

Prediction of forage chemical composition by NIR spectroscopy

Procjena kemijskog sastava voluminozne krme NIR spektroskopijom

Marina VRANIĆ¹, Krešimir BOŠNJAK¹ (✉), Ivana RUKAVINA², Siniša GLAVANOVIĆ⁴, Nataša PINTIĆ PUKEC³, Andreja BABIĆ³, Ivica VRANIĆ³

¹ University of Zagreb Faculty of Agriculture, Department of Field Crops, Forage and Grassland, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Croatia

² Croatian Agency for Agriculture and Food, Vinkovačka cesta 63c, 31000 Osijek, Croatia

³ Croatian Agency for Agriculture and Food, Poljana Križevačka 185, 48260 Križevci

⁴ Belupo Inc., Research and Development, Danica 5, 48000 Koprivnica, Croatia

✉ Corresponding author: kbosnjak@agr.hr

Received: March 31, 2020; accepted: May 20, 2020

ABSTRACT

Near-infrared spectroscopy (NIR spectroscopy) has been used in analytics for more than 50 years. The aim of this review is to present statistical indicators of the developed calibration models for predicting forage chemical composition by NIR spectroscopy, which have been published over the last 15 years. This paper presents statistics for predicting of forage dry matter (DM), crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), ash, and pH value of forage at different pre-scan processing level (fresh, dried / ground forage) and different forage types such as grass monocultures, legumes, grass-clover mixtures (GCM), semi-natural pasture, straw, maize, hay, silage and haylage. Due to wider applicability of NIR calibration model for prediction of chemical composition of forage, the development of calibration includes forage originating from various agricultural production technologies, cultivation climates, varieties and vegetation seasons, etc. In order to develop more reliable calibration models for prediction of forage chemical composition, calibrations are developed for individual plant species, cultivars, harvest during the vegetation season, as well as for individual microclimates of cultivation. NIR spectroscopy has high potential for predicting the content of DM, CP, NDF, ADF, ash and pH value in forage.

Keywords: chemical composition, calibration model reliability, forage, NIR spectroscopy

SAŽETAK

Spektroskopija u bliskom infracrvenom području (NIR spektroskopija) se u analitici koristi više od 50 godina. Cilj ovog preglednog rada je prikazati statističke pokazatelje razvijenih kalibracijskih modela za procjenu kemijskog sastava voluminozne krme NIR spektroskopijom koji su objavljeni kroz zadnjih 15 godina. Prikazana je statistika za procjenu sadržaja suhe tvari (ST), sirovih proteina (SP), neutralnih detergent vlakana (NDV), kiselih detergent vlakana (KDV), pepela, i pH vrijednosti voluminozne krme različite razine obrade prije skeniranja (svježa, osušena/samljevena krma) te različite vrste voluminozne krme poput monokultura trava, mahunarki, djetelinsko-travnih smjesa (DTS), krme poluprirodnog pašnjaka, slame, biljke kukuruza, sjenaže, silaže i sijena. Radi šire primjenjivosti NIR kalibracijskog modela, za procjenu kemijskog sastava voluminozne krme, u razvoj kalibracije se uključuje krma porijeklom iz različitih primjenjenih agrotehnologija proizvodnje, klimata uzgoja, sorata i varijeteta, vegetacijskih sezona i sl. U cilju razvoja pouzdanijih kalibracijskih modela za procjenu kemijskog sastava voluminozne krme, razvijaju se kalibracije za pojedine biljne vrste, kultivare, otkose tijekom vegetacijske sezone kao i za pojedine mikroklimata uzgoja. NIR spektroskopija ima ogromni potencijal za procjenu sadržaja ST, SP, NDV, KDV, pepela i pH vrijednosti u voluminoznoj krmi.

Ključne riječi: kemijski sastav, NIR spektroskopija, pouzdanost kalibracijskog modela, voluminozna krma

DETAILED ABSTRACT

Chemical composition of forage is of a high importance in animal nutrition, plant breeding programmes, identifying possible animal health problems, etc. Near infrared spectroscopy (NIR spectroscopy) is an alternative method for classical chemical analysis to predict forage chemical composition. For this purpose, NIR spectroscopy is based on a combination of laboratory chemical analysis data and spectral data to predict the each of the individual chemical parameters. Compared to classical chemical analysis, NIR spectroscopy is an environmentally friendly, multi-analytical, physical, rapid and non-destructive method. The use of NIR spectroscopy to predict the chemical composition of forage may be equally accurate but significantly cheaper compared to wet chemistry. Near infrared spectroscopy (NIR spectroscopy) has been used in analytics for more than 50 years. The aim of this review is to present statistical indicators of the developed calibration models for predicting chemical composition of forage by NIR spectroscopy, which have been published over the last 15 years. This paper presents statistics for predicting forage dry matter (DM), crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), ash, and pH value of forage at different pre-scan processing level (fresh, dried / ground forage) and for different forage types such as grass monocultures, legumes, grass-clover mixtures (GCM), semi-natural pasture, straw, maize, hay, silage and haylage. A coefficient of determination (R^2), standard error of calibration (SEC), standard error of cross-validation (SECV) and standard error of prediction (SEP), as a basic calibration statistics are presented for each of the calibration model. Due to wider applicability of NIR calibration model for prediction of chemical composition of forage, the development of calibration includes forage originating from various agricultural production technologies, cultivation climates, varieties and vegetation seasons, etc. In order to develop more reliable calibration models for prediction of forage chemical composition, calibrations are developed for individual plant species, cultivars, harvest during the vegetation season, as well as for individual microclimates of cultivation. The decision on the type of calibration and the procedure to be followed when developing calibrations depend on the acceptable deviations of the results of analysis and the extent to which they can compensate the speed of obtaining results and the cost of the analysis. The basic statistic indicators related to the applicability and the accuracy of the developed NIR estimation model show a high potential for predicting the content of DM, CP, NDF, ADF, ash and pH value in forage.

UVOD

Voluminozna krma je varijabilnog kemijskog sastava koji ovisi o udjelu pojedinih biljnih vrsta, tehnologiji uzgoja, zrelosti usjeva prilikom košnje, tehnologiji konzerviranja i skladištenja (Durmic i sur., 2017). Utvrđena je pozitivna korelacija između hranidbene vrijednosti voluminozne krme i palatabilnosti krme te razine proizvodnje životinja (Dale i sur., 2013).

Utvrđivanje kemijskog sastava voluminozne krme klasičnim kemijskim metodama je nepraktično za veliki broj uzoraka, jer je skupo i dugotrajno (Wittkop i sur., 2012).

Metoda bliske infracrvene spektroskopije (NIR spektroskopija) se radi procjene kemijskog sastava voluminozne krme počela primjenjivati 1960-ih godina. Opisana je kao ekološki potpuno prihvatljiva (Norris i sur., 1976; Stuth i sur., 2003), multi analitička, fizikalno nedestruktivna metoda (Andreu-Rodríguez i sur., 2017) koja je pouzdana za procjenu kemijskog sastava krme

(Ibáñez i Alomar, 2008; Molano i sur., 2016). Analiza NIR spektroskopijom je brza (traje od 1-3 minute). Bazira se na infracrvenom elektromagnetskom spektru (valne duljine od 780-2500nm) koje dolazi u doticaj s uzorkom i prolazi kroz uzorak (transmisijska spektroskopija), upija se u uzorak (apsorpcijska spektroskopija), raspršuje se (difuzna refleksija) ili se odbija od čestica uzorka (refleksijska spektroskopija) (Ariza-Nieto i sur., 2018). Metodom NIR spektroskopije se kombiniraju podatci laboratorijskih kemijskih analiza i spektralni podatci radi procijene sadržaja organskih i anorganskih komponenti voluminozne krme (Ramirez i sur., 2015; Wu i sur., 2015).

Nedostatci korištenja NIR spektroskopije u analitici u usporedbi s provedbom klasičnih kemijskih analiza su visoka cijena koštanja aparata, programskih paketa, razvoja kalibracija i edukacije osoblja, nedovoljna osjetljivost na mikro sastavnice uzoraka (Cen i He, 2007; Vranić i sur., 2019) te neophodna kontinuirana podrška laboratorija za provedbu klasičnih kemijskih analiza za kontrolu rada

aparata, razvoj i nadogradnju kalibracija (Cozzolino i sur., 2000, Rotar i sur., 2012). NIR spektroskopija se naziva sekundarnom tehnologijom jer ne može zamijeniti provedbu analiza uzoraka klasičnim kemijskim metodama. Murry (1993) je prikazao statističke pokazatelje NIR kalibracijskih modela za procjenu kemijskog sastava voluminozne krme objavljene od 1976-1993.

Cilj ovog preglednog rada je prikazati statističke pokazatelje razvijenih kalibracijskih modela za procjenu kemijskog sastava voluminozne krme NIR spektroskopijom koji su objavljeni kroz zadnjih 15 godina.

Razvoj i ocjena pouzdanosti NIR kalibracijskih modela

NIR spektroskopija je bazirana na interakciji elektromagnetske radijacije i uzorka koji se analizira. NIR područje elektromagnetskog spektra se nalazi između vidljivog i infracrvenog područja te je uobičajeno definirano valnim duljinama od 700-3000 nm, a najčešće korištenje je između 1100-2500 nm (Norris i sur., 1976; Murry, 1993).

Kod doticaja s uzorkom, svjetlo se selektivno absorbira u specifične dijelove molekule. Radi male mase atoma vodika, funkcionalne grupe koje imaju vodik (NH, CH, OH) najviše privlače NIR svjetlo (Norris i sur., 1976). Kod doticaja s uzorkom svjetlo se može apsorbirati (apsorpcijska spektroskopija), prolaziti kroz uzorak (transmisijska spektroskopija), reflektirati se od čestica uzorka (refleksijska spektroskopija) ili dolazi do disperzije svjetla koja je ovisna o fizičkim osobinama uzorka, od kojih su najvažnije veličina čestica, sadržaj vlage i temperatura (Norris i sur., 1976).

Razvoj NIR kalibracijskih modela je ranije opisan (Jerome i Workman, 2001; Howerd, 2001; Landau i sur., 2006) posebno za procjenu fizikalnih, kemijskih ili bioloških parametara voluminozne krme (Murry, 1993; Shenk i sur., 2001).

Radi niza čimbenika koji utječu na kvalitetu i hranidbenu vrijednost voluminozne krme (Park i sur., 1998), postupak razvoja NIR kalibracijskog modela za voluminoznu krmu počinje s definiranjem vrste kalibracija i potencijalnih varijacija pojedinih komponenti koje će

se procijenjivati (Stuth i sur., 2003). Ako uzorci za razvoj kalibracije za voluminoznu krmu obuhvaćaju više varijacija koje se mogu pojaviti tijekom primjene razvijenog modela, proširuje se primjenjivost, ali se može smanjiti točnost procjene (Murry, 1993). Broj uzoraka korištenih za razvoj kalibracije nije uvijek u pozitivnoj korelaciji s pouzdanošću i točnošću razvijenog NIR kalibracijskog modela (Andueza i sur., 2016).

Za svaki pojedini parametar koji se procjenjuje, razvijena jednadžba kalibracije obuhvaća pokazatelje pouzdanosti, točnosti, primjenjivosti modela i razlike procjenjenih vrijednosti između ponovljenih skeniranja za što se koriste koeficijent determinacije regresijske jednadžbe (R^2), standardna laboratorijska pogreška (SEL) standardna greška kalibracije (SEC), standardna greška unakrsne validacije (SECV) i standardna greška procjene (SEP) respektivno (Landau i sur. 2006).

Vrijednost SEC označava međusobnu podudarnost uzoraka korištenih za razvoj kalibracije i trebala bi biti što niža. U praktičnim uvjetima je nemoguće dobiti vrijednost $SEC=0$ jer postupak razvoja kalibracije ne može biti savršen. Vrijednost SECV označava standardnu grešku dobivenu na kalibracijskom setu iz kojega je izdvojen određen broj uzoraka, pa bi vrijednosti SEC i SECV u razvijenoj kalibracijskoj jednadžbi trebale biti slične (Norris i sur., 1976). Vrijednost R^2 označava stupanj varijabilnosti koji se može opisati regresijskom jednadžbom, odnosno jačinu linearne povezanosti i obrnuto je proporcionalan vrijednosti SEC (Norris i sur., 1976). Niska vrijednost R^2 je uobičajeno indikator nepreciznih podataka laboratorijskih analiza (visoke SEL). Vrijednost SEP označava standardnu grešku procjene dobivenu korištenjem nezavisnog seta uzoraka (validacijskog seta) i trebala bi biti slična standardnoj devijaciji referentnih vrijednosti validacijskog seta uzoraka (Norris i sur., 1976).

Williams i Sobering (1996) rangiraju razine pouzdanosti NIR kalibracijskih modela obzirom na R^2 od niske razine ako je $R^2 = 0.3 - 0.49$ do visoke razine pouzdanosti ako je $R^2 > 0.9$. Za kontrolu primjene NIR kalibracijskog modela koristi se H statistika (Mahalanobis distance) (Martens i Naes, 2001) koja se bazira na odstupanju

uzoraka nepoznatog kemijskog sastava od kalibracijskog seta uzoraka. Dva osnovna parametra H statistike su globalno odstupanje uzorka nepoznatog kemijskog sastava od uzoraka korištenih za razvoj kalibracije (GH) čime se utvrđuje pripadnost uzorka kalibracijskom setu. Drugi statistički parametar H statistike se odnosi na odstupanje uzorka nepoznatog kemijskog sastava od prvog susjednog uzorka korištenog za razvoj kalibracije (NH). Rezultati procjene uzoraka nepoznatog kemijskog sastava NIR spektroskopijom su pouzdani ako je $GH < 3$, a $NH < 0,6$ (Norris i sur., 1976).

Parametri hranidbene vrijednosti voluminozne krme

Osnovni kemijski sastav voluminozne krme, o kojem ovisi konzumacija i probavljivost voluminozne krme (Yang i sur., 2017), uključuje sadržaj suhe tvari (ST), sirovih proteina (SP), organske tvari (OT), neutralnih detergent vlakana (NDV) i kiselih detergent vlakana (KDV). Za fermentiranu voluminoznu krmu dodatno se utvrđuje kvaliteta fermentacije u silosu, odnosno pH vrijednost, sadržaj amonijskog N (NH_3 -N), alkohola i kiselina nastalih fermentacijom (mliječna, maslačna, octena, propionska), a za kukuruznu silažu i sadržaj škroba (Chamberlain i Wilkinson, 1996).

Kalibracije za procjenu hranidbene vrijednosti voluminozne krme NIR spektroskopijom mogu uključivati i druge parametare (kemijske, biološke ili fizikalne) hranidbene vrijednosti krme poput sadržaja metaboličke energije (ME), probavljivosti OT u ST (D-vrijednosti), razgradivosti SP u buragu preživača (razgradivi SP), faktora konzumacije za goveda (IFC), faktora konzumacije za ovce (IFS), a za fermentirane uzorke sadržaj korigirane ST (KST), udio energije iz krme dostupne za mikrobe buraga (FME/ME), sadržaja rezidua šećera u fermentiranoj voluminoznoj krmi (Vranić i sur., 2004, 2005a), probavljivost SP, razgradivost vlakana (Jancewicz i sur., 2017) itd.

Procjena sadržaja suhe tvari u voluminoznoj krmi NIR spektroskopijom

Vlaga utječe na sve fizikalne i kemijske procese tijekom proizvodnje, konzerviranja, skladištenja i hranidbe

voluminoznom krmom. Vlaga utječe na koncentraciju hranjivih tvari u krmi, na konzumaciju krme i proizvodnost životinja. Proizvodnja vlažnije voluminozne krme rezultira većim troškovima transporta i skladištenja krme te većim gubitcima hranjivih tvari (Donnelly i sur., 2018). Voda nema energetske vrijednosti radi čega se isključuje iz kalkulacija hranidbene vrijednosti krme za hranidbu životinja. To je prvi i najvažniji parametar u odnosu na koji se izražavaju svi ostali kemijski i biološki parametri, pa se različita krma i krmiva mogu uspoređivati na istoj osnovi (bazirano na 100%-tnoj ST). Radi navedenog su i prva istraživanja primjene NIR spektroskopije za procjenu kemijskog sastava voluminozne krme bila usmjerena na procjenu sadržaja ST (Helliwell, 1986).

U tablici 1 prikazani su kalibracijski modeli za procjenu sadržaja ST u voluminoznoj krmi.

Voda, odnosno O-H vibracije, snažno apsorbiraju svjetlo u NIR području što olakšava razvoj kalibracija za procjenu sadržaja vode, pa se NIR spektroskopija redovito koristi za procjenu sadržaja vlage, odnosno ST u uzorcima voluminozne krme (Windham i sur., 1987). Procjena sadržaja ST u uzorcima voluminozne krme može biti jednako točna kao i utvrđivanje sadržaja ST sušenjem uzoraka u sušioniku tijekom 48 sati na temperaturi od 60 °C (Donnelly i sur., 2018). Sadržaj ST voluminozne krme je varirao od 111 do 981 g kg^{-1} svježeg uzorka (Tablica 1), a R^2 za procjenu sadržaja ST u voluminoznoj krmi od 0,47 za mahunarke (Adriansz i sur., 2017) do 0,96 za brdsko planinske pašnjake (Parrini i sur., 2018, 2019) gdje je vidljiva niža SEC (1,8) i SECV (2,7) u odnosu na ostale prikazane rezultate.

Rezultati u tablici 1 prikazuju srednju do visoku pouzdanost NIR spektroskopije za procjenu sadržaja ST u voluminoznoj krmi (Tablica 1) (Shenk i sur., 1996). U pouzdanoj kalibracijskoj jednadžbi bi vrijednosti SEC i SECV trebale biti slične (Norris i sur., 1976) poput navedenog u istraživanju Maslovarić i sur. (2013) za usporedbu s istraživanjem Liu i Han (2006) gdje te vrijednosti iznose 17 i 0,9 respektivno (Tablica 1) čime postaje upitna pouzdanost razvijenog kalibracijskog modela (Norris i sur., 1976).

Table 1. Dry matter prediction in forage by NIR spectroscopy**Tablica 1.** Procjena sadržaja suhe tvari u voluminoznoj krmi NIR spektroskopijom

Forage type Vrsta krme	Calibration set Kalibracijski set				Equation developed Razvijena jednačba				Authors Autori
	N	Min*	Max*	SD*	R ²	SEC*	SECV*	SEP*	
Hilly mountain pasture Brdsko planinski pašnjaci	100	111,4	430,4	74,2	0,96	1,8	2,7	ND	Parrini i sur. (2019)
Grass, legumes, cereals Trave, mahunrake i žitarice	600	817,0	981,0	2,9	0,95	ND	7,0	9,6	Garcia i Cozzolino (2006)
Legume teder Mahunarka teder	93	937,0	981,0	9,1	0,47	ND	6,9	39,8	Adriansz i sur. (2017)
Haylage (grass, legumes, GCM) Sjenaža (trave, mahunarke, DTS)	60	186,0	809,0	19,1	0,80	ND	67,0	95,0	Restaino i sur. (2009)
Haylage fresh Sjenaža svježa	103	216,0	629,0	ND	0,90	ND	ND	29,7	Vranić i sur. (2005b)
Strow silage with cereals Silaža slame i žitarica	157	134,0	435,0	61,0	0,92	17,0	0,9	20,0	Liu i Han (2006)
Maize plant fresh Biljka kukuruza svježa	76	262,0	470,0	42,9	0,91	ND	15,3	19,2	Marchesini i sur. (2017)
Maize silage fresh Kukuruzna silaža svježa	241	244,2	505,3	38,7	0,94	6,7	8,3	ND	Maslovarić i sur. (2013)

* , g/kg fresh sample; N, number of samples; Min, minimal value; Max, maximal value; SD, standard deviation; R², coefficient of determination; SEC, standard error of calibration; SECV, standard error of cross-validation; SEP, standard error of prediction; GCM, grass clover mixture, ND, not determined

* , g/kg svježeg uzorka; N, broj uzoraka; Min, minimalna vrijednost; Max, maksimalna vrijednost; R² koeficijent determinacije; SEC, standardna greška kalibracije; SECV, standardna greška unakrsne validacije; SEP, standardna greška procjene; DTS, djetelinsko travna smjesa; ND, nije utvrđeno

Nisu uočene pravilnosti za razvoj preciznog i pouzdanog NIR kalibracijskog modela za procjenu sadržaja ST obzirom na broj uzoraka korištenih za razvoj kalibracije, raspon vrijednosti sadržaja ST unutar kalibracijskog seta uzoraka kao i vrste voluminozne krme. Broj uzoraka kalibracijskog seta je varirao od samo 76 kod svježe biljke kukuruza (Marchesini i sur., 2017), pa do 600 uzoraka različitih vrsta trave, mahunarki i žitarica (Garcia i Cozzolino, 2006; Tablica 1).

Procjena sadržaja pepela u voluminoznoj krmi NIR spektroskopijom

Pepeo u voluminoznoj krmi se sastoji od internih minerala koji se nalaze unutar biljke i eksternog pepela, odnosno čestica onečišćenja krme (najčešće tlom). Trave u prosjeku sadrže 7-9% pepela, a mahunarke, poput lucerne, 10-12% pepela (Marijanušić i sur., 2018). Sadržaj pepela može otkriti minerale koji su dostupni

ili nisu dostupni životinjama, što je važan parametar u utvrđivanju hranidbene vrijednosti krme. Općenito, koncentracija minerala opada s odgađanjem roka košnje biljne mase, a veća je u krmivima proizvedenim na tlima koja sadrže visoke koncentracije dostupnog kalija (Marijanušić i sur., 2018). Problematična mogu biti krmiva s visokom koncentracijom minerala uzrokovanom onečišćenjem tlom. Pepeo nema energetske vrijednosti, a veće koncentracije pepela mogu smanjiti konzumaciju krme, probavljivost vlakana, apsorpciju pojedinih minerala i prolaz digeste kroz probavni trakt (Khan i sur., 2007).

U tablici 2 prikazani su kalibracijski modeli za procjenu sadržaja pepela u voluminoznoj krmi.

Procjena koncentracije minerala u voluminoznoj krmi NIR spektroskopijom daje različite rezultate jer se minerali ne apsorbiraju u bliskom infracrvenom području (Murry, 1993). Zbog niske razine i uskog raspona sadržaja minerala u voluminoznoj krmi, neki autori navode da razvijene

Table 2. Ash prediction in forage by NIR spectroscopy**Tablica 2.** Procjena sadržaja pepela u voluminoznoj krmi NIR spektroskopijom

Forage type Vrsta krme	Calibration set Kalibracijski set				Equation developed Razvijena jednačba				Authors Autori
	N	Min*	Max*	SD*	R ²	SEC*	SECV*	SEP*	
<i>Lolium multiflorum</i> Talijanski ljulj	75	81	158	128	0,95	5,70	9,20	ND	Bezada i sur. (2017)
Hilly mountain pasture Brdsko planinski pašnjaci	100	34	143	102	0,73	0,91	1,05	ND	Parrini i sur. (2019)
Grass & legumes Trave i mahunarke	902	52	205	111	0,89	6,80	7,43	9,89	Andueza i sur. (2011)
Grass, legumes, cereals Trave, mahunarke i žitarice	581	6	30	12	0,90	ND	9,90	22,0	Garcia i Cozzolino (2006)
Legume teder Mahunarka teder	90	19	63	964	0,94	ND	3,90	6,8	Adriansz i sur. (2017)
Grass silage Travna silaža	867	21	175	89	0,93	4,10	5,10	ND	Ibáñez i Alomar (2008)
Haylage (grass, legumes, GCM) Sjenaža (trave, mahunarke, DTS)	60	7	19	11	0,73	ND	1,20	1,3	Restaino i sur. (2009)
Strow silage with cereals Silaža slame i žitarica	157	40	146	41	0,92	5,00	23,00	7,0	Liu i Han (2006)
Corn stover Stabljika i list kukuruza	61	15	49	24	0,92	ND	1,90	ND	Fassio i sur. (2014)
Maize plant fresh Biljka kukuruza svježa	76	34	69	45	0,87	ND	1,50	3,1	Marchesini i sur. (2017)
Maize silage fresh Kukuruzna silaža svježa	241	5	24	12	0,73	1,00	1,30	ND	Maslovarić i sur. (2013)

*, g/kg dry matter; N, number of samples; Min, minimal value; Max, maximal value; SD, standard deviation; R², coefficient of determination; SEC, standard error of calibration; SECV, standard error of cross-validation; SEP, standard error of prediction; GCM, grass clover mixture, ND, not determined

*, g/kg suhe tvari; N, broj uzoraka; Min, minimalna vrijednost; Max, maksimalna vrijednost; R² koeficijent determinacije; SEC, standardna greška kalibracije; SECV, standardna greška unakrsne validacije; SEP, standardna greška procjene; DTS, djetelinsko travna smjesa; ND, nije utvrđeno

kalibracijske modele za procjenu sadržaja minerala NIR spektroskopijom treba ocjenjivati koeficijentom varijacije (CV), a ne R² (Adriansz i sur., 2017). Međutim, procjena sadržaja minerala NIR spektroskopijom je moguća radi kompleksa formiranih sa organskim spojevima, od kojih se mnogi razlikuju među vrstama (Andueza i sur., 2011).

Najniži prikazani R² za procjenu sadržaja pepela NIR spektroskopijom (Shenk i sur., 2001), (R²=0,73) je utvrđen za krmu brdsko planinskih pašnjaka (Parrini i sur., 2019), travnu silažu (Restaino i sur., 2009) i svježu kukuruznu silažu (Maslovarić i sur., 2013). Najviša prikazana vrijednost R² za procjenu sadržaja pepela od

0,95 je utvrđena za talijanski ljulj korištenjem samo 75 uzoraka (Bezada i sur., 2017). Norris i sur. (1976) navode da bi za procjenu kemijskog sastava različitih biljnih vrsta NIR spektroskopijom trebalo razvijati pojedinačne jednačbe za svaku biljnu vrstu, a poželjno i za pojedine biljne komponente (listovi i stabljike) čime bi se povećala pouzdanost razvijenog modela.

Procjena sadržaja sirovih proteina u voluminoznoj krmi NIR spektroskopijom

Proteini u voluminoznoj krmi predstavljaju zbir «pravih» proteina i neproteinskog dušika. Prema Stuth i

sur. (2003), ukupni dušik (N) ili sadržaj SP (% N \times 6,25) (AOAC 1990, ID 954.01) je najčešći i najvažniji kemijski parametar u uzorcima, ne samo voluminozne krme nego i svih ostalih krmiva koja se koriste u hranidbi domaćih životinja. Voluminozna krma koja ima visoki sadržaj SP obično ima i visoki sadržaj energije, potiče proizvodnju mlijeka i sadržaj SP u mlijeku (Mäntysaari i sur., 2004). Sa odgađanjem roka košnje opada sadržaj SP i energije u voluminoznoj krmi, pa ih je najčešće potrebno dodavati korištenjem drugih krmiva kako bi se zadovoljile hranidbene potrebe životinja i održalo zdravlje stada (Vranić i sur., 2005a).

U tablici 3 prikazani su kalibracijski modeli za procjenu sadržaja SP u voluminoznoj krmi NIR spektroskopijom.

Murry (1993) navodi da je sadržaj SP jedan od kemijskih parametara koji se NIR spektroskopijom može procijeniti s visokom pouzdanošću. Jedan od razloga može biti jaka apsorpcija N-H u NIR području (Stuth i sur., 2003). Murry (1993) navodi da je preciznija procjena sadržaja N ili SP u nefermentiranoj voluminoznoj krmi u odnosu na fermentiranu radi razgradnje proteina tijekom fermentacije u silosu, gubitaka hlapivih komponenata ili poteškoća prilikom uzimanja više ili manje vlažnih uzoraka fermentirane voluminozne krme.

Navedeno je djelomično potvrđeno ovim radom u kojem su vidljive (Tablica 2) približno iste visoke razine pouzdanosti razvijenih kalibracijskih modela za procjenu sadržaja SP NIR spektroskopijom u voluminoznoj krmi, ali neovisne o vrsti krme, broju uzoraka, rasponu sadržaja SP unutar kalibracijskog seta te prezentiranog uzorka (svježa, osušena ili fermentirana voluminozna krma). Od 18 prikazanih razvijenih kalibracijskih modela za procjenu sadržaja SP u voluminoznoj krmi NIR spektroskopijom (Tablica 2) kod 15 je prikazana visoka razina pouzdanosti procjene ($R^2 > 0,9$). U jednom od prvih radova procjene sadržaja SP NIR spektroskopijom (Norris i sur., 1976), navedena je SEP vrijednost za sadržaj SP u voluminoznoj krmi 9,5 dok su u ovom radu prikazane niže SEP vrijednosti (Tablica 2) kod prikazanih 10 od ukupno 14 istraživanja. Pravilno uzimanje uzoraka silaže je puno teže nego uzimanje uzoraka sijena radi visokog udjela

vlage silaže i njenom brзом kvarenju nakon izuzimanja iz silosa, pa je procjena kemijskog sastava silaže često manje točna u usporedbi sa sijenom (Murry, 1993). U ovom radu je korištenjem 46 uzoraka sijena razvijena pouzdana kalibracija ($R^2=0,98$, SEP=9) (Andueza i sur. (2016), a manje pouzdana korištenjem 241 uzorka kukuruzne silaže ($R^2=0,88$) (Maslovarić i sur., 2013) (Tablica 3). Korištenjem samo 75 uzoraka talijanskog lјulja (Bezada i sur., 2017) razvijena je pouzdana kalibracija za procjenu sadržaja SP NIR spektroskopijom s vrijednostima R^2 , SEC i SEP koje su iznosile 0,98; 10,2 i 11,9 respektivno, a korištenjem 403 uzorka talijanskog lјulja razvijena je također visoko pouzdana kalibracija procjene sadržaja SP ($R^2=0,99$), ali nižih vrijednosti SEC, SECV i SEP koje su iznosile 5,6; 6,8 i 8,95 respektivno (Yang i sur., 2017) (tablica 3).

Procjena sadržaja neutralnih detergent vlakana u voluminoznoj krmi NIR spektroskopijom

Neutralna detergent vlaknina (NDV) u voluminoznoj krmi predstavlja sadržaj celuloze, hemiceluloze i lignina tj. strukturnih vlakana koja izgrađuju stanične stjenke (Van Soest i sur., 1991). NDV i KDV se koriste za procjenu sadržaja energije i probavljivosti krme (Van Soest i sur., 1991). Fizički reguliraju konzumaciju ST po volji jer utječu na volumen hrane i neophodno vrijeme preživljanja te su u pozitivnoj korelaciji s duljinom probavljanja hrane, a u negativnoj s probavljivošću krme (Agbagla-Dohnani i sur., 2001), sadržajem energije krme i konzumacijom krme (Pino i sur., 2018). Procjena sadržaja neutralnih detergent vlakana (NDV) u voluminoznoj krmi NIR spektroskopijom je prikazana u tablici 4.

Točna procjena sadržaja vlakana u krmi je od velike važnosti jer je u pozitivnoj korelaciji sa sadržajem energije krme. U ranijim su istraživanjima razvijene kalibracijske jednadžbe visokog stupnja korelacije (R^2) za NDV i KDV u voluminoznoj krmi (Tablica 3) prihvatljive ($R^2=0,7-0,9$) do visoke razine pouzdanosti ($R^2 > 0,9$) (Stuth i sur., 2003).

Broj uzoraka korištenih za razvoj kalibracije za procjenu NDV i KDV za voluminoznu krmu je u ovom radu varirao od 46 (Andueza i sur., 2016) do 920 (Ibáñez i Alomar, 2008).

Table 3. Crude protein prediction in forage by NIR spectroscopy**Tablica 3.** Procjena sadržaja sirovih proteina u voluminoznoj krmi NIR spektroskopijom

Forage type Vrsta krme	Calibration set Kalibracijski set				Equation developed Razvijena jednačba				Authors Autori
	N	Min*	Max*	SD*	R ²	SEC*	SECV*	SEP*	
<i>Lolium multiflorum</i> Talijanski ljulj	403	45	306	58	0,99	5,60	6,80	8,58	Yang i sur. (2017)
<i>Lolium multiflorum</i> Talijanski ljulj	75	85	242	50	0,98	10,2	ND	11,90	Bezada i sur. (2017)
Ryegrass Engleski ljulj	182	57	357	ND	0,99	0,81	1,04	ND	Ullmann i sur. (2017)
Semi-natural grassland Poluprirodni travnjak	150	106	210	33	0,98	4,87	6,13	5,97	Vranić i sur. (2016)
Semi-natural grassland Poluprirodni travnjak	104	64	169	16	0,95	ND	ND	7,86	Vranić i sur. (2010)
Semi-natural grassland fresh Poluprirodni travnjak svježi	971	45	381	9	0,99	1,06	1,12	0,90	Andueza i sur. (2016)
Hilly mountain pasture Brdsko planinski pašnjaci	100	111	267	47	0,95	1,23	2,14	ND	Parrini i sur. (2019)
Grass & legumes Trave i mahunarke	884	50	280	45	0,98	6,0	6,74	11,38	Andueza i sur. (2011)
Grass, legumes, cereals Trave, mahunarke i žitarice	610	240	371	61	0,98	ND	9,80	18,00	Garcia i Cozzolino (2006)
Legume teder Mahunarka teder	91	92	230	34	0,98	ND	5,10	5,20	Adriansz i sur. (2017)
Grass silage Travna silaža	837	45	253	32	0,97	5,75	6,69	ND	Ibáñez i Alomar (2008)
Haylage fresh Sjenaža svježa	103	72	152	ND	0,94	ND	ND	6,64	Vranić i sur. (2005b)
Strow silage with cereals Silaža slame i žitarica	157	48	201	26	0,95	0,70	0,70	8,00	Liu i Han (2006)
Haylage (grass, legume, GCM) Sjenaža (trave, mahunarke, DTS)	60	58	243	41	0,81	ND	20,00	17,00	Restaino i sur. (2009)
Hay Sijeno	46	75	225	6	0,98	ND	ND	9,00	Andueza i sur. (2016)
Maize plant Biljka kukuruza	450	29	98	12	0,93	2,90	3,20	3,30	Campo i sur. (2013)
Maize plant fresh Biljka kukuruza svježa	76	53	93	10	0,87	ND	2,00	2,50	Marchesini i sur. (2017)
Maize silage fresh Kukuruzna silaža svježa	241	69	94	3	0,88	9,00	11,00	ND	Maslovarić i sur. (2013)

* , g/kg dry matter; N, number of samples; Min, minimal value; Max, maximal value; SD, standard deviation; R², coefficient of determination; SEC, standard error of calibration; SECV, standard error of cross-validation; SEP, standard error of prediction; GCM, grass clover mixture, ND, not determined

* , g/kg suhe tvari; N, broj uzoraka; Min, minimalna vrijednost; Max, maksimalna vrijednost; R² koeficijent determinacije; SEC, standardna greška kalibracije; SECV, standardna greška unakrsne validacije; SEP, standardna greška procjene; DTS, djetelinsko travna smjesa; ND, nije utvrđeno

Table 4. Neutral detergent fibre prediction in forage by NIR spectroscopy**Tablica 4.** Procjena sadržaja neutralnih detergent vlakana u voluminoznoj krmi NIR spektroskopijom

Forage type Vrsta krme	Calibration set Kalibracijski set				Equation developed Razvijena jednačba				Authors Autori
	N	Min*	Max*	SD*	R ²	SEC*	SECV*	SEP*	
Ryegrass Engleski ljulj	262	365	734	ND	0,91	20,8	ND	23,8	Ullmann i sur. (2017)
<i>Lolium multiflorum</i> Talijski ljulj	403	213	605	95	0,94	16,20	22,30	42,50	Yang i sur. (2017)
<i>Lolium multiflorum</i> Talijski ljulj	75	520	665	31	0,95	10,10	ND	12,50	Bezada i sur. (2017)
Semi-natural grassland Poluprirodni travnjak	150	382	658	72	0,90	21,17	24,36	25,42	Vranić i sur. (2016)
Semi-natural grassland Poluprirodni travnjak	876	356	765	79	0,95	17,31	18,44	14,60	Andueza i sur. (2016)
Hilly mountain pasture Brdsko planinski pašnjaci	100	358	658	72	0,84	3,49	4,00	ND	Parrini i sur. (2019)
Grass, legumes, cereals Trave, mahunarke i žitarice	151	447	756	97	0,86	ND	54,00	82,00	Garcia i Cozzolino (2006)
Legume teder Mahunarka teder	92	251	655	80	0,84	ND	34,30	33,80	Adriansz i sur. (2017)
Haylage (grass, legumes, GCM) Sjenaža (trave, mahunarke, DTS)	60	353	793	105	0,75	66,00	ND	81,00	Restaino i sur. (2009)
Grass silage Travna silaža	761	333	833	71	0,96	140,10	160,00	ND	Ibáñez i Alomar (2008)
Strow silage with cereals Silaža slame i žitarica	157	447	740	55	0,85	18,00	22,00	21,00	Liu i Han (2006)
Sijeno poluprirodnih travnjaka	46	435	767	78	0,97	ND	ND	13,70	Andueza i sur. (2016)
Corn stover Stabljika kukuruza i list	61	331	726	124	0,92	ND	58,40	ND	Fassio i sur. (2014)
Maize plant Biljka kukuruza	450	308	634	54	0,91	16,10	16,80	15,20	Campo i sur. (2013)
Maize plant fresh Biljka kukuruza svježa	76	386	462	41	0,95	ND	7,90	29,20	Marchesini i sur. (2017)
Maize silage fresh Kukuruzna silaža svježa	241	106	219	15	0,89	12,10	15,00	ND	Maslovarić i sur. (2013)

*, g/kg dry matter; N, number of samples; Min, minimal value; Max, maximal value; SD, standard deviation; R², coefficient of determination; SEC, standard error of calibration; SECV, standard error of cross-validation; SEP, standard error of prediction; GCM, grass clover mixture, ND, not determined

*, g/kg suhe tvari; N, broj uzoraka; Min, minimalna vrijednost; Max, maksimalna vrijednost; R² koeficijent determinacije; SEC, standardna greška kalibracije; SECV, standardna greška unakrsne validacije; SEP, standardna greška procjene; DTS, djetelinsko travna smjesa; ND, nije utvrđeno

Prvi rezultati procjene sadržaja NDV i KDV NIR spektroskopijom u voluminoznoj krmi (Norris i sur., 1976), prikazuju SEP za NDV i KDV od 31 i 25 respektivno. U ovom pregledu (Tablica 4) je SEP za NDV varirao od 12,50 za talijanski ljulj (Bezada i sur., 2017) do 82,00 za trave, mahunarke i žitarice (Garcia i Cozzolino, 2006).

Procjena sadržaja kiselih detergent vlakana u voluminoznoj krmi NIR spektroskopijom

Kisela detergent vlaknina (ADF) predstavljaju sadržaj neprobavljivih biljnih komponenti u krmi. Sadrže uglavnom celulozu i lignin.

Procjena sadržaja neutralnih detergent vlakana (NDV) u voluminoznoj krmi NIR spektroskopijom je prikazana u tablici 5.

U ovom pregledu (Tablica 5) je SEP za KDV varirao od 3,6 za talijanski ljulj (Yang i sur., 2017) do 48,0 za sjenažu različitih trava, mahunarki, DTS-a, TDS-a (Restaino i sur., 2009). Najviša R^2 (0,97) i niska SEP (9,6) je u ovom pregledu prikazana za procjenu KDV u sijenu korištenjem samo 45 uzoraka (Andueza i sur. 2016). Najniža SEP (3,6) je u ovom pregledu prikazana za talijanski ljulj, ali je R^2 iznosio 0,92 korištenjem 402 uzorka talijanskog ljulja (Yang i sur., 2017).

Table 5. Acid detergent fibre prediction in forage by NIR spectroscopy

Tablica 5. Procjena sadržaja kiselih detergent vlakana u voluminoznoj krmi NIR spektroskopijom

Forage type Vrsta krme	Calibration set Kalibracijski set				Equation developed Razvijena jednadžba				Authors Autori
	N	Min*	Max*	SD*	R^2	SEC*	SECV*	SEP*	
<i>Lolium multiflorum</i> Talijanski ljulj	403	117	362	61	0,92	1,6	1,7	3,6	Yang i sur. (2017)
Semi-natural grassland fresh Poluprirodni travnjak svježi	876	150	464	57	0,96	12,1	13,4	12,8	Andueza i sur. (2016)
Hilly mountain pasture Brdsko planinski pašnjaci	100	213	488	62	0,84	2,6	2,8	ND	Parrini i sur. (2019)
Grass, legumes, cereals Trave, mahunarke i žitarice	151	227	484	111	0,86	ND	20,0	38,0	Garcia i Cozzolino (2006)
Legume teder Mahunarka teder	88	174	504	62	0,98	ND	10,7	13,2	Adriansz i sur. (2017)
Grass silage mostly perennial ryegrass Travna silaža uglavnom engleski ljulj	434	215	525	45	0,97	7,9	9,2	ND	Ibáñez i Alomar (2008)
Haylage (grass, legumes, GCM) Sjenaža (trave, mahunarke, DTS)	120	227	661	89	0,80	ND	40,0	48,0	Restaino i sur. (2009)
Strow silage with cereals Silaža slame i žitarica	157	178	509	52	0,84	20,0	20,0	20,0	Liu i Han (2006)
Hay Sijeno	46	240	437	51	0,97	ND	ND	9,6	Andueza i sur. (2016)
Corn stover Stabljika i list kukuruza	61	67	254	40	0,85	ND	16,5	ND	Fassio i sur. (2014)
Maize plant Biljka kukuruza	450	166	365	34	0,92	10,0	10,0	11,0	Campo i sur. (2013)
Maize plant fresh Biljka kukuruza svježa	76	193	343	28	0,90	ND	5,8	21,3	Marchesini i sur. (2017)

*, g/kg dry matter; N, number of samples; Min, minimal value; Max, maximal value; SD, standard deviation; R^2 , coefficient of determination; SEC, standard error of calibration; SECV, standard error of cross-validation; SEP, standard error of prediction; GCM, grass clover mixture, ND, not determined

*, g/kg suhe tvari; N, broj uzoraka; Min, minimalna vrijednost; Max, maksimalna vrijednost; R^2 koeficijent determinacije; SEC, standardna greška kalibracije; SECV, standardna greška unakrsne validacije; SEP, standardna greška procjene; DTS, djetelinsko travna smjesa; ND, nije utvrđeno

Procjena pH vrijednosti fermentirane voluminozne krme NIR spektroskopijom

Vrijednost pH je osnovni kemijski parametar kvalitete fermentacije u silosu koji ovisi o koncentraciji kiselina u fermentiranoj voluminoznoj krmi. Prilikom siliranja biljne mase, cilj je u što kraćem vremenu postići što nižu pH vrijednost i zadržati je na niskoj razini do trenutka hranidbe čime se sprječava fermentacija klostrija koje su kritične u proizvodnji silaže (Pettersson i Lindgren, 1990).

Dobra silaža, proizvedena hladnim postupkom fermentacije, ima pH vrijednost 3.8 - 4.1. Vrijednost pH silaže iznad 4.5 ukazuje na slabu kvalitetu fermentacije u silosu (Chamberlain i Wilkinson, 1996).

Provenute silaže, uključujući sjenaze silirane u bale ovijene plastičnom folijom, radi manjeg sadržaja vode imaju ograničenu fermentaciju, pa se stabiliziraju kod veće pH vrijednosti nego neprovenute. Ako vlažna silaža ima pH vrijednost veću od 4.5, nestabilna je i biti će podvrgnuta sekundarnoj fermentaciji tj. pH vrijednost će vremenom rasti i može doseći čak pH 7.

U tablici 6 nalaze se rezultati procjene pH vrijednosti fermentirane voluminozne krme NIR spektroskopijom.

Reeves i sur. (1989) su zaključili da se NIR spektroskopijom neprecizno procjenjuje pH vrijednost uzoraka fermentirane voluminozne krme čime se prije provedbe kemijskih analiza u laboratoriju stvara orijentaciona slika kvalitete fermentacije u silosu.

Prikazane vrijednosti R^2 za procjenu pH vrijednosti fermentirane voluminozne krme su iznosile od 0,7 (Restaino i sur., 2009) do 0,98 (Park i sur., 1998) čime se svrstavaju u prihvatljive do visoko prihvatljive, odnosno pouzdane kalibracije za procjenu pH vrijednosti (Stuth i sur., 2003).

Brojni čimbenici utječu na kemijski sastav voluminozne krme od zrelosti usjeva u trenutku košnje (rok košnje), plodnosti i strukture tla, vrste, sorte, varijeteta biljnog materijala, agrotehnologije proizvodnje, tehnologije konzerviranja i skladištenja, prisutnih korova i anti-hranidbenih čimbenika, mikroklimatskih čimbenika uzgoja te primjenjene tehnologije skladištenja.

Točnost procjene kemijskog sastava voluminozne krme NIR spektroskopijom je ovisna o sličnosti uzoraka korištenih za razvoj kalibracije i uzoraka nepoznatog kemijskog sastava čiji se kemijski sastav procjenjuje (Corson i sur., 1999). Stoga se točni i precizni kalibracijski modeli procjene kemijskog sastava voluminozne krme razvijaju za svaku vrstu voluminozne krme posebno (Corson i sur., 1999; Simeone i sur., 2015).

Unutar iste vrste voluminozne krme, pouzdanost razvijenog predikcijskog modela se povećava sa smanjenjem broja biljnih vrsta u tratini (Cozzolino i Labandera, 2002), raspona vrijednosti pojedinih kemijskih parametara (Campo i sur., 2013). Međutim, nizak R^2 može biti rezultat preuskog raspona vrijednosti pojedinog

Table 6. pH value prediction in forage by NIR spectroscopy

Tablica 6. Procjena pH vrijednosti voluminozne krme NIR spektroskopijom

Forage type Vrsta krme	Calibration set Kalibracijski set				Equation developed Razvijena jednadžba				Authors Autori
	N	Min*	Max*	SD*	R^2	SEC*	SECV*	SEP*	
Lolium multiflorum silage Silaža talijanskog ljulja	756	3,51	5,02	0,26	0,78	0,12	0,14	ND	Ibáñez i Alomar (2008)
Grass, legume, GLM silage Silaža trava, djetelina, DTS	60	3,60	8,50	0,94	0,70	ND	0,34	0,67	Restaino i sur. (2009)
Strow silage with cereals Silaža slame i žitarica	157	3,60	5,23	0,34	0,96	0,05	0,06	0,09	Liu i Han (2006)

N, number of samples; Min, minimal value; Max, maximal value; SD, standard deviation; R^2 , coefficient of determination; SEC, standard error of calibration; SECV, standard error of cross-validation; SEP, standard error of prediction; GCM, grass clover mixture, ND, not determined.

N, broj uzoraka; Min, minimalna vrijednost; Max, maksimalna vrijednost; R^2 koeficijent determinacije; SEC, standardna greška kalibracije; SECV, standardna greška unakrsne validacije; SEP, standardna greška procjene; DTS, djetelinsko travna smjesa; ND, nije utvrđeno

parametra, npr. za pH (3,6-4,2) (Corson i sur., 1999).

Za razvoj kalibracija za NIR aparat preporuča se koristiti uzorke što šireg raspona očekivanih varijabilnosti čime razvijena kalibracija potencijalno ima širu primjenu u praksi (Fassio i sur., 2014), ali to može rezultirati manje pouzdanim rezultatima procjene u usporedbi s ograničenom populacijom uzoraka za razvoj kalibracije koja obuhvaća samo neke od varijabilnosti.

Odluka o načinu razvoja i primjeni kalibracija ovisi o prihvatljivoj pogrešci procjene te razini do koje ona može kompenzirati brzinu provođenja analize i cijenu rezultata analize (Ibáñez i Alomar 2008).

Procjena hranidbene vrijednosti svježe voluminozne krme (bez sušenja i mljevenja) smanjuje cijenu koštanja analize NIR spektroskopijom. U ranijim istraživanjima je utvrđena niža pouzdanost korištenja NIR spektroskopije za procjenu kemijskog sastava svježe voluminozne krme (bez sušenja i mljevenja) u usporedbi s osušenom i samljevenom voluminoznom krmom (Sinnaeve i sur., 1994; Fernandes, 2015; Parrini i sur., 2019) što je obrazloženo utjecam vlage i većih čestica svježe voluminozne krme na NIR spektar. Osim toga, veća je heterogenost svježe voluminozne krme u usporedbi s osušenom i samljevenom, a kod svježe fermentirane krme se greška kalibracije povećava s povećanjem sadržaja vlage i hlapivih masnih kiselina u krmu (Shenk i Westerhouse, 1994; Vranić i sur., 2005b).

ZAKLJUČCI

NIR spektroskopija je brza, nedestruktivna, relativno jeftina i ekološki potpuno prihvatljiva metoda procjene kemijskog sastava voluminozne krme. Svaki se parametar (fizikalni, kemijski, biološki) može procijeniti NIR spektroskopijom. Pouzdanost razvijenih kalibracija je ovisna o korištenom kalibracijskom setu uzoraka (broj i varijabilnost korištenih uzoraka), njegovoj sličnosti s uzorcima nepoznatog kemijskog sastava koji će se u budućnosti analizirati, kemijskom parametru koji se procjenjuje te o točnosti i preciznosti utvrđivanja kemijskog sastava kalibracijskih setova klasičnim kemijskim metodama.

Da bi se proširila primjenjivost kalibracijskog seta dobro je za razvoj kalibracije koristiti uzorke iz više godina istraživanja, više otkosa tijekom jedne vegetacijske sezone i više područja uzgoja, a u cilju povećanja pouzdanosti kalibracijskog modela razvijaju se kalibracije za pojedine biljne vrste, otkose unutar vegetacijske sezone kao i za pojedine mikroklimite uzgoja.

LITERATURA

- Adriansz, T.D., Hardy, J.L.M., Milton, J.T.B., Oldham, C.M., Rea, D. (2017) Near infrared analysis for nutritive attributes of tедера (Bituminaria bituminosa var. albomarginata). *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 25 (3), 215–218.
- Agbagla-Dohnani, A., Noziere, P., Clement, G., Doreau, M. (2001) In sacco degradability, chemical and morphological composition of 15 varieties of European rice straw. *Animal Feed Science and Technology*, 94 (1-2), 15–27.
- Andreu-Rodriguez, J., Perez-Espinosa, A., Moral, R., Agullo, E., Fernandez-Villena, M., Fernandezgarcia, M., Bustamante, M. (2017) Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) for the assessment of biomass production and C sequestration by *Arundo donax* L. in salt-affected environments. *Agricultural Water Management*, 183 (3), 94-100. [Online] Available at: <https://zaguan.unizar.es/record/84002/files/BOOK-2019-046.pdf> [Accessed 20 February 2020].
- Andueza, D., Picard, F., Jestin, M., Andrieu, J., Baumont, R. (2011) NIRS prediction of the feed value of temperate forages: efficacy of four calibration strategies. *Animal*, 5 (7), 1002–1013.
- Andueza, D., Picard, F., Martin-Rosset, W., Aufrère, J. (2016) Near-Infrared Spectroscopy Calibrations Performed on Oven Dried Green Forages for the Prediction of Chemical Composition and Nutritive Value of Preserved Forage for Ruminants. *Applied Spectroscopy*, 70 (8), 1321-1327.
- AOAC (1990) Official methods of the association of analytical chemists, Vol. 2, 15th Edition. Arlington, Virginia, USA, MD: AOAC International.
- Ariza-Nieto, C., Mayorga, O.L., Mojica, B., Parra, D., Afanador-Tellez, G. (2018) Use of LOCAL algorithm with near infra red spectroscopy in forage resources for grazing systems in Colombia. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 26 (1), 44–52.
- Bezada, S. Q., Arbaiza, T. F., Carcelén, F. C., San Martin, F. H., López, C. L., Rojas, J. E., Rivadeneira, V., Epezúa, O. F., Guevara, J. V., Vélez, V. M. (2017) Predicción de la composición química y fibra detergente neutro de Rye Grass Italiano (*Lolium multiflorum* Lam) mediante espectroscopía de reflectancia en infrarrojo cercano (NIRS). *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 28 (3), 538-548. DOI: <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v28i3.13357>
- Campo, L., Monteagudo, A. B., Salleres, B., Castro, P., Moreno-Gonzalez, J. (2013) NIRS determination of non-structural carbohydrates, water soluble carbohydrates and other nutritive quality traits in whole plant maize with wide range variability. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 11 (2), 463-471. DOI: <http://dx.doi.org/10.5424/sjar/2013112-3316>
- Cen, H., He, Y. (2007) Theory and application of near infrared reflectance spectroscopy in determination of food quality. *Trends in Food Science and Technology*, 18 (2), 72-83. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2006.09.003>

- Chamberlain, A.T., Wilkinson, J.M. (1996) Feeding the Dairy Cow. Lincoln, Chalcombe Publications.
- Corson, D.C., Waghorn, G.C., Ulyatt, M.J., Lee, J. (1999) NIRS: Forage analysis and livestock feeding. Proceedings of the New Zealand Grassland Association, Hawkes Bay, New Zealand, 61, 127–132. [Online] Available at: https://www.grassland.org.nz/publications/nzgrassland_publication_507.pdf [Accessed 15 February 2020].
- Cozzolino, D., Fassio, A., Gimenez, A. (2000) The use of near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to predict the composition of whole maize plants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81 (1), 142–146. DOI: [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1097-0010\(20010101\)81:1%3C142::AID-JSFA790%3E3.0.CO;2-I](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1097-0010(20010101)81:1%3C142::AID-JSFA790%3E3.0.CO;2-I)
- Cozzolino, D., Labandera, M. (2002) Determination of dry matter and crude protein contents of undried forages by near-infrared reflectance spectroscopy. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82 (4), 380–384. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.1050>
- Dale, L.M., Thewis, A., Boudry, C., Rotar, I., Dardenne, P., Baeten, V., Fernandez Pierna, J.A. (2013) Hyperspectral imaging applications in agriculture and agro-food product quality and safety control: A Review. *Applied Spectroscopy Reviews*, 48 (2), 142–159. DOI: <https://doi.org/10.1080/05704928.2012.705800>
- Donnelly, D. M., Dórea, J. R. R., Yang, H., Combs, D. K. (2018) Technical note: Comparison of dry matter measurements from handheld near-infrared units with oven drying at 60°C for 48 hours and other on-farm methods. *Journal of Dairy Science*, 101 (11), 9971–9977. DOI: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2017-14027>
- Durmic, Z., Ramírez-Restrepo, C. A., Gardiner, C., O'Neill, C. J., Hussein, E., Vercoe, P. E. (2017) Differences in the nutrient concentrations, *in vitro* methanogenic potential and other fermentative traits of tropical grasses and legumes for beef production systems in northern Australia. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97 (12), 4075–4086. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.8274>
- Fassio, A., Restaino, E., Cozzolino, D. (2014) Prediction of fiber fractions, ash and organic matter digestibility in untreated maize stover by near infrared reflectance spectroscopy. *Animal Science*, 42 (1), 81–86. DOI: <https://doi.org/10.4206/agrosur.2014.v42n1-09>
- Fernades, A. M. F. (2015) Uso da espectroscopia de reflectância do infravermelho próximo (NIRS) para previsão da composição bromatológica de vagens de algaroba e palma forrageira. Doctoral Dissertation, Universidade Estadual Vale do Acaraú, Sobral. [Online] Available at: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1055858> [Accessed 30 January 2020].
- Garacia, J., Cozzolino, D. (2006) Use of near infrared reflectance (NIR) spectroscopy to predict chemical composition of forages in broadbased calibration models. *Agricultura Técnica*, 66 (1), 41–47. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0365-28072006000100005>
- Helliwell, S.H. (1986) The use of NIR and HPLC for prediction of silage quality. Master Thesis. Aberdeen: University of Aberdeen.
- Howerd, M. (2001) Data Analysis: Multilinear Regression and Principal Component Analysis. In: Burns D.A., Ciurczak, E.W., eds. *Handbook of Near-Infrared Analysis*, second edition, New York: Marcel Dekker Inc., 129–184.
- Ibáñez, L. S., Alomar, D. (2008) Prediction of the chemical composition and fermentation parameters of pasture silage by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *Chilean Journal of Agricultural Research*, 68 (4), 352–359. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392008000400005>
- Jancewicz, L.J., Swift, M.L., Penner, G.B., Beauchemin, K.A., Koenig, K.M., Chibisa, G.E., He, M.L., McKinnon, J.J., Yang, W.-Z., McAllister, T.A. (2017) Development of near-infrared spectroscopy calibrations to estimate fecal composition and nutrient digestibility in beef cattle. *Canadian Journal of Animal Science*, 97 (1), 51–64. DOI: <https://doi.org/10.1139/cjas-2016-0107>
- Jerome, J., Workman, Jr. (2001) NIR spectroscopy Calibration Basics. Burns, D.A., Ciurczak, E.W., eds. *Handbook of Near-Infrared Analysis*, second edition, New York: Marcel Dekker Inc., 91–128.
- Khan, Z.I., Ashraf, M., Hussain, A. (2007) Evaluation of Macro Mineral Contents of Forages: Influence of Pasture and Seasonal Variation. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 20 (6), 908–913. [Online] Available at: <https://www.ajas.info/upload/pdf/20-127.pdf> [Accessed 10 April 2020].
- Landau, S., Glasser, T., Dvash, L. (2006) Monitoring nutrition in small ruminants with the aid of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) technology: a review. *Small Ruminant Research*, 61 (1), 1–11. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2004.12.012>
- Liu, X., Han, L. (2006) Evaluation of near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) for predicting chemical composition of straw silage. *Journal of Animal Feed Science*, 15 (2), 329–336. DOI: <https://doi.org/10.22358/jafs/66904/2006>
- Mäntysaari, P., Huhtanen, P., Nousiainen, J., Virkki, M. (2004) The effect of concentrate crude protein content and feeding strategy of total mixed ration on performance of primiparous dairy cows. *Livestock Production Science*, 85 (2–3), 223–233. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/s0301-6226\(03\)00131-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0301-6226(03)00131-3)
- Marchesini, G., Serva, L., Garbin, E., Mirisola, M., Andrighetto, I. (2017) Near-infrared calibration transfer for undried whole maize plant between laboratory and on-site spectrometers. *Italian Journal of Animal Science*, 177 (1), 66–72. DOI: <https://doi.org/10.1080/1828051X.2017.1345660>
- Marijanušić, K., Manojlović, M., Bogdanović, D., Čibilovski, R., Lomkbaes, P. (2018) Mineral composition of forage crops in respect to dairy cow nutrition. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 23 (2), 204–212. [Online] Available at: <https://www.researchgate.net/publication/316959804> [Accessed 10 April 2020].
- Martens, H., Naes, T. (2001) *Multivariate calibration*. Chichester, UK: Wiley.
- Maslovarić, M., De la Roza-Delgado, B., Janković, S., Lević, J., Jovanović, R. (2013) Development of NIR calibration models to predict chemical composition and *in vitro* organic matter digestibility of maize silage. In: Lukić, M., Pavlovski, Z., eds. *Proceedings of 10th International Symposium „Modern Trends in Livestock Production“*, Belgrade, Serbia, 02–04 October 2013, pp. 1154–1164. [Online] Available at: <https://www.academia.edu/5237431> [Accessed 30 January 2020].
- Molano, M. L., Cortés, M. L., Ávila, P., Martens, S. D., Muñoz, L. S. (2016) Ecuaciones de calibración en espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) para predicción de parámetros nutritivos en forrajes tropicales. *Tropical Grasslands Forrajes Tropicales*, 4 (3), 139–145. DOI: [http://dx.doi.org/10.17138/TGFT\(4\)139-145](http://dx.doi.org/10.17138/TGFT(4)139-145)
- Murry, I. (1993) Forage analysis by near infrared spectroscopy. In: Davies, A., Baker, R. D., Grant, S. A., Laidlaw, A. S., eds. *Sward management handbook*. 2. edition, Reading, UK: The British Grassland Society, 285–312.

- Norris, K. H., Barnes, R. F., Moore, J. E., Shenk, J. S. (1976) Predicting forage quality by infrared reflectance spectroscopy. *Journal of Animal Science*, 43 (4), 889-897.
DOI: <https://doi.org/10.2527/jas1976.434889x>
- Park, R.S., Agnew, R.E., Gordon, F.J., Steen, R.W.J. (1998) The use of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) on undried samples of grass silage to predict chemical composition and digestibility parameters. *Animal Feed Science and Technology*, 72 (1-2), 155-167. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(97\)00175-2](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(97)00175-2)
- Parrini, S., Acciaioli, A., Crovetto, A., Bozzi, R. (2018) Use of FT-NIRS for determination of chemical components and nutritional value of natural pasture. *Italian Journal of Animal Science*, 17 (1), 87-91. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/1828051X.2017.1345659>
- Parrini, S., Acciaioli, A., Franci, O., Pugliese, C., Bozzi, R. (2019) Near Infrared Spectroscopy technology for prediction of chemical composition of natural fresh pastures. *Journal of Applied Animal Research*, 47 (1), 514-520. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/09712119.2019.1675669>
- Pettersson, K.L., Lindgren, S. (1990) The influence of the carbohydrate fraction and additives on silage quality. *Grass and Forage Science*, 45 (2), 223-233. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.1990.tb02202.x>
- Pino, F., Mitchell, L.C., Mowrey Jones, C., Judson Heinrichs, A. (2018) Comparison of diet digestibility, rumen fermentation, rumen rate of passage, and feed efficiency in dairy heifers fed *ad-libitum* versus precision diets with low and high quality forages. *Journal of Applied Animal Research*, 46 (1), 1296-1306. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/09712119.2018.1498788>
- Ramirez, J.A., Posada, J.M., Handa, I.T., Hoch, G., Vohland, M., Messier, C., Reu, B. (2015) Near-infrared spectroscopy (NIRS) predicts non-structural carbohydrate concentrations in different tissue types of a broad range of tree species. *Methods in Ecology and Evolution*, 6 (9), 1018-1025. DOI: <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12391>
- Reeves, J.B., Blosser, T.H., Colenbrander, V.F. (1989) Near infrared reflectance spectroscopy for analysing undried silage. *Journal of Dairy Science*, 72 (1), 79-88. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(89\)79082-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(89)79082-2)
- Restaino, E. A., Fernández, E.G., La Manna, A., Cozzolino, D. (2009) Prediction of the nutritive value of pasture silage by near infrared spectroscopy (NIRS). *Chilean Journal of Agricultural Research*, 69 (4), 560-566.
- Rotar, I., Păcurar, F.S., Vidican, R.M., Bogdan, A., Deak, D., Banto, E. (2012) Study of Floristic Composition of *Arnica montana* L. Grasslands Exploited Low-Input. *Bull UASVM, Agriculture*, 66 (1), 292-294. [Online] Available at: <http://journals.usamvcluj.ro/index.php/agriculture/article/view/8663/7337> [Accessed 30 January 2020].
- Shenk, J.S., Westerhaus, M.O. (1994) The application of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to forage analysis. In: Fahey, G.C., Jr., Collins, M., Mertens, D.R., Moser, L. E., eds. *Forage Quality Evaluation and Utilization*. Madison, American Society of Agronomy, Wisconsin, pp.406-449. DOI: <https://doi.org/10.2134/1994.foragequality.c10>
- Shenk, J.S., Westerhaus, M.O. (1996) Calibration the ISI way, in *Near Infrared Spectroscopy: The Future Waves*. In: Davies, A.M.C., Williams, P.C., eds. Chichester: NIR Publications, 198-202.
- Shenk, J.S., Workman, J.J., Westerhaus, M.O. (2001) Application of NIR spectroscopy to agricultural products. In: Burns, D.A., Ciurczak, E.W., eds. *Handbook of Near-Infrared Spectroscopy*. New York: Marcel Dekker Inc., 419-474.
- Simeone, M. L., Souza, G. B., Gontijo Neto, M. M., Guimarães, C. C., Medeiros, E., Barrocas, G. E. G., Pasquini, C. (2015) Use of NIR and PLS to Predict Chemical Composition of *Brachiaria*. In: Pasquini, C., ed. *International Conference on near Infrared Spectroscopy*, Foz do Iguaçu, Brasil, 18-23 October 2015, ICNIS, pp. 195. [Online] Available at: <https://proceedings.science/nir-abstracts/papers/use-of-nir-and-pls-to-predict-chemical-composition-of-brachiaria>. [Accessed 15 February 2020].
- Sinnaeve, G., Dardenne, P., Agneessens, R., Biston, R. (1994) The Use of near Infrared Spectroscopy for the Analysis of Fresh Grass Silage. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 2 (2), 79-84. DOI: <https://doi.org/10.1255/jnirs.34>
- Stuth, J., Jama, A., Tolleson, D. (2003) Direct and indirect means of predicting forage quality through near infrared reflectance spectroscopy. *Field Crops Research*, 84 (1), 45-56. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(03\)00140-0](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(03)00140-0)
- Ullmann, I., Herrmann, A., Hasler, M., Taube, F. (2017) Influence of the critical phase of stem elongation on yield and forage quality of perennial ryegrass genotypes in the first reproductive growth. *Field Crops Research*, 205 (1), 23-33. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.02.003>
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A. (1991) Method for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74 (10), 3583-3597. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)
- Vranić, M., Knežević, M., Perčulija, G., Leto, J., Bošnjak, K., Rupiĉ, I. (2004) Kvaliteta voluminozne krme na obiteljskim poljoprivrednim gospodarstvima u Republici Hrvatskoj. *Kvaliteta travne silaže na obiteljskim poljoprivrednim gospodarstvima*. *Mljekarstvo*, 54 (3), 165-174. [Online] Available at: <https://hrcak.srce.hr/1554> [Accessed 30 January 2020].
- Vranić, M., Knežević, M., Leto, J., Perčulija, G., Bošnjak, K., Kutnjak, H., Maslov, L. (2005a) Kvaliteta voluminozne krme na obiteljskim poljoprivrednim gospodarstvima u Republici Hrvatskoj: Monitoring kvalitete kukuruzne silaže tijekom dvije sezone zimske hranidbe muznih krava. *Mljekarstvo*, 55 (4), 269-282. [Online] Available at: <https://hrcak.srce.hr/492> [Accessed 30 January 2020].
- Vranić, M., Knežević, M., Seregély, Z., Bošnjak, K., Leto, J., Perčulija, G. (2005b) Prediction of Dry Matter and Crude Protein Content in Fresh Grass Silage by Near Infrared Spectroscopy. *Progress in Agricultural Engineering Sciences*, 1 (1), 57-75. DOI: <https://doi.org/10.1556/progress.1.2005.1.4>
- Vranić, M., Knežević, M., Leto, J., Bošnjak, K., Perčulija, G., Kutnjak, H., Knežić, L., Teskera, M. (2010) Procjena udjela sirovih proteina poluprirodnog travnjaka NIR spektroskopijom. In: Marić, S., Lončarić, Z. eds. *Proceedings of 45th Croatian and 5th International Symposium of Agriculture*. Opatija, Croatia, 15 - 19. February 2010, Faculty of Agriculture, University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek, pp. 950-954.
- Vranić, M., Bošnjak, K., Glavanović, S., Vinceković, M., Jareš, D., Cundić, A. (2016) Prediction of Chemical Composition from Semi-natural Grassland by NIR Spectroscopy. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 81 (1), 35-41. [Online] Available at: <https://hrcak.srce.hr/168586> [Accessed 20 February 2020].
- Vranić, M., Petek, M., Bošnjak, K., Lazarević, B., Carović-Stanko, K. (2019) Prediction of macro- and microelements content in Croatian common bean landraces (*Phaseolus vulgaris* L.) by NIR spectroscopy. *Poljoprivreda*, 25 (1), 48-55. DOI: <http://dx.doi.org/10.18047/poljo.25.1.7>

- Windham, R. G., Bartram, M. E., Koel, B. E. (1987) Summary Abstract: The influence of potassium on ethylene adsorption and decomposition. *Journal of Vacuum Science and Technology*, 5 (3), 457. DOI: <https://doi.org/10.1116/1.574689>
- Williams, P.C., Sobering, D.C. (1996) How do we do it: A brief summary of the methods we use in developing near infrared calibrations, in *Near Infrared Spectroscopy*: In: Davies, A.M.C., Williams, P.C., eds. *The Future Waves*, Chichester, NIR Publications, 185–188.
- Wittkop, B., Snowdon, R.J., Friedt, W. (2012) New NIRS calibrations for fiber fractions reveal broad genetic variation in *Brassica napus* seed quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60 (9), 2248–2256. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/jf204936f>
- Wu, L., Li, M., Huang, J., Zhang, H., Zou, W., Hu, S., Li, Y., Fan, C., Zhang, R., Jing, H., Peng, L., Feng, S. (2015) A near infrared spectroscopic assay for stalk soluble sugars, bagasse enzymatic saccharification and wall polymers in sweet sorghum. *Bioresource Technology*, 177 (2), 118–124. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.11.073>
- Yang, Z., Nie, G., Pan, L., Yang, Z., Huang, L., Ma, X., Zhang, X. (2017) Development and validation of near-infrared spectroscopy for the prediction of forage quality parameters in *Lolium multiflorum*. [Online] Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29018608/> [Accessed 20 February 2020].