

조사료 가치 평가를 위한 근적외선 분광법(NIRS)의 활용

박형수 · 이종경 · 이효원*

Applications of Near Infrared Reflectance Spectroscopy(NIRS) in Forage Evaluation

Hyung-Soo Park, Jong-Kyong Lee and Hyo-Won Lee*

ABSTRACT

Farmers need timely information on the nutritional status of their animals and the nutritive value of pastures and supplementary feeds if they are to apply successfully this existing nutritional information. Near infrared reflectance(NIR) spectroscopy has been used over the last forty years to analyse accurately protein, fiber, and other organic components in animal foods. NIR spectroscopy is a rapid, non-destructive, and non-polluting technology. When properly calibrated, NIR spectroscopy is used successfully with both concentrate and forage feeds. NIR methods predict *in vitro* digestibility accurately and precisely, and can predict *in vivo* digestibility at least as well as conventional "wet chemistry" methods such as *in vivo* digestion or the pepsin-cellulase method, and much more rapidly. NIR technology has been applied to the routine monitoring (through analysis of feces samples) of the nutritional status of cattle and other grazing animals. This report reviews the use of near infrared reflectance(NIR) spectroscopy to monitor the nutritive value of animal feeds and the nutritional status of grazing animals.

(Key words : NIRS, Forage, Quality, Calibration, Fecal, Mineral)

I. 서 론

사료 및 조사료의 사료가치 평가는 가축의 사양체계 및 사료의 유통분야에 있어서 매우 중요한 부분으로 단백질, 섬유소, 에너지 및 광물질과 같은 사료가치의 지표(parameter)를 정량화하기 위한 다양한 생화학적 분석 기술은 많은 비용과 시간을 소비하면서 발전되어져 왔다.

근적외선 분광법(Near Infrared Reflectance Spectroscopy : NIRS)의 이용은 1970년대초 미

국 농무성의 Karl Norris에 의해 조사료 성분분석에서 처음으로 실용화 되었는데(Norris 등, 1976; Shenk 등, 1976), 이후 그 응용범위를 확대하여 농업, 식품 및 사료분야 뿐만 아니라 현재는 화학, 생화학, 화장품, 의학, 석유화학, 제약, 고분자, 제지 및 섬유분야에 널리 이용되고 있다. 조사료 분야에서 일반적인 근적외선 분광법의 응용은 조사료의 초종이나 숙기에 따라 조성이 다양해지는 시료의 단백질, 섬유질 또는 탄수화물 등의 함량 측정에 이용되어 왔다. 하지만 근래에 들어 컴퓨터 및 통계기법

축산연구소(National Livestock Research Institute, Pyeongchang 232-952, Korea)

* 한국방송통신대학교(Korea National Open University, Seoul 110-791, Korea)

Corresponding author: Hyung-Soo Park, National Livestock Research Institute, Pyeongchang 232-952, Korea.

E-mail : anpark@korea.com

(Chemometrics)의 발달로 그 영역을 매우 다양하고 광범위하게 넓혀가고 있다. 초기 설치시 고비용이 소요되고 사용법이 조금 복잡하지만 장기적으로는 비교적 저 비용이 소요되어 대단 위 시료와 빠른 분석이 요구되어지는 곳에서는 더욱 경제적인 분석법이다. 전통적인 실험실 분석 방법에 비해 근적외선 분광법의 장점은 다음과 같다. 1) 비파괴적이고 2) 각종 화학적 시약이 필요치 않고 3) 다양한 성분(CP, DOM, NDF, ADF 등)의 동시 분석이 가능하다는 장점을 가지고 있다.

근적외선 분광법을 이용한 조사료의 사료가치 측정방법은 직·간접적인 측정기술이 이용되어지는데 직접적인 방법은 수많은 개개 시료의 NIR 스펙트럼을 얻고 전통적인 화학적 분석치의 정보를 이용하여 검량식을 작성하여 조사료의 사료가치를 직접 정량화 하는 방법이다(Fig. 1). 간접적인 방법은 어떤 하나의 물질로부터 스펙트럼을 얻고 그 물질의 전구체 또는 부산물의 화학적인 분석을 통해서 간접적으로 정량화하는 방법이다. 예를 들어 소화 또는 발효의 최종산물이 NIRS에 의해서 스캔되어지면

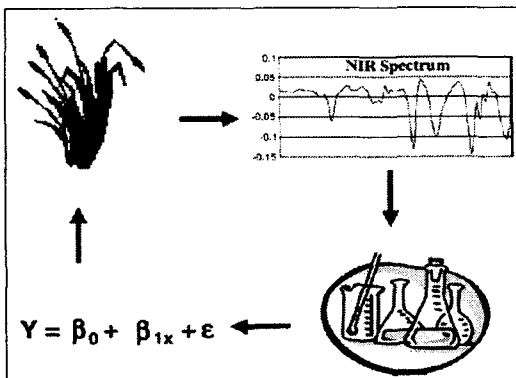


Fig. 1. Traditional direct method of applying NIRS is to analyze a particular product with both NIRS and traditional wet chemistry and pair this information in the calibration set to calculate a predictive equation (Stuth et al., 2003).

최종산물의 형성에 관여하는 일차적인 성분이 NIRS에 의해서 예측되어질 수 있다. 이런 방법은 가축 분(糞)의 NIRS 분석을 통해 방목가축이 섭취한 사료 가치의 측정에 적용되어질 수 있다고 한다(Fig. 2).

따라서 본고에서는 근적외선 분광법의 개념을 간단히 설명하고 또한 조사료 분야에서 근적외선 분광법을 이용한 사료가치 평가와 활용범위를 소개하고자 한다.

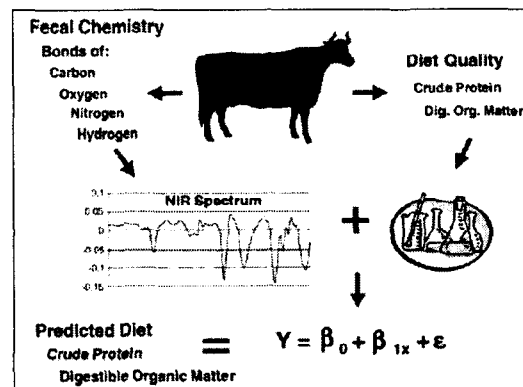


Fig. 2. Indirect methods for estimation of diet quality from fecal NIRS scans using diet:fecal pairs of known diet quality and spectral characteristics of the associated feces has allowed estimation of the animal in free-ranging conditions(Stuth et al., 2003).

II. 근적외선 분광법(NIRS)의 개요

1. 근적외선(NIR)의 특성

근적외선은 가시광선과 Mid-IR 사이의 빛으로 700에서 2,500nm 사이에 존재하고 실제로 근적외선 분광법에서는 1,000~2,600nm 사이의 파장을 이용한다(Hruschka 1987). 가시선 및 자외선의 흡수는 주로 외곽전자에 의해 일어나는데 반해, 적외선의 흡수는 분자진동에 의해서 일어나는 것이 가장 큰 차이점이며, 결국 가시광선보다는 흡수도가 높고 IR 보다는 흡수도가

Table 1. Wavelengths commonly used in the application of NIR spectroscopy to animal nutrition

Sample type/analyte	Wavelength(nm)	Author
Grass / ME content	1658 ~ 1668	Givens, et al. (1977)
Forages / protein	2100 ~ 2164	Williams (1987)
Forage / fiber, IVDMD ^{ab}	1555 ~ 1674, 2294	Williams (1987)
Grass / fiber ^b	1416 ~ 2400	Garcia-Cuidad, et al. (1993)
Grass / protein	1536 ~ 2236	Garcia-Cuidad, et al. (1993)
Grass / cellulose	1320 ~ 2044	Garcia-Cuidad, et al. (1993)
Whole-plant maize / IVDMD	1722 ~ 2336	Valdes, et al. (1987)
Whole-plant maize / protein	1680 ~ 2336	Valdes, et al. (1987)

^a acid detergent fiber, neutral detergent fiber.

^b *in vitro* dry matter digestibility.

낮다는 특징이 있다. 근적외선에서 흡수는 주로 자외선에서 흡수는 주로 IR에서 유래되는 -CH, -NH, -OH, -CO, -CC 등 작용기의 분자 진동 에너지의 결합대(combination band)로 나타난다. 보통 1,950~2,500nm 사이에 결합대가, 그리고 700~1,950nm 사이에 배음대가 관찰된다. 근적외선 대역은 주로 시료의 정량분석에, 중적외선 대역은 주로 정성 분석에 사용되고 있다.

2. 검량식 유도 및 검증

근적외선 분광법의 검량식 작성은 스펙트럼-화학적 예측 모델을 만드는 과정이다(Shenk and Westerhaus, 1994). 이 과정은 실험실 분석에 의한 화학적(물리적) 정보를 스펙트럼 특성이 내포된 화학적 정보와 연관시키는 과정이다. 검량식 작성에 사용되어지는 시료들은 그 집단을 대표할 수 있는 시료이고 또한 광범위한 범위와 고른 분포를 가지고 있어야 한다(Valdes 등, 1990). 전체적인 검량식 작성 절차는 4단계로 분류할 수 있다. 첫 번째 과정은 근적외선 스펙트럼을 얻는 과정이다. 시료의 종류(고체, 액체, Slurry 등)에 따라 측정방식이 달라진다. 두 번째 과정은 시료로부터 얻은 스펙트럼을 수학적으로 전처리를 수행하는 과정이다. 보통 근적외선 스펙트럼은 재현성이 우

수하나 때로는 시료 상태에 따라 바탕선 변화 등 약간의 변화가 있게 된다. 이럴 경우 스펙트럼을 전처리하면 검량 결과를 향상시킬 수 있다. 세 번째 과정은 가장 중요한 과정으로 실제적인 검량식을 만드는 과정으로 실제적으로 여러 가지 검량기법(MLR, PCR, PLS)이 있으며, 각각의 장단점이 있으나, PLS 방법이 가장 널리 사용되고 있다. 마지막 단계는 개발한 검량식을 미지의 시료를 이용하여 검증(Validation)하는 과정이다(Fig. 3).

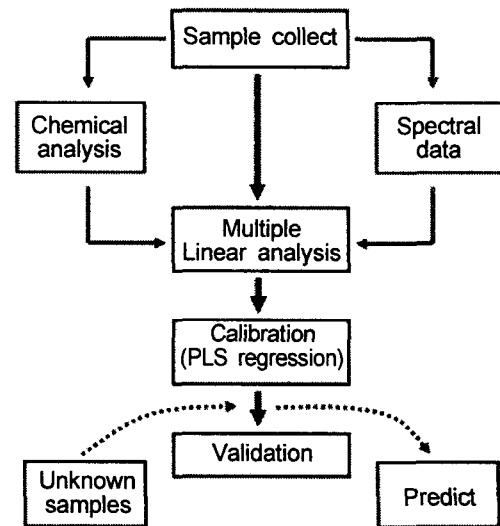


Fig. 3. Process of calibration development for determining the chemical component.

Table 2. NIR spectroscopic prediction of the chemical composition of forages

Sample type	Constituent	Reference mean(%)	SEP ¹⁾ (%)	Bias (%)	R ²	Author
Lucerne forage	ADF	33.3	1.30	-0.1	0.94	Marten, et al. (1984)
	NDF	42.3	1.46	-1.0	0.95	
	Protein	20.8	0.42	-0.3	0.98	
Mixed temperate legumes	ADF	33.5	1.70	0.8	0.98	Marten, et al. (1984)
	NDF	41.9	2.23	1.0	0.98	
	Protein	18.0	1.00	-0.3	0.97	
	Lignin	6.1	0.63	-0.2	0.96	
Maize stover	ADF	34.9	1.43	0.14	0.94	Zimmer, et al. (1990)
	NDF	65.4	1.78	0.30	0.95	
	Lignin	3.3	0.42	-0.10	0.77	
Whole-plant maize forage	DM	87.4-97.0	4.25		0.61	Cozzolino, et al. (2000)
	ADF	6.8-59.0	1.85		0.98	
	NDF	33.1-89.7	2.43		0.83	
	Protein	1.2-13.8	1.04		0.86	
	Ash	1.5-16.0	0.38		0.64	
Mixed pasture species	ADF	25.4-40.8	1.42	-0.19	0.76	Garcia-Cuidad, et al. (1993)
	NDF	38.3-70.4	2.06	-0.49	0.86	
	Protein	5.8-16.4	0.57	0.04	0.90	
	Lignin	1.9- 8.3	0.45	< 0.01	0.88	

¹⁾ Standard error of prediction.

검량식 검증은 선발된 검량식의 예측능력을 평가하기 위한 것으로 검량식 작성에 사용되지 않는 독립적인 시료를 이용하여 기작성된 검량식의 예측 정확성을 평가하는 것이다. 검량식의 예측능력을 평가하기 위하여 검증시 표준오차(Standard Error of Prediction, SEP)가 이용된다.

III. 근적외선 분광법을 이용한 조사료의 사료가치 평가

1. Ash content

조회분 함량은 가축에게 이용되거나 이용되지 못하는 광물질로 나누어지는데 NIRS에 의한 조회분 함량 측정은 알팔파(Redshaw 등, 1986; Reeves, 1988 a,b; Windham 등, 1991)와

티머시(Redshaw 등, 1986)와 같은 건초 작물에서 주로 수행되어졌으며 Redshaw 등(1986)은 스무스브롬그래스, 리드카나리그래스, 메도우폭스스테일과 같은 목초에서 성공적으로 분석하였다. Vazquez de Aldana(1996)은 각기 다른 지역의 반건조 초지에서 수집한 시료의 조회분을 NIRS를 이용하여 분석한 결과 각각 SEC는 4.6g/kg과 R²=0.88로 나타났고 SEP는 5.1g/kg과 R²=0.94로 나타났다.

2. Protein, nitrogen, and related compounds

총질소 또는 조단백질 함량(N×6.25)은 사료와 조사료에서 가장 일반적으로 분석되는 항목 중 하나이다. NIRS를 이용한 조사료 및 사료의 조단백질 및 질소화합물 함량 측정은 R²>0.95 및 실험실 오차범위내에서 분석이 가능하다는

연구결과가 보고된다. 이런 우수한 결과들은 NIR 지역에서 N-H 결합이 가장 강한 흡수가 일어나고 사료 및 조사료내에 조단백질 함량이 30~500g/kg(건물기준) 범위로 비교적 높은 농도가 함유되어 있기 때문이라고 한다(Roberts 등, 2003).

3. Fiber and lignin

조사료나 식물에서 조단백질 다음으로 NIRS를 이용해서 측정되어지는 가장 일반적인 항목은 섬유소이다. Roberts 등(2003)의 섬유소에 대한 NIRS 검량식 작성에 관한 연구결과를 보면 목초, 건초, 짚류 및 사일리지와 같은 조사료원에서 매우 다양한 결과를 보고하였다. 일반적으로 ADF와 NDF는 섬유소의 구성성분으로 보고되어진다. NDF는 조사료의 하나의 성분이 아니라 중요한 특성이지만 여전히 300~800g/kg의 범위에서 C-H와 O-H 결합의 차이로 측정되어진다. 리그닌에 대한 검량식은 대부분 온대지역의 화본과와 두과의 건초 및 목초에서 보고되어지며(Reeves, 1988a,b; Jenisch 등, 1994) 일반적으로 ADF나 조단백질보다 정확성은 낮게 나타나는 경향이 있다(Reeves, 1988b).

4. Lipids/ether extract

NIRS를 이용한 지방 함량 측정은 그렇게 널리 이용되어지지 않고 있다. 지방성 화합물 -CH의 흡수는 1,400과 1,210nm에서 미약한 배음대를 가지고 2,310과 1,725nm 주위에서 흡수가 주로 일어난다. 조사료의 지방 측정은 일관성이 없는 결과들이 보고되어진다(Amari 등, 1997; Berardo 등, 1997; Park, 등 1998). 가장 근본적인 이유는 조사료 내에 조지방 함량이 매우 낮고 또한 함량 차이도 작기 때문이라고 한다.

5. Minerals

NIRS를 이용한 광물질 함량의 분석은 광물질은 근적외선 지역에서 흡수가 일어나지 않는다는 것과 조직내에 극히 소량 함유되어 있다는 이유로 그 결과들은 일관성을 보이지 못하였다. 이는 조사료나 식물체에 매우 낮은 수준과 좁은 범위로 분포되어있기 때문에 광물질 측정을 더욱 어렵게 했다. 하지만 근래에 들어 NIRS를 이용한 광물질의 직접인 분석은 매우 많은 초종들 사이에서 유기물과 함께 복잡한 화합물을 형성하기 때문 측정이 가능하다고 보고되고 있다(Clark 등, 1987).

사료 및 조사료 분야에서 NIRS를 이용한 광물질 함량 분석의 초기 시도는 마초풀과 알팔파(Clark 등, 1987)의 Ca, P, Mg, K, Cu, Zn, Mn, Na 그리고 Fe 중심으로 이루어졌으며 이들 중 Ca, P, Mg 그리고 K와 같은 대량 광물질은 분석 가능하였다. Finn 등(1996)은 유사한 결과를 보고하였다. 다음 시도로는 톨페스큐, 마초풀과 알팔파(Clark 등, 1989)에서 Ba, Li, Mo, Ni, Pb, V, Al, S, Si 그리고 Se에 대한 검량식 작성을 시도하였다. 이 연구에서 톨페스큐에서 단지 Li 및 V에 대해서만 유의한 결과를 얻었다.

6. Digestibility

소화율은 가축에 대한 영양적 가치에 영향을 미치며 또한 반추동물의 섭취수준에 중요한 영향을 미치는 식물조직의 기능적 구성성분이다. 일반적으로 식물체 조직은 조단백질처럼 NIRS로 측정되어지고 리그닌과 셀룰로스와의 일치하는 2,270nm의 부근에서 흡수가 일어난다(Murray, 1990). 소화율 검량식은 *in vivo*와 *in vitro* 소화율을 포함한 다양한 실험실 분석치에 의해서 작성되어진다(Jones 등, 1975; Clarke 등, 1982; De Boever 등, 1996; Reeves, 1988a,b; Barber 등, 1990). 소화율 검량식은 시료의 수분 함량에 따라 민감하다(Baker 등, 1994; Griggs 등, 1999)고 하였으며 80g/kg(DM기준)

Table 3. NIR spectroscopic prediction of the digestibility of forages

Sample type	Constituent	Reference mean(%)	SEP ¹⁾ (%)	Bias (%)	R ²	Author
<i>In vitro</i> digestibility :						
Temperate grass forage	IVDMD	40.7-69.4	2.96		0.89	O'Keeffe, et al. (1987)
Smooth bromegrass	IVDMD	66.3	1.62	-0.44	0.92	Gabrielsen, et al. (1988)
	CDMD	67.7	1.66	0.09	0.97	
Lucerne forage	IVDMD	76.0	2.07	0.1	0.96	Bughrara, et al. (1989)
Maize stover	IVDMD	61.3	2.24	-0.12	0.88	Zimmer, et al. (1990)
Mixed temperate grass and legumes	CDMD	53.7-82.0	2.53	0.48	0.86	Smith and Flinn (1991)
<i>In vivo</i> digestibility :						
Temperate pasture grass and legumes	OMD	55.5-80.8	2.51		0.90	Robert, et al. (1986)
Cereal straw	OMD	31.6-64.9	3.71	-1.24	0.65	Givens, et al. (1991)
Grass silage	OMD	61.6-83.7	2.9		0.75	de Boever, et al. (1996)
Whole-crop wheat forage	OMD	59.8-74.2			0.72	Adesogan, et al. (1998)

IVDMD: *in vitro* dry matter digestibility,
 CDMD: DM digestibility determined by cellulase,
 OMD: *in vivo* organic matter digestibility.

보다 낮은 수분 함량을 가진 시료를 이용해서 작성한 검량식은 높은 수분 함량을 가진 검량식보다 정확성이 높았다.

조사료분야에서 소화율 실험은 *in vivo* 소화율실험보다 NIRS를 이용한 직접적인 검량식 작성에 관한 관심이 증가되고 있다(Norris 등, 1976; Barber 등, 1990; Park 등, 1997, 1998). 이것은 중간단계인 실험실 기술을 생략하는 장점이 있다. 하지만 표준화된 상태에서 수행되어진 많은 *in vivo* 소화실험 결과들이 요구되어진다.

소화율은 조사료나 사료의 화학적 parameter가 아니라 특성이기 때문에 NIRS에 의해서 측정하기는 매우 어렵다. 소화율을 측정하기 위

해 가축에게 직접 먹여야 되거나(*in vivo*) 가상의 소화(*in vitro*) 실험이 이루어져야 되고 검량식 작성과정에 'animal factor'가 고려되어야 한다.

7. Fermentation quality

사일리지의 품질은 미생물의 발효 상태에 의해서 생산되어지는 휘발성지방산(C₂-C₅), 젖산(Lactic acid), pH, 에탄올 및 암모니아 등에 의해 평가되어진다. NIRS를 이용한 사일리지의 품질 평가는 시료 자체에 수분 함량이 높고 또한 대부분의 발효산물들은 건조과정을 거치게 되면 모두 휘발되어 측정하기에 많은 어려움을

가지고 있다. Reeves, 등(1989)은 사일리지의 입자크기에 의한 측정오차를 줄이기 위해 원시료를 분쇄시 Dry ice와 함께 분쇄하여 휘발성 지방산과 젖산을 측정된 결과 각각 Acetic (SEC=0.47%, $R^2=0.75$), Propionic(0.28, 0.60), Butyric(0.06, 0.36) 및 Lactic(SEC=0.97, $R^2=0.59$)로 측정 가능하였다. 또한 Park, 등(1998)은 분쇄시 액화질소(Liquid nitrogen)에 급속 냉동시켜 분쇄하여 측정된 결과 Acetic(SEC=0.88%, $R^2=0.84$), Propionic(0.35, 0.54), Lactic(2.79, 0.87)과 총산(3.05, 0.76)으로 보다 양호한 결과를 나타냈다. 그 밖의 발효산물은 각각 pH (SEC=0.06%, $R^2=0.98$), NH_3-N (0.06, 0.95)로 측정 가능하였다.

8. Anti-quality components

다른 사료가치 항목들은 단순화합물로서 정량화 되는 반면 몇몇의 품질저하물질은 하나의 부류로서 측정되어진다. 식물에서 품질저하물질의 한 부류인 총 알카로이드 함량은 NIRS에 의해서 $R^2>0.90$ 로 측정되어졌다(Clark 등, 1987; Roberts 등, 1997). 알카로이드는 시료 내에 고르게 분포되어 있고 또한 강하고 특별한 흡수 물질이 존재하기 때문이라고 하였다.

탄닌은 *Leucaena forage*(Wheeler 등, 1996), *sericea lespedeza*(Windham 등, 1988; Petersen 등, 1991) 그리고 버스트레포일(Roberts 등, 1993)에서 정량화 되었고 총 페놀산은 tagasaste 의 앞에서 SEC=12.4와 $R^2=0.96$ 으로 측정되어졌다.

4. 농업분야에서 근적외선 분광법의 응용과 미래

근적외선 분광법은 최초 조사료의 조단백질 함량을 빠르고 정확하게 측정하기 위해 이용되어졌으나 현재는 어느 한 분야에 국한되지 않고 다양한 분야에서 그 활용도를 더욱 넓혀가

고 있다.

근적외선 분광법을 이용하여 혼과 초지의 식생구성율을 판정하는 연구(Wachendorf 등, 1999; Volesky 등, 1996)와 목초내 엽경비율 판정(Alexander 등, 1998)에 관한 연구가 보고되었다. 또한 근래에 광우병으로 인한 축우사료내에 육골분의 혼입여부가 큰 문제점으로 대두되고 있는데 실제로 외국의 경우 근적외선 분광법을 이용하여 사료내 육골분의 혼입여부를 판정(Murray 등, 2001)하는 연구가 이루어지고 있다.

미국의 경우 조사료의 사료가치 분석을 위해 여러 주(州)끼리 근적외선 분광법을 통한 컨소시엄을 구성하여 각 주(州)끼리 네트워크(online)를 이용하여 서로의 Data와 습식분석결과를 공유하여 강력한 검량식을 작성하여 보다 정확하고 통일된 분석 결과를 유도하고 있다. 이렇게 유도된 검량식을 현장에 직접 적용하기 위해 NIR 기기를 현장의 수확기에 직접 부착하여 실시간으로 분석하려는 연구도 진행 중이다(Fig. 4).

무한 경쟁시대, 정보화시대를 맞이하여 경쟁이 심화되고 있는 상황 속에서 새로운 기술의

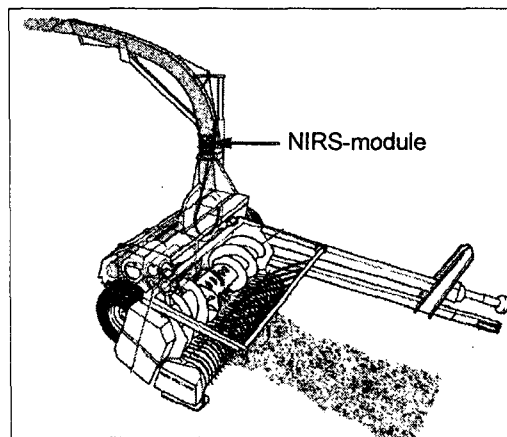


Fig. 4. Schematic cross section of a NIRS harvest line forage plot harvester
Source: Paul, Christian et al., 2000. Grassland Sci. Europe 5:37.

개발습득은 성패를 결정하는 중요한 요소로 떠오르고 있다. 신속하고 정확한 분석은 업무의 능률을 배가할 뿐만 아니라, 비용절감, 생산량 증대에도 크게 기여할 것이다. 이런 관점에서 근적외선 분광법의 이용도는 더욱더 첨단화되고 다양해질 것으로 기대된다.

V. 인 용 문 헌

- Adesogan, A.T., E. Owen, and D.I. Givens. 1998. Prediction of the *in vivo* digestibility of whole crop wheat from *in vitro* digestibility, chemical composition, *in situ* rumen degradability, *in vitro* gas production and near infrared reflectance spectroscopy. *Animal Feed Science and Technology*, 74: 259-272.
- Alexander J. Smart, Walter H. Schacht, Jeffrey F. Pedersen, Daniel J. Undersander and Lowell E. Moser. 1998. Prediction of leaf:stem ratio in grasses using near infrared reflectance spectroscopy. *J. Range Management*. 51:447-449.
- Amari, M., and A. Abe. 1997. Application of near infrared reflectance spectroscopy to forage analysis and prediction of TDN contents. *JARQ* 31:55-63.
- Baker, C.W., D.I. Givens, and E.R. Deaville. 1994. Prediction of organic matter digestibility *in vivo* of grass silage by near infrared reflectance spectroscopy: effect of calibration method, residual moisture and particle size. *Anim. Feed Sci. Technol.* 50:17-26.
- Barber, G.D., D.I. Givens, M.S. Kridis, N.W. Offer, and I. Murray. 1990. Prediction of the organic matter digestibility of grass silage. *Anim. Feed Sci. Technol.* 28:115-128.
- Berardo, N., B.H. Dzowela, L. Hove, and M. Odoardi. 1997. Near infrared calibration of chemical constituents of *Cajanus cajan* pigeon pea) used as forage. *Anim. Feed Sci. Technol.* 69:201-206.
- Bughrara, S.S., D.A. Sleper, R.L. Belyea, and G.C. Marten. 1989. Quality of alfalfa herbage estimated by a prepared cellulase solution and near infrared reflectance spectroscopy. *Canadian Journal of Plant Science*, 69:833-839.
- Clarke, T., P.C. Flinn, and A.A. McGowan. 1982. Low-cost pepsin cellulase assays for prediction of digestibility of herbage. *Grass Forage Sci.* 37: 147-150.
- Clark, D.H., H.F. Mayland, and R.C. Lamb. 1987. Mineral analysis of forages with near IR reflectance spectroscopy. *Agron. J.* 79:485-490.
- Clark, D.H., E.E. Cary, and H.F. Mayland. 1989. Analysis of trace elements in forages by near IR reflectance spectroscopy. *Agron. J.* 81:91-95.
- Cozzolino, D. A. Fassio, and A. Gimenez. 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*, 81:142-146.
- De Boever, J.L., B.G. Cottyn, D.L. De Brabander, J.M. Vanacker, and C.V. Boucque. 1996. Prediction of the feeding value of grass silages by chemical parameters, *in vitro* digestibility and near infrared reflectance spectroscopy. *Anim. Feed Sci. Technol.* 60:103-115.
- Flinn, P.C., N.J. Edwards, C.M. Oldham, and D.M. McNeill. 1996. Near infrared analysis of the fodder shrub tagasaste (*Chamaecytisus proliferus*) for nutritive value and anti-nutritive factors. In: Davies, A.M.C., Williams, P.C. (Eds.), *Near Infrared Spectroscopy: The Future Waves*. NIR Publications, Chichester, UK, pp. 576-580.
- Gabrielsen, B.C., K.P. Vogel and D. Knudsen. 1988. Comparison of *in vitro* dry matter digestibility and cellulase digestion for deriving near infrared reflectance spectroscopy calibration equations using cool-season grasses. *Crop Science*, 28:44-47.
- Garcia-Cuidad, A., B. Garcia-Criado, M.E. Pérez-Corona, B.R. Vázquez de Aldana, and A.N. Ruano-Ramos. 1993. Application of near-infrared reflectance spectroscopy to chemical analysis of heterogeneous and botanically complex grassland samples. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 63:419-426.
- Givens, D.I., C.W. Baker, A.R. Moss, and A.H. Adamson. 1991. A comparison of nearinfrared reflectance spectroscopy with three *in vitro* techniques to predict the digestibility *in vivo* of

- untreated and ammonia-treated cereal straws. *Animal Feed Science and Technology*, 35:83-94.
17. Givens, D.I., J.L. De Boever, and E.R. Deaville. 1997. The principles, practices and some future applications of near infrared spectroscopy for predicting the nutritive value of foods for animals and humans. *Nutrition Research Reviews*, 10:83-114.
 18. Griggs, T.C., K.B. Lobos, and P.E. Kingery. 1999. Digestibility analysis of undried, unground, and dry ground herbage by near-infrared reflectance spectroscopy. *Crop Sci.* 39:1164-1170.
 19. Hruschka, W.R. 1987. Data analysis: wavelength selection methods. In P. Williams and K. Norris (eds.) *Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists Inc., pp. 35-55
 20. Jenisch, T.O., C. Paul, and C. Kunze. 1994. Application of the near infrared reflectance spectroscopy for the feedstuff analysis of tropical forage plants. *Angewandte Botanik* 68:127-135.
 21. Jones, D.I.H., and M.V. Hayward. 1975. The effect of pepsin pretreatment of herbage on the prediction of dry matter digestibility from solubility in fungal cellulase solution. *J. Sci. Food Agric.* 26:711-718.
 22. Marten, G.C., Brink, G.E., D.R. Buxton, J.L. Halgerson, and J.S. Hornstein. 1984. Near infrared reflectance spectroscopy analysis of forage quality in four legume species. *Crop Science*, 24:1179-1182.
 23. Murray, I. 1990. Application of NIRS in agriculture. In: Iwamoto, M., Kawano, S. (Eds.), *Proceedings of the Second International Near Infrared Spectroscopy Conference*. Korin Publishing Co. Ltd., Tokyo, Japan, pp. 11-20.
 24. Murray, I., L.S. Aucott, and I.H. Pike. 2001. Use of discriminant analysis on visible and near infrared reflectance spectra to detect adulteration of fishmeal with meat and bone meal. *J. Near Infrared Spectrosc.* 9:297-311.
 25. Norris, K.H., R.F. Barnes, J.E. Moore, and J.S. Shenk. 1976. Predicting forage quality by near infrared reflectance spectroscopy. *J. Anim. Sci.* 43:889-897.
 26. O'Keefe, M., G. Downey, and J.C. Brogan. 1987. The use of near infrared reflectance spectroscopy for predicting the quality of grass silage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 38: 209-216.
 27. Park, R.S., R.E. Agnew, F.J. Gordon, and R.W.J. Steen. 1998. The use of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) on undried samples of grass silage to predict chemical composition and digestibility parameters. *Anim. Feed Sci. Technol.* 72:155-167.
 28. Park, R.S., F.J. Gordon, R.E. Agnew, R.J. Barnes, and R.W.J. Steen. 1997. The use of near infrared reflectance spectroscopy on dried samples to predict biological parameters of grass silage. *Anim. Feed Sci. Technol.* 68:235-246.
 29. Paul, C. and Rode, M., Feuerstein, U. 2000. From laboratory to harvester : forage analysis by NIRS diode array instrumentation. *Grassland Sci Europe* 5:37 [Poster]
 30. Petersen, J.C., N.S. Hill, J.A. Mosjidis, and W.R. Windham. 1991. Screening *Sericea lespedeza* germplasm for herbage quality. *Agron. J.* 83: 581-588.
 31. Redshaw, E.S., G.W. Mathison, L.P. Milligan, and R.D. Weisenburger. 1986. Near IR reflectance spectroscopy for predicting forage composition and voluntary consumption and digestibility in cattle and sheep. *Can. J. Anim. Sci.* 66:103-116.
 32. Reeves III, J.B., 1988a. Near IR reflectance spectroscopic analysis of sodium chlorite-treated forages and other plant materials. *J. Dairy Sci.* 71:143-151.
 33. Reeves III, J.B. 1988b. Chemical assays for fiber, lignin, and lignin components: interrelationships and near infrared reflectance spectroscopic analysis. *J. Dairy Sci.* 71:2976-2985.
 34. Reeves III, J.B. and T.H. Blosser. 1989. Near infrared reflectance spectroscopy for analyzing undried silage. *J. Dairy Sci.* 72:79-88.
 35. Robert, P., D. Bertrand, and C. Demarquilly. 1986. Prediction of forage digestibility by principal component analysis of near infrared reflectance spectra. *Animal Feed Science and Technology*, 16:215-224.
 36. Roberts, C.A., P.R. Beuselinck, M.R. Elersieck, D.K. Davis, and R.L. McGraw. 1993. Quantifi-

- cation of tannins in birdsfoot trefoil germplasm. *Crop Sci.* 33:675-679.
37. Roberts, C.A., R.E. Joost, and G.E. Rottinghaus. 1997. Quantification of ergovaline in tall fescue by near infrared reflectance spectroscopy. *Crop Sci.* 37:281-284.
 38. Roberts, C.A., J. Stuth, and P.C. Finn. 2003. NIRS applications in forages and feedstuffs. In: Roberts, C.A., Workman, J., Reeves, J. (Eds.), *Near Infra-spectroscopy in Agriculture*. Agron. Monogr. 321. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI.
 39. Shenk, J.S., M.O. Westerhaus, and M.R. Hoover. 1976. Analysis of forages by infrared reflectance. *J. Dairy Sci.* 62:807-812
 40. Shenk, J.S., and M.O. Westerhaus. 1994. The application of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to forage analysis. In: Fahey Jr., G.C. (Ed.), *Forage Quality, Evaluation and Utilization*. Soil Science Society of America/ American Society of Agronomy/Crop Science Society of America, Madison, WI, USA, pp. 406-449.
 41. Smith, K.F., and P.C. Flinn. 1991. Monitoring the performance of a broad-based calibration for measuring the nutritive value of two independent populations of pasture using near infrared reflectance (NIR) spectroscopy. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 31:205-210.
 42. Stuth, J., A. Jarna, and Doug Tolleson. 2003. Direct and indirect means of predicting forage quality through near infrared reflectance spectroscopy. *Field Crops*. 84:45-56.
 43. Valdes, E.V., R.B. Hunter, and L. Pinter. 1987. Determination of quality parameters by near infrared reflectance spectroscopy in whole-plant corn silage. *Canadian Journal of Plant Science*, 67: 747-754.
 44. Valdes, E.V., G.E. Jones, and G.J. Hoekstra. 1990. Effect of growing year and application of a multi-year calibration for predicting quality parameters by near infrared reflectance spectroscopy in whole-plant corn forage. *Canadian Journal of Plant Science*, 70:747-755.
 45. Vazquez de Aldana, B.R., 1996. Non-destructive method for determining ash content in pasture samples: application of near infrared reflectance spectroscopy. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 27 (3/4): 795-802.
 46. Volesky, J.D., and S.W. Coleman. 1996. Estimation of botanical composition of esophageal extrusa samples using near infrared reflectance spectroscopy. *J. Range Manage.* 49:163-166.
 47. Wachendorf, Ingwersen, and Taube. 1999. Prediction of the clover content of red clover- and white clover-grass mixtures by near-infrared reflectance spectroscopy. *Grass and Forage Science*. 54(1):87-90.
 48. Wheeler, R.A., W.R. Chaney, K.D. Johnson, and L.G. Butler. 1996. *Leucaena* forage analysis using near infrared reflectance spectroscopy. *Anim. Feed Sci. Technol.* 64:1-9.
 49. Williams, P.C. 1987. Variables affecting near-infrared reflectance spectroscopic analysis. In P. Williams and K. Norris (eds.) *Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists Inc., pp. 143-167.
 50. Windham, W.R., S.L. Fales, and C.S. Hoveland. 1988. Analysis for tannin concentration in *Sericea lespedeza* by near IR reflectance spectroscopy. *Crop Sci.* 28:705-708.
 51. Windham, W.R., S.L. Fales, and C.S. Hoveland. 1988. Analysis for tannin concentration in *Sericea lespedeza* by near IR reflectance spectroscopy. *Crop Sci.* 28:705-708.
 52. Windham, W.R., N.S. Hill, and J.A. Stuedemann. 1991. Ash in forage esophageal and fecal samples analyzed using near-infrared reflectance spectroscopy. *Crop Sci.* 31:1345-1349.
 53. Zimmer, E., P.A. Gurrath, Chr. Paul, B.S. Dhillon, W.G. Pollmer, and D. Klein. 1990. Near infrared reflectance spectroscopy analysis of digestibility traits of maize stover. *Euphytica*, 48:73-81.