

Nurmisäilörehun sulamattoman kuidun mittaaminen NIRS – menetelmällä

*Juha Nousiainen¹⁾, Seppo Ahvenjärvi²⁾, Marketta Rinne²⁾, Laura
Nyholm¹⁾, Maria Hellämäki¹⁾ ja Pekka Huhtanen²⁾*

¹⁾Valio Oy, Alkutuotanto ja jäsensuhteet, PL 10, 00039 Valio

²⁾MTT, Kotieläintuotannon tutkimus, 31600 Jokioinen

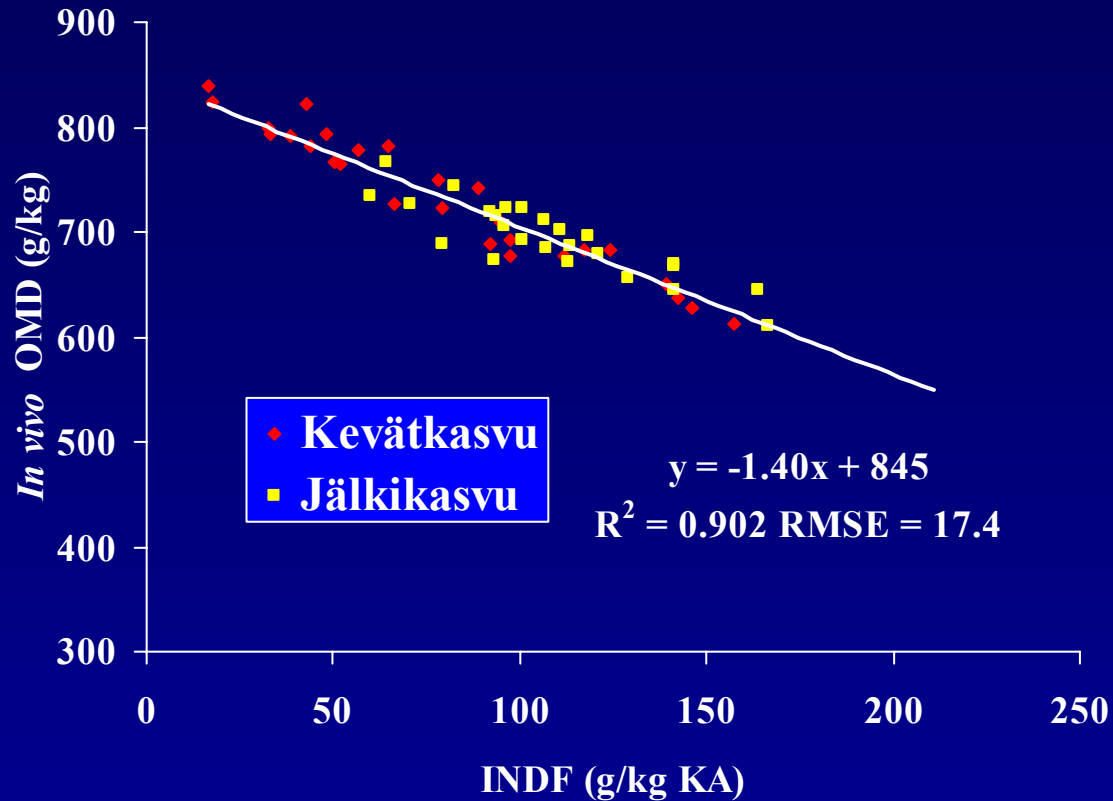
Sulamaton NDF (INDF)

- Määritelmä: rehun NDF-fraktio, joka on täysin sulamaton *in vivo*
- Miten INDF voidaan mitata?
 - Pitkä NP-uitto + ND keitto; 12 pv ja pussin silmäkoko alle 20 μm
 - Pitkä *In vitro* –inkubaatio (96-144 h)
 - Yhden poolin pötsimallin NP-parametreista: $\text{INDF} = [1 - (a+b)_{\text{NDF}}]$
 - Kemiallisten rehuanalyysiparametrien empiiriset yhtälöt (mm. ligniini)
- Tilanäytteitä varten tarvitaan joka tapauksessa helpompi massamenetelmä

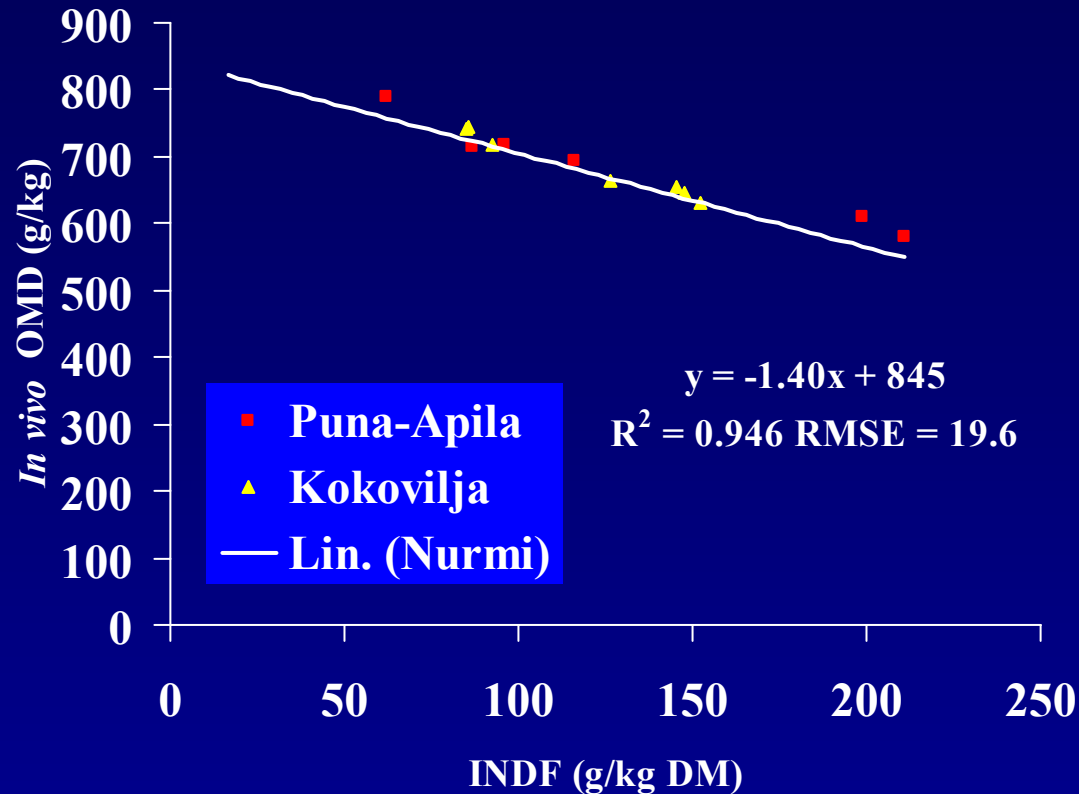
INDF:n sovellutukset

- Tärkein rehuparametri sulatusmalleissa (mm. Karoline; OMD sekä ME- ja AA –saanti)
- Sulavuuden ennustaminen
 - Regressiomallit
 - Summausmallit (perustuvat ns. uniformeihin rehufraktioihin (= vakiosulavuus ja metab. sonnan OA) – ongelmana se että DNDF ei uniformi

Nurmisäilörehun sulavuuden ennustaminen INDF:n avulla



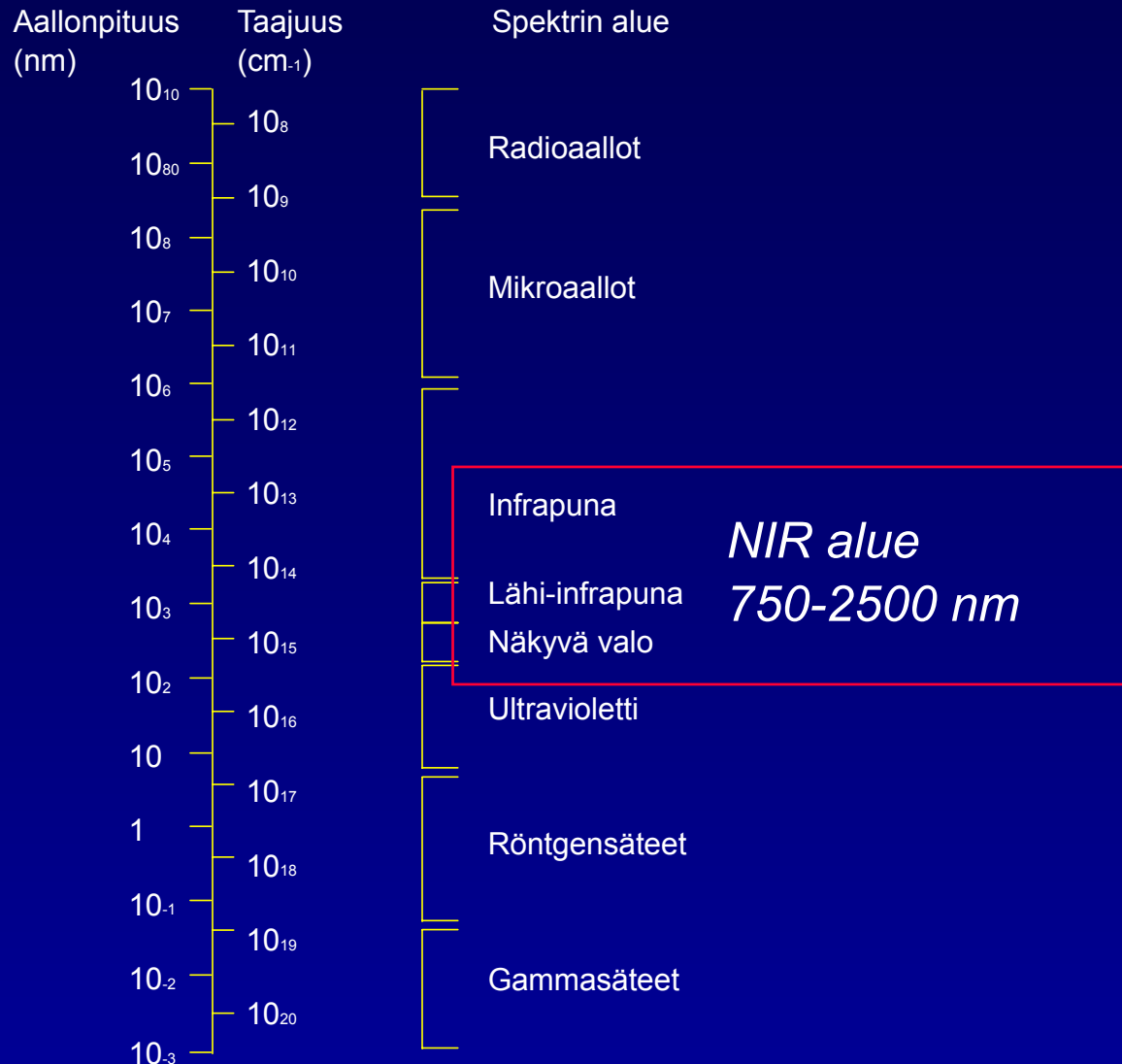
INDF ennustaa sulavuuden eri säilörehuille samalla yhtälöllä?



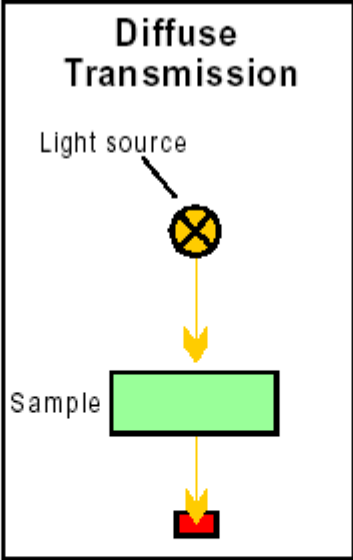
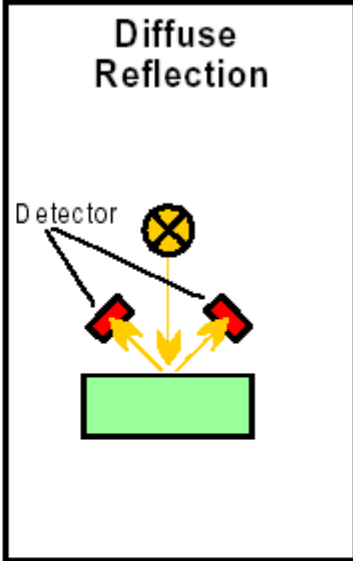
Lähi-infrapunaspektroskopia

- Spektroskopia = ”valossa katsomista”
- Vrt. ihmisen silmä; eri värit aistitaan niin että silmä reagoi eri materiaaleista heijastuvaan valoon joka yhdistetään aivoissa kokemusperäiseen tietoon
- Lähi-infrapunamittauksen periaate on täysin sama!

Elektromagneettinen spektri

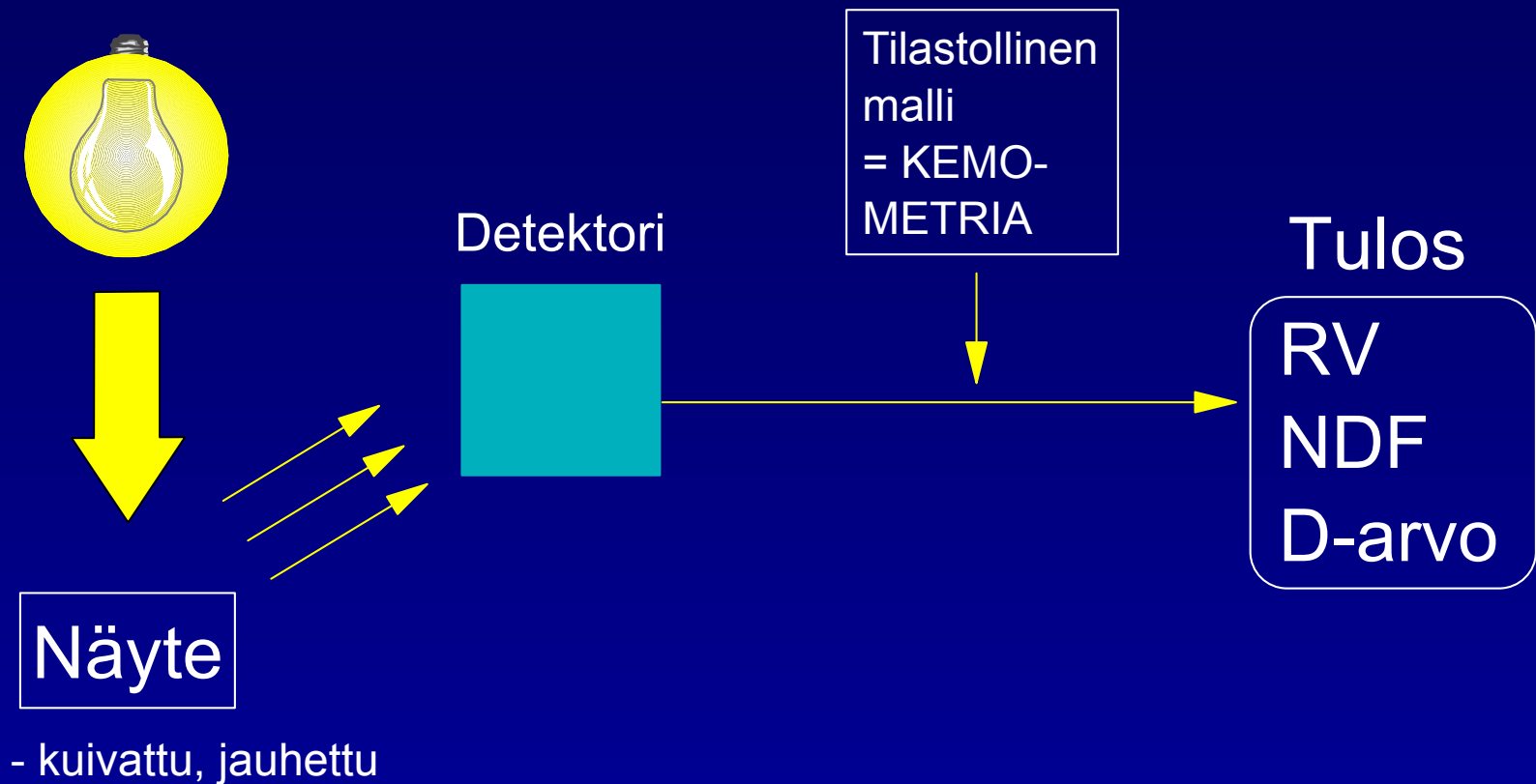


Lähi-infrapunaspektroskopia - laitetyypit

Construction-principle	<p style="text-align: center;">Diffuse Transmission</p> 	<p style="text-align: center;">Diffuse Reflection</p> 
Detector :	Si	Si + PbS
λ - Range (nm) :	800-1050	400-2500
Area (cm ²) :	3	5
Scans / sec :	~ 1	~ 1
	NIT	NIR

NIR-laitteen toimintaperiaate

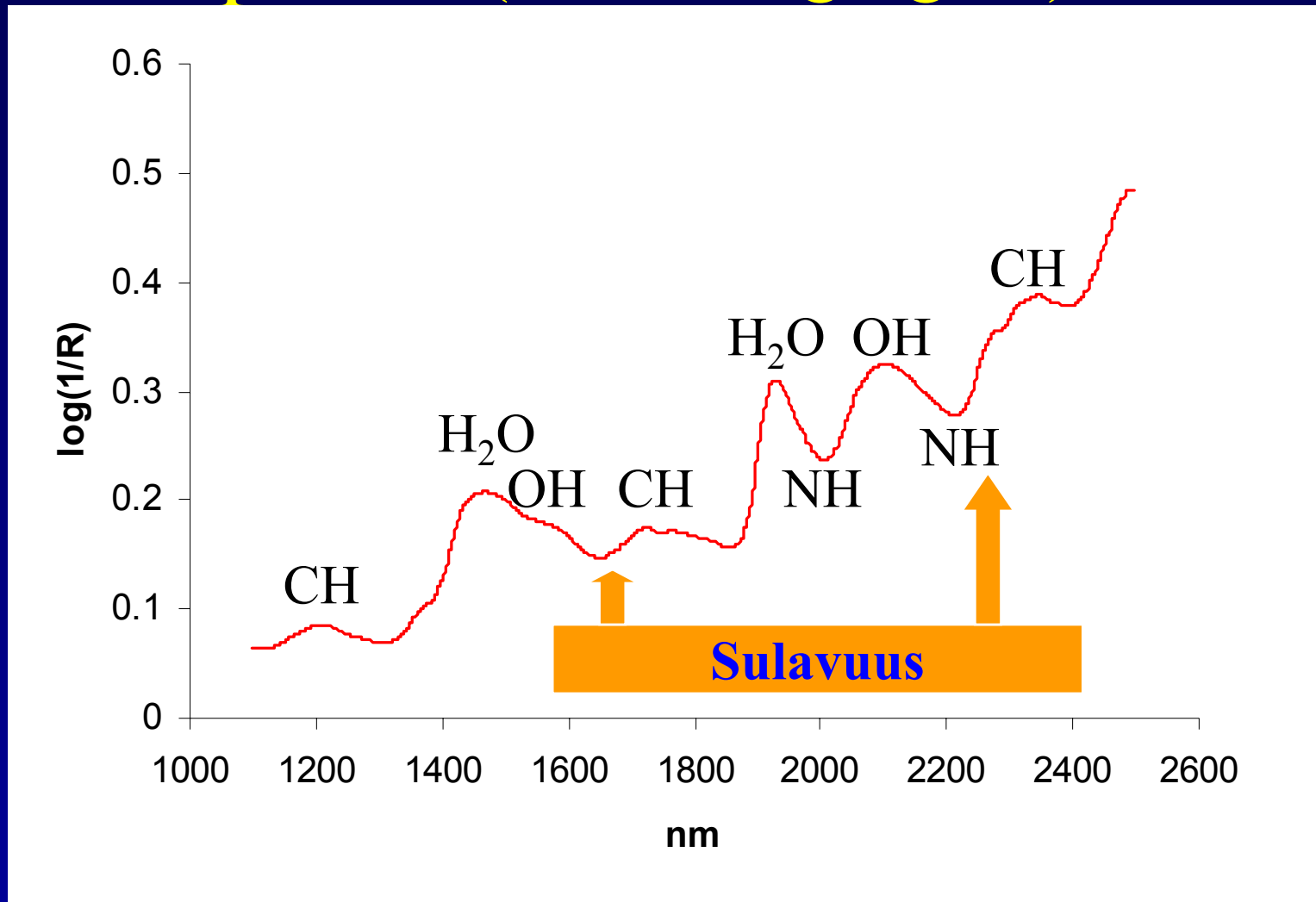
NIR-Analysaattori



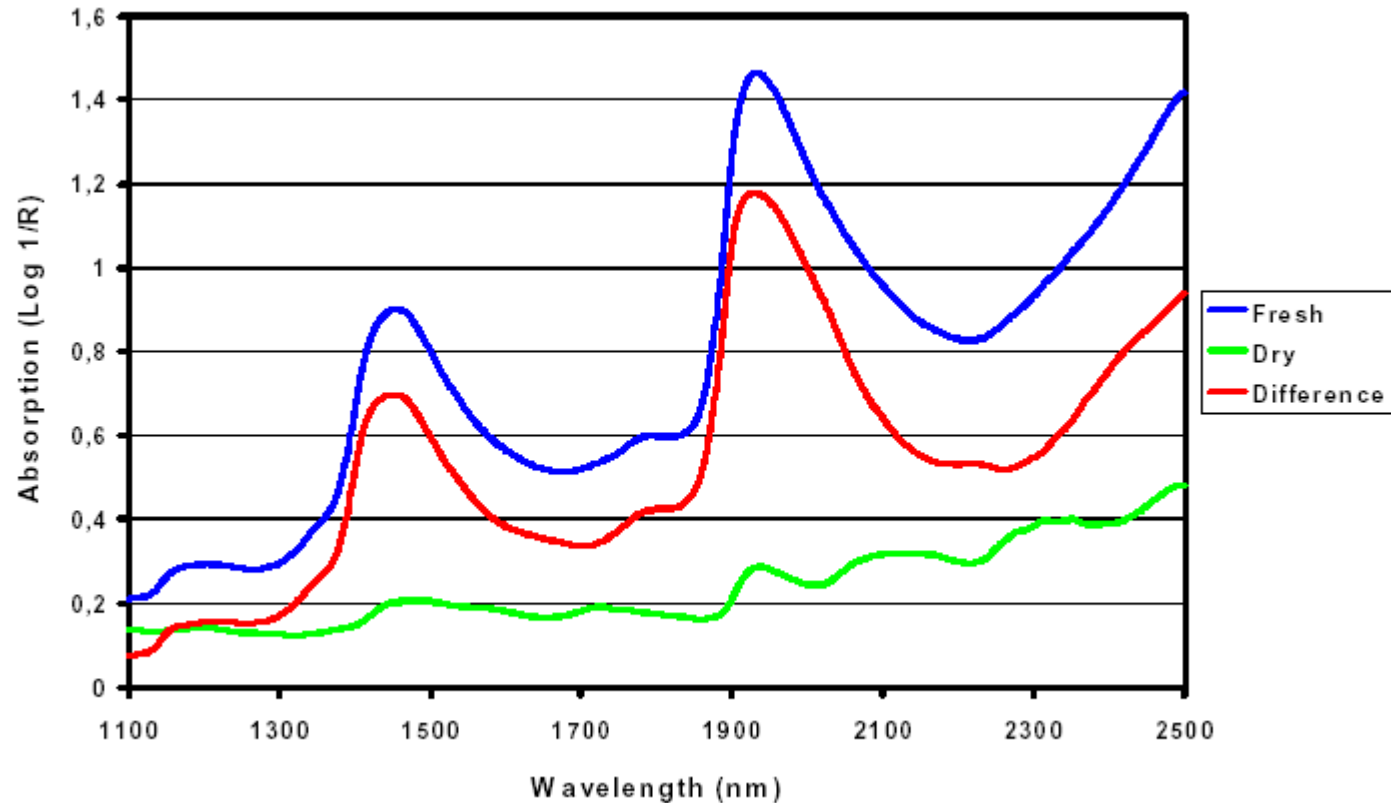
NIR –spektri ja sen tulkinta

- NIR-alue 700-2500 nm, mutta rehusovellutuksissa käytetään yleensä 1100-2500 nm
- Spektrin arvot ovat heijastusmittausten käänteislogaritmeja ($\log 1/R$), eli mitä suurempi arvo, sitä enemmän ko. aallonpituudella tapahtuu absorptiota
- Valon energian absorption NIR-alueella aiheuttavat orgaanisten yhdisteiden CH-, OH- ja NH-sidokset (värähtely, taipuminen)
- Kokonaisabsorptio on summa toisiaan peittävistä abs. kaistoista
 - Koostumus
 - Vesipitoisuus
 - Partikkelikoko ja muut fysikaaliset ominaisuudet
- Spektrin silmämääräinen tulkinta ei ole mahdollista!
 - Absorptiokaistat päällekkäin
 - Sulavuus vs. NIR-spektri: samoja sidoksia sulavissa ja sulamattomissa aineissa
 - Informaatio on käyrän muodoissa -> tilastomatemattinen tulkinta, mm. derivaattamuunnosten jälkeen

Kuivatun säilörehunäytteen NIR-spektri (D = 674 g/kg ka)



Näytteen vesipitoisuuden vaikutus ruohon NIR-spektriin



Aineiston säilörehut (n = 94)

- Kasvuastekoesäilörehut (yht. 52 kpl)
 - 1994; 4 kevätsadon kasvuastetta 7 pv välein
 - 1996; 6 kevätsadon kasvuastetta 7 pv välein
 - 1997; 4 kevätsadon kasvuastetta 7 pv välein
 - 1998; 5 kevät- (7 pv välein) ja 5 jälkikasvuastetta (korjattu samana pv:nä)
 - 1999; 3 kevät- (10 pv välein) ja 8 jälkikasvuastetta (sekä kevätsadon että jälkisadon kasvuaika vaihtelee)
 - 2000; 3 kevät- (10 pv välein) ja 8 jälkikasvuastetta (sekä kevät- sadon että jälkisadon kasvuaika vaihtelee)
 - 2002; 2 kevät ja 4 jälkikasvuastetta
- Tilasäilörehut 1999-2002, yht. 42 kpl
 - valittiin spektrien ja sellulaasisulavuuden perusteella

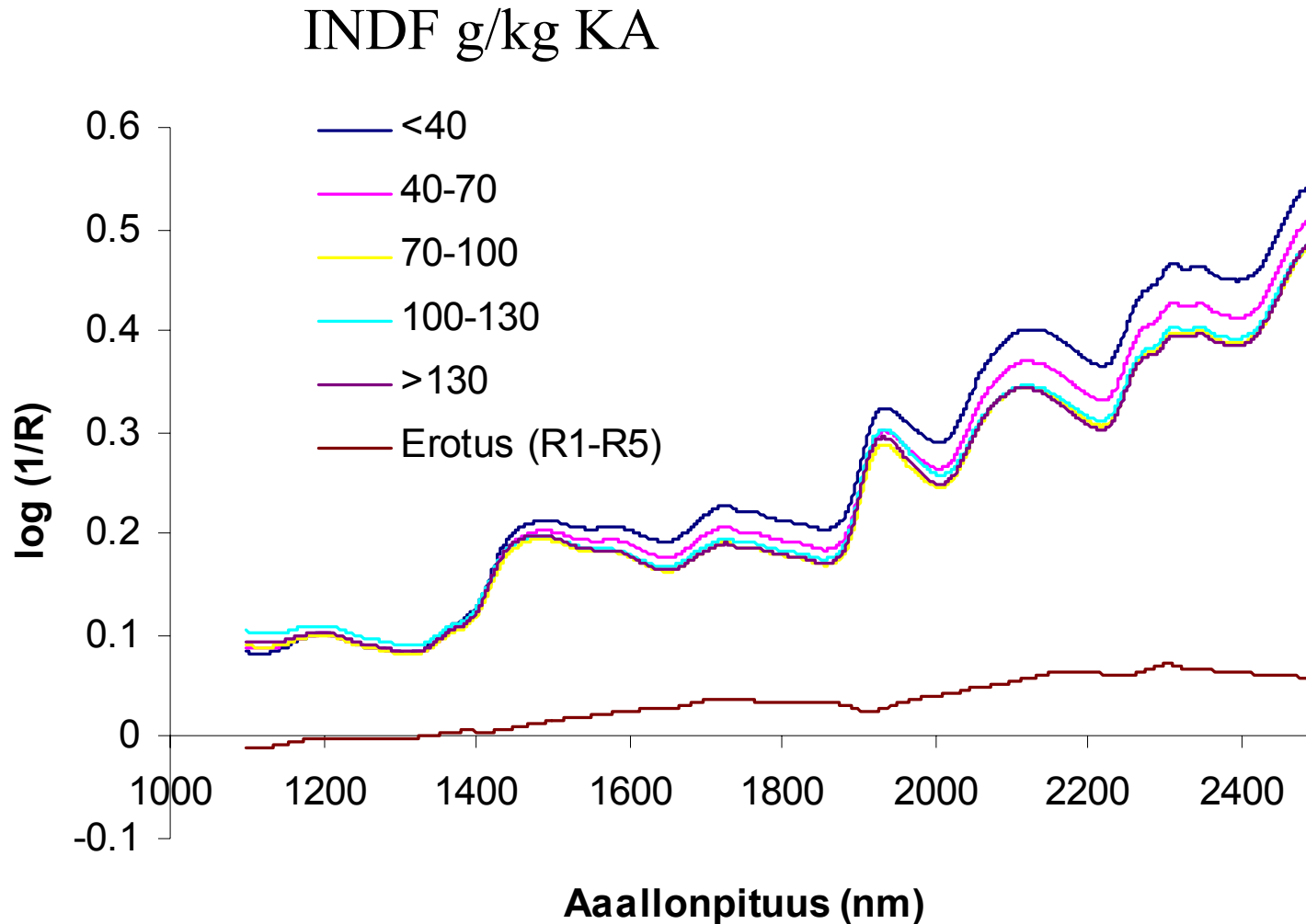
Menetelmät

- Analyysit
 - rv, NDF, ligniini, käymislaatu
- INDF-määrittäminen (referenssi)
 - pötsiuitto 12 pv (6 tai 17 μm pusseissa)
 - jäännökselle ND-keitto
- NIR –skannaukset
 - 400-2500 nm, laskentaan käytettiin 1100-2500 nm
 - spektrimuunnokset; de-trend + normal variate + 1. derivaatta
- NIR –kalibroinnit
 - korrelaatio-spektri (INDF)
 - kalibroinnit INDF (NDF ja DNDF) MPLS –menetelmällä
 - validointi (ns. cross-validointi)

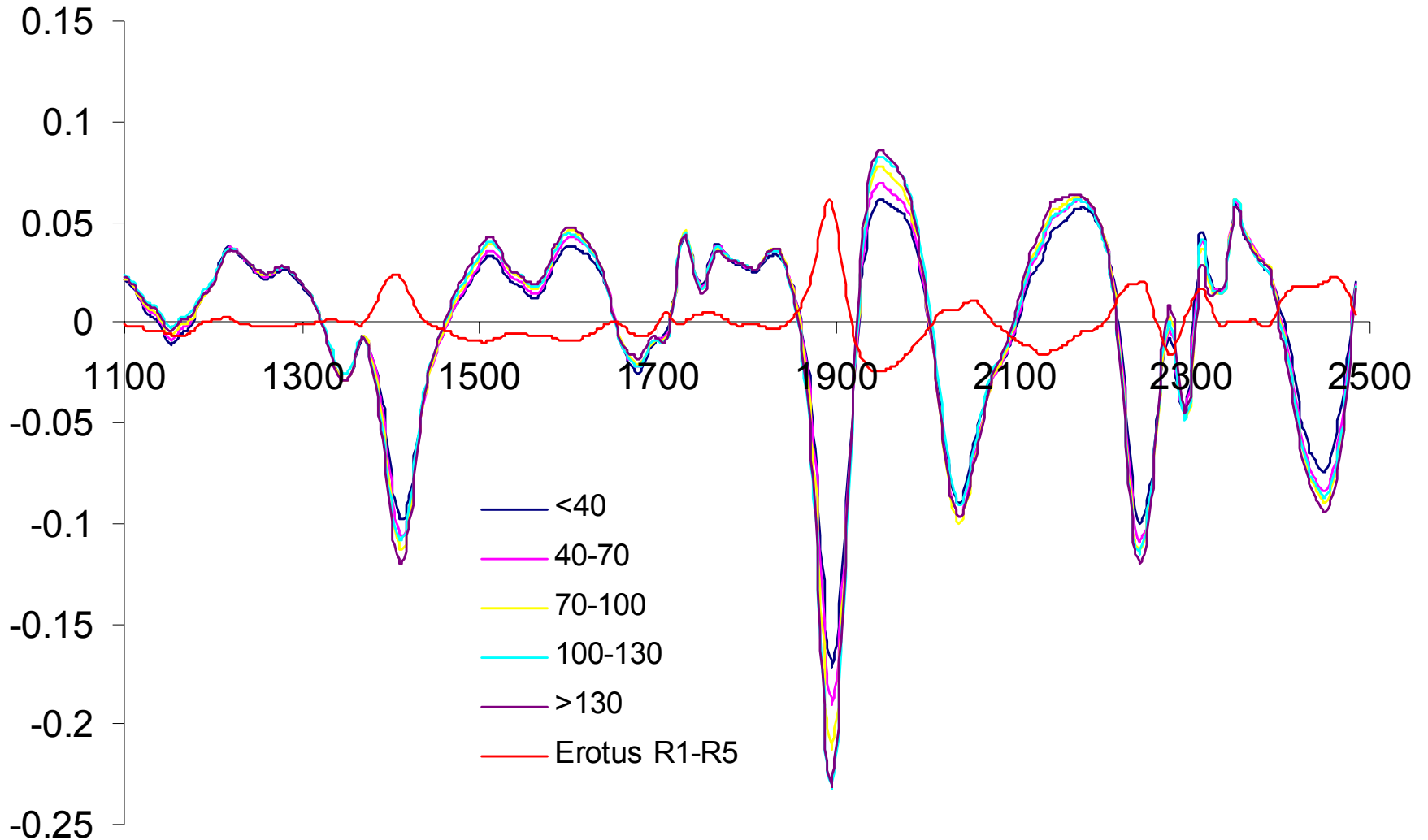
Säilörehujen koostumus

	Keskiarvo	Keskihajonta	Minimi	Maksimi
Kuiva-aine (g/kg)	236	52.7	151	466
Koostumus (g/kg KA)				
Tuhka	81	15.5	51	120
Raakavalkuainen	155	28.3	103	239
NDF	556	64.9	402	669
INDF	87	32.8	17	167
Ligniini	29	8.4	13	55
Solun sisällysaineet	370	51.8	265	507
NDF:n laatu (g/kg)				
INDF/NDF	157	54.7	40	291
Ligniini/NDF	53	12.3	29	107
Ligniini/INDF	378	179.8	219	1397
Sulavuus pässeillä (g/kg)				
Orgaaninen aine	714	56	610	840
NDF	722	67.1	584	869
DNDF (=NDF – INDF)	865	35.2	791	929

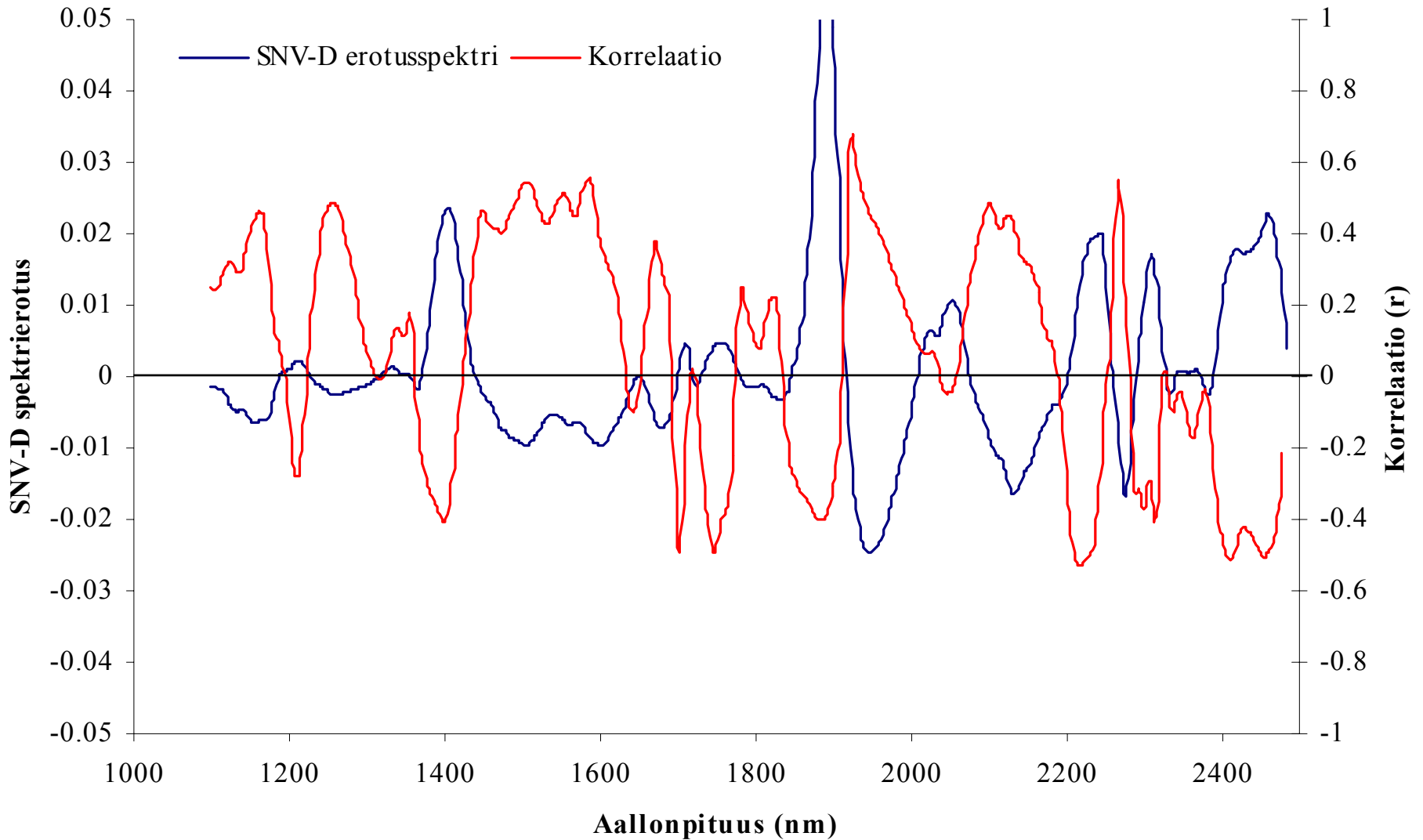
NIR -keskiarvospektrit ryhmittäin



SNV-D spektrit INDF-ryhmittäin



Erotus- ja korrelaatiopektri



INDF –kalibrointi

Näytteiden määrä	Termien määrä	Keskiarvo	SD	SEC	R ²
94 ^{*)}	8	87	32,8	10,3	0,901
88 ^{**)}	9	86	33,3	7,5	0,949

*) Kaikki näytteet; **) Poikkeavat näytteet poistettu

INDF –kalibroinnin validointi

Näytteiden määrä	SECV	R ²	SD/SECV
94 ^{*)}	14,2	0,814	2,31
88 ^{**)}	10,0	0,910	3,33

*) Kaikki näytteet; **) Poikkeavat näytteet poistettu

Tavoite 2,5 kun
kvantitatiivinen mittaus



INDF –kalibrointi näytetyypeittäin

Rehunäydetyyppi	Regressio					Osuus virheestä		
	Keskim. tasoero	Leikkauspiste	Kulma-kerroin	SEP	R ²	Tasoero	Kulma-kerroin	Satunnaisvirhe
Kevätsato	0,5	3,1	0,95	9,16	0,952	0,003	0,042	0,955
Jälkisato	-3,4	-5,5	1,08	9,09	0,915	0,138	0,053	0,809
Tilanäytteet	1,7	3,2	0,94	11,18	0,781	0,023	0,014	0,963
Kaikki	0,0	0,0	1,00	9,91	0,909	<0,001	<0,001	>0,999

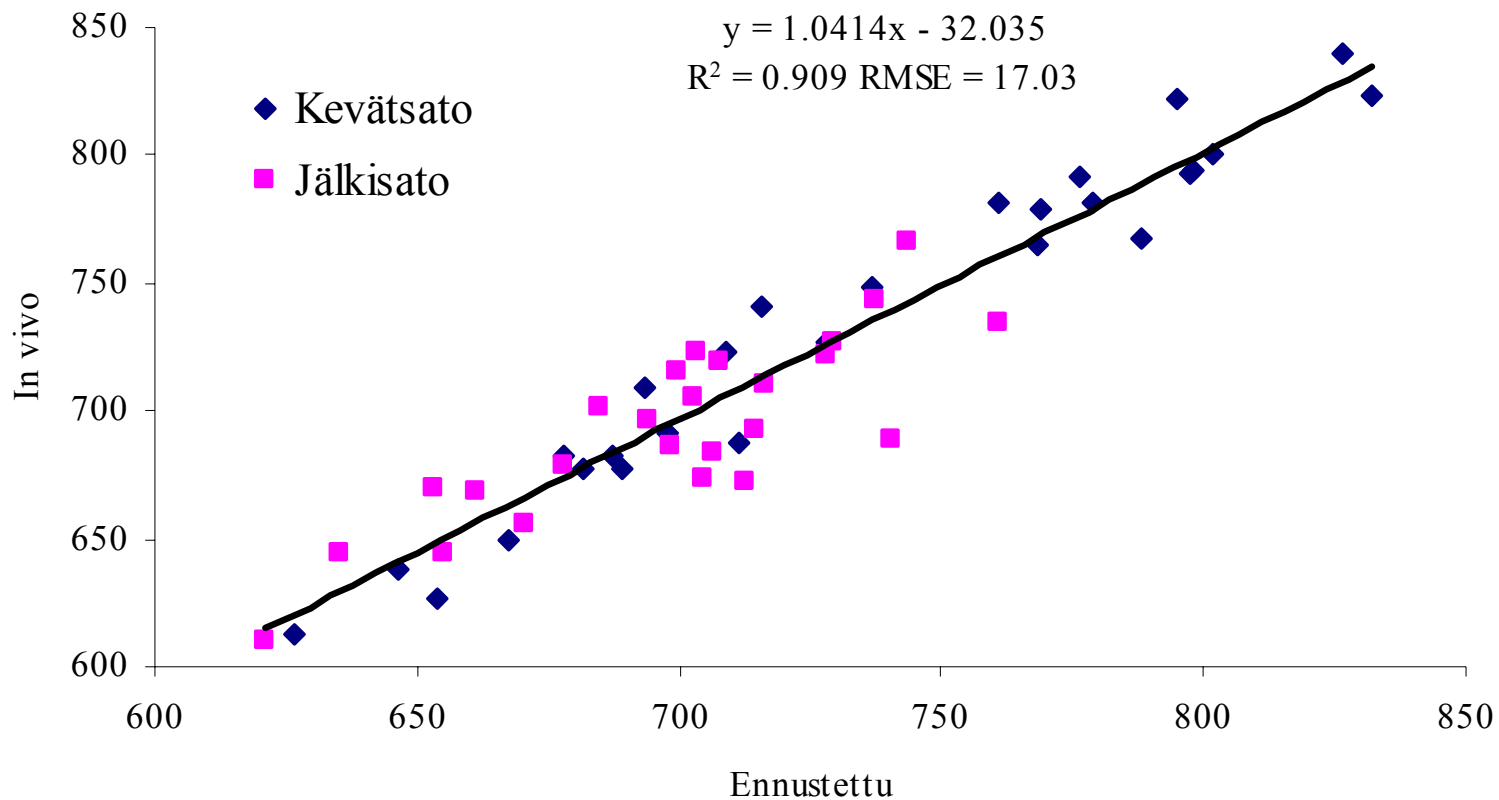
Kalibroinnin laajentaminen tärkeää!

INDF:n ennustaminen eri menetelmillä

Regressio-tekijä(t)	Keskiarvo	Keskim. tasoero	SEP	R ²	SD/SEP
NIRS	86,9	0,0	8,86 ^c	0,945	4,28
Sell. liuk. (SL), NDF	91,0	4,1	15,64	0,830	2,42
SL, Ligniini	93,6	6,7	19,40	0,740	1,95
SL, g/kg KA	96,8	9,9	20,30	0,714	1,87
Ligniini, g/kg KA	92,9	6,0	30,43	0,356	1,25
Ligniini, g/kg KA ^{*)}	85,9	-1,0	30,97	0,333	1,22
Ligniini, g/kg NDF ^d	93,5	6,6	31,20	0,321	1,22

^{*)} Ei-lineaarinen malli ($Y = 1+X^{1.155}$)

OA sulavuus INDF:n NIRS-ennusteiden avulla



Johtopäätökset (1)

- matemaattisesti käsitelty NIR-spektri korreloi useassa kohdassa säilörehun INDF-pitoisuuden kanssa – korrelaatiohuiput kuitenkin suht. matalia
- osa korrelaatiohuipuista samoja kuin ligniinillä (n. 2250 nm)
- NIR –spektrissä informaatio on sen muodoissa, ei yksittäisissä huipuissa – tarvitaan lisää osaamista spektrin tulkintaan ja matemaattiseen käsittelyyn
- NIRS –kalibrointi ennusti INDF –pitoisuuden selvästi paremmin kuin mikään kemiallinen menetelmä
- NIRS –kalibroinnin validointivirhe ilmeisesti pienempi kuin olisi tuntemattomia tilanäytteitä mitattaessa -> kalibroinnin laajennus välttämätöntä

Johtopäätökset (2)

- DNDF:n laskenta NDF:n ja INDF:n NIRS-ennusteiden erotuksena riittävän tarkkaa hyödynnettäväksi sulatusmalleissa
- D-arvon ennustaminen INDF:n NIRS –ennusteista onnistuu ainakin yhtä hyvin kuin esim. sellulaasiliukoisuuden avulla
- Jatkossa harkittava vakavasti että tilasäilörehujen rehuarvon arvioinnissa siirrytään pelkästään NDF:n ja INDF:n mittaamiseen ja sulavuus ja D-arvo ennustetaan näistä
- Sulatusnopeuden ennustamista NIRS –menetelmällä on myös tutkittava, vaikka se ei ilmeisesti tuokaan enää kovin suurta lisäarvoa rehujen tuotantovaikutuksen arviointiin

Kiitos mielenkiinnostanne!

Kysymyksiä?