

BESKRYWING VAN TEGNIEKE EN CHEMIESE ANALISES VAN SKAAPLIGGAME EN FOUTE DAARAAN VERBONDE

H.S. Hofmeyr, Frederika E. Kroon, W.J.J. van Rensburg en Leonora van der Merwe

Navorsingsinstituut vir Vee- en Suiwelkunde, Irene

SUMMARY: A DESCRIPTION OF PROCEDURES AND ASSOCIATED ERRORS FOR CHEMICAL ANALYSES OF WHOLE BODIES OF SHEEP.

As part of a comparative slaughter experiment, whole bodies of 24 lambs were analyzed for dry matter, nitrogen, ether-extract, ash and energy content. A large carcass grinder ("Wolfking") was used to homogenise the carcass and offal components separately. The various mixing, sampling and analytical procedures are described in detail. Errors, expressed as coefficients of variation associated with dry matter, protein, fat, ash, and energy determinations were 0,62; 1,45; 1,39; 1,53; and 1,63%, respectively. Energy values calculated for protein and fat by regression on total energy were close to the values proposed by Brouwer (1965). The average sums of per cent protein, fat and ash in the dry matter of the carcass and offal deviated by less than 1% from 100%. In the wool, however, these fractions added up to only about 95%. This difference is partly ascribed to a nitrogen-free extract fraction coming from accumulated dust from feedstuffs on the wool of the animals.

OPSOMMING

Tydens 'n vergelykende slagproef is die liggame van 24 Pedi-lammers in geheel ontleed vir droë materiaal, N, eter-ekstrak, as en energie-inhoud. 'n Groot karkasmeule ("Wolfking") is gebruik om die karkas en "reste"-komponente afsonderlik te homogeniseer. Die verskillende prosedures vir homogenisering, monsterneming en analise van die karkas, reste en wolkomponente word in besonderhede beskrywe. Koëffisiënte van variasie vir DM, N, eter-ekstrak, as en energie-inhoud op heelliggaam-basis was onderskeidelik 0,62; 1,45; 1,39; 1,53 en 1,63%. Energiewaardes van proteïene en vet soos bereken deur regressie op totale energie-inhoud het nou ooreengestem met die waardes 5,7 en 9,5 kcal/kg, soos voorgestel deur Brouwer (1965). Die gemiddelde som van die persentasies proteïene, vet en as in die droë materiaal van die karkas- en reste-komponente het met minder as 1% afgewyk van 100. By die wol egter het die persentasies proteïene, vet en as opgetel tot slegs omtrent 95%. Die verskil word gedeeltelik toegeskryf aan 'n stikstofvrye ekstrak-fraksie afkomstig van voerstof op die wol.

Die bruikbaarheid van vleismeulens waarmee diere in geheel opgemaal kan word, maak dit tans moontlik om verteenwoordigende monsters van die diereliggam of gedeeltes daarvan vir chemiese analises te bekom. As deel van 'n vergelykende slagproef met lammers is heelliggaam-analises op skaaplammers uitgevoer. Met die oog op wyere toepassing word die prosedures wat in hierdie laboratorium gevolg is, hier beskrywe en 'n ontleding van die foutgroottes daaraan verbonde word op gegewens van een groep lammers (Pedi's) gedoen.

Materiaal en Metodes

Diere

Vier-en-twintig Pedi-lammers is op 'n ouderdom van agt maande geslag. Besonderhede oor die proefbehandeling waaraan hulle onderwerp was, verskyn elders (Hofmeyr, 1972). Hulle wolvrye liggaamsmassas het gevarieer tussen 9,35 en 28,60 kg, met 'n gemiddeld van 18,48 kg.

Slagprosedure

Slagting is voorafgegaan deur 'n uithongeringsperiode van 18 uur waarin geen kos en water beskikbaar was nie.

Net voor slagting is elke lam se wol afgeskeer met 'n Oster nr. 5 elektriese knipper met 'n nr. 10-lem. Dit verwyder wol tot 'n lengte van $\pm 1-2$ mm van die vel af. Na verwydering van die wol is die geskeerde lam en die wol afsonderlik geweeg. Hierdie gewig van die lam is beskou as die gevaste, lewende massa. Net daarna is die lam geslag.

Die lam is doodgemaak deur die afsny van die *v. jugularis*. Bloed is opgevang deur die lam aan sy agterpote oor 'n groot plastiekbak te hou. Daarna is die lam afgeslag volgens normale slagplaasprosedure, egter binne-in 'n plastiekbak om enige verliese te voorkom. Die slagproses het plaasgevind in 'n vertrek waarvan die vloere nat gehou is om 'n versadigde atmosfeer te bewerkstellig sodat minimale vogverdamping vanaf die dier se liggaam kon plaasvind. Die spysverteringskanaal en blaas se inhoud is verwyder en daarna is ingewande (niere en niervet hierby ingesluit), bloed, kop, vel en pote saamgevoeg as die "reste"-komponent. Die "karkas" en "reste"-komponente is afsonderlik geweeg en daarna oornag in sterk, waterdigte plastiese sakke by -20°C geberg, voordat dit die volgende dag opgemaal is. Hierdie voorafverkoeling waardeur die komponente gedeeltelik bevries is, het bygedra tot beter homogenisering van die gemaalde produk.

Die karkas- en reste-komponente is afsonderlik fyn-gemaal en gehomogeniseer deur dit ses keer na mekaar

deur 'n "Wolfking" karkasmeule met twee siwwe in serie, een met 12 mm gate en die ander met 5 mm gate, te stuur. Dit is moontlik om fyner siwwe te gebruik maar dit vertraag die deurvoering van die vleis dermate dat dit onnodig lank blootgestel word aan die wrywende aksie van die spiraalskag van die meule wat daartoe lei dat vet aan die skag begin aanpak. Die minder fyn produk het wel 'n groter monsternemingsfout tot gevolg gehad, maar dit was verkieslik bo die moontlikheid van 'n sistematiese fout as gevolg van die differensiële verwydering van 'n gedeelte van die vetkomponent. Na die vleis die eerste keer deur die meule gestuur is, is die meule oopgemaak en is stukkie beeen en vel wat tussen die lemme bly sit het, verwyder en by die gemaalde vleis gevoeg. Daarna is aangeneem dat die samestelling van die vleis wat in die meule agterbly ná die verdere maalproses, ooreenstem met die res. Vir berekeningsdoeleindes is die oorspronklike syfer vir massa, soos bepaal net na slagting, gebruik.

Monsterneming

Die gemaalde materiaal is aanhoudend deeglik deurmekaar geroer om te verhoed dat die vog na onder sak totdat vier monsters geneem is; een monster van 400 g vir vriesdroging en latere chemiese bepalinge en drie 35 g-monsters vir onmiddellike DM-bepaling deur droging in 'n oond. (Hoewel dit wenslik sou wees om 400 g-monsters vir DM-bepaling te gebruik, was dit onmoontlik vanweë beperkte oondruimte.)

Voorbereiding van monsters vir chemiese analises

Die 400 g-monster is gevriesdroog in 'n WKF model L 2-vriesdroër. Na vriesdroging is die gedroogde monster in ongeveer 5 mm-grootte blokkies opgebreek en vermeng met drie maal soveel fyngekapte droë ys (saamgeperste CO₂). Dit is dan gelaat om deeglik af te koel waarna dit in 'n gewone, voorafverkoelde laboratorium-kruishamermeule (Cristy & Norris) met 'n 2 mm sif gemaal is. Fynere siwwe is ook uitgetoets maar was geneig om soms stukkie bindweefsel terug te hou. Die meule is vooraf verkoel deur droë ys daarin te maal totdat die lugvog wat buite op die meule kondenseer wit yskristalle vorm. Die vooraf bevriesing van die monster en verkoeling van die meule bring mee dat die vet in die monster nie aan die binnewande van die meule vassit nie en deur die meule verpoer word.

Die fyngemaalde monster is in 'n plastieksak gegooi en die sak is bo liggies omgevou sodat vog wat buite op die sak kondenseer nie daarin kon loop nie. Die sak is dan oornag gelaat totdat al die droë ys gesublimeer het. Daarna is die monster in 'n plastiekbottel oorgebring en by -5°C gestoor tot verdere gebruik.

Droë materiaal (DM), stikstof- (N), eterekstrak- en asbesbepalinge

Voor ontledings is die fyngemaalde monsters oornag by kamertemperatuur gelaat sodat temperatuur en humiditeitsekwilibrasie kon plaasvind. Triplikaatmonsters

is afgeweg vir DM-, N- energie- en eterekstrakbepalinge, en laasgenoemde monsters is ook vir asbesbepalinge gebruik. Die monstergroottes was soos volg:

DM	± 3 g
N	± 1 g
Eterekstrak	± 2,5 g
As	Eterekstrak-monster
Energie	± 1 g

DM in beide gevriesdroogde en vars (nat) monsters is bepaal deur die monsters in vogbakkies te weeg en dan by 100°C tot konstante massa in 'n geventileerde oond te droog. N-bepalinge is gedoen op gevriesdroogde materiaal volgens die makro-kjeldahlmetode met 1 g Na₂SO₄ en die ekwivalent van 0,1 g Hg (B.D.H. Kjeldahltablette) as katalisatore. Eterekstraksie op die gevriesdroogde materiaal het in 'n Soxhlett-apparaat plaasgevind deur die monsters vir 16 uur lank met petroleum-eter (kookpunt 40-60°C) te ekstraheer. Die ontvette monsters is daarna in porseleinkroesies geplaas en vir 12 uur in 'n oond by 600°C verbrand vir asbesbepalinge. Energiebepalinge is gedoen deur die verbranding van 1 g-monsters in 'n adiabetiese bomkalorimeter. Die monsters vir energiebepalinge kon nie in die gebruikelike pilvorm voorberei word nie vanweë die moontlikheid dat die vet in die monster tydens voorbereidings uitgepers sou word. Die materiaal is liggies in die verbrandingsbakkie vasgedruk. Baie probleme is egter met die vetterige monsters ondervind deurdat dit tydens verbranding uit die bakkie uitgeskiet het en dan nie volledig verbrand het nie.

Die N en eterekstrak van die rouwol is bepaal soos in die gevriesdroogde vleismonsters. Energie-inhoud van die wol is bereken vanaf die proteïen- en vetinhoud daarvan deur te aanvaar dat die verbrandingswaardes van proteïen 5,7 kcal/g is en dié van vet 9,5 kcal/g (Brouwer, 1965).

Foutbepaling

Die grootte van die nie-sistematiese foute in die analises is bepaal deur variansie-analises vir ongelyke getal herhalings (Snedecor, 1956). Dit was nodig omdat nie alle monsters in triplikaat ontleed is nie. Vir 'n aanduiding van die sistematiese foutgrootte by proteïen- en vetbepalinge is die energiewaardes van die fraksies deur regressie afgelei soos voorgestel deur Reid *et al.* (1963), en dan vergelyk met die teoretiese waardes (Brouwer, 1965). 'n Verdere aanduiding van die sistematiese foute by die chemiese analises, is verkry deur na te gaan of die som van die persentasies N, vet en as in die droë materiaal na 100 optel.

Resultate en Bespreking

In Tabel 1 word die gemiddelde grootte van die verskillende chemiese fraksies in die gevriesdroogde materiaal van die karkas en reste, sowel as van die wol, afsonderlik verstrek. Die gemiddelde waardes vir die DM-inhoud van die nat materiaal (voor vriesdroging) word ook

Tabel 1

*Statistiese parameters van chemiese analises op gevriesdroogde materiaal
en wol by skaaplammers*

Chemiese fraksie	Getal		Gemid.	Variansie		S. A.		K.v.V.	
	Monsters	Analises		Tussen monsters	Tussen analises	Tussen monsters	Tussen analises	Tussen monsters	Tussen analises
<i>Karkas</i>									
% DM	44	115	93,81	8,05	0,02	2,83	0,141	3,02	0,15
% N	24	69	6,08	5,09	0,02	2,22	0,141	36,81	2,33
% Vet	24	67	53,41	234,11	0,16	15,30	0,400	28,64	0,75
% As	24	76	9,71	8,82	0,03	2,97	0,173	30,59	1,78
Energie kcal/g	22	46	7,052	0,361	0,001	0,601	0,032	8,52	0,45
<i>Reste</i>									
% DM	48	113	92,63	11,49	0,15	3,39	0,387	3,65	0,42
% N	24	70	7,78	4,21	0,05	2,05	0,223	26,38	2,87
% Vet	24	67	42,24	205,81	0,33	14,35	0,575	33,97	1,36
% As	24	67	8,47	4,15	0,12	2,03	0,346	24,05	4,09
Energie kcal/g	22	44	6,707	0,335	0,001	0,579	0,316	8,63	0,47
<i>Wol</i>									
% DM	24	48	92,72	4,14	0,35	2,04	0,592	2,19	0,64
% N	24	67	13,03	0,392	0,05	0,63	0,224	4,81	1,72
% Vet	24	67	8,35	4,93	0,06	2,20	0,245	26,59	2,93
<i>% DM in nat materiaal</i>									
in karkas	24	67	42,54	84,35	0,35	9,19	0,592	21,59	1,39
in reste	24	71	34,08	67,18	0,09	8,20	0,300	24,05	0,88

S. A. = standaard afwyking

K.v.V. = koëffisiënt van variasie

aangetoon. Verder word ook die variansies, standaardafwykings en koëffisiënte van variasie tussen monsters en tussen analises binne monsters verstrek. Tussen monsters verteenwoordig die verskille tussen diere en tussen analises binne monsters verteenwoordig die verskille tussen herhalings binne dieselfde monsters en dui dus die akkuraatheid van die analises aan. By die DM-bepalings in gevriesdroogde materiaal is die getal monsters egter meer as die getal diere omdat sommige monsters 'n tweede keer vir N ontleed moes word vanweë foutiewe werking van die verteringsapparaat. Aangesien elke N-bepaling gepaard gaan met 'n DM-bepaling en daar die DM-bepalings nie deur die foutiewe N-bepalings beïnvloed is nie is dit by die ontleding ingesluit. Energiebepalings op materiaal van twee lammers is uitgelaat vanweë onaanvaarbare eksperimentele foute, tydens analises.

Die grootte van die koëffisiënte van variasie tussen monsters dui daarop dat die monsters 'n groot variasie in samestelling verteenwoordig het. Tussen analises binne monsters was die koëffisiënte van variasie ten opsigte van die % DM, % vet en energie van die gevriesdroogde materiaal besonder laag. Vir % N en % as was dit egter hoër. Hierdie verskille is te wyte aan die lae waardes van die N-

en asfraksies. Met die uitsondering van die asfraksie van die reste was al die koëffisiënte van variasie egter onder 3%. Van belang is dat die koëffisiënte van variasie vir % DM bepaal op die nat materiaal in die karkas en reste slegs 1,39 en 0,88% is. Dit is 'n aanduiding dat die gemaalde materiaal goed vermeng was en dat 35 g-monsters nie te klein was nie. Die foutgroottes soos in Tabel 1 uiteengesit, verteenwoordig egter nog nie die finale foutgrootte vir die verskillende fraksies soos dit sal wees ten opsigte van die nat materiaal in die karkas en reste nie, d.w.s. die werklike foutgrootte nie. Om die finale foutgrootte te bereken, moet in ag geneem word dat slegs een nat monster van 400 g geneem is vir chemiese analises, en dat na vriesdroging analises in triplikaat op die gevriesdroogde monster gedoen is vir die verskillende chemiese fraksies. Die finale foutgrootte sal dus die variansie tussen die triplikaat analises (Tabel 1) sowel as die variansie in monsterneming van die 400 g-monster behels. Die aannames in verband met die totale variansie blyk uit Fig. 1. Daar is aanvaar dat die variansie van die triplikaat monsters vir droë materiaalbepaling op die nat vleis grootliks te wyte is aan monsternemingsfout vanweë die grofheid van die materiaal en die grootte van die monsters relatief tot

Tabel 2

Variasie tussen analyses toe te skryf aan monsternemings- en tegniekfoute by die nat materiaal van lamkarkas en -reste

Chemiese fraksie	Gemiddeld in nat materiaal	Monsternemings- variansie X_2	Tegniekvariansie X_2	Totale Variansie		
				Enkel analyses ($X_1 + X_2$)	Duplikaat analyses ($X_1 + \frac{X_2}{2}$)	Triplikaat analyses ($X_1 + \frac{X_2}{3}$)
Karkas						
% N	2,59	0,0013	0,0045	0,0058	0,0036	0,0028
% Vet	22,72	0,0999	0,0329	0,1328	0,1164	0,1109
% As	4,13	0,0033	0,0062	0,0095	0,0064	0,0054
Energie kcal/100g	299,99	17,4056	2,0570	19,4625	18,434	18,0912
Reste						
% N	2,65	0,0005	0,0068	0,0073	0,0039	0,0028
% Vet	14,40	0,0161	0,0452	0,0613	0,0387	0,0312
% As	2,89	0,0006	0,0164	0,0170	0,0088	0,0061
Energie kcal/100g	228,57	4,0482	1,3690	5,4172	4,7327	4,5045

Tabel 3

Statistiese parameters van chemiese fraksies op leë liggaamsbasis (karkas, reste en wol gesamentlik) by lammers vir duplikaat en triplikaatontledings

Chemiese fraksie	Gemid. waarde	Duplikaat analyses			Triplikaat analyses		
		Variansie	S.A.	K.v.V.	Variansie	S.A.	K.v.V.
% DM	43,07	0,1201	0,3465	0,80	0,0721	0,2685	0,62
% N	3,01	0,0024	0,0499	1,63	0,0019	0,0436	1,45
% Vet	20,70	0,0872	0,2953	1,43	0,0830	0,2881	1,39
% As	3,97	0,0045	0,0671	1,69	0,0037	0,0608	1,53
Energie kcal/100g	297,19	29,8595	5,468	1,84	23,5782	4,856	1,63

S.A. = standaard afwyking

K.V.V. = koëffisiënt van variasie

die totale hoeveelheid vleis. Aangesien slegs een monster geneem word vir chemiese analyses is die monsternemingsfout inherent aan die verdere bepaling van die chemiese fraksies. Nadat die materiaal gevriesdroog is en deeglik fyngemaal en verpoeier is, was daar nog variasie tussen die triplikaatontledings van die chemiese fraksies. Dit is aangeneem dat hierdie variasie te wyte is aan tegniekfoute. Die totale variasie vir elke bepaling is soos volg bereken:

$$(a) \text{ Monsternemingsvariansie} = (\text{DM-variansie in nat materiaal}) \times \left(\frac{\% \text{ Chemiese fraksie in DM}}{100} \right)^2 = X_1$$

$$(b) \text{ Tegniekvariansie} = (\text{Chemiese fraksie se variasie in gevriesdroogde materiaal}) \times \left(\frac{\% \text{ DM in nat vleis}}{\% \text{ DM in gevriesdroogde vleis}} \right) = X_2$$

Omdat die bepaling van die chemiese fraksies in triplikaat, en soms duplikaat, gedoen is, verklein die variasie X_2 met 'n faktor j gelyk aan die aantal replikate (2 of 3). Die totale variasie is dus

$$\frac{X_1 + \frac{X_2}{j}}$$

In Tabel 2 word die variasies te wyte aan monsterneming en tegniek, volgens die voorafgaande aannames, afsonderlik getoon, sowel as die totale variasie $X_1 + \frac{X_2}{j}$ waar j gelyk is aan 1,2 en 3.

Beide by % N en % as is die tegniekvariansie groter as die monsternemingsvariansie. By die energiebepaling is die tegniekvariansie baie kleiner as die monsternemingsvariansie. Uit die tabel blyk natuurlik ook dat die totale variasie slegs merkbaar beïnvloed word deur meer analyses (duplikaat en triplikaat) indien tegniekvariansie groter as monsternemingsvariansie is.

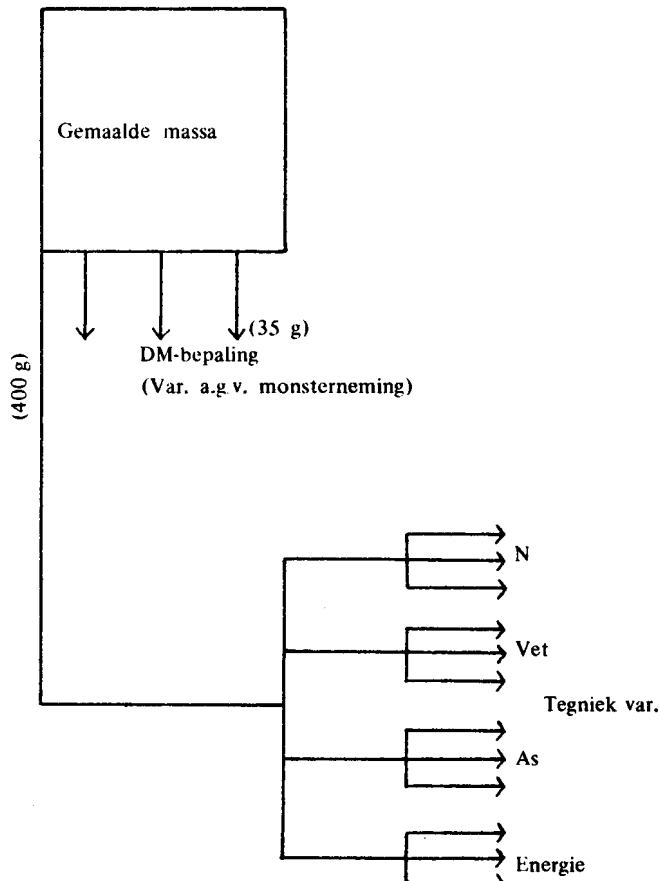


Fig. 1. — Skematiese voorstelling van aanname i.v.m. variansie in chemiese fraksies

Dit is egter ook van belang om die DM, N-, vet-, as- en energie-inhoud op heelligaamsbasis te bepaal. Die uiteindelijke foutgrootte ten opsigte van die chemiese fraksies op heelligaamsbasis sal dus bereken moet word vanaf die som van die variansie in die karkas-, reste- en wolkomponente. Die totale variansies word bereken deur die geweegde variansies van die genoemde drie komponente bymekaar te tel, soos volg:

$$S_{\text{tot}} = S_1 \left(\frac{k}{t}\right)^2 + S_2 \left(\frac{r}{t}\right)^2 + S_3 \left(\frac{w}{t}\right)^2$$

waar S_{tot} = totale variansie

S_1, S_2, S_3 = variansies van karkas, reste en wol

k, r, w, t = chemiese fraksies se gemiddelde waarde in karkas, reste, wol en heelligaam.

Die totale variansies só bereken, sowel as die standaardafwykings en koëffisiënte van variansie word in Tabel 3 verstrekk vir duplikaat en tripliakaat analyses. Die koëffisiënte van variansie vir duplikaat en tripliakaat analyses is almal laer as 2%. Dit vergelyk gunstig met die syfers wat Nielsen (1970) verstrekk vir heelligaam-analises op varke. Morris en Moir (1963) het heelligaam-analisesmetodes beskrywe waarby aansienlik groter monsters gebruik word. Hulle het nie die totale variansies bereken nie, maar die huidige variansies vergelyk gunstig met die variansies binne analises wat hulle verstrekk. Die metodes hierbo beskrywe verg egter minder tyd en arbeid as hulle prosedures.

Tabel 4

Berekende energiewaardes van vet en proteïen

	Vet (kcal/g)	Proteïen (kcal/g)
Karkas	9,320	5,678
Reste	9,423	5,517

In Tabel 4 word die energiewaardes vir vet en proteïen verstrekk soos bereken deur die regressie van persentasie vet of persentasie proteïen op die totale energiewaarde per gram asvrye materiaal (Reid *et al.*, 1963). Dit verskil nie betekenisvol van die waardes van 5,7 en 9,5 kcal/g proteïen en vet onderskeidelik soos voorgestel deur Bouwer (1965) nie. Verdere ondersoek sal nog ingestel moet word of die huidige verskille tussen die komponente werklike verskille in die energiewaardes van die vet en proteïen verteenwoordig en of dit toegeskryf moet word aan eksperimentele foute.

Tabel 5

Gemiddelde som van persentasies proteïen, vet en as, sowel as variansie en S.A. van gemiddeldes by Pedilammers

	Getal	Gemiddeld van % vet + % proteïen + % as	Variansie	S.A.
Karkas	24	99,94	3,89	1,97
Reste	24	99,27	2,98	1,73
Wol	24	95,32	4,49	2,12

S.A. = standaardafwyking

Uit Tabel 5 blyk dat die som van die persentasies proteïen, vet en as in die droë materiaal van die karkas en reste baie na aan 100% is. Dit sal nodig wees om vas te stel watter deel van die klein afwyking van 100% te wyte is aan 'n glikogeen fraksie, of aan die aanname dat die liggaamsproteïen 16% N bevat. Vir alle praktiese doeleindes sal dit egter voldoende wees as die persentasies proteïen, vet en as gekorrigeer word om na 100% op te tel.

Wat die wol betref, is die som van die persentasies proteïen, vet en as 95,32%. Nadat aanvanklik gemeen is dat daar fout met die chemiese analises was, is dit herhaal, sonder dat die persentasies egter verhoog het. Hierdie skynbare tekort van ongeveer 5% kan waarskynlik gedeeltelik toegeskrywe word aan 'n stikstofvrye ekstrakfraksie wat nie van die dier afkomstig is nie, maar wel van voer- onsuiverhede wat aangesamel het op die skaap se wol. Om dié rede is die energiewaardes van die wol nie deur bomkalorimetrie bepaal nie, maar bereken vanaf die persentasie proteïen en vet in die wol.

Dankbetuiging

Die advies van dr. C. Roux en mej. Ilze Olivier in verband met die statistiese verwerking word met dank erken. Mev. Dreyer, mej. H. Franck, mnr. P.J. de la Rey en mnr. D.M. Nel het waardevolle tegniese hulp verleen.

Verwysings

- BROUWER, E., 1965. Energy Metabolism, p. 441, ed. K.L. Blaxter. London: Academic Press.
- HOFMEYR, H.S., 1972. (In die pers).
- KIELANOWSKI, J. 1965. Energy Metabolism, p. 13 ed. K.L. Blaxter. London: Academic Press.
- LOFGREEN, G.P., 1965. Energy Metabolism, p. 309, ed. K.L. Blaxter. London: Academic Press.
- MORRIS, J.G. & MOIR, K.W., 1963. Symposium on carcass composition and appraisal of meat animals, ed. D.E. Tribe. Victoria: C.S.I.R.O.
- NIELSEN, A.J., 1970. The energy value of balanced feed rations for growing pigs determined by different methods. Beretning fra forsøgslaboratoriet 381. Copenhagen v.
- ORSKOV, E.R. & McDONALD, I., 1970. Energy metabolism of farm animals p. 121, ed. A. Schürch & C. Wenk. E.A.A.P. Publ. no. 13. Zurich: Druk en Verlag.
- REID, J.T., BESADOUN, A., PALADINES, O.L. & VAN NIEKERK, B.D.H., 1963. Ann. N.Y. Acad. Sci. 38, 1344.
- SNEDECOR, 1956. Statistical methods, 5th edn. Ames, Iowa: Iowa State College Press.