



SAMMENLIGNING AF NIR KALIBRERINGER FOR IVOS OG EFOS TIL BESKRIVELSE AF MAJSENSILAGE

STØTTET AF

Promilleafgiftsfonden for landbrug

I undersøgelsen er *in vitro* fordøjeligheden af majs- og kolbemajssensilage analyseret ved både EFOS (enzymmetode) og IVOS (vomvæskemetode). Validering af NIR kalibreringer bygget på datamaterialet viser at EFOS metoden er stærkere end IVOS metoden.

Værdiansættelse af grovfoder har betydning for grovfoderstrategi, sortsvalg og foderplanlægning. I praksis analyseres grovfoder ved NIR (nærinfrarød spektroskopi). Metoder der anvendes til grovfoder skal kunne omsættes til robuste NIR kalibreringer, for at sikre analyser der giver et godt grundlag for optimering i foderkæden. Nærværende undersøgelse viser, at det er vanskeligt at opnå en stærk NIR kalibrering for *in vitro* fordøjelighed (IVOS) i majs- og kolbemajssensilage. EFOS metoden (enzymmetode) giver i sammenligning med IVOS en stærkere NIR kalibrering og kan differentiere majssensilager i prøver med høje og lave værdier. Undersøgelsen kan ikke endeligt afklare, om EFOS metoden er stærkere til at vurdere produktionsværdien af majs- og kolbemajssensilagen sammenlignet med IVOS, men undersøgelsen viser et behov for, at der iværksættes undersøgelser baseret på større datasæt fra praksis, bl.a. gennem samarbejdet omkring udveksling af NIR spektre med Agrolab, Kvægklyngerne og KMP-fuldfoder.

BAGGRUND OG FORMÅL

Bestemmelse af fordøjelighed af grovfoder ved anvendelse af *in vitro* metoden (IVOS), baseret på inkubation i vomvæske-buffer (Tilley and Terry metoden), har været anvendt i Danmark siden 1979. IVOS metoden kræver adgang til vomvæske og metoden er afhængig af vomvæskens kvalitet. Derfor har IVOS metoden i mange år været forsøgt erstattet af andre

metoder, der ikke kræver opstaldning af vomfistulerede køer med særlige krav til fodring. Weisbjerg et al. (2007) konkluderede, at EFOS metoden var mere robust og havde bedre repeterbarhed end IVOS metoden, men anbefalede på baggrund af analyser af et større forsøgs- og datamateriale, hvor IVOS og EFOS metoderne blev sammenlignet med *in vivo* fordøjelighed, at bruge EFOS metoden til friske afgrøder, herunder frisk majs, mens IVOS metoden blev anbefalet til ensilage, herunder majsensilage. Det var dengang antagelsen, at indførelsen af NorFor ville betyde, at IVOS metoden blev udfaset, og dette var måske medvirkede til at man i 2007 ikke lagde op til ændringer.

I 2015 indførte NorFor en ændring, hvor iNDF (den ufordøjelige NDF fraktion) i stedet for at blive prædikeret ved selvstændig kalibrering nu beregnes ud fra fordøjeligheden af organisk stof, som for ensilager oftest vil være beregnet ud fra **IVOS**. IVOS metoden har altså i dag en endnu større betydning for fodervurderingen af grovfoder end tilfældet var i 2007.

I forbindelse med projektet, Kvægklynger 2018, er der foretaget systematisk afsøgning af majsensilager i Danmark (og i mindre omfang i Sydslesvig), for at identificere partier af majsensilage med høj og lav fordøjelighed af NDF. Dette indsamlingsarbejde har afsløret problemer med repeterbarheden af fordøjelighedsanalyserne, idet det generelt har vist sig vanskeligt at eftervise, at prøver udpeget med lav fordøjelighed af NDF også havde lav fordøjelighed ved gentagen prøveudtagning. I tilknytning hertil har arbejdet med opbygning af NIR kalibreringer for fordøjelighed i majsensilage ved SEGES vist, at prædiktionsfejlen for fordøjelighed i majsensilage er høj sammenlignet med variationen for IVOS i majsensilage.

Formålet med nærværende undersøgelse er på baggrund af den store betydning af IVOS for vurdering af majsensilage og usikkerheden om metodens egnethed at foretage en sammenligning af IVOS og EFOS metoderne som grundlag for beskrivelse af variation i majsensilage med NIR (nærinfrarød spektroskopi).

MATERIALER OG METODER

Der blev indsamlet 90 prøver af majs- og kolbemajsensilage fra høstår 2014 og 2015. Prøverne blev neddelt ved Kvægbrugets ForsøgsLaboratorium. En delprøve blev tørret ved 60°C i mindst 32 timer, formalet på 1 mm sold med Cyclotec (FOSS A/S) og scannet med dobbelt-pakning af cuvetter på FT-NIR (Bruker MPA, Bruker Optik GmbH). Den formalede prøve blev analyseret med EFOS metoden (efter tørring ved 60°C) med tørstofreference på 103°C ved Eurofins Agro Testing Denmark A/S (Eurofins). En nedfrosset delprøve blev analyseret for IVOS, stivelse (Enzymatisk metode med YSI-læsning af glukose) og NDF ved Eurofins.

Kalibreringsmodeller for IVOS og EFOS blev optimeret på basis af datasættet med 90 prøver og modellerne testet ved krydsvalidering ved anvendelse af OPUS Quant (version 7.5 Bruker). Modellerne blev sammenlignet på basis af korrelationskoefficienten mellem prædikeret og analyseret indhold, prædiktionsfejlen baseret på krydsvalideringen (RMSECV) og RPD-værdien som er forholdet mellem standardafvigelsen for datasættet og den bias-korrigerede prædiktionsfejl. RPD-værdien giver et udtryk for kalibreringsmodellens styrke i forhold til den variation i data, som modellen søges anvendt til at beskrive (høj RPD-værdi = stærk model).

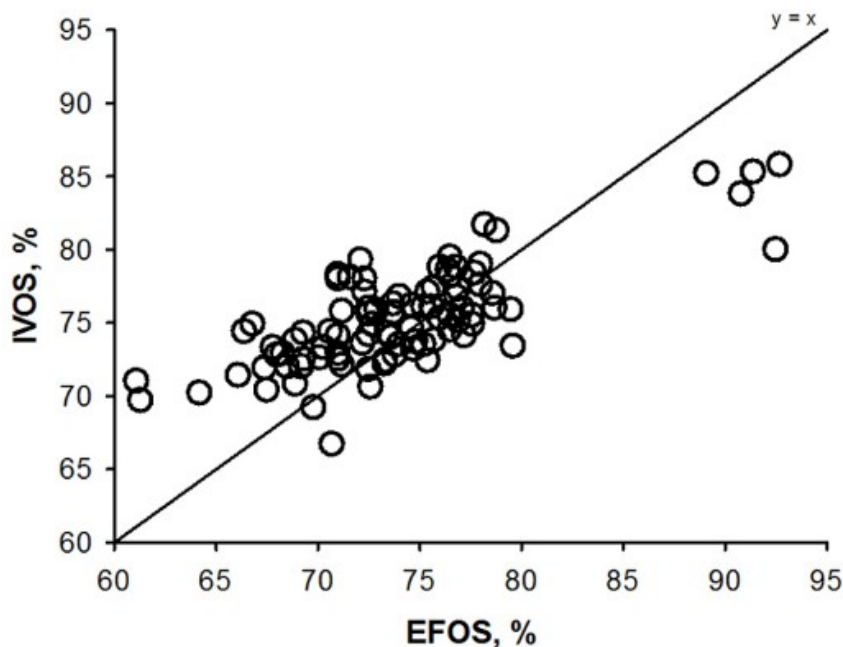
RESULTATER OG DISKUSSION

Tabel 1 viser antallet af analyser og gennemsnit, standardafvigelse, mindste og højeste værdi for analyserede variable. Tabel 1 viser, at der er større variationsbredde for EFOS sammenlignet med IVOS, og at det indsamlede prøvemateriale er bredt dækkende i forhold til forventet sammensætning af majs- og kolbemajssensilage.

Tabel 1. Antallet af analyser, gennemsnit, standardafvigelse, mindste værdi og højeste værdi i prøver af majs- og kolbemajssensilage (n = 90).

Variabel	Antal analyser	Gennemsnit	Standardafvigelse	Mindste værdi	Højeste Værdi
IVOS, %	90	75,3	3,5	66,7	85,8
EFOS, %	90	74,0	5,7	61,1	92,7
Stivelse, g/kg TS	89	312	84	117	596
NDF, g/kg TS	90	363	53	145	489

Sammenligning af IVOS og EFOS (figur 1) viser, at der kun er en moderat korrelation mellem de 2 metoder ($r = 0,77$). IVOS metoden giver højere værdier end EFOS for prøver med lav fordøjelighed og omvendt lavere værdier end EFOS ved høje fordøjeligheder.



Figur 1. Plot af IVOS mod EFOS i majs- og koblemajsensilage. Korrelationen mellem IVOS og EFOS er 0,77 og figuren viser at IVOS værdierne er højere end EFOS ved lave fordøjeligheder og IVOS værdierne er lavere end EFOS ved høje fordøjeligheder. Hvert punkt viser værdien for

én ensilage analyseret for IVOS og EFOS (n = 90).

Krydsvalideringen af NIR kalibreringsmodeller for IVOS og EFOS viser, at EFOS modellen er markant stærkere end IVOS modellen vurderet på basis af sammenhængen mellem prædikeret og analyseret værdi, prædiktionsfejlen og RPD-værdien (tabel 2).

Kalibreringsmodellen for IVOS performer så ringe, at den er uegnet til analytisk beskrivelse af variationen i datamaterialet. En model udarbejdet på et større datamateriale viser en lidt lavere prædiktionsfejl, men modellen baseret på det større datasæt er ikke væsentligt stærkere end modellen fra denne undersøgelse.

Tabel 2. Krydsvalidering af NIR kalibreringsmodel for majs- og kolbemajsensilage baseret på 90 prøver indsamlet af 2014 og 2015 høst. Der er vist korrelationskoefficienten, prædiktionsfejlen og PRD-værdien for de 2 kalibreringer.

Variabel	R ² krydsvalidering	Prædiktionsfejl baseret på krydsvalidering (RMSECV)	RPD (relation mellem standardafvigelse i data og bias-korrigeret prædiktionsfejl)
IVOS, %	0,54	2,3	1,5
EFOS, %	0,94	1,3	4,2

EFOS modellen er betydeligt stærkere end IVOS modellen, dog uden at være på højde med stærke kalibreringer hvortil regnes modeller med RPD-værdier > 8. Figur 2 og 3 illustrerer den store forskel på styrken i IVOS og EFOS modellerne og viser meget tydeligt, at NIR kalibreringen for IVOS ikke er i stand til at beskrive den variation i materialet som laboratorieanalyserne angiver. Vi spekulerer på, at dette skyldes, at en stor del af den variation IVOS laboratoriemetoden angiver, er et udtryk for analyseusikkerhed ved metoden. Der bliver derfor kun svage sammenhænge mellem prøvens spektrale signatur og den analyserede variation i materialet.

I overensstemmelse med en væsentligt højere RPD-værdi for EFOS modellen viser figur 3, at modellen kan adskille prøver med høje og lave EFOS-værdier med væsentligt større sikkerhed sammenlignet med IVOS.

Sammenligningen af kalibreringer for IVOS og EFOS viser klart, at EFOS kan beskrives med NIR langt mere sikkert end IVOS. Dette betyder ikke, at EFOS automatisk giver en bedre beskrivelse af foderværdien af majsensilage, men omvendt, at det ikke umiddelbart giver mening at basere fodervurdering af majsensilage på NIR prædiktions af IVOS.

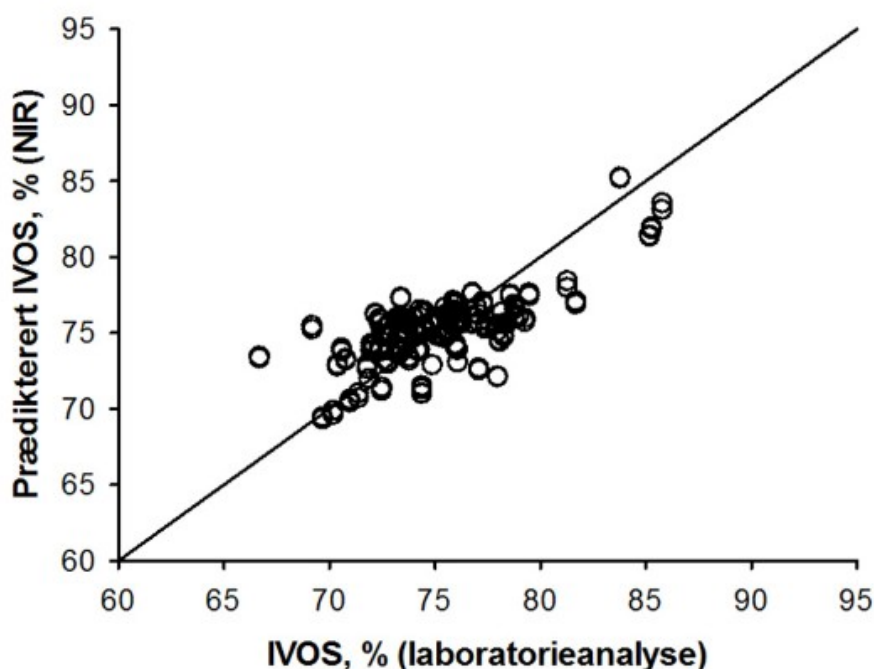
Der blev observeret stærke korrelationer mellem EFOS og stivelse ($r = 0,89$) samt mellem EFOS og NDF ($r = -0,86$) i stikprøven. Når så stor en del af variationen i EFOS er forklaret af stivelse og NDF betyder det, at der høstes forholdsvis lidt ekstra information om majsensilagen ved at kombinere analyser for stivelse og NDF med EFOS. Om den ekstra information der hentes ved EFOS analyse har fodringsbiologisk relevans kan ikke afgøres af denne

undersøgelse, men vil blive søgt belyst gennem arbejdet med Kvægklynger og ved analyse af NIR data fra Agrolab, som giver mulighed for at analysere sammenhænge mellem grovfoder og produktionsresultater fra malkekvægsbedrifter i stor skala.

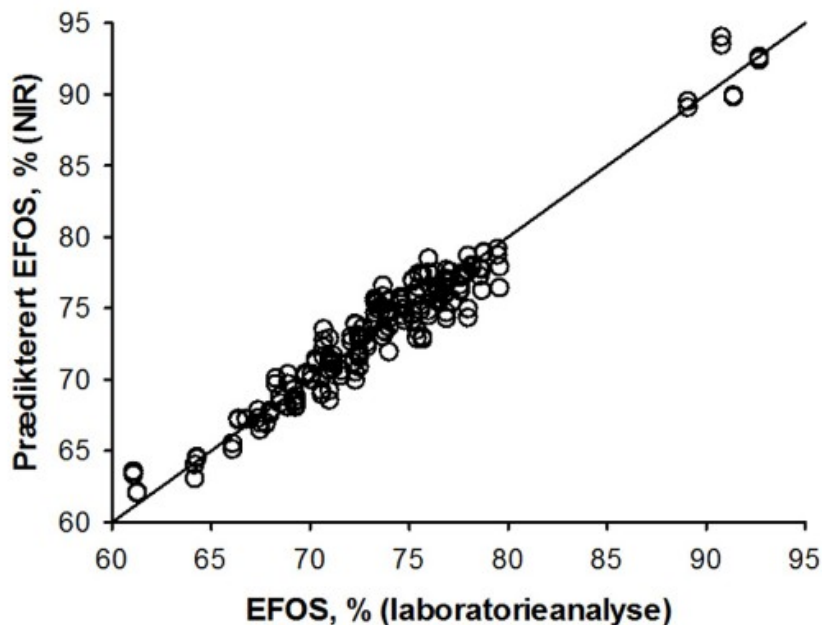
I praksis analyseres grovfoder ved NIR, og analyser der ikke kan omsættes til robuste NIR kalibreringer kan ikke umiddelbart anvendes til fodervurdering. Det er ikke givet, at alle metoder, der kan beskrives med NIR giver væsentlig information om foderværdi, men omvendt giver metoder, der ikke kan beskrives med NIR meget lidt praksisrelevant information. Det kan ikke afvises at IVOS kalibreringer bygget på et stort antal prøver ved Agrolab og Eurofins giver reel information om variationer i foderværdien af grovfoder, selvom det kan påvises, at metoden lider af problemer med den analytiske præcision. Derfor vil også IVOS indtil videre blive inddraget i fodringsbiologiske analyser af mælkeproduktionen.

KONKLUSION

Krydsvalidering af NIR kalibreringer for IVOS og EFOS i majs- og kolbemajssensilage viser, at EFOS beskrives med langt større styrke end IVOS ved NIR. Idet grovfoderanalyser i praksis er baseret på NIR, viser resultatet af undersøgelsen et behov for nærmere afdækning af sammenhænge mellem foderværdi-variable i majsensilage og reel produktionsværdi under praksisforhold.



Figur 2. Krydsvalidering af NIR kalibreringsmodel for IVOS. Prædikeret IVOS er plottet mod laborativærdien. Korrelationskoefficienten er 0,54 og prædiktionsfejlen baseret på krydsvalidering er 2,3 IVOS-enheder (%). RPD-værdien er kun 1,5 og viser at modellen ikke er velegnet til analytisk beskrivelse af variationen af fordøjelighed i majsensilage. Validering og model er baseret på 90 prøver af majs- og kolbemajssensilage.



Figur 3. Krydsvalidering af NIR kalibreringsmodel for EFOS. Prædikeret EFOS er plottet mod laboratorieværdien. Korrelationskoefficienten er 0,94 og prædiktionsfejlen baseret på krydsvalidering er 1,3 EFOS-enheder (%). RPD-værdien er 4,2 og viser at modellen er af en vis styrke og med rimelighed kan anvendes til beskrivelse af variationen i majsensilage. Validering og model er baseret på 90 prøver af majs- og kolbemajsensilage.

Reference

Weisbjerg, M.R., Søgaard, K., Thøgersen, R., Mikkelsen, M. og G. Brunsgaard. 2007. Bestemmelse af fordøjelighed af organisk stof i grovfoder ved brug af in vitro-metoder baseret på vomvæske eller enzymer. DJ F Husdyrbrug nr. 76, Det Jordbrugsvidenskabelige Fakultet, Aarhus Universitet, Tjele.