

مقاله علمی - پژوهشی

بررسی دقت برخی از مدل‌ها در برآورد ضرایب آزمون تولید گاز در سیلاژ ذرت

خلیل زابلی*^۱ - سارا کلوندی^۲ - مصطفی ملکی^۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۲/۲۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۲/۰۲

چکیده

به منظور پیش‌بینی کینتیک تخمیر شکمبه‌ای سیلاژ ذرت در زمان‌های صفر، ۳۰ و ۶۰ روز پس از سیلو کردن، از تعداد چهار مدل غیر خطی استفاده شد. برای این منظور، داده‌های تولید گاز در طول ۱۴۴ ساعت انکوباسیون با استفاده از مدل‌های نمایی (EXP)، لجستیک (LOG)، گومپرتز (GOM) و فیزو (FZH) برازش شدند. نکویی برازش مدل‌ها با استفاده از آماره‌های میانگین مربعات خطا (MSE)، ضریب تعیین (R^2)، انحراف مطلق میانگین باقیمانده (RMAD) و میانگین درصد خطا (MPE) انجام شد. از آزمون‌های دوربین-واتسون (DW)، آزمون اجرا و رگرسیون خطی به منظور بررسی دقت مدل‌ها استفاده شد. نتایج نشان داد مدل‌ها از نظر پیش‌بینی پتانسیل تولید گاز (A) تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند. مدل EXP دارای بیشترین مقدار MSE (۲۹/۵۰) و کمترین مقدار R^2 (۰/۹۶۱) در بین مدل‌ها بود. مقدار RMAD در مدل GOM و FZH کمترین (به ترتیب ۲/۵۹۱ و ۲/۸۷۹) و در مدل EXP بیشترین (۳/۸۰۷) مقدار بود ($p < 0/05$). در مدل EXP مقدار MPE ۵/۵۲۷ به دست آمد که تفاوت معنی‌داری با سایر مدل‌ها داشت ($p < 0/05$). در مدل EXP آماره DW به عدد صفر نزدیک‌تر بود (۰/۳۹۲) که نشان‌دهنده ضعف مدل EXP در برازش داده‌ها در مقایسه با سایر مدل‌ها بود. بررسی رابطه رگرسیون خطی نشان داد که مدل‌های FZH و LOG پیش‌بینی بهتری از پروفیل تولید گاز داشتند. به طور کلی نتایج نشان داد مدل‌های GOM و FZH جهت پیش‌بینی کینتیک تخمیر شکمبه‌ای سیلاژ ذرت از دقت بیشتری در مقایسه با مدل EXP برخوردار بودند.

واژه‌های کلیدی: روش آزمون تولید گاز، کینتیک تخمیر شکمبه، مدل‌های غیر خطی و نکویی برازش

مقدمه

ای بود (۲۵). پس از آن، روش آزمون تولید گاز به منظور بررسی قابلیت هضم و محتوای انرژی مواد خوراکی مورد استفاده قرار گرفت (۱۴). در این روش مشاهده شد خوراک‌های مختلفی که در مایع شکمبه انکوبه شده بودند، مقدار گاز متفاوتی تولید کردند و بین حجم گاز تولید شده و ارزش انرژی‌زایی مواد خوراکی رابطه مستقیمی وجود داشت و این روش را آزمون تولید گاز^۵ نام‌گذاری کردند (۲۳). روش آزمون تولید گاز اطلاعات با ارزشی در خصوص کینتیک هضم خوراک در شکمبه ارایه می‌دهد و با توجه به این که نیاز به تجهیزات ارزان قیمتی دارد، لذا امروزه به‌عنوان یک تکنیک آزمایشگاهی، به‌طور وسیعی مورد پذیرش قرار گرفته است (۲۸). در روش آزمون تولید گاز، حجم گاز تولید شده در زمان‌های متوالی مورد اندازه‌گیری قرار می‌گیرد و روند تولید گاز در آن به‌صورت یک منحنی غیر خطی ارایه می‌گردد. در یک منحنی تولید گاز ۳ بخش شامل فاز اولیه (فاز بدون

روش‌های متعددی برای ارزشیابی مواد خوراکی در تغذیه نشخوارکنندگان وجود دارند که هر کدام از آنها دارای مزایا و معایبی هستند. استفاده از روش درون‌تنی^۳ برای تعیین قابلیت هضم، دارای ارزش زیادی است. اما این روش پر هزینه و زمان‌بر بوده و نیاز به حجم زیادی از ماده خوراکی جهت آزمایش دارد. لذا امروزه استفاده از روش‌های برون‌تنی^۴ توسط اکثر محققین ترجیح داده می‌شوند. اولین مطالعه در خصوص روش‌های برون‌تنی، مربوط به هضم دو مرحله

۱- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

*- ایمیل نویسنده مسئول:

(zaboli@basu.ac.ir

DOI: 10.22067/ijasr.v12i4.80666

3- *in vivo*

4- *in vitro*

کارایی و قابلیت متفاوتی در مقایسه با یکدیگر می‌باشند. بنابراین آنالیز داده‌های به‌دست آمده از آزمایش آزمون تولید گاز به‌وسیله مدل‌های مختلف، ممکن است نتایج متفاوتی ارائه دهد. بر این اساس، تعیین تفاوت موجود در بین این مدل‌ها از نظر توانایی آن‌ها در پیش‌بینی بهتر نتایج، می‌تواند در انتخاب مدل ایده‌آل بسیار تأثیرگذار باشد (۱۶). برای مقایسه قابلیت مدل‌ها (نکوی برآزش آن‌ها) در پیش‌بینی نتایج آزمون تولید گاز از ابزارهای مختلفی استفاده می‌شود. برخی از این ابزارها، آماره‌هایی هستند که از تجزیه واریانس داده‌ها به‌دست می‌آیند. مانند میانگین مربعات خطا^۵ (MSE)، ضریب تعیین^۶ (R^2)، انحراف مطلق میانگین باقیمانده^۷ (RMAD) و میانگین درصد خطا^۸ (MPE). اما برخی دیگر از آماره‌ها از طریق آزمون‌هایی از قبیل آزمون دوربین-واتسون (Durbin-Watson test) و آزمون اجرا (run test) و نیز محاسبه رابطه رگرسیون خطی بین مقادیر مشاهده شده و با مقادیر پیش‌بینی شده محاسبه می‌شوند (۲۷).

سیلاژ ذرت به‌عنوان یک خوراک علوفه‌ای رایج در تغذیه گاوهای شیری و پرواری می‌باشد. آگاهی از کینتیک تخمیر شکمبه‌ای این خوراک به‌خصوص در زمان‌های مختلف پس از سیلو کردن، سبب می‌شود که شناخت بهتری از این خوراک داشته باشیم. بنابراین هدف پژوهش حاضر ارزیابی نکویی برآزش مدل‌های نمای (EXP)، لجستیک (LOG)، گومپرتز (GOM) و فیزو (FZH) به‌وسیله تکنیک آزمایشگاهی آزمون تولید گاز با سیلاژ ذرت به عنوان نمونه خوراک به کمک آماره‌های میانگین مربعات خطا (MSE)، ضریب تعیین (R^2)، انحراف مطلق میانگین باقیمانده (RMAD) و میانگین درصد خطا (MPE) بود.

مواد و روش‌ها

آماده سازی نمونه‌های خوراک: در این آزمایش از سیلاژ

ذرت به‌عنوان نمونه خوراک استفاده شد. این خوراک‌ها در زمان‌های صفر، ۳۰ و ۶۰ روز پس از سیلو کردن تهیه شدند. ابتدا درصد ماده خشک نمونه‌ها با استفاده از آون در دمای ۶۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۴۸ ساعت تعیین شد. سپس نمونه‌های خشک شده با استفاده از

تولید گاز و یا تولید آهسته گاز)، فاز تولید گاز سریع و فاز پایانی (که در آن سرعت تولید گاز کاهش یافته و در نهایت به صفر می‌رسد) قابل تشخیص است. برای برآورد نتایج چنین کینتیکی نیاز به یک مدل ریاضی خاصی می‌باشد که بتواند روند تولید گاز را در طول زمان توصیف کند (۲). به‌عبارت دیگر، توصیف ریاضی کینتیک تولید گاز (حجم گاز تولید شده در طول زمان) که از طریق برآزش آن با تعدادی از مدل‌های ریاضی صورت می‌گیرد، اطلاعات با ارزشی در خصوص کینتیک تخمیر شکمبه ارائه می‌دهد و برای این منظور در طول دهه‌های گذشته، تعداد زیادی از مدل‌های ریاضی توسط محققین مختلف پیشنهاد شده است (۷). مدل غیر خطی ریاضی که معمولاً برای تعیین کینتیک تخمیر شکمبه استفاده می‌شود، از نوع مدل نمایی^۱ (EXP) می‌باشد که اولین بار در سال ۱۹۷۹ توسط اورسکوف و مک‌دونالد پیشنهاد شد (۱۶). مدل EXP یکی از شناخته‌ترین و رایج‌ترین مدل‌ها برای برآزش داده‌های آزمون تولید گاز و پیش‌بینی کینتیک تخمیر شکمبه می‌باشد. اما این مدل ساختار ساده، نیمه-هذلولی و غیر سیگموییدی دارد و چون فعالیت میکروبی در شکمبه و روند رشد آن‌ها به صورت سیگموییدی است، بنابراین استفاده از یک مدل غیر سیگموییدی مانند EXP برای تفسیر نتایج مربوطه، از دقت کافی برخوردار نیست و سبب ایجاد خطا در آنالیز داده‌ها می‌شود (۳). لذا، امروزه انواع مدل‌های با ساختار سیگموییدی و غیر سیگموییدی برای برآورد بهتر نتایج آزمون تولید گاز به کار برده شده‌اند و در این رابطه انواع معادلات مختلف ارائه شده است که هدف اصلی استفاده از این معادلات، پیش‌بینی دقیق‌تر کینتیک تخمیر شکمبه می‌باشد (۲۰). لازم به ذکر است که برخی از محققین هنوز هم ترجیح می‌دهند که از مدل EXP استفاده کنند. اما مدل‌هایی هم وجود دارند که برای این منظور ارائه شده‌اند اما کمتر مورد توجه قرار گرفته‌اند (۲۴). بر این اساس برخی از محققین استفاده از سایر مدل‌ها را ترجیح می‌دهند (۱۱). مدل لجستیک^۲ (LOG) و مدل گومپرتز^۳ (GOM) از بهترین توابع رشد هستند که دارای ساختار سیگموییدی هستند و اولین بار برای توصیف کینتیک تولید گاز توسط محققین استفاده شدند (۲۲). مدل فیزو^۴ (FZH) نیز به منظور بررسی کینتیک تخمیر شکمبه استفاده شد (۱۸). از آنجا که هر یک از مدل‌های پیشنهاد شده دارای

5- mean square error

6 - coeficion of determination

7 - residual mean absolute deviation

8 - mean percentage error

1 - Exponential model ($y = A \cdot (1 - e^{-c \cdot t})$)

2 - Logistic model

3 - Gompertz model

4 - Fitzhugh model

آسیاب رومیزی مجهز به الک ۱ میلی‌متری آسیاب شدند و از نمونه‌های آسیاب شده برای تعیین ترکیب شیمیایی و انجام آزمون تولید گاز استفاده شد. ترکیب شیمیایی نمونه‌ها با استفاده از روش‌های

جدول ۱- ترکیبات شیمیایی (برحسب درصد ماده خشک) سیلاژ ذرت در زمان‌های مختلف سیلو کردن
Table 1- Chemical composition (based on DM %) of corn silage at different ensiling times

سیلاژ ذرت Corn silage	ماده خشک DM ¹	ماده آلی OM ²	پروتئین خام CP ³	الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF ⁴	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی ADF ⁵
روز صفر Day 0	16.38	91.69	8.74	62.91	43.88
روز ۳۰ Day 30	17.80	90.89	7.51	61.73	41.00
روز ۶۰ Day 60	20.53	90.39	6.70	58.99	39.43

¹ Dry matter (DM)

² Organic matter (OM)

³ Crude protein (CP)

⁴ Neutral detergent fiber (NDF)

⁵ Acid detergent fiber (ADF)

کردن نمونه خوراک، فقط از مقدار ۳۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه بافری شده استفاده شد. پس از آماده کردن همه ویال‌های مربوط به هر اجرا، درب ویال‌ها با دقت با درپوش آلومینیومی پرس شد و بلافاصله به داخل بن‌ماری ۳۹ درجه سلسیوس منتقل شد و حجم گاز حجم گاز تولید شده (بر حسب میلی‌لیتر) در ساعات ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۰، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶، ۱۲۰ و ۱۴۴ پس از انکوباسیون، با استفاده از یک سر سوزن متصل به یک سرنگ شیشه‌ای مدرج ثبت شد.

۳- مدل‌های غیر خطی استفاده شده و نحوه مقایسه

نکویی برازش آن‌ها: به منظور پیش بینی حجم گاز تولید شده در زمان‌های مختلف انکوباسیون از ۴ مدل غیر خطی استفاده شد. معادله مدل‌های مورد مطالعه در جدول ۲ ارائه شده است. برای این منظور، تعداد ۲۷ سری داده به دست آمده از آزمایش (۳ نوع نمونه خوراک، ۳ تکرار و در ۳ اجرای جداگانه) که مربوط به حجم گاز تولید شده در زمان‌های مختلف انکوباسیون بودند، استفاده شد. همه داده‌ها با استفاده از رویه Nonlinear regression در نرم افزار SPSS 16.0 for windows به مدل‌های مورد نظر برازش شدند و نتایج به صورت میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک بیان شد.

به منظور بررسی نکویی برازش مدل‌ها از مقادیر میانگین مربعات خطا (MSE)، ضریب تعیین (R^2)، انحراف مطلق میانگین باقیمانده (RMAD) و میانگین درصد خطا (MPE) به دست آمده از هر مدل استفاده شد.

۲- آزمایش آزمون تولید گاز: آزمایش آزمون تولید گاز در ۳

اجرای (run) جداگانه و در طی ۳ دوره ۶ روزه انجام شد. برای اندازه‌گیری تولید گاز از روش میزان جابجایی پیستون در داخل سرنگ شیشه‌ای مدرج مرتبط با ویال‌های ۵۰ میلی‌لیتری حاوی مایع شکمبه و نمونه خوراک، که معرف میزان تولید گاز بوده، استفاده شد (۵). در هر اجرا، نمونه‌های خوراک در ۳ تکرار به همراه ۲ عدد ویال به عنوان بلانک در نظر گرفته شد. برای این منظور، ابتدا مایع شکمبه از تعداد ۳ رأس گوسفند نر مهربان مجهز به فیستولای شکمبه‌ای قبل از خوراک‌دهی صبحگاهی گرفته شد. این گوسفندان روزانه در دو وعده غذایی صبح و عصر با استفاده از ۶۰ درصد علوفه (یونجه و سیلاژ ذرت) و ۴۰ درصد کنسانتره تغذیه می‌شدند (۱۵). مایع شکمبه به دست آمده از هر ۳ رأس گوسفند با هم مخلوط شدند و بلافاصله در شرایط بی‌هوازی و با استفاده از فلاسک در مجاورت آب گرم ۳۹ درجه سلسیوس به آزمایشگاه منتقل شد (۶). مایع شکمبه با استفاده از پارچه متقال چهار لایه صاف شد و به نسبت ۱ به ۲ با محلول بافر آماده شده در مجاورت گاز دی‌اکسید کربن مخلوط شد و به عنوان مایع شکمبه بافری شده جهت استفاده بعدی در داخل بن‌ماری ۳۹ درجه سلسیوس نگهداری شد (۱۳). به داخل ویال‌های شیشه‌ای مربوط به نمونه‌های خوراک، مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه خوراک (خشک شده در آون ۶۰ درجه سلسیوس) به همراه ۳۰ میلی‌لیتر از مایع شکمبه بافری شده ریخته شد و در ویال‌های مربوط به بلانک‌ها نیز بدون اضافه

جدول ۲- توصیف مدل‌های ریاضی غیر خطی استفاده شده در این مطالعه

Table 2- Description of candidate nonlinear mathematical models used in this study

مدل‌ها Models	معادله Equation ¹	پارامتر ساختاری Shape parameter	دامنه Domain
مدل نمایی Exponential (EXP)	$y = A \cdot (1 - e^{-ct})$	-	$t \geq 0$
مدل فیزو Fitzhugh (FZH)	$y = A \cdot (1 + e^{-ct})^b$	b	$t \geq 0$
مدل گومپرتز Gompertz (GOM)	$y = (A \cdot e^{-be^{(-ct)}})$	b	$t \geq 0$
مدل لجستیک Logistic (LOG)	$y = A \cdot (1 + e^{(b-ct)})^{-1}$	b	$t \geq 0$

¹ Y: حجم گاز تولید شده در زمان t، A: پتانسیل تولید گاز، c: سرعت تولید گاز، b: پارامتر ساختاری، t: زمان انکوباسیون و e: عدد نپر (۲/۷۱۸۲۱۸۲۸۴...)

¹ y: volume of gas at time t, A: asymptotic gas volume, c: rate parameter, b: shape parameter, t: incubation time and e: Napier's constant (2.718218284...)

رگرسیون نیز بر اساس فرضیه $\text{slope}=1$ و $\text{intercept}=0$ در سطح خطای ۵ درصد آنالیز آماری شدند (۲۷).

احتمال معنی‌دار بودن تفاوت مقدار intercept به دست آمده از مدل‌ها با عدد صفر از طریق رویه REG و با استفاده از برنامه SAS (1999) انجام شد. احتمال معنی دار بودن تفاوت مقدار slope با عدد ۱ نیز از طریق آزمون t مطابق رابطه ۶ محاسبه شد و مقدار t به دست آمده از هر مدل، با t جدول و در سطح خطای ۵ درصد مقایسه آماری شد:

$$t_b = \frac{b_i - 1}{\sqrt{\frac{MSE}{SSX}}} \quad \text{رابطه ۶}$$

در رابطه ۶، t_b مقدار t محاسبه شده برای هر مدل، b_i مقدار ضریب رگرسیون محاسبه شده در مدل \hat{a} ، MSE میانگین مربعات خطا و SSX مجموع مربعات مقادیر مشاهده شده می‌باشد.

۴- آنالیز آماری داده‌ها: آنالیز آماری مقادیر برآورد شده از طریق هر کدام از مدل‌های مورد مطالعه (شامل پارامترهای A و C) و پارامترهای مربوط به نکویی-برازش (MSE ، R^2 ، $RMAD$ و MPE) بر اساس رویه GLM با استفاده از برنامه SAS (۲۱) انجام شد. مدل آماری استفاده شده به صورت $Y_{ij} = \mu + M_i + R_j + e_{ij}$ بود که در آن Y_{ij} متغییر وابسته، μ میانگین، M_i اثر مدل، R_j اثر ران و e_{ij} خطای باقیمانده بود. مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون توکی و در سطح خطای ۵ درصد انجام شد.

مقادیر MSE و R^2 در هر مدل از رابطه‌های ۱، ۲ و ۳ محاسبه شدند (۹):

$$RSS = \sum (y_i - \hat{y})^2 \quad \text{رابطه ۱}$$

$$MSE = \frac{RSS}{(n-p)} \quad \text{رابطه ۲}$$

$$R^2 = 1 - \frac{MSE}{S_y^2} \quad \text{رابطه ۳}$$

در رابطه‌های ۱، ۲ و ۳، y_i مقدار مشاهده شده، \hat{y} مقدار پیش-بینی شده، RSS مجموع مربعات باقیمانده، n تعداد داده‌ها (تعداد نقاط زمانی اندازه‌گیری شده)، p تعداد پارامتر موجود در هر مدل و S_y^2 به-عنوان واریانس کل در مقادیر مشاهده شده می‌باشد.

مقادیر $RMAD$ و MPE نیز بر اساس رابطه‌های ۴ و ۵ به صورت زیر محاسبه شدند (۱۶):

$$RMAD = \sum_{i=1}^n \frac{|y_i - \hat{y}_i|}{n} \quad \text{رابطه ۴}$$

$$MPE = \frac{1}{n} \sum \frac{|y_i - \hat{y}_i| \cdot 100}{y_i} \quad \text{رابطه ۵}$$

بررسی قابلیت مدل‌ها در برازش داده‌ها با استفاده از آزمون دوربین-واتسون و آزمون اجرا (run test) استفاده شد (۴ و ۲۷). رابطه رگرسیون خطی بین مقادیر مشاهده شده (محور x) و پیش‌بینی شده (محور y) در هر یک از زمان‌های انکوباسیون برای همه سری داده‌ها و در هر مدل، بر اساس رویه REG با استفاده از برنامه SAS (۲۱) محاسبه شد و مقادیر عرض از مبدا (intercept) و ضریب رگرسیون (slope) برای هر مدل به دست آمد. معنی‌دار شدن پارامترهای

جدول ۳- مقایسه فراسنجه‌های کینتیک تخمیر شکمبه‌ای برآورد شده بوسیله مدل‌های مورد مطالعه

Table 3- Comparison of the ruminal fermentation kinetic parameters estimated by the studied models

مقدار p	مدل لجستیک	مدل گومپرتز	مدل فیزو	مدل نمایی	پارامتر	زمان بعد از سیلو کردن
p-value ²	Logistic	Gompertz	Fitzhugh	Exponential	Parameters ¹	Times after ensiling
0.2594	97.10	98.37	97.64	96.16	A	روز صفر
<0.0001	0.075 ^a	0.053 ^d	0.064 ^b	0.057 ^c	c	Day 0
-	1.048	1.465	-2.031	-	b	
0.6519	87.27	88.28	87.73	87.19	A	روز ۳۰
<0.0001	0.088 ^a	0.062 ^c	0.074 ^b	0.059 ^c	c	Day 30
-	1.164	1.568	-2.174	-	b	
0.7806	76.09	77.23	76.65	77.18	A	روز ۶۰
0.7074	0.093	0.062	0.075	0.115	c	Day 60
-	1.402	1.812	-2.512	-	b	
0.4313	86.82	87.96	87.34	86.84	A	میانگین
0.4012	0.085	0.059	0.071	0.077	c	Mean
-	1.205	1.615	-2.239	-	b	

¹ A: پتانسیل تولید گاز (میلی‌لیتر بر ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)، b: پارامتر ساختاری، c: سرعت تولید گاز (میلی‌لیتر بر ساعت)

² میانگین‌های دارای حروف متفاوت در هر ردیف از جدول دارای تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) بر اساس آزمون توکی هستند.

¹ A: asymptotic gas volume (ml/200mg DM), b: shape parameter, c: rate parameter (ml.h⁻¹).

² Mean within rows followed by different superscripts are statistically different ($P < 0.05$) by the test of Turkey's.

نتایج و بحث

اندازه ذرات، دوره انکوباسیون، نوع جمعیت میکروبی مایع شکمبه و نیز شرایط آماده سازی مایع شکمبه دارد. لذا انتظار تولید مقادیر مشابه گاز تولیدی در زمان‌های مختلف انکوباسیون و در آزمایش‌های مختلف امکان پذیر نیست (۲۳).

سرعت تولید گاز (c) در بین مدل‌های مورد بررسی فقط در زمان‌های صفر و ۳۰ سیلو کردن، دارای تفاوت معنی‌دار بود و مقدار آن در مدل LOG بیشتر از سایر مدل‌ها بود ($P < 0.05$). اما مقدار پارامتر c در میانگین کل دوره سیلو کردن در بین مدل‌ها تفاوت معنی‌داری نشان نداد. در مطالعه‌ای که بر روی سیلاژ ذرت انجام گرفته بود، مقدار عددی c برآورد شده از طریق مدل EXP مقدار ۰/۰۹۵ میلی‌لیتر بر ساعت گزارش شد (۸). همچنین در مطالعه دیگر، مقدار آن ۰/۰۴۳ میلی‌لیتر بر ساعت گزارش شد (۱۹).

با توجه به اینکه پارامتر b یک پارامتر ساختاری است که برای تصحیح منحنی به مدل اضافه می‌شود و از آنجا که مقدار آن با توجه به ساختار معادله در مدل‌های مختلف تغییر می‌کند، لذا امکان مقایسه کردن پارامتر b در بین مدل‌های مختلف وجود ندارد (۲۹). در بین مدل‌های مورد مطالعه، مدل EXP یک مدل ساده‌نمایی است که فقط از دو پارامتر A و c تشکیل شده است و فاقد پارامتر b می‌باشد. اما سایر مدل‌ها دارای پارامتر b می‌باشند. وجود پارامتر b در سایر مدل‌ها در مقایسه با مدل EXP احتمالاً سبب افزایش انعطاف پذیری آن‌ها در برازش داده‌ها و تصحیح روند تولید گاز شده و در نهایت

نتایج مربوط به پارامترهای پیش‌بینی شده توسط مدل‌های مورد مطالعه شامل پتانسیل تولید گاز (A)، پارامتر ساختاری^۱ منحنی (b) و سرعت تولید گاز (c) در جدول ۳ ارائه شده است. مدل‌های مورد مطالعه از نظر پیش‌بینی مقدار پارامتر A تفاوت معنی‌داری با هم نشان ندادند و مقدار پارامتر A در بین مدل‌های مورد مطالعه در دامنه ۹۸/۳۷ (در مدل GOM در روز صفر) تا ۷۶/۰۹ (در مدل LOG در روز ۶۰) میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک قرار داشت. لازم به ذکر است که پژوهش مشابهی در خصوص استفاده از مدل‌های مورد بررسی در این مطالعه بر روی سیلاژ ذرت، در دسترس ما قرار نگرفت. اما در یک مطالعه که بر روی ۲۳ نوع خوراک علوفه‌ای مختلف انجام شده بود، مقدار پارامتر A پیش‌بینی شده توسط مدل‌های EXP، GOM و LOG در طول ۴۸ ساعت انکوباسیون، تفاوت معنی‌داری با هم نشان دادند (۲۷). احتمالاً ترکیب شیمیایی خوراک‌های مورد آزمایش، شرایط انجام آزمایش، جمعیت میکروبی مایع شکمبه و زمان انکوباسیون از مهم‌ترین عوامل تأثیر گذار در این خصوص می‌باشند.

در تعیین ارزش غذایی مواد خوراکی در آزمون تولید گاز، حجم گاز تولید شده پایانی و پتانسیل تولید گاز بسیار مهم است. پتانسیل تولید گاز در مواد خوراکی به فاکتورهای متعددی از قبیل مقدار نمونه،

1 - Shape parameter

MSE در مدل EXP و کمترین آن در مدل GOM مشاهده شد. مقدار R^2 نیز در مدل‌های EXP، GOM و LOG در آن مطالعه به- ترتیب ۰/۹۶۹، ۰/۹۹۳ و ۰/۹۸۵ به دست آمد (۲۷). در مطالعه دیگری که بر روی ۱۵ نوع سیلاژ خانواده گندمیان به روش آزمون تولید گاز در مدت زمان ۷۲ ساعت انکوباسیون صورت گرفت، مقدار MSE در مدل‌های EXP، GOM و LOG به ترتیب ۲۳/۸، ۱۰/۳ و ۲۵/۸ و مقدار R^2 نیز به ترتیب ۰/۹۹۸، ۰/۹۹۹ و ۰/۹۹۷ گزارش شد (۷).

باعث افزایش دقت آن مدل‌ها گردیده است (۲۷). نتایج مربوط به پارامترهای نکویی برازش در بین مدل‌های مورد مطالعه در جدول ۴ ارائه شده است. مطابق جدول فوق، مدل EXP دارای بیشترین مقدار MSE و کمترین مقدار R^2 در بین مدل‌ها بود. اما بر خلاف آن، مدل GOM و FZH دارای کمترین مقدار MSE و بیشترین مقدار R^2 بودند. در یک آزمایش مشابه که بر روی مواد خوراکی مختلف به روش آزمون تولید گاز انجام شد، بالاترین مقدار

جدول ۴- مقایسه مدل‌ها بر اساس پارامترهای نکویی برازش آنها

Table 4- Comparison of the models based on their goodness of fit parameters

مقدار p p-value ¹	مدل لجستیک LOG	مدل گومپرتز GOM	مدل فیزو FZH	مدل نمایی EXP	پارامترهای نکویی برازش Goodness of fit parameteres
<.0001	25.42 ^{ab}	17.02 ^c	21.06 ^{bc}	29.50 ^a	میانگین مربعات خطا MSE ²
<.0001	0.970 ^c	0.980 ^a	0.975 ^{ab}	0.961 ^c	ضریب تعیین R^2 [#]
<.0001	3.153 ^b	2.591 ^c	2.879 ^{bc}	3.807 ^a	انحراف مطلق میانگین باقیمانده RMAD ³
<.0001	-3.820 ^b	-2.808 ^b	-3.075 ^b	5.527 ^a	میانگین درصد خطا MPE ⁴

¹ میانگین‌های دارای حروف متفاوت در هر ردیف دارای تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) بر اساس آزمون توکی هستند.

¹ Mean within rows followed by different superscripts are statistically different ($P < 0.05$) by the test of Turkey's.

² MSE: mean squares errors

[#] R^2 : coefficient of determination

³ RMAD: residual mean absolute deviation

⁴ MPE: mean percentage error

برازش مدل‌ها استفاده می‌شود. هر چقدر مقدار RMAD کوچکتر باشد (به صفر نزدیک‌تر باشد) نشان‌دهنده قابلیت بهتر مدل در برازش داده‌هاست (۱۶). مطابق جدول ۴، مقدار RMAD در مدل‌های GOM و FZH کمترین مقدار (به ترتیب ۲/۵۹۱ و ۲/۸۷۹) و در مدل EXP بیشترین مقدار (۳/۸۰۷) بود ($P < 0.05$). بر این اساس، مدل‌های GOM و FZH در مقایسه با مدل EXP قابلیت بهتری در برازش داده‌ها داشتند.

مقدار MPE نیز نشان‌دهنده این است که آیا میانگین مقادیر پیش‌بینی شده نسبت به مقادیر مشاهده شده، بیش برآورد و یا کم برآورد شده است یا خیر. بر اساس پارامتر MPE اگر مقادیر پیش‌بینی شده توسط مدل نسبت به مقادیر مشاهده شده بیشتر باشد (بیش برآورد باشد) مقدار MPE منفی و در غیر این صورت مثبت است. همچنین، اگر مقدار این عدد به صفر نزدیک‌تر باشد، نشان‌دهنده بهتر بودن نکویی برازش مدل می‌باشد (۱۶). در جدول ۴، مقدار MPE در مدل‌های EXP، FZH، GOM و LOG به ترتیب ۵/۵۲۷، ۳/۰۷۵، ۲/۸۰۸ و ۳/۸۲۰- بود و مقدار آن در مدل EXP، تفاوت معنی‌داری

منحنی تولید گاز یک شکل لگاریتمی دارد و به همین دلیل مدل‌هایی که برای توصیف آن به کار می‌روند، اکثراً فرم لگاریتمی و غیر خطی دارند. مقایسه مدل‌های غیر خطی از طریق تکنیک نکویی برازش و آنالیز باقیمانده (مقدار مشاهده شده منهای مقدار پیش‌بینی شده) یا همان مقدار خطا صورت می‌گیرد (۱۲). بر اساس نظر محققین، مقدار R^2 در مدل‌های توصیف‌کننده آزمون تولید گاز معیار مناسبی برای قضاوت و انتخاب بین مدل‌هاست (۲۹).

گزارش گردیده است که مدل‌های با تعداد پارامتر بیشتر، معمولاً مقدار MSE کوچکتری دارند که در نتایج ما نیز چنین روندی مشاهده شد (۳۰). گزارش شده است که اگر مقدار MSE و R^2 در یک مدل به ترتیب زیاد و کم باشد، نشان‌دهنده این است که مدل دارای نکویی برازش خوبی نیست (۱۰ و ۱۲). بنابراین با توجه به مقادیر MSE و R^2 به دست آمده، مشخص شد که مدل EXP به‌خاطر بیشترین مقدار MSE و کمترین مقدار R^2 ضعیف‌ترین عملکرد را در بین همه مدل‌ها داشت. مقدار RMAD نیز به‌عنوان یک شاخص برای بررسی نکویی-

مطالعه، مقدار آماره DW به عدد صفر نزدیک بود. این وضعیت در مدل EXP ملموس تر بود که نشان داد ضعف مدل EXP در برازش داده‌ها بیشتر از سایر مدل‌ها است. همچنین در تمامی مدل‌های مورد بررسی، فرض H_0 رد شد و با توجه به اینکه رد شدن فرض H_0 نشان‌دهنده وجود خود همبستگی بین خطاها (مقادیر باقیمانده) می‌باشد، لذا وجود خود همبستگی در بین خطاها از این طریق نیز تأیید شد و نشان داد که همه مدل‌ها در برازش داده‌ها دارای ضعف بودند. اما ضعف مدل EXP در این رابطه بیشتر بود. بر اساس نظر محققین، معنی‌دار شدن آماره DW نیز نشان دهنده وجود خود همبستگی در بین خطاها و ضعف مدل در برازش داده‌ها می‌باشد (۲۹). همانطور که در جدول ۵ مشاهده می‌شود، از بین تعداد ۲۷ منحنی بررسی شده برای هر مدل، بیشترین تعداد معنی‌دار شدن آماره DW در مدل EXP (در ۲۴ منحنی) و کمترین آن در مدل GOM (در ۱۸ منحنی) مشاهده شد که تأیید کننده نتایج فوق می‌باشد. در مطالعه‌ای که بر روی ۲۳ نوع اقلام خوراکی مختلف در قالب ۲۳ منحنی تولید گاز و با استفاده از مدل‌های EXP، GOM و LOG صورت گرفت، مشخص شد که در مدل EXP در تعداد بیشتری از منحنی‌ها آماره DW معنی‌دار شد (تعداد ۲۲ منحنی). اما مدل GOM کمترین مقدار (تعداد ۶ منحنی) را در این رابطه داشت (۲۷). لازم به ذکر است که وجود خود همبستگی بین مقادیر خطاها در یک مدل به تنهایی نمی‌تواند ملاک ارزشیابی یک مدل از نظر نکویی برازش آن باشد و نیاز است تا سایر شاخص‌ها نیز بررسی گردد (۱۷ و ۲۷).

با سایر مدل‌ها نشان داد ($P < 0.05$). بر این اساس، مقادیر پیش بینی شده توسط مدل EXP کمتر از مقادیر مشاهده شده بود (کم برآورد شده است). اما سایر مدل‌ها هر چند که مقدار اندکی بیش‌برآورد داشتند، اما وضعیت آنها در این رابطه بهتر از مدل EXP بود.

در رابطه با مقادیر RMAD و MPE به دست آمده از مدل‌های مورد مطالعه در سیلاژ ذرت، گزارشی در دسترس ما قرار نگرفت. اما مشابه نتایج ما، در مطالعه‌ای که بر روی علوفه یونجه صورت گرفت، مقدار RMAD و MPE در مدل EXP به ترتیب ۲/۲۶۲ و ۲/۷۸۶ به دست آمد که تفاوت معنی‌داری با سایر مدل‌ها داشت. این وضعیت نشان‌دهنده قابلیت ضعیف‌تر مدل EXP در برازش داده‌های گاز تست برای علوفه یونجه بود (۲۹). همچنین، در مطالعه‌ای که بر روی یک جیره حاوی ۶۰ درصد یونجه و با مدل‌های مختلف انجام شد، مقدار عددی RMAD و MPE در مدل EXP بیشتر از مدل‌های دیگر بود که نشان‌دهنده نکویی برازش ضعیف‌تر مدل EXP در مقایسه با مدل‌های دیگر بود (۱۶).

نتایج مربوط به آزمون دوربین-واتسون (DW) در جدول ۵ ارائه شده است. دامنه آماره DW در محدوده عددی ۰ تا ۴ می‌باشد و هر چقدر مقدار DW به دست آمده از یک مدل، به مرکز این محدوده (عدد ۲) نزدیک‌تر باشد، نشان‌دهنده پراکندگی مستقل خطاها (مقادیر باقیمانده) می‌باشد و در غیر این صورت و در اعداد نزدیک به مرز این محدوده (اعداد صفر و ۴) خطاهای به دست آمده از مدل دارای خود همبستگی هستند (۲۹). مطابق جدول ۵ در تمامی مدل‌های مورد

جدول ۵ - نتایج آزمون دوربین-واتسون در مدل‌های مورد مطالعه
Table 5- Durbin Watson (DW) test results in the studied models¹

	مدل نمایی EXP	مدل فیزو FZH	مدل گومپرتز GOM	مدل لجستیک LOG
آماره دوربین-واتسون DW	0.392	0.691	0.705	0.675
نتیجه فرض H_0 H_0 Result ¹	Rejected	Rejected	Rejected	Rejected
توزیع منحنی‌ها بر اساس معنی‌دار بودن و یا معنی‌دار نبودن ($p > 0.05$) مقادیر آماره دوربین-واتسون (در همه ۲۷ منحنی) Distribution of the curves according to the significant ($p < 0.05$) and non-significant ($p > 0.05$) DW values (total curve=27)				
معنی‌دار شده significant	24	21	18	23
معنی‌دار نشده Non-significant	0	0	0	0
بی معنی inconclusive	3	6	9	4

¹ فرض صفر: هیچ خود همبستگی معنی‌داری بین خطاها (مقادیر باقیمانده) وجود ندارد.

¹ H_0 : There is not a significant autocorrelation among the errors (residual values).

خواهد داشت (۹). مطابق جدول فوق، در مدل EXP، همه ۲۷ سری داده‌ها (منحنی‌ها) دارای کمترین اجرا (۳) بودند که نشان‌دهنده عملکرد ضعیف این مدل بود. سایر مدل‌ها به مراتب عملکرد بهتری نسبت به مدل EXP داشتند و بیشتر منحنی‌های آنها دارای اجرای ۴-۵ بودند. مشابه نتایج ما، در مطالعه‌ای که بر روی اقلام مختلف مواد خوراکی صورت گرفت، مدل EXP در مقایسه با مدل‌های GOM و LOG از نظر آزمون اجرا عملکرد ضعیف‌تری داشت و مدل GOM دارای بهترین عملکرد بود (۲۷). همچنین در مطالعه دیگری که بر روی اقلام خوراکی مختلف از جمله سیلاژ ذرت انجام شد، از مجموع ۲۱۶ منحنی مطالعه شده، تعداد ۹۰ درصد و یا بیشتر منحنی‌ها در مدل‌های EXP، GOM و LOG دارای تعداد اجرای ۵ ≤ بودند (۳). گزارش گردیده است که تعداد اجرای کمتر در یک مدل نشان‌دهنده آن است که در مدل بیش‌برآورد و یا کم‌برآورد اتفاق افتاده است. در حالی که تعداد اجرای بیشتر نشان‌دهنده پراکنش تصادفی مقادیر باقیمانده (خطاها) بوده و بنابراین توانایی بهتر مدل را توصیف می‌کند (۳).

در تحقیق حاضر نیز هر چند در مدل‌های GOM و LOG بین خطاها خود همبستگی مشاهده گردید، اما مطابق نتایج مربوط به نکویی‌برازش، این دو مدل قابلیت خوبی در برازش داده‌ها در مقایسه با مدل‌های EXP و FZH داشتند. نتایج مربوط به آزمون اجرا (run test) در جدول ۶ ارائه شده است. این آزمون به منظور بررسی روند تغییر داده‌ها (مقادیر باقیمانده) در هر مدل استفاده می‌شود و تغییرات سیستمیک مقادیر فوق به‌طور واضح در نتایج آزمون اجرا مشاهده می‌شود (۳). یک اجرا (run)، تعداد اعداد پشت سر هم با علامت مشابه (مثلاً + یا -) در یک سری اعداد متوالی می‌باشد. بر این اساس، اگر تعداد اجراهای موجود در مقادیر باقیمانده در یک مدل بیشتر باشد، احتمالاً نکویی‌برازش آن مدل بیشتر است (۲۷). در مطالعه ما، مطابق جدول ۶ تعداد اجراهای به-دست آمده از ۲۷ منحنی که برای برازش هر مدل استفاده شده بودند، در ۴ دسته تقسیم شدند. این دسته‌ها شامل تعداد اجراهای با تعداد ۳ ≤ ، ۴-۵ ، ۶-۷ و ۸ ≥ اجرا بودند. وقتی که مقادیر باقیمانده از هر مدل به‌طور تصادفی پراکنده باشند، تعداد اجرای مشاهده شده بیشتر خواهد بود و مدل نکویی‌برازش قوی‌تر و خطای سیستمیک کمتری

جدول ۶- نتایج تست اجرا پس از برازش مدل‌ها
Table 6- Run test results after fitting the models

مدل لجستیک LOG	مدل گومپرتز GOM	مدل فیوزو FZH	مدل نمایی EXP
توزیع منحنی‌ها بر اساس تعداد اجراها (در همه ۲۷ منحنی) Distribution of curves according to the number of runs (total curve=27)			
0	0	0	27
26	25	26	0
1	2	1	0
0	0	0	0
توزیع منحنی‌ها بر اساس معنی‌دار بودن و معنی‌دار نبودن (p<0.05) نتایج تست اجرا (در همه ۲۷ منحنی) Distribution of the curves according to the significant (p<0.05) and non-significant (p>0.05) of run test results (total curve=27)			
9	16	13	24
18	11	14	3

^۱ فرض صفر: توزیع داده‌ها به صورت تصادفی است.

اگر $|Z| > Z_{1-\alpha/2}$ باشد، فرض صفر پذیرفته می‌شود و در غیر این صورت، فرض صفر رد می‌شود ($Z=2.6938$ و $\alpha=0.05$)
حد بحرانی $Z: Z_{1-\alpha/2} = 1.96$ ناحیه بحرانی: اگر $|Z| > 1.96$ باشد، فرض صفر رد می‌شود.

از آنجاییکه آماره تست (Z) بیشتر از مقدار بحرانی است، نتیجه‌گیری می‌کنیم که داده‌ها در سطح خطای ۰/۰۵ به صورت تصادفی توزیع نشده‌اند.

^۱ H_0 : The distribution of data are random.

If $|Z| > Z_{1-\alpha/2}$, accept H_0 ; otherwise, reject H_0

Critical value (upper tail): $Z_{1-\alpha/2} = 1.96$

Since the test statistic (Z) is greater than the critical value, we conclude that the data are not random at the 0.05 significance level.

Test statistic: $Z = 2.6938$

Significance level: $\alpha = 0.05$

Critical region: Reject H_0 if $|Z| > 1.96$

بنابراین مطابق شکل ۱، این وضعیت سبب شد تا خط رگرسیونی برآورد شده در مدل EXP به‌خصوص در اوایل دوره انکوباسیون در زیر خط ۱:۱ قرار بگیرد. در چنین وضعیتی مقدار گاز پیش‌بینی شده (به‌خصوص در ساعات اولیه انکوباسیون) کمتر از مقدار مشاهده شده می‌باشد. این وضعیت از نظر بیولوژیکی امکان‌پذیر نیست. زیرا حجم گاز پیش‌بینی شده در ساعت صفر انکوباسیون منفی می‌شود (۲۷). در سایر مدل‌ها (مدل‌های FZH، GOM و LOG) عکس این حالت مشاهده شد و خط رگرسیونی برآورد شده در ساعات اولیه انکوباسیون در بالای خط ۱:۱ قرار گرفتند و سبب شد که حجم گاز پیش‌بینی شده در ساعت صفر انکوباسیون مثبت شود. از آنجا که در حالت طبیعی حجم گاز تولید شده در ساعت صفر انکوباسیون، صفر می‌باشد، بنابراین بروز چنین وضعیتی نیز از نظر بیولوژیکی امکان‌پذیر نیست و همه این‌ها دلالت بر عدم دقت زیاد (۱۰۰ درصد) در مدل‌های مربوطه دارد. با این حال، در بین مدل‌های مطالعه شده، خط رگرسیونی برآورد شده توسط مدل‌های FZH و GOM به خط ۱:۱ نزدیک‌تر بود و مطابق جدول ۶، مقادیر MSE و R^2 نیز در آن‌ها به ترتیب کوچک‌تر و بزرگ‌تر از سایر مدل‌ها بود و بنابراین مدل‌های FZH و GOM در مقایسه با سایر مدل‌های مورد مطالعه پیش‌بینی بهتری از پروفیل تولید گاز داشتند.

معنی‌دار شدن آزمون اجرا در یک مدل نشان‌دهنده آن است که ترتیب داده‌ها (مقادیر باقیمانده) دارای توزیع تصادفی نیستند و لذا نوعی خطای سیستمیک در مدل وجود دارد (۲۷). مطابق جدول فوق، از تعداد ۲۷ منحنی بررسی شده در مطالعه حاضر، در مدل EXP در مقایسه با سایر مدل‌ها در تعداد بیشتری از منحنی‌ها (۲۴ منحنی) نتیجه آزمون اجرا معنی‌دار شد و مدل‌های FZH، GOM و LOG وضعیت بهتری در مقایسه با مدل EXP داشتند که مطابق با نتایج سایر محققین می‌باشد (۲۷).
نتایج مربوط به رابطه رگرسیونی بین مقدار حجم گاز مشاهده شده و مقدار پیش‌بینی شده آن در طول زمان انکوباسیون در جدول ۷ ارائه شده است. معنی‌دار شدن پارامترهای رگرسیونی بر اساس فرضیه $\text{intercept} = 0$ (عرض از مبدا) و $\text{slope} = 1$ (ضریب رگرسیون) آنالیز آماری شدند. در چنین شرایطی، بیشترین همبستگی بین مقدار مشاهده شده با مقدار پیش‌بینی شده در حالتی به‌دست می‌آید که مقدار عرض از مبدا و ضریب رگرسیون به ترتیب تفاوت آماری معنی‌داری با اعداد صفر و ۱ نداشته باشند (۱۷ و ۲۷). همان‌طور که در جدول ۷ مشاهده می‌شود، در همه مدل‌ها مقادیر عرض از مبدا و ضریب رگرسیونی به ترتیب تفاوت معنی‌داری با اعداد صفر و ۱ داشتند. مقدار عرض از مبدا در مدل EXP منفی و در سایر مدل‌ها مثبت بود.

جدول ۷- پارامترهای رگرسیونی بین حجم گاز مشاهده شده (در محور X) و پیش‌بینی شده (در محور Y) بعد از برازش مدل‌ها

Table 7- Regression parameters between observed (in X-axis) versus predicted (in Y-axis) gas volumes after fitting the models.

مدل‌ها Models	عرض از مبدا Intercept ¹	ضریب رگرسیون Slope ¹	میانگین مربعات خطا MSE	ضریب تعیین R ²
مدل نمایی Exponential (EXP)	-3.598 *	1.046 *	30.506	0.962
مدل فیزو Fitzhugh (FZH)	1.887 *	0.969 *	15.577	0.977
مدل گومپرتز Gompertz (GOM)	1.621 *	0.973 *	12.648	0.981
مدل لجستیک Logistic (LOG)	2.527 *	0.959 *	18.414	0.972

¹ مقادیر عرض از مبدا و ضریب رگرسیون به ترتیب تفاوت معنی‌داری با صفر و ۱ دارند ($p < 0.05$).

¹ Intercept and slope significantly ($p < 0.05$) different from 0 and 1, respectively.

نداشتند. اما بررسی پارامترهای نکویی برازش نشان داد که در بین مدل‌های بررسی شده، مدل GOM و FZH در مقایسه با مدل EXP، کینتیک تخمیر شکمبه‌ای سیلاژ ذرت را با دقت بیشتری پیش‌بینی کردند.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این آزمایش نشان داد مقدار پتانسیل تولید گاز (A) پیش‌بینی شده توسط مدل‌های مورد مطالعه، تفاوت معنی‌داری با هم

منابع

- 1- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
- 2- Beuvink, J. M., and J. Kogut. 1993. Modeling gas production kinetics of grass silages incubated with buffered ruminal fluid. *Journal of Animal Science*, 71(4):1041-1046.
- 3- Dhanoa, M. S., S. Lopez, J. Dijkstra, D. R. Davies, R. Sanderson, A. B. Williams, Z. Zileshi, and J. France. 2000. Estimating the extent of degradation of ruminant feeds from a description of their gas production profiles observed in vitro: Comparison of models. *British Journal of Nutrition*, 83:131-142.
- 4- Draper, N. R., and H. Smith. 1981. Applied regression analysis. Wiley, New York, USA.
- 5- Fedorak, P. M., and S. E. Hruday. 1983. A Simple apparatus for measuring gas production by methanogenic cultuvesin serum bottles. *Environmental Technology Letters*, 4(10): 425-432.
- 6- He, Z. X., Y. L. Zhao, T. A. McAllister, and W. Z. Yang. 2016. Effect of in vitro techniques and exogenous feed enzymes on feed digestion. *Animal Feed Science and Technology*, 213: 148-152.
- 7- Huhtanen, P., A. Seppälä, S. Ahvenjärvi, and M. Rinne. 2008. Prediction of in vivo neutral detergent fiber digestibility and digestion rate of potentially digestible neutral detergent fiber: comparison of models. *Journal of Animal Science*, 86: 2657-2669.
- 8- Kamalak, A., O. Canbolat, Y. Gurbuz, and O. Ozay. 2005. Comparison of in vitro gas production technique with in situ nylon bag technique to estimate dry matter degradation. *Czech Journal of Animal Science*, 50 (2): 60-67.
- 9- Korkmaz, M., and F. Uckades. 2014. An alternative robust model for in situ degradation studies "Korkmaz-Uckardes". *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 4(1): 45-51.
- 10- Korkmaz, M., F. Uckades, and A. Kaygisiz. 2011. Comparison of wood, gaines, parabolic, hayashi, dhanno and polynomial models for lactation season curve of Simmental cows. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 3: 448-458.
- 11- López, S., J. France, M. S. Dhanoa, F. Mould, and J. Dijkstra. 1999. Comparison of mathematical models to describe disappearance curves obtained using the polyester bag technique for incubating feeds in the rumen. *Journal of Animal Science*, 77: 1875-1888.
- 12- López, S., M. Prieto, J. Dijkstra, M. S. Dhanoa, and J. France. 2004. Statistical evaluation of mathematical models for microbial growth. *International Journal of Food Microbiology*, 96: 289-300.
- 13- Menke, K. H., and H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*, 28: 7-55.
- 14- Menke, K. H., L. Raab, A. Salewski, H. Steingass, D. Fritz, and W. Schneider. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. *Journal of Agricultural Science*, 93: 217-222.
- 15- NRC. 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, goats, cervids, and New World camelids. National Academies Press, Washington, DC.
- 16- Peripolli, V., E. R. Prates, J. O. J. Barcellos, C. M. McManus, C. A. Wilbert, J. Braccini Neto, C. M. Camargo, and R. B. Lopes. 2014. Models for gas production adjustment in ruminant diets containing crude glycerol. *Livestock Research for Rural Development* 26 (2), from <http://www.lrrd.org/lrrd26/2/peri26028.htm>.
- 17- Pineiro, G., S. Perelman, J. P. Guerschman, and J. M. Paruelo. 2008. How to evaluate models: observed vs. predicted or predicted vs. observed? *Ecological Modelling*, 216: 316-322.
- 18- Pitt, R. E., T. L. Cross, A. N. Pell, P. Schofield, and P. H. Doane. 1999. Use of in vitro gas production models in ruminal Kinetics. *Mathematical Biosciences*, 159(2):145-163.
- 19- Rabbani, H. R. 2012. Study on silage characteristics of two varieties of amaranth forage (*amaranthus hypochondriacus*) and its comparison with corn silage. Thesis submitted for Master of Science in field of animal science, Department of Animal Science, Bu-Ali Sina University. (In Persian)
- 20- Sahin, M., F. Uckardes, O. Canbolat, A. Kamalak, and A. I. Atalay. 2011. Estimation of Partial Gas Production Times of Some Feedstuffs Used in Ruminant Nutrition. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi Journal*, 17: 731-734.
- 21- SAS, 1999. The SAS system for windows. Release 8.0.1. SAS Institutue Inc, Cary, USA.
- 22- Schofield, P., R. E. Pitt, and A. N. Pell. 1994. Kinetics of fibre digestion from in vitro gas production. *Journal of*

- Animal Science, 72: 2980-2991.
- 23- Seker, E. 2002. The determination of the energy values of some ruminant feeds by using digestibility trial and gas test. *Revue de Medecine Veterinaire*, 153(5): 323-328.
- 24- Tedeschi, L. O., P. Schofield, and A. N. Pell. 2008. Determining feed quality for ruminants using in vitro gas production technique. 1. Building an anaerobic fermentation chamber. In: *The 4th Workshop on Modeling in Ruminant Nutrition: Application of the gas production technique*, Juiz de Fora, Brazil
- 25- Tilley, J. M. A., and R. A. Terry. 1963. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Journal of the British Grassland Society*, 18: 104-111.
- 26- Van-Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74: 3583-3597.
- 27- Wang, M., S. X. Tang, and Z. L. Tan. 2011. Modeling in vitro gas production kinetics: Derivation of Logistic-Exponential (LE) equations and comparison of models. *Animal Feed Science and Technology*, 165: 137-150.
- 28- Wang, M., X. Z. Sun, S. X. tang, Z. L. Tan, and D. Pacheco. 2013. Deriving fractional rate of degradation of logistic-exponential (LE) model to evaluate early in vitro fermentation. *Animal*, 7(6): 920-929.
- 29- Zaboli, Kh. 2016. Comparison of fitting of some mathematical models to describe the ruminal fermentation kinetics according to gas production technique for Alfalfa hay. *Animal Production Research*, 5(3): 35-47. (In Persian)
- 30- Zwitering, M. H., I. Jongenburger, F. M. Rombouts, and K. Van'tRiet. 1990. Modeling of the bacterial growth curve. *Applied and Environmental Microbiology*, 56(6):1875-1881.



The Accuracy of some Models to Estimate the Coefficients of Gas Production Test in Corn Silage

Khalil Zaboli^{1*}, Sara Kalvandy² and Mostafa Malecky¹

Submitted: 13-05-2019

Accepted: 21-04-2020

Introduction *In vitro* gas production technique is one of the methods used for evaluating ruminal fermentation kinetic of feedstuffs. In this method, the volume of gas produced during the incubation is presented as a curve. The mathematical description of gas production profile is performed by fitting data set to a nonlinear model. Recently, several non-linear models have been developed to estimate gas production profile however, some of these models are not accurate enough. Therefore, the aim of this study was to investigate the accuracy of some nonlinear models for predicting ruminal fermentation kinetic of a forage feed.

Materials and methods In this experiment, corn silages (samples on 0, 30 and 60 days after ensiling) were used as fermentation substrates. Dry matter and chemical composition (organic matter, crude protein, NDF and ADF) of the samples were determined using standard methods. The rumen fluid was obtained from three fistulated rams before the morning feeding. The collected ruminal fluids were pooled and transferred into a flask to the laboratory. The rumen fluid was filtered through four layers cheesecloth, flushed continuously with CO₂ and maintained at 39°C before incubation. The rumen fluid was then mixed with buffered mineral solution at the ratio of 1:2 (V/V). Gas production technique was completed in three separate runs on three different days (each run lasted 6 days). In each run, the samples were incubated in triplicate and two vials (without the substrate) were considered as the blanks. The volume of gas produced was measured at 0, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20, 24, 48, 72, 96, 120 and 144 hours of incubation. The prediction of the gas volume at different times of incubation was compared by four nonlinear models and results were expressed in ml per 200 mg of DM incubated. The selected models (experimental treatments) included Exponential (EXP), Fitzhugh (FZH), logistic (LOG) and Gompertz (GOM). The goodness of fit of the models were evaluated using mean square error (MSE), coefficient of determination (R²), residual mean absolute deviation (RMAD) and mean percentage error (MPE). In addition, Durbin-Watson test (DW), run test and linear regression analysis (between observed and predicted values of the gas volume at different incubation times) were used to assess the accuracy of the models in fitting the data. The estimated ruminal fermentation parameters (the asymptotic gas volume and gas production rate) and goodness of fit parameters obtained from each model (MSE, R², RMAD and MPE statistics) were analyzed using completely randomized design.

Results The studied models had no difference in terms of predicting asymptotic gas volume (A) on 0, 30 and 60 days after ensiling and the value of parameter A predicted by the models were in the range of 98.37 (for GOM model on day 0) to 76.09 (for LOG model on day 60) ml per 200 mg DM. The EXP and LOG models had the highest and lowest MSE and R² values, respectively, indicating their lower accuracy compared with GOM and FZH models. The RMAD value was lowest in GOM and FZH models (2.591 and 2.879, respectively) and was highest in EXP model (3.807). The RMAD value is used as an indicator for evaluating the goodness of fit of models. The lower values of RMAD (closer to zero), represents a better ability of the model in fitting data. Based on these results, GOM and FZH models had a higher accuracy than EXP model in fitting data. The MPE value in the EXP model (5.527) was significantly higher than the other models (p<0.05). In other words, the predicted values (the volume of gas produced at different times of incubation) by the EXP model were lower than the observed values (it was underestimated). Based on Durbin Watson (DW) test results, the DW statistics in the EXP, FZH, GOM and LOG models were 0.392, 0.691, 0.705 and 0.675, respectively, indicating that EXP and GOM models had the lowest and highest accuracy, respectively, in predicting the rumen fermentation kinetic of corn silage. According to the run test, all the curves in EXP model had the lowest run (3 ≥) implying a poor

1- Assistant professor, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

2- M.Sc. graduated, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

(* - Corresponding Author Email: zaboli@basu.ac.ir)

performance of EXP model in predicting the results. The linear regression between the observed versus predicted values (regression parameters) showed a significant difference between intercept with 0; and slope with 1 in all the studied models ($p < 0.05$). However, based on the goodness of fit parameters obtained from the linear regression, FZH and GOM models had a better prediction of the gas production profile.

Conclusion The EXP model had lower accuracy in predicting the rumen fermentation kinetic of corn silage compared with the other studied models. It is recommended that other nonlinear models be used in addition to the EXP model for investigating the ruminal fermentation kinetics of corn silage.

Key words: Goodness of fit, *In vitro* method, Nonlinear models, Ruminal fermentation kinetic.