean)، اشتباه از معیار (Std. Error)، انحراف از معیار (Std. Deviation) و واریانس (Variance) در جدول (۲) ارائه شده است.

نتایج حاکی از آن است که ترکیبات شیمیایی مورد بررسی، از دامنه تغییرات وسیعی برخوردارند که این امر می‌تواند به علت تنوع سایت‌های اکولوژیک و به تبع آن تنوع در اقلیم و نوع خاک رویشگاه‌ها، تنوع گونه‌های مورد بررسی و ویژگی‌های ذاتی هر یک از آنها و همچنین به علت تفاوت در مراحل رشد باشد.

آماره‌های مربوط به مدل‌های کالیبراسیونی ایجاد شده برای تمام شاخص‌های مورد نظر در مراحل رشد رویشی، گلدهی و بذردهی، شامل تعداد نمونه‌های

¹. Partial Least Squares Type I

². Root Mean Square Error of Cross-Validation

³. Ratio Performance Deviation

جدول ۱- گونه‌های علفی (فورب) مورد بررسی و گسترش آنها در مکان‌های انتخابی مناطق مختلف رویشی کشور (اقتباس از ارزانی و همکاران، ۲۰۱۱)

نام گونه‌ها	نام استان	نام مکان
<i>Helichrysum plicatum, Teucrium polium</i>	آذربایجان غربی	قره باغ
<i>Ferunkenia hirsute</i>	آذربایجان غربی	تخراب
<i>Astragalus brachyodonuts, Falcaria vulgaris</i>	اردبیل	ارشق
<i>Convolvulus eremophilus, Astragalus angostifolia</i>	خراسان رضوی	سرخس
<i>Achillea millifolium, Centaurea zuvandica, Crepis khorassanica, Medicago Sativa, Taraxacum brevidens, Tragopogon graminifolius, Trifolium repens</i>	گلستان	سرعلی آباد
<i>Achillea wilhelmsii, Asyneuma cichoriiforme, Centaurea aucheri, Cephalaria kotschyi, Chaerophyllum macrospermum, Cruciatia taurica, Dianthus orientalis, Eryngium noeanum, Echinops pungens, Euphorbia helioscopia, Ferula haussknechtii, Peucedanum kurdica, Pimpinella tragium, Rhabdosciadium aucheri, Rumex scutatus, Silene chlorifolia, Tanacetum polycephalum, Prangus ferulacea,</i>	کردستان	سارال
<i>Phlomis olivieri, Stachys inflata, Halothamus glaucus</i>	گلستان	پاشایلق
<i>Phlomis persica,</i>	لرستان	زاغه
<i>Acanthophyllum sordidum, Ajuga chamaecistus, Cousinia cylindrical, Dianthus crinitus, Eryngium billardieri, Gypsophilla virgate, Helichrysum aucheri, Marrobium cuneatum, Phlomis olivieri, Picris strigosa, Polygonum aridum, Prangos ferulacea, Scariola orientalis, Scrophularia striata, Scutellaria orientalis, Stachys inflata, Teucrium orientale, Teucrium polium, Achillea eriophora, Pteroccephalus canus, Convolvulus leiocalycinus, Chardinia orientalis, Euphorbia petiolata, Gundelia tornefortii, Silene sp., Noaea mucronata.</i>	فارس	چشمه انجیر
<i>Euphorbia decipiens, Noaea mucronata, Scariola orientalis, Stachys inflata</i>	اصفهان	آبخوان سه‌میمه
<i>Onobrychis vera, Cracianella khorassanica, Convolvulus lineatus, Eremurus spectabilis</i>	خراسان رضوی	ژرف
<i>Hypericum Scabrum, Centaurea virgate, Tanacetum polycephalum, Chaerophyllum macropodum, Prangos ferulacea, Centaurea aucheri, Nepeta heliotropifolia,</i>	زنجان	بادامستان
<i>Andrachne fruticulosa,</i>	قم	یکه باغ
<i>Iris songarica, Stachys inflata,</i>	یزد	ندوشن
<i>Anabasis setifera, Alhagi camelorum,</i>	یزد	طیس
<i>Cousinia lasiolepis, Eryngium noaeum</i>	یزد	شیرکوه
<i>Centaurea virgate, Cirsium lappaceum, Cousinia multiloba, Euphorbia cheiradenia, Ferula gumosa, Galium verum, Marrobium astracanicum, Silene chlorifolia, Taraxacum officinalis, Tragopogon longirostris</i>	تهران	فیروزکوه
<i>Centaurea virgata, Ferula galbaniflua, Stachys inflata, Achillea wilhelmsii, Heliochrysum oligocephalum, Ajuga chamaecistus, Astragalus sp., Centaurea sp., Cousinia cylindrica, Silene sp., Ziziphora sp., Tanacetum canescens</i>	البرز	کردان
<i>Convolvulus oxyphyllus</i>	ایلام	چنگوله
<i>Onosma bulbotrichum</i>	ایلام	صالح آباد
<i>Alhagi camelorum, Limonium suffruticosum</i>	بوشهر	کبکان
<i>Alhagi graecorum, Echiochylon kotschyi, Platychaete aucheri</i>	هرمزگان	زمین سنگ
<i>Taraxacum azarbaijanicum, Tragopogon margiantus, Cirsium haussknechtii, Tanacetum chiliophyllum, Arenaria dianthoides</i>	آذربایجان غربی	سهند
<i>Ferula ovina, Astragalus macrourus</i>	اصفهان	گوراب
<i>Eryngium thyrsoideum</i>	کرمانشاه	گون بان

جدول ۲- آماره‌های توصیفی شاخص‌های کیفیت علوفه نمونه‌های مورد بررسی در مراحل مختلف رشد

مرحله رشد رویشی					
واریانس	انحراف از معیار	اشتباه از معیار	میانگین	دامنه	آماره توصیفی
شاخص					
۰/۸۱	۰/۹	۰/۰۴	۲/۷۸	۴/۱۹	ازت (N)
۳۱/۷۳	۵/۶۳	۰/۲۵	۱۷/۳۹	۲۶/۱۸	پروتئین خام (CP)
۷۰/۷۵	۸/۴۱	۰/۳۷	۳۰/۴۷	۵۱/۹	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF)
۷۱/۴۱	۸/۴۵	۰/۳۷	۶۵/۸۲	۴۶/۰۱	ماده خشک قابل هضم (DMD)
۲/۰۷	۱/۴۴	۰/۰۶	۹/۱۹	۷/۸۲	انرژی متابولیسمی (ME)
مرحله گلدهی					
واریانس	انحراف از معیار	اشتباه از معیار	میانگین	دامنه	آماره توصیفی
شاخص					
۰/۸۱	۰/۹	۰/۰۴	۱/۸۷	۸/۵۵	ازت (N)
۲۰/۹۵	۴/۵۸	۰/۲	۱۱/۴	۲۶/۱۵	پروتئین خام (CP)
۹۰/۵۱	۹/۵۱	۰/۴۱	۳۸/۸۴	۵۰/۰۱	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF)
۸۶/۲۸	۹/۲۹	۰/۴	۵۶/۴۹	۴۸/۴۰	ماده خشک قابل هضم (DMD)
۲/۴۹	۱/۵۸	۰/۰۷	۷/۶	۸/۲۳	انرژی متابولیسمی (ME)
مرحله بذردهی					
واریانس	انحراف از معیار	اشتباه از معیار	میانگین	دامنه	آماره توصیفی
شاخص					
۰/۳	۰/۵۵	۰/۰۳	۱/۲۳	۳/۳	ازت (N)
۱۱/۷	۳/۴۲	۰/۱۶	۷/۶۷	۲۰/۶۶	پروتئین خام (CP)
۱۰۵/۹۲	۱۰/۲۹	۰/۴۸	۴۶/۵۴	۶۰/۲	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF)
۸۹/۴	۹/۴۶	۰/۴۴	۴۸/۴۹	۵۶/۴۷	ماده خشک قابل هضم (DMD)
۲/۵۸	۱/۶۱	۰/۰۷	۶/۲۴	۹/۶	انرژی متابولیسمی (ME)

جدول ۳- آماره‌ی مدل‌های کالبراسیونی ایجاد شده در مراحل مختلف رشد

مرحله رشد رویشی							
نسبت انحراف	جذر میانگین مربعات	عرض از مبدأ	شیب از مبدأ	ضریب تشخیص	خطای استاندارد	تعداد	آماره مدل
عملکرد کالبراسیون	خطای اعتبار سنجی	کالبراسیون	کالبراسیون	کالبراسیون	کالبراسیون	نمونه	شاخص
۱۵/۰۱	۰/۰۶	۰/۴۷	۰/۸۱	۰/۸۲	۰/۳۴	۱۵۶	ازت (N)
۱۶/۵۷	۰/۳۴	۳/۰۳	۰/۸۱	۰/۸۱	۲/۱۷	۱۵۶	پروتئین خام (CP)
۱۵/۸۷	۰/۵۳	۵/۶۵	۰/۸۱	۰/۸۱	۳/۱۸	۱۵۶	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF)
۱۳/۸۵	۰/۶۱	۱۲/۵۳	۰/۸۱	۰/۸۱	۳/۲۵	۱۵۶	ماده خشک قابل هضم (DMD)
۱۴/۳۷	۰/۱	۱/۶۶	۰/۸۲	۰/۸۲	۰/۵۴	۱۵۶	انرژی متابولیسمی (ME)
مرحله گلدهی							
نسبت انحراف	جذر میانگین مربعات	عرض از مبدأ	شیب از مبدأ	ضریب تعیین	خطای استاندارد	تعداد	آماره مدل
عملکرد کالبراسیون	خطای اعتبار سنجی	کالبراسیون	کالبراسیون	کالبراسیون	کالبراسیون	نمونه	شاخص
۲۲/۴۶	۰/۰۴	۰/۳۱	۰/۸۱	۰/۸۱	۰/۲۲	۱۸۰	ازت (N)
۱۰/۴۰	۰/۴۴	۱/۹۴	۰/۸۱	۰/۸۱	۱/۴۳	۱۸۰	پروتئین خام (CP)
۱۳/۰۳	۰/۷۳	۹/۲۷	۰/۷۷	۰/۷۷	۳/۴۸	۱۸۰	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF)
۱۳/۸۶	۰/۶۷	۱۰/۵۳	۰/۸۱	۰/۸۱	۳/۱۲	۱۸۰	ماده خشک قابل هضم (DMD)
۱۷/۵۴	۰/۰۹	۱/۴۸	۰/۸	۰/۸	۰/۵۴	۱۸۰	انرژی متابولیسمی (ME)
مرحله بذردهی							
نسبت انحراف	جذر میانگین مربعات	عرض از مبدأ	شیب از مبدأ	ضریب تعیین	خطای استاندارد	تعداد	آماره مدل
عملکرد کالبراسیون	خطای اعتبار سنجی	کالبراسیون	کالبراسیون	کالبراسیون	کالبراسیون	نمونه	شاخص
۱۳/۶۹	۰/۰۴	۰/۱۹	۰/۸۳	۰/۸۳	۰/۱۷	۱۳۵	ازت (N)
۱۰/۰۶	۰/۳۴	۱/۲۲	۰/۸۳	۰/۸۳	۱/۰۵	۱۳۵	پروتئین خام (CP)
۹/۴۴	۱/۰۹	۸/۷۷	۰/۸۱	۰/۸۱	۳/۲۲	۱۳۵	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF)
۱۰/۵۱	۰/۹	۸/۵۵	۰/۸۳	۰/۸۲	۱/۹۲	۱۳۵	ماده خشک قابل هضم (DMD)
۱۳/۴	۰/۱۲	۱/۰۵	۰/۸۲	۰/۸۲	۰/۴۹	۱۳۵	انرژی متابولیسمی (ME)

جدول ۴- آماره‌های اعتبارسنجی مدل‌های کالبراسیونی ایجاد شده در مراحل مختلف رشد

مرحله رشد رویشی							
نسبت انحراف عملکرد اعتبار سنجی	عرض از مبدأ اعتبار سنجی	شیب از مبدأ اعتبار سنجی	ضریب تعیین اعتبار سنجی	متوسط بین مقادیر حاصل از روش NIRS و روش مرجع	خطای استاندارد پیش‌بینی	تعداد نمونه اعتبار سنجی	آماره مدل شاخص
۲/۵	۰/۵۱	۰/۸	۰/۷۹	۰/۰۰۰	۰/۳۶	۵۲	ازت (N)
۲/۴۶	۳/۲۳	۰/۷۹	۰/۷۹	۰/۰۰۲	۲/۲۹	۵۲	پروتئین خام (CP)
۲/۴۹	۶/۱۴	۰/۷۹	۰/۷۹	۰/۰۰۴-	۳/۳۸	۵۲	الیاف نامحلول در شونده اسیدی (ADF)
۲/۴۴	۱۳/۵۱	۰/۷۹	۰/۷۸	۰/۰۰۹-	۳/۴۷	۵۲	ماده خشک قابل هضم (DMD)
۲/۴۸	۱/۷۹	۰/۸	۰/۷۹	۰/۰۰۱-	۰/۵۸	۵۲	انرژی متابولیسمی (ME)
مرحله گلدهی							
نسبت انحراف عملکرد اعتبار سنجی	عرض از مبدأ اعتبار سنجی	شیب از مبدأ اعتبار سنجی	ضریب تعیین اعتبار سنجی	متوسط بین مقادیر حاصل از روش NIRS و روش مرجع	خطای استاندارد پیش‌بینی	تعداد نمونه اعتبار سنجی	آماره مدل شاخص
۳/۹۱	۰/۳۲	۰/۸	۰/۷۹	۰/۰۰۰	۰/۲۳	۶۳	ازت (N)
۲/۹۲	۲/۱۶	۰/۷۹	۰/۷۷	۰/۰۰۴-	۱/۵۷	۶۳	پروتئین خام (CP)
۲/۵۶	۹/۹۱	۰/۷۵	۰/۷۴	۰/۰۰۰	۳/۷۲	۶۳	الیاف نامحلول در شونده اسیدی (ADF)
۲/۷۸	۱۱/۴۴	۰/۷۹	۰/۷۹	۰/۰۰۱	۳/۳۴	۶۳	ماده خشک قابل هضم (DMD)
۲/۷۷	۱/۵۹	۰/۷۸	۰/۷۸	۰/۰۰۰-	۰/۵۷	۶۳	انرژی متابولیسمی (ME)
مرحله بذردهی							
نسبت انحراف عملکرد اعتبار سنجی	عرض از مبدأ اعتبار سنجی	شیب از مبدأ اعتبار سنجی	ضریب تعیین اعتبار سنجی	متوسط بین مقادیر حاصل از روش NIRS و روش مرجع	خطای استاندارد پیش‌بینی	تعداد نمونه اعتبار سنجی	آماره مدل شاخص
۳/۰۵	۰/۲	۰/۸۲	۰/۸	۰/۰۰۰-	۰/۱۸	۴۵	ازت (N)
۲/۹۵	۱/۳۲	۰/۸۲	۰/۷۹	۰/۰۰۳-	۱/۱۶	۴۵	پروتئین خام (CP)
۲/۸۶	۱۰/۰۲	۰/۷۹	۰/۷۷	۰/۰۴۹	۳/۶	۴۵	الیاف نامحلول در شونده اسیدی (ADF)
۲/۹۲	۹/۵	۰/۸	۰/۷۸	۰/۰۲۰-	۳/۲۴	۴۵	ماده خشک قابل هضم (DMD)
۳/۰۴	۱/۱۵	۰/۸۱	۰/۸	۰/۰۰۴-	۰/۵۳	۴۵	انرژی متابولیسمی (ME)

بحث و نتیجه‌گیری

رسیده و توانایی قابل توجهی در تحلیل و پایش غذاها به‌منظور طبقه‌بندی ارزش غذایی آنها دارد (۱۸). این تکنولوژی سریع و دوست‌دار محیط‌زیست است و کاربرد گسترده‌ای در تحلیل غذاها از نظر مؤلفه‌های چربی، پروتئین، آب، کربوهیدرات و فیبر دارد (۱۹).

طیف‌سنجی مادون قرمز نزدیک (NIR) یک روش تحلیلی است که امکان تعیین سریع و هم‌زمان چندین مؤلفه را بدون نیاز به امر هزینه‌بر ایجاد نمونه، فراهم می‌کند (۲۶). از زمانی که اولین بار برای تجزیه و تحلیل محتوای روغن در ذرت و سویا به‌کار رفت (۱۶) به‌عنوان یک روش مناسب برای تجزیه و تحلیل غذاها به اثبات

آماره‌های مربوط به مدل‌های اعتبارسنجی برای هریک از شاخص‌های مورد نظر در مرحله رشد رویشی نیز عبارتند از: R^2 و SEP برای N ۰/۷۹ (SEP: ۰/۳۶ درصد)، برای CP ۰/۷۹ (۲/۲۹٪)، برای ADF ۰/۷۹ (۳/۳۸٪)، برای DMD ۰/۷۸ (۳/۴۷٪) و برای ME ۰/۷۹ (۰/۵۸٪). مقادیر PRD حاصل از اعتبارسنجی شاخص‌های مورد بررسی مرحله رویشی نیز از ۲/۴۴ تا ۲/۴۹ است که نشان‌دهنده دقت پیش‌بینی متوسط مدل‌های اعتبارسنجی است که این امر دقیقاً مطابق با نتایج پژوهش ارزانی و همکاران (۲۰۱۲) است.

آماره‌های مربوط به مدل‌های کالیبراسیونی هریک از شاخص‌های مورد نظر برای مرحله گلدهی نیز عبارت است از: R^2 و RMSECV برای N ۰/۸۱ (RMSECV: ۰/۰۴ درصد)، برای CP ۰/۸۱ (۰/۴۴٪)، برای ADF ۰/۷۷ (۰/۰۷٪)، برای DMD ۰/۸۱ (۰/۶۷٪) و برای ME ۰/۸ (۰/۰۹٪). مقدار RMSECV برای هیچ از معادلات کالیبراسیونی بالاتر از SD نیست و تا حد زیادی نیز از آن کوچکتر است، بنابراین از نظر این آماره، کالیبراسیون‌های ایجاد شده در این پژوهش، مدل‌های پیش‌بینی مناسبی هستند. همچنین مقدار ضریب تشخیص برای تمام شاخص‌های این مرحله از رشد ۰/۷۷ تا ۰/۸۱ است که این نشان‌دهنده پیش‌بینی‌های تقریبی توسط مدل خواهد بود اما با توجه به اینکه مقدار PRD برای همه کالیبراسیون‌های مرحله‌ی گلدهی نیز از ۳ بزرگتر است، این امر نشان می‌دهد که می‌توان از کالیبراسیون‌های PLS ایجاد شده برای مرحله گلدهی، در تجزیه و تحلیل‌های معمول استفاده کرد.

همچنین آماره‌های مربوط به مدل‌های اعتبارسنجی برای هریک از شاخص‌های مورد نظر در مرحله گلدهی شامل: R^2 و SEP برای N ۰/۷۹ (SEP: ۰/۲۳ درصد)، برای CP ۰/۷۷ (۱/۵۷٪)، برای ADF ۰/۷۴ (۳/۷۲٪)، برای DMD ۰/۷۹ (۳/۳۴٪) و برای ME ۰/۷۸ (۰/۵۷٪) است. مقادیر PRD حاصل در اعتبارسنجی شاخص‌های مورد بررسی مرحله گلدهی برای N ۳/۹۱ است که نشان‌دهنده دقت پیش‌بینی بالا توسط مدل اعتبارسنجی این شاخص است. برای چهار شاخص دیگر مقدار این آماره در این مرحله از رشد از ۲/۵۶ تا ۲/۹۲ متغیر است که دقت نسبتاً

آماره‌های مربوط به مدل‌های کالیبراسیونی در هر یک از شاخص‌های مورد نظر در مرحله رشد رویشی عبارتند از: R^2 و RMSECV برای N ۰/۸۲ (RMSECV: ۰/۰۶ درصد)، برای CP ۰/۸۱ (۰/۳۴٪)، برای ADF ۰/۸۱ (۰/۵۳٪)، برای DMD ۰/۸۱ (۰/۶۱٪) و برای ME ۰/۸۲ (۰/۰۱٪). بر اساس پژوهش صورت گرفته توسط پریو و همکاران^۱ (۲۰۱۴) در صورتی که مقدار RMSECV در مقایسه با SD بالا نباشد مدل کالیبراسیون ایجاد شده، مدل مناسبی خواهد بود. بر اساس جدول (۳) مقدار RMSECV برای هیچ از معادلات کالیبراسیونی بالاتر از SD نیست و تا حد زیادی نیز از آن کوچکتر است. بنابراین از نظر این آماره، کالیبراسیون‌های ایجاد شده در این پژوهش مدل‌های پیش‌بینی مناسبی هستند.

همچنین ویلیام (۲۰۰۸) بیان می‌کند مقادیر R^2 بین ۰/۶۶ تا ۰/۸۱ نشان دهنده پیش‌بینی‌های تقریبی توسط مدل خواهد بود در حالی که مقدار R^2 بین ۰/۸۲ تا ۰/۹۱ پیش‌بینی کمی مناسبی را ارائه می‌دهد. مقادیر R^2 بالاتر از ۰/۹۱ نیز نشان دهنده مدل‌های بسیار مناسب هستند. مقدار ضریب تشخیص برای تمام شاخص‌های این مرحله از رشد ۰/۸۱ تا ۰/۸۲ است که این نشان دهنده دقت نسبتاً مناسب کالیبراسیون‌های ایجاد شده است.

در ارزیابی قابلیت پیش‌بینی مدل بهتر است مقدار RPD برابر یا بزرگتر از دو باشد (۴۰ و ۴۱)، مقادیر کمتر از ۲ این آماره، هم می‌تواند نشان‌دهنده‌ی وسعت کم‌بازه اعداد مربوط به روش مرجع (انحراف معیار کم) باشد و هم نشان‌دهنده خطای بزرگ در پیش‌بینی‌های مدل (RMSECV) در مقایسه با انحراف معیار روش مرجع باشد (۳۷). در اکثر موارد کاربرد NIRS برای محصولات کشاورزی، مقدار RPD بزرگتر از سه، به‌منظور اهداف تحلیلی کافیت (۴۰). مقدار این پارامتر برای همه کالیبراسیون‌های ایجاد شده در مرحله رویشی از ۳ بزرگتر است، این امر نشان می‌دهد که می‌توان از کالیبراسیون‌های PLS ایجاد شده برای مرحله رویشی، در تجزیه و تحلیل‌های معمول استفاده کرد.

شاخص دیگر مقدار این آماره در این مرحله از رشد از ۲/۸۶ تا ۲/۹۵ متغیر است که دقت نسبتاً مناسب پیش‌بینی مدل‌های اعتبارسنجی برای این سه شاخص را نشان می‌دهد که این امر دقیقاً با نتایج پژوهش ارزانی و همکاران (۲۰۱۲) است.

از پژوهش حاضر، چنین نتیجه‌گیری می‌شود که روش NIRS به‌ترتیب در برآورد شاخص‌های CP و N در مقایسه با سایر شاخص‌ها، کارایی بهتری دارد که این امر مطابق با نتایج تحقیقات نوریس و همکاران (۱۹۷۶)، احمدی (۲۰۰۳)، گاریکا و کازولینو (۲۰۰۶) و چاره ساز (۲۰۱۱) است. ضمن اینکه می‌توان نتیجه گرفت به‌طورکلی در برآورد شاخص‌های مورد بررسی در این پژوهش، از دقت قابل قبولی برخوردار است که این امر نیز با نتایج حاصل از پژوهش نوریس (۱۹۷۶)، موری (۱۹۹۳)، گاریدا (۱۹۹۷)، دیویل و فلین (۲۰۰۰)، رابرتز (۲۰۰۴)، کازولینو (۲۰۰۱ و ۲۰۰۳)، چاره ساز و همکاران (۲۰۱۱)، ارزانی و همکاران (۲۰۱۲)، تطابق دارد. بنابراین براساس نتایج حاصل، کالیبراسیون‌های ایجاد شده در مرحله روشی مختلف از دقت بالایی برخوردار و قابل بهره‌برداری هستند و می‌توان نمونه‌های کیفیت علوفه گیاهان فرم رویشی فورب را به‌منظور برآورد شاخص‌های مذکور، توسط کالیبراسیون‌های ایجاد شده با روش طیف سنجی NIRS مورد تجزیه و تحلیل قرار داد اما باید توجه داشت که دقت پیش‌بینی حاصل از کالیبراسیون‌های ایجاد شده توسط این روش (بر اساس مقادیر PRD اعتبار سنجی) برای برخی شاخص‌های مورد بررسی در مراحل مختلف رشد، اندکی پایین‌تر از حد کافی برای اهداف تحلیلی است همانطور که توسط ارزانی و همکاران (۲۰۱۱) گزارش شده است.

خوب پیش‌بینی مدل‌های اعتبارسنجی برای این چهار شاخص را نشان می‌دهد و این امر مطابق با نتایج پژوهش ارزانی و همکاران (۸) است.

همچنین آماره‌های مدل‌های کالیبراسیونی هریک از شاخص‌های مورد نظر برای مرحله بذردهی در به شرح روبرو است: R^2 و RMSECV برای $N = 0.83$ (RMSECV: ۰/۰۴ درصد)، برای CP 0.83 (۰/۳۴٪)، برای ADF 0.81 (۰/۱۰۹٪)، برای DMD 0.82 (۰/۹٪) و برای ME 0.82 (۰/۱۲٪). بر اساس جدول ۳ مقدار RMSECV برای هیچ از معادلات کالیبراسیونی بالاتر از SD نیست و تا حد زیادی نیز از آن کوچکتر است، بنابراین از نظر این آماره، کالیبراسیون‌های ایجاد شده در این پژوهش مدل‌های پیش‌بینی مناسبی هستند. مقدار ضریب تشخیص برای تمام شاخص‌های این مرحله از رشد از ۰/۸۲ بیشتر است که این نشان دهنده قابلیت پیش‌بینی خوب مدل خواهد بود. به‌علاوه با توجه به اینکه مقدار PRD برای همه کالیبراسیون‌های مرحله بذردهی نیز از ۳ بزرگتر است، این امر نشان می‌دهد که می‌توان از کالیبراسیون‌های PLS ایجاد شده برای مرحله بذردهی، در تجزیه و تحلیل‌های معمول استفاده کرد.

همچنین آماره‌های مربوط به مدل‌های اعتبار سنجی را برای هریک از شاخص‌های مورد نظر در مرحله بذردهی شامل: R^2 و SEP برای $N = 0.8$ (SEP: ۰/۱۸ درصد)، برای CP 0.79 (۱/۱۶٪)، برای ADF 0.77 (۳/۶٪)، برای DMD 0.78 (۳/۲۴٪) و برای ME 0.8 (۰/۵۳٪) است. مقادیر PRD حاصل در اعتبارسنجی شاخص‌های مورد بررسی مرحله‌ی گلدهی برای N و ME به‌ترتیب ۳/۰۵ و ۳/۰۴ است که نشان‌دهنده دقت پیش‌بینی نسبتاً بالا توسط مدل اعتبارسنجی این دو شاخص است. برای سه

References

1. Ahmadi, A., 2003. Investigating forage quality of some rangeland species in different phenological stages through laboratory methods and NIR. M.Sc. thesis. Faculty of Natural Resources, University of Tehran. (In Persian).
2. Alomar, D., R. Fuchslocher & J. Stockebrands, 1999. Effect of oven or freeze-drying on chemical composition and NIR spectra of pasture silage. *Animal Feed Science and Technology*, 80: 309-319.
3. AOAC, 1995. Official methods of analysis (15th ed). Association of Official Analytical Chemists. Inc., Arlington, USA, Vol 2, 600p.
4. Arzani, H., 1994. Some aspects of estimating short term and long term rangeland carrying capacity in the western division of New South Wales. Ph.D. thesis. University of New South Wales, Australia.
5. Arzani, H., M. Basiri, F. Khatibi & G. Ghorbani, 2006. Nutritive value of some Zagros mountain rangeland species. *Small Ruminant Research*, 65: 128-135. (In Persian).
6. Arzani, H., 2009. Forage quality and daily requirement of grazing livestock. University of Tehran Press. 354p. (In Persian).
7. Arzani, H., J. Motamedi & Zare M.A. Chahouki, 2011. Forage quality of Iranian rangeland species. *Forest, Rangeland and Watershed Management Organization and University of Tehran*, 234p. (In Persian).
8. Arzani, H., A. Sour & J. Motamedi, (2012). Potential of NIRS to predict nutrient composition of *Bromus tomentellus*. *Rangeland Science*, 2(4): 635- 642.
9. Charesaz, N., 2011. Prediction of forage quality parameters in some range species by near infrared reflectance spectroscopy. *Watershed Management Research*, 94: 45-54. (In Persian).
10. Cozzolino, D., Y. Acosta & J. Garcia, 2001. Application of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to forage evaluation in Uruguay. Retrieved December from <http://www.internationalgrasslands.org>.
11. Cozzolino, D., H. E. Smyth & M. Gishen, 2003. Feasibility study on the use of visible and near infrared spectroscopy together with chemometrics to discriminate between commercial white wines of different varietal origins. *Agricultural and Food Chemistry*, 51: 7703-7708.
12. Deaville, G.D. & P. C. Flinn, 2000. Near infrared spectroscopy: an alternative approach for the estimation of forage quality and voluntary intake. In: *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition* (Eds D. I. Givens, E. Owen, R. F. E. Oxford & H. M. Omed), CABI publishing, Wallingford, UK. 301-320.
13. 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.
14. Garrido, A., 1997. Current and future applications of NIRS technology. *Current and future applications of NIRS technology in the feed industry*, 26, 87-92.
15. Garcia, I. & D. Cozzolino, 2006. Use of near infrared reflectance (NIR) Spectroscopy to predict chemical composition of forages in brood-based calibration models, *Agricultural Technique*, Jan-Mar. 66: 41-47.
16. Hymowitz, T., J. Dudley, W., Collins & C. M. Brown, 1974. Estimations of protein and oil concentration in corn, soybean, and oat seed by near-infrared light reflectance. *Crop Science*, 14: 713-715.
17. Jafari, A., 2001. Investigating capability of NIR for predicting digestibility of forage grasses. *Proceedings of third conference of Animals and Birds Nutrition Researches*, Animal Science Institute Press, 55- 63. (In Persian).
18. Kays, S.E. & F.E. Barton, 2002. Rapid prediction of gross energy and utilizable energy in cereal food products using near-infrared reflectance spectroscopy. *Agricultural and Food Chemistry*, 50: 1284-1289.
19. Kim, Y., M. Singh & S.E. Kays, 2007. Near-infrared spectroscopic analysis of macronutrients and energy in homogenized meals, *Food Chemistry*, 105: 1248-1255.
20. Low, S.G. & C.L. Andrews, 1987. A service for estimating the nutritive value of forage. Department of Agriculture, Nutrition and Feed Evaluation Unit, Glen field, NSW 2167: 423- 425.
21. Martens, M. & H. Martens, 1986. Partial least squares regression. In J. R. Piggott (Ed.), *Statistical procedures in food research* London, UK: Elsevier Applied Science. 6: 293-359.
22. Martens, H. & T. Naes, 1989. Assessment, validation and choice of calibration method. In *Multivariate calibration* New York: John Wiley & Sons. 7: 237-266.
23. Murray, I., 1986. Near infrared reflectance analysis of forages. In Haresign, W., Cole, D. J. A. (Eds) *Recent Advances in Animal Nutrition. Studies in the Agricultural and Food Sciences*. Butterworths, UK. 141-156.
24. Murray, I., 1993. Forage analysis by Near Infrared Spectroscopy. In: Davies, A., Baker, R. D., Grant, S. A., Laidlaw, A. S. (Eds), *Sward Management Handbook*. British grassland society, UK. 285-312.

25. Norris, K.H., R.F. Barnes, J.E. Moore & J.S. Shenk, 1976. Predicting forage quality by near infrared reflectance spectroscopy. *Anim. Sci.* 43: 889 – 897.
26. Norris, K.H., 1989. Definition of NIRS analysis. In G.C. Marten, J. S. Shenk, & F. E. Barton II. (Eds.), *Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS): Analysis of forage quality*, USDA-ARS Agriculture Handbook no. 643 (p. 6). Washington, DC: USDA.
27. Nousiainen, J., S. Ahvenjärvi, M. Rinne, M. Hellämäki & P. Huhtanen, 2004. Prediction of indigestible cell wall fraction of grasssilage by near infrared reflectance spectroscopy. *Animal Feed Science and Technology*, 115: 295- 311.
28. Oddy, V.H., G.E. Robards & S.G. Low, 1983. Prediction of in vivo dry matter digestibility from the fiber nitrogen content of feed. In: Robards, G. E., Packham, R. G (Eds.), *feed information animal production*. Common wealth agricultural bureaux. farnham royal, UK. 395-398.
29. Pojic, M., J. Mastilovic, D. Palic & M. Pestoric, 2010. The development of near-infrared spectroscopy (NIRS) calibration for prediction of ash content in legumes on the basis of two different reference methods. *Food Chemistry*, 123:800- 805.
30. Prieto, N., M.E.R. Dugan, O. López-Campos, T.A. McAllister, J.L. Aalhus & B., Uttaro, 2014. Near infrared reflectance spectroscopy predicts the content of polyunsaturated fatty acids and biohydrogenation products in the subcutaneous fat of beef cows fed flaxseed. Retrieved January 8, 2014, from www.aaccnet.org > AACCNnet > PUBLICATIONS
31. Roberts, C.A., J.W. Stuth, & P. Flinn, 2004. Analysis of forages and feedstuffs. In: Roberts, C. A. Workman, and J. B. Reeves (eds.) *Journal of Near infra-spectroscopy in agriculture*. Agron. Mongor. 321. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, Wisconsin, USA. 231-269.
32. Savitzky, A. & M.J.E. Golay, 1964. Smoothing and differentiation of data by simplified least squares procedures. *Analytical Chemistry*, 36,1627–1639
33. SCA (Standing Committee on Agriculture), 1990. *Feeding Standards for Australian Livestock Ruminants*, CSIRO, Australia.
34. Shenk, J.S., M.O. Westerhaus & M.R. Hoover, 1979. Analysis of forage by near infrared reflectance. *Dairy Sci*, 62:807–812.
35. Soest, P.J.V., 1963. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fiber and lignin. *Association Official Agriculture Chemistry*, 46: 829- 835.
36. Stoddart, L.A., A.D. Smith & T.W. Box, 1975. *Range Management*. (3th ed.), MCG raw Hill Book Company, USA. 532p.
37. Tøgersen, G., J.F. Arnesen, B.N. Nielsen & K.I. Hildrum, 2003. Online prediction of chemical composition of semi frozen ground beef by non-invasive NIR spectroscopy. *Meat Science*, 63: 515–523.
38. Volkers, K.C., M. Wachendorf, R. Loges, N.J. Jovanovic & F. Taube, 2003. Prediction of the quality of forage maize by near-infrared reflectance spectroscopy. *Animal Feed Science and Technology*, 109: 183–194.
39. Westerhaus, M., J.J., Workman, J.B., Reeves III & H. Mark, 2004. Quantitative analysis. In C. A. Roberts, J. Workman, & J. B. Reeves III (Eds.), *Near-infrared Spectroscopy in Agriculture*. Madison, USA: American Society of Agronomy Inc. 133-174.
40. Williams, P.C., 2001. Implementation of Near-Infrared Technology. In P. C. Williams, & K. Norris (Eds.), *Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries* (2nd ed.) (p.143). St. Paul, Minnesota, USA: American Association of Cereal Chemists.
41. Williams, P.C., 2008. *Near-Infrared Technology - Getting the Best Out of the Light. A Short Course in the Practical Implementation of Near Infrared Spectroscopy for User*. Nanaimo, Canada: PDK Projects, Inc.