

## **Lygčių kūrimas kviečių grūdų kokybę vertinant spektrometru NIRS-6500.**

### **II. Lygčių skaičiavimo modelių palyginimas**

Bronislava BUTKUTĖ, Jurgita CESEVIČIENĖ

Lietuvos žemdirbystės institutas

Žalioji a. 2, Trakų Vokė, Vilnius

El. paštas: brone@lzi.lt, jurgita@lzi.lt

#### **Santrauka**

Kalibracinės lygtys grūdų drėgniui, baltymų bei krakmolo kiekiui įvertinti sukurtos remiantis 1995–2008 m. sukaupta žieminių ir vasarinių paprastųjų kviečių (*Triticum aestivum* L.) grūdų mėginių optinių bei cheminių duomenų baze, kurią sudaro mėginių spektrai, užregistruoti 400–2500 nm intervale, ir juos atitinkantys cheminės sudėties rodikliai, nustatyti pamatiniais metodais. Tirta kalibruojamų optinių duomenų matematinio transformavimo, išsklaidymo koregavimo, bangų intervalo, tikslumo įvertinimo metodų įtaka šių lygčių tikslumui. Priklausomai nuo kalibravimo sąlygų sukurtos nevienodo tikslumo lygtys: drėgniui su kalibravimo determinacijos koeficientais (RSQ) – 0,817–0,941 ir standartinėmis paklaidomis (SEC) – 0,366–0,646, baltymų RSQ – 0,716–0,947, SEC – 0,442–1,009 ir krakmolo RSQ – 0,838–0,869, SEC – 1,152–1,302 kiekiui.

Nustatyta, kad kalibravimo parametrų derinimas yra veiksminga analizavimo spektrometru NIRS-6500 tikslumo gerinimo priemonė. Analizuojant kontrolinius mėginius, kiekvienam kviečių grūdų kokybės rodikliui atrinktos geriausios statistinius rodiklius turinčios lygtys. Tiksliausiai kviečių grūdų drėgnį nustatančios lygtys gautos kalibruojant AIR bangų segmentą (1100–2500 nm) ir taikant pirmąją išvestinę. Baltymų kiekio nustatymo lygties optimalus skaičiavimo modelis buvo kalibruojamo 400–2460, 600–2460 arba 700–2460 nm bangų intervalo spektriniams duomenims pritaikius antrąją išvestinę. Krakmolo kiekį kviečių grūduose tiksliausiai nustatančios lygtys gautos AIR bangų segmentui (1100–2500 nm) pritaikius antrąją išvestinę arba kalibruojant 500–2500 nm bangų segmentą, transformuotą pagal pirmąją išvestinę. Lygčių tikslumo rodikliams teigiamą įtaką darė optinių duomenų išsklaidymo koregavimo metodo NSVD (angl. – *Standard Normal Variate and Detrend*) taikymas. Kviečių grūdų drėgnis, jų baltymų bei krakmolo kiekis gali būti tiksliai įvertinti artimosios srities infraraudonųjų spindulių spektrometru NIRS-6500 ir sukurtos praktiškai pritaikomos lygtys.

Reikšminiai žodžiai: AIR spektroskopija, lygčių kūrimas, kviečių grūdai, drėgnis, baltymai, krakmolai.

#### **Įvadas**

Dar 1800 m. W. Herschelis šviesos spektre atrado artimosios srities infraraudonųjų spindulių (AIR) sritį, tačiau kiti spektroskopijos tyrėjai net iki praėjusio amžiaus vidurio ją ignoravo manydami, kad AIR srities spektrai neturi jokios analizei svarbios informacijos /Blanco, Villarroya, 2002; Bock, Connolly, 2008/. Sėkmingas praktinis metodo taikymas susijęs su K. Norris vadovaujamos grupės veikla, kuri XX a. septintojo

dešimtmečio pradžioje AIR spektroskopiją kaip analitinę priemonę pritaikė žemė ūkio objektų cheminei sudėčiai tirti, visų pirma vandens kiekiui sėklose nustatyti /Pasquini, 2003/. Nuo to laiko, tobulėjant AIR spektroskopijos prietaisams ir chemometrijos metodus, taikymo galimybės ir sritys išsiplėtė nuo pašarų bei maisto žaliavų iki dirvožemio, naftos, farmacijos ir kitų objektų cheminės sudėties tyrinėjimo, nuo makro- iki mikro- junginių kiekybinio identifikavimo /Workman, Shenk, 2004; Bock, Connelly, 2008/. Metodas plačiausiai taikomas siekiant greitai nustatyti drėgnio, riebalų ir baltymų kiekį grūduose bei rapsų sėklose, taip pat pagrindinių pašarų kokybės komponentų (baltymų, ląstelių ir angliavandenių) koncentraciją /Williams, 1975; Dryden, 2003; Butkute, 2004; Liu, Han, 2006/.

Artimosios srities infraraudonųjų spindulių spektroskopijos metodo taikymas analizuojant baltymų kiekį javų grūdų malinyje pirmą kartą aprašytas 1974–1975 m. /Hymovitz et al., 1974; Williams, 1975/. Iš pradžių buvo analizuoti grūdų maliniai, vėliau pradėti tirti nemalti grūdai. Metodas taikomas mokslinių tyrimų metu, tiriant gausios kviečių selekcinės medžiagos grūdų kokybę /Delwiche, Hurschka, 1998; Hruškova, Šmejda, 2003; Jirsa, Hruškova, 2005; Jirsa et al., 2008/. Kiti tyrėjai teigia, kad metodas taikytinas kviečių linijoms atrinkti ankstyvaisiais selekcijos etapais pagal šiuos požymius: baltymų kiekis, dalelių dydžio indeksas ir miltų išbrinkimo tūris /Crosbie et al., 2007/. F. E. Dowellas ir grupė mokslininkų (2006) atliko preliminarius 186 grūdų kokybės, malimo, miltų, tešlos, duonos kepamųjų savybių rodiklių tyrimus siekdami nustatyti, kokių mastu ir kokiose ribose taikytina AIR spektroskopija. Buvo konstatuota, kad galima gana tiksliai ( $R^2 > 0,97$ ) nustatyti grūdų cheminės sudėties komponentus bei savybes – baltymingumą, drėgnį, miltų spalvą  $b^*$  (geltonos / mėlynos spalvos kontrasta)<sup>1</sup>. Tačiau metodas gali būti taikomas tik atrankai, vertinant SDS sedimentaciją, hektolitro masę, vieno grūdo skersmenį ir kitus rodiklius. Įvairūs AIR spektrometrai yra įmontuojami į derliaus nuėmimo techniką ir iš karto fiksuoja jo kokybės pagrindinio rodiklio – baltymų koncentracijos – vertes /Long et al., 2008/. Metodą, paremtą tam tikromis diskretinėmis bangomis, galima taikyti netgi nustatant sandėliuojamų grūdų vidinį užkrėstumą kenkėjais /Cheewapramong, 2007/. Pritaikius specialius algoritmus bei panaudojus chemometrines technikas, AIR spektroskopija gali būti taikoma kvietiniams miltams klasifikuoti į tam tikras kokybės kategorijas /Cocchi et al., 2005/ arba kietųjų kviečių miltų falsifikavimo kontrolei /Cocchi et al., 2006/. AIR technologija plačiai taikoma maistinių kviečių grūdų analizei supirkimo įmonėse, mokslo įstaigose; dažniausiai gana tiksliai nustatomi du rodikliai – drėgnis ir baltymingumas. Tačiau vien tik šie kokybės komponentai nėra informatyvūs grūdus naudojant kitoms, ne maisto reikmėms. Šiuo atveju būtina žinoti ir kitų komponentų, turinčių įtakos grūdų pašarinei, energinei vertei, bioetanolio išeigai ir t. t., koncentracijas. Kalibracinės lygtys kurtos siekiant greitai nustatyti kviečių grūdų cheminę (sausųjų medžiagų, baltymų, pelenų, krakmolo bei riebalų) sudėtį ir energines (apykaitos energiją nevienodo amžiaus viščiukams broileriams ir virškinamąją energiją bei azotinių medžiagų virškinamumą kiaulėms) bei agronomines (grūdų kietumą, natūrinį svorį, 1 000-čio grūdų masę) savybes /Garnsworthy et al., 2000/. AIR spektroskopijos taikymas buvo pakankamai sėkmingas tiriant šias chemines savybes – kalibracijos determinacijos koeficientai buvo aukšti, t. y.

<sup>1</sup> <http://www.uswheat.org/buyersGuide/glossary>

nuo 0,78 krakmolui iki 0,98 riebalams. Tikslus energinių rodiklių vertinimas AIR spektroskopijos metodu ne visada pasirodė galimas: determinacijos koeficientas  $R^2$  grūdų virškinamajai energijai kiaulėms buvo tik 0,17, o  $R^2$  apykaitos energijai mažiems viščiukams siekė 0,74. Šiuo metodu agronominiai rodikliai gali būti įvertinti gana tiksliai:  $R^2 = 0,98$  – kietumui, 0,96 – natūriniam svoriui, 0,99 – 1000-čio grūdų masei. Yra sukurtos lygtys miežių grūdų pašarinei vertei nustatyti. Lygties baltymų kiekiui įvertinti predikcijos determinacijos koeficientas yra 0,982, o lygčių virškinamumo ir energijos vertėms – tik 0,653–0,824 /Oatway et al., 2000/.

AIR spindulių spektrometru gaunami absorbcijos spektrai yra spinduliuotės atspindžiai, redukuoti į atitinkamos bangos log (1/R). Spektriniai duomenys registruojami 2 nm intervalu, todėl spektras turi daug stipriai koreliuojančių rodiklių. Visa tai labai komplikuoja analizavimo galimybes, ir gali atsitikti taip, kad mėginiai, kurių rodiklių reikšmės yra vienodos, skirsis savo spektrais. Todėl spektrų ir jų skirtumų analizė yra sudėtinga, o mėginių cheminės sudėties kiekybinis įvertinimas, remiantis tik absorbcijų tam tikruose spektro taškuose vertėmis, praktiškai neįmanomas. Praktiniam AIR spektroskopijos pritaikymui greitai bei tiksliai iširti įvairių objektų kokybę būtina sukurti lygtis, susiejančias optinių ir cheminės sudėties duomenų vertes. Wehlingo aprašyta lygtis, siejanti optinius (absorbcijos) bei cheminės sudėties duomenis, gali būti naudojama bioorganinio objekto komponentų kiekybinei analizei: komponento koncentracija =  $z + a \log (1/R_1) + b \log (1/R_2) + c \log (1/R_3) + \dots$ , kai  $R_1, R_2, R_3, \dots$  atitinka nuo mėginio atspindėtos tam tikro bangų ilgio šviesos intensyvumo reikšmes, a, b, c, ... – atitinkami koeficientai /Cheewapramong, 2007/. Visi šie koeficientai, kaip ir laisvasis narys z, nustatomi taikant daugianarės regresijos analizę. Kiekvienam tiriamo produkto kokybės rodikliui turi būti sukurta atskira kalibracinė lygtis. Iš to paties spektrų rinkinio galima sukurti ne vieną kalibracinę lygtį. Pirmiausia kalibracijos tikslumas priklauso nuo duomenų bazėje sukauptos informacijos: objekto populiacijos, jai tirti taikomų pamatinių metodų ir analitiko darbo tikslumo, tinkamo kalibravimo parametrų parinkimo /Delwiche, Hurschka, 1998; Butkute, 2004; Butkutė, Mašauskienė, 2004; Delwiche, Reeves III, 2004/. Negalima nustatyti, kuris iš šių rinkinių yra geriausias /Reinhard, 1992; Dardenne et al., 2000; Butkutė, 2005/, todėl, siekiant atrinkti geriausius, lygtims kurti naudojami įvairūs regresijos metodų, spektro matematinio transformavimo tipų ir kitų kalibravimo parametrų deriniai /Park et al., 1997; Dardenne et al., 2000/.

Lygčių baltymų kiekiui kviečių grūduose nustatyti kalibravimo sąlygos tirtos nustatant spektrų duomenų transformavimo ir kalibruojamo spektro siaurinimo įtaką lygčių tikslumui /Dagnelie et al., 1991/. Ištyrus baltymų kiekio kviečių grūduose nustatymo galimybę AIR spektroskopijos metodu, vertinant vieno nuskenuoto grūdo spektrą siūloma taikyti 1100–1400 nm bangų segmentą iš užregistruoto 2 nm dažniais 1100–2498 nm spektro intervalo /Delwiche, 1998/. Kiti tyrėjai nustatė, kad grūdų kietumui įvertinti geriau tiko lygtys, sukurtos kalibravus bangų 750–1700 nm segmentą, palyginti su lygtimis, sukurtomis panaudojus 400–750 nm segmentą /Wang et al., 2001/. Baltymų analizės lygčiai geriausiai tiko bangų transformavimo modelis 2, 4, 4, 1 (žr. skyrių „Sąlygos ir metodai“), optinių duomenų išsklaidymo koregavimas NSV ir D (angl. – *Standard Normal Variate and Detrend*) režimu /Oatway et al., 2000/. Iširtas AIR atspindžio spektroskopijos taikymo tinkamumas krakmolo kiekiui kukurūzų grūduose nustatyti /Wehling et al., 1993/. Taikant įvairius regresijos skaičiavimo būdus, gautos

lygtys su kalibravimo determinacijos koeficientais nuo 0,8 iki 0,9. Geriausi rezultatai gauti daugianarės linijinės regresijos metodu, spektrams taikant antrąją išvestinę.

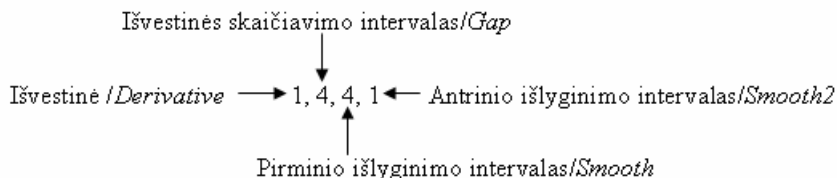
Kalibravimo modelio įtaka lygčių tikslumui, t. y. optinių ir cheminių duomenų atitikties ryšiui, priklauso nuo tiriamo objekto. Kuriant azoto nustatymo lygtis, visi tirti veiksniai (optinių duomenų transformavimas, bangų intervalas ir spektrinių duomenų išsklaidymo koregavimas) didžiausią įtaką ryšio tarp spektrinių duomenų ir azoto kiekio stiprumui turi nehomogeniškiausiuose objektuose: silose, kviečių grūduose ir nedžiovinuose žolėse /Butkutė, 2005/. Kadangi kalibracinės lygtys kviečių kokybei nustatyti buvo kuriamos naudojant nehomogeniškus, t. y. sveikų grūdų, mėginius, įvairių kalibravimo parametrų derinimas gali būti veiksminga kuriamų lygčių tikslumo gerinimo priemonė. Siekiant apskaičiuoti spektrų ir laboratorinių duomenų atitikties ryšį, kiekvienam rodikliui reikia iširti daugybę kalibravimo parametrų derinių ir pasirinkti vieną tinkamiausią. Tuo tikslu sukurtos statistinės ir grafinės programos *ISI/NIRS 2, Version 3.10* ir kitos.

Tyrimų tikslas – sukauptos kviečių grūdų optinių ir laboratorinių duomenų bazės pagrindu sukurti lygtis, skirtas nustatyti drėgnį, baltymų ir krakmolo kiekį artimosios srities IR spindulių spektrometrijos metodu, iširti lygčių skaičiavimo modelių įtaką lygčių tikslumui ir praktiniam taikymui.

### Sąlygos ir metodai

Kalibracinės lygtys drėgniui, baltymų ir krakmolo kiekiui žieminių bei vasarinių paprastųjų kviečių (*Triticum aestivum* L.) grūduose įvertinti sukurtos remiantis 1995–2008 m. sukaupta duomenų baze, kurią sudaro mėginių spektrai, užregistruoti 400–2500 nm intervale ir juos atitinkantys cheminės sudėties rodikliai, nustatyti pamatiniais metodais. Šie metodai ir duomenų bazė išsamiai aprašyti autorių straipsnio I dalyje /Butkutė, Cesevičienė, 2009/. Kalibruoti ir lygtims patikrinti tik su vieno rodiklio vertėmis rinkmenos dalijamos į du rinkinius, atrenkant kas antrą mėginį. Vienas jų naudojamas kalibracijai, kitas – lygčių patikrai (kontrolinių mėginių rinkinys).

*NIRS optinių ir pamatiniais metodais gautų duomenų kalibravimas.* Kalibruojamų spektrų matematiniui transformavimui naudotas ISI programų paketas *NIRS 2, Version 3.10* („Intrasoft International“, JAV). Spektrų duomenų išsklaidymui dėl sveikų sėklų mėginio nevienalytiškumo sumažinti, spektrams išlyginti daugiausia taikytas NSVD metodas. Tirta ir kitų duomenų išsklaidymo koregavimo metodų – NSV (angl. – *Standard Normal Variate*), D (*Detrend*), MSC (*Standard Multiplicative Scatter Correction*), WMSC (*Weighted Multiplicative Scatter Correction*), IMSC (*Inverse Multiplicative Scatter Correction*) ir NONE (netaikant išsklaidymo koregavimo) – įtaka kuriamų lygčių tikslumui. Lygtims skaičiuoti taikyti skirtingi spektrų tolesnio matematinio apdorojimo variantai. Programoje tai pateikiama keturių skaičių deriniu, pvz.:



Pirmasis jų reiškia kalibruojamų spektrų optinių duomenų išvestinę: 0 –  $\log 1/R$ , 1 – pirmoji išvestinė, 2 – antroji išvestinė ir t. t. Antrasis skaičius – tai išvestinės skaičiavimo intervalas. Jis išreikštas spektro taškais: 1 taškas lygus 2 nm, 4 taškai – 8 nm. Trečiasis skaičius reiškia pirminio išlyginimo intervalą, o jo reikšmė negali būti didesnė už išvestinės skaičiavimo intervalą. Ketvirtasis spektro matematinio transformavimo skaičius reiškia antrinio išlyginimo intervalą. Buvo kalibruojami netransformuoti ( $\log 1/R$ ) arba įvairios transformacijos spektrai. Tirta kitų kalibravimo parametrų įtaka sukurtų lygčių kalibravimo, kryžminio vertinimo tikslumo statistiniams rodikliams. Lygtims skaičiuoti taikyta modifikuota dalinių mažiausių kvadratų regresija MPLS (*Modified Partial Least Squares Regression*), tačiau skaičiuojant baltymų nustatymo lygtis buvo palyginti ir kiti regresijos tipai: dalinių mažiausių kvadratų regresija PLS (*Partial Least Squares*) ir pagrindinių komponentų regresija PCR (*Principal Component Regression*). Pagrindiniai statistiniai rodikliai, apibūdinantys įvairių analitinio darbo AIR spektrometrais etapų tikslumą, yra SEC – standartinė kalibravimo paklaida (*Standard Error of Calibration*), SECV – standartinė kryžminio vertinimo paklaida (*Standard Error of Cross-Validation*) kuriant lygtis, SEP – standartinė predikcijos paklaida (*Standard Error of Prediction*), mėginius analizuojant pagal sukurtą lygtį, ir atitinkamų kalibracijos etapų determinacijos koeficientų RSQ, 1-VR ir  $R_p^2$  reikšmės. Kuo paklaidos mažesnės, o determinacijos koeficientai artimesni vienetui, tuo tikslesnis analizavimas galimas gautomis lygtimis.

## Rezultatai ir jų aptarimas

**Kalibracinių lygčių skaičiavimas.** Priklausomai nuo kalibravimo sąlygų ir parametrų, kiekvienam grūdų kokybės rodikliui įvertinti sukurta daug nevienodo tikslumo lygčių (1 lentelė). Kiekvieno rodiklio lygtims sukurti naudoti saviti ir skirtingi geriausi kalibravimo parametrų deriniai. Kadangi kalibravimo ir kryžminio vertinimo statistiniai rodikliai yra pagrindiniai bet kurios išgytos arba sukurtos lygties kokybės vertinimo kriterijai, jos prekinis ženklas, pirmiausia reikia nustatyti, kiek įvairūs kalibravimo modeliai buvo reikšmingi lygčių tikslumui šiais jų kūrimo ir vertinimo etapais.

**1 lentelė.** Kviečių grūdų kokybei vertinti sukurtų lygčių skaičius ir tikslumo ribos

**Table 1.** Number and accuracy range of equations developed for wheat grain quality assessment

Kokybės rodiklis <i>Quality component</i>	Sukurta lygčių <i>Number of equations developed</i>	SEC*		RSQ**	
		nuo <i>from</i>	iki <i>to</i>	nuo <i>from</i>	iki <i>to</i>
Drėgnis / <i>Moisture</i>	36	0,366	0,646	0,817	0,941
Baltymai / <i>Protein</i>	47	0,442	1,009	0,716	0,947
Krakkolas / <i>Starch</i>	42	1,152	1,302	0,838	0,869

Pastaba. \* – standartinė kalibravimo paklaida, \*\* – kalibravimo determinacijos koeficientas.

Note. \* – standard error in calibration, \*\* – coefficient of determination in calibration.

*Lygčių kūrimas baltymų kiekiui nustatyti.* Spektrų duomenų transformavimas, kalibruojant vieno ar kito lygio išvestines, gali sumažinti spektrinę interferenciją dėl dalelių dydžio ar kitų pašalinių trikdžių /Park et al., 1997/. Kalibravimo ir kryžminio

vertinimo lygčių tikslumo statistiniai duomenys, taikant įvairius kalibruojamų spektrų matematinio transformavimo bei lygčių skaičiavimo regresijos metodus, buvo skirtingi (2 lentelė).

**2 lentelė.** Lygčių baltymų kiekiui nustatyti kalibravimo bei kryžminio vertinimo tikslumas priklausomai nuo kalibruojamų optinių duomenų matematinio transformavimo ir lygčių skaičiavimo regresijos metodo

**Table 2.** Accuracy statistics of equation for protein determination in calibration and cross-validation as affected by different mathematical treatment and regression technique

Matematinis apdorojimas, regresija <i>Math treatment, regression</i>	SEC*	RSQ**	SECV#	1-VR##
Išsklaidymo koregavimas netaikytas (NONE), bangų intervalas 400–2492,8 nm <i>Non-scatter correction (NONE), wavelength range 400–2492,8 nm</i>				
0, 0, 1, 1; PCR	1,009	0,716	1,014	0,705
0, 0, 1, 1; PLS	0,578	0,908	0,589	0,883
0, 0, 1, 1; MPLS	0,631	0,891	0,651	0,922
1, 2, 2, 1; MPLS	0,512	0,929	0,537	0,929
1, 4, 4, 1; MPLS	0,483	0,936	0,511	0,932
1, 5, 5, 1; MPLS	0,475	0,939	0,501	0,929
1, 8, 8, 1; MPLS	0,494	0,934	0,512	0,927
1, 10, 10, 1; MPLS	0,503	0,931	0,519	0,932
2, 5, 5, 1; MPLS	0,479	0,938	0,499	0,931
2, 6, 6, 1; MPLS	0,482	0,937	0,502	0,936
Išsklaidymo koregavimas NSVD, bangų intervalas 1100–2492,8 nm <i>Scatter correction NSVD, wavelength range 1100–2492,8 nm</i>				
1, 2, 2, 1; MPLS	0,552	0,920	0,592	0,905
1, 4, 4, 1; MPLS	0,550	0,923	0,578	0,910
1, 5, 2, 1; MPLS	0,551	0,921	0,582	0,909
1, 5, 4, 1; MPLS	0,557	0,920	0,582	0,909
1, 5, 5, 1; MPLS	0,553	0,917	0,579	0,908
2, 4, 2, 1; MPLS	0,570	0,917	0,617	0,896

Pastaba. \* – standartinė kalibravimo paklaida, \*\* – kalibravimo determinacijos koeficientas, # – standartinė kryžminio vertinimo paklaida, ## – kryžminio vertinimo determinacijos koeficientas.

Pastaba. \* – standard error in calibration, \*\* – coefficient of determination in calibration, # – standard error in cross-validation, ## – coefficient of determination in cross-validation.

Standartinės kalibravimo paklaidos kito nuo 0,482 iki 1,009, kryžminio vertinimo – nuo 0,499 iki 1,014, o atitinkami determinacijų koeficientai – nuo 0,716–0,939 iki 0,705–0,936, kalibruojant bangų intervalo 400–2492,8 nm spektrus be išsklaidymo koregavimo (NONE). Kalibruojant NSVD metodu koreguotus bangų intervalo 1100–2492,8 nm optinius duomenis, atitinkamos paklaidos, kaip ir kalibravimo bei kryžminio vertinimo determinacijos koeficientai, kito mažesniame intervale – 0,546–0,557 SEC, 0,578–592 SECV, 0,917–0,923 RSQ ir 0,896–0,910 1-VR – nei kalibruojant visą užregistruotą bangų intervalą 400–2492,8 nm. Remiantis kryžminio vertinimo rodikliais, tikslesnė lygtis gauta skaičiavimui taikant MPLS regresijos metodą, nors kalibravimo

statistiniai rodikliai (SEC ir RSQ) buvo geresni, skaičiuojant pagal PLS regresijos modelį. Nustatyta, kad MPLS metodu atlikta kalibracija taip pat buvo tikslesnė nei dalinių mažiausių kvadratų regresija PLS ar pagrindinių komponentų regresija PCR /Shenk, Westerhaus, 1991/.

Anksčiau publikuotuose darbuose pažymima, kad bangų segmentas 400–1100 nm – tai spekuliatyvios bangos, šioje spektro dalyje yra nedaug informacijos apie identifikuojamų junginių būdingas funkcines grupes, todėl jos retai įjungiamos į kalibruojamų spektrų sudėtį /Park et al., 1997; Smith et al., 1998, 2000; Griggs et al., 1999; Wachendorf et al., 1999/. Taigi lygtims skaičiuoti dažniausiai naudojami tik 1100–2500 nm intervalo spektriniai duomenys, bet ištirtos ir kitokių optinių duomenų intervalų kalibravimo galimybės padidinti lygčių tikslumą /Park et al., 1997; Butkute, 2004/. Kalibruojamų bangų intervalas kuriamų lygčių baltymų kiekio įvertinimo kviečių grūduose tikslumui turėjo ne mažesnę įtaką nei optinių duomenų matematinio transformavimo būdas. Kalibruojant NSVD metodu koreguotus 1, 5, 5, 1 transformavimo optinius duomenis, gautos tendencingai tikslesnės lygtys, kurioms kurti naudotas visas užregistruotas (400–2500 nm) arba tik ribotai susiaurintas (400–2460 nm) spektro intervalas (3 lentelė).

**3 lentelė.** Lygčių baltymų kiekiui nustatyti tikslumas priklausomai nuo skaičiavimui naudoto optinių duomenų bangų intervalo ir taškų skaičiavimo dažnio, išsklaidymą koreguojant NSVD, spektrus matematiškai transformuojant 1, 5, 5, 1

**Table 3.** Accuracy of equations for protein determination as affected by wavelength range, number of spectral points, scatter correction – NSVD, math treatment 1, 5, 5, 1

Bangų intervalas, taškų skaičiavimo dažnis <i>Wavelength range, number of spectral points</i> nm	SEC*	RSQ**	SECV#	1-VR##
400–2500,8	0,458	0,943	0,487	0,938
400–2460,8	0,442	0,947	0,480	0,938
400–2410,8	0,456	0,944	0,485	0,936
400–1900,8, 1108–2500,8	0,458	0,943	0,487	0,932
500–2500,8	0,490	0,935	0,514	0,937
600–2500,8	0,450	0,946	0,482	0,927
700–2500,8	0,486	0,936	0,519	0,909
1100–2500,8	0,553	0,917	0,579	0,908
1100–1900, 1978–2500,8	0,553	0,917	0,582	0,914
1100–2460,8	0,534	0,923	0,564	0,931
400–2500,2	0,483	0,937	0,506	0,931
400–2500,4	0,483	0,937	0,506	0,931
400–2500,6	0,482	0,937	0,510	0,931
400–2500,10	0,483	0,937	0,506	

Pastaba / Note. Paaiškinimai 2 lentelėje / Explanations in Table 2.

Literatūros šaltiniuose dažniausiai siūlomas 400–1100 nm segmento pašalinimas teigiamų rezultatų tobulinant lygtį nedavė nei kalibravimo, nei kryžminio vertinimo metu.

Kalibruojamų spektrinių duomenų išsklaidymo koregavimo metodas yra nelineji funkcija ir deformuoja ryšį tarp AIR spektrų bei referentinių duomenų /Workman, Shenk, 2004/. ISI programų paketas suteikia galimybę pasirinkti 5 skirtingus išsklaidymo koregavimo metodus – NSV, D, NSVD, MSC, WMSC, IMSC arba NONE. Programa NSV koregavimo metodą taiko atskirai kiekvienam individualiam spektrui, nesieja optinių ir referentinių duomenų, D – pašalina linijinius ir kvadratinius kiekvieno spektro išlinkius, dažniausiai susijusius su kiuvečių pripildymo tankiu, panaudojant antrojo laipsnio polinomą ir t. t. /Park et al., 1997/. Lyginta lygčių tikslumo statistinių rodiklių kaita, taikant įvairius spektrinių duomenų išsklaidymo koregavimo metodus 400–2500 nm bangų intervalo kalibruojamiems spektrams, transformuotiems modeliu 1, 5, 5, 1 (4 lentelė).

**4 lentelė.** Lygčių tikslumo statistinių rodiklių kaita, taikant įvairius spektrinių duomenų išsklaidymo koregavimo metodus, bangų intervalui esant 400–2500 nm, spektrus matematiškai transformuojant 1, 5, 5, 1

**Table 4.** Variation of the accuracy statistics of equations for protein determination as affected by scatter correction, wavelength range 400–2500 nm, math treatment 1, 5, 5, 1

Koregavimo metodas <i>Scatter correction</i>	SEC*	RSQ**	SECV#	1-VR###
NONE	0,475	0,939	0,501	0,929
NSVD	0,458	0,943	0,487	0,938
NSV	0,448	0,946	0,479	0,931
Detrend	0,466	0,941	0,504	0,931
MSC	0,450	0,945	0,482	0,937
WMSC	0,453	0,945	0,483	0,937
IMSC	0,452	0,945	0,484	0,938

Pastaba / Note. Paaiškinimai 2 lentelėje / Explanations in Table 2.

Visi lygčių kalibravimo statistiniai rodikliai (SEC, SECV, RSQ, 1-VR) rodo esant tikslesnes lygtis, skaičiuotas taikant spektrų koregavimą. Lygtys, gautos skaičiuojant nekoreguotus optinius duomenis arba tik šalinant linijinius ir kvadratinius spektro išlinkius dėl kiuvetės pripildymo tankio (D), turėjo prasčiausius statistinius rodiklius: SEC – 0,475 ir 0,466, SECV – 0,501 bei 0,504.

*Lygčių kūrimas grūdų drėgnei ir krakmolo kiekiui nustatyti.* 5 lentelėje pateiktos skirtingai modifikuotų spektrų rinkmenos ir drėgnio bei krakmolo verčių kalibravimo tikslumo statistiniai rodikliai. Visų lentelėje pateiktų lygčių grūdų drėgnio vertinimo statistiniai rodikliai yra pakankamai geri: standartinės SEC ir SECV paklaidos nedidelės (mažesnės už 0,6), t. y. mažiau už 5 % vidutinės vertės, o determinacijų koeficientai, nusakantys ryšį tarp optinių ir laboratorinių duomenų (RSQ ir 1-VR), yra aukšti (>0,85). Kviečių grūdų drėgnio nustatymo lygčių tikslumui turėjo įtakos kalibruojamų spektrų matematinis transformavimo būdas, nepriklausomai, koks buvo kalibruojamo spektro



intervalas: kalibruojant jų antrąsias išvestines (2, 4, 4, 1 ir 2, 5, 5, 1), lygčių statistiniai rodikliai yra geresni nei kalibruojant pirmąją išvestinę transformuotus duomenis ar be matematinio transformavimo (0, 4, 4, 1). Išvestinės skaičiavimo bei pirmojo išlyginimo intervalai turėjo įtaką, nors ir mažesnę nei pati išvestinė, lygčių statistiniams rodikliams. Kalibravimo modelis, kai taikytas absorbcijos duomenų matematinis apdorojimas 2, 4, 4, 1, kalibruojamas spektro intervalas 400–2500 nm ir išsklaidymo koregavimas NSVD, buvo tinkamiausias tiksliausiai drėgnio analizavimo lygčiai sukurti.

Kaip sukauptos energijos rodiklis, krakmolos yra svarbus ir pašarams naudojamų, ir pramonei (bioetanolio, biopolimerų gamybai) skirtų grūdų kokybės komponentas. Sukurtų lygčių krakmolo kiekiui įvertinti prietaisu NIRS-6500, taikant įvairius spektrų optinių duomenų matematinius apdorojimo būdus, statistiniai rodikliai pateikti 5 lentelėje. Kalibruojamų spektrų matematinio transformavimo modelis lygčių tikslumo rodiklių kaitai kalibravimo ir kryžminio vertinimo etapuose buvo mažiau reikšmingas nei kuriant lygtis baltymų kiekiui ar drėgniui nustatyti. Visais atvejais determinacijos koeficientų vertės atitiko vidutinio tikslumo lygtis apibūdinančias vertes: kalibravimo – 0,844–0,875, kryžminio vertinimo – 0,832–0,852, o standartinės paklaidos SEC, SECV buvo gerokai mažesnės už leistiną spektrometriniams matavimams vidurkio 5 % paklaidą, t. y. kalibravimo paklaida buvo 1,117–1,278, kryžminio vertinimo – 1,226–1,323.

**5 lentelė.** Drėgnio ir krakmolo kiekio vertinimo lygčių tikslumo statistinių rodiklių kaita, taikant įvairius kalibruojamų spektrų matematinio transformavimo būdus, išsklaidymą koreguojant NSVD

**Table 5.** Variation of the accuracy statistics of equations for moisture and starch determination as affected by math treatment, scatter correction NSVD

Matematinis apdorojimas <i>Mathematical treatment</i>	Drėgnis / <i>Moisture</i>				Kraakmolos / <i>Starch</i>			
	SEC*	RSQ**	SECV#	1-VR##	SEC*	RSQ**	SECV#	1-VR##
Kalibruojamas bangų intervalas / <i>Wavelength range calibrated</i> 400–2500 nm								
0, 4, 4, 1	0,528	0,871	0,554	0,858	1,201	0,862	1,303	0,838
1, 4, 4, 1	0,450	0,907	0,520	0,875	1,222	0,858	1,283	0,843
2, 4, 4, 1	0,370	0,935	0,447	0,904	1,166	0,867	1,226	0,852
Kalibruojamas bangų intervalas / <i>Wavelength range calibrated</i> 700–2500 nm								
2,4,4,1	0,499	0,870	0,534	0,850	1,165	0,870	1,277	0,844
2,6,6,1	0,512	0,870	0,542	0,854	1,196	0,864	1,279	0,844
2,8,8,1	0,490	0,891	0,547	0,864	1,278	0,844	1,323	0,832
Kalibruojamas bangų intervalas / <i>Wavelength range calibrated</i> 1100–2500 nm								
1, 2, 1, 1	0,625	0,825	0,643	0,815	1,117	0,875	1,261	0,846
1, 4, 2, 1	0,639	0,821	0,654	0,813	1,243	0,851	1,315	0,833
1, 4, 4, 1	0,602	0,841	0,640	0,820	1,247	0,850	1,306	0,836
1, 5, 5, 1	0,640	0,820	0,654	0,812	1,254	0,849	1,308	0,835
2, 5, 5, 1	0,552	0,848	0,569	0,839	1,246	0,850	1,298	0,837

Pastaba / *Note.* Paaiškinimai 2 lentelėje / *Explanations in Table 2.*

Kalibruojamų optinių duomenų spektro intervalo siaurinimas buvo svarbus veiksnys lygčių, skirtų grūdų drėgnei nustatyti, tikslumo statistiniams rodikliams (6 lentelė). Šių tyrimų duomenimis, skaičiuojant drėgnio nustatymo lygtis nevertėtų siaurinti kalibruojamo spektro intervalo kalibruojant ir koreguotus NSVD bei 2, 4, 4, 1 modeliu transformuotus spektrus, ir nekoreguotus su spektrų matematiniu transformavimu 1, 5, 5, 1. Spektro taškų skaičius, priklausantis nuo absorbcijos nuskaitymo dažnio, spektro intervale 1100–2500 nm lygčių tikslumui buvo ne itin reikšmingas. Daug tinkamesnė lygtis gauta optinius duomenis nuskaitant kas 8 nm nei mažesniu arba didesniu dažniu. Geriausius statistinius kryžminio vertinimo rodiklius turinti lygtis drėgnei nustatyti buvo sukurta spektro intervalą kalibruojant 400–2492,8 nm, optinius duomenis transformuojant modeliu 2, 4, 4, 1 ir taikant išsklaidymo koregavimą NSVD.

**6 lentelė.** Lygčių drėgnei ir krakmolo kiekiui nustatyti tikslumas priklausomai nuo bangų intervalo bei spektrų taškų skaičiavimo dažnio

**Table 6.** Accuracy of equations for moisture and starch determination as affected by wavelength range, number of spectral points

Bangų intervalas Wavelength range nm	Drėgnis / Moisture				Kraakmolai / Starch			
	SEC*	RSQ**	SECV#	1-VR##	SEC*	RSQ**	SECV#	1-VR##
Išsklaidymo koregavimas NSVD, spektrų matematinis apdorojimas 2, 4, 4, 1 <i>Scatter correction NSVD, mathematical treatment of spectra 2, 4, 4, 1</i>								
400–2492,8	0,370	0,935	0,447	0,904	1,166	0,867	1,226	0,852
600–2492,8	0,476	0,877	0,514	0,857	1,211	0,854	1,253	0,844
700–2492,8	0,499	0,870	0,534	0,850	1,165	0,870	1,277	0,844
800–2492,8	0,508	0,864	0,542	0,844	1,281	0,841	1,304	0,834
1100–2492,8	0,609	0,824	0,646	0,802	1,168	0,870	1,254	0,850
Išsklaidymo koregavimas netaikytas (NONE), spektrų matematinis apdorojimas 1, 5, 5, 1 <i>Non-scatter correction (NONE), mathematical treatment of spectra 1, 5, 5, 1</i>								
400–2496,4	0,409	0,906	0,461	0,881	1,212	0,860	1,288	0,842
500–2492,4	0,484	0,876	0,515	0,859	1,171	0,867	1,236	0,851
1100–2496,4	0,523	0,850	0,552	0,833	1,220	0,857	1,329	0,830
Išsklaidymo koregavimas NSVD, spektrų matematinis apdorojimas 1, 5, 5, 1 <i>Scatter correction NSVD, mathematical treatment of spectra 1, 5, 5, 1</i>								
1100–2490,10	0,630	0,821	0,653	0,808	1,271	0,844	1,324	0,830
1100–2492,8	0,605	0,839	0,640	0,820	1,253	0,849	1,306	0,836
1100–2494,6	0,646	0,817	0,660	0,809	1,255	0,848	1,308	0,836
1100–2496,4	0,639	0,820	0,653	0,813	1,254	0,849	1,309	0,835
1100–2498,2	0,640	0,820	0,654	0,812	1,254	0,849	1,308	0,835

Pastaba / Note. Paaiškinimai 2 lentelėje / Explanations in Table 2.

Kalibruojamo spektro intervalas turėjo tik nežymią įtaką krakmolo kiekio nustatymo lygties tikslumo statistiniams rodikliams (6 lentelė). Kalibruojant nekoreguotų spektrų pirmosios išvestinės duomenis ir juos nuskaitant kas 4 nm, tiksliausia lygtis gauta, kai iš kalibracijos pašalinta 400–500 nm matoma sritis. Šiuo atveju gautos lygties

statistika buvo RSQ – 0,867, 1-VR – 0,851, o standartinės paklaidos SEC – 1,171, SECV – 1,236. Spektro taškų skaičius, kalibruojant 1100–2500 nm spektrus, transformuotus pirmąja išvestine, kuriamų lygčių tikslumui nebuvo reikšmingas.

Kadangi skenuoti sveiki grūdai, spektrams gali turėti įtakos ir optinių duomenų išsklaidymo koregavimas. Geriausius kalibravimo statistinius rodiklius turinčios lygtys drėgniui nustatyti sukurtos kalibruojant 400–2496,4 nm spektro intervalą, optinius duomenis transformuojant modeliu 2, 5, 5, 1, išsklaidymą koreguojant NSVD: SEC – 0,366, RSQ – 0,941 (7 lentelė).

Apibendrinus visus ištirtus lygčių skaičiavimo parametrų derinius, lygčių skaičiavimo modelis – spektro intervalas 400–2500 nm, nuskaitytas kas 4 nm, optiniai duomenys transformuoti matematiniu modeliu 2, 5, 5, 1, išsklaidymas koreguotas NSVD metodu – šiuo lygčių kūrimo, t. y. kalibravimo ir kryžminio vertinimo, etapu buvo tinkamiausias sukurti kviečių grūdų drėgno analizavimo lygtį.

Geriausius kryžminio vertinimo statistinius rodiklius turinčios lygtys grūdų krakmolingumui nustatyti buvo sukurtos kalibruojant 400–2496,4 nm spektro intervalą, optinius duomenis transformuojant modeliu 2, 4, 4, 1 ir taikant išsklaidymo koregavimą MSC, pakankamai tikslios – kai tas pats matematiškai apdorotas tuo pačiu modeliu spektro intervalas buvo kalibruotas, taikant išsklaidymo koregavimą NSVD (7 lentelė).

**7 lentelė.** Lygčių drėgniui ir krakmolo kiekiui nustatyti tikslumas priklausomai nuo spektro duomenų išsklaidymo koregavimo

**Table 7.** Accuracy of equations for moisture and starch determination as affected by scatter correction

Išsklaidymo koregavimo metodas <i>Scatter correction</i>	Drėgnis / <i>Moisture</i>				Krakmolas / <i>Starch</i>			
	SEC*	RSQ**	SECV#	1-VR##	SEC*	RSQ**	SECV#	1-VR##
Spektrų matematinis apdorojimas 2, 5, 5, 1, bangų intervalas 400–2500 nm <i>Mathematical treatment of spectra 2, 5, 5, 1, wavelength range 400–2500 nm</i>								
NONE	0,371	0,931	0,435	0,905	1,196	0,863	1,266	0,846
NSVD	0,366	0,941	0,417	0,909				
MSC	0,410	0,923	0,503	0,884	1,183	0,862	1,246	0,847
WMSC	0,393	0,925	0,469	0,893	1,210	0,857	1,268	0,843
NSVD (2, 4, 4, 1)					1,166	0,867	1,226	0,852
MSC (2, 4, 4, 1)					1,152	0,869	1,213	0,855
Spektrų matematinis apdorojimas 1, 5, 5, 1, bangų intervalas 500–2500 nm <i>Mathematical treatment of spectra 1, 5, 5, 1, wavelength range 500–2500 nm</i>								
NONE	0,484	0,876	0,515	0,859	1,232	0,856	1,308	0,837
NSVD	0,514	0,871	0,548	0,854	1,302	0,838	1,350	0,825
MSC	0,476	0,892	0,535	0,864	1,212	0,860	1,274	0,844

Pastaba / Note. Paaiškinimai 2 lentelėje / Explanations in Table 2.

***Lygčių, sukurtų naudojant skirtingus skaičiavimo modelius, patikra analizuojant kontrolinius mėginius.*** Kaip jau buvo aptarta, kalibravimo ir kryžminio vertinimo lygties statistiniai rodikliai yra pagrindiniai jos kokybės vertinimo kriterijai, pateikiami mokslinėse ataskaitose, publikacijose, AIR spektroskopiją apibūdinant kaip tyrimo metodą sudarant pirkimo ir pardavimo sutartis (kai lygtis yra pardavimo objektas). Tačiau praktikoje ypač svarbu įsitikinti lygčių tinkamumu analizuoti mėginius, kurių spektrai ir kokybė susiję su vietiniais auginimo, klimato sąlygų arba veislių ypatumais. Tai yra galutinis lygčių kūrimo etapas. Tam ir buvo sudaryti kontrolinių mėginių, neįtrauktų į duomenų bazę lygtims kurti, rinkiniai. Kontrolinių mėginių analizavimo pagal sukurtas lygtis rezultatai, pateikiant tik tiksliausiai ir prasčiausiai analizavusių lygčių duomenis, pateikti 8 lentelėje.

Lygtį kviečių grūdų baltymų rodikliui nustatyti tikslingiausia skaičiuoti optimaliems duomenims taikant antrąją išvestinę (8 lentelė, 1 pav.). Tikslioms lygtims skaičiuoti buvo netinkamiausi deriniai, kai netaikytas išsklaidymo koregavimas ir netransformuoti optimaliai duomenys (0, 0, 1, 1), ypač kai lygčiai skaičiuoti naudotas regresijos metodas PCR. Reikšmingas buvo ir išvestinės derinimas su kitais optimalių duomenų transformavimo elementais – intervalu, kuriuo skaičiuota išvestinė, ir išlyginimo intervalu. Tiksliausiai kontrolinius mėginius analizavo lygtys, sukurtos naudojant antrosios išvestinės optimalius spektrus, ribotai susiaurinus kalibruojamo spektro intervalą. Optimalus kalibruojamo 400–2460, 600–2460 arba 700–2460 nm bangų intervalo spektrinių duomenų matematinio transformavimo modelis yra 2, 4, 4, 1, išsklaidymą koreguojant NSVD. Šios lygtys gali būti taikomos praktikoje kviečių grūdų baltymų kiekiui nustatyti.

Glaudesnė koreliacija tarp baltymų kiekio, nustatyto Kjeldalio ir AIR spektroskopijos metodais, gauta naudojant vieną iš sukurtų lygčių (8 lentelė, Nr. 3B), kai iš koreliacinės eilutės buvo pašalinta keletas mėginių (1 pav.). Juose didžiausios analizavimo paklaidos buvo tarp šiais dviem metodais gautų baltymų verčių. Tokie buvo unikalūs Lietuvos žemdirbystės instituto Javų selekcijos skyriaus kviečių mėginiai. Panašių kalibravimo duomenų bazėje yra nedaug, todėl AIR spektroskopijos metodu jie analizuojami su didesnėmis paklaidomis. Gauti duomenys dėl kalibravimo modelio tinkamumo baltymų kiekio analizės lygtims sukurti neprieštarauja aprašytiems literatūroje: konstatuota, kad baltymų kalibracijai labiausiai tiko matematinio transformavimo modelis 2, 4, 4, 1 ir optimalių duomenų išsklaidymo koregavimas NSVD /Oatway et al., 2000/.

Kviečių grūdų drėgniui vertinti sukurtų lygčių analizavimo tikslumas buvo nustatytas kaip kontrolinių mėginių rinkinį naudojusi iki 1999 m. nuskenuotus kviečių grūdus su nustatytomis drėgnio vertėmis. Šių mėginių duomenys nebuvo įtraukti į kalibravimo rinkinį. Iš 8 lentelėje pateiktų duomenų matyti, kad kviečių grūdų drėgnį tiksliausiai nustatančios lygtys gautos, kalibruojant AIR bangų segmentą (1100–2500 nm), jį nuskaičius 2–6 nm intervalu, taikant pirmąją išvestinę ir išsklaidymo koregavimą NSVD (8 lentelė, 1D–4D lygtys). Tačiau kryžminio vertinimo tarpsniu tiksliausia drėgnio nustatymo lygtis sukurta spektro intervalą kalibravus 400–2492,8 nm.

**8 lentelė.** Kontrolinių mėginių baltymų, drėgnio ir krakmolo kiekiui nustatyti analizavimo sukurtais lygtimis tikslumas priklausomai nuo kalibravimo modelio

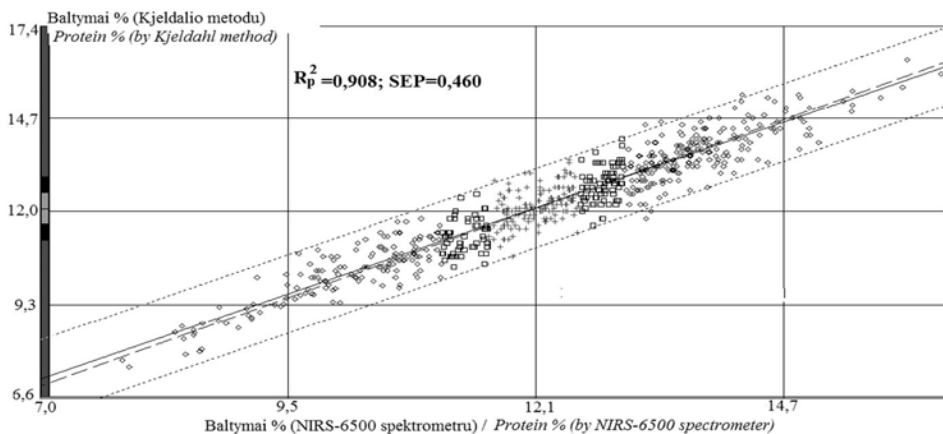
**Table 8.** Accuracy in the prediction of protein, moisture and starch in control sample sets by developed equations as affected by calibration model

Nr. No.	Išsklaidymo koregavimas Scatter correction	Matematinis apdorojimas Mathematical treatment	Bangų intervalas nm Wavelength range nm	Regresijos metodas Method of regression	SEP*	Poslinkis Bias**	R <sup>2</sup> <sub>p</sub> ***
<b>Baltymų kiekiui / For protein content</b>							
1B	NSVD	2, 4, 4, 1	400–2460,8	MPLS	0,48	–0,05	0,90
2B	NSVD	2, 4, 4, 1	600–2460,8	MPLS	0,49	0,02	0,90
3B	NSVD	2, 4, 4, 1	700–2460,8	MPLS	0,49	–0,01	0,90
45B	NSV	1, 5, 5, 1	400–2500,8	MPLS	0,70	–0,02	0,81
46B	NONE	0, 0, 1, 1	400–2500,8	MPLS	0,73	0,02	0,79
47B	NONE	0, 0, 1, 1	400–2500,8	PCR	0,91	0,22	0,68
<b>Grūdų drėgniui / For grain moisture</b>							
1D	NSVD	1, 4, 2, 1	1100–2498,2	MPLS	0,58	0,51	0,90
2D	NSVD	1, 5, 5, 1	1100–2498,2	MPLS	0,58	0,51	0,90
3D	NSVD	1, 5, 5, 1	1100–2496,4	MPLS	0,58	0,51	0,90
4D	NSVD	1, 5, 5, 1	1100–2494,6	MPLS	0,58	0,51	0,90
34D	NONE	2, 5, 5, 1	500–2496,4	MPLS	1,76	–1,63	0,56
35D	NONE	1, 5, 5, 1	400–2496,4	MPLS	0,82	0,49	0,55
36D	NONE	2, 5, 5, 1	400–2496,4	MPLS	1,53	–1,36	0,49
<b>Krakmolo kiekiui / For starch content</b>							
1K	NSVD	2, 4, 4, 1	1100–2492,8	MPLS	1,01	0,47	0,84
2K	NSVD	1, 5, 5, 1	500–2490,10	MPLS	0,92	0,07	0,83
3K	NSVD	2, 4, 4, 1	650–1896,4, 1950–2492,8	MPLS	1,12	0,36	0,81
40K	NSVD	2,5,5,1	1100–2498,2	MPLS	2,82	–0,76	0,32
41K	NONE	1, 5, 5, 1	1100–2496,4	MPLS	3,14	–0,19	0,21
42K	NSVD	1, 2, 1, 1	1100–2498,2	MPLS	2,79	0,22	0,20

Pastaba. \* – standartinė analizavimo paklaida, \*\* – vidutinis pamatiniais metodais ir AIR spektrometru nustatytų verčių skirtumas, \*\*\* – analizavimo determinacijos koeficiento kvadratas.

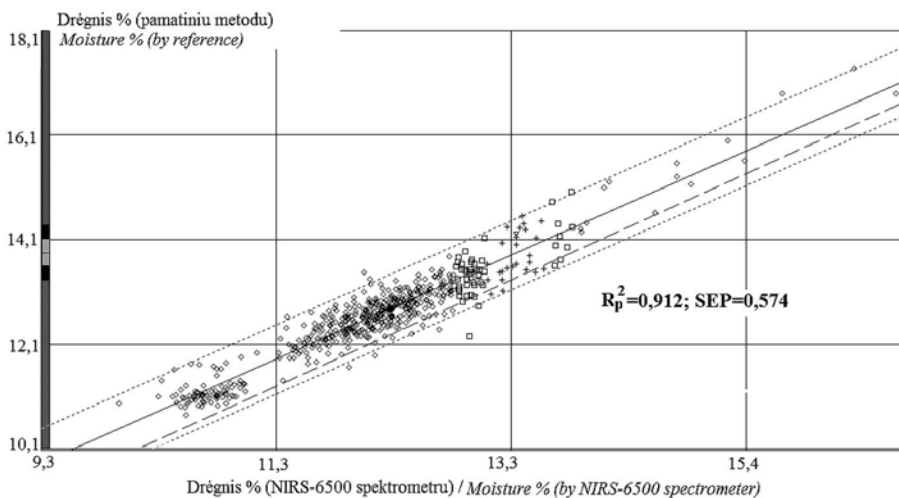
Note. \* – standard error of prediction, \*\* – average difference between reference and NIR values, \*\*\* – coefficient of determination in prediction.

Iš koreliacinės eilutės pašalinus mėginius su didžiausiomis paklaidomis tarp dviem metodais gautų verčių, koreliacinis ryšys tarp grūdų drėgnio duomenų, nustatytų džiovavimo ir AIR spektroskopijos metodais, naudojant vieną iš lygčių (8 lentelė, Nr. 2D), buvo glaudus – R<sup>2</sup><sub>p</sub> = 0,912, o paklaida siekė tik 0,574 % (2 pav.). Ši lygtis didesne nei 0,6 % paklaida analizavo kai kuriuos kviečių selekcinės medžiagos mėginius.



**1 paveikslas.** Priklausomumas tarp pamatiniiais metodais (y ašis) ir spektrometru NIRS-6500 (x ašis) nustatytų baltymų verčių kontrolinių mėginių rinkinyje, taikant kalibravimo modelį: išsklaidymo koregavimas NSVD, matematinis apdorojimas 2, 4, 4, 1, bangų intervalas 700–2460,8 nm, regresijos metodas MPLS

**Figure 1.** Relationship between protein values in the set of control samples determined by reference (y) and by NIRS-6500 spectrometer (x) when using the calibration model: scatter correction NSVD, math treatment 2, 4, 4, 1, wavelength range 700–2460,8 nm, regression method MPLS

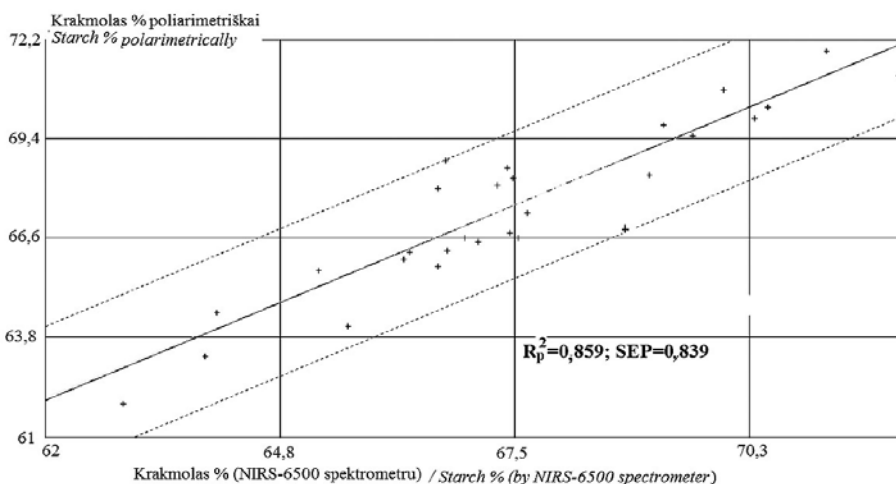


**2 paveikslas.** Priklausomumas tarp pamatiniiais metodais (y ašis) ir spektrometru NIRS-6500 (x ašis) nustatytų drėgnio verčių kontrolinių mėginių rinkinyje, taikant kalibravimo modelį: išsklaidymo koregavimas NSVD, matematinis apdorojimas 1, 5, 5, 1, bangų intervalas 1100–2498,2 nm, regresijos metodas MPLS

**Figure 2.** Relationship between moisture values in the control samples set determined by reference (y) and by NIRS-6500 spectrometer (x) when using the calibration model: scatter correction NSVD, math treatment 1,5,5,1, wavelength range 1100–2498,2 nm, regression method MPLS

Kviečių grūdų krakmolo kiekiui vertinti sukurtų lygčių analizavimo tikslumas nustatytas, kaip kontrolinių mėginių rinkinį naudojant 1998 ir 2007–2008 m. derliaus nuskenuotus kviečių grūdus su nustatytais krakmolo vertėmis, bet neįtrauktus į kalibravimo rinkinį. Iš 8 lentelėje pateiktų duomenų matyti, kad tiksliausiai krakmolo kiekį kviečių grūduose nustatančios lygtys gautos, AIR bangų segmentą kalibruojant 1100–2500 nm, jį nuskaitant 8 nm intervalu, taikant antrąją išvestinę ir išsklaidymo koregavimą NSVD, arba bangų segmentą kalibruojant 500–2500 nm, jį nuskaitant didesniu, t. y. 10 nm intervalu, taikant pirmąją išvestinę ir išsklaidymo koregavimą NSVD.

Tarp AIR spektroskopijos ir poliariometrijos metodais nustatyto krakmolo kiekio gauta pakankamai glaudi koreliacija  $R_p^2 = 0,859$ , kai iš koreliacinės eilutės buvo pašalinti 1998 m. derliaus trys mėginiai (3 pav.). Analizuojant šiuos mėginius pasitaikiusios klaidos gali būti susijusios analitinio darbo metodika: poliariometru ADP 410 mėginiai tiriami tik nuo 2007 m., o iki tol analizei naudotas senesnės gamybos prietaisas.



**3 paveikslas.** Priklausomumas tarp pamatiniiais metodais (y ašis) ir spektrometru NIRS-6500 (x ašis) nustatytų krakmolo verčių kontrolinių mėginių rinkinyje, taikant kalibravimo modelį: išsklaidymo koregavimas NSVD, matematinis apdorojimas 2, 4, 4, 1, bangų intervalas 1100–2500,8 nm, regresijos metodas MPLS

**Figure 3.** Relationship between starch values in the control samples set determined by reference (y) and by NIRS-6500 spectrometer (x) when using the calibration model: scatter correction NSVD, math treatment 2, 4, 4, 1, wavelength range 1100–2500,2 nm, regression method MPLS

Literatūros duomenimis, nemaltų grūdų krakmolo kiekiui nustatyti nepavyksta sukurti itin tikslių lygčių. Jos laikomos tiksliomis, jei kalibravimo determinacijos koeficientai (kurie visada yra aukštesni nei predikcijos) yra 0,78 /Garnsworthy et al., 2000/ arba 0,8–0,9 /Wehling et al., 1993/. Geriausi rezultatai gauti daugianarės linijinės regresijos metodu, spektras taikant antrąją išvestinę /Wehling et al., 1993/, kaip ir šių tyrimų metu. Apibendrinus tyrimų rezultatus galima konstatuoti, kad drėgnio, baltymų ir krakmolo vertės kviečių grūduose gali būti pakankamai tiksliai nustatytos artimosios srities infraraudonųjų spindulių spektrometru NIRS-6500, o sukurtos lygtys taikomos

praktikoje. Siekiant dar didesnio vertinimo tikslumo, reikėtų kurti lygtis vertėms nustatyti maltuose grūduose.

### **Išvados**

1. Kalibruojamų optinių duomenų matematinio transformavimo, išsisklaidymo koregavimo, regresijos metodų, bangų intervalo derinimas turi įtaką kuriamų lygčių grūdų kokybei įvertinti tikslumui kalibravimo ir kryžminio vertinimo etapuose. Priklausomai nuo kalibravimo sąlygų sukurtos skirtingo tikslumo lygtys: drėgniui RSQ – 0,817–0,941, SEC – 0,366–0,646, baltymams RSQ – 0,716–0,947, SEC – 0,442–1,009, krakmolui RSQ – 0,838–0,869, SEC – 1,152–1,302.

2. Sukurtomis lygtimis vertinant kontrolinių mėginių rinkinius nustatyta, kad kalibravimo parametrų derinimas taip pat yra veiksminga analizavimo spektrometru NIRS-6500 tikslumo gerinimo priemonė. Tiksliausiai drėgnį, baltymų ir krakmolo kieki kviečių grūduose nustatančios lygtys gautos, kalibruojant pirmąją arba antrąją išvestinėmis transformuotus optinius duomenis, jų išsisklaidymą koreguojant NSVD metodu. Kalibruojamo spektro segmento diapazonas priklauso nuo rodiklio ir kitų kalibravimo modelių parametrų.

3. Geriausiai kontrolinių mėginių rinkinių vertinimo statistinius rodiklius turinčios lygtys gali būti taikomos praktikoje, kviečių grūdų kokybės rodikliai (drėgnio, baltymų ir krakmolo kiekis) artimosios srities infraraudonųjų spindulių spektrometru NIRS-6500 gali būti įvertinti tiksliai (drėgnis ir baltymai – 90 %, krakmolai – 84 % tikslumu), greitai ir nenaudojant reagentų.

4. Siekiant dar didesnio vertinimo tikslumo, reikėtų kurti lygtis vertėms nustatyti maltuose grūduose.

### **Padėka**

Tyrimą parėmė Lietuvos valstybinis mokslo ir studijų fondas.

Gauta 2009 10 28

Pasirašyta spaudai 2009 12 14

### **LITERATŪRA**

1. Blanco M., Villarroya I. AIR spectroscopy: a rapid-response analytical tool // Trends in Analytical Chemistry. – 2002, vol. 21, iss. 4, p. 240–250

2. Bock J. E., Connelly R. K. Innovative uses of near-infrared spectroscopy in food processing // Journal of Food Science. – 2008, vol. 73, iss. 7, R91–R98

3. Butkutė B. Factors influencing accuracy of NIRS calibrations for the prediction of quality of Lithuania-grown rapeseed // Near infrared spectroscopy: proceedings of the 11<sup>th</sup> international conference. – Chichester, UK, 2004, p. 405–410

4. Butkutė B., Cesevičienė J. Lygčių kūrimas kviečių grūdų kokybę vertinant spektrometru NIRS-6500. I. Grūdų kokybės ir optinių duomenų bazės charakteristika // Žemdirbystė-Agriculture. – 2009, t. 96, Nr. 4, p. 62–77

5. Butkutė B. Effect of the calibration model on the correlation between spectral data and nitrogen content in various agricultural objects // Chemija. – 2005, t. 16, Nr. 1, p. 45–52

6. Butkutė B., Mašauskienė A. Impact of the mathematical treatment of spectra on the robustness of NIRS calibration // Grassland Science in Europe. – 2004, vol. 9, p. 1037–1039



7. Cheewapramong P. Use of near-infrared spectroscopy for qualitative and quantitative analyses of grains and cereal products: dissertation in food science and technology for the degree of doctor of philosophy // University of Nebraska. – Lincoln, USA, 2007. – 169 p.
8. Cocchi M., Corbellini M., Foca G. et al. Classification of bread wheats in different quality categories by a wavelet-based feature selection/classification algorithm on NIR spectra // *Analytica Chimica Acta*. – 2005, vol. 544, p. 100–107
9. Cocchi M., Durante C., Foca G. et al. Durum wheat adulteration detection by NIR spectroscopy multivariate calibration // *Talanta*. – 2006, vol. 68, p. 1505–1511
10. Crosbie G. B., Osborne B. G., Wesley I. J., Adriansz T. D. Screening of wheat for flour swelling volume by near-infrared spectroscopy // *Cereal Chemistry*. – 2007, vol. 84, No. 4, p. 379–383
11. Dagnelie P., Dardenne P., Palm R., Tahar A. Comparaison de techniques de calcul des equations de calibrage en analyse des proteines du ble par spectrophotometrie de reflexion dans le proche infrarouge // *Bulletin des Recherches Agronomiques de Gembloux*. – 1991, vol. 26, No. 3, p. 323–336
12. Dardenne P., Sinnaeve G., Baeten V. Multivariate calibration and chemometrics for near infrared spectroscopy: which method? // *Journal of Near Infrared Spectroscopy*. – 2000, vol. 8, p. 229–237
13. Delwiche S. R., Hurschka W. R. Protein content of bulk wheat from near-infrared reflectance of individual kernels // *Cereal Chemistry*. – 1998, vol. 77, No. 1, p. 86–88
14. Delwiche S. R. Protein content of single kernels of wheat by near-infrared reflectance spectroscopy // *Journal of Cereal Science*. – 1998, vol. 27, p. 241–254
15. Delwiche S. R., Reeves III J. B. The effect of spectral pre-treatments on the partial least squares modelling of agricultural products // *Journal of Near Infrared Spectroscopy*. – 2004, vol. 12, p. 177–182
16. Dowell F. E., Maghirang E. B., Xie F. et al. Predicting wheat quality characteristics and functionality using near-infrared spectroscopy // *Cereal Chemistry*. – 2006, vol. 83, No. 5, p. 529–536
17. Dryden G. McL. Near infrared reflectance spectroscopy: application in deer nutrition. – 2003. – 46 p. Internet: <https://rirdc.infoservices.com.au/downloads/03-007.pdf>
18. Garnsworthy P. C., Wiseman J., Fegeros K. Prediction of chemical, nutritive and agronomic characteristics of wheat by near infrared spectroscopy // *The Journal of Agricultural Science*. – 2000, vol. 135, No. 4, p. 409–417
19. Griggs T. C., Lobos K. B., Kingery P. E. Digestibility analysis of undried, unground and dry ground herbage by near-infrared reflectance spectroscopy // *Crop Science*. – 1999, vol. 39, p. 1164–1170
20. Hymovitz T., Dudley J., Collins F. I., Brown C. M. Estimations of protein and oil concentration in corn, soybean, and oat seed by near-infrared light reflectance // *Crop Science*. – 1974, vol. 14, p. 713–715
21. Hruškova M., Šmejda P. Wheat flour dough alveograph characteristics predicted by NIRSystems 6500 // *Czech Journal of Food Sciences*. – 2003, vol. 21, p. 28–33
22. Jirsa O., Hrušková M. Characteristics of fermented dough predicted by using the NIR technique // *Czech Journal of Food Sciences*. – 2005, vol. 23, 184–189
23. Jirsa O., Hrušková M., Švec I. Near-infrared prediction of milling and baking parameters of wheat varieties // *Journal of Food Engineering*. – 2008, vol. 87, No. 1, p. 21–25
24. Liu X., Han L. Prediction of chemical parameters in maize silage by near infrared reflectance spectroscopy // *Journal of Near Infrared Spectroscopy*. – 2006, vol. 14, p. 333–339

25. Long D. S., Engel R. E., Siemens M. C. Measuring grain protein concentration with in-line near infrared reflectance spectroscopy // *Agronomy Journal*. – 2008, vol. 100, p. 247–252
26. Oatway L. A., Helman J. H., Juskiw P. E. Development of near infrared spectroscopy to screen for feed quality characteristics in whole grain barley. – 2000. Internet: <http://www.agric.gov.ab.ca/ministry/pid/fcdc/wholegrain.html>
27. Park R. S., Gordon F. J., Agnew R. E. et al. The use of near infrared reflectance spectroscopy on dried samples to predict biological parameters of grass silage // *Animal Feed Science and Technology*. – 1997, vol. 68, p. 235–246
28. Pasquini C. Near infrared spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications // *Journal of Brazilian Chemical Society*. – 2003, vol. 14, No. 2, p. 198–219
29. Reinhard F. Ch. Entwicklung und Anwendung von Nach-Infrarot-spektroskopischen Methoden für die Bestimmung von Öl-, Balytm-, Glucosinolat-, Feuchte- und Fettsäure-Gehalten in intakter Rapsaat: Dissertation des Doctorgrades. – Göttingen, 1992. – 139 p.
30. Shenk J. S., Westerhaus M. O. Population structuring of near infrared spectra and modified partial least squares regression // *Crop Science*. – 1991, vol. 31, p. 1548–1551
31. Smith K. F., Kearney G. A. The distribution of errors associated with genotype and environment during the prediction of the water-soluble carbohydrate concentration of perennial ryegrass cultivars using near infrared reflectance spectroscopy // *Australian Journal of Agricultural Research*. – 2000, vol. 51, p. 481–486
32. Smith K. F., Simpson R. J., Armstrong R. D. Using near infrared reflectance spectroscopy to estimate the nutritive value of senescing annual ryegrass (*Lolium rigidum*): a comparison of calibration methods // *Australian Journal of Experimental Agriculture*. – 1998, vol. 38, p. 45–54
33. Wachendorf M., Ingwersen B., Taube F. Prediction of the clover content of red clover-and white clover-grass mixtures by near-infrared reflectance spectroscopy // *Grass and Forage Science*. – 1999, vol. 54, p. 87–90
34. Wang D., Dowel F. E., Chung D. S. Assessment of heat-damaged wheat kernels using near-infrared spectroscopy // *Cereal Chemistry*. – 2001, vol. 78, No. 5, p. 625–628
35. Wehling R. L., Jackson D. S., Hooper D. G., Ghaedian A. R. Prediction of wet-milling starch yield from corn by near infrared spectroscopy // *Cereal Chemistry*. – 1993, vol. 70, No. 6, p. 720–723
36. Williams P. C. Application of near infrared reflectance spectroscopy to analysis of cereal grains and oilseeds // *Cereal Chemistry*. – 1975, vol. 52, p. 561–576
37. Workman J. Jr., Shenk J. Understanding and using the near-infrared spectrum as an analytical method // *Near-infrared Spectroscopy in Agriculture*. – Madison, USA, 2004, p. 3–10

## **Development of equations for wheat quality assessment by NIRS-6500 spectrometer.**

### **II. Comparison of calibration models**

B. Butkutė, J. Cesevičienė  
Lithuanian Institute of Agriculture

#### **Summary**

For the development of calibration equations, optical and chemical database, including winter and spring wheat (*Triticum aestivum* L.) samples, was collected over the period 1995–2008. Reflectance spectra were recorded in the range of 400–2500 nm by NIRS-6500. Moisture, protein and starch were determined by reference methods. The effects of calibrated optical data math treatment, scatter correction, calibrated spectrum wavelength range, regression method on the accuracy of equations being developed were estimated. Depending on calibration model, equations of different accuracy in calibration were developed: for moisture values,  $RSQ = 0.817–0.941$ ,  $SEC = 0.366–0.646$ ; for protein content determination,  $RSQ = 0.716–0.947$ ,  $SEC = 0.442–1.009$ ; for starch content,  $RSQ = 0.838–0.869$ ,  $SEC = 1.152–1.302$ .

It was determined that adjustment of different parameters of calibration is an effective means for the improvement of quality prediction by NIRS-6500 spectroscopy. Equations having the best statistical parameters in prediction of control sample set for each quality component were selected. Calibration of spectra segment 1100–2500 nm, treated by first derivative was the most useful for moisture calibration. Optimal calibration model for protein content assessment was as follows: wavelength range 400–2460, 600–2460 or 700–2460 nm, math treatment 2, 4, 4, 1, scatter correction NSVD and modified partial least squares (MPLS) regression. The most robust equations for starch evaluation were developed when for NIR spectra segment (1100–2500 nm) or larger wavelength range (500–2500 nm) the first derivative was applied. The equations developed for wheat grain moisture assessment and protein content are characterised by high precision. The equations developed for the determination of starch concentration in grain can be estimated as giving good or satisfactory precision.

Key words: NIR spectroscopy, equation development, wheat grain, moisture, protein, starch.