

Utilização da Técnica da Espectroscopia e Reflectância do Infra-Vermelho Próximo (NIRS) na Determinação do Valor Nutricional da Dieta de Ovinos em Caatinga¹

Mônica Cox ²; Vânia R. Vasconcelos³; Enêas R. Leite³

RESUMO - Este trabalho foi conduzido para avaliar a técnica da Espectroscopia e Reflectância do Infra-vermelho Próximo (NIRS), na determinação do valor nutricional da dieta de ovinos em caatinga. Foram analisadas amostras de dieta (extrusa) e fezes, para os parâmetros Proteína Bruta (PB) e digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO). Os resultados das análises laboratoriais com as extrusas foram utilizados no desenvolvimento das equações de predição, através da leitura óptica com as amostras fecais. O Erro Padrão de Calibração (EPC) para PB e DIVMO foi de 1,682 e 3,572, respectivamente, sendo considerado dentro de limites aceitáveis para o NIRS. Os coeficientes de determinação (R^2) foram de 0,897 para PB e 0,851 para DIVMO, aceitáveis em resultados com ruminantes ao campo. Concluiu-se que o NIRS é uma técnica que pode ser usada na predição do valor nutritivo da dieta de ovinos em pastejo, em caatinga.

Palavras-chave: caatinga, NIRS, nutrição, ovinos, valor nutritivo.

Utilization of the Technique Nirs in Determination of Status Nutritional the Sheep Under Caatinga Vegetation

ABSTRACT - Research was conducted to evaluate the viability of the near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) technique in monitoring the nutritional status of sheep under caatinga vegetation conditions. Diet samples (extrusa) and corresponding fecal samples were collected. Diet samples were submitted to laboratory analysis and used as reference data, for crude protein (CP) and *in vitro* corrected digestible organic matter (DIVMO). The resulting data set and the fecal spectra were used to develop predictive equations. Standard errors of calibration (SEC) for CP and DIVMO were 1,682 and 3,572, being within acceptable limits for NIRS. Coefficients of determination (R^2) were 0,897 and 0,851 for CP and DIVMO, respectively, being above and beyond previous studies. The conclusion is that NIRS technique can be useful in predicting nutritional status of sheep under caatinga conditions.

Key Words: NIRS, sheep, nutrition, status nutritional

¹ Parte da Tese de Mestrado Apresentada pela Primeira Autora

² Mestranda UECE/FAVET [E-mail: mcox@cnpq.embrapa.br](mailto:mcox@cnpq.embrapa.br)

³ Pesquisadores Embrapa-Caprinos

Introdução

A ovinocultura é uma atividade plenamente integrada aos diferentes sistemas de produção pecuária, nas diversas regiões do mundo, sendo a espécie ovina constituída por inúmeras raças adaptadas aos mais diferentes climas do planeta. A adaptação da espécie aos climas quentes e secos dos trópicos semi-áridos implicou na perda da lã, além de outras modificações fisiológicas que tornaram os animais aptos, inclusive, a fazer bom aproveitamento das forragens de baixa qualidade, predominantes nessas regiões (OLIVEIRA e LIMA, 1994).

Segundo MARTIM (1982) e SANDFORD (1982), citados por OLIVEIRA (1990), apesar das limitações impostas pelo ecossistema, caprinos e ovinos em regiões semi-áridas oferecem aos habitantes dessas áreas proteínas de alto valor biológico sob a forma de carne e leite, além de servirem como capital de reserva e poderem ser comercializados para aquisição de outros gêneros alimentícios.

O valor forrageiro da vegetação nativa depende de sua qualidade, quantidade e disponibilidade, relativos à preferência animal e a habilidade para digeri-la. Embora sejam reconhecidas as deficiências nutritivas sofridas pelos animais, e o fato do número de ovinos ser bastante elevado nas regiões semi-áridas do Brasil, poucos estudos têm sido conduzidos enfocando seu status nutricional em condições de pastejo. Para otimizar a produção de pequenos ruminantes criados extensiva ou semi-extensivamente, torna-se necessário obter informações sobre o valor nutritivo da dieta selecionada a campo.

No Brasil, algumas pesquisas têm sido conduzidas para avaliar o valor nutritivo de forragens, mas quase todos os trabalhos não são suficientemente adequados para indicar um valor real para o alimento estudado.

Conseqüentemente, muitos conhecimentos sobre as variáveis que influenciam a qualidade da forragem derivam de pesquisas em zonas de clima temperado (COELHO da SILVA e SILVA, 1976).

Nos últimos anos, tem-se dado importante atenção ao uso da técnica NIRS, a qual tem sido amplamente utilizada em análises de forragens (HOLECHECK *et al.*, 1982^{a,b}, BARTON, 1986 e SHENK e WESTERHAUS, 1994). No Brasil, mais recentemente, a técnica vem sendo utilizada por diversos pesquisadores (MIRA *et al.*, 1996, DITTRICH *et al.*, 1996, PIRES *et al.*, 1997^a e 1998). Trabalhos como os de BROOKS III (1984), LYONS e STUTH (1992), LEITE (1993) e LEITE e STUTH (1995) têm utilizado esta técnica com sucesso na determinação do valor nutritivo da dieta de ruminantes, através do desenvolvimento de equações fecais. Neste contexto, o presente trabalho objetivou desenvolver uma técnica, de forma rápida e precisa, que determinasse o valor nutritivo de ovinos em pastoreio na caatinga, com vistas a implantar, de forma racional, programas de suplementação alimentar.

Material e Métodos

O presente trabalho foi conduzido na base física do Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos da EMBRAPA, localizado no Município de Sobral (CE) a 3° 42' de latitude Sul, 40° 21' de longitude Oeste, na zona fisiográfica do Sertão Cearense, à margem da estrada Sobral-Groaíras, Km 4, em uma altitude de 83 metros.

O solo da área experimental é do tipo bruno-não-cálcico vértico, textura argilosa cascalhenta, moderadamente drenado e profundo, de relevo plano e suavemente ondulado, coberto por uma vegetação caracterizada por caatinga sucessional,

hiperxerófila, com árvores de porte baixo a médio. A região possui um clima tipo Aw de savana, caracterizado por uma estação seca que se estende de julho a dezembro, com uma precipitação média de apenas 36,8 mm. A estação chuvosa (janeiro a junho) apresenta uma precipitação média de 722 mm (Relatório... 1989). A temperatura média anual situa-se em torno de 28°C, sendo as máximas e mínimas em torno de 35°C e 22°C, respectivamente. A média de umidade relativa do ar, durante o ano, é de 68% (Relatório... 1989).

Neste estudo, os espectros do IV próximo foram gerados através do material fecal, representando dietas em diferentes sistemas de manipulação da vegetação da caatinga. Os dados de referência do valor nutritivo foram obtidos, através das análises químicas das dietas coletadas em animais fistulados no esôfago.

As amostras constaram de extrusas e fezes de ovinos adultos mantidos em quatro áreas de caatinga, a saber: a) caatinga raleada sem adubação; b) caatinga raleada e adubada (100kgP₂O₅/ha); c) caatinga raleada sem adubação e enriquecida com capim gramão (*Cynodon dactylon* (L). Pers.); d) caatinga raleada, adubada (100kgP₂O₅/ha) e enriquecida com capim gramão (*Cynodon dactylon* (L). Pers.).

Cinco ovinos nativos, adultos, fistulados no esôfago, permaneceram 24 h antes da coleta para adaptação, e por 15 min durante os períodos de coleta nas áreas mencionadas anteriormente. A quantidade de amostras de extrusa coletadas esteve na proporção média com as de fezes de 1:5 (1extrusa:5 fezes). Estas amostras, representando a dieta consumida pelos animais, foram analisadas em laboratório para os parâmetros Proteína Bruta (PB) e Digestibilidade *in vitro* da Matéria Orgânica (DIVMO), segundo SILVA (1990), sendo denominadas amostras de referência ou de

laboratório.

As amostras fecais, utilizadas para obtenção dos espectros de reflectância durante o processo de calibração, foram coletadas de um rebanho de ovelhas nativas, não fistuladas, em pastejo nas diferentes áreas de caatinga manipulada, ao longo dos anos de 1994 a 1996, cobrindo-se uma variação considerável na qualidade da pastagem, e totalizando 217 amostras de fezes.

Após coletadas, as amostras foram pesadas e introduzidas na estufa de pré-secagem com ventilação forçada a 55-65°C por 48 horas, posterior ao qual foram moídas em partículas de 1 mm.

As amostras de extrusa foram submetidas a análises químicas para PB e DIVMO, segundo SILVA (1997). As amostras de fezes, antes de serem analisadas, foram novamente colocadas na estufa de ventilação forçada a 55-65°C por 12h, para estabilização do teor de umidade. Ao serem removidas foram colocadas em dessecador por 1 hora a fim de estabilizar a temperatura e a umidade com o ambiente. Durante este tempo, o espectroscópio permaneceu ligado com a mesma finalidade. As leituras ópticas foram realizadas utilizando-se uma quantidade de 5 a 10 g de cada amostra fecal. Os espectros gerados foram armazenados em forma de Log (1/R), transferidos a um microcomputador interligado ao espectroscópio.

Inicialmente, a leitura óptica compreendeu a utilização de 20 filtros de diferentes comprimentos de onda, os quais utilizaram como valores de referência os resultados laboratoriais.

Realizaram-se as análises de regressão, originando 20 constantes de calibração para cada parâmetro estudado (PB e DIVMO), o que resultou na seleção das amostras, totalizando 131 amostras para PB e 96 para DIVMO.

O processo de seleção de filtros/comprimentos de onda deu-se através do método estatístico PLS, o qual permitiu analisar a utilização de várias combinações de filtros (3 a 3, 4 a 4, até 7 a 7) e obter, com base nos valores de coeficiente de determinação (R^2), erro padrão de calibração (EPC) e F-estatístico, as melhores equações de calibração para os parâmetros PB e DIVMO.

Foram sorteadas, aleatoriamente, 50 e 47 amostras para a validação das equações de PB e DIVMO, respectivamente, sendo estas amostras provenientes do conjunto das amostras de calibração, as quais foram submetidas à leitura óptica por meio das equações previamente selecionadas, cuja finalidade consistiu em verificar a veracidade de ditas equações.

Uma vez obtidos os resultados da leitura óptica das fezes através das equações, procedeu-se a correlacioná-los com os valores indicados pelos métodos laboratoriais (valores de referência), através das análises das extrusas. Desta forma, obtiveram-se os valores de correlação (r^2), erro padrão de Validação Corrigido (EPV[C]), Bias e Slope, correspondentes às equações de calibração para cada um dos parâmetros analisados.

Resultados e Discussão

O total de amostras coletadas e analisadas no presente estudo foi superior ao indicado pelo NIR SOFTWARE MANUAL (1993), por SHENK et al. (1978) e WILLIAMS (1975) citado por BARNES (1980), sendo no entanto, inferior às amostras utilizadas por PEARCE et al. (1993), LEITE (1993) e LEITE e STUTH (1995).

Equação para Proteína Bruta

A quantidade de filtros/comprimentos de ondas selecionados para determinar a equação

para PB (quatro) foi menor que os utilizados por BROOKS III (1984), LEITE (1993) e LEITE e STUTH (1995) e maior que os valores publicados por HOLOCHEK et al. (1982^b) e WARD et al. (1982) e em quantidade similar, aos usados por LYONS e STUTH (1992). Quanto aos comprimentos de onda utilizados na elaboração da equação de calibração para PB (Tabela 1), os mesmos não estão em geral, de acordo com os comprimentos de onda indicados por MURRAY (1987^b) e DAVIS e GRANT (1987). No entanto, situam-se muito próximos aos valores utilizados por LEITE (1993) e LEITE e STUTH (1995), os quais indicam haver relação entre os comprimentos de onda utilizados e os constituintes químicos em questão.

A equação de regressão linear múltipla originada para as análises de PB, tem o seguinte modelo:

$$PB = 14,0 + 75,8 * \log_3 + 1093,3 * \log_6 + (-1097,7) * \log_9 + (-95,1) * \log_{19}$$

Onde os valores de \log_3 , \log_6 , \log_9 e \log_{19} são os tratamentos matemáticos das leituras óticas correspondentes aos filtros 3, 6, 9 e 19 selecionados, cujos comprimentos de onda são, respectivamente, 2310 nm, 2208 nm, 2139 nm e 1680 nm.

As análises de PB apresentaram valores compreendidos entre 5,18 e 25,07%, com uma média de 19,89%, em concordância com os valores encontrados por MALECHEK (1982), SCHACHT (1987) e SOUZA (1991), em estudos na região semi-árida do Brasil. O resultado estatístico de calibração (Tabela 1) gerou um R^2 de 0,897, o qual é superior ao valor encontrado por LYONS e STUTH (1992) em estudos com bovinos, e inferiores aos citados por LEITE (1993) e LEITE e STUTH (1995) ao estudarem o uso do NIRS em caprinos. Embora os procedimentos de coleta e análises tenham sido semelhantes aos estudos em questão, os R^2 destes trabalhos foram inferiores aos indicados por SHENK et al.

(1979). O EPC de 1,682 (Tabela 1), mostrou-se similar ao determinado por LEITE (1993) e LEITE e STUTH (1995) e superior ao valor encontrado por LYONS e STUTH (1992), sendo considerado dentro dos valores limites do NIRS.

A Figura 1, mostra graficamente a correlação entre os valores obtidos pelo método de referência (laboratório) com os respectivos valores preditos pelo NIRS na equação de calibração para PB.

A variação no valor do R² e EPC apresentados entre este e os trabalhos citados anteriormente, deve-se provavelmente às diferenças existentes entre os aparelhos utilizados e aos comprimentos de onda selecionados, estando todos dentro de valores considerados de alta correlação estatística, fato das análises terem sido efetuadas com ruminantes a campo.

As análises da validação para a equação de calibração para PB determinaram um EPV[C] e r², de 1,33 e 0,90, respectivamente

, sendo, portanto, muito próximos aos resultados publicados por LYONS e STUTH (1992), LEITE (1993) e LEITE e STUTH (1995) (Figura 2), o que indica a normalidade dos resultados analisados através da equação de calibração selecionada. Estes valores indicam alta correlação entre os valores preditos e os de referência.

Os comprimentos de onda utilizados na elaboração da equação de calibração referente ao estudo da Digestibilidade *in vitro* da Matéria Orgânica (DIVMO) (Tabela 1), mostraram-se diferentes aos valores indicados por CLARK e LAMB (1991) e utilizados por BROOKS III (1984), LEITE (1993) e LEITE e STUTH (1995) estando, no entanto, em concordância com os valores utilizados por LYONS e STUTH (1992). A quantidade de filtros/comprimentos de ondas selecionados na equação da DIVMO (cinco), foi superior à quantidade utilizada por BROOKS III (1984) e muito próximo aos publicados por LYONS e STUTH (1992), LEITE (1993) e LEITE e STUTH (1995).

Tabela 1- Equações de calibração para PB e DIVMO da dieta de ovinos em caatinga
Table 1 - Calibration equations for PC and DIVMO in sheep diet under caatinga

Parâmetros	CALIBRAÇÃO				
	N	Comp. de onda (nm)	F	SEC	R ²
PB	131	2310	129,8	1,682	0,897
		2208			
		2139			
		1680			
DIVMO	96	2208	47,4	3,572	0,851
		2180			
		1982			
		1818			
		1680			

PB - porcentagem de Proteína Bruta.

DIVMO- kg de matéria orgânica digestível por kg de matéria seca expressado em porcentagem.

PB - percentage of the Crude Protein.

DIVMO- kg of digestible organic matter per kg of the dry matter express in percentage.

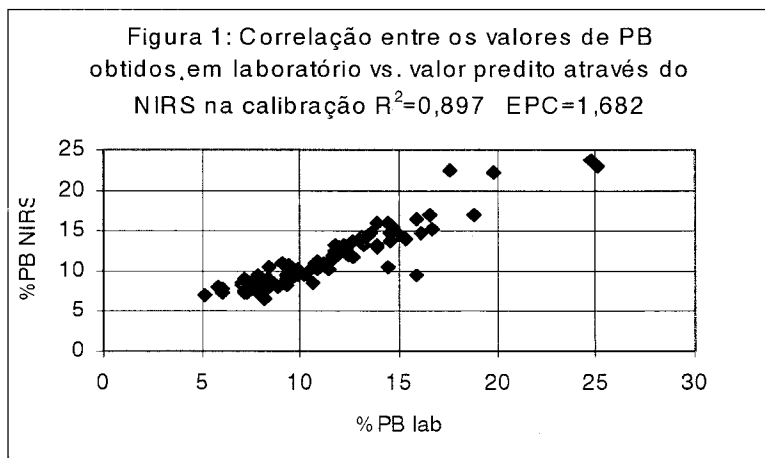


Figure 1 - Correlation value of the PB in laboratory vs. prediction value in NIRS of calibration $R^2 = .897$ and $EPC = 1.682$.

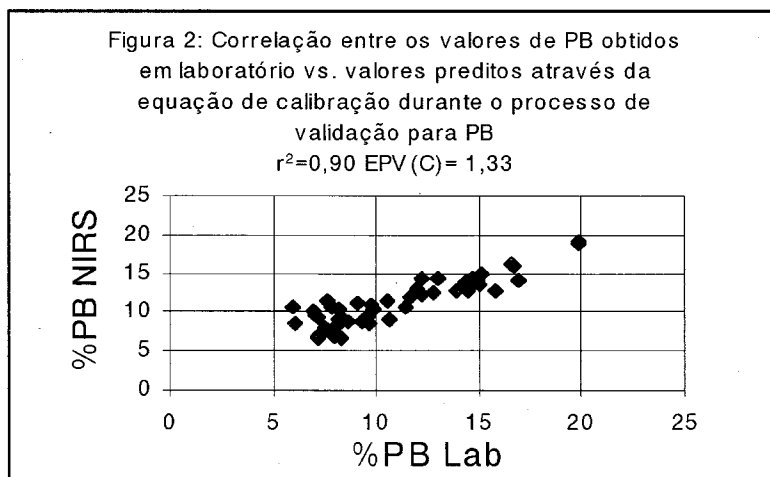


Figure 2 - Correlation value of the PB in laboratory vs. prediction value in NIRS of validation $r^2 = .90$ and $EPV(C) = 1.33$.

No estudo da DIVMO, obteve-se valores compreendidos entre 14,7 e 44,77%, com uma média de 30,07%. Este valor está de acordo com o valor observado por SCHACHT (1987) citado por OLIVEIRA (1996), durante o período seco (setembro a dezembro), embora muito abaixo dos valores encontrados durante o período chuvoso. O R^2 para DIVMO foi de 0,851, com um EPC de 3,572 (Figura 3), sendo inferior e superior, respectivamente (Tabela 1), aos trabalhos publicados por diferentes autores em pesquisa de dieta através do estudo de equações fecais com NIRS em ruminantes (LYONS e STUTH, 1992; LEITE (1993) e LEITE e STUTH, 1995).

Os resultados estatísticos, r^2 e EPV[C], obtidos, durante o processo de validação da equação de DIVMO (Tabela 2), foram de 0,68 e 4,1, respectivamente, apresentando-se muito próximos aos valores encontrados por NORRIS et al., (1976) e SHENK et al., (1981). No entanto, melhores resultados foram obtidos

por CLARK e LAMB (1991), LYONS e STUTH (1992) e LEITE (1993).

Os elevados valores de EPC e EPV[C] podem ser explicados através da afirmação de CLARK e LAMB (1991), cujas análises referentes aos dados de resposta animal, por não serem grupos funcionais, ocasionam o aparecimento de grandes erros de estimativa.

A Figura 4 ilustra a correlação existente entre os valores de referência e aqueles calculados através da equação da DIVMO selecionada previamente.

Os valores obtidos para Bias (1,3) e slope (0,785), durante a validação da equação para DIVMO (Tabela 2), foram inferiores aos trabalhos publicados por LYONS e STUTH (1992) e por LEITE (1993), o que demonstra que os valores de referência apresentaram-se inferiores aos valores preditos através da equação selecionada com as análises fecais, podendo dever-se a variações na predição, através do método laboratorial utilizado.

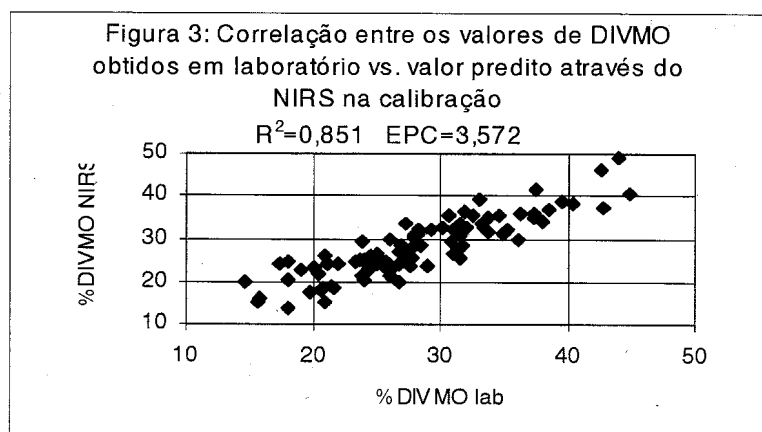


Figura 3: Correlation value of the DIVMO in laboratory vs. prediction value in NIRS of calibration $R^2 = 0,851$ and EPC= 3,572.

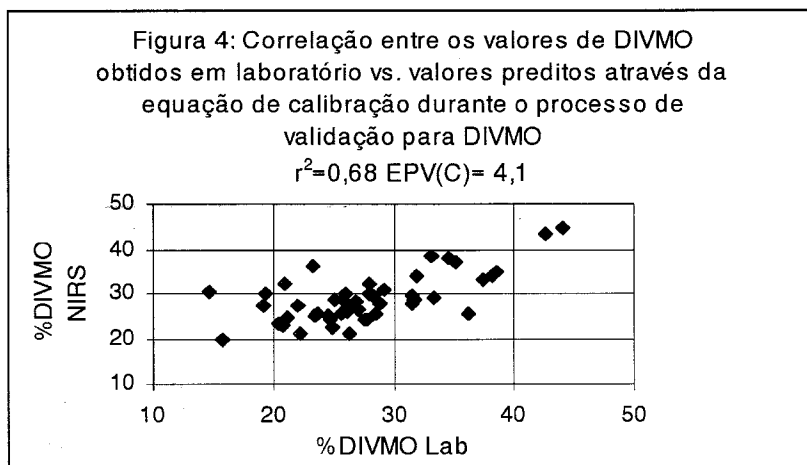


Figura 4: Correlation value of the DIVMO in laboratory vs. prediction value in NIRS of validation
 $R^2 = 0,68$ and $EPC = 4,10$.

Conclusão

A técnica NIRS permitiu desenvolver modelos fecais para os parâmetros nutritivos Proteína Bruta e Digestibilidade *in vitro* da Matéria Orgânica (DIVMO) da dieta de ovinos em caatinga ao longo dos anos, com boa exatidão e precisão, podendo ser utilizada na implantação de programas de suplementação alimentar.

Referências Bibliográficas

- BARTON II, F.E., 1985. Validation of NIRS Results by Chemical Analysis In: Marten, G.C., J.S. Shenk and Barton II (Ed.) Near Infrared Spectroscopy (NIRS): Analysis of Forage Quality. U.S. department of Agriculture, Agriculture Handbook No. 643, 96 p.
- BARTON, F.E., 1986. Near infrared reflectance spectroscopy of untreated and ammoniated barley straw. Anim. Feed Sci. Tech., 15:189-196.
- COLEMAN, S.W. and MURRAY, I., 1993. The use of near-infrared reflectance spectroscopy to define nutrient digestion of hay by cattle. Animal Feed Science and Technology, 44:237-249 Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam.
- DAVIES, A.M.C. and GRANT, A., 1987. Review: Near infra-red analysis of food. International Journal of Food Science and Technology (22): 191-207.
- DITTRICH, J.R.; FLEMING, J.S.; FLEMING, R.; MIRA, R.ZACODRO, P.B., . Determinação e avaliação dos teores médios de energia digestível (E.D., Mcal/dia) e proteína bruta (P.B./gramas) na alimentação diária dos potros da raça P.S.I., em treinamento no "Jockey Club Paraná" (Resultados Parciais) SBZ.(Abstracts)

- EWING, G.W., 1972. Métodos Instrumentais de Análisis Química. Vol. I Ed. Edgard Blücher Ltda. São Paulo 2v.ilust. 296p.
- GIVENS, D.I.; BAKER, A.R.; MOSS, A.R. and ADAMSON, A.H., 1991. A comparison of near infrared reflectance spectroscopy with three in vitro techniques to predict the digestibility in vivo of untreated and ammonia-treated cereal straws. *Anim. Feed Sci. Tech.* 35:83-94.
- HOLECHECK, J.L.; VAVRA, M. & ARTHUN, D., 1982. Relationship between performance, intake, diet nutritive quality, and fecal nutritive quality of cattle on maountain range. *J. Range Manage.*, 35:741-744.
- LEITE, E.R.; STUTH, J.W.; LYONS, R.K. & ANGERER, J.P., 1992. Using near infrared reflectance spectroscopy to monitor nutritional status of free-ranging goats. In: *Sheep and goat, wool and mohair, 1992. Relatorios de Pesquisa.* Texas Agricultural Experiment Station, Texas A&M University,.
- LEITE, E.R. & STUTH, J.W., 1995. Fecal NIRS equation to assess diet quality of free-ranging goats. *Small Ruminant Research* 15/3.
- LYONS, R.K. & STUTH, J.W., 1992. Fecal NIRS equations for predicting diet quality of free-ranging cattle. *J. Range Manage.*, 45:238-244.
- MARTIN, N.P. and LINN, J.G., 1985. Extension Applications in NIRS Technology Transfer. In: Marten, G.C., J.S. Shenk and Barton II (Ed.) *Near Infrared Spectroscopy (NIRS): Analysis of Forage Quality.* U.S. department of Agriculture, Agriculture Handboock No. 643, 96 p.
- MURRAY, I. and WILLIAMS, P.C., 1987. Chemical principles of near-infrared technology. Page. 17 In: *Near-infrared technology in the agricultural and food industries.* P.C. WILLIAMS and K.H.NORRIS, eds. Am. Assoc. Cereal Chem., Inc., St. Paul, M.N.
- NORRIS, R.K, BAARNES, R.F., MOORE, J.E. and SHENK, J.S., 1976. Predicting forage quality by infrared reflectance spectroscopy. *J. Anim. Sci.* 43:889.
- NORRIS, K.H. , 1985. Definition of NIRS analysis. In: United States Department of Agriculture, Agriculture Research Service. *Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) analysis of forage quality.* Washington, DC, EUA. p.6-11.
- PIRES, F.F., WARPECHOWSKI, M., LEMOS, M.C., CIOCCA, M. de L., KESSLER, A. de M., 1997^a. Utilização da técnica NIRS na predição da concentração de cromo (marcador) em amostras de excretas de frangos. *Anais da XXXIV Reunião da SBZ, Juiz de Fora - MG.* p.106-108.
- PIRES, F.F.; LEMOS, M.C.; SAIBRO, J.C.; FREITAS, T.; KESSLER, A.M., 1997^b. Utilização da técnica NIRS na predição da relação folha-caule em amostras de alfafa (*Medicago sativa*, L.). In: *Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, 34, 1997, Juiz de Fora, MG. *Anais ... SBZ.*
- PIRES, F.F.; LEMOS, M.C.; FREITAS, T.; SAIBRO, J.C.; COELHO, J.C.; KESSLER, A.M., 1998. Utilização da técnica NIRS na determinação da proteína bruta e da relação folha-caule em amostras de alfafa (*Medicago sativa*, L.). In: *Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, 73, 1998, Botucatu, SP. *Anais ... SBZ.*

- SHENK, J.S.; M.O. WESTERHAUS and M.R. HOOVER, 1979. Analysis of forage by infrared reflectance. *J. Dairy Sci.* 62:807-812.
- SHENK, J.S., 1985. Monitoring Analysis Results. In: Marten, G.C., J.S. Shenk and Barton II (Ed.) *Near Infrared Spectroscopy (NIRS): Analysis of Forage Quality*. U.S. department of Agriculture, Agriculture Handbook No. 643, 96 p.
- SHENK, J.S. and M.O. WESTERHAUS, 1994. The application of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to forage analysis. In: FAHEY, Jr.; MADISON, G.C. (Ed). *Forage quality, evaluation, and utilization*. Madison, Wisconsin, USA, 1994. (Chapter 10) p.406-449.
- SHENK J.S. and M.O. WESTERHAUS, 1995. Reference methods. In: *Analysis of Agriculture and Feed Products by Near Infrared Reflectance Spectroscopy*. MONOGRAPH, by: Infracsoft International, 1995. 124 p.
- TEMPLETON, Jr., W.C.; SHENK, J.S.; NORRIS, G.W.; FISSEL, G.C.; MARTEN, J.H., ELGIN, Jr. and WESTERHAUS, M.O., 1981. Forage analysis with near-infrared reflectance spectroscopy: Status and Outline of National Research Project. In: *PROC. 14TH GRASS. CONG. HELD AT LEXINGTON, KENTUCKY, USA. JUNE 15-24, 1981*.
- WESTERHAUS, M.O., 1985. Calibration: Equation Development; Interpretation of Regression Statistics e Validation. In: Marten, G.C., J.S. Shenk and Barton II (Ed.) *Near Infrared Spectroscopy (NIRS): Analysis of Forage Quality*. U.S. department of Agriculture, Agriculture Handbook No. 643, 96 p.
- WILLARD, H. H.; MERRITT, L. L. Jr.; DEAN, J. A. & SETTLE, F. A. Jr. - *Infrared Spectrophotometry - Instrumental Methods of Analysis - 6th Edition*; Wadsworth Publishing Company, Belmont, California A Division of Wadsworth, Inc. 1981.
- WINDHAM W.R.; ROBERTSON, J.A. and LEFFER, R.G., 1987. A Comparison of Methods for Moisture Determination of forages for Near Infrared Reflectance Spectroscopy Calibration and Validation. *Crop Sci.* 27:777-783.