

Qualitätssicherung der Nah-Infrarot Reflexionsspektroskopie (NIRS) in der Futteruntersuchung: Bestimmung von Trockensubstanz, Rohprotein, Rohfaser und Rohfett

G. Uray, J. Kaufmann und B. Steiner

Quality assurance of the Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) in fodder analysis: Determination of dry matter, crude protein, crude fibre and crude fat

1. Einleitung

1.1 Allgemeines

Die NIRS hat in der landwirtschaftlichen Analytik als neues Verfahren zur Qualitätskontrolle von Futtermitteln und pflanzlichen Produkten über den Einsatz in den Untersuchungsanstalten hinaus große Aufmerksamkeit erlangt (WILLIAMS und NORRIS, 1987; BOEVER DE et al., 1997). Aus der Verknüpfung spektroskopischer Messungen und statistischer Auswertungsmethoden ist ein analytisches Verfahren erwachsen, dessen Vorteil in der einfachen Proben-

aufbereitung, der geringen Analysendauer bei zerstörungsfreier Messung sowie in der Serienfähigkeit der simultanen Bestimmung mehrerer Parameter liegt.

Die Reproduzierbarkeit der NIRS-Ergebnisse wird von vielen Autoren höher eingeschätzt als die der zugehörigen Referenzmethoden (BARTON, 1990; RHIS, 1990; PAUL und MAINKA, 1990). Allerdings sind besondere Anforderungen an die Probenvorbereitung zu stellen (z. B. konstante Mahlfineinheit und Wassergehalte). Die praktische Bedeutung ergibt sich u.a. aus der Tatsache, daß

- diese Analysetechnik bei der umfassenden Qualitätsuntersuchung von Körner- und Blattfrüchten, aber auch im

Summary

Analysing dry matter and main nutrient of plant material by near infrared spectroscopy standard quality criteria can be realized with homogenous qualities. In contrast to that practical experience calibrations based on diffuse reflection spectra of heterogenous material of different origin are not yet quite acceptable. In order to establish the quantity of data necessary to obtain satisfactory results when using the calibrations, a comparison of quality parameters of NIR spectroscopy and classical methods has been carried out.

First the variability and the WILCOXON test were used to evaluate pairs of actual and predicted data which had been verified by additional chemical analysis. Looking at 172 samples each with four parameters of WEENDER analysis in four different trials an excellent correspondence between both methods was found.

Additional to the comparison by looking at fundamental mutual amounts according to the WILCOXON test NIR variation coefficients and coefficients of the interlaboratory tests of the ALVA were examined. A further point for good NIRS quality is the share of measured data can be found within these limits.

The results of the validation of the methods show that the requested precision of WEENDER analysis of heterogenous plant material of the same location can be reached by NIRS, if the spectroscopical analysis of one trial is done by daily calibrations.

Keywords: Quality assurance, Comparison of methods, Near Infrared Reflectance Spectroscopy, WEENDER-analysis, Permanent grassland.

Zusammenfassung

Die NIR-Analytik von Trockenmasse und Rohnährstoffen erfüllt bei Pflanzenproben derselben Art die konventionellen Qualitätsanforderungen. Dagegen zeigen die Bemühungen um Standardkalibrierungen für heterogenes Material noch unbefriedigende Ergebnisse. Es wird mit der vorliegenden Arbeit die analytische Qualität der NIRS im Vergleich mit naßchemischen Methoden in Material aus verschiedenen Pflanzenarten dargestellt. Auf eine umfangreiche Studie aufbauend, wurden über die Regressionsgleichungen die Bestimmtheitsmaße und im Paarvergleich unter Einsatz des Rangsummentests für gleichartige Paare, dem WILCOXON-Test bei 4 Versuchen mit insgesamt 172 Proben und jeweils 4 Bestimmungsstücken (WEENDER-Analyse) in Grünlandproben weitgehende Übereinstimmung mit den herkömmlichen Methoden gefunden.

Zusätzlich wurden die NIR-Variationskoeffizienten mit den Variationskoeffizienten der Ringuntersuchungen entsprechender ALVA-Enqueten verglichen.

Als weiteres Kriterium für die Güte der NIRS wurde jener Anteil der Meßwertpaare ermittelt, der innerhalb dieser ALVA-Grenzen liegt.

Die Ergebnisse der Methodvalidierung weisen darauf hin, daß mit NIRS die erwünschten Genauigkeitsanforderungen der WEENDER-Analyse dann erreicht werden können, wenn die spektroskopischen Analysen von heterogenen Dauergrünlandproben eines Standortes mit einzelnen Tageskalibrierungen erfolgen.

Schlagworte: Qualitätssicherung, Methodenvergleich, Nah-Infrarot Reflexionsspektroskopie, WEENDER-Analyse, Dauergrünland.

Versuchswesen bei der Bestimmung von Strukturelementen und Nährstoffen in Pflanzenmaterial angewendet wird (DEGENHARDT, 1996; PAUL, 1994).

- in der landwirtschaftlichen Praxis die NIRS auf internationaler Ebene nach genormten Methoden zur Qualifikation von Mais eingesetzt wird (PAUL et al., 1992; MAINKA, 1990; BISTON und DARDENNE, 1992).
- die NIRS in der Grundlagenforschung zur Bestimmung von Naturstoffen und Stoffwechselfvorgängen Eingang gefunden hat (MARTENS und NAES, 1987; ANTONIEWICZ et al., 1994).

Aus Zeit- und Kostengründen kann heute ein hohes Probenaufkommen nur mit dem Einsatz serienfähiger Methoden bewältigt werden. Zu solchen Methoden mit großer Effizienz kann auch die NIRS gezählt werden. Der derzeitige Entwicklungsstand macht es jedoch notwendig, die Methode in den verschiedenen Anwendungsbereichen für jeden einzelnen, chemisch definierten Inhaltsstoff bzw. auch für jede zu analysierende Stoffgruppe an die geforderten Qualitätskriterien anzupassen.

In dieser Arbeit wurden sowohl manuell nach den naßchemischen Standardvorschriften als auch mit der Infrarotspektroskopie durchgeführte Analysen von Trockenmasse, Rohprotein, Rohfaser und Rohfett aus Proben von Dauergrünland (Gras) einem eingehenden Vergleich unterzogen. Mit Paarvergleichen unter Einsatz des WIL-

COXON-Tests und weiteren statistischen Prüfgrößen wurden bei 4 Versuchen mit insgesamt 172 Proben bei jeweils 4 Bestimmungsstücken (WEENDER-Analyse) 1376 Analysen durchgeführt und weitgehende Übereinstimmungen mit den herkömmlichen Methoden gefunden. Die bisher für einheitliche Proben (homologe Matrix) als selbstverständlich angesehene Übereinstimmung konnte auch bei heterogenem Material nachgewiesen werden (URAY, 1997).

1.2 Theoretische Bemerkungen zur Anwendung der NIRS

Infrarotes Licht verursacht bei der Wechselwirkung mit Materie Schwingungen der Moleküle (Kombinations- und Oberschwingungen), deren Frequenzen charakteristisch für die funktionellen Gruppen organischer Stoffe sind. Im Nah-Infrarotbereich (800–2500 nm) absorbiert eine Vielzahl von Gruppen mit Einfach-, Zweifach- und Dreifachbindungen wie z. B. C-H, O-H, N-H, S-H, P-H, -CH₃, -NH₂, die in Inhaltsstoffen von Pflanzen vertreten sind (HAGENSTEIN et al., 1982; FADINI und SCHNEPEL, 1985; HESSE et al., 1996).

Die systematische Überprüfung eines außerordentlich umfangreichen Spektrenmaterials anorganischer und organischer Verbindungen hat ergeben, daß die Wellenlängen

der Absorptionen weitgehend unabhängig vom Molekülrest sind. Die durch die Anregung der Molekülschwingungen absorbierte Energie wird dem Primärstrahl entzogen und man mißt die komplementäre, diffuse Reflexion der Strahlung im Vergleich zu einem Referenzstrahl. Dieses Meßsignal der NIRS liefert Aufschluß über die Zusammensetzung der zu untersuchenden Inhaltsstoffe. Die Absorption $A(l)$ mit der Wellenlänge l wird indirekt über den Logarithmus des reziproken Reflektionswertes $\log(1/R[l])$ ausgedrückt. Dadurch erhält man einen linearen Zusammenhang zwischen Absorption und Konzentration (PUCHWEIN und EIBELHUBER, 1986; EIBELHUBER, 1987; WILLIAMS und NORRIS, 1987).

Bedingt durch die Unterschiedlichkeit der Matrices, der Komplexität der Zusammensetzung und die Vielfalt der Komponenten einzelner Pflanzen oder Pflanzenbestandteile erfordert das Verfahren spezifische Kalibrierungen für die einzelnen Proben- bzw. Versuchsserien. Störende Matrixeffekte werden durch die Eichprobenauswahl aus dem eigenen Probenkollektiv jeder Versuchsserie weitgehend eliminiert.

2. Problemstellung

2.1 Richtigkeit und Präzision von Analysenwerten

Meßergebnisse sind im allgemeinen bis zu einem gewissen Grad fehlerhaft, wobei die Fehlerquellen systematischer und/oder zufälliger Natur sein können. Abweichungen vom wahren Wert eines Meßergebnisses werden durch systematische Fehler verursacht (z. B. fehlerhaft geeichte Meßgeräte) und machen ein Ergebnis falsch. Zufällige Fehler machen ein Ergebnis unsicher.

Die Klassifizierung in systematische und zufällige Fehler gilt sowohl für die Naßchemie als auch für die NIRS. Systematische Fehlerquellen sind beherrschbar, sofern sie richtig erkannt werden. Es gibt eine große Vielfalt an dominanten Fehlerquellen von der Vorbereitung des Untersuchungsgutes bis zur Bestimmung eines Inhaltsstoffes einer Probe, wie z. B. ungenaue Probenahme, ungenügende Probenhomogenisierung, falsche Meßparameter, fehlerhafte Methodenentwicklung, verunreinigte Chemikalien, kontaminierte Probengefäße, Rechenfehler usw.

Die zufälligen Fehlerquellen sind nicht beeinflussbar. Sie resultieren aus leichten Schwankungen der Meßgeräte, aus leichten Inhomogenitäten einer Probe, Schwankungen beim Pipettieren des Autosamplers bzw. beim Probenzufuhrsystem usw. Daher muß für diese Fehler ein Maß

gefunden werden, das sich in der Analysenunsicherheit niederschlägt.

In vielen Fällen sind die Übergänge zwischen den beiden Fehlertypen fließend und die Zuordnung ist oft nicht definitiv möglich.

Die Fehleranteile addieren sich im allgemeinen nicht linear, sondern nach dem Gaußschen Fehlerfortpflanzungsgesetz pythagoräisch und kompensieren sich bis zu einem gewissen Grad, so daß der Gesamtfehler eines Ergebnisses oft weit unter dem theoretischen Größtfehler liegt.

Eine wichtige Qualitätsforderung eines chemischen Laboratoriums ist das Erreichen der festgelegten bzw. vorausgesetzten Präzision (= Reproduzierbarkeit von Werten) und die Richtigkeit chemischer Analysendaten. Im Hinblick auf die Forderung nach serienfähigen und kostengünstigen Methoden wird in dieser Arbeit die Frage gestellt, wie die Nah-Infrarotanalytik mit den naßchemischen, approbierten Standardmethoden übereinstimmt.

Einen Beweis für die Zuverlässigkeit einer Methode erhält man erst durch umfangreiche statistische Vergleiche.

2.2 Einsatz der NIRS in der Futteranalytik

Die Zielvorstellungen der landwirtschaftlichen Forschungs- und Untersuchungsanstalten liegen darin, den Einsatzbereich der kosten- und zeitsparenden, sowie umweltschonenden NIRS-Methode zu erweitern und die Qualität der Routine weiter abzusichern. In der Diskussion über die Analysenunsicherheiten der NIRS ergaben sich mehrere Ansatzpunkte für Fragen der Analysengenauigkeit und folglich Weiterentwicklungen für Forschungsarbeiten auf dem Gebiet der Kalibrierung. In Österreich liegen langjährige Erfahrungen im Einsatz der NIRS vor allem im Versuchswesen vor (HEIN et al., 1998). Während die quantitative NIRS bei definierten Inhaltsstoffen in sortenreinem Pflanzenmaterial mit weitgehend identischer Herkunft die konventionellen Qualitätsanforderungen erfüllt, zeigten die bisherigen Erfahrungen bei heterogenem Material unbefriedigende Ergebnisse. In diesem Sinne sollte mit der vorliegenden Arbeit die analytische Präzision und Genauigkeit der NIRS im Vergleich mit naßchemischen Methoden bei der Bestimmung von Einzelparametern in Pflanzenmaterial von Dauergrünlandversuchen an unterschiedlichen Standorten, zu verschiedenen Erntezeitpunkten und unter dem Einfluß ansteigender Düngergaben untersucht und dargestellt werden.

Für die NIR-Spektroskopie ist vorauszusetzen, daß

- zum Unterschied zur traditionellen Spektroskopie das gemessene Spektrum einer Probe nicht mit Referenzspektren verglichen werden kann, da keine allgemeingültigen Standardsubstanzen zur Verfügung stehen;
- die Eichung also nur indirekt über eine bestimmte Anzahl ausgewählter Meßproben aus dem Gesamtkollektiv erfolgen kann und dieser Auswahl eine entscheidende Bedeutung zukommt;
- mit statistischen Rechenmethoden ein Zusammenhang zwischen der meist mit herkömmlichen Methoden ermittelten Konzentration der Inhaltsstoffe und den spektralen Daten hergestellt werden muß.

Es kommt auch bei diesem Methodenvergleich die pythagoräische Summierung sowohl aller analytischen Fehler als auch die durch statistische Berechnungen bedingten Abweichungen von theoretisch idealen Kalibrierungsgeraden zum Tragen.

Nachstehendes Schema (Abbildung 1) verdeutlicht den Zusammenhang der Entstehung der Daten und die damit in Verbindung stehenden systemimmanenten Fehler im gesamten Probensatz. Dieser wird in Eichwertpaare (Eichprobensatz zur Kalibrierung), und Meßwertpaare (Meßprobensatz für den Methodenvergleich) unterteilt. Bei der Analyse jedes Probensatzes können Fehler auftreten, die am Ende des Methodenvergleichs ihr Maximum erreichen. Die in der naßchemischen WEENDER-Analytik auftretenden Fehler übertragen sich zwangsläufig auch auf die Eichproben der NIRS, egalieren sich daher und haben keinen Einfluß auf die statistische Beweisführung der Vergleichbarkeit beider Methoden.

Bekanntlich können die Ergebnisse chemischer Analysen nie besser sein als die vorangegangenen Schritte der Probenahme (Punkt A, Abbildung 1). Die Probenahmefehler sind bei beiden analytischen Methoden gleich.

Die statistischen Vergleiche der WEENDER-Analysen mit den entsprechenden NIR-Analysen erfolgten zwangsläufig erst nach Abschluß aller chemischen Analysen und NIR-Rechenoperationen für sämtliche Proben eines Dauergrünlandversuches. Somit war die am Schluß erreichte statistische Absicherung der Methodenvergleiche aus den Termini T1 bis T4 für alle vorausgegangenen Meß- und Rechenschritte in noch höherem Maße gültig. Während also bei der eigentlichen NIRS die spektralen Daten der zu analysierenden Proben auf die Kalibrierungsgerade der Eichwertpaare projiziert und damit die gesuchten Konzentrationen ausgewiesen werden, müssen beim Metho-

denvergleich zwei Regressionsgeraden, nämlich die der Eichwertpaare und der Meßwertpaare, erstellt und rechnerisch mit mehr Fehlerkonsequenzen weiterverarbeitet werden. Demnach liegt die angewandte NIRS, die mit der Berechnung des Meßprobensatzes aus den Termini T1, T2, und T3 bereits abgeschlossen ist, innerhalb der bei den Methodenvergleichen erreichten Fehlerkenndaten bzw. Streubreiten.

3. Material und Methoden

Um die Anwendung der NIRS statistisch zu bewerten, wurden in den chemischen Abteilungen der BAL Gumpenstein auf den bisherigen Erfahrungen mit dieser Methode aufbauend, weitere Vergleichsversuche, speziell für die Fragestellungen des Grünlandes, in größerem Umfang durchgeführt (URAY, 1997). Gründe für die Vergleichsstudie sind hauptsächlich in der Unterschiedlichkeit der einzelnen Probenreihen und in den Matrixeffekten innerhalb dieser Reihen zu suchen.

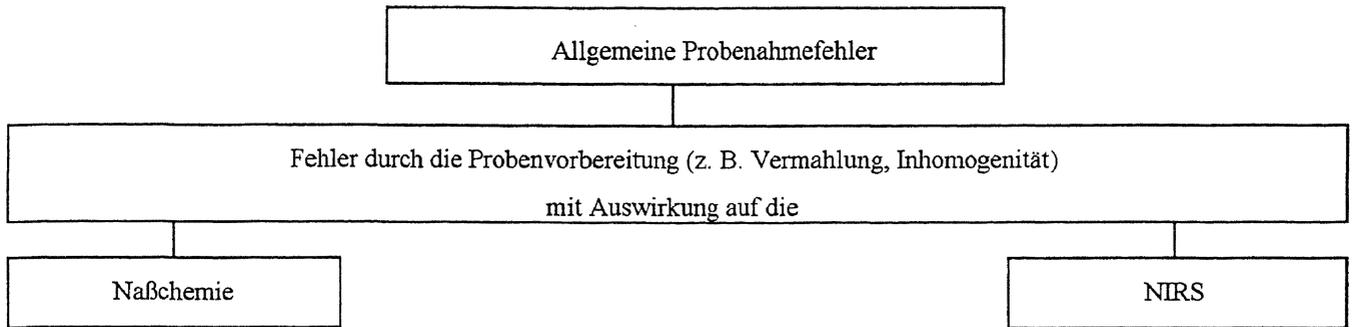
3.1 Probenmaterial und -umfang

Für die Methodenvergleiche zwischen naßchemischen Analysen und Infrarotspektroanalysen von Trockenmasse, Rohprotein, Rohfaser und Rohfett in Dauergrünland kamen vier verschiedene Dauergrünlandversuche mit insgesamt 172 Proben der Abteilung Grünlandwirtschaft der Bundesanstalt für alpenländische Landwirtschaft zur Untersuchung. Das Material dieser Düngungsversuche mit abgestufter Nutzungsintensität ließ ein breites Spektrum der Zusammensetzung und Struktur der Inhaltsstoffe erwarten. Auch die Futterproben aus ein- und demselben Versuch mußten sich – bedingt durch die Jahreszeit, Schnitthäufigkeit und Düngungsstufen – in ihren Gehalten wesentlich unterscheiden.

Die Futterproben jedes einzelnen Versuches waren jeweils von einem Standort. Folgende Proben wurden untersucht:

- 36 verschiedene Proben des Düngungs- und Nutzungsversuches GL-1996 VS-433
- 36 verschiedene Proben des Schnitthäufigkeitsversuches GL-1996 VS-434A
- 50 verschiedene Proben des Düngungs- und Nutzungsversuches GL-1996 VS-494
- 50 verschiedene Proben des Düngungs- und Nutzungsversuches GL-1996 VS-495

A. Fehler aus der Probenvorbereitung



B. Meßfehler der naßchemischen Analyse und der Spektroskopie

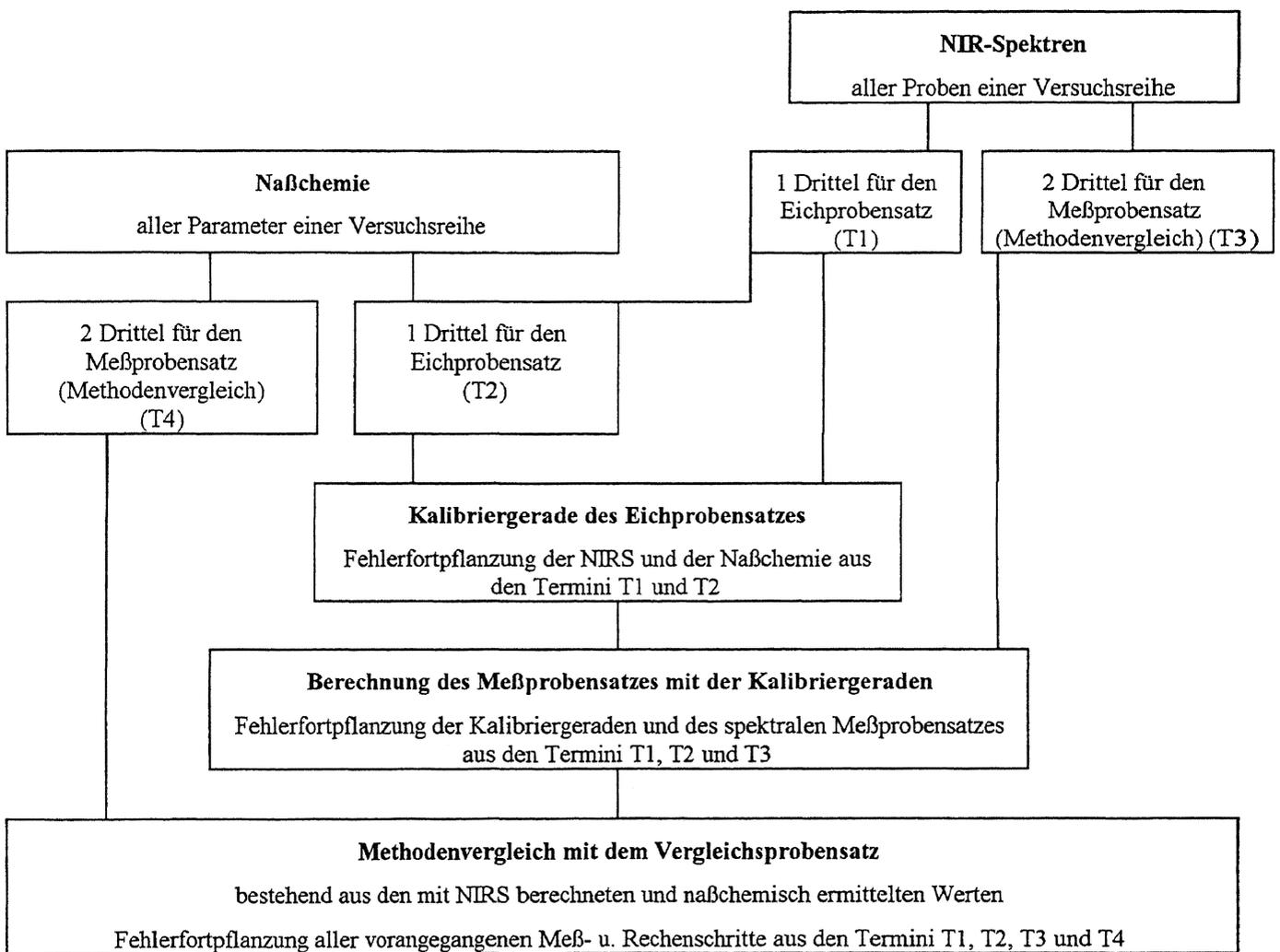


Abbildung 1: Schematischer Ablauf der Methodik und Fehlerfortpflanzung für den Vergleich naßchemischer und infrarotspektroskopischer Analysen
 Figure 1: Diagrammatic expiry of the methodology and error propagation for comparison of classical and near infrared spectroscopical analysis

In den Versuchen VS-433 und VS-434A wurden je 12 Eichwertpaare ermittelt und die übrigen je 24 Proben als Meßwertpaare für die Methodenvergleiche verwendet. In den Versuchen VS-494 und VS-495 standen je 16 Eichwertpaare jeweils 34 methodisch zu beurteilenden Meßwertpaaren gegenüber.

3.2 Probenvorbereitung

Die frischen Grasproben wurden einheitlich bei 50° C im Luftstrom 48 h getrocknet und anschließend mit einer RETSCH-Mühle unter einer Siebung von 1 mm vermahlen.

Die Probenvorbereitungen (Trocknungen, Vermahlungen) fanden sowohl für die Aufnahmen der Infrarotspektren als auch für die manuelle WEENDER-Analyse unter gleichen Bedingungen statt. Die Infrarotanalysen wurden chargenmäßig, das heißt für jeden Versuch in möglichst kurzen Teilzeiten (einzelnen Tageskalibrierungen), von jeweils ein und demselben Analytiker durchgeführt. Die WEENDER-Analysen erfolgten nach dem Methodenbuch für Futtermittel der ALVA parallel im Zeitplan zur NIR-Analytik.

3.3 Durchführung der Messung und Auswahl der Eichproben

In der Futtermittelanalytik mit NIRS sind im allgemeinen keine Referenzproben vorhanden und es muß daher indirekt geeicht werden. Die Eichproben werden aus dem gesamten zu analysierenden Probenkollektiv vorerst ohne chemische Analysen, sondern nur auf Grund ihrer spektralen Eigenschaften mit vorgegebenen Rechenoperationen (multivariate Verfahren) gewählt. Zu diesen Operationen zählen vorrangig Hauptkomponentenanalysen und andere faktoranalytische Verfahren, z. B. „die Methode der partiellen kleinsten Quadrate“. Über die Hauptkomponenten (PCA-Faktoren) werden die in großer Vielzahl vorliegenden Spektraldaten zu wenigen Faktoren zusammengefaßt (MARTENS und NAES, 1987).

Die Verfahren der Eichprobenermittlung zielen darauf ab, durch sukzessive Auswahl der zu analysierenden Proben auf jede für die spätere Regression weniger wichtige Probe zu verzichten (PUCHWEIN, 1988). Folgende Gesichtspunkte werden dabei berücksichtigt:

- keine Auswahl nach dem Zufallsprinzip;

- relativ stärkere Einbeziehung von Proben an den Rändern des zumeist normalverteilten Kollektivs;
- Auswahl eines über alle Konzentrationen gleichmäßig verteilten Eichsatzes im Hinblick auf die gezielte Zugrundelegung eines linearen Regressionsmodells;
- vorzugsweise Eliminierung von Proben geringen Einflusses auf das Regressionsmodell.

Mit dieser Vorgangsweise wird einerseits die Variationsbreite der zu analysierenden Proben abgedeckt und andererseits die Anzahl der Eichproben auf ein Minimum (je nach Material ca. 30 %) beschränkt (EIBELHUBER, 1987).

Im Anschluß werden diese ausgesuchten Eichproben (etwa 1 Drittel aller Proben) auf die verschiedenen organischen Inhaltsstoffe chemisch analysiert und durch Zuordnung dieser analytischen Daten mit den äquivalenten Spektraldaten die Kalibrierungsgeraden erstellt. Auf diese Weise hergeleitete Eichungen sind meist nur für spezifische Bedingungen eines Probenkollektivs optimiert und nicht für den universellen Einsatz.

Nach der Kalibrierung beginnt für den Großteil der Proben (etwa 2 Drittel eines Probenkollektivs) die Berechnung der Inhaltsstoffe über die Eichungen, also nur auf Grund der spektralen Daten ohne chemische Analysen, worin auch der enorme zeit- und kostensparende Vorteil dieses Analyseverfahrens liegt.

Für die Methodenvergleiche der vorliegenden Arbeit mußten natürlich in sämtlichen Proben, also nicht nur in den Eichproben, Trockenmasse, Rohprotein, Rohfaser und Rohfett naßchemisch bestimmt werden. Die Absorptionsspektren der Proben wurden mit dem InfraALYZER 500 von Bran+Luebbe im Wellenlängenbereich zwischen 1100 und 2500 nm in 10-nm Schritten aufgenommen. Auf eine sorgfältige Befüllung der Meßzellen wurde besonders geachtet und die spektralanalytischen Vermessungen der Proben jedes einzelnen Versuches in möglichst kurzer Zeit und unter konstanten Bedingungen (Tageskalibrierungen) durchgeführt. Nach Aufnahme der Spektren mit jeweils 700 Absorptionssignalen bei zwei Wiederholungen wurden mit dem IDAS-Programm (verschlossene Software) die mathematische Eichprobenauswahl durchgeführt.

3.4 Die mathematischen Modelle für den Methodenvergleich

Gleichungen und Symbole zur Berechnung von Kenngrößen für die Methodenvergleiche zwischen naßchemi-

Tabelle 1: Gleichungen und Symbole zur Berechnung von Kenngrößen für die Methodenvergleiche zwischen naßchemischen Analysen und NIRS-Analysen

Table 1: Equations and symbols for the calculation of the standard values for the comparison of manual analysis and NIRS data

L_i einzelner Labormesswert N_i einzelner NIRS-Wert a, b Koeffizienten der Regressionsgleichungen für Meßwertpaare c, d Koeffizienten der Regressionsgleichungen für Eichwertpaare n Anzahl der Meßwertpaare m Anzahl der zu beurteilenden Werte beim WILCOXON-Test SR = min(SR+, SR-) Summe der Rangzahlen der Meßwertpaardifferenzen für den WILCOXON-Test $t_{0,05}$ kritische Werte für den WILCOXON-Test (5% zweiseitig) VR Variationskoeffizienten aus ALVA-Ringuntersuchungen P Prozentsatz der Meßwertpaare innerhalb der VR-Bereiche R^2 Bestimmtheitsmaß	
$N_w = (L_i - b)/a$ horizontal auf die Meßwertgerade projizierter einzelner NIRS - Meßwert $N_e = (L_i - d)/c$ horizontal auf die Eichwertgerade projizierter einzelner NIRS - Meßwert $dN_i = [(L_i - b)/a - N_i] * 100/N_w$ Horizontalabstand eines auf 100 % normierten NIRS-Meßwertes von der Regressionsgeraden der Meßwertpaare	$ML = (\sum L_i)/n$ (i = 1 bis n) Mittelwert der Labormesswerte $MN = (\sum N_i)/n$ (i = 1 bis n) Mittelwert der NIRS-Meßwerte $MN_e = (ML - d)/c$ horizontal auf die Eichwertgerade projizierter Mittelwert der NIRS-Meßwerte $VRN = \sqrt{\{[\sum (dN_i)^2]/(n - 1)\}}$ (i = 1 bis n) Variationskoeffizient des auf 100 % normierten Mittelwertes der NIRS-Werte $dMN = [MN - (ML - d)/c] * 100/MN$ Horizontalabstand des auf 100 % normierten MN von der Eichgeraden $GFN = VRN + dMN $ Vergleichsgröße für den gültigen Variationskoeffizienten aus ALVA-Ringuntersuchungen

schen Analysen und NIRS-Analysen sind der Tabelle 1 zu entnehmen.

3.4.1 WILCOXON-Test (Zeichen-Rangsummentest für gleichartige Paare)

Für korrelierende Stichproben, deren Differenzen auch von einer Normalverteilung abweichen können, stellt der von WILCOXON (1945) entwickelte, Vorzeichenrangsummentest für gleichartige Paare (matched-pairs-signed-rank-test) das am häufigsten verwendete Prüfverfahren dar. Bei diesem Test wird nicht nur die Richtung (Vorzeichen), sondern auch die relative Größe (Rang) der einzelnen Paardifferenzen berücksichtigt und besitzt dadurch eine größere Trennschärfe als etwa der Mittelwert-t-Test (ESSL, 1987; SACHS, 1984; WEBER, 1986).

Für die nachfolgenden Methodenvergleiche nach WIL-

COXON wurden die Sicherheitsgrenzen $\alpha = 0,05$ zum zweiseitigen Test gewählt. Das heißt, im Falle der Gültigkeit

$$\min (SR-, SR+) > t_{0,05} \tag{1}$$

wurden sämtliche Werte der beiden Methoden einer Grundgesamtheit zugeordnet. Dies wird weiter unten anhand eines Beispiels in Tabelle 2 ausführlich erläutert.

3.4.2 Vergleich der NIR-Variationskoeffizienten mit den Variationskoeffizienten der Ringuntersuchungen entsprechender ALVA-Enqueteproben

Aus den nach den gültigen Normen (DIN ISO 5725 und DIN 38402) durchgeführten Auswertungen der langjährigen Ringuntersuchungen der ALVA mit bis zu 34 öffentlichen, nationalen und internationalen analytischen Laboratorien sind die Variationskoeffizienten VR bzw. die Streuungen

der mit verschiedenen Methoden bestimmten WEENDER-Parameter in Heuproben bekannt (Tabelle 4). Im Vergleich mit diesen Enqueteergebnissen kann die analytische Qualität der NIRS (Richtigkeit und Präzision) an dem zu erreichenden „Standard“ beurteilt werden. Die Streuungen der Meßwertepaare, die sich bei den vorliegenden Methodenvergleichen aus den naßchemischen und den spektroskopischen Analysenfehlern der Eichproben zusammensetzen, werden auf diese Weise mit den bereits bekannten, allgemein zu akzeptierenden Standardabweichungen der Ringuntersuchungen relativiert (URAY, 1990-1997). Die folgenden Ausführungen leiten sich aus der analytischen Geometrie ab.

Wie das Modell in Abbildung 2 zeigt, werden die Streubereiche aus ALVA-Ringuntersuchungen und NIRS-Vergleichsmessungen der vorliegenden Versuche nebeneinander dargestellt. Dazu wird als Vorgabe der mittlere Variati-

onskoeffizient VR aus mehreren Ringversuchen mit Heu-Enqueteproben auf der Regressionsgeraden der NIRS-Eichwertepaare (Abgrenzung mit strichlierter Linie) beidseitig eingezeichnet. Dann wird im Vergleich dazu der Variationskoeffizient VRN der NIR-Meßwerte im Mittelpunkt der Meßgeraden mit den Koordinaten (MN, ML) aufgetragen (horizontaler Doppelpfeil). Die relative Standardabweichung VRN wurde aus den auf 100 % normierten Einzelwerten berechnet. Jeder einzelne NIRS-Meßwert N_i ergibt bei horizontaler Projektion auf die Meßwertgerade

$$N_w = (L_i - b)/a \quad (2)$$

und es läßt sich weiters der Horizontalabstand dN_i eines auf 100 % normierten NIRS-Wertes von der Regressionsgeraden der Meßwertpaare durch

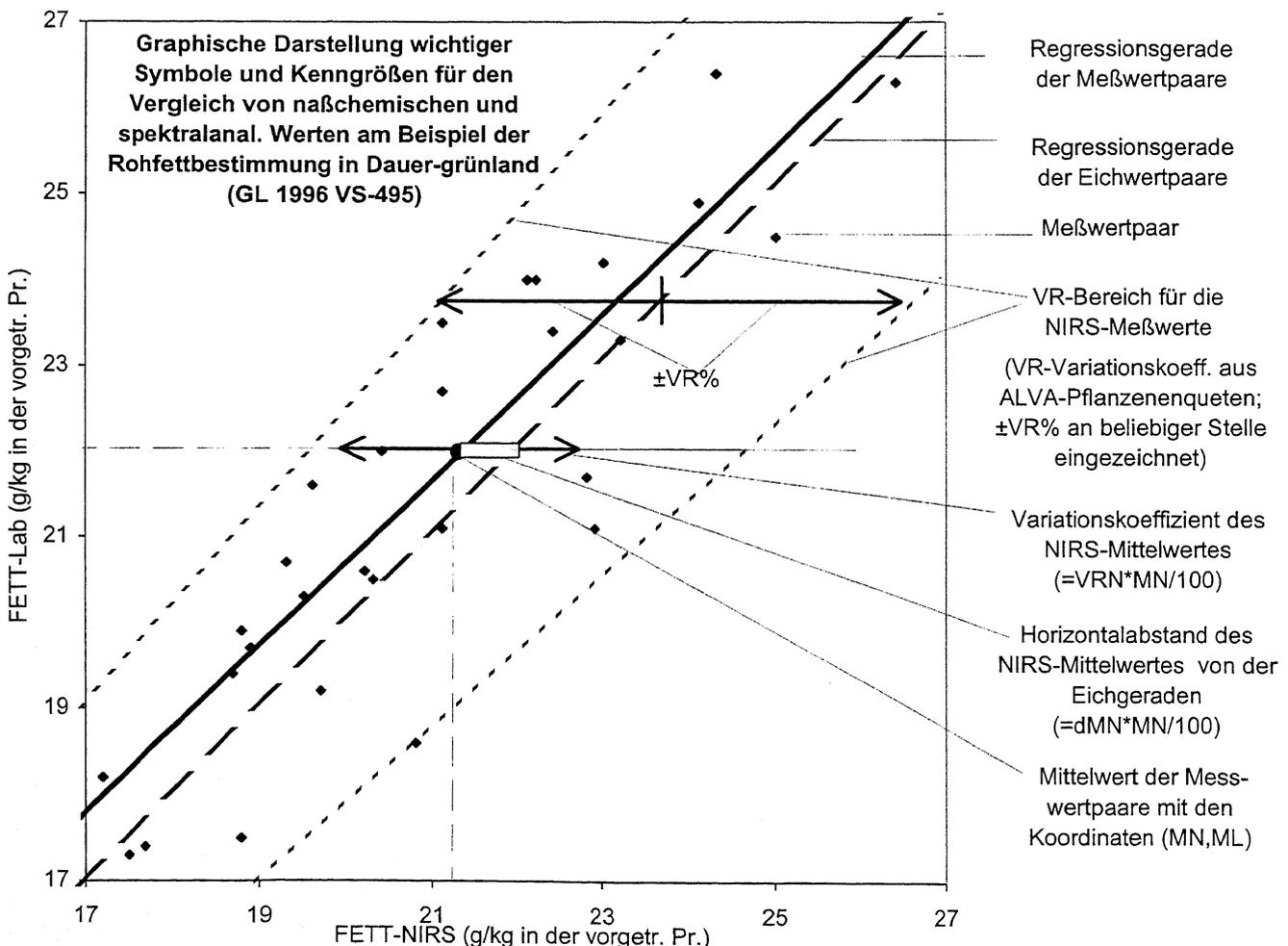


Abbildung 2: Graphische Darstellung des NIR-Variationskoeffizienten der Meßwertpaare innerhalb der Abgrenzung des ALVA-Variationskoeffizienten (verschiedene Methoden der Rauhfutteranalyse)

Figure 2: Graphical illustration of the NIRS variation coefficient of the corresponding data within the share of the ALVA variation coefficients (different methods of the feed analysis)

$$dN_i = [(L_i - b)/a - N_i] * 100/N_w \quad (3)$$

ausdrücken. Durch Aufsummieren aller dN_i nach der bekannten Formel für die Standardabweichung erhält man schließlich den Variationskoeffizienten

$$VRN = \sqrt{\{[\sum(dN_i)^2]/(n - 1)\}} \text{ für } i = 1 \text{ bis } n \quad (4)$$

Bekannt ist nun, daß sich Eichgerade und Meßgerade mehr oder weniger gut decken, sodaß der Horizontalabstand dMN der beiden Geraden auf der Höhe des Meßwertes mit seinen Koordinaten (MN , ML) errechnet und zum Variationskoeffizienten VRN addiert werden muß. Für die vorliegenden Betrachtungen kommt der Abstand dMN entweder rechts oder links der Eichgeraden zum Tragen, je nachdem, auf welcher Seite sich die Regressionsgerade der Meßwertpaare von der Eichgeraden befindet. Dieser Horizontalabstand wird durch Einsetzen der Schwerpunktskoordinaten in die Eichgeradengleichung mit

$$MN = (ML - d)/c \quad (5)$$

erfaßt. Durch Normierung auf 100 % erhält man schließlich

$$dMN = [MN_e - (ML - d)/c] * 100/MN \quad (6)$$

Durch Zusammenfassen von VRN und dMN als Absolutbeträge erst wird ersichtlich, ob die Bedingung

$$GFN = |VRN| + |dMN| \leq |VR| \quad (7)$$

erfüllt ist und der Variationskoeffizient der NIRS-Werte (Vorhersage) zur Gänze innerhalb der Variationskoeffizienten der Ringuntersuchungen liegt. GFN stellt als Absolutsumme der Geradendifferenz und des NIR-Variationskoeffizienten den theoretisch größtmöglichen Gesamtfehler der Meßreihen dar. Diese Absolutsumme ist zugleich die größtmögliche Annäherung der Streuung des Meßwertes an die näherliegende, gültige Grenze der Variationskoeffizienten der ALVA-Pflanzenenqueten. Da sich die Lage des Schwerpunktes von der gegenüberliegenden ALVA-Abgrenzung um den Betrag $|dMN|$ vergrößert, reduziert sich auf dieser Seite die Bedingung auf

$$|VRN| \leq |VR| \quad (8)$$

Gilt die Bedingung (7), so ist auch die Bedingung (8) erfüllt und die NIR-Analytik erweist sich als signifikant abgesichert und gleichwertig mit den Referenzmethoden.

4. Ergebnisse und Diskussion

4.1 Bestimmtheitsmaße und Wilcoxon-Test

Als eine Möglichkeit zum Vergleich verschiedener Analysemethoden bieten sich die Regressionsgeraden mit ihren Bestimmtheitsmaßen an.

Tabelle 2: Koeffizienten (a, b, c, d) und Bestimmtheitsmaße der Meßwertgeraden $N_w = (L_i - b)/a$ und der Kalibrierungsgeraden $N_e = (L_i - d)/c$ von 16 Methodenvergleichen

Table 2: Coefficients (a, b, c, d) and determination value of the straight line of measurement $N_w = (L_i - b)/a$ and calibration $N_e = (L_i - d)/c$ of 16 comparison sets

Versuch	Inhaltsstoff	Meßwertpaare				Eichwertpaare			
		n	a	b	R ²	n	c	d	R ²
433	Trockenmasse	24	1,2165	-203,1100	0,61	12	1,0111	-11,1200	0,95
434A		24	0,9322	63,8060	0,55	12	1,0313	-29,2400	0,89
494		34	0,6890	291,1500	0,48	16	1,0375	-35,1500	0,61
495		34	0,1312	812,5400	0,04	16	0,9927	6,9019	0,81
433	Rohprotein	24	0,9495	5,4288	0,98	12	0,9991	0,0925	0,99
434A		24	1,0483	-5,4697	0,98	12	0,9966	0,9183	0,99
494		34	1,0360	-5,3896	0,99	16	0,9996	0,0467	0,99
495		34	0,9887	2,7465	0,98	16	1,0002	-0,0060	0,99
433	Rohfaser	24	1,0409	-10,3370	0,98	12	1,0036	-0,6850	0,99
434A		24	1,0409	-10,3370	0,98	12	1,0036	-0,6850	0,99
494		34	1,0153	-2,1230	0,98	16	1,0010	-0,2060	0,99
495		34	1,0467	-12,4120	0,97	16	1,0000	-0,0060	0,98
433	Rohfett	24	0,5486	9,6920	0,47	12	1,0090	-0,1810	0,89
434A		24	0,9322	1,3860	0,75	12	0,9989	0,0269	0,96
494		34	0,8909	2,1125	0,88	16	1,0022	-0,0490	0,97
495		34	0,9678	1,3498	0,90	16	0,9982	0,0459	0,96

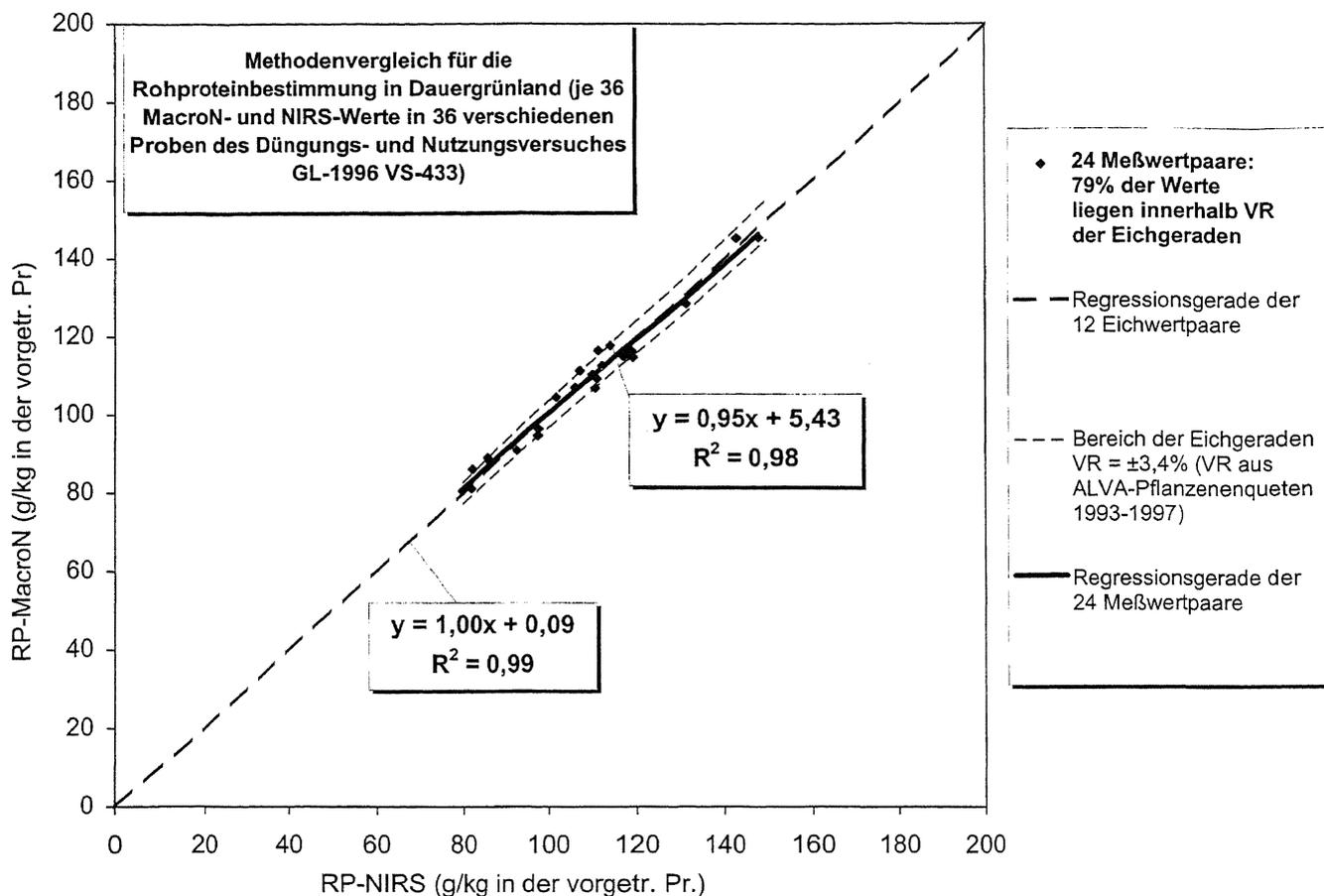


Abbildung 3: Graphische Darstellung der Eichgeraden und der Meßwertpaare für einen Methodenvergleich
Figure 3: Graphical illustration of the calibration straight line and the corresponding data for comparison

In Tabelle 2 sind alle Koeffizienten der Regressionsgeraden für die Eichwertpaare und Meßwertpaare mitsamt deren Bestimmtheitsmaßen aufgelistet. Die Steigungen der Eichgeraden betragen bei Rohprotein, Rohfaser und Rohfett nahezu 1 und die Geraden führen in allen Fällen fast genau durch den Nullpunkt. Die Bestimmtheitsmaße der Meßwertpaare liegen beim Rohprotein und bei der Rohfaser mit $R^2 \geq 0,97$ besonders gut, bei Rohfett wurden in drei von vier Versuchsreihen noch $R^2 \geq 0,75$ erreicht. Bei der Trockenmasse weichen die mit dem IDAS-Programm erhaltenen Steigungen der Eichgeraden nur maximal um 3,8 % von der Idealgeraden ab, bei den Meßwertpaaren liegen jedoch bereits größere Abweichungen der Steigungen und auch nur mehr Bestimmtheitsmaße unter 0,61 vor. Durch die einheitliche Trocknung aller Proben waren deren Trockenmassenanteile fast gleich (Tabelle 4), weswegen auch die durch die nahezu punktförmigen Anhäufungen der Meßwertpaare gelegten Korrelationsgeraden und deren Bestimmtheitsmaße nicht zur Bewertung des Methodenvergleichs für die Trockenmasse herangezogen wurden.

An dieser Stelle seien Arbeiten verschiedener Autoren zur Erfassung futterrelevanter Qualitätsparameter mit NIRS hervorgehoben. Diese Autoren führen als Qualitätskriterium für die Vergleichbarkeit von NIRS mit naßchemischen Methoden vorwiegend die Bestimmtheitsmaße der Validierungsgeraden und die Vorhersagefehler (SEP) an. So fand schon PAUL (1989) in einer Untersuchung zur Futterqualität in vier unterschiedlichen botanischen Familien bei insgesamt 750 Proben eine gute Übereinstimmung zwischen NIRS und Naßchemie, nämlich bei Rohfaser ($R^2 = 0,91$; SEP = 1,86) und bei Rohprotein ($R^2 = 0,95$; SEP = 1,17). Nicht nur bei Inhaltsstoffen sondern auch bei NEL fand er hierbei eine zufriedenstellende Beziehung ($R^2 = 0,78$; SEP = 0,57).

Andere Autoren (HALGERSON et al., 1995) konnten gute Vorhersagen mit NIRS für das mit Protease abbaubare Rohprotein (in situ) bei ausdauernden Gräsern und Alfaal-fa treffen ($R^2 = 0,86$), nicht jedoch beim Rohprotein, sofern die Substanzen nicht als Trockenmasse vorlagen.

RABOVSKY und RÜCKER (1996) verglichen mit dem NIR-System 5000 der Fa. Perstorp mit der ISI-Software die En-

zymlöslichkeit und erreichten bei 24 Futtermitteln aus der extensiven Grünlandwirtschaft in der Validationsstatistik für den Verdaulichkeitskoeffizienten der organischen Substanz *in vitro* (VQOS) ein $R^2 = 0,76$ und $SEP = 3,69$, für die enzymlösliche organische Substanz (ELOM) ein $R^2 = 0,90$ und $SEP = 2,23$, weiters bei der auf Trockenmasse bezogenen enzymlöslichen Substanz (ELTS) ein $R^2 = 0,90$ und $SEP = 2,30$. Die Beziehungen zwischen den komplexen NEL_{NIRS} und $NEL_{IN VIVO}$ konnten mit einem $R^2 = 0,55$ und $SEP = 7,9\%$ nicht voll befriedigen.

Ein Autorenkollegium setzte die NIRS erfolgreich bei zwei Futtermittel für Rinder ein. Die Futtermittel enthielten 179 bzw. 163 verschiedene Gras- und Getreidearten, Hülsenfrüchte, Melasse und viele andere anorganische und organische Zusätze. Die NIRS-Kalibrierungen mit einem IA-500 waren für die Vorhersage von Trockenmasse mit einem Korrelationskoeffizienten von $R \geq 0,95$, weiters von Rohprotein $R \geq 0,96$, von Rohfaser $R \geq 0,92$ und von Rohfett mit $R = 0,95$ bei beiden Versuchsreihen genau genug. Beim Futtermittel mit 179 Komponenten konnten außerdem für NDF ein $R = 0,88$, für die komplexen Parameter *in vivo* Verdaulichkeit $R = 0,92$, für ME_{vivo} bzw. NEL_{vivo} $R = 0,92$ und für ME_{enz.} bzw. NEL_{enz.} $R \geq 0,91$ erreicht werden. Beim Milchviehfuttermittel mit 163 Substanzen lagen die enzymatische Verdaulichkeit mit $R = 0,94$ und schließlich die Energiewerte ME_{enz.} bzw. NEL_{enz.} mit $R \geq 0,89$ ebenfalls genau genug (DE BOEVER et al., 1995).

Als weiteres Verfahren für den Methodenvergleich wurde in der vorliegenden Arbeit der Zeichen-Rangsummentest für gleichartige Paare nach WILCOXON verwendet.

Anhand des Beispiels der Bestimmungen des Rohproteins mit NIRS und mit der Verbrennungsmethode nach DUMAS (Macro-N) ist dieser Test dargestellt. Tabelle 3 zeigt die Ableitung der Grundgesamtheit sämtlicher Werte unter Anwendung dieses Rangsummentests. Diese Tabelle und auch die zu diesem Beispiel gehörige Regressionsgerade (Abbildung 3) gelten stellvertretend für alle 16 Methodenvergleiche der vier Versuchsreihen.

Auf der linken Seite der Tabelle 3 ist das Endergebnis einer Meßreihe dargestellt. Die mit „E“ bezeichneten Werte dienen der Kalibrierung. Der mittlere Teil zeigt die für den Methodenvergleich nach beiden Verfahren ermittelten Werte ohne die zur Kalibrierung herangezogenen Proben. Die Spalten 3 und 4 dieses Tabellenteils zeigen die Differenzwerte zwischen beiden Methoden und deren Rangfolge unabhängig vom Vorzeichen. Die einzelnen Differenzen wurden nach absoluten Beträgen aufsteigend geordnet.

Im rechten Teil der Tabelle 3 wurden Rangzahlen zugewiesen, wobei die absolut kleinste Differenz mit 1,5, die

größte mit 24 bewertet wurde. Da mehrere gleiche Zahlen auftraten, kamen mittlere Ränge in Verwendung. Der kleinere SR-Wert gilt als Testgröße und übertrifft die kritische Prüfgröße $t_{0,05} = 81$, das bedeutet mit $146,0 > 81$ die Annahme der Nullhypothese bzw. die Gleichwertigkeit der NIR-Analytik und der naßchemischen Analysenergebnisse für das Beispiel Rohprotein im Versuch 433. Die Annahme, daß es sich bei den Vergleichsdaten um Grundgesamtheiten handelt, traf nach dem WILCOXON-Test bei allen 16 Methodenvergleichen mit Ausnahme von zwei Rohfetttests und einem Rohproteintest bei einer Sicherheitsgrenze von 0,05 % zu (Tabelle 4). Hierzu konnten keine vergleichbaren Veröffentlichungen gefunden werden.

4.2 Vergleich der NIR-Variationskoeffizienten

Beim Vergleich der Variationskoeffizienten, zeigen die Ergebnisse der Rauhfutteranalyse mit NIRS, daß bei den 16 Gruppen mit den Bestimmungsstücken Trockenmasse, Rohprotein, Rohfaser und Rohfett nur bei zwei Rohfettvergleichen (Bedingungen $GFN \leq VR$ und $VRN \leq VR$) die Bedingung $GFN \leq VR$ unwesentlich überschritten haben. Die Überschreitung dieser theoretischen Größtfehlersummen GFN um 0,1 bis 0,9 % absolut über die 7,9 prozentige VR-Grenze beim Rohfett hinaus fallen bei diesen Betrachtungen nicht negativ ins Gewicht, weil auf der gegenüberliegenden Seite der Bezugsgeraden die Werte VRN für die zweite Bedingung $VRN \leq VR$ um 0,1 bis 3,2 % unter VR liegen (Graphische Erklärungen sind der Abbildung 2 zu entnehmen). Die bis hier beschriebenen Tests ermöglichen den Schluß, daß bei den vorliegenden Versuchsreihen für die Trockenmasse, das Rohprotein und die Rohfaser eine sehr gute Vergleichbarkeit zwischen Naßchemie und NIRS gegeben ist und nur beim Rohfett an der Grenze angelangt ist.

Beim vierten Test (Tabelle 4, Spalte P) – in Anlehnung an den vorhergehenden – lagen in sämtlichen Fällen jeweils mehr als 68 % der Meßwertpaare innerhalb der einfachen Variationskoeffizienten der Ringuntersuchungen. Diese prozentuellen Anteile P der Meßwertpaare liegen also numerisch über dem notwendigen Maß im Bereich der ALVA-Variationskoeffizienten (68-Prozentgrenze) und bestätigen damit bei allen 16 Analysenvergleichen die Gleichwertigkeit der NIRS-Methoden gegenüber den naßchemischen. Die höchsten Anteile waren bei allen TM-Bestimmungen mit über 90 % zu verzeichnen.

Beim Rohprotein und bei der Rohfaser wurden bei den Versuchen mit größeren Stichproben (50 Proben) halb so große

Tabelle 3: Datenaufbereitung und Ergebnisdarstellung des Wilcoxon-Tests für den Vergleich der Verbrennungsmethode nach Dumas und der NIRS (Rohproteinbestimmung – Versuch 433)

Table 3: Comparison of Dumas combustion method and NIRS (trial number 433, protein measurement)

Probe (Nr.)	RP		Differenz	Probe (Nr.)	N	L	Differenz	Absolut-differenz	Rangzahlen der Differenz (m = 24)		
	NIRS g/kg	Dumas g/kg			RP-NIRS g/kg (ohne Eichwerte E)	RP-Dum g/kg			Reihung	R < 0	R > 0
104	85,1	91,5	-6,4	E	118	110,2	110,4	-0,2	0,2	1,5	
105	81,8	81,2	0,6		124	112,4	112,6	-0,2	0,2	1,5	
106	82,8	83,3	-0,5	E	105	81,8	81,2	0,6	0,6		3
107	85,9	89,1	-3,2		112	106,3	107,1	-0,8	0,8	4	
108	81,7	78,2	3,5	E	109	79,7	80,6	-0,9	0,9	5	
109	79,7	80,6	-0,9		115	97,9	96,5	1,4	1,4		6
110	97,8	94,8	3		114	92,9	91	1,9	1,9		7
111	86,1	88,5	-2,4		120	111,2	109,3	1,9	1,9		8
112	106,3	107,1	-0,8		123	117,9	115,9	2	2		9
113	80,9	78,5	2,4	E	121	117,3	115,1	2,2	2,2		10
114	92,9	91	1,9		137	142,9	145,2	-2,3	2,3	11	
115	97,9	96,5	1,4		111	86,1	88,5	-2,4	2,4	12	
116	101,9	104,6	-2,7		122	119	116,4	2,6	2,6		13,5
117	82,1	86,2	-4,1		134	131,1	128,5	2,6	2,6		13,5
118	110,2	110,4	-0,2		116	101,9	104,6	-2,7	2,7	15	
119	104	103,4	0,6	E	138	148,3	145,4	2,9	2,9		16
120	111,2	109,3	1,9		110	97,8	94,8	3	3		17
121	117,3	115,1	2,2		107	85,9	89,1	-3,2	3,2	18	
122	119	116,4	2,6		131	114,3	117,8	-3,5	3,5	19	
123	117,9	115,9	2		132	110,8	106,9	3,9	3,9		20
124	112,4	112,6	-0,2		126	107,4	111,4	-4	4	21	
125	110	110,7	-0,7	E	117	82,1	86,2	-4,1	4,1	22	
126	107,4	111,4	-4		130	119,3	114,8	4,5	4,5		23
127	110	111	-1	E	128	111,5	116,5	-5	5	24	
128	111,5	116,5	-5								
129	107,6	106,6	1	E							
130	119,3	114,8	4,5								
131	114,3	117,8	-3,5								
132	110,8	106,9	3,9								
133	106,2	105,3	0,9	E							
134	131,1	128,5	2,6								
135	136,7	136,8	-0,1	E							
136	142,2	142,4	-0,2	E							
137	142,9	145,2	-2,3								
138	148,3	145,4	2,9								
139	149,8	149,3	0,5	E							
					MW	MW	MW	MW	SR-Summe	SR+ Summe	
					107,8	107,7	0	2,5	154	146	
WILCOXON-TEST für Paardifferenzen (5% zweiseitig): $146,0 > 81,0$ (m=24; $t_{0,05}=81,0$) H₀= Grundgesamtheit											

Streuungen der NIRS-Werte erzielt im Vergleich zu den Versuchen mit je 36 Proben. Es ist bekannt, daß mit größeren Stichproben präzisere Ergebnisse erzielt werden können.

5. Schlußfolgerungen

– Die bisherigen Ergebnisse der Methodvalidierung für Trockenmasse, Rohprotein, Rohfaser und Rohfett in

Dauergrünland weisen darauf hin, daß mit NIRS die Genauigkeitsanforderungen dann erreicht werden können, wenn die Proben jeweils eines Versuches unter konstanten Bedingungen getrocknet und vermahlen werden und wenn die spektroskopischen Vermessungen der abgeschlossenen Serien mit einzelnen Tageskalibrierungen erfolgen.

– Grünlandproben, die für die NIRS-Tageskalibrierung vorgesehen sind, müssen aus ein- und demselben standortbe-

Tabelle 4: Zusammenfassung der Ergebnisse des Wilcoxon-Tests und der Parameter für den Vergleich der Variationskoeffizienten der NIRS-Werte mit entsprechenden Werten aus ALVA-Ringuntersuchungen

Table 4: Summary of the results of the Wilcoxon test and the parameters for the actual comparison following ALVA criteria of the interlaboratory tests

Ver-such	Inhalts-stoff	n	ML g/kg	MN g/kg	Wilcoxon-Test			Vergleich der Variationskoeffizienten				
					m	SR	t _{0,05}	VRN (%)	dMN (%)	GFN (%)	VR (%)	P (%)
433	Trocken-masse	36	939,5	939,3	21	75,5	58	± 0,2	-0,1	0,3	± 0,5	>90
434A		36	936,1	935,8	20	73	52	± 0,2	0	0,2	± 0,5	>90
494		50	936,4	936,5	32	280,5	159	± 0,3	0	0,3	± 0,5	>90
495		50	935,1	934,7	34	209	182	± 0,9	0	0,9	± 0,5	>90
433	Roh-protein	36	107,7	107,8	24	146	81	± 2,6	0,1	2,7	± 3,5	79
434A		36	143,1	141,8	24	100	81	± 2,9	-0,6	3,5	± 3,5	68
494		50	125,4	126,2	34	200,5	182	± 1,3	0,6	1,9	± 3,5	82
495		50	125,3	124	34	159	182	± 1,5	-1	2,5	± 3,5	76
433	Roh-faser	36	264,4	264,4	24	147,5	81	± 2,4	0	2,4	± 3,4	79
434A		36	212	213,6	24	100	81	± 2,5	0,8	3,3	± 3,4	79
494		50	238,9	237,4	31	161	147	± 1,1	-0,6	1,7	± 3,4	88
495		50	275,4	274,9	34	268	182	± 1,1	-0,2	1,3	± 3,4	97
433	Roh-fett	36	21,7	21,9	22	102,5	65	± 7,8	1	8,8	± 7,9	75
434A		36	24,3	24,1	23	115	73	± 6,8	-0,8	7,6	± 7,9	71
494		50	24,4	25	34	157	182	± 4,2	2,4	6,6	± 7,9	74
495		50	21,6	20,9	34	116	182	± 4,7	-3,3	8	± 7,9	76

zogenen Versuch stammen, dürfen sich jedoch für die Probenvalidierung mit NIRS in ihrer Zusammensetzung, bedingt durch die Jahreszeit, Schnitthäufigkeit und Düngungsstufen, sehr wesentlich voneinander unterscheiden.

– Beinhaltet die Größe der gesamten Stichprobe eines Versuches wenigstens 36 Proben, so können die NIR-Analyseergebnisse innerhalb der Vergleichbarkeit der Heu-Ringversuche der ALVA-Fachgruppe Pflanzenanalyse erwartet werden. Die von naßchemischen Konventionen vorgegebenen Toleranzgrenzen lt. Methodenbuch für Futtermittel werden dann im allgemeinen nicht überschritten.

6. Literatur

- ANTONIEWICZ, A. M., J. KOWALCZYK, J. KANSKI, Z. GORSKA-MATIUSAK und M. NALEPKA (1994): Rumen degradability of crude protein of dried grass and lucerne forage measured by in sacco incubation and predicted by near infrared spectroscopy. *Animal Feed Science and Technology*, 54, 203–216.
- BARTON II, F. E. (1990): The problem of reference data and the certification of near infrared reflectance spectroscopy. In: R. BISTON, N. BARTIAUX-THILL (Ed.): Proc. of the 3rd international conference on near infrared spectroscopy, June 25–29 Brussels; Vol. 2. Agric. res. center, Gembloux, 675–678.
- BISTON, R. und B. DARDENNE (1992): Einsatz der Nahinfrarotspektroskopie zur Messung der Energiekonzentration von Silomais. Tagungsbericht zum Symposium „Futterbewertung von Silomais“, 26.–27. 11. 1992 in Mons, 2 S.
- BOEVER DE, J. L., B. G. COTTYN, D. L. DE BRABANDER, J. M. VANACKER und C. V. BOUQUE (1995): The use of NIRS to predict the chemical composition and the energy value of compound feeds for cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.*, (51), 243–253.
- BOEVER DE, J. L., B. G. COTTYN, D. L. DE BRABANDER, J. M. VANACKER und C. V. BOUQUE (1997): Prediction of the feeding value of maize silages by chemical parameters, in vitro digestibility and NIRS. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 66, 211–222.
- DEGENHARDT, H. (1996): NIRS-Untersuchungen zur Erfassung futterwertrelevanter Qualitätsparameter von Silomaisorten in einem Gerätenetzwerk. *Wissenschaftl. Mitteilg. d. Bundesforschungsanstalt Braunschweig-Völkenrode, Sonderheft* 163.
- EIBELHUBER, A. (1987): Multivariate Verfahren in der analytischen Chemie: Ein Anwendungsbeispiel aus der NIR-Spektroskopie. In: Arbeitsgemeinschaft Landwirtschaft-

- licher Versuchsanstalten in Österreich, Fachgruppe Pflanzenanalyse (Hrsg.): Protokoll der Enquete 1987, Schladming, 35–44.
- ESSL, A. (1987): Statistische Methoden in der Tierproduktion. Verlagsunion Agrar Wien, München, Frankfurt/Main, Münster-Hilp, Bern.
- FADINI, A. und F. M. SCHNEPEL (1985): Schwingungsspektroskopie, Methoden und Anwendungen. Georg Thieme Verlag, New York, Stuttgart.
- HAGENSTEIN, K., G. CLEVE, G. A. HOYER und A. SEEGER (1982): Funktionelle Gruppen. Verlag Moritz Diesterweg. Otto Salle Verlag. Verlag Sauerländer.
- HALGERSON, J. L., C. C. SHEAFFER, O. B. HESTERMANN, T. S. GRIFFIN, M. D. STERN and G. W. RANDALL (1995): Prediction of Ruminant Protein Degradability of Forages using Near Infrared Reflectance Spectroscopy. *Agronomy Journal*, (87), 1227–1231.
- HEIN, W., L. GRUBER, G. PUCHWEIN, G. URAY und J. HINTERHOLZER (1998): Ertrag und Futterwert verschiedener Silomaisorten in Österreich. Bericht über die 25. Viehwirtschaftliche Fachtagung, 73–80.
- HESSE, M., H. MEIER und B. ZEEH (1996): Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York.
- MAINKA, C. (1990): Futterbewertung von Silomais mit der Nah-Infrarot-Reflexions-Spektroskopie (NIRS). Wissenschaftliche Mitteilung der Bundesforschungsanstalt Braunschweig-Völkenrode, Sonderheft 119, 1–96.
- MARTENS, H. und T. NAES (1987): Multivariate Calibration by Data Compression. In: P. WILLIAMS und K. NORRIS (Ed.): *Near-Infrared Technology in the Agricultural Food Industry*, 57–87.
- PAUL, C. (1989): Forage Quality Analysis by NIRS. Sonderheft 107 der Wissenschaftlichen Mitteilungen der FAL, 61–70.
- PAUL, C. (1994): Die NIRS-Methode als Hilfsmittel in Feldversuchen. In: WAGNER und PREDIGER (Hrsg.): *Feldversuchstechnik, Grundlagen, Gruppe A7*, 5. Untersuchung Inhaltsstoffe, 1–9.
- PAUL, C., C. MAINKA und J. MÜLLER (1992): Möglichkeiten der NIRS-Technik bei Silomais. *Mais* 20 (4), 20–22.
- PAUL, C. und C. MAINKA (1990): NIRS – eine Methode zur Bestimmung von Qualitätskriterien bei Mais. *Maiskolloquium Einbeck*, 28–38.
- PUCHWEIN, G. and A. EIBELHUBER (1986): Use of Indirect Multivariate Calibration for Quality Control of Agricultural Products by Near Infrared Spectroscopy. *Mikrochimica Acta*, (2), 43–51.
- PUCHWEIN, G. (1988): Selection of Calibration Samples for Near-Infrared Spectrometry by Factor Analysis of Spectra. *Analytical Chemistry*, (60), 569–573.
- RABOVSKY, K.-D. und G. RÜCKER (1996): Schätzung der organischen Substanz in vivo und der enzymlöslichen organischen Substanz mit der Nah-Infrarot-Reflexions-Spektroskopie (NIRS) in Futtergräsern. *VDLUFA-Schriftenreihe* 44/1996, 227–228.
- RHIS, T. (1990): Comparison of ringtest performance on hay analysis using near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) and chemical methods. In: R. BISTON and N. BARTIAUX-THILL (Ed.): *Proc. of the 3rd international conference on near infrared spectroscopy*, June 25–29 Brussels; Vol. 2. Agric. res. center, Gembloux, 570–572.
- SACHS, L. (1984): *Angewandte Statistik, Anwendungen statistischer Methoden*. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo.
- URAY, G. (1997): Studie zum Methodenvergleich zwischen naßchemischen Analysen und Infrarotspektroanalysen von Trockenmasse, Rohprotein, Rohfaser und Rohfett in Dauergrünland. Bundesanstalt für alpenländische Landwirtschaft, Irdning.
- URAY, G. (1990–1997): Pflanzenenquete, ALVA, Statistische Auswertung und Darstellung der Pflanzenenquetenuntersuchungen, Bundesanstalt für alpenländische Landwirtschaft, Irdning, jährlich.
- WEBER, E. (1986): *Grundriß der Biologischen Statistik*. Gustav Fischer Verlag, Jena.
- WILCOXON, F. (1945): Individual comparisons by ranking methods. *Biometrics*, (1), 80–83.
- WILLIAMS, P. and K. NORRIS (1987): *Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*. American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota, USA.

Anschrift der Verfasser

Dr. Gunter Uray, Bundesanstalt für alpenländische Landwirtschaft Gumpenstein, Abteilung Spurenelementanalytik, A-8952 Irdning. E-mail: bal.gump@computerhaus.net.

Ing. Josef Kaufmann, Barbara Steiner, Bundesanstalt für alpenländische Landwirtschaft Gumpenstein, Abteilung Nährstoff- und Stoffwechsellanalytik, A-8952 Irdning.

Eingelangt am 14. August 1998

Angenommen am 2. Februar 1999