

# Utilização da espectroscopia no infravermelho próximo e calibração multivariada para determinação da composição nutricional de azevém

Ângela Fonseca Rech<sup>1</sup> e Simone Silmara Werner<sup>2</sup>

**Resumo** – Em sistemas de produção baseados em pastagens, o conhecimento do potencial nutritivo das forrageiras é de grande importância para a tomada de decisão quanto à suplementação alimentar. Entretanto, as análises para avaliar a composição nutricional são dispendiosas. A espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS) é um método rápido e econômico utilizado para quantificar os teores dos compostos orgânicos dos alimentos. No presente trabalho foram desenvolvidos modelos de calibração multivariada para a predição dos teores de proteína bruta (PB), fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), fibra insolúvel em detergente ácido (FDA) e digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica (DIVMO) do azevém utilizando a técnica NIRS, para serem utilizados em rotina laboratorial. O número de amostras utilizadas variou de 294 a 390, de acordo com o componente analisado. Os modelos foram selecionados utilizando o erro quadrático médio da predição (RMSEP), o viés, a razão de desempenho do desvio (RPD), a razão de intervalo de erro (RER) e coeficientes de determinação ( $R^2$ ) obtidos na validação externa. Para PB, FDN, FDA e DIVMO os modelos selecionados apresentaram os seguintes valores, respectivamente:  $R^2 = 0,98; 0,94; 0,96; 0,91$ ; RMSEP = 0,96; 1,35; 1,03; 1,58; viés = 0,21; 0,51; 0,70; 0,06; RPD = 6,33; 5,02; 4,08; 3,80; e RER = 26,33; 14,37; 14,61; 11,46. De acordo com as medidas de qualidade de ajuste obtidas, os modelos desenvolvidos para PB, FDN e FDA podem ser utilizados na rotina laboratorial para as análises dos valores nutricionais de azevém. O modelo desenvolvido para DIVMO pode ser utilizado para triagens de azevém em estudos de avaliação, seleção e melhoramento.

**Termos para indexação:** Modelos de calibração; Bromatologia; Espectroscopia.

## Use of near infrared spectroscopy and multivariate calibration to determine the nutritional composition of ryegrass

**Abstract** – In pasture-based production systems, knowledge of the nutritional potential of forages is of great importance for decision-making regarding food supplementation. However, analyses to assess nutritional composition are expensive and time-consuming. Near-infrared spectroscopy (NIRS) is a rapid and economical method used to quantify the levels of organic compounds in feeds. In the present work, multivariate calibration models were developed to predict crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), and *in vitro* digestibility of organic matter (DIVMO) of ryegrass using the NIRS technique, to be used in laboratory routine. The number of samples used varied from 294 to 390, depending on the component analyzed. The models were selected using the root mean square error of prediction (RMSEP), bias, deviation performance ratio (RPD), the error interval ratio (RER), and coefficients of determination ( $R^2$ ) obtained in external validation. For PB, FDN, FDA and DIVMO, the selected models presented the following values, respectively:  $R^2 = 0.98; 0.94; 0.96; 0.91$ ; RMSEP = 0.96; 1.35; 1.03; 1.58; bias = 0.21; 0.51; 0.70; 0.06; RPD = 6.33; 5.02; 4.08; 3.80; and RER = 26.33; 14.37; 14.61; 11.46. According to the goodness-of-fit measures obtained, the models developed for CP, NDF, and FDA can be used in the laboratory routine to analyze the nutritional values of ryegrass. The model developed for DIVMO can be used to screen ryegrass in evaluation, selection, and improvement studies.

**Index terms:** Calibration models; Bromatology; Spectroscopy.

Recebido em 27/11/2023. Aceito para publicação em 11/03/2024

Doi: <https://doi.org/10.52945/rac.v37i1.1781>

Editor de seção: André Brugnara

<sup>1</sup> Zootecnista, MSc., Pesquisadora, Epagri, Estação Experimental de Lages, Rua João José Godinho, S/N, Bairro Morro do Posto, Lages, SC, CEP 88502-970 - C.P. 181, fone: (49) 3289-6414, e-mail: [angelarech@epagri.sc.gov.br](mailto:angelarech@epagri.sc.gov.br).

<sup>2</sup> Matemática, Dra., Departamento de Informática e Estatística - Centro Tecnológico. Universidade Federal de Santa Catarina, e-mail: [simone.werner@ufsc.br](mailto:simone.werner@ufsc.br).

\*Trabalho financiado pela Fapesc/2021/TR001396.

## Introdução

A primeira etapa para avaliar o valor nutricional de um alimento é a análise bromatológica em laboratório. A espectroscopia no infravermelho próximo (*Near infrared spectroscopy* – *NIRS*) é uma técnica analítica antiga (McCLURE, 2003), bem estabelecida, utilizada para quantificar substâncias orgânicas em alimentos (NORRIS et al. 1976; PAULA et al., 2018; SIMEONE et al., 2018; FERNANDES, 2015; NETO et al., 2012; PASQUINI, 2018) e também em substâncias químicas como petróleo, biocombustíveis, medicamentos, óleos, polímeros, madeiras e tecidos. O método NIRS tem sido empregado para avaliar o valor nutricional de forrageiras (DIAS et al., 2023), caracterização da qualidade de carnes e de produtos cárneos (PRIETO et al., 2017), estimar o conteúdo de energia e os teores de digestibilidade dos nutrientes em alimentos e dietas completas para animais (NOEL et al., 2022), identificar organismos geneticamente modificados em sistemas agrícolas e alimentares (SOHN et al., 2021), entre outros usos. Por propiciar agilidade no processo de caracterização nutricional de forrageiras, a utilização do método NIRS pode ser um importante aliado do manejo de pastagens na agricultura de precisão (MURPHY et al., 2022). Gindri (2016) avaliou a metodologia NIRS fecal, que correlaciona os componentes das fezes e dos alimentos com os seus espectros, concluindo que a referida técnica também é capaz de prever com acurácia o consumo voluntário de matéria orgânica de ovinos em pastejo.

Segundo Williams et al. (2017), existem dois tipos principais de calibração do NIRS. Um deles é a calibração desenvolvida com um número relativamente pequeno de amostras para estudos demonstrativos sobre a viabilidade do método, publicação de artigos e apresentação em conferências. Normalmente não

são feitas tentativas de determinar se tais calibrações realmente funcionam na prática. O outro tipo é a calibração desenvolvida para ser utilizada diariamente nas amostras que chegam ao laboratório. Para esse objetivo a calibração deve abranger toda a faixa esperada de composição e as demais variáveis do material.

O sucesso da espectroscopia NIR como método analítico é resultado da rapidez, do baixo custo e da praticidade (RECH & WERNER, 2020). Quando comparado à análise química tradicional há uma economia de cerca de 80% dos custos normais de laboratório, além de não gerar resíduos químicos (YANG et al., 2017). A sua utilização é muito vantajosa, contudo é fundamental a construção cuidadosa dos modelos de calibração e a realização da validação externa (MONTEIRO et al., 2017). O número de amostras necessárias para a construção de modelos de calibração é um problema relevante para a área agrícola (PASQUINI, 2003), pois além de aumentar muito rapidamente com a complexidade da matriz (DARDENNE et al. 2000), deve cobrir a variação natural existente nos seus componentes (METROHM, 2013). Considerando que os vários componentes do azevém-anual possam ser resumidos e agrupados em seis (água, proteína, matéria mineral, carboidratos fibrosos, carboidratos não fibrosos e extrato etéreo), a quantidade mínima de amostras necessárias para uma calibração robusta pode ser estimada, segundo Dardenne et al. (2000), em 252 amostras. Nesse estudo foi observado que o número mínimo de amostras necessárias para uma boa calibração está relacionado com o número de componentes. Cumpridas as recomendações para o controle da qualidade (VALDERRAMA et al., 2009; WILLIAMS et al., 2017; SOUZA et al., 2018), o método poderá ser utilizado na rotina laboratorial.

Apesar do êxito da espectroscopia NIR em análise de alimentos, calibrações

específicas para azevém-anual são relativamente recentes e poucas. Yang et al. (2017), Bezada et al. (2017) e Dias et al. (2023) desenvolveram modelos de calibração para a previsão de alguns componentes do azevém e concluíram que a técnica foi eficiente para prever os teores PB, FDN e FDA.

O azevém-anual (*Lolium multiflorum* Lam.) é uma forrageira de clima temperado, amplamente utilizado em sistemas pastoris do sul do Brasil, por ser tolerante ao frio, produtiva e vigorosa (GALON et al., 2011; TIRONI et al., 2014). Apresenta elevado valor nutritivo, alto teor de proteína e alta digestibilidade, sendo recomendada para o estado de Santa Catarina (EPAGRI, 2020). Diversas pesquisas de avaliação, seleção, melhoramento e desenvolvimento de cultivares de azevém estão sendo desenvolvidas pela Epagri em Santa Catarina (ROCHA et al., 2018; ROCHA et al. 2019; FÁVARO et al. 2020; FÁVARO et al., 2021). Dessa forma, a espectroscopia NIR será um método laboratorial vantajoso por analisar um grande número de amostras de forma rápida, com mão de obra reduzida e baixo custo.

O propósito deste trabalho foi desenvolver modelos de calibração para predição dos teores de PB, FDN, FDA e DIVMO de azevém com a técnica NIRS e utilizá-los na rotina laboratorial.

## Material e métodos

### Caracterização

O estudo foi realizado no Laboratório de Nutrição Animal (LNA) da Estação Experimental de Lages (EEL) da Epagri. Para a construção dos modelos de calibração foram utilizadas amostras de azevém (itálicos e westerwoldicos, diploide e tetraploide) em diferentes estádios fenológicos, constituídas por plantas completas (lâminas foliares, bainhas, caules e material morto), provenientes dos experimentos

realizados pela Epagri em diversos municípios de Santa Catarina. Após os cortes, as amostras foram secas por 72 horas em estufa a 55°C com circulação forçada de ar, moídas em moinho de facas com peneira de 1mm e analisadas em duplicatas no LNA.

### Análises químicas e espectroscopia NIR

Os métodos de referência utilizados foram: PB Kjeldahl, descrito por Silva & Queiroz (2009); FDN e FDA pelo método proposto por Van Soest et al. (1991), utilizando tecnologia Ankom (2017); digestibilidade *in vitro* em dois estágios, conforme Tilley & Terry (1963) adaptado para a análise de DIVMO.

As amostras moídas foram lidas por reflectância difusa em triplicata no espectrômetro NIRFlex N-500 BÜCHI com transformada de Fourier, na faixa espectral de 4.000 a 10.000  $\text{cm}^{-1}$  e os espectros escaneados com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$  e 32 varreduras por espectro. Os resultados das análises químicas realizadas pelos métodos de referência foram inseridos no software quimiométrico de calibração NIRCal® 5.5 BÜCHI.

### Modelagem

Realizou-se uma seleção inicial das regiões do espectro, sendo descartadas as regiões com pouca informação ou com informações não relacionadas com o componente (analito).

Para desenvolvimento dos modelos de calibração foram utilizadas amostras que continham variabilidade natural entre cultivares, estágio fenológico, regiões, climas, solos e sistemas. Em cada modelo, a totalidade das amostras foi dividida em três conjuntos: calibração, validação interna e validação externa.

O algoritmo de ajuste de regressão multivariada empregado na construção dos modelos foi o *Partial Least Square (PLS)* e as amostras com o maior e

o menor teor de cada componente foram adicionadas ao conjunto de calibração respectivo. Para corrigir os efeitos de espalhamento da luz e os deslocamentos de linha de base, aumentar os picos de absorção menores e reduzir o nível de ruído nos espectros foram utilizados nos espectros originais, variando entre os modelos, os seguintes pré-tratamentos matemáticos: primeira derivada BCAP 5 pontos Gap 2 (db1g2); suavização 3 pontos (sa3); primeira derivada BCAP 5 pontos (db1), Savitzky-Golay 9 pontos (Sg9), correção de dispersão multiplicativa (MSC), primeira derivada Taylor 3 (dt1) e normalização “by closure” (ncl). Para realização dos ajustes dos modelos consideraram-se os dados centrados na média. Amostras anômalas foram avaliadas com auxílio do gráfico “leverage x residuals” e, quando necessário, excluídas do modelo. Para cada componente foram desenvolvidos mais de um modelo de calibração, inicialmente avaliados pelos valores do viés, erro padrão de calibração *Standard Error of Calibration (SEC)*, erro padrão de predição *Standard Error of Prediction (SEP)* da validação interna e coeficientes

de determinação da calibração ( $R^2_{cal}$ ) e validação ( $R^2_{val}$ ). Após a construção dos modelos foram executadas as validações externas, com amostras não incluídas nas calibrações, para selecionar aqueles com melhor capacidade preditiva. Os indicadores estatísticos utilizados para a seleção dos modelos foram: slope, SEP, erro quadrático médio da predição *Root Mean Square Error of Prediction (RMSEP)*, viés, razão de intervalo de erro *Range Error Ratio (RER)* e relação de predição do desvio *Residual Prediction Deviation (RPD)*, segundo as orientações de Williams et al. (2017), Büchi (2013), Valderrama et al. (2009) e Pasquini (2018).

## Resultados e discussão

### Características dos modelos desenvolvidos

Na Tabela 1 estão descritas algumas características das calibrações desenvolvidas, como a faixa de trabalho e o número de amostras. Com base no trabalho de Dardenne et al. (2000), o número de amostras utilizado foi

Tabela 1. Teores (%) originais e número de amostras de azevém utilizadas  
Table 1. Original contents (%) and number of samples

Teor original mínimo e máximo dos componentes (faixa de trabalho) Métodos de referência (%MS)							
	PB - Max	Min	FDN - Max	Min	FDA - Max	Min	DIVMO - Max
Modelo	8,5 – 36,19		31,36 – 68,90		16,83 – 40,00		50,00 – 86,39
Validação externa	11,92 – 33,63		37,80 – 57,20		18,02 – 31,80		59,92 – 78,03
Número de amostras analisadas							
Modelo	308		298		296		263
Validação externa	82		34		37		31
Total	390		332		333		294

MS-matéria seca; PB-proteína bruta; FDN-fibra em detergente neutro; FDA-fibra em detergente ácido (FDA); DIVMO-digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica.

considerado adequado (300). A faixa de trabalho é abrangente e está de acordo com a composição comumente encontrada nos azevéns analisados no LNA.

Os modelos propostos (Tabela 2) possuem características particulares, mas semelhantes à literatura. Yang et al. (2017) desenvolveram modelos com 123 amostras de azevéns itálicos selecionadas pelo algoritmo Kennard-Stone a partir de um total 403. Esse algoritmo detectou as amostras mais representativas para serem utilizadas na quantificação dos teores de PB, FDN, FDA e carboidratos solúveis. No presente trabalho as amostras utilizadas nas calibrações e validações não passaram por seleção prévia, pois o objetivo era abranger a variabilidade natural existente na espécie.

Os  $R^2$  obtidos para o conjunto de calibração ( $R^2_{cal}$ ) e validação ( $R^2_{val}$ ) (Tabela 2) ficaram acima de 0,9 para todas as propriedades, mostrando boa correlação entre os valores previstos pelos modelos e os valores obtidos pelos métodos de referência. Os valores de  $R^2_{cal}$  são semelhantes aos obtidos por Gislum et al. (2004); Burns et al. (2010); Bezada et al. (2017); Yang et al. (2017) e Simeone et al. (2015).

A precisão dos modelos foi avaliada pelos resultados de SEC e SEP. Segundo Büchi (2013), para que uma calibração seja aceita, os valores de SEC e SEV devem ser os menores possíveis, aproximadamente iguais e comparáveis com o desvio-padrão do método laboratorial utilizado. Os baixos valores de SEC e SEP e altos  $R^2$  (Tabela 2) indicam que as calibrações são estáveis e precisas. Esses valores estão próximos aos encontrados por Mazabel et al. (2020) nas calibrações desenvolvidas para a predição de PB, FDN, FDA e DIVMS em braquiária humidícola.

A eficiência dos modelos em prever a composição de amostras

futuras foi avaliada pela validação externa e aqueles que apresentaram menor SEP, RMSEP, maior RER, RPD e slope mais próximo a 1,0 foram selecionados (Tabela 3). Os resultados permitem observar o grau de ajuste entre os valores de referência e os valores preditos e estimar a capacidade preditiva dos modelos. O RMSEP é uma estimativa do erro (aleatório e sistemático) da predição, expresso nas mesmas unidades que o componente analisado, e pode ser utilizado para avaliar a exatidão (VALDERRAMA et al., 2009). Os valores de RMSEP obtidos foram semelhantes aos encontrados por Bezada et al. (2017) para PB (1,19) e FDN (1,25) de azevém, por Simeone et al. (2015) para FDN (1,74) e FDA (1,46) de braquiária. Yang et al. (2017) obtiveram valor menor de RMSEP (0,57) na calibração de proteína de azevém, porém, maior na calibração FDN (2,60) e semelhante na FDA (1,32). As diferenças entre os trabalhos citados são esperadas, uma vez que são consequências dos diferentes desvios do método laboratorial, dos diferentes comprimentos de onda dos modelos, dos diferentes algoritmos utilizados para a seleção prévia das amostras, da variação do número de amostras, da faixa de abrangência do componente e da sua distribuição, que pode estar uniforme ou irregular.

O quociente ou razão entre a amplitude dos valores de cada componente das amostras e o RMSEP resulta na razão de intervalo de erro (RER). Segundo AACC 39-00.01 (1999) (apud RAMBO, 2013) um  $RER > 4$  é aceitável para calibração destinada à triagem de amostras, com um  $RER > 10$  a calibração é aceitável para controle de qualidade e com um  $RER > 15$  a calibração é boa para quantificação. Os valores de RER obtidos por Bezada et al. (2017) nas calibrações para PB e FDN em azevém foram, respectivamente, 15,49 e 12,47, porém Yang et al.

(2017) obtiveram valores maiores para PB (35,72) e semelhantes para FDN (12,03). Para FDA o RER foi de 15,64. No presente trabalho os valores de RER da calibração de PB foi de 26,33 e das calibrações de FDN, FDA e DIVMO ficaram respectivamente em 14,37; 14,61 e 11,46.

Os valores de  $R^2$ , RER e RPD, associados às equações de calibração da PB e DIVMO, são semelhantes aos relatados por Andueza et al. (2011) para PB, respectivamente 0,98, 28,36, 5,77, e para digestibilidade *in vivo* da matéria orgânica, respectivamente 0,93, 12,35, 3,14, em estudos com azevéns.

O RPD permite avaliar o quanto o modelo pode diferenciar os valores preditos em amostras distintas, pois resultados acima de 1 indicam que o erro do valor estimado é menor que o desvio-padrão do valor real da amostra ( $SD_{cal}/RMSEP_{val}$ ). Para a maioria das aplicações com espectroscopia NIRS em produtos agrícolas Williams & Sobering (1993) recomendam valores acima de 3 para o RPD e acima de 10 para o RER. Williams (2014) sugere que as calibrações podem ser classificadas em: não recomendada ( $RDP < 1,9$ ); insatisfatória (2,0–2,4); razoável (2,5–2,9); boa (3,0–3,4); muito boa (3,5–4,0); excelente ( $> 4$ ). Porém a utilização do RPD para avaliar o desempenho das calibrações NIRS é questionável e pode não ser satisfatória, pois as designações de “regular, bom, muito bom, excelente...”, nos intervalos entre 2,5 a 4,1, não permite uma comparação geral entre modelos com diferentes materiais e diferentes componentes (ESBENSEN et al., 2015). Segundo Williams et al. (2017), para modelos de calibração em que se espera uma variância mínima nos resultados das análises, onde o controle de qualidade tem por objetivo garantir que as especificações sejam atendidas, o RPD pode não ser adequado, sendo melhor o SEP. Mas o RPD é amplamente utilizado e aceito

para estimar a capacidade preditiva de modelos desenvolvidos para forrageiras. No presente trabalho os valores de RPD para todas as propriedades analisadas estão acima de 3,8 e os valores de SEP da validação interna e da validação externa são baixos e similares (Tabela 2 e 3). Simeone et al. (2015) desenvolveram modelos de calibração

para braquiária e obtiveram valores de RPD 5,9; 5,1; 3,6; e 3,9 respectivamente para PB, FDN, FDA e digestibilidade *in vitro* da matéria seca. Concluíram que os modelos possuíam boa habilidade preditiva e que poderiam ser utilizados como método de análise. Yang et al. (2017), trabalhando com azevém itálicos, obtiveram resultados de RPD

para PB, FDN e FDA, respectivamente de 9,37; 3,44 e 4,40. Os valores de RPD obtidos por Bezada et al. (2017) nas calibrações para PB e FDN em azevém foram, respectivamente, 4,55 e 3,39.

A digestibilidade da matéria orgânica não é uma entidade química definida e diversos componentes orgânicos do alimento estão envolvidos (ANDUEZA et

Tabela 2. Modelos (PLS) com melhor capacidade preditiva\*  
Table 2. Models (PLS) with better predictive ability

Propriedade	Calibração							Validação interna					
	Nº amostras	Amplitude	Sdev	Nº VL	Tratamento	SEC	R <sup>2</sup> <sub>cal</sub>	Nº amostras	Amplitude	Sdev	SEP	Viés	R <sup>2</sup> <sub>val</sub>
PB	205	27,69	6,08	12	db1g2; sa3	0,81	0,98	103	25,65	6,12	0,81	0,07	0,98
FDN	199	37,54	6,78	8	db1; Sg9; MSC	1,62	0,94	99	35,81	6,58	1,62	0,03	0,95
FDA	207	23,25	4,20	10	dt1	0,81	0,96	89	19,88	3,63	0,81	0,01	0,95
DIVMO	176	36,39	6,00	10	sa3; db1g2; ncl	1,86	0,91	87	32,15	5,71	1,86	0,04	0,91

PLS - mínimos quadrados parciais; Sdev – desvio-padrão dos valores da propriedade; VL - variáveis latentes; db1g2 - primeira derivada BCAP Gap2; sa3 - suavização 3 pontos; db1 - primeira derivada BCAP 5 pontos; Sg9 - Savitzky-Golay 9 pontos; MSC – correção de dispersão multiplicativa; dt1 - primeira derivada Taylor 3 pontos; ncl – normalização “by closure”; SEC - erro padrão da calibração; R2 – coeficiente determinação; SEP - erro padrão da previsão. \*software NIRCal® 5.5 BÜCHI.

Tabela 3. Modelos com melhor capacidade preditiva – resultados da validação externa\*  
Table 3. Selected models with better predictive ability – external validation\*

Propriedade	Nº amostras	Amplitude	Slope	RMSEP	SEP	Viés	RPD	RER
PB	82	25,28	1,05	0,96	0,94	0,21	6,33	26,33
FDN	34	19,40	1,04	1,35	1,25	0,51	5,02	14,37
FDA	37	15,05	0,96	1,03	0,76	0,70	4,08	14,61
DIVMO	31	18,11	1,09	1,58	1,59	0,06	3,80	11,46

RMSEP - raiz quadrada do erro médio de previsão; RPD - relação de desempenho do desvio; RER - razão do intervalo de erro. \*Estatísticas - software NIRCal® 5.5 BÜCHI.



al., 2011), o que pode dificultar o ajuste de modelos para utilização do método NIRS. No presente trabalho, o modelo desenvolvido para DIVMO apresentou valores de  $R^2 = 0,91$ ; RPD = 3,80 e RER = 11,46, indicando que pode ser utilizado para triagens de materiais em estudos de avaliação, seleção e melhoramento. Mesmo assim, a introdução de novas amostras poderá melhorar esses indicadores. Nos modelos para PB, FDN e FDA, os valores de  $R^2$ , RPD e RER estão, respectivamente, acima de 0,9; 4 e 14 (Tabelas 2 e 3), dessa forma podem ser considerados adequados para a realização das análises quantitativas da composição de azevéns.

## Conclusão

Os modelos de calibração multivariada NIRS, desenvolvidos com diversos cultivares de azevém, de diferentes maturidades, ploidia, anos e origens, apresentaram resultados satisfatórios nas validações externas e foram considerados adequados para uso na rotina laboratorial. Dessa forma, os modelos poderão ser utilizados para quantificar os teores de PB, FDN e FDA de uma ampla diversidade de azevéns. O modelo para DIVMO pode ser utilizado para triagens de azevéns em estudos de avaliação, seleção e melhoramento.

Novas amostras serão introduzidas periodicamente para atualizar, aumentar a amplitude dos modelos e melhorar o ajuste das calibrações.

## Referências

- ANDUEZA, D.; PICARD, F.; JESTIN, M.; ANDRIEU, J.; BAUMONT, R.; NIRS prediction of the feed value of temperate forages: Efficacy of four calibration strategies. **Animal**, v.5, n.7, p.1002-1013, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1017/S1751731110002697>.
- ANKOM. **Analytical Methods**. 2017. Disponível em: <https://www.ankom.com/analytical-methods-support/fiber-analyzer-a200>. Acesso em: 24 jan. 2022.
- BEZADA, S.Q.; ARBAIZA, T.F.; CARCELÉN, F.C.; SAN MARTÍN, F.H.; LÓPEZ, C.L.; ROJAS, J.E.; RIVADENEIRA, V.; ESPEZÚA, O.F.; GUEVARA, J.V.; VÉLEZ, V.M. 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**, v. 28, n. 3, p. 538-548, 2017. Disponível em: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172017000300007](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172017000300007). Acesso em: 31 jan. 2022.
- BÜCHI Labortechnik AG. **NIRCal 5.5 - Operation Manual**. Flawil, Suíça, 2013. 283p.
- BURNS, G.A.; GILLILAND, T.J.; MCGILLOWAY, D.A.; O'DONOVAN, M.; LEWIS, E.; BLOUNT, N.; O'KIELY, P. Using NIRS to predict composition characteristics of *Lolium perenne* L. cultivars. **Advances in Animal Biosciences**, 1, p.321–321, 2010. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/journals/advances-in-animal-biosciences/article/using-nirs-to-predict-composition-characteristics-of-lolium-perenne-l-cultivars/6FDD12E039AE42294466E7A4122FBF44>
- DARDENNE, P.; SINNAEVE, G.; BAETEN, V. Multivariate Calibration and Chemometrics for near Infrared Spectroscopy: Which Method? **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, v.8, n.4, p.229-237. 2000. DOI: <http://dx.doi.org/10.1255/jnirs.283>
- DIAS, M.C.; NUNES, H.; BORBA, A. Near-Infrared Spectroscopy Integration in the Regular Monitorization of Pasture Nutritional Properties and Gas Production. **Agriculture**, v.13, n.7, p.1398, 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/agriculture13071398>
- ESBENSEN, K.H.; GELADI, P.; LARSEN, A. The RPD myth... **NIR News**, v.25, n.5, p.24-28, 2014. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/270640674\\_The\\_RPD\\_myth#fullTextFileContent](https://www.researchgate.net/publication/270640674_The_RPD_myth#fullTextFileContent)
- EPAGRI. **Avaliação de cultivares para o estado de Santa Catarina 2020 – 2021** - Forrageiras. Epagri: Florianópolis, SC, 2020. 38p. (Boletim Técnico, 194).
- FÁVARO, V.R.; CÓRDOVA, U.A.; PINTO, M.G.L.; RECH, Â.F.; WERNER, S.S.; BALDISSERA, T.C. Produção animal e variáveis climáticas em pastagem de azevém-anual tetraploide. **Revista Científica Rural**, Bagé-RS, v.22, n.2, 2020.
- FÁVARO, V.R.; PINTO, M.G. L.; CUCCO, D.C.; WERNER, S.S.; ROSSETTO, L. Desempenho, características da carcaça e da carne de bovinos meio/sangue da raça Flamenga, terminados em pastagem de azevém anual e suplementados com casca de soja. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v.34, n.1, p.37-41, 2021.
- FERNANDES, A.M.F. **Uso da espectroscopia de reflectância do infravermelho próximo (NIRS) para previsão da composição bromatológica de vagens de algaroba e palma forrageira**. 2015. 105f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual Vale do Acaraú, Sobral, CE, 2015.
- GALON, L.; TIRONI, S.P.; ROCHA, P.R.R.; CONCENÇO, G.; SILVA, A.F.; VARGAS, L.; SILVA, A.A.; FERREIRA, E.A.; MINELLA, E.; SOARES, E.R.; FERREIRA, F.A. Competitive ability of barley cultivars

- against ryegrass. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v.29, n.4, p.771-781, 2011.
- GINDRI, M. **Uso do NIRS como ferramenta de diagnóstico nutricional de ovinos mantidos em pastagem natural**. 2016. 77.f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Universidade Federal de Santa Maria, RS, 2016. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/10923/GINDRI%20MARCELO.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 11 oct. 2023.
- GISLUM, R.; MICKLANDER, E.; NIELSEN, J.P. Quantification of nitrogen concentration in perennial ryegrass and red fescue using near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) and chemometrics. **Field Crops Research**, v.88, p. 269- 277, 2004. Disponível em: [https://www.academia.edu/32215921/Quantification\\_of\\_nitrogen\\_concentration\\_in\\_perennial\\_ryegrass\\_and\\_red\\_fescue\\_using\\_near\\_infrared\\_reflectance\\_spectroscopy\\_NIRS\\_and\\_chemometrics](https://www.academia.edu/32215921/Quantification_of_nitrogen_concentration_in_perennial_ryegrass_and_red_fescue_using_near_infrared_reflectance_spectroscopy_NIRS_and_chemometrics). Acesso em: xxxxxx.
- MAZABEL, J.; WORTHINGTON, M.; CASTIBLANCO, V.; PETERS, M.; ARANGO, J. Using near infrared reflectance spectroscopy for estimating nutritional quality of *Brachiaria humidicola* in breeding selections. **Agrosystems Geosciences and Environment**, v.3, e20070, 9p., 2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/agg2.2007>
- MCCLURE, W.F. 204 years of near infrared technology: 1800-2003, **J. Near Infrared Spectroscopy**, v.11, n.6, p.487-518, 2003. DOI: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1255/jnirs.399>.
- METROHM. **NIR Spectroscopy. A guide to near-infrared spectroscopic analysis of industrial manufacturing processes**. Herisau, Suíça: Metrohm. 2013. Disponível em: [https://www.metrohm.com/pt\\_br/products/8/1085/81085026.html](https://www.metrohm.com/pt_br/products/8/1085/81085026.html). Acesso em: ???
- MONTEIRO, A.R.D; FEITAL, T.S.; PINTO, J.C. Statistical Aspects of Near-Infrared Spectroscopy for the Characterization of Errors and Model Building. **Applied Spectroscopy**, v.71, n.7, p.1665-1676, 2017. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/316532367\\_Statistical\\_Aspects\\_of\\_Near-Infrared\\_Spectroscopy\\_for\\_the\\_Characterization\\_of\\_Errors\\_and\\_Model\\_Building](https://www.researchgate.net/publication/316532367_Statistical_Aspects_of_Near-Infrared_Spectroscopy_for_the_Characterization_of_Errors_and_Model_Building). Acesso em: 09 fev. 2022.
- MURPHY, D.; BRIEN, B.; DONOVAN, M.; CONDON, T.; MURPHY, M. A near infrared spectroscopy calibration for the prediction of fresh grass quality on Irish pastures. **Information Processing in Agriculture**, v.9. p.243-253, 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214317321000366>. Acesso em: 11 oct. 2023.
- NETO, M.M.G.; SIMEONE, M.L.F.; GUIMARÃES, C.C. Predição do teor de proteína bruta em biomassa de capins braquiária por meio de espectroscopia NIR. **Comunicado Técnico**, n. 205. Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, 2012. 5p.
- NOEL, S.J.; JØRGENSEN, H.J.H.; KNUDSEN, K.E.B. The use of near-infrared spectroscopy (NIRS) to determine the energy value of individual feedstuffs and mixed diets for pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v.283, p.115-156, 2022. Disponível em: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0377840121003424?token=42F3EC30C93700967DCD80EA9A2C624B0BF3DC9AE34B8F19E2D414737BD44F51FA9296E10A04CD5C67EFD8716CF6E6A2&originRegion=us-east-1&originCreation=20220214195606>. Acesso em: 11 fev. 2022.
- NORRIS, K.H.; BARNES, R.F.; MOORE, J.E.; SHENK, J.S. Predicting forage quality by infrared reflectance spectroscopy. **Journal of animal science**, v.43, n.4, p.889-897, 1976. Disponível em: <https://academic.oup.com/jas/article-abstract/43/4/889/4697632?login=fal se>. Acesso em: ???
- PASQUINI, C. Near infrared spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications. **J. Braz. Chem. Soc.**, v.14, n.2, p.189-2019, 2003.
- PASQUINI, C. Near infrared spectroscopy: A mature analytical technique with new perspectives – A review. **Analytica Chimica Acta**, v.1026, n.5, 2018, p.8-36, 2018.
- PAULA, M., A.; VIEIRA, O.V.; MENOSSI, S.; CARVALHO, J.E.; ABUCÁTER, C.R.V. Aplicações da Espectroscopia no Infravermelho Próximo na Cadeia Produtiva de Grãos. *In*: TIBOLA, C.S.; MEDEIROS, E.P. de; SIMEONE, M.L.F.; OLIVEIRA, M.A. (Ed). **Espectroscopia no Infravermelho próximo para avaliar indicadores de qualidade tecnológica e contaminantes em grãos**. Brasília, DF: Embrapa, 2018. 200p. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1106595/1/ID445392018LVespectroscopia.pdf>. Acesso em: 20 jul. 2020.
- PRIETO, N.; PAWLUCZYK, O.; DUGAN, M.E.R.; AALHUS, J.L. A review of the principles and applications of near-infrared spectroscopy to characterize meat, fat, and meat products. **Applied Spectroscopy**, v.71, n.7, p.1403-1426, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1177/0003702817709299>

- RAMBO, M.K.D. **Caracterização de resíduos lignocelulósico por espectroscopia NIR aliada a quimiometria para obtenção de insumos químicos.** 2013. 182f. Dissertação (Doutorado em Ciências). Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas, 2013.
- RECH, A.F.; WERNER, S.S. Utilização da tecnologia NIRS para predição dos valores nutricionais de forrageiras. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v.33, n.1, p.11-14. 2020.
- ROCHA, D.J.A.; CÓRDOVA, U.A.; FLARESSO, J.A.; NETO, J.S.; BALDISSERA, T.C.; COSTA, M.D.C. Avaliação de genótipos de azevém-anual para a região serrana de Santa Catarina. In: Simpósio de integração da pós-graduação: ciência, tecnologia e inovação, 1, 2018, Lages. **Anais[...]**. Lages: CAV-UDESC, 2018.
- ROCHA, D.J.A.; COSTA, M.D.; CÓRDOVA, U.A.; FLARESSO, J.A.; STRADIOTO NETO, J.; JOCHIMS, F.; VOGT, G.A.; ZARDO, V.F.; PINTO, M.G.L. **Cultivar de azevém-anual SCS317 Centenário.** Florianópolis: Epagri, 2019. 6 p.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de Alimentos: métodos químicos e biológicos.** 3ª. ed. Viçosa, MG: UFV, 2009. 235 p.
- SIMEONE, M.L.F.; PIMENTEL, M.A.G.; GONTIJO NETO, M.M.; PAES, M.C.D.; SILVA, D.D. Uso da espectroscopia no infravermelho próximo e calibração multivariada para avaliar a composição química do milho. In: TIBOLA, C.S.; MEDEIROS, E.P. de; SIMEONE, M.L.F.; OLIVEIRA, M.A. (Ed). **Espectroscopia no Infravermelho próximo para avaliar indicadores de qualidade tecnológica e contaminantes em grãos.** Brasília, DF: Embrapa, 2018. 200 p. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1106595/1/ID445392018LVespectroscopia.pdf>. Acesso em: 20 jul. 2020.
- TIRONI, S.P.; GALON, L.; SILVA, A.F.; FIALHO, C.M. T.; ROCHA, P.R.R.; FARIA, A.T.; ASPIAZÚ, I.; FORTE, C.T.; SILVA, A.A.; RADÜNZ, A.L. Time of emergency of ryegrass and wild radish on the competitive ability of barley crop. **Ciência Rural**, v.44, n.9, p.1527-1533, 2014.
- TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A.A. Two stage technique for the "in vitro" digestion of forage crops. **Journal of British Grassland Society**, v.18, n.2, p.104-111, 1963.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Symposium: Carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **J. Dairy Sci.**, v.74, p.3583-97, 1991.
- VALDERRAMA, P.; BRAGA, J.W.B.; POPPI, R.J. Estado da arte de figuras de mérito em calibração multivariada. **Química Nova**, v.32, n.5, p.1278-1287, 2009.
- WILLIAMS, P. The RPD Statistic: A Tutorial Note. **NIR News**, v.25, p.22 - 26. 2014. Disponível em: <https://www.semanticscholar.org/paper/The-RPD-Statistic%3A-A-Tutorial-Note-Williams/3c8ef4809dae96e2476c95cc722d867e9a5870> Acesso em: 19/01/2022.
- WILLIAMS, P.C., SOBERING, D.C. Comparison of commercial near infrared transmittance and reflectance instruments for analysis of whole grains and seeds. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, v.1, n.1, p.25- 32, 1993.
- WILLIAMS, P.; DARDENNE, P.; FLINN, P. Tutorial: Items to be included in a report on a near infrared spectroscopy project. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, v.25, n.2, p.85–90, 2017.
- YANG, Z., NIE, G.; PAN, P.; ZHANG, Y.; HUANG, L.; MA, X.; ZHANG, X. Development and validation of near-infrared spectroscopy for the prediction of forage quality parameters in *Lolium multiflorum*. **PeerJ**, v.5, e3867, 2017.