

Puiden ja varpujen juurten massasuhteiden lajikohtainen määrittäminen infrapunaspektroskopian avulla

Metsälaitoksen Pro gradu-tutkielma
Maatalous-metsätieteiden maisterin tutkintoa
varten

Helsingin yliopisto, metsäekologian laitos
Helmikuu 2010

Noora Ilola



Tiedekunta/Osasto Fakultet/Sektion – Faculty Maatalous-metsätieteellinen tiedekunta		Laitos Institution – Department Metsätieteiden laitos	
Tekijä/Författare – Author Noora Ilola			
Työn nimi Arbetets titel – Title Puiden ja varpujen juurten lajikohtainen massasuhteiden määrittäminen infrapunaspektroskopian avulla			
Oppiaine Läroämne – Subject Soiden ekologia ja suometsätiede			
Työn laji Arbetets art – Level Pro gradu -tutkielma		Aika Datum – Month and year 12.02.2010	Sivumäärä Sidoantal – Number of pages 85
Tiivistelmä Referat – Abstract			
<p>Juurten ja erityisesti hienojuurten tuotos on suuri osa kasvien koko tuotoksesta. Juurten todellinen tuotos on kuitenkin huonosti tunnettu, sillä sen tutkiminen nykyisillä menetelmillä on hankalaa sekä aikaa vievää. Ekosysteemien kokonaisvaltaiseksi ymmärtämiseksi olisi kuitenkin tärkeää saada lisää tietoa juurista ja niiden ekologiasta. Laajempaa tietoa juuristosta voitaisiin hyödyntää mm. kattavampien ekosysteemimallien rakentamisessa.</p> <p>Perinteisiä juuritutkimusmenetelmiä nopeammassa ja yksikertaisemmassa menetelmässä voidaan käyttää hyväksi lähi-infrapunaspektroskopiaa (NIRS). NIRS:a on jo vuosia hyödynnetty maatalouden sekä ravintoteollisuuden piirissä. Sen avulla on määritetty eloperäisten ja keinotekoisten materiaalien sisältöä. Ekologisen tutkimuksen piirissä infrapunaspektroskopian mahdollisuuksia on tutkittu viime aikoina, mutta menetelmän toimivuutta ole vielä varmistettu.</p> <p>Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää onko mahdollista luoda infrapunaspektriaineistolle kalibrintimallit juurten lajikohtaiseen massasuhteiden määrittämiseen. Aluksi luotiin kalibrintimallit esikäsittelmättömälle aineistolle. Ne todettiin toimiviksi ja niitä lähdettiin parantamaan matemaattisilla esikäsittely vaihtoehdoilla. Malleja testattiin myös eri mallinnusmenetelmillä menetelmillä. Lopuksi testattiin vielä juurten läpimitan vaikutusta mallien toimivuuteen. Juurten massasuhteiden määrittämisessä haluttiin tutkia myös niin että näytteissä oli taustamateriaalia. Tässä tutkimuksessa taustamateriaalina käytettiin turvetta.</p> <p>Juuret kerättiin Lopen Kalevansuolta kesällä 2008. Mukaan otettiin 8 kasvilajia. Juuret pestiin ja luokiteltiin läpimittaluokkiin 0 - 2 mm, 2 – 5 mm ja 5 – 10 mm. Taustamateriaalina käsitelty turve kerättiin Oriveden Lakkasuolta. Nämä materiaalit ilmakuivattiin ja jauhettiin tasaiseksi jauheeksi. Läpimittaluokkien 0 - 2 mm ja 2 – 5 mm sekä yhdistelmä luokan 0 – 5 mm jauheista koostettiin eri lajeja eri massasuhteissa sisältäviä näytteitä, joista mitattiin lähi-infrapunaspektrit. Spektriaineistolle etsittiin parhaat esikäsittelymenetelmät, minkä jälkeen luotiin läpimittaluokkoittaiset kalibrintimallit PLS1- ja PLS2-menetelmillä.</p> <p>Tutkimuksessa luotuja kalibrintimalleja voidaan pitää suorituskykyisinä käytetyn vertailuaineiston laajuudessa. Mallinnusmenetelmien ja läpimittaluokkien kalibrintimalleja vertailtaessa havaittiin, että suorituskykyisimmät mallit saatiin läpimittaluokalle 0 - 5 mm St-Golayn ensimmäisen derivaatan esikäsittelyllä PLS1-menetelmällä. Samoilla erikäsittelyillä PLS2-menetelmällä saadaan tunnusluvultaan hieman heikommät, mutta yhtä käyttökelpoiset mallit.</p> <p>Infrapunaspektroskopiaa voidaan tämän tutkimuksen perusteella suositella käytettäväksi juurten lajikohtaisten massasuhteiden määrittämiseen. Nyt luodut kalibrintimallit ovat varmuudella suorituskykyisiä vain vertailuaineistonsa laajuudessa, mutta niitä voidaan käyttää pohjana laajempien mallien rakentamisessa.</p>			
Avainsanat – Nyckelord – Keywords Juuret, juurten massasuhteet, infrapunaspektroskopia, kalibrintimallit.			
Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited Helsingin yliopiston Viikin tiedekirjasto, Metsätieteiden laitos			
Muita tietoja – Övriga uppgifter – Additional information			

1	Johdanto.....	1
1.1	Juuristo	1
1.1.1	Juuret ekosysteemissä ja ekosysteemimallit	1
1.1.2	Juuret kasvibiomassan tuottajana.....	2
1.1.3	Juuritutkimuksen menetelmiä.....	3
1.1.4	NIRS (near infra-red spectroscopy) juurutuksessa	5
1.2	Infrapunaspektroskopia.....	6
1.2.1	Infrapunasäteily.....	6
1.2.2	Kovanlentitiset sidokset ja infrapunaspektrin muodostuminen	6
1.2.3	Infrapunaspektroskopian tarkoitus	8
1.2.4	Infrapunaspektroskopian historia.....	8
1.2.5	Millä infrapunaspektrejä mitataan?.....	9
1.2.6	Infrapunaspektrin mittaaminen	12
1.2.7	Infrapunaspektrin suora ja epäsuora tulkinta	13
1.3	Kalibrointimallit	14
1.3.1	Kalibrointimallinnuksen periaate	14
1.3.2	Kalibrointimallin suorituskyvyn parantaminen	16
1.4	Infrapunaspektroskopian etuja ja ongelmia	17
1.5	Infrapunaspektroskopian mahdollisuudet ekologiassa	19
1.6	Tutkimuksen tarkoitus	21
2	Aineisto ja menetelmät.....	22
2.1	Juurimateriaalin kokoaminen	22
2.2	Juurimateriaalin käsittely	23
2.3	Juurimateriaalin kosteusprosentti	23
2.4	Spektrinäytteiden valmistaminen	24
2.5	Spektrien mittaaminen	25
2.6	Kalibrointimallien luonti.....	26
2.7	Kalibrointimallien arviointi.....	25
2.8	Kalibrointimallien näytekohtainen suorituskyky	27
3	Tulokset	28
3.1	Tutkimusmateriaalin kosteusprosentti	28
3.2	Kalibrointimallien alustava suorituskyky	28
3.3	Esikäsittelyvaihtoehdot	29
3.4	Massasuhteiden määrittäminen läpimittaluokittain	32
3.5	PLS1- vai PLS2-menetelmä	34
2.1	Turve juurten taustamateriaalina	39
3.6	Massaprocenttien ja kokonaismassan ennustaminen	40
4	Tarkastelu	44
4.1	Tutkimuksen virhelähteet.....	44
4.2	Kalibrointimallien suorituskyky	44
4.3	Aikaisempiin tutkimuksiin vertailu	48
4.4	Tutkimuksen yleistettävyys.....	49
4.5	Jatkotutkimustarve.....	50
5	Johtopäätökset.....	50
	Lähteet	52

1 Johdanto

1.1 Juuristo

1.1.1 Juuret ekosysteemissä ja ekosysteemimallit

Juuriston tehtävä on ottaa maasta ravinteita sekä siirtää ja varastoida niitä. Sen tehtävänä on myös kiinnittää kasvi maahan. Juuristo on siis toiminnallisesti merkittävä osa kasvia. Tämän lisäksi juuristo on osa kasvin biomassaa ja siihen sitoutuu sekä siitä vapautuu hiiltä. Sen osuus biomassan tuotannossa ja kertymisestä on huomattava. Juuriston biomassan kertymisellä on suuri rooli erityisesti soilla, joilla maatuminen on hidasta. Holdenin (2005) tekemän yleiskatsauksen mukaan soihin on varastoitunut yhdestä kolmasosasta puoleen maaperän hiilivarastosta, arviosta riippuen, vaikka suot kattavat vain noin 3 % maapallon maa-alasta. Juuriston, eli kasvin maanalaisen osuuden, biomassaa ja sen kasvu on tällä hetkellä huonosti tunnettuja, toisin kuin maanpäällinen osuus. Tämä johtuu juuritutkimuksen hankaluudesta.

On arvioitu, että jopa puolet metsiin sitoutuvasta hiilestä kiertää juuriston kautta. Juurilla voi siis olla ennakoitua suurempi merkitys eri ekosysteemeissä (Vogt ym. 1996). Niinpä mikäli halutaan ymmärtää ekosysteemien toimintaa kokonaisuudessa, tulee juuriston ekologian olla hyvin tunnettu.

Yksi tämän hetkisen tutkimuksen kiinnostuksen kohteista on ekosysteemimallien rakentaminen. Tällaiset ekosysteemimallit pohjautuvat erilaisten aineiden kiertoon. Hiili on yksi näistä aineista. Maaperän hiili on muutenkin suuren kiinnostuksen kohteena tutkimuksessa ilmasto-ongelmien myötä. Ekosysteemimalleissa pyritään kuvaamaan mahdollisimman kokonaisvaltaisesti ekosysteemien toimintaa ja rakennetta. Hyviin ekosysteemimalleihin olisi tärkeää saada mahdollisuus myös muutoksiin. Korkeatasoisista malleista tulee siis väistämättä laajoja ja monimutkaisia. Toimiakseen niiden tulisi perustua laadukkaaseen tietoon. Hiilen kierto esimerkiksi käytettäessä laadukasta ekosysteemimallia varten tulisi esimerkiksi kasvien kokonaistuotoksen ja biomassan olla hyvin tunnettuja. Nämä riippuvat kuitenkin hyvin paljon kasvien maanalaisesta osuudesta, jonka tutkimus taas tällä hetkellä on vajaata ja kallista. Juuritutkimuksessa tulisikin olla mahdollista tuottaa laadukasta tietoa kohtuullisin kustannuksin.

1.1.2 Juuret kasvibiomassan tuottajana

Hienojuurit (\varnothing alle 2 mm) ja paksujuuret (\varnothing yli 2 mm) muodostavat merkittävän osa kasvibiomassasta. Soilla juuriston biomassaosuus voi olla hyvinkin suuri. Niillä on arvioitu jopa yli 90 % biomassaosuuksia (Saarinen 1996 & Sjörs 1991). Kivennäismaiden juuriston osuus biomassasta voi taas olla hyvin pienikin. Esimerkiksi kivennäismaan mäntymetsän juuriston biomassaksi on mitattu vain 13 - 25 %:in osuuksia kokonaismassasta (Helmisaari 2002). Juurten biomassaosuudet vaihtelevat siis hyvin paljon ekosysteemistä riippuen.

Juuriston biomassa ja sen tuotos vaihtelevat myös eri ekosysteemityyppien sisällä. Vogt ym. (1996) mukaan puiden juuristoon varastoituvan hiilen osuus vaihtelee 4 - 69 % välillä lajista riippuen. Toinen juuristoon vaikuttava tekijä on puun ikä. Puun iän ja runkopuun massan kasvaessa hienojuurten osuus kokonaisbiomassasta pienenee, mutta sen osuus tuotoksesta pysyy silti suurena. Hienojuurten, paksujuurten ja neulasten biomassan todellinen tuotos kasvaa puiden iän kasvaessa (Helmisaari 2002, Cairns ym. 1997). Myös vaikeasti ennustettavilla tekijöillä, kuten maaperän mekaanisilla esteillä ja kemiallisilla ominaisuuksilla on vaikutusta juurten tuotokseen (Vogt ym. 1998). Juuristo reagoi herkästi ulkopuolisiin ärsykkeisiin ja muuttavat näiden vaikutuksesta aineenvaihduntansa tasoa. Lisäksi kasvien maanpäällinen ja -alainen kilpailuasetelma vaikuttaa siihen, kuinka paljon kokonaisbiomassan tuotoksesta sijoittuu juuristoon.

Paksu- ja hienojuurten biomassaosuuden lisääntymisen on todettu kasvattavan kasvin kokonaistuotosta (Helmisaari 2002). Juuret tuottavat siis keskimääräistä enemmän biomassaa kuin muut kasvin osat. Kaikkia kasvin osia tutkailtaessa paksujuurten biomassan kasvu oli heti runkopuun kasvun jälkeen nopeinta (Helmisaari ym. 2002). Juurten biomassan tuotos taasen seuraa juuribiomassan määrää, mutta ei välttämättä ole riippuvainen siitä (Helmisaari 2002). Koko maailmaa käsittelevien arvioiden mukaan kasvien nettotuotannosta 40 - 85 % sijoittuu maan alle (Fogel 1985). Helmisaaren ym. (2002) tutkimuksessa boreaalisessa kivennäismaan mäntymetsässä on saatu ainoastaan hienojuurten tuotoksi 43 - 60 % kokonaistuotoksesta. Saarisen (1996) tutkimuksen mukaan turvemaan sarakasvustolle juurten biomassatuotokseksi on saatu 74 % kokonais-

tuotoksesta. Juurten tuotos, kuten myös biomassan määrä, vaihtelevat siis ekosysteemin ominaisuuksien mukaan.

1.1.3 Juuritutkimuksen menetelmiä

Juuritutkimusta pidetään haasteellisena. Esimerkiksi juurten lajien määrittäminen on hankala mikroskoopinkin avulla. Lisäksi niiden puhdistaminen sekä käsitteleminen vaativat aikaa. Juurten kasvuun ja kehitykseen vaikuttaa samaan aikaan monia tekijöitä ja niiden kasvussa voi myös tapahtua äkillisiä muutoksia. Tutkimuksen on hankala reagoida nopeisiin muutoksiin eikä näiden muutosten vaikutuksia useinkaan ole kyetty huomioimaan (Vogt ym. 1998). Yhden kasvupaikan tutkimustuloksia on siis vaikea yleistää laajasti. Kattavan tiedon aikaansaamiseksi tarvitaan paljon tutkimustietoa ja tutkimustiedon tuottaminen vaatii paljon resursseja sekä ammattitaitoa. Kattavasta juuritutkimuksesta tuleekin helposti kallista ja työlästä.

Perinteisesti käytettyjä tutkimusmenetelmiä on monia eikä parhaista tavoista olla yhtä mieltä (Vogt ym. 1998). Pääosin juuritutkimusmenetelmät jaetaan kahteen; suoriin ja epäsuoriin menetelmiin. Suorilla menetelmillä määritetään suoraan juurista juuriston ominaisuuksia. Epäsuorissa menetelmissä niitä määritetään välillisesti ympäristötunnusten avulla. Suoria menetelmiä yhdistää suuritöisyys ja toteuttamisen hankaluus. Näistä menetelmistä esimerkkeinä voi mainita isotooppimenetelmät (isotope dilution/decay), erilaiset biomassan määrittämissarjat (biomass coring), miniritsotronimenetelmä (minirhizotron method) sekä erimuotoiset kärkepussit (ingrowth bag/donut). Epäsuorasti juurten ominaisuuksia voidaan tutkia mm. määrittämällä typpitasetta (nitrogen budget), hiilenvirtoja tai -taseita (carbon flow/balance) ja erilaisilla regressiomalleilla (regression model) (Milchunas, D.2009).

Yksi esimerkki suorasta juurten tuotosta ja biomassaa määrittävä menetelmästä on sequential coring -menetelmä. Siinä otetaan tilavuustarkkoja maanäytteitä jatkuvana sarjana kasvukauden aikana ja tutkitaan niissä tapahtuneita muutoksia. Eri lajit tunnistetaan silmämääräisesti sekä erottelu kuolleisiin ja eläviin juuriin suoritetaan arvioimalla juurten väriä, kimmoisuutta ja hajoavuutta, kuten Finer & Laine (1998) ovat tutkimuksessaan

tehneet. Menetelmä on aikaa vievä, hintava ja taitoa vaativa. Määrittely on erityisen hankalaa kuolleiden ja elävien juurten välillä.

Juurisukkamenetelmässä (ingrowth method) ja muissa karikepussimenetelmissä sijoitetaan maahan läpäisevästä materiaalista valmistettuja pusseja, jotka sisältävät juurista puhdasta maamateriaalia. Juurten ominaisuuksia tutkitaan näihin pusseihin sisälle kasvaneista juurista. Pussien sisällön tulisi olla fysikaalisesti ja kemiallisesti samanlaisia kuin ympäröivän maan. Pussit tulisi myös asettaa maahan siten, että niissä olisi samanlainen kosteustasapaino kuin niiden ympärillä (Vogt ym. 1998). Boreaalisella vyöhykkeellä juurten pusseihin kasvamisen on todettu vievän jopa 6 - 9 kk (Vogt ym. 1998). Menetelmä soveltuukin parhaiten ekosysteemeille, joissa juurten kasvu on nopeaa. Finerin ja Laineen (2000) tutkimuksessa todettiin erityisesti paksujuurten pusseihin kasvun olevan hankalaa. Tämä menetelmä vaatii siis käytännössä useampia kasvukausia ja tarkkoja suunnitelmia maa- ja pussimateriaalista.

Miniritsonimenetelmä taas vaatii aluksi suuria sijoituksia (Vogt ym. 1998). Siinä maahan sijoitetaan pieniä läpinäkyviä putkia, joiden sisällä liikutellaan pientä kameraa. Kameranat kuvaavat ympärillä tapahtuvia muutoksia eri korkeuksilla. Tällä menetelmällä saadaan tietoa juurten pituudesta, levinneisyydestä, tiheydestä ja elinajasta. Sillä pystytään määrittämään myös mm. kasvutapaa sekä symbioosien muodostumista. Maassa olevat putket saattavat vaikuttaa lämpötilaan ja tiheyteen niitä ympäröivässä maassa. Lisäksi kuvien muuttaminen tiedoksi on monimutkaista (Vogt ym. 1998). Kaikki nämä perinteiset suorat menetelmät ovat kuitenkin enemmän tai vähemmän työläitä.

Epäsuorilla menetelmillä juurten ennustaminen on yksinkertaista ja voidaan joissain tapauksissa toteuttaa samoista suureista kuin mitä metsätaloudessa käytetään. Tällaisia suureita ovat mm. maan päällinen biomassa, metsikön ikä ja sijainti (Vogt ym. 1996). Tämänkaltaiseen epäsuoraan määrittämiseen tietoa on tarjolla metsätalouden tutkimuksen ansiosta todella paljon. Näillä mittareilla on päästy jopa 84 % selittävyyteen juuriston massaa arvioitaessa (Cairns ym. 1997). Pelkällä lämpötila/haidunta-suhteella päästiin Vogt ym. (1996) tutkimuksessa 79 % selittävyyteen hienojuurten uusiutumisen ennustamisessa. Epäsuorilla menetelmillä on siis määritetty mm. biomassaa, hiilitaseita ja elottomien

tekijöiden vaikutusta juurituotokseen (Vogt ym. 1998). Epäsuorissa menetelmissä ei käsitellä itse juuria, minkä ansiosta säästytään paljolta työltä sekä juurten määrittelyyn tarvittavalta ammattitaidolta. Tästä syystä epäsuorat menetelmät ovat usein nopeampia eivätkä vaadi samankaltaista osaamista kuin suorat menetelmät. Epäsuorat menetelmät eivät kuitenkaan sovellu käytettäväksi ainoana menetelmänä (Vogt ym. 1998), vaan tarvitsevat toimiakseen suorilla menetelmillä hankitun taustatiedon.

Yksi iso juuritutkimuksen ongelma on eri menetelmillä saatujen tulosten vertailtavuus. Kaikilla edellä mainituilla menetelmillä ei suinkaan saada täysin vertailukelpoisia tuloksia. Finerin ja Laineen (2000) tutkimuksessa saatiin juurisukka- ja sequential coring -menetelmillä vertailtavia tuloksia yli 2 mm paksuille juurille, kun taas 2 mm paksuilla juurilla menetelmät eivät olleet vertailukelpoisia.

1.1.4 NIRS (near infra-red spectroscopy) juuritutkimuksessa

Juuritutkimus on toteuttamishankaluutensa ja kaupallisten sovelluksien vähyyden vuoksi jäänyt vähemmälle huomiolle kuin kasvin maan päällisten osien tutkimus. Kasvupaikkojen vaihtelu ja juurten monimutkainen kasvuprosessi hankaloittaa juuritutkimusten yleistämistä. Laadukkaan ja kattavan tiedon keräämiseksi tutkimuksia tulisi olla nykyistä enemmän. Tutkimuksen laadun parantamisen kannalta olisi parasta, mikäli löytyisi menetelmä, joka olisi yksikertainen, helppo ja nopea toteuttaa. Yksinkertaisemmalla menetelmällä saataisiin tutkimusmääriä lisättyä kustannusten laskiessa. Yksi uusi mahdollinen menetelmäehdokka on lähi-infrapunaspektroskopia (NIRS). Sen yksi sovelluskohde voisi olla juuriston lajikohtaisten massojen määrittämiseen. NIRS voisi toimia apuvälineenä osassa edellä lueteltuja juuritutkimusmenetelmiä. NIRS helpottaisi ja nopeuttaisi vanhojen menetelmien toteuttamista. NIRS on lukuisissa aiemmissä tutkimuksissa todettu nopeaksi ja tehokkaaksi tuntemattomien sisällön määrittämismenetelmäksi (Brimmer 2001). Nyt menetelmän toimivuus pitäisi varmentaa myös juuristoekologian alalla.

1.2 Infrapunaspektroskopia

1.2.1 Infrapunasäteily

Lämpötilan ollessa absoluuttisen nolapisteen yläpuolella kaikki kappaleet lähettävät tai heijastavat sähkömagneettista säteilyä. Tämä säteily kertoo säteilevän kappaleen ominaisuuksista. Tietyillä sähkömagneettisen säteilyn aallonpituuksilla tieto saattaa olla hyvinkin yksityiskohtaista.

Infrapunasäteily on näkyvän valon tavoin osa sähkömagneettista säteilyä (Pavia 2001). Se tunnetaan yleisemmin lämpösäteilynä ja sen havainnoiminen ihmissilmin on mahdotonta. Infrapunasäteilyn aallonpituusalue on 780 nm - 1 mm (kuva 1). Tämä alue jaetaan vielä lähi- (NIR) (780 - 2500 nm), keski- (MIR) (2,5 - 50 μm) ja kaukoinfrasäteilyalueisiin (FIR) (50 μm - 1 mm) (Kalliorinne ym. 1998). Kappaleiden lähettämää tai heijastamaa sähkömagneettista säteilyä kuvataan spektrillä, joka koostuu yksittäisten aallonpituuksien säteilyn intensiteetistä eli voimakkuudesta.



Kuva 1. Sähkömagneettisen säteilyn aallonpituusalueet.

1.2.2 Kovalenttiset sidokset ja infrapunaspektrin muodostuminen

Osa infrapunasäteilystä heijastuu tai kulkee aineen läpi, kun osa imeytyy siihen. Aineen ominaisuudet määräävät kuinka paljon infrapunasäteilyä imeytyy, läpäisee tai heijastuu pois. Infrapunasäteiden imeytyminen tapahtuu nimenomaan tutkittavan aineen kovalenttisiin sidoksiin. Tästä syystä yhdisteiden kovalenttisten sidosten määrä ja laatu ovat määrääviä tekijöitä spektrin muodossa (Osborne & Hindle 1993, Foley ym. 1998). Kovalenttinen sidos muodostuu, kun kaksi samanarvoista atomia vetää puoleensa samoja sidoselektroneja. Sidoselektronit liikkuvat atomien välillä niille ominaisilla tavoilla (Kanerva ym. 2000). Sidoselektronien liike aiheuttaa koko sidoksen liikkeen eli värähtelyn. Sidokset absorboivat sitä taajuutta, jolla ne itse värähtelevät. Kahdella

erirakenteisella molekyylillä on aina erilainen sidoskoostumus eli niillä ei ole samanlaista spektriä. Infrapunaspektrejä voidaan tällä perusteella käyttää aineiden tunnistamiseen samalla tavalla kuin sormenjälkiä ihmisille (Pavia 2001).

Säteilyä voidaan ajatella myös kvanttiteorian avulla. Sen mukaan sidoksen värähdellessä tietyllä taajuudella, siirtyy tuohon sidokseen kvantin suuruinen määrä energiaa samalta säteilyntaajuudelta. Aineeseen imeytyy siis vain tietyjä aallonpituuksia, jotka määräytyvät sen sisältämien sidosten mukaan. Energiakvantin imeytyminen sidokseen aiheuttaa elektronin energiatason muutoksen eli virittymisen (Tibagu 2003). Virittymisessä sitoutunut energia vapautuu lämpösäteilynä ympäristöön eikä infrapunasäteilyttäminen aiheuta pysyviä muutoksi aineissa (Kalliorinne ym. 1988). Jokainen energian siirtymä aiheuttaa absorptiopiikin aiheutuvat infrapunaspektrillä (Tibagu 2003).

Sidokset voivat värähdellä harmonisesti tai epäharmonisesti. Kvanttiteorian mukaan harmoniselle värähtelijälle vain yhden energiatason positiivinen tai negatiivinen siirtymä on mahdollinen (Osborne & Hindle 1993, Kalliorinne ym. 1988). Värähtely voi kuitenkin olla myös epäharmonista, jolloin elektroni voi siirtyä useampia energiatasoja. Tätä kutsutaan ylivirittymiseksi. Näiden aiheuttamat absorptiopiikit ovat hyvin yleisiä lähi-infrapuna-alueella. Kaikkein yleisimmät infrapunasäteilyä imevät ja ylivirittymiä aiheuttavat sidokset ovat C-H, N-H ja O-H (Osborne & Hindle 1993). Nämä ovat vedyn sidoksia. Vety kevyimpänä alkuaineena muodostaa helpoiten epäharmonista värähtelyä.

Infrapunasäteilyn eri alueet soveltuvat hieman erilaisiin tutkimuskohteisiin. Säteilyn absorboituminen lähi-infrapuna-alueella on heikompaa kuin infrapuna-alueella keskimäärin (Laasonen 2003). Tosin lähi-infrapuna-alueen yleisimmät absorptiopiikit sijoittuvat erilleen, sekä sitä pidetään muuta infrapuna-aluetta sisällöllisempänä (Osborne 2000, Tibagu 2003). Lähi-infrapuna-alueella absorptiopiikit ovat usein leveitä ja yhdistyneitä. Nämä asiat tekevät NIR-alueesta hyödyllisen määrälliseen tulkintaan. Määrällistä tulkintaa on esimerkiksi aineen koostumuksen selvittäminen (Osborne & Hindle 1993, Stuart 2004). Näistä syistä NIR-aluetta käytetään useimmissa tutkimuksissa.

Keski-infrapuna-alueen absorptiopiikit nousevat pääosin perusvärähtelyistä. Alue soveltuu myös määrälliseen tutkintaan sekä aineen rakenteen selvittämiseen (Osborne & Hindle 1993). Kaukoinfrapuna-alue taas sisältää vähemmän tietoa kuin muut alueet. Sen alueella esiintyy enemmän raskaiden molekyylien värähtelyn aikaansaamia absorptiopiikkejä (Stuart 2004). Lisäksi sen absorptiopiikit voivat muodostua myös koko molekyylien pyörimisestä ja siksi se soveltuu parhaiten kiinteiden aineiden tulkintaan (Osborne & Hindle 1993).

1.2.3 Infrapunaspektroskopian tarkoitus

Infrapunaspektroskopia on sisällönmäärittämismenetelmä. Käytännössä sen avulla on mahdollista analysoida aineiden yhtä tai useampaa tunnettua rakenneosaa tai selvittää vaikka koko sisältö (Brimmer 2001). Yksi mahdollinen sovelluskohde on myös näytteiden puhtauden selvittäminen (Kalliorinne ym. 1988). Yleensä NIRS:n avulla selvitetään tunnettujen aineiden osuuksia tuntemattomista näytteistä. Toisenlainen käyttömahdollisuus on ajan myötä tapahtuvan muutoksen selvittäminen. Tällöin itse näytteen sisältöä ei välttämättä tarvitse selvittää. Tutkittavan aineen infrapunaspektreistä luodaan jatkuva sarja, josta nähdään aineessa mahdollisesti tapahtuva muutos (Brimmer 2001). Näin on tutkittu esimerkiksi leivän pilaantumista (Osborne 2000) ja kasvimateriaalin maatumista (esim. Gillion ym. 1999, Bruun 2005). Kaikenlaisista määrittämissä huolimatta, uusien aineiden tunnistaminen ei todennäköisesti koskaan tule mahdolliseksi NIRS-tekniikalla (Brimmer 2001).

1.2.4 Infrapunaspektroskopian historia

Infrapunasäteet löysi 1800-luvulla Sir William Herschel. Hänen jälkeen infrapunasäteistä kiinnostuivat Abney ja Festing, jotka tekivät ensimmäiset varsinaiset lähi-infrapunasäteilyyn keskittyneet tutkimukset 1800-luvun lopulla (Osborne & Hindle 1993). Yliopistoissa järjestelmälliset infrapunasäteilyn tutkimukset alkoivat vasta 1930-luvulla. Nämä tutkimukset johtivat infrapunaspektroskopian menetelmien kehittymiseen.

Toisen maailmansodan aikana lähi-infrapunaspektroskopian laitteiston kehitys eteni nopeasti ja sodan loppuun mennessä kemianteollisuus osoitti kiinnostua alaa kohtaan (Osborne & Hindle 1993). Lisää edistysaskeleita tuotti Karl H Norrisin 1950-luvulla

johtama tutkimusryhmä, jonka tarkoituksena oli löytää nopea menetelmä maataloustuotteiden arviointiin. Norrisin ryhmä kokeili jo 1960-luvulla mm. viljojen kosteuden määrittämistä ja kananmunien laaduntarkkailua infrapunaspektroskopian avulla (Osborne 2000). Norris tajusi myös tilastollisten monimuuttujamenetelmien vahvuuden infrapunaspektrien tulkinnassa (Tigabu 2003).

Jo 1970-luvulla lähi-infrapunaspektroskopian osoitettiin olevan toimiva menetelmä rehun laadunvalvonnassa ja sitä käytettiinkin 1970-luvun loppuun mennessä järjestelmällisesti viljojen laadun testaamiseen (Osborne 2000). Tämän jälkeen menetelmää tutkittiin ja kehitettiin edelleen. Sille etsittiin myös lisää sovelluskohteita. Eläinravinnon laajamittaiseen arviointiin lähi-infrapunaspektroskopiasta muodostui halpa, tarkka ja nopea keino 1990-luvun loppuun mennessä (Fahey & Hussein 1999).

Aluksi infrapunaspektroskopian avulla tutkittiin lähinnä ravinnon kosteutta, proteiineja tai rasvoja. Nykyään ravintoteollisuus käyttää NIRS-menetelmiä myös elintarvikkeiden ainesosien suhteiden tarkkailuun, kuten myös edelleen laadunseurantaan, tuotantoketjujen eri vaiheissa (Osborne 2000, Brimmer 2001). Tänä päivänä lähi-infrapunaspektroskopia on saavuttanut hyväksytyt analysointimenetelmän aseman esim. ravintoteollisuudessa ja maataloudessa. Sitä käytetään myös lääketieteessä ja farmasian alalla. Uusien sovellusten ja standardien kehittäminen sekä menetelmän tutkimus jatkuu edelleen sekä vanhoilla että uusilla aloilla.

1.2.5 Millä infrapunaspektrejä mitataan?

Infrapunaspektrejä mittaavia laitteita kutsutaan infrapunafotometreiksi, infrapunaspektrometreiksi tai infrapunaspektroskoopeiksi, joista viimeksi mainittua termiä käytän tässä työssä. Nykyään infrapunaspektroskoppien kirjo on hyvin laaja, sillä niitä on kehitelty lukuisiin erilaisiin käyttötarkoituksiin. Onnistuneet infrapunaspektrien mittaukset riippuvatkin onnistuneesta laite- ja menetelmävalinnasta sekä näytteiden huolellisesta käsittelystä.

Infrapunaspektroskoopeja käytetään laboratoriossa tutkimuksen tekemiseen, tehtaissa linjastomittauksiin sekä maastossa paikan päällä tapahtuviin mittauksiin. Näihin kaikkiin

tarkoituksiin on suunniteltu ihanteellisesti toimivia laitteita monien valmistajien toimesta. Laboratoriokäyttöön tarkoitettut laitteet toimivat usein koko lähi-infrapuna- ja näkyvän valon alueella, kun taas esim. linjastomittauksiin tarkoitettut tai kannettavat kenttälaitteet saattavat toimia vain muutamilla aallonpituuksilla (Osborne & Hindle 1993). Kaikissa laitteissa on periaatteessa samat perusosat (kuva 2) eli säteilynlähde, aallonpituuksien valitsin, näytteen asetin ja tunnistin, joka kerää heijastuneet aallonpituudet sekä ilmaisim, joka tuo tiedot havaittavaan ja muokattavaan muotoon (Tibagu 2003). Tietokoneilla on suuri rooli infrapunaspektroskopiassa. Niillä muokataan, tutkitaan ja tulkitaan spektrejä, jotta haluttu tieto saadaan selville. Tietokoneiden nopea kehitys onkin jouduttanut infrapunaspektroskopian menetelmien kehitystä.

Infrapunaspektroskooppeja voidaan luokitella paitsi käyttötarkoituksen myös toimintaperiaatteen mukaan. Vanhoissa ns. hajottavissa menetelmissä säteet hajotetaan prismoilla ja tarvittaessa rajataan tarkemmat aallonpituusalueet suotimilla. Tätä menetelmää voidaan käyttää, kun tarvitaan nopeasti tietoa näytteen muutamasta ominaisuudesta, esim. proteiinein osuudesta (Osborne & Hindle 1993). Tällaiset ainoastaan prismoilla ja suotimilla toimivat laitteet ovat hyvin pitkälti poistuneet käytöstä. Ne on suureksi osaksi korvattu diodisädemenetelmillä tai menetelmillä, joissa voidaan tutkia koko spektriä tehokkaasti (Tibagu 2003). Diodisädemenetelmissä säteilynlähde toimii samalla aallonpituuksien valitsijana. Lähteinä toimivat laserit, laserdiodit tai led-valot, mitkä tuottavat kapea-alaisen, mutta voimakkaan säteen (Tibagu 2003). Diodisädemenetelmät ovat halpoja ja todella nopeita. Niitä kannattaakin suosia linjastomittauksissa, joissa näytteenottoahti on nopea ja näyttemäärät suuria (Osborne 2000). Lisäksi nämä menetelmät kuluttavat vähän energiaa (Tibagu 2003).

Monimutkaisemman ja tarkemman hajottavan menetelmän tarjoaa monokromaattori, joka on oikeastaan yksikertaisesta prismasta monimutkaisempi versio. Menetelmässä säteet suunnataan sisään monokromaattoriin, jossa ne heijastetaan koveran peilipinnan kautta prismaan tai suotimeen. Prisma tai suodin hajottaa säteet halutulla tavalla. Tämän jälkeen ne heijastetaan uudestaan peilin kautta, mutta nyt kapean aukon kautta ulos monokromaattorista näytteeseen. Monokromaattorin avulla voidaan hyödyntää näkyvän valon ja infrapuna-alueen spektrejä.

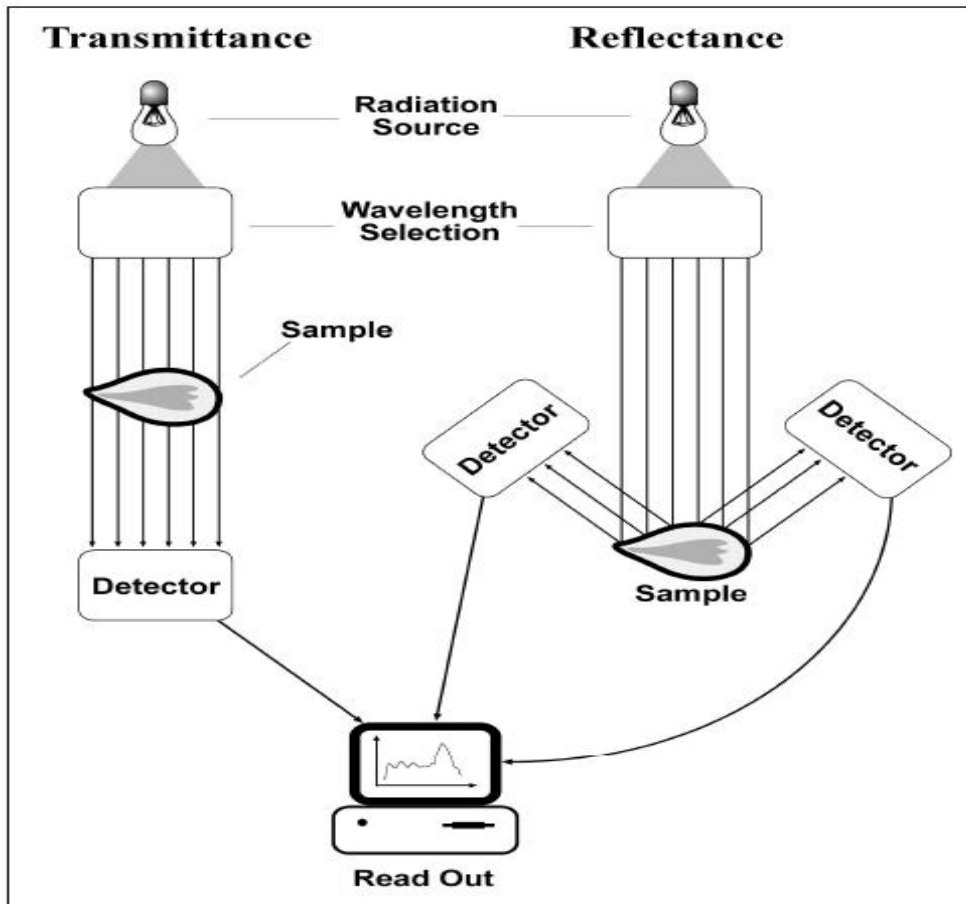
Interferometrin avulla taas kyetään tutkimaan samalla kertaa koko infrapunaspektriä sekä huomiomaan taustasäteily. Interferometri yhdistää monokromaattorin tms. vastaavan säteilyä hajottavan laitteen eriaikaisiin säteisiin. Eri aikaisten säteiden vaihe-erosta mitataan todellinen spektri esim. Fourier-muunnoksien avulla (Stuart 2004, Osborne & Hindle 1993). Interferometrejä on erilaisia, Michelsonin, Fabry-Perotin sekä erityiset FTIR-laitteet (Fourier transform infrared) (Tibagu 2003). FTIR:n kehitystä voidaan pitää infrapunaspektroskopian suurimpana kehityskaskelena. FTIR-spektroskopia on huomattavasti parantanut spektrien laatua ja vähentänyt tutkimuksen tekemiseen kuluva aikaa (Stuart 2004). Se onkin tällä hetkellä useimmiten tutkimuksessa käytetty menetelmä. Tekniikan kehittyttyä tämä menetelmä on yleistynyt ja siitä on tullut erityisen suosittu tutkimuksen piirissä.

FTIR-menetelmän periaatteita voidaan käyttää hyväksi myös ATR (attenuated total reflectance) -menetelmän kanssa. ATR-menetelmässä timantin sisäisillä heijastuksilla ohjataan infrapunasäde oikeassa kulmassa suoraan näytteen pintaan. Timantti ohjaa myös näytteestä takaisin heijastuneet säteet tunnistimeen koottavaksi (Söderström, M. T. 2005). ATR on nykyisin hyvin suosittu menetelmä, koska se on yksinkertainen ja nopea (Stuart 2004). Tässä tutkimuksessa käytetään FTIR ja ATR -menetelmiä.

Osin muusta laitteistosta riippuen tai siitä riippumatta voidaan vielä valita läpäisy- (transmission) ja heijastusmenetelmä (reflectance) (kuva 2). Läpäisymenetelmässä infrapunasäteet ohjataan kulkemaan koko näytteen läpi, jolloin niitä absorboituu koko näytteen massaan. Tämä menetelmä toimii kaasuille, nesteille sekä kiinteille aineille (Stuart 2004). Läpäisymenetelmää ei kuitenkaan voida käyttää infrapunasäteitä läpäisemättömälle, liian paksuille tai tiiviille aineille.

Heijastusmenetelmässä infrapunasäteet lähetään näytteeseen, joka heijastaa ne takaisin. Tässä menetelmässä säteet tunkeutuvat vain näytteen pintaan. Menetelmää käytettäessä tulee siis tehdä oletus, että koko näyte on yhdenmukaista (Brimmer 2001). Heijastusmenetelmää käytettäessä tutkittava aine ei saa hajoittaa säteitä liikaa, jotta niistä voidaan vielä koota luotettava spektri (Osborne 2000). Menetelmävalintaa tehtäessä

tuleekin ottaa huomioon näytteen ominaisuudet ja olomuoto; esim. kaasuja ei ole lainkaan mahdollista tutkia heijastusmenetelmällä. Monesti on kuitenkin vain makuasia, kumpaa menetelmää käytetään.



Kuva 2. Läpäisy- (transmittance) ja heijastusmenetelmien (reflectance) periaatteet. Kuvassa näkyy infrapunaspektroskoopin perusosat eli säteilynlähde (radiation source), aallonpituuksien valitsin (wavelength selection), näyte (sample), tunnistin (detector) ja ilmaisain (read out), joka tuottaa tiedon ulos laitteesta. (kuva Tibagu 2003)

1.2.6 Infrapunaspektrin mittaaminen

Infrapunaspektroskopiassa säteilytetään tutkittavaa kohdetta halutuilla aallonpituuksilla. Kohde absorboi sidoksiinsa osan säteilystä ja päästää loput lävitseen tai heijastaa pois. Näytteen läpäisseet tai siitä heijastuneet säteet kerätään vastaanottimeen (kuva 2). Tämän jälkeen säteistä koostetaan intensiteetin arvot aallonpituuksittain. Noita arvoja voidaan tulkita joko spektrikuvana (kuva 3) tai lukujonona. Lukujono voidaan ilmaista aallonpituuksina tai aallonnumeroina. Ekologisessa tutkimuksessa aallonpituudet ovat vielä

usein käytettyjä, kun taas suurin osa kaupallisista laitteista antaa spektrin aallonnumeroina (Stuart 2004). Infrapunaspektrien mittaaminen on usein helppoa eikä vaadi erityisosaamista. Näytteiden muokkaus ennen spektrien mittaamista on useimmiten vähäistä sekä käsittelemättömän näytteen tutkiminen on myös mahdollista. Tosin jonkin tasoinen käsittely on usein, ainakin kiinteillä aineilla, välttämätöntä (Brimmer 2001). Monesti kiinteät aineet kuivataan, jauhetaan tasaiseksi jauheeksi ja ainakin ennen puristettiin tableteiksi seosaineen kanssa. Tablettien puristaminen on kuitenkin aikaa vievää eikä uusilla tekniikoilla välttämätöntä.

Infrapunaspektroskopia on hyvin herkkä monille vaikeasti hallittaville tekijöille, kuten lämpötila, kosteuden muutokset sekä näytteen kokorakenne ja tasalaatuisuus. Siksi on tärkeää, että näytteet esikäsitellään ja säilytetään samalla tavalla ennen spektrien mittaamista. Näytteiden esikäsitelyillä on aina vaikutusta näytteisiin, joten niitä tulisi tehdä mahdollisimman vähän. Vähäinen esikäsitely on myös helppo toistaa samalla tavalla.

1.2.7 Infrapunaspektrin suora ja epäsuora tulkinta

Kovalenttisten sidosten aiheuttamat absorptiopiikit ovat erimuotoisia, erikokoisia ja sijoittuvat eri kohtiin spektrillä. Piikit voivat sijoittua erilleen osaksi tai kokonaan päällekkäin toistensa kanssa (Tibagu 2003). Infrapunaspektrikäyrän tulkitsemisen kannalta merkittäviä tekijöitä ovat absorptiopiikkien koko ja muoto sekä sijainti toisiinsa nähden (Pavia 2001). Mitä mutkikkaampi spektri on, sitä enemmän se sisältää tietoa ja sen antoisampi se on tutkia.

Beer-Lambertin-lain mukaan sähkömagneettisen säteilyn absorboitumisen määrä riippuu absorboivien molekyylien määrästä (Kalliorinne ym. 1988). Jos absorptiopiikkien sijainnit sekä aineiden sidoskoostumukset ovat tunnettuja, voidaan spektrin muodoista päätellä mitä aineita näyte sisältää. Käytännössä monien aineiden sisältämät sidossuhteet ja sidosten sijainnit ovatkin selvitetty (Foley ym. 1998). Näistä tunnetuista spektreistä on muodostettu kirjastoja. Tutkittavien aineiden spektrejä voidaan verrata näihin kirjastoihin ja siten selvittää aineen sisältö. Tämä on infrapunaspektrien suoraa tulkintaa. Useimmat kaupalliset infrapunaspektroskoopit ja infrapunaspektrienkäsittelyohjelmistot sisältävät valmiiksi

jonkintasoisen kirjaston (Söderström 2005). Vaikka spektrejä on tallennettu kirjastoihin paljon, ovat ne kuitenkin aina rajallisia. Infrapunaspektroskopian avulla tutkittavat aineet voivat myös olla hyvin monimutkaisia. Lisäksi aineiden kemiallinen vaihtelu ja säteilyn hajonta saattavat muuttaa hieman Beer-Lambertin -lain mukaista spektriä (Osborne & Hindle 1993). Tällöin suora tulkinta on vaikeaa tai voi epäonnistua. Suoraa tulkintaa hankaloittaa myös absorptiopiikien päällekkäisyys. Oikeastaan vain muutamilla spektrin alueilla absorptiopiikit ovat ainoastaan yhden toiminnallisen ryhmän aikaan saamia (Foley ym. 1998). Suoraa tulkintaa voidaan käyttää vain yksinkertaisten aineiden tutkimiseen. Monimutkaisten aineiden tutkimiseen tarvitaan muitakin keinoja.

Toinen keino on infrapunaspektrien epäsuora tulkinta. Siinä infrapunaspektrien sisältämää tietoa yritetään selvittää tunnetun vertailuaineiston ja kalibrointimallin avulla. Kalibrointimallilla voidaan ennustaa tuntemattomien näytteiden määrällisiä ominaisuuksia, kuten massasuhteita (Martens & Næs 1991). Epäsuoraa tulkintaa voidaan käyttää todella monimutkaistenkin näytteiden tulkinnassa.

1.3 Kalibrointimallit

1.3.1 Mallinnuksen periaate

Kalibrointimalli selittää regressioyhtälöllä vertailuaineiston näytteiden mitatun sisällön ja infrapunaspektrien yhteyttä. Tällaisilla kalibrointimalleilla voidaan ennustaa esimerkiksi tunnetun aineen massaa tuntemattomasta näytteestä infrapunaspektrin avulla (Shenk and Westerhaus 1993 julkaisussa Foley ym 1998). Tässä tutkimuksessa kalibrointimallit luodaan eri kasvilajien juurten massasuhteiden ja lähi-infrapunaspektrien välille.

Infrapunaspektriaineistot ovat laajoja, joten niiden kalibrointimallit luodaan usein monimuuttujamenetelmien avulla. Menetelmiä on useita erilaisille aineistoille sopivia. Esimerkiksi MLR (multi linear regression) on menetelmä, joka soveltuu muutamien aallonpituuksien analysointiin. Laajempia spektrialueita voidaan tutkia PCR:n (principal component regression) ja PLSR:n (partial least squares regression) avulla (Foley ym. 1998). Nämä menetelmät käyttävät hyväkseen pääkomponenttianalyysin (PCA) periaatteita ja tiivistävät aineiston sisältämää tietoa pääkomponentteihin (PC). Näytteen sisällön lisäksi monimuuttujamenetelmillä voidaan huomioida erilaisia kemiallisia tai fysikaalisia

näytteistä riippumattomia tekijöitä. Näitä ei muilla tutkimusmenetelmillä kyetä huomioimaan (Martens & Næs 2001). Tällaisia on esimerkiksi tutkimustilan lämpötila ja kosteus. Näiden vaihtelulla on vaikutusta infrapunaspektriin, joten niiden huomioimiseen on hyvä olla mahdollisuus.

PLSR on nykyään hyvin yleisesti käytetty mallinnusmenetelmä infrapunaspektri-analyseissa. Sitä käytetään tässäkin tutkimuksessa. Sen avulla pystytään käsittelemään riippuvuuksia sisältäviä aineistoja sekä havaitsemaan monia vastemuuttujia. Lisäksi sen avulla voidaan havaita mahdolliset virheelliset arvot sekä analysoida puutteellistakin aineistoa. PLSR-menetelmän tuloksia on helppo tulkita matemaattisesti, kuten myös visuaalisesti (Tibagu 2003). PLSR-menetelmässä luodaan PLS-komponentteja, jotka tiivistävät vaihtelua. Näiden pääkomponenttien avulla lasketaan varsinainen ennustuskykyinen kalibrointimalli. Nämä PLS-komponentit muistuttavat pääkomponentti-analyysin pääkomponentteja, joten yksinkertaisuuden vuoksi PLS-komponentteja kutsutaankin tässä tutkimuksessa pääkomponenteiksi.

PLSR-menetelmiä on kaksi erilaista. PLS1-menetelmä, jolla käsitellään yhtä vastemuuttujaa kerrallaan ja PLS2-menetelmä, jolla kyetään huomioimaan useita vastemuuttujia samaan aikaan. Sen käyttäminen on suositeltavaa, kun on olemassa useampia muuttujia. Näistä menetelmistä ei voida yksiselitteisesti sanoa parempaa, vaan käyttökelpoisuus vaihtelee sovelluskohteen ja aineiston mukaan. Yleisesti PLS2-menetelmää käytettäessä taustahäiriöt vaimenevat ja aineiston kokonaisuuden ymmärtäminen parantuu. PLS2 on hyvä menetelmä, silloinkin kun muuttujien tiedetään korreloivan heikosti keskenään (Martens & Næs 1991). Tässä tutkimuksessa on monia vastemuuttujia eikä niiden välisiä korrelaatioita tunneta. Näistä syistä PLS2-menetelmää on hyvä hyödyntää tässä tutkimuksessa.

PLS2-menetelmä on monimutkaisempi kuin PLS1-menetelmä, mikä saattaa aiheuttaa hankaluuksia mallien onnistumiselle. PLS1-menetelmää suositellaan yleisesti lopullisten mallien luontiin, vaikka PLS2-mallitkin voivat olla yhtä suorituskykyisiä kuin PLS1-mallit. PLS2-mallit ovat vahvoilla erityisesti kun taustahäiriöt ovat vertailuaineistossa

ongelma (Martens & Næs 1991). Kumpaa mallia loppujen lopuksi on hyödyllisempää käyttää on aineistosta riippuvaista.

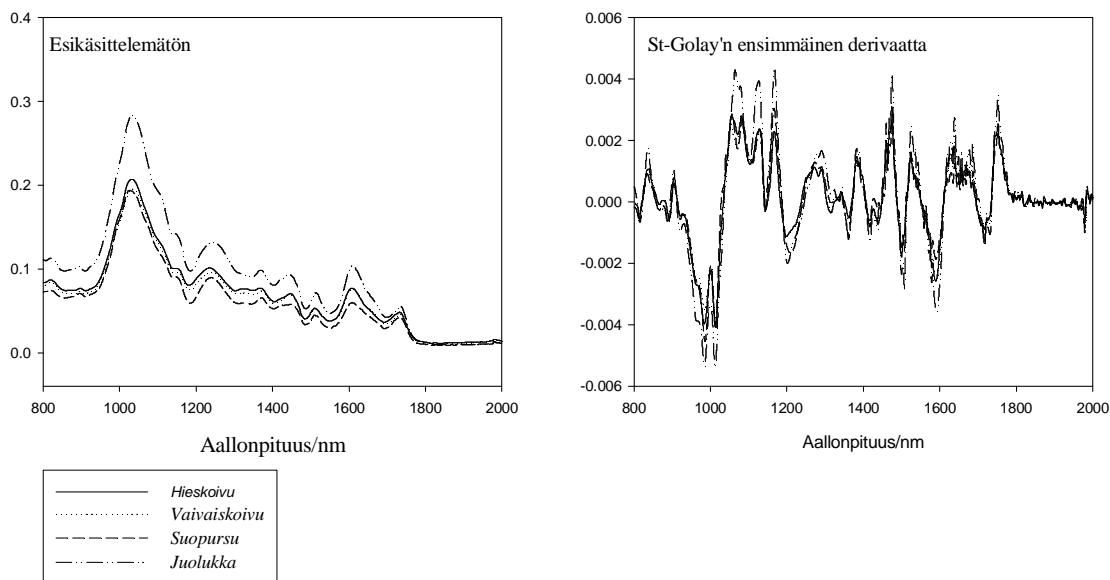
1.3.2 Kalibrointimallin suorituskyvyn parantaminen

Kalibrointimallien suorituskykyyn vaikuttaa monta tekijää. Yksi näistä on mitatuissa spektreissä mahdollisesti oleva rakenteellinen häiriö. Tämä häiriö voi aiheutua itse näytteistä, näytteiden esikäsittelystä, mittaamisesta tai mittalaitteistosta (Tibagu 2003). Matemaattisesti esikäsittelymättömät spektrit sisältävät monesti näytteen sisällöstä riippumatonta vaihtelua. Tämän vaihtelun merkitys saattaa nousta suuremmaksi kuin tutkittavien muuttujien aiheuttama vaihtelu. Spektrien mittaamisen jälkeen näitä häiriöitä voidaan yrittää tasoittaa erilaisilla matemaattisilla esikäsittelyillä. Yksi tavallinen matemaattinen esikäsittely tapa on aineiston derivointi (Tibagu 2003). Derivointitapoja on erilaisia. Savitzky-Golay'n derivaatta (kuva 3) muuttaa spektrin ensin polynomiaaliseksi ja sitten derivoi polynomien (Hruschka 1998). Derivointi tasoittaa taustahäiriöitä ja tarkentaa piikkejä (Osborne 2000). Toinen yleisesti käytetty tasoituskeino on liikkuvien keskiarvojen menetelmä, jossa lasketaan halutun segmenttikoon määrittämälle leveydelle spektriä uusi polynomi ilman keskimmäistä arvoa. Uusi keskimmäinen arvo ennustetaan lasketusta polynomista. Näin saadaan jokaiselle aallonpituudelle tasoitettu arvo. Myös splini-funktioilla ja Fourier-muunnoksilla voidaan tehdä esikäsittelyitä (Martens & Næs 1991). Aineiston liian voimakkailla matemaattisilla esikäsittelyillä ja liian monen aineiston vaihtelua selittävän pääkomponentin käytöllä malli voidaan ylisovittaa. Ylisovitetulla mallilla ei voida tehdä harhattomia ennustuksia (Martens & Næs 1991).

Matemaattiset esikäsittelyt ovat hyvä tapa parantaa aineistoa. Varmempi tulos kuitenkin saadaan, kun häiriötekijät minimoidaan ennen spektrien mittaamista. Spekttrinäytteiden käsittelyt tulee suorittaa aina samalla tavalla ja samoissa olosuhteissa. Spektrien mittaus tulee suorittaa samaa tekniikkaa käyttävillä laitteilla.

Mikäli kalibrointimalli ei ole toimiva, vika voi olla myös vertailuaineiston kattavuudessa ja laadussa tai tutkittavassa näytteessä (Osborne 2000). Luodun kalibrointimallin suorituskyky tulee siis lopuksi varmentaa. Ennen suorituskykyä voitiin todistaa ainoastaan erillisellä varmennusnäytesarjalla. Nykyään käytetään myös ristiinvalidointia (cross

validation). Kun varmennus tehdään erillisellä näytesarjalla, luotuja kalibroitimille kokeillaan tunnetuilla, vertailuaineistoon kuulumattomilla näytteillä. Malli suoriutumista ennustuksista arvioidaan. Varmennusnäytteitä on tehty yleensä 6 - 100 kpl, kuitenkin siten että varmennusnäytteet kattavat koko tutkittavan alueen (Hrusckha 1998). Ristiinvalidoinnissa mallinnuksen vertailuaineiston näytesarja jaetaan alaryhmiin. Alaryhmä kerrallaan poistetaan ja jäljelle jääneiden ryhmien avulla ennustetaan poistetuille uudet arvot. Kaikki ryhmät poistetaan vuorollaan, jolloin ennustetuista arvoista saadaan kokonaan uusi malli. Tämän varmennusmallin tulee olla kalibroidun mallin kaltainen. Vielä joskus on tarkoituksenmukaista käyttää erillistä varmennussarjaa ristiinvalidoinnin ohella (Foley ym. 1998).



Kuva 3. Esikäsittelemättömiä ja St-Golayn ensimmäisen derivaatan esikäsitteilymenetelmällä käsiteltyjä infrapunaspektrikäyriä.

1.4 Infrapunaspektroskopian etuja ja ongelmia

Infrapunaspektroskopian on monesti ehdotettu olevan tarkempi menetelmä kuin edeltäjänsä (Foley ym. 1998). Itsessään menetelmä voikin olla perinteisiä menetelmiä tarkempi, mutta ainakin epäsuoraa tulkintaa käytettäessä tarvitaan usein myös vanhoja tapoja. Vertailuaineisto määritetään aina jollakin toisella menetelmällä. Infrapunaspektroskopian avulla on tällöin mahdotonta päästä tätä toista menetelmää tarkempaan analyysiin. Kalibroitimallia voidaan pitää hyvin onnistuneena, mikäli sen

virhe on lähellä vertailuaineiston tuottamiseksi käytetyn menetelmän virhettä (Foley ym. 1998, Williams & Norris 2001).

Perinteisissä menetelmissä joudutaan monesti myös käyttämään terveydelle haitallisia tai ympäristölle myrkyllisiä kemikaaleja (Brimmer 2001). Infrapunaspektroskopian näytteiden vähäinen esikäsittely ja perinteisistä laboratorioanalyseista suurimmaksi osaksi luopuminen poistaa haitallisten kemikaalien käytön melkein kokonaan (Foley 1998). Perinteiset analyysit tehdään vain kerran vertailuaineiston tuottamista varten.

Vanhoissa menetelmissä tutkittavaa näytettä ei pääsääntöisesti voida käyttää uudestaan. Infrapunaspektroskopiassa tämä on periaatteessa mahdollista, sillä infrapunaspektroskopia voidaan toteuttaa rikkomatta tutkittavan aineen rakennetta (Osborne 2000, Brimmer 2001). Tosin infrapunaspektroskooppeihin tarvitaan näytettä hyvin vähän (Artz ym. 2008), vähimmillään päästään 1 - 2 mg:n näytteillä, joten näytteellä ei välttämättä muutenkaan olisi uusiokäyttömahdollisuutta.

Kalibrointimallia luotaessa tulee tarkoin määrittää sen haluttu toimivuusalue. Tämä saattaa olla hankalaa, erityisesti ekologisissa sovelluksissa. Mallin vertailuaineiston tulee kattaa koko toimivuusalue. Tämän vertailuaineiston kerääminen voi olla suuritöistä ja hankalaa. Tavoiteltavan kalibrointimallin toimivuusalueen laajuus riippuu mallinnettavasta kohteesta ja vaihtoehtoisten tutkimusmenetelmien kustannuksista. Toisaalta kalibrointimallin kannattaisi olla mahdollisimman kattava, mutta sellaisen luominen ei aina ole mahdollista. Suppea malli on helpompi luoda. Mallin luomista suunniteltaessa onkin syytä pohtia, halutaanko suppea ja tarkka malli vai epätarkempi malli, jota voidaan käyttää laajemmalla alueella (Lawler ym. 2005). Kaikkien tavoitteiden saavuttaminen yhdellä kertaa on hankalaa. Laajemmalla mallilla on enemmän käyttökohteita, jolloin sen luomiseen kannattaa käyttää enemmän resursseja. Toisaalta laajasti käytettävien mallien käytännön hyödyntämistä haittaa laitteistojen erilaisuus, esimerkiksi käytettävien aallonpituuksien suhteen (Williams & Norris 2001, Osborne 2000).

Infrapunaspektroskopian hyötyjen suuruus riippuu lähinnä testattavien näytteiden määrästä sekä vaihtoehtoisten testausmenetelmien hinnasta ja toteuttamisen vaikeudesta, esimerkiksi

kemiallisten ominaisuuksien määrittäminen ovat monesti monimutkaisia ja työläitä. Ne voitaisiin korvata infrapunaspektroskopian sovelluksella. Joskus taas ei ole olemassa kunnollista suuressa mittakaavassa toteutettavaa perinteistä tutkimusmetodia, jota voitaisiin käyttää (Martens & Næs 2001). Tällöin infrapunaspektroskopian mahdollisuuksia kannattaa myös tutkia.

1.5 Infrapunaspektroskopian mahdollisuudet ekologiassa

Ekologisessa tutkimuksessa infrapunaspektroskopiaa on yleensä käytetty ravinteiden ja muiden yksinkertaisten yhdisteiden määrittämiseen. Kohteena on yleensä ollut jonkin tyyppinen kasvimateriaali esim. karike (esim. Bruun ym. 2005, Vávřová ym. 2008) Vávřová ym. (2008) selvittivät karikkeen kemiallisia ominaisuuksia tähtäimenään turvemaiden hajotuksen tutkiminen. Lawner ym. (2005) tutkivat meriruohojen lehtien ja juuriston kemiallisia eroja. Artz ym. (2008) puolestaan tutkivat FTIR:n mahdollisuuksia turpeen orgaanisen materiaalin laadun tarkkailussa. Heidän tulokset mukaan FTIR sopii hajoamista kuvaavan C/N-suhteen ja hiilihydraattien tarkkailuun. Tosin he eivät saaneet malleilleen riittävän korkeita korrelaatioita, jotta niitä olisi voinut suositella tarkkaan määrittämiseen. Toisenlaisena tutkimuskohteena infrapunaspektroskooppisilla tutkimuksilla on ollut maaperän biologisten ja kemiallisten ominaisuuksien selvittäminen. Menetelmän on todettu olevan lupaava tämän kaltaisessakin sovelluksessa (Terhoeven-Urselmans ym. 2008). Ekologisissa tutkimuksissa on pääsääntöisesti saatu hyviä tuloksia infrapunaspektroskopian toimivuudesta. Tosin tutkimusten määrä on vielä verrattain vähäinen ja toistaiseksi tutkimukset keskittyvät monesti metodin toimivuuden todistamiseen. Foley ym. (1998) pitävät infrapunaspektroskopian mahdollisuuksia suurina ekosysteemien ja muiden monimutkaisten kokonaisuuksien tutkimisessä.

Vaikka NIRS-menetelmä vaikuttaa jo nyt lupaavalta, sen käytöllä tiedetään olevan tiettyjä ongelmia nimenomaan ekologisissa sovelluksissa. Yksi näistä on kattavan vertailuaineiston aikaansaaminen. Luonnossa esiintyvä vaihtelu on suurta ja osin tuntematonta. Kaikki tämä vaihtelu tulisi saada vertailuaineistoon. Ekologisen mallin kattavan vertailuaineiston rakentaminen voi osoittautua hyvin hankalaksi ja aikaa vieväksi. Nämä vertailuaineiston kattavuuteen liittyvät ongelmat aiheuttavat edelleen ristiriitoja ja tästä syystä

infrapunaspektroskopia ei ole vielääkään saavuttanut kaiken tahojen ehdotonta hyväksyntää esimerkiksi viljojen kasvatustarkkailussa (Osborne 2000).

Toinen infrapunaspektroskopian ekologinen ongelma on tutkittavien muuttujien kemialliset erot. Mallien onnistumiseksi muuttujien erojen tulisi olla riittävän suuria muuttujien välillä, kun taas vaihtelun tutkittavan yksikön sisällä tulisi taas olla riittävän pientä, jotta kaikki variaatiot voidaan tunnistaa samaksi muuttujaksi. Ekologisessa tutkimuksessa muuttujien luonnollinen vaihtelu voi olla suurta. Riittävien suuruuksien määrä taas on hankala tietää ennen mallien luomista. Esimerkiksi lajeja tutkittaessa tulee selvittää, onko kemiallinen vaihtelu kasvilajien sisällä riittävän pientä ja lajien välillä riittävän suurta, jotta lajit on mahdollista erottaa toisestaan. Ravinteiden ja muiden lajeja yksinkertaisempien kokonaisuuksien kohdalla vaihtelun ja erojen suuruudet vaikuttaisi olevan kohtuullisen hyvin todistettu.

Kasvilajien massasuhteiden määrittämisessä vertailuaineiston tulee kattaa koko kasvilajin kemiallinen vaihtelu sen kasvuympäristöstä huolimatta. Roumet ym. (2006) ovat tutkineet, kuinka luotettavaa kasvien juurten massasuhteiden lajilleen määrittäminen lähi-infrapunaspektroskopian avulla on. Heidän tutkimuksessa verrataan lajintunnistus mahdollisuuksia NIRS:n sekä perinteisen määrittämismenetelmän välillä. Samankaltainen tutkimus on Crouzet'n ym. (2007) tutkimus hienojuuribiomassan määrittämisestä. He tutkivat *Coffea arabican* ja *Inga densifloran* juuristojen lajikohtaisia massoja. Erityisesti tämän kaltaisten viljelylajien juurten kasvutavat on hyvä tietää, jotta niiden kasvumahdollisuuksia voitaisiin parantaa. Kyseisten lajien hienojuuria on miltei mahdotonta erottaa silmämääräisellä arvioinnilla, joten perinteisiä menetelmiä on hankala toteuttaa. Crouzet'n ym. (2007) tutkimuksissa saatiin juurille laadukkaat kalibrointimallit, joilla toteutettiin alueella olevan juuriston massan laskenta. Tätä tutkimusta voidaan pitää onnistuneena tuon paikan osalta, mutta mikäli tutkimuksen mallia haluttaisiin hyödyntää muillakin viljelymilla, tulisi vertailuaineisto laajentaa kattamaan ainakin muunlaisia viljelymaita.

Ekologisissa sovelluksissa on erityisen tärkeää pohtia onko infrapunaspektroskopian käyttö todellisuudessa kannattavaa vai olisiko tarkoituksenmukaisempaa pysyä vanhoissa määrittämismetodeissa. Tulee muistaa myös, että infrapunaspektroskopiolla ei päästä

tarkempiin tuloksiin kuin vertailumenetelmällä. Joskus näytteiden perinteinen laboratorioanalysointi voi olla halvempaa ja nopeampaa. Tämä korostuu erityisesti, kun testattavat näytemäärät eivät ole suuria ja testauskohteessa esiintyy suurta vaihtelua.

Infrapunaspektroskopiolla näyttää olevan edellytys toimia nopeammin ja tarkemmin kuin perinteisillä epäsuorilla biomassan määritysmenetelmillä. Siksi sen käytön mahdollisuuksia lajikohtaisessa massasuhteiden ennustamisessa onkin syytä tutkia. Jatkotutkimusta tarvitaan erityisesti monilajisten kalibrointimallein saralla.

1.6 Tutkimuksen tarkoitus

Tämän tutkimuksen tarkoituksena on selvittää puiden ja varpujen juurten lajikohtaisten massasuhteiden määrittämisen mahdollisuuksia infrapunaspektroskopian avulla. Infrapunaspektroskopian hyödyntäminen perustuu kasvien juurten erilaisiin kemiallisiin koostumuksiin. Kasvien juurissa oletetaan olevan kemiallisia eroja, mutta niiden suuruuksista ei olla varmoja. Kalibrointimallien luontia on siis syytä kokeilla. Tässä tutkimuksessa pyritään luomaan kalibrointimallit, joiden avulla monilajisten erottelemattomien maanäytteiden juurten lajikohtaisia massasuhteita on mahdollista ennustaa. Mikäli kalibrointimallit saadaan ylipäätään toimiviksi, tutkitaan menetelmää hieman syvällisemmin. Luoduille kalibrointimalleille etsitään parhaat mahdolliset matemaattiset spektrien esikäsittely- ja mallinnusmenetelmät.

Tarkoituksena on vielä selvittää onko lajitasoinen tutkimus ainoa järkevä vaihtoehto vai voidaanko juuret jakaa vielä lajeittain läpimittaluokkiin. Läpimittaluokkiin jakaminen voisi olla hyödyllistä, sillä hieno- ja paksujuurilla on erilaiset kasvuominaisuudet. Alkuoletuksena on, että NIRS-menetelmällä voidaan erottaa toisistaan lajit ja läpimittaluokat 0 - 2 mm sekä 2 - 5 mm toisistaan. Näitä kalibrointimalleja voitaisiin hyödyntää tulevaisuudessa juuritutkimuksessa.

2 Aineisto ja menetelmät

2.1 Juurimateriaalin kokoaminen

Juurimateriaali kerättiin 19.5.2008 Lopen Kalevansuolta (N 60°38'59", E 24°21'23", korkeus merenpinnasta 129 m). Kalevansuo on ojitettu vuonna 1969 ja sen tämän hetkinen kasvupaikkatyyppi on varputurvekangas. Suon puusto koostuu pääosin männystä (*Pinus sylvestris*) sekä pienikokoisesta hieskoivusta (*Betula pubescens*). Pintakasvillisuus koostuu lähinnä rämevarvuista.

Tutkimusta varten kerättiin juuria kahdelta puulajilta; hieskoivu ja mänty sekä kuudelta varpulajilta; juolukka (*Vaccinium uliginosum*), kanerva (*Calluna vulgaris*), mustikka (*Vaccinium myrtillus*), suopursu (*Ledum palustre*), vaivaiskoivu (*Betula nana*) ja variksenmarja (*Empetrum nigrum*). Nämä lajit ovat yleisiä sekä turvekankailla.

Juuret irrotettiin mahdollisimman suurina kokonaisuuksina, jotta mukaan saataisiin juurimateriaalia kasvin tyveltä hienojuurten päähän asti. Irrottaminen tapahtui käsin sekä lapion avulla. Jokaista lajia irrotettiin useita yksilöitä, jotta näytteisiin saatiin vaihtelua lajien sisälle. Lopullisessa erottelussa mukaan otettiin vain sellaiset juuret, jotka olivat kiinni tunnistettavassa kasvissa. Tällä toimenpiteellä varmistettiin juurien varma lajikohtainen tunnistaminen. Juuret kerättiin noin kolmen aarin alalta. Tutkimukseen kuluvan juurimassan määrästä ei ollut täyttä varmuutta, joten juuria pyrittiin keräämään jokaista lajia kohtuullinen määrä.

Tässä tutkimuksessa luotiin kalibrintimallit, joidenka tarkoitus on helpottaa käytännöntutkimusta. Perinteisessä juuritutkimuksessa juurien erotteleminen taustamateriaalista on yksi työläimmistä työvaiheista. Niinpä näihin kalibrintimalleihin sisällytettiin taustamateriaalia. Tutkimus koski turvemailla kasvavia lajeja, joten taustamateriaaliksi otettiin turve. Tutkimuksen turve kairattiin Oriveden Lakkasuolta lokakuussa 2008 syvyydeltä 60 - 95 cm. Kalibrintimalleja haluttiin testata haastavammalla taustamateriaalilla, joten taustamateriaaliksi valittiin saraturve. Sen oletettiin olevan kemiallisilta ominaisuuksiltaan lähempänä tutkimuksen juurimateriaalia

kuin rahkasammalturpeen. Turve oli mesotrofista saraturvetta, joka sisälsi lähinnä kuollutta sarajuuristoa. Se ei sisältänyt yhtään eläviä kasvinosia.

2.2 Juurimateriaalin käsittely

Juurten käsittely aloitettiin heti niiden keräämisen jälkeen. Osa juurista ja turve joutuivat kuitenkin odottamaan käsittelyä muutamia viikkoja. Tämän ajan juuret säilytettiin jääkaapissa alle 5 °C lämpötilassa, jotta niissä tapahtuisi mahdollisimman vähän muutoksia.

Käsittelyssä ensimmäiseksi juuret pestiin hienovaraisesti puhtaiksi turpeesta sekä eroteltiin kasvilajeittain. Pesu tapahtui altaissa ja juoksevan veden alla. Tämän jälkeen tehtiin lajikohtainen jako läpimitan mukaan luokkiin 0 - 2 mm, 2 - 5 mm ja 5 - 10 mm. Läpimittaluokkaa 0 - 2 mm kuivattiin huoneenlämmössä viisi vuorokautta sekä läpimittaluokkia 2 - 5 mm ja 5 - 10 mm 10 vuorokautta. Työmäärän rajaamiseksi läpimittaluokkaa 5 - 10 mm päätettiin jättää tämän tutkimuksen ulkopuolelle. Turvetta kuivattiin uunissa 40 °C:ssa, kunnes siitä ei enää tapahtunut kosteiden haihtumista. Tämä kesti yhdeksän vuorokautta.

Ilmakuivat juuret ja turve jauhettiin Fritsch Pulverisette 6 kuulamylyllä tasaiseksi massaksi. Ennen jauhamista juuret pilkottiin oksasaksilla myllyn kuppiin sopiviksi ja jäähdytettiin nestemäisellä typellä (N₂). Typpeä käytettiin, jotta juurten rakenne rikkoontuisi helpommin ja ne pysyisivät jauhautuessaan viileinä. Kuumeneminen voi muuttaa juurten kemiallista koostumusta. Juuria jauhettiin 30 - 100 minuuttia, kunnes ne jauhautuivat täydellisesti. Jauhamisajat riippuivat juurten paksuudesta ja jauhettavan massan määrästä. Turvetta jauhettiin 30 minuuttia. Jauhosten tasalaatuisuus arvioitiin silmämääräisesti. Jauhamisen jälkeen jauhokset pakattiin ilmatiiviisiin muovipusseihin.

2.3 Juurimateriaalin kosteusprosentti

Vesi absorboi voimakkaasti infrapunasäteilyä, joten sen määrällä on suuri vaikutus infrapunaspektrin muotoon. Juurten kosteus voi olla lajikohtainen ominaisuus, mutta todennäköisemmin sen vaihtelu johtuu lajinäytteiden käsittelystä. Kosteuspitoisuuden tunteminen on siis hyödyllistä, joten juurijauheille mitattiin lajikohtaiset kosteusprosentit 5 - 10 mm läpimittaluokan jauheista. Tätä läpimittaluokkaa ei käytetty mallintamiseen,

mutta se oli esikäsitelty samoin kuin muutkin luokat. Ilmakuivista juurijauheista punnittiin yksi jauhosnäyte lajia kohden, kun taas turpeesta mitattiin neljä eri näytettä. Jauhosnäytteet pidettiin yön yli uunissa 105 °C ja jäädytettiin eksikaattorissa, minkä jälkeen ne punnittiin uudestaan. Painoerosta laskettiin keskimääräinen kosteusprosentti. Juurimateriaalin kosteusprosentin avulla voidaan laskea myös juurten kuivamassat.

2.4 Spektrinäytteiden valmistaminen

Läpimittaluokkien 0 - 2 mm ja 2 - 5 mm juurista sekä turpeesta sekoitettiin 1 - 7 muuttujaa sisältäviä spektrinäytteitä (taulukko 1). Spektrinäytteisiin pyrittiin saamaan mahdollisimman kattava jakauma niin muuttujien välille kuin niiden sisälle massasuhteisiin. Kattavan ja tasapainoisen jakauman toteuttaminen osoittautui erittäin haasteelliseksi eikä siinä onnistuttu täydellisesti. Kuvassa 4 näkyy massasuhteiden jakautuminen muutamien kasvilajien kalibrointimalleissa. Liite 1 sisältää kaikkien spektrinäytteiden lajit massasuhteineen.

Spektrinäytteiden tekeminen aloitettiin luomalla taulukko kaikille mahdollisille kahden lajin yhdistelmien massasuhteille 10 %:in välein. Tämä tehtiin molemmille tutkittaville läpimittaluokille erikseen. Näistä taulukoista valittiin toteutettavat massasuhdeparit. Tämän jälkeen laskettiin juurijauhoksille tavoitemassat joilla tavoiteltaviin suhteisiin päästiin. Nämä massat mitattiin mahdollisimman tarkasti upokkaaseen, jossa spektrinäytteet sekoitettiin huolellisesti tasaiseksi massaksi lasisauvalla. Spektrinäytteiden massasuhteiden valitseminen kehittyi tutkimuksen edetessä, joten massasuhteiden valinta muotoutui lopulta varsin monimutkaiseksi. Tarkempi selostus spektrinäytteiden sekoittamisesta on liitteessä 1.

Spektrinäytteiden pienestä koosta johtuen punnitseminen oli haasteellista eikä tavoiteltaviin massoihin ollut helppo päästä. Todellisen punnitut massat erosivat tavoitemassoista, joten punnituista massoista laskettiin spektrinäytteiden uudet massasuhteet (liite 3). Spektrien mittaamisen jälkeen näytteisiin lisättiin lajeja ja näin saatiin uusia näytteitä. Uusien lajien lisäämistä jatkettiin aina kuuteen lajiin asti. Turve lisättiin viimeisessä vaiheessa.

Taulukko 1. Lajien läpimittaluokkakohtainen esiintyminen spektrinäytteissä. Taulukossa luetellaan ensin kyseisen lajin näytteiden esiintyminen tietyn määrän lajeja sisältävissä näytteissä. Mitä useampia lajeja yhdessä näytteessä on sitä, sitä todennäköisemmin se sekoittuu muihin lajeihin. Viimeisillä kahdella rivillä on lajien esiintyminen läpimittaluokittain sekä kokonaismäärä.

	Vaivaiskoivu		Hieskoivu		Kanerva		Variksenmarja		Suopursu		Mänty		Mustikka		Juolukka	
	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5
Läpimitta/mm																
1 laji	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2 lajia	23	21	22	19	26	24	21	17	16	13	25	16	24	20	23	17
3 lajia	17	23	14	20	17	23	16	22	11	18	16	20	13	25	17	22
4 lajia	13	13	11	13	14	13	13	13	9	11	15	12	10	13	15	12
5 lajia	6	15	6	15	7	16	7	16	2	14	8	16	8	18	6	15
6 lajia	8	18	5	19	8	19	10	19	5	19	8	19	9	21	8	17
Turve	23	57	23	58	29	61	26	59	15	53	26	57	26	66	22	56
Lpm.koht.	91	148	82	145	102	157	94	147	59	129	99	141	91	164	92	140
Lajikoht.		239		227		159		241		188		240		255		232

Aluksi spektrinäytteen kokonaismassassa pyrittiin 60 mg:an. Prosessin aikana spektrinäytteet kuluivat. Toisinaan lisättävää jauhosta oli tarpeen lisätä suuria määriä, jotta uudesta näytteestä tuli riittävän iso spektrin mittaamiseen. Lopulta spektrinäytteiden massa vaihteli 20 – 120 mg välillä.

2.5 Spektrien mittaaminen

Valmiit spektrinäytteet pakattiin valkoisesta kopiopaperista tehtyihin pieniin kirjekuoriin ja säilytettiin kosteuden tasaamiseksi eksikaattorissa yön yli ennen infrapunaspektrien mittaamista. Infrapunaspektrit mitattiin Vertex-infrapunaspektroskoopilla ja Pike MIRacle ATR Crystal -tunnistimella. Spektrinäytettä asetettiin tunnistimeen noin 2 mg. Spektrit mitattiin välillä 650 - 4000 nm. Säteilyn ATR-arvo mitattiin noin 1,9 nm välein. Jokainen mittausta koostui 20 spektristä, joista koostettiin mallinnuksessa käytetty spektri. Lopuksi spektrit muunnettiin ATR-muodosta absorptioiksi. Absorptiospektrit ovat yleisemmin käytössä ja ymmärrettävissä. Lopulliset spektrit koostettiin, käsiteltiin ja tallennettiin Opus 5.5 ohjelmalla.

2.6 Kalibrointimallien arviointi

Kalibrointimallia kuvaa mitattujen ja ennustettujen arvojen välille laskettu regressiosuora. Luotujen kalibrointimallien suorituskykyä arvioitiin näiden regressiosuorien selitysteiden (r^2), kalibrointimallin keskivirheen SEC (Square Error of Calibration) sekä mallin pääkomponenttien määrän suuruudella. Näiden tunnuslukujen lisäksi verrattiin kalibrointi- ja varmennusmallin samankaltaisuutta. Varmennusmallit luotiin ristiinvalidoinnilla. Ristiinvalidointi suoritettiin 20:ssä alaryhmässä, joihin kuhunkin tuli 26 arvottua spektrinäytettä.

Suorituskykyisessä kalibrointimallissa regressiosuoran selitysteen tulee olla mahdollisimman suuri ja pääkomponenttien määrän pieni. Keskivirheiden tulisi taas olla mahdollisimman pienet. Selityste kertoo kuinka hyvin malli selittää vertailuaineiston kokonaisvaihtelua eli käytännössä kuinka ennustusvoimainen malli on. Muut suorituskyvyn arvioinnissa käytetyt tunnusluvut kertovat mallien luotettavuudesta.

Pääkomponenttien määrä kuvaa kalibrointimallin sisältämää vaihtelua. Sen laskeminen nostaa keskivirhettä ja laskee selitystasetta. Pääkomponenttien määrässä parhaana pidettiin ohjelmiston optimoimaa pääkomponenttien määrää. Keskivirhe ei ole tunnuksista vertailukykyisin, sillä sen suuruuteen vaikuttaa myös mukana olevien näytteiden määrä. Näiden ehtojen lisäksi kalibrointimallin ja varmennusmallin tunnuslukujen tulisi olla mahdollisimman lähellä toisiaan, jotta malli ei ole ylisovitettu.

2.7 Kalibrointimallien luonti

Ennen varsinaista mallintamista spektriaineistosta poistettiin alueet, jotka eivät sisältäneet kiinnostavia absorptiopiikkejä tai sisälsivät selvästi havaittavissa olevaa häiriötä. Käsittelyyn jätettiin aallonpituudet 650 - 1774 nm ja 2407 - 3550 nm.

Kalibrointimallit luotiin Camo:n The Unscrambler 9.1.2 monimuuttuja-analyysiohjelmistolla, joka on kehitetty erityisesti spektriaineistojen käsittelyyn. Mallien parantamiseksi kokeiltiin erilaisia esikäsittelyvaihtoehtoja. Esikäsittelyiden ensisijaisena tarkoituksena oli poistaa aineiston häiritsevää ja merkityksetöntä vaihtelua sekä tuoda spektrikäyrien merkitsevät erot paremmin esille. Aikaisemman tutkimuksen perusteella (Vávřová ym. 2008) kokeiltaviksi esikäsittelyiksi valittiin Savitzky-Golay'n ensimmäisen ja toisen derivaatan muunnos sekä liikkuvien keskiarvojen tasoitus (moving average). Molempia derivaattoja kokeiltiin eri segmenttikoilla 2, 3, 4, 5 ja 6. Liikkuvien keskiarvojen -menetelmää kokeiltiin segmenttikoilla 2, 4, 6, 8 ja 10. Segmenttikoko kertoo kuinka monta viereistä spektrin arvoa otetaan mukaan polynomiin, jonka avulla lasketaan keskimmaiselle aallonpituudelle arvolle uusi arvo. Mitä suurempi segmenttikoko on, sitä voimakkaampi esikäsittelyn vaikutus on.

Alustavaa arviota kalibrointimallien suorituskyvystä tehtiin luomalla satunnaisesti kalibrointimalleja esikäsittelemättömällä aineistolla. Nämä näyttivät tunnuslujen arvioinnissa suorituskykyisiltä, joten tarkempaa arviointia varten luotiin esikäsittelemättömälle aineistolle PLS1-mallit läpimittaluokissa 0 - 2 mm ja 2 - 5 mm. Näistä arviotiin kalibrointimallien toimivuutta tässä aineistossa ylipäätään. Tästä eteenpäin

mallien luontia jatkettiin erilaisilla esikäsittelyvaihtoehdoilla, mallinnusmenetelmillä ja läpimittaluokilla muiden tutkimuskohteiden selvittämiseksi.

Esikäsittelyvaihtoehtojen tarkastelun perusteella valittiin kaksi parasta menetelmää. Näillä menetelmillä esikäsitellyille spektriaineistolle, yhdessä esikäsittelemättömän aineiston kanssa, luotiin kalibrointimallit PLS1- ja PLS2 -menetelmillä eri läpimittaluokissa.

Mallintamisessa vastemuuttujina olivat koko ajan kasvilajien massaosuudet, kun taas turvetta pidettiin vastemuuttujana sekä taustamateriaalina. Kalibrointimallit luotiin läpimittaluokille 0 - 2 mm ja 2 - 5 mm sekä näistä yhdistetylle läpimittaluokalle 0 - 5 mm käyttäen eri esikäsittelyvaihtoehtoja. Läpimittaluokan 0 - 2 mm ajatellaan kuvaavan hienojuuria ja 2 - 5 mm paksujuuria. Yhdistelmäluokan 0 - 5 mm ajateltiin kuvaavan lajitasoista tunnistamista. Lajitason luokka tehtiin supistamalla läpimittatieto pois, jolloin spektrinäytteiden määrä tässä luokassa oli huomattavasti suurempi kuin muissa läpimittaluokissa. Näytemäärien eroista huolimatta läpimittaluokkia pidettiin yhdenvertaisina.

Kalibrointimallien tarkastelussa ilmeni selvästi poikkeavia spektrinäytteitä, jotka päätettiin poistaa lopullisista kalibrointimalleista. Havainnot olivat 3S242, 3S108, 1S254, TS017, 1S509 sekä 1S202 (liite 3). Tarkasteluun jäi 527 havaintoa.

2.8 Kalibrointimallien näytekohtainen suorituskyky

Tähän asti käsiteltiin kalibrointimallien suorituskykyä vain tunnuslukujen kautta. Mallin antamia todellisia ennusteita haluttiin myös tarkastella. Tämä tehtiin vertaamalla suopursun mitattuja ja mallin ennustamia massaosuuksia keskenään muutamilta aallonpituuksilta.

Mallien suorituskykyä näytekohtaisen massan ennustamisessa tutkittiin laskemalla yhteen 12:sta spektrinäytteessä ennustetut massaosuudet. Nämä tarkastelut eivät olleet laajoja, mutta kuitenkin suuntaa antavia.

3 Tulokset

3.1 Tutkimusmateriaalin kosteusprosentti

Juuri- ja turvemateriaalin suhteelliset kosteudet ovat taulukossa 2. Jauhosten kosteudenvaihtelu oli hyvin vähäistä, joten se ei voi olla syy lajien välisille eroille. Turpeen kosteus oli kasvilajien kanssa samalla tasolla. Nyt luotujen mallien mahdollisessa laajentamisessa on hyvä huomioida nämä kosteustiedot.

3.2 Kalibrointimallien alustava suorituskyky

Esikäsittelemättömälle aineistolle PLS1-menetelmällä luotujen kalibrointimallien (kuva 4) tunnusluvuista (taulukko 3) tarkasteltiin mallien suorituskykyä ylipäänsä. Näiden kalibrointimallien keskivirheet vaihtelivat 3,54 - 6,75 % välillä ja selitysasteet olivat parhaimmillaan 0,94 ja huonoimmillaan 0,78. Pääkomponenttien määrä vaihteli 11 ja 21 välillä. Lopuksi verrattiin kalibrointimallien ja niiden varmennusmallien tunnuslukuja. Ne olivat hyvin lähellä toisiaan eli mallit eivät olleen ylisovitettuja. Edellä mainituista tekijöistä voidaan päätellä, että kalibrointimallit ovat varsin suorituskykyisiä näillä käsittelyillä. Mallien edelleen kehittäminen katsottiin kannattavaksi.

Taulukko 2. Näytteisiin käytettyjen juurijauheiden ja turpeen suhteelliset kosteudet.

Muuttuja	Kosteusprosentti
Vaivaiskoivu	5,6
Hieskoivu	5,8
Kanerva	5,8
Variksenmarja	4,8
Suopursu	5,2
Mänty	5,8
Mustikka	5,5
Juolukka	5,8
Turve	5,6

Taulukko 3. Esikäsittelemättömällä aineistolla PLS1-menetelmällä luotuja kalibrointi- ja varmennusmallien tunnuslukuja. PC (principal component) = pääkomponenttien lukumäärä, SEC (standard error of calibration) = kalibrointimallin keskivirhe, r^2 = mallin selitysaste, SEP (standard error of prediction) = varmennusmallin keskivirhe.

	Kalibrointimalli		Varmennusmalli			
	läpimitta	PC	SEC/%	r^2	SEP/%	r^2
Vaivaiskoivu	0-2mm	19	3,924	0,920	4,334	0,903
Vaivaiskoivu	2-5mm	19	3,672	0,935	4,103	0,919
Hieskoivu	0-2mm	20	4,541	0,881	5,217	0,843
Hieskoivu	2-5mm	19	5,763	0,861	6,341	0,832
Kanerva	0-2mm	20	3,944	0,907	4,499	0,879
Kanerva	2-5mm	21	4,990	0,891	5,688	0,858
Variksenmarja	0-2mm	12	3,542	0,924	3,833	0,911
Variksenmarja	2-5mm	11	5,646	0,865	5,974	0,849
Suopursu	0-2mm	14	4,072	0,890	4,417	0,871
Suopursu	2-5mm	17	4,054	0,914	4,441	0,897
Mänty	0-2mm	17	4,701	0,892	5,157	0,871
Mänty	2-5mm	17	4,055	0,896	4,368	0,879
Mustikka	0-2mm	20	4,588	0,885	5,131	0,856
Mustikka	2-5mm	19	5,663	0,876	6,267	0,848
Juolukka	0-2mm	18	5,639	0,840	6,361	0,798
Juolukka	2-5mm	17	5,992	0,827	6,748	0,781

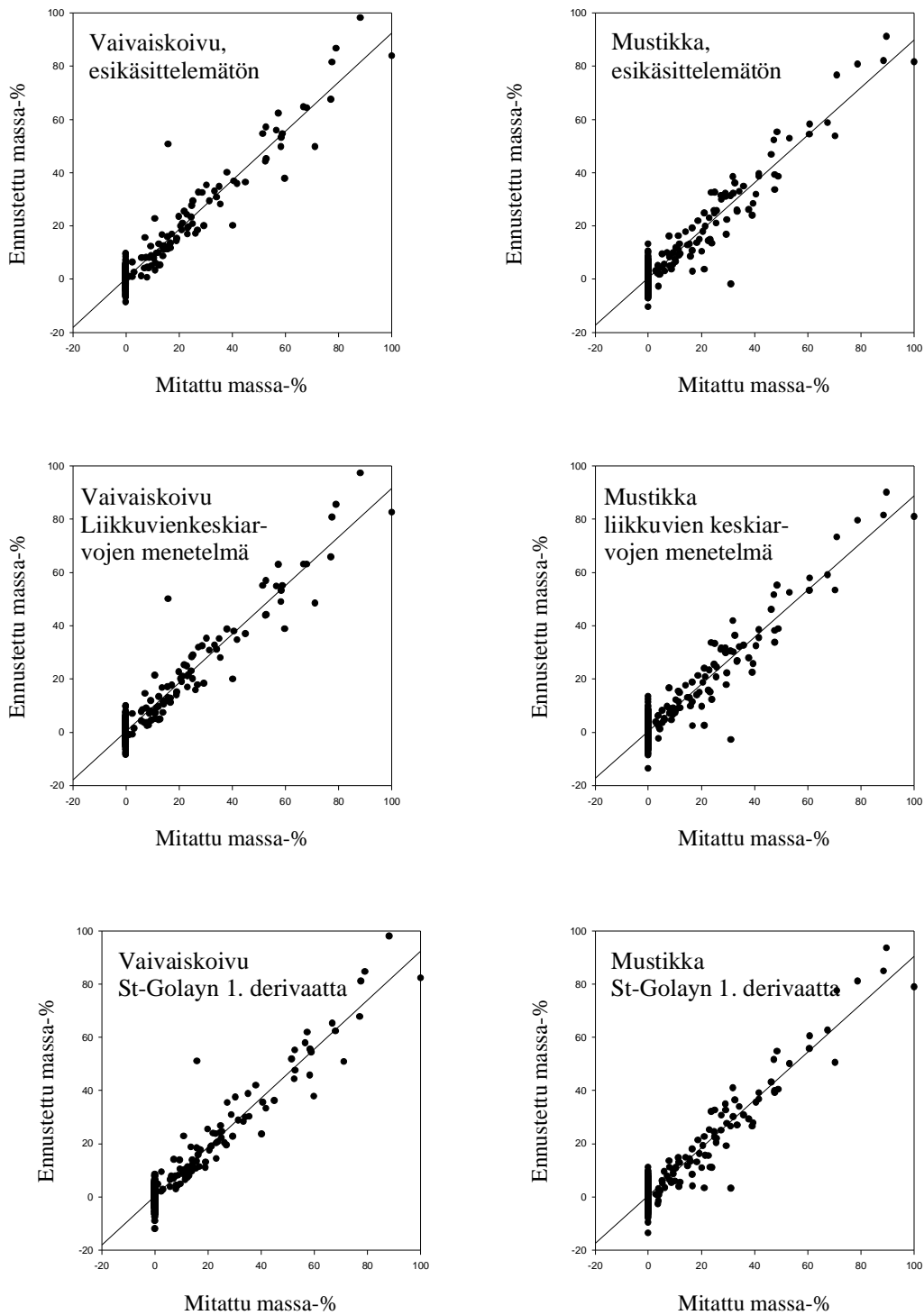
3.3 Esikäsittelevaihtoehdot

Seuraavaksi tutkailtiin esikäsittelevaihtoehdot vaikuttavasta kalibrointimallien suorituskykyyn sekä etsittiin parasta esikäsittelevaihtoehtoa. Työmäärän kohtuullisena pitämiseksi esikäsittelevaihtoehtojen vertailuun valittiin vain PLS1-menetelmällä tehtyjä malleja. Tätä tarkasteluaajuutta pidettiin riittävänä luotettavan tuloksen aikaan saamiseksi.

Silmämääräisesti esikäsittelyiden vaikutusta kalibrointimalleihin voi tarkastella regressiosuorista (kuva 4). Tällaisesta tarkastelusta voidaan tehdä epätarkkoja johtopäätöksiä, joten mallien tunnuslukujen tarkastelu oli tarpeen. Mallien tunnusluvut ovat taulukossa 4. Vertailussa kalibrointimallien selitysasteet nousivat ja keskivirheet laskivat samalla kun pääkomponenttien määrä laski. Keskivirheiden arvot ovat välillä 5,18 % - 7,16 % ja ne laskivat 0,08 - 1,03 % lajista ja esikäsittelytavasta riippuen. Keskimääräinen keskivirheen lasku oli 0,43 prosenttiyksikköä. Puolen yksikön lasku on jo merkittävä ja kokonaisen yksikön lasku hyvin huomattavaparannus. Muista poikkeavia arvoja sai juolukka, jonka kalibrointimallin keskivirhe ja selitysaste olivat huonompia St-Golay'n ensimmäisen derivaatan esikäsittelyllä. Selitysaste laski 0,88:sta 0,88:n ja keskivirhe nousi 6,41:stä 6,56:n St-Golay'n ensimmäisen derivaatan käsittelyn vaikutuksesta. Muutokset olivat varsin pieniä ja niitä voidaan selittää pääkomponenttien määrän huomattavalla laskulla. Liikkuvien keskiarvojen menetelmällä saadut keskivirheet ja selitysasteet olivat hyvin samankaltaisia tai hieman heikommat kuin esikäsittelemättömän aineiston.

Pääkomponenttien määrä oli St-Golay'n ensimmäisen derivaatan esikäsittelyllä esikäsittelemättömään ja liikkuvien keskiarvojen menetelmällä käsiteltyyn spektriaineistoon verrattuna pienempi. Poikkeuksena tästä oli variksenmarjaa (taulukko 4). Hieskoivulla ja juolukalla pääkomponenttien määrä sen sijaan laski St-Golay'n ensimmäisen derivaatan esikäsittelyn ansiosta huomattavasti. Näiden tulosten perusteella voidaan suositella esikäsittelyn tekemistä, vaikka niiden vaikutus ei aina ollutkaan kovin merkittävä.

St-Golay'n ensimmäisen derivaatan esikäsittely segmenttikoolla 4 antoi suorituskykyisimmät mallit (taulukko 4). Liikkuvien keskiarvojen esikäsittelemetelmällä parhaat tulokset antoi segmenttikoko 2. Näillä menetelmillä esikäsiteltyllä ja esikäsittelemättömällä aineistolla luotiin kalibrointimallit kaikissa läpimittaluokissa sekä PLS1- että PLS2 -menetelmällä (liite 2).



Kuva 4. PLS1-metelmällä luotuja kalibrointimallien regressiosuoria eri esikäsitteilyvaihtoehdoilla läpimittaluokalle 0 - 2 mm. Lajeina kuvassa on vaivaiskoivu, joka edustaa mallinnuksen parhaimmistoa sekä mustikka, jolla on yksi tutkimuksen heikoimmista suorituskyvyistä.

Taulukko 4. Eri esikäsittelyvaihtoehtojen kalibrointimallien suorituskyky PLS1-menetelmällä läpimittaluokalle 0 - 5 mm. PC = pääkomponentti (principal component), SEC = kalibrointimallin keskivirhe (standard error of calibration), r^2 = mallin selitysaste.

	Käsittelimätön			St-Golay'n 1. derivaatta			Liikkuvat keskiarvot		
	PC	SEC/%	r^2	PC	SEC/%	r^2	PC	SEC/%	r^2
Vaivaiskoivu	14	5,674	0,916	11	5,362	0,925	15	5,417	0,923
Hieskoivu	15	5,766	0,915	11	5,688	0,917	15	5,838	0,913
Kanerva	13	5,543	0,917	9	5,232	0,926	13	5,579	0,916
Variksenmarja	9	6,019	0,900	10	5,006	0,931	9	6,026	0,900
Suopursu	12	5,176	0,913	11	4,231	0,942	12	5,200	0,912
Mänty	8	6,344	0,874	6	5,954	0,889	8	6,370	0,873
Mustikka	13	7,159	0,873	11	6,612	0,892	13	7,159	0,873
Juolukka	13	6,408	0,889	9	6,559	0,883	13	6,40	0,889

3.4 Massasuhteiden määrittäminen läpimittaluokittain

Kalibrointimallit luotiin erikseen läpimittaluokille 0 - 2 mm, 2 - 5 mm sekä 0 - 5 mm (kuva 5 ja taulukko 5). Kalibrointimallien selitysasteet olivat miltei saman suuruisia läpimittaluokasta riippumatta (taulukko 5). Tosin juolukka teki tässäkin poikkeuksen. Sillä 0 - 5 mm luokan kalibrointimallin selitysaste on korkeampi muihin läpimittaluokkiin verrattuna.

Kalibrointimallien keskivirheet olivat korkeimpia 0 - 5 mm luokassa, mikä saattoi johtua luokan sisältämän aineiston laajuudesta. Kyseinen luokka sisältää laajimman aineiston, joten todennäköisesti myös suurimman kemiallisen vaihtelun. Silti tuossa läpimittaluokassa lajien pääkomponenttien määrä oli huomattavasti pienempi kuin muissa luokissa. Ainoan poikkeuksen tästä teki variksenmarja läpimittaluokassa 0 - 2 mm. Näistä syistä suorituskykyisimmiksi kalibrointimalleiksi todettiin läpimittaluokan 0 - 5 mm mallit.

Läpimittaluokkien 0 - 2 mm ja 2 - 5 mm käyttöä voidaan myös suositella, mikäli halutaan saada yksityiskohtaisempaa tietoa.

Esikäsitteilyn vaikutusta läpimittaluokkakohtaiseen suorituskykyyn tutkittiin vertailemalla St-Golayn ensimmäisen derivaatan käsittelyä ja esikäsittelemätöntä aineistoa (taulukko 6). Tästä tarkastelusta voitiin todeta, ettei läpimittaluokan 0 - 5 mm pienempi pääkomponenttien määrä eikä keskivirheen vaihtelu riipu esikäsitteilystä. Ainoastaan variksenmarjalla St-Golayn ensimmäisen derivaatan esikäsitteilyssä läpimittaluokassa 0 - 2 mm oli optimaalisten pääkomponenttien määrä pienempi kuin 0 - 5 mm luokalla. Muilla lajeilla ja esikäsitteilyvaihtoehdoilla 0 - 5 mm läpimittaluokassa oli aina vähemmän pääkomponentteja. Keskivirheet olivat aina suurempia 0 - 5 mm läpimittaluokassa. Tästä voidaan päätellä, että esikäsitteilyvaihtoehdolla ei ole merkitystä läpimittaluokkavalinnassa.

Taulukko 5. Eri läpimittaisten juurten kalibrointimallien suorituskyky PLS1-menetelmällä St-Golay'n 1. derivaatalla. PC (principal component) = pääkomponentti, SEC (standard error of calibration) = kalibrointimallin keskivirhe ja r^2 = mallin selitysaste.

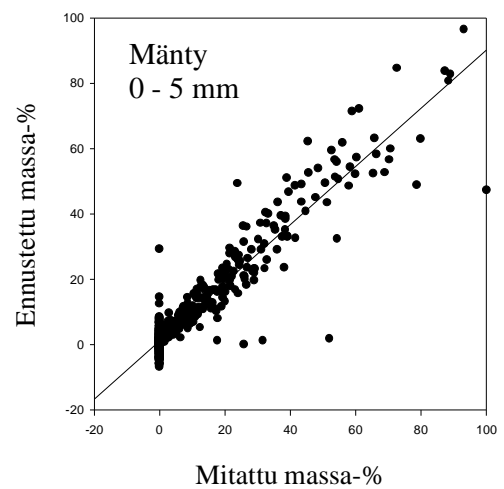
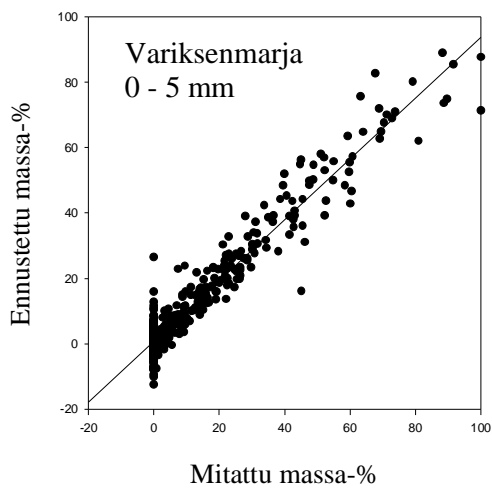
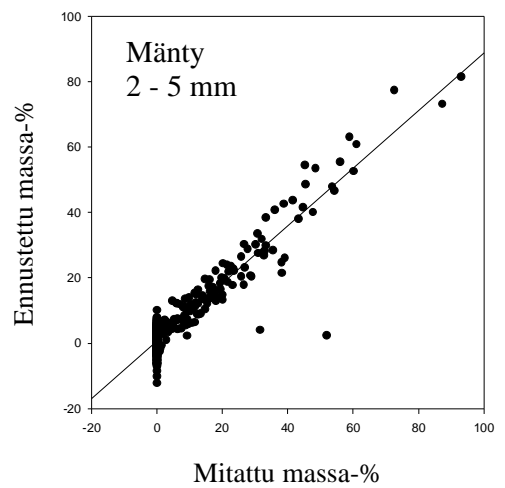
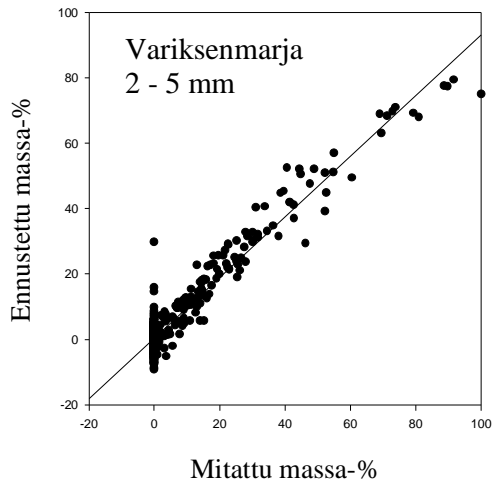
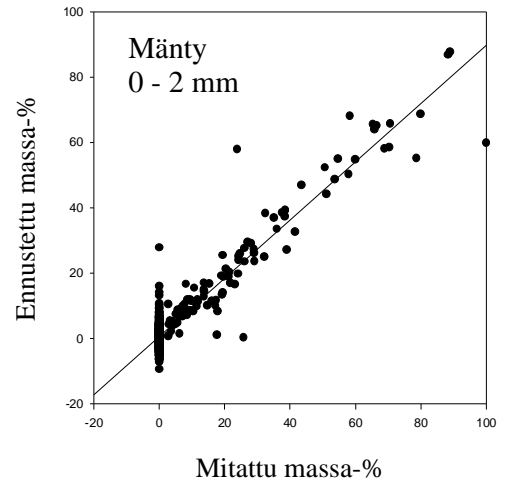
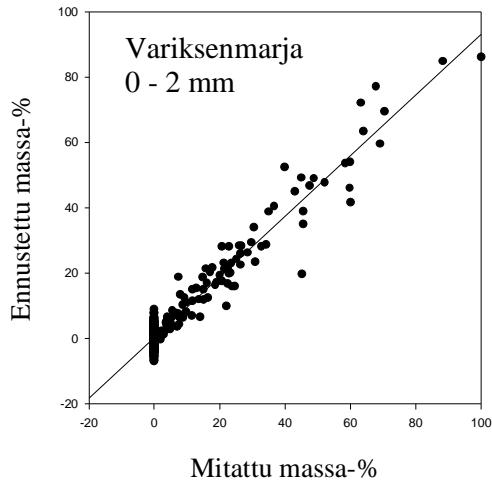
Laji	0-2mm			2-5 mm			0-5mm		
	PC	SEC/%	r^2	PC	SEC/%	r^2	PC	SEC/%	r^2
Vaivaiskoivu	15	3,95	0,92	14	3,65	0,94	11	5,36	0,92
Hieskoivu	17	4,14	0,90	17	4,81	0,90	11	5,69	0,92
Kanerva	15	3,98	0,90	16	4,83	0,90	9	5,23	0,93
Variksenmarja	9	3,47	0,93	14	3,86	0,94	10	5,01	0,93
Suopursu	13	3,24	0,93	13	3,61	0,93	11	4,23	0,94
Mänty	11	4,71	0,89	10	4,31	0,88	6	5,95	0,89
Mustikka	15	4,31	0,90	14	5,65	0,88	11	6,61	0,89
Joulukka	13	5.66	0.84	12	6.25	0.81	9	6.56	0.88

Taulukko 6. Pääkomponenttien määrät esikäsittelemättömälle sekä St-Golay'n 1. derivaatan kalibrointimalleille PLS1-menetelmällä. PC (principal component) =pääkomponentti, SEC (standard error of calibration) = kalibrointimallin keskivirhe/%, r^2 = mallin selitysaste.

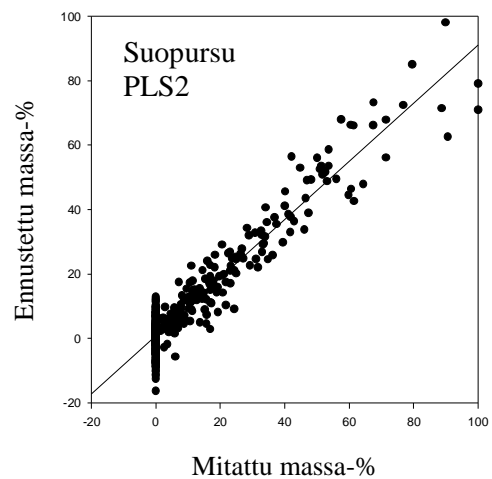
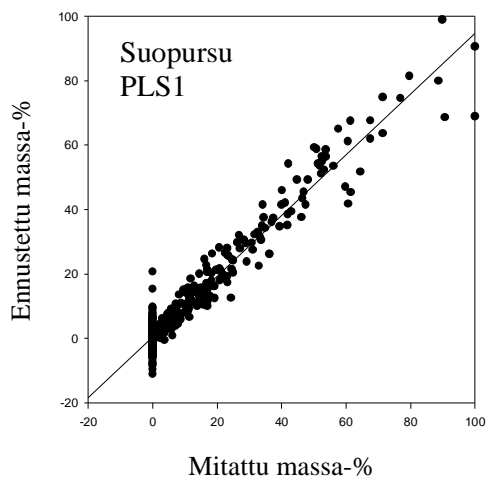
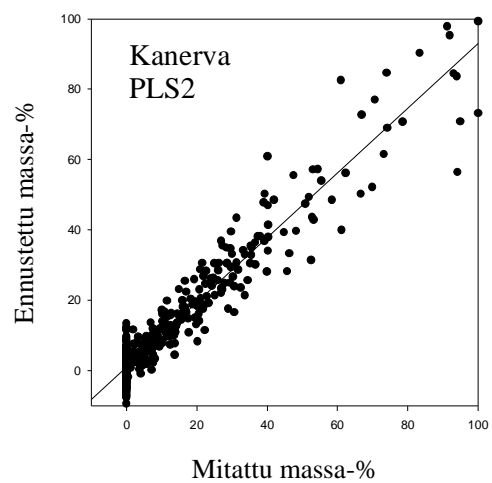
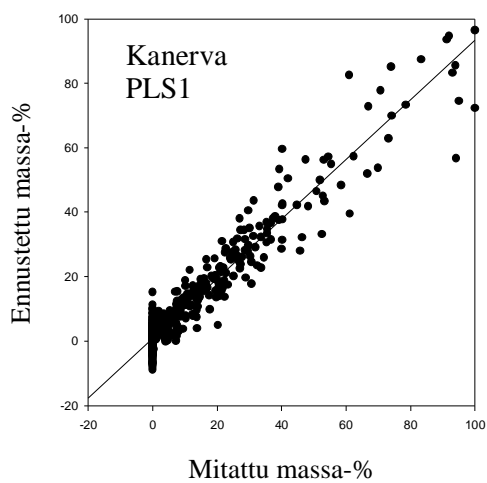
Käsittely	Esikäsittelemätön			St-Golay'n 1. derivaatta			
	Läpimittaluokka	0-2mm	2-5mm	0-5mm	0-2mm	2-5mm	0-5mm
	PC/SEC	PC/SEC	PC/SEC	PC/SEC	PC/SEC	PC/SEC	PC/SEC
Vaivaiskoivu	19/3,924	19/3,672	14/5,674	15/3,951	14/3,648	11/5,362	
Hieskoivu	20/4,541	19/5,763	15/5,766	17/4,141	17/4,812	11/5,688	
Kanerva	20/3,944	21/4,990	13/5,543	15/3,982	16/4,831	9/5,232	
Variksenmarja	12/3,542	11/5,646	9/6,019	9/3,470	14/3,864	10/5,006	
Suopursu	14/4,072	17/4,054	12/5,176	13/3,241	13/3,610	11/4,231	
Mänty	17/4,701	17/4,055	8/6,344	11/4,714	10/4,307	6/5,954	
Mustikka	20/4,588	19/5,663	13/7,159	15/4,311	14/5,647	11/6,612	
Juolukka	18/5,639	17/5,992	13/6,408	13/2,658	12/6,252	9/6,559	

3.5 PLS1- vai PLS2-menetelmä

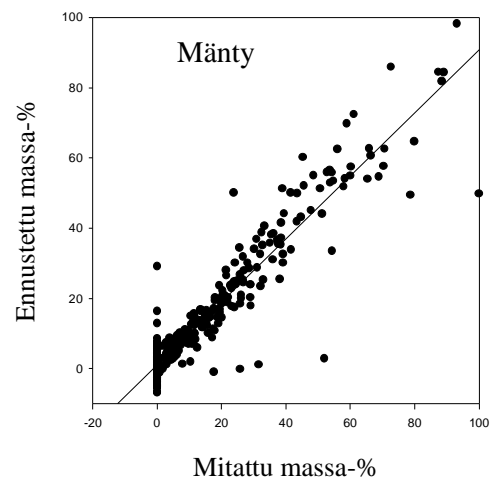
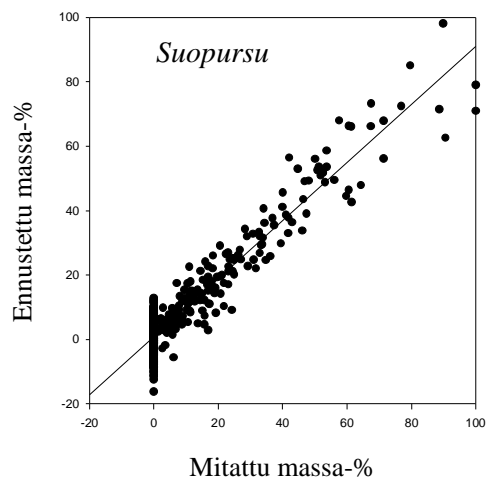
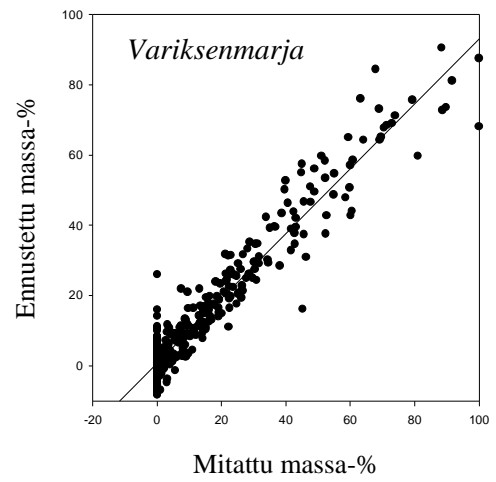
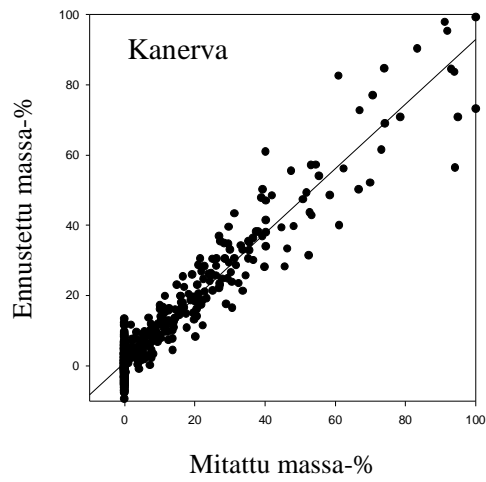
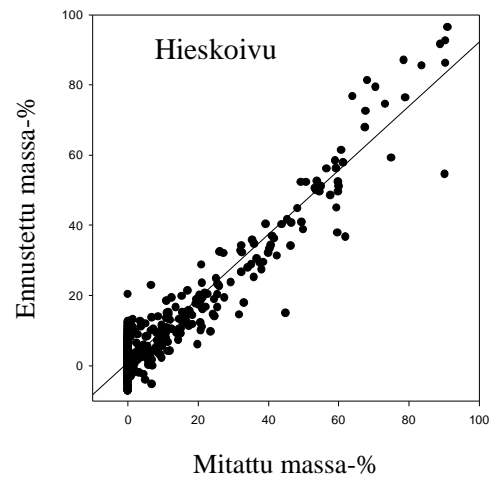
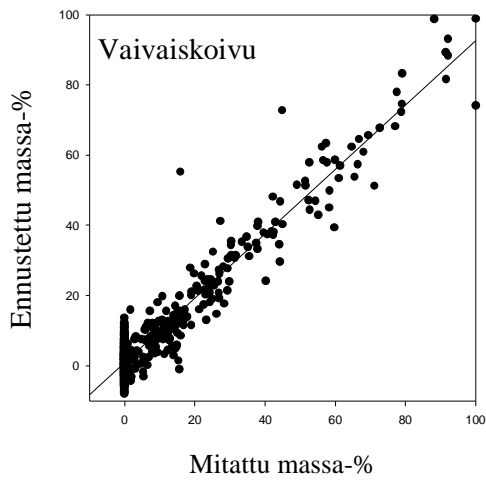
PLS1- ja PLS2-menetelmien eroja tarkasteltiin St-Golay'n ensimmäisen derivaatan esikäsitteilyllä tehdyillä malleilla. Kalibrointimalleille saatiin PLS2-menetelmällä odotetusti heikommät selitysasteet sekä suuremmat pääkomponenttien määrät (taulukko 7). Keskivirheet olivat myös suuremmat PLS2- kuin PLS1-menetelmällä luoduissa kalibrointimalleissa. Mänty poikkesi tästä, sillä sen selitysaste oli pienempi ja keskivirhe suurempi PLS1-menetelmällä kuin PLS2-menetelmällä. Tosin PLS2-menetelmällä männyllä oli huomattavasti suurempi pääkomponenttien määrä kuin PLS1- menetelmällä, mikä todennäköisesti aiheuttaa tulosten epä johdonmukaisuuden. Kaikilla muilla lajeilla kalibrointimallien pääkomponenttien määrä oli huomattavasti pienempi PLS1-menetelmällä kuin PLS2-menetelmällä. Tästä voidaan päätellä, että lajikohtaiset PLS1-mallit ovat suorituskykyisempiä kuin yleinen PLS2-malli. PLS2-mallien käyttöä arvioitaessa tulee kuitenkin pitää mielessä menetelmän kokonaisvaltaisuus ja sen tuomat vahvuudet kalibrointimallin soveltamisessa.



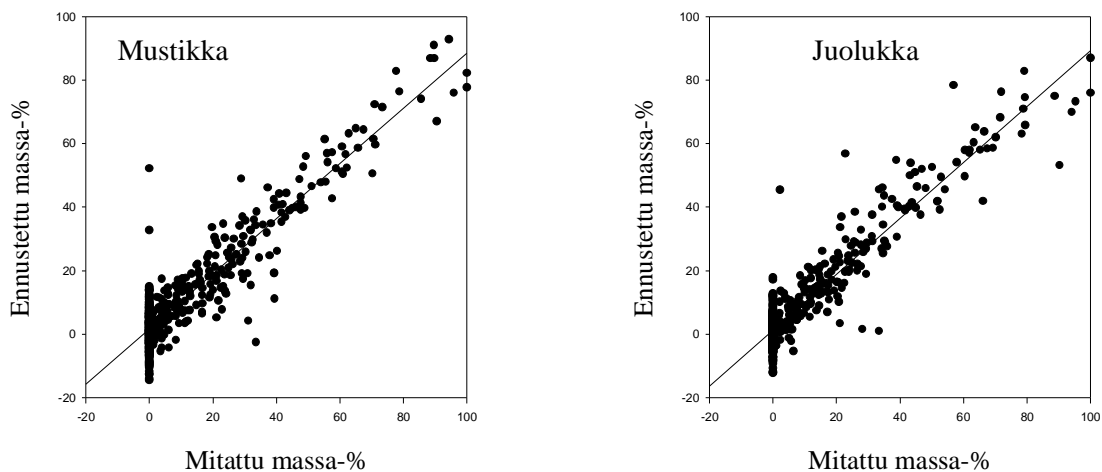
Kuva 5. Variksenmarja sekä männyn kalibrintimallien regressiosuoria läpimittaluokissa 0 - 2 mm, 2 - 5 mm ja 0 - 5 mm St-Golayn 1. derivaatalla esikäsiteltynä.



Kuva 6. PLS1 ja PLS2 -menetelmillä kalibroituja regressiosuoria St-Golayn 1. derivaatan esikäsitteilyllä 0 - 5 mm läpimittaluokassa. PLS1-menetelmällä luodun kalibrointimallin ennusteet asettuvat tasaisemmin suoran läheisyyteen.



Kuva 7a. Kaikkien lajien regressiosuorat PLS2-menetelmällä, 0-5 mm läpimittaluokassa St-Golayn derivaatalla. Huomaa eri mitta-asteikko suopursulla, mustikalla ja juolukalla



Kuva 7b. Kaikkien lajien regressiosuorat PLS2-menetelmällä, 0-5 mm läpimittaluokassa St-Golayn derivaatalla. Huomaa eri mitta-asteikko suopursulla, mustikalla ja juolukalla.

Taulukko 7. St-Golayn ensimmäisen derivaatan esikäsittelyn läpimittaluokan 0-5 mm kalibrointimallien tunnusluvut PLS1- ja PLS2-menetelmillä. PC (principal component) = pääkomponentti, SEC (standard error of calibration) = kalibrointimallin keskivirhe, r^2 = mallin selitysaste.

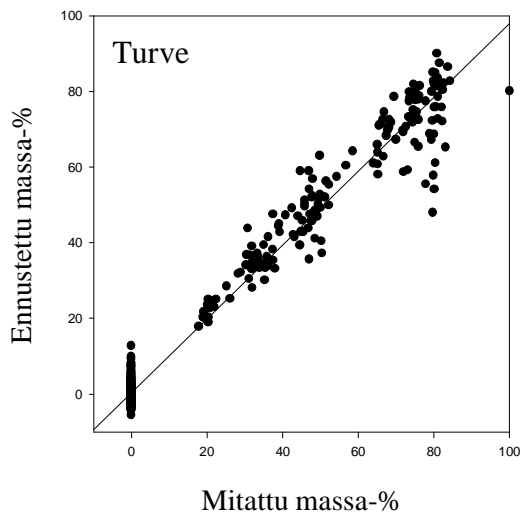
	PLS1			PLS2		
	PC	SEC/%	r^2	PC	SEC/%	r^2
Vaivaiskoivu	11	5,362	0,925	15	5,648	0,917
Hieskoivu	11	5,688	0,917	15	5,842	0,912
Kanerva	9	5,232	0,926	15	5,416	0,921
Variksenmarja	10	5,006	0,931	15	5,284	0,923
Suopursu	11	4,231	0,942	15	5,525	0,901
Mänty	6	5,954	0,889	15	5,735	0,897
Mustikka	11	6,612	0,892	15	7,252	0,870
Juolukka	9	6,559	0,883	15	6,655	0,880

2.1 Turve juurten taustamateriaalina

Turpeen vaikutusta kalibrointimalleihin selvitettiin PLS2-menetelmän kalibrointimallien avulla. Turvetta käsiteltiin sekä tuntemattomana taustamateriaalina että tunnettuna muuttujana. Erillisenä muuttujana käsiteltäessä turve sai erinomaiset tunnusluvut ja tuntemattomana taustamateriaalina se ei huonontanut muiden muuttujien malleja (kuva 8 ja taulukko 8). Verrattuna kasvilajeihin turpeen kalibrointimallin selitysaste oli korkea ja keskivirhe pieni. Sen ottaminen mukaan PLS2-analyysin ei nostanut pääkomponenttien määrää, vaikka toi malliin yhden muuttujan lisää. Kalibrointimallien kasvilajien massasuhteiden ennustuskyky ei siis muuttunut käytännössä ollenkaan, olipa turve määrittelemätöntä taustamateriaalia tai määritelty muuttuja. Turpeen voitiin todeta eroavan juurimateriaalista selvästi, eikä se näin ollen hankaloita juurten massaosuuksien ennustamista.

Taulukko 8. PLS2 menetelmällä luotuja mallien tunnusluvut turpeelle taustamateriaalina ja muuttujana. PC = pääkomponentti (principal component), SEC = kalibrointimallin keskivirhe (standard error of calibration), r^2 = mallin selitysaste, SEP = varmennusmallin keskivirhe (standard error of prediction).

	Turve taustamateriaalina			Turve muuttujana		
	PC	SEC/%	r^2	PC	SEC/%	r^2
Turve				15	4,484	0,974
Vaivaiskoivu	15	5,648	0,917	15	5,646	0,917
Hieskoivu	15	5,842	0,912	15	5,843	0,912
Kanerva	15	5,416	0,921	15	5,413	0,921
Variksenmarja	15	5,284	0,923	15	5,295	0,923
Suopursu	15	5,525	0,901	15	5,541	0,901
Mänty	15	5,735	0,897	15	5,731	0,897
Mustikka	15	7,252	0,870	15	7,268	0,869
Juolukka	15	6,655	0,880	15	6,656	0,880



Kuva 8. Turpeen regressiosuora PLS2-menetelmän kalibrointimallissa.

3.6 Massaprosenttien ja kokonaismassan ennustaminen

Kalibrointimallit antavat hyviä ennusteita yksittäisille lajikohtaisille massaosuuksille. Taulukossa 9 on lueteltu muutamia todellisia sekä ennustettuja massaosuuksia suopursun infrapunaspektrinäytteille. Suurten massaosuuksien ennustaminen näytti olevan kaikkein hankalinta.

Taulukoista 9 ja 10 voidaan myös tarkastella ennusteiden todenmukaisuutta. Taulukoidut ennusteet vaihtelivat -10,2 % ja 11,8 % välillä, kun todellinen massaprosentti oli nolla. Tämän suuruiset ennusteiden virheet ovat muihin tutkimuksiin verrattuna varsin normaalit.

Taulukossa 10 on infrapunaspektrinäytteiden lajikohtaisten massojen ennusteita yhteen laskettuna. Näistä luvuista voitiin todeta, että näytteiden sisällöt ennustuvat kokonaisuutena varsin hyvin. Kahta tapausta lukuun ottamatta yhteenlasketuksi massaprosentiksi saatiin hyvin lähellä 100 oleva luku. Osa massaprosenttiennusteista oli negatiivisia. Tämä on todellisuudessa mahdotonta, mutta matemaattisessa mallissa mahdollista.

Taulukko 9. St-Golayn ensimmäisen derivaatan PLS2-mallin ennustettuja prosenttiosuuksien suopursulle.

Näyte	Mitattu/ massa-%	Ennustettu/ massa-%	Näyte	Mitattu/ massa-%	Ennustettu/ massa-%
2S01	0,0	1,1	3S207	40,0	41,0
2S02	7,8	10,5	3S208	90,6	62,6
2S03	0,0	-2,2	3S216	0,0	-0,5
2S14	0,0	-8,9	3S217	0,0	0,6
2S15	7,2	17,4	3S218	50,1	55,9
2S16	0,0	1,5	3S227	51,8	50,8
2S17	34,5	36,0	3S228	0,0	2,1
2S18	0,0	2,2	3S229	0,0	3,1
2S19	0,0	-1,2	3S233	0,0	10,4
2S30	40,1	45,6	3S234	39,5	29,7
2S31	0,0	-3,7	3S235	88,7	71,4
2S32	23,7	24,8	3S243	59,8	44,5
3S105	100,0	79,0	3S244	10,3	11,5

Taulukko 10. PLS2-mallin näytekohtaisista ennusteista. Todelliseksi kutsutaan näytteen todellisuudessa sisältämä lajin massaprosentti ja ennustettu on mallin antama ennuste. Ennuste yhteensä on mallin antamien lajikohtaisten massaprosentti ennusteiden yhteenlaskettu summa.

	Vaivaiskoivu	Hieskoivu	Kanerva	Variksen- marja	Suopursu	Mänty	Mustikka	Juolukka	Ennuste yht.
Näytteet	Todellinen%/ Ennuste%	Todellinen%/ Ennuste%	Todellinen%/ Ennuste%	Todellinen%/ Ennuste%	Todellinen%/ Ennuste%	Todellinen%/ Ennuste%	Todellinen%/ Ennuste%	Todellinen%/ Ennuste%	
1S105	0,0/-2,3	0,0/5,1	0,0/1,3	0,0/-2,5	0,0/5,8	0,0/-3,8	100,0/82,2	0,0/11,8	97,8
1S240	0,0/3,5	59,8/49,6	40,2/60,9	0,0/0,8	0,0/-7,4	0,0/5,8	0,0/-2,6	0,0/-7,3	103,2
1S401	2,4/2,6	22,7/20,4	8,4/8,5	0,0/-1,1	0,0/8,0	66,4/60,7	0,0/-1,5	0,0/2,1	99,6
1S501	11,1/12,3	6,5/3,4	29,4/24,8	16,1/15,9	36,9/37,5	0,0/4,4	0,0/5,6	0,0/-4,9	99,1
1S610	16,3/13,7	0,0/-4,9	12,5/15,6	5,1/3,3	18,3/22,0	28,1/30,1	0,0/1,2	19,7/21,2	102,3
2S16	61,0/53,4	0,0/0,4	39,0/47,7	0,0/0,5	0,0/1,5	0,0/-0,6	0,0/0,6	0,0/-1,7	101,9
2S35	0,0/-10,2	0,0/7,8	33,2/34,2	0,0/1,3	0,0/3,6	39,4/44,1	27,4/25,1	0,0/-3,8	102,0
3S203	64,7/62,3	0,0/2,8	35,3/35,4	0,0/0,8	0,0/8,0	0,0/-5,3	0,0/-0,4	0,0/-2,3	101,2
3S303	30,3/30,9	0,0/3,2	16,5/16,6	0,0/0,4	53,2/48,7	0,0/-0,3	0,0/2,5	0,0/-1,3	100,9
3S418	0,0/-6,0	26,2/32,5	0,0/-0,9	0,0/1,5	26,3/26,2	41,5/50,1	6,0/1,2	0,0/-2,5	102,1
3S507	16,6/11,9	0,0/7,3	32,5/23,5	0,0/2,5	11,1/11,4	38,1/25,5	0,0/6,8	1,7/2,9	91,7
3S624	0,0/-0,4	3,2/3,0	0,0/2,4	55,0/54,7	7,4/6,1	17,7/17,1	5,0/9,4	11,8/9,3	101,5

4 Tarkastelu

4.1 Tutkimuksen virhelähteet

Infrapunaspektroskopia on herkkä menetelmä, johon vaikuttaa monta tekijää. Mainitsen tässä vain muutamia tälle tutkimukselle todennäköisiä häiriöiden aiheuttajia. Muiden mahdollisten virhelähteiden todennäköisyyksiä ja vaikutuksia pohditaan lisää seuraavassa luvussa.

Ensinnäkin tämän tutkimuksen mittaukset suoritettiin useana päivänä, mikä on periaatteessa saattanut aiheuttaa vaihtelua mittaushetken lämpötilassa ja kosteudessa. Lämpötilaa ei tutkimusta tehdessä tarkkailtu. Tosin alle 10 asteen lämpötilojen muutoksilla ei ole todettu olevan suurta vaikutusta infrapunaspektroskopiaan. Lämpötilan sallittu vaihteluväli on siis sangen suuri, joten lämpötilan vaihtelulla ei oleteta olevan suurta merkitystä. Näytteiden kosteuden vaihtelua taas yritettiin tasata säilyttämällä näytteitä yön yli eksikaattorissa ennen spektrien mittaamista. Mittaustilan kosteus voi tästä huolimatta vaikuttaa näytteiden spektriin.

Toinen virheitä aiheuttanut tekijä saattaa olla spektrinäytteiden vaiheittain koostaminen. Kertaalleen mitattuja näytteitä käytettiin uudestaan seuraavassa vaiheessa, kun taas infrapunaspektrien tulkinta tapahtui aivan viimeiseksi. Kuitenkin vasta tulkintavaiheessa voitiin huomata joidenkin infrapunaspektrinäytteiden virheellisyys. Infrapunaspektrissä näkyvät ongelmat eivät välttämättä johdu itse näytteestä, vaan virhe voi ilmestyä myös mittaus-, tiedonsiirto- tai tiedonkäsittelyvaiheissa. On kuitenkin mahdollista, että virheellisiä näytteitä on käytetty toistamiseen uusien näytteiden koostamiseen. Uusissa näytteissä virhe ei välttämättä ole ollut yhtä selvästi havaittavissa, joten näitä on jatkossa käsitelty virheettömien näytteiden kaltaisesti myös mallinnuksessa.

4.2 Kalibrointimallien suorituskyky

Päätarkoituksena tässä tutkimuksessa oli selvittää, onko infrapunaspektroskopia toimiva menetelmä juurten lajikohtaiseen massasuhteiden määrittämiseen. Lisäksi tarkoituksena oli selvittää paras tapa luoda suorituskykyiset kalibrointimallit, mikäli mallin luominen ylipäätään on mahdollista. Parasta kalibrointimallia etsittiin vertaamalla eri

esikäsittelyvaihtoehtoja ja läpimittaluokkia sekä PLS1- ja PLS2-mallinnusmenetelmiä regressiosuorien tunnuslukujen perusteella. Tutkimuksessa luotujen kalibrointimallien suorituskyky vaihtelee esikäsittelyiden, kasvilajien sekä läpimittaluokkien välillä (taulukot 4, 5 ja 7). Suorituskyvyn vaihtelu johtuu niin lajikohtaisista ominaisuuksista kuin kalibrointimallien rakentamisen onnistumisestakin. Toisilla lajeilla vertailuaineisto saatiin tasaisemmaksi ja kattavammaksi kuin toisilla. Luoduista kalibrointimalleista voidaan sanoa, että niiden pääkomponenttien määrä oli kohtuullinen, keskivirheet eivät olleet hälyttävän suuria sekä selitysasteet olivat korkeita (taulukko 2). Mallit olivat suorituskykyisiä.

Mallien vertailuaineiston lajikohtaiset massasuhteet jakautuvat kohtuullisen hyvin, kuten tulososion regressiosuorien kuvista voidaan päätellä. Tosin kaikilla muuttujilla oli järjestelmällisesti enemmän pieniä prosentiosuuksia kuin suuria. Tämä johtuu infrapunaspektrinäytteiden koostamistavasta. Samasta syystä turpeen massaprocenttien jakauma oli jonkin verran ryhmittynyt (kuva 8). Spektrinäytteitä oli periaatteessa kaikilla lajeilla sama määrä, mutta toisilla lajeilla mallinnettavaa lajia sisältäviä spektrinäytteitä oli huomattavasti enemmän kuin toisilla. Suuri määrä nolla prosenttia lajia sisältäviä näytteitä ei auta tasapainoisen mallin rakentamisessa. Esimerkiksi suopursulla on 0 - 2 mm läpimittaluokassa vain 59 esiintymistä, kun taas läpimittaluokassa 2 - 5 mm esiintymisiä on 129 kappaletta (taulukko 1). Läpimittaluokassa 0 - 2 mm suopurulla on pääkomponentteja huomattavasti vähemmän kuin läpimittaluokassa 2 - 5 mm. Luokan 0 - 2 mm keskivirhe ja selitysaste taasen ovat vain hieman luokkaa 2 - 5 mm heikommat. Selitysasteiden tasavertaisuuden vuoksi näiden kahden mallin voidaan kuitenkin olettaa toimivan kohtuullisen samantasoisesti. Näistä ongelmista huolimatta tutkimuksessa luotuja kalibrointimalleja voidaan pitää tunnuslukujen perusteella suorituskykyisinä (liite 2).

St-Golayn ensimmäisen derivaatan esikäsittelyllä saatuja malleja voidaan pitää suorituskykyisimpinä (taulukko 4). Niiden selitysasteet olivat korkeimmat, kalibrointimallien keskivirheet pienimmät sekä pääkomponenttien määrä pienin verrattuna esikäsittelemättömään ja liikkuvien keskiarvojen menetelmällä esikäsiteltyyn aineistoon. Käsittelemättömällä ja liikkuvien keskiarvon menetelmällä käsitellylle aineistolle saatiin hyvin tasavertaiset mallit. Liikkuvien keskiarvojen menetelmässä käytettiin pientä

segmenttikokoa, joten sen vaikutus oli vähäinen. Pieni segmentti koko todettiin kuitenkin toimivimmaksi liikkuvien keskiarvojen -menetelmässä. Aineiston esikäsittelyn vaikutus kalibrointimalleihin ei ylipäättään ollut kovin suuri. St-Golayn ensimmäisen derivaatan esikäsittely kuitenkin paransi tulosta selittävien pääkomponenttien ja keskivirheen määrän suhteen (taulukko 4).

Lisäksi juurimateriaalia tutkittiin tarkoituksena selvittää, onko infrapunaspektroskopian avulla mahdollista suorittaa juurten massasuhteiden määrittämistä läpimittaluokissa. Tämän kaltaisesta luokittelumahdollisuudesta voisi olla hyötyä esimerkiksi ekosysteemimallintamisessa. Eri läpimittaluokille luotujen kalibrointimallien tunnusluvusta voitiin päätellä, että läpimittaluokakohtainen massasuhteiden määrittäminen on mahdollista, vaikka lajitasoinen tunnistaminen on varmintä (taulukko 5). Suorituskykyisimmiksi siis todettiin St-Golayn 1. derivaatalla tehdyt kalibrointimallit läpimittaluokalle 0 - 5 mm (kuva 7). Tämän tutkimuksen läpimittaluokat 0 - 2 mm ja 2 - 5 mm eivät aina vastaa todellista jakoa toiminnallisiin hieno- ja paksujuuriin. Kun ennustaminen näissäkin läpimittaluokissa onnistuu, voidaan olettaa, että myös toiminnallisuuden perusteella jaotelluille hieno- ja paksujuurille voidaan luoda suorituskykyiset kalibrointimallit. Tällaisten toiminnalliset juuret määrittävien kalibrointimallien aikaan saaminen olisi ihanteellista tutkimustarkoituksiin. Niiden vertailuaineiston luominen saattaa olla ylitsepääsemättömän työlästä.

Näytteiden kokonaisuuden ennustaminen eli lajikohtaisten massaosuusien yhteenlaskettu massa näyttää ennustuvan hyvin (taulukot 9 ja 10). Tarkastelun perusteella ennusteiden poikkeavuus todellisuudesta näyttää olevan alle 12 % ja suurin osa ennusteista pysyttelee huomattavasti lähempänä oikeaa massaa. Muissa tutkimuksissa määrittelyä alarajaksi on esitetty n. 10 % (mm. Laasonen ym. 2002). Sen alle menevien massaosuusien määrittämiseen ei suositella infrapunaspektroskopian käyttöä ollenkaan. Tämän tutkimuksen malleissa kaikkein suurimpien massaosuusien ennustaminen oli kaikkein epävarmintä, mikä saattaa johtua isojen massaosuusien vähyydestä vertailuaineistossa.

Martens & Næs (1991) suosittavat PLS2-mallien luontia tutkimuksen alkuun, sillä niiden avulla saadaan kattava kuva kokonaisuudesta. Tämän jälkeen mallien suorituskykyä

voidaan parantaa tekemällä PLS1-mallit. PLS1-mallit ovat todennäköisemmin suorituskykyisiä. Tässä tutkimuksessa kalibrointimallien luonti aloitettiin kuitenkin PLS1-malleista, koska tämän aineiston soveltuvuus infrapunaspektritutkimukseen oli epävarmaa. PLS2-mallit luotiin vasta kun PLS1-mallit olivat todettu toimiviksi.

PLS1- ja PLS2-menetelmiä vertailtaessa, niiden selitysasteiden erot eivät olleet kovin suuret, toisin kuin pääkomponenttien määrät. Pääkomponenttien määrä vaikutti virheiden suuruuteen (taulukko 7 ja liite 2). Yleisesti kalibrointimallien tunnusluvut olivat PLS2-menetelmällä heikompia kuin PLS1-menetelmällä. PLS2-mallin heikompia tunnuslukuja voidaan selittää sen monimutkaisemmalla rakenteella ja laaja-alaisuudella. Tunnuslukujen eroista huolimatta molempia menetelmiä voidaan suositella käytettäväksi, tosin hieman eri käyttötarkoitukseen. PLS2-mallia tulee käyttää, kun halutaan luoda kokonaisuus ja PLS1-mallia, kun tarvitaan yksikertainen tarkka kalibrointimalli. Kummallakin tavalla luotuja malleja voidaan pitää luotettavina ja toimivina.

Tutkimuksessa tarkasteltiin myös turpeen vaikutusta kalibrointimalleihin. Turvetta tutkittiin sekä määrittelemättömänä taustamateriaalina että lajien kanssa muuttujana. Tutkimuksen turve oli mesotrofista saraturvetta, joka ei sisältänyt eläviä juuria. Turpeen lisäämisellä malliin tai sen määrittelyn muutoksella ei ollut juurikaan vaikutusta kalibrointimallien tunnuslukuihin (taulukko 7). Tämän perusteella voidaan päätellä, että juuret ovat hyvin tunnistettavissa myös turvetta sisältävistä näytteistä. Käytännön sovelluksissa määritettäviä juuria ei siis välttämättä tarvitse puhdistaa taustamateriaalista, mikäli se on turve.

Tutkimuksen juuret kerättiin turvekankaalta, jossa turve oli hyvin maatonutta rahkaturvetta. Tutkimuksessa käytettiin kuitenkin saraturvetta, sillä sen oletettiin olevan vaikeammin juurimassasta erottuvaa. Toisenlaisella turpeen koostumuksella voi olla vaikutusta kalibrointimallien suorituskykyyn. Esimerkiksi vain rahkasammalista koostuvan turpeen voidaan olettaa erottuvan erinomaisesti varpujen ja puiden juurista, kun taas paljon juuria ja puumaisia yhdisteitä sisältävän turpeen erottaminen juurista saattaa olla hankalampaa. Erityisesti vasta kuolleet juuret saattavat aiheuttaa ongelmia kalibrointimallien suorituskyvyille.

Tässä tutkimuksessa luotujen kalibrointimallien onnistumisesta voidaan päätellä, että menetelmä on kykeneväinen tunnistamaan juuria määrittelemättömästä juurimassasta. Tämä tutkimuksen kalibrointimalleja voidaan pitää suorituskykyisinä ja niitä voidaan käyttää ainakin karkeaan massasuhteiden määrittämiseen. PLS1-menetelmällä luodut kalibrointimallit todistavat, että vaikka näytteissä olisi täysin tuntematonta juuriainesta, massasuhteiden ennustaminen on mahdollista. Tämä todettiin mahdolliseksi myös PLS2-menetelmällä turpeen kohdalla. Tämä on käytännön soveltamisen kannalta hyödyllinen tieto, sillä luonnollisissa ekosysteemeissä esiintyy useita kasvilajeja ja muuta materiaalia, joiden kaikkien sisällyttäminen malleihin saattaa olla liian työlästä. Tämän tutkimuksen pohjalta voidaan myös todeta, että tutkimustyötä kannattaa jatkaa infrapunaspektroskopian parissa.

4.3 Aikaisempiin tutkimuksiin vertailu

Infrapunaspektroskopian käytöstä juurten massasuhteiden määrittämiseen on muutamia aiempia tutkimuksia (esim. Crouzet ym. 2007, Roumet ym. 2006, Laasonen ym. 2002 & Rumbaugh ym. 1988). Ensimmäinen aiheeseen liittyvä tutkimus on tehty jo 1980-luvulla, mutta suurin osa niistä on tehty vasta viimeaikoina.

Rumbaugh (1988) tutki kahden lajin juurten massasuhteiden määrittämistä lähinnä maanviljelysovelluksiin. Tutkimuksen tulokset kannustivat menetelmän jatkokehittelyyn. Toisen kahden lajin juurten massasuhteiden määrittämistutkimuksen teki Crouzet ym. (2007). He saivat aikaan toimivat kalibrointimallit, joiden selitysasteet olivat jopa 0,999 ja 0,998 eli huomattavasti korkeammat kuin tässä tutkimuksessa saadut. Näissä kahdessa tutkimuksessa on luotu kalibrointimalli yksinkertaiselle viljelyekosysteemille, jossa esiintyy vain muutamaa lajia. Tässä tutkimuksessa oli tarkoitus luoda luonnollista monilajista ekosysteemiä kuvaava alustava malli, joten Crouzetin ja Rumbaughin tutkimustuloksia ei ole syytä suoraan verrata tämän tutkimuksen tuloksiin. Niitä voidaan kuitenkin pitää esimerkkeinä tämän kaltaisista tutkimuksista.

Useampia lajeja mallintaneita tutkimuksia ovat tehneet esimerkiksi Roumet ym. (2006) ja Laasonen ym. (2002). Roumet ym. (2006) loivat kalibrointimallit massasuhteiden

määrittämiseen kolmelle monivuotiselle heinäkasville. Heidän tutkimuksessaan osa kasveista oli kasvatettu kasvihuoneissa ja osa kerätty luonnosta. Molemmissa kalibrointiryhmissä pystyttiin luomaan suorituskykyiset mallit 0,991 - 0,999 selityksasteilla. Tässä tutkimuksessa saadut selityksasteet olivat matalampia, mutta lajimäärä oli huomattavasti suurempi. Lisäksi käsitelimme kokonaan luonnossa kasvaneiden kasvien juuria. Roumet ym. (2006) tekivät myös alustavan kokeilun useamman kuin kolmen lajin mallintamisesta ja havaitsivat sen lupaavaksi.

Kuten edellä mainittu, tässä tutkimuksessa saadut kalibrointimallien keskivirheet nousivat korkeammiksi ja selityksasteet jäivät matalammiksi kuin aiemmissa tutkimuksissa. Nämä ovat todennäköisesti seurausta suuremmasta näytemäärästä sekä laajemmasta aineistosta. Tämän tutkimuksen tunnusluvut eivät kuitenkaan missään nimessä ole heikkoja. Tukittavia lajeja oli huomattavasti enemmän kuin muissa tutkimuksissa. Aiemmissä tutkimuksissa käytettiin useasti myös kontrolloiduissa olosuhteissa kasvatettua materiaalia, jonkalaista tässä tutkimuksessa ei ollut ollenkaan mukana. Tämän tutkimuksen materiaalissa on enemmän vaihtelua kuin aiemmissä tutkimuksissa.

4.4 Tutkimuksen yleistettävyys

Tässä tutkimuksessa saatuja kalibrointimalleja voidaan pitää suorituskykyisinä vain mallin vertailuaineiston sisältämän vaihtelun laajuudessa. Mallin vertailuaineisto on kerätty yhdeltä suolta yhtenä ajan kohtana. Vuodenajan ja vuosien välisten muutosten suuruudesta ja sen vaikutuksesta infrapunaspektriin ei vielä ole tietoa. Juurten kemiallisen koostumuksen vaihtelut saattavat aiheuttaa infrapunaspektriin muutoksia, jotka estävät näiden mallien käytön.

Tämän tutkimuksen kalibrointimalleja ei siis voida yleistää toisina ajankohtina tai toisilta soilta kerätylle aineistolle. Teoriassa on mahdollista, että nyt luotujen kalibrointimallien avulla voidaan määrittää muiltakin kasvupaikkatyypeiltä kerättyjä näytteitä. Toimivuus tulee kuitenkin varmistaa kokeilemalla toisilta kasvupaikoilta kerättyjä sisällöltään tunnettujen näytteiden määrittämistä. Voidaan kuitenkin pitää todennäköisenä, että näillä kalibrointimalleilla massasuhteiden ennustaminen onnistuu ainakin samalta

kasvupaikkatyypiltä samana kasvukauden ajankohtana kerätyille näytteille kuin tässä tutkimuksessa.

4.5 Jatkotutkimustarve

Mikäli tulevaisuudessa halutaan luoda ekosysteemejä kokonaisvaltaisemmin kuvaavia kalibrointimalleja, tulee tämän tutkimuksen laajuudesta ainakin lajimäärää lisätä. Kattava kalibrointimallin tulisi sisältää vaihtelua myös kasvukauden aikana sekä kasvukausien ja kasvupaikkatyyppien välillä. Lisäksi erottelemattomat maanäytteet sisältävät mitä todennäköisimmin myös kuolleita juuria. Niiden sisällyttäminen kalibrointimalleihin olisi myös hyödyllistä, sillä kuolleilla juurilla on ekosysteemissä eri tehtävä kuin elävillä. Kuolleet juuret ovat osa hiilivarastoa, jolloin niiden massa olisi hyvä olla tiedossa. Malliin olisi syytä sisällyttää eriasteisesti hajonnutta juurimateriaalia.

Sovellus kelpoisen kalibrointimallin vertailuaineiston tulisikin kattaa ainakin osa edellä mainituista vaihtelun suunnista. Vaihtelun suuntia lisättäessä mallien suorituskyky saattaa heiketä, mutta samalla toiminta-alue kasvaa. Tulevaisuudessa tulisikin löytää se laajuus, jolla mallilla on mahdollisimman paljon käyttökohteita, mutta se on vielä suorituskykyinen. Yhdelle laajalle mallille on vaihtoehtona monta suppeaa mallia. Tosin monen erillisen mallin käyttäminen saattaa olla hankalaa. Lisäksi laajan, vaikkakin todennäköisesti vähemmän suorituskykyisen mallin, luominen vaikuttaa myös kustannustehokkaammalta. Tulevaisuudessa pitää siis löytää tasapaino luontikustannusten, laajuuden ja suorituskyvyn välille. Tämän tutkimuksen malleja voidaan käyttää pohjana tuleville kalibrointimalleille.

5 Johtopäätökset

Tulosten pohjalta pidämme infrapunaspektroskopiaa lupaavana menetelmänä metsäekosysteemin juuriston lajikohtaisten massasuhteiden määrittämisessä. Tämän tutkimuksen perusteella voidaan todeta, että juurien massasuhteita on mahdollista määrittää lajikohtaisesti tai läpimittaluokissa. Lajitason tarkastelussa päädyttiin suorituskykyisempiin malleihin kuin läpimittaluokkiin jaoteltaessa. Tämä johtuu osin suuremmasta näytemäärästä.

Hienijuuret ovat esimerkiksi tuotokseltaan erilaisia kuin paksujuuret, siksi niiden määrittäminen erikseen voikin monesti olla tarkoituksenmukaista. Tulevan mallinnuksen ohjeeksi voidaan todeta, että spektriaineistolle kannattaa suorittaa matemaattinen esikäsittely. Tämän jälkeen kannattaa luoda PLS2-metelmällä kalibrointimallit ja mikäli halutaan, voidaan luoda yksityiskohtaisempia kalibrointimalleja PLS1-menetelmällä.

Suppeudessaan tämä tutkimus avaa jatkotutkimustarpeen kalibrointimallien edelleen kehittämiseksi. Tulevaisuudessa vastaavanlaisiin kalibrointimalleihin olisi hyvä sisällyttää vaihtelua eri kasvupaikkatyypin ja kasvukauden ajankohdan välillä. Kalibrointimallien jatkokehityksessä olisi hyvä huomioida myös juurten elinvoimaisuus. Vähän aikaa kuolleina olleet juuret voivat olla hankala erottaa elävistä. Nyt luodut kalibrointimallit voivat toimia pohjana tulevaisuudessa luotaville malleille. Tällaisia laajempia kalibrointimalleja voitaisiin käyttää juuritutkimuksen työkaluina esimerkiksi ekosysteemejä mallinnettaessa.

Lähteet

Artz, R. R. E., Chapman, S. J., Jean Robertson, A. H., Potts, J. M., Laggoun-Defarge, F., Gogo, S., Comont, L., Disnar, J. & Francez, A. 2008. FTIR Spectroscopy Can Be Used as a Screening Tool for Organic Matter Quality in Regenerating Cutover Peatlands. *Soil Biology & Biochemistry* 40: 515-527.

Brimmer, P. J. & Hall, J. W. 2001. Method Development and Implementation of Near-Infrared Spectroscopy in Industrial Manufacturing Support Laboratories. *Julkaisussa: Williams, P. & Norris, K. (toim.) Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries. American Association of Cereal Chemists inc. St. Paul, Minnesota, 187-198.*

Bruun, S., Stenberg, B., Breland, T., Gudmundsson J., Henriksen, T. Jensen, L., Korsæth, A., Luxhøi, J., Palmason, F., Pedersen, A. & Salo, T. 2005. Empirical Predictions of Plant Material C and N Mineralization Patterns from Near Infrared Spectroscopy, Stepwise Chemical Digestion and C/N Ratios. *Soil Biology & Biochemistry* 37: 2283-2296.

Cairns, M. A., Brown, S., Helmer, E. H. & Baumgardner, G. A. 1997. Root Biomass Allocation in the World's Upland Forest. *Oecologia* 111:1-11.

Crouzet, G., Harmand, J-M., Joffre, R., Siles, P. & Dambrine, E. 2007. Quantifying Fine Root Biomass Distribution of Coffee and Tree in a *Coffea arabica* - *Inga densiflora* Association Using Near Infrared Spectroscopy (NIRS). *Julkaisussa: Second International Symposium on Multi-Strata Agroforestry Systems with Perennial Crops: Making Ecosystem Services Count for Farmers, Consumers and the Environment. Oral and posters presentations. International Symposium on Multi-Strata Agroforestry Systems with Perennial Crops: Making Ecosystem Services Count for Farmers, Consumers and the Environment. September 17.-21.9.2007, Turrialba, Costa Rica.*

Fahey, G. C. & Hussein H. S. 1999. Forty Years of Forage Quality Research: Accomplishments and Impacts from an Animal Nutrition Perspective. *Crop Science* 39: 4-12.

Finer, L & Laine, J. 1998. Root Dynamics at Drained Peatland Sites of Different Fertility in Southern Finland. *Plant and Soil* 201: 27-36

Finer, L & Laine, J. 2000. The Ingrowth Bag Method in Measuring Root Production on Peatland Sites. *Scandinavian Journal of Forest Research* 15: 75-80.

Fogel, R. 1985. Roots as Primary Producers in Below-ground Ecosystems. *Ecological Interactions. Special publications* 4. 23-36.

Foley, W. J., McIlwee, A., Lawner, I., Aragonés, L., Woolnough, A. P. & Berding, N. 1998. Ecological Applications of Near Infrared Reflectance Spectroscopy- a Tool for Rapid, Cost-effective Prediction of the Composition of Plant and Animal Tissues and Aspects of Animal Performance. *Oecologia* 116: 293-305.

Gillion, D., Joffre, R & Ibrahima, A. 1999. Can Litter Decomposability Be Predicted by Near Infrared Reflectance Spectroscopy? *Ecology* 80: 175-186.

Helmisaari, H., Makkonen, K., Kellomäki, S., Valtonen, E. & Mälkönen, E. 2002. Below- and Above-ground Biomass, Production and Nitrogen Use on Scots Pine Stands in Eastern Finland. *Forest Ecology and Management* 165 : 317-326.

Holden, J. 2005. Peatland Hydrology and Carbon Release: Why Small-scale Process Matters. *Philosophical Transactions of the Royal Society Mathematical, Physical and Engineering Sciences* 363. 2891-2913

Hruschka, W. R. 1998. Data Analysis: Wavelength Selection Methods. *Julkaisussa: Williams, P. & Norris, K. (toim.) Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries. American Association of Cereal Chemists inc., St. Paul, Minnesota, 59-100.*

Kalliorinne, K., Kankaanperä, A., Kivinen, A. & Liukkonen, S. 1988. Fysikaalinen kemia 1: kvanttikemia ja spektroskopia. Kirjayhtymä, Helsinki.

Kanerva, K., Karkela, L. & Valste, J. 2000. Katalyytti, Orgaaninen kemia. Werner Söderström Osakeyhtiö. Helsinki.

Laasonen, M. 2003. Near Infrared Spectroscopy, a Quality Control Tool for the Different Steps in the Manufacture of Herbal Medicinal Products. *Dissertationes Biocentri Viikki Universitatis Helsingiensis* 13/2003.

Lawner, I. R., Aragoes, L., Berding, N., Marsh, H. & Foley, W. 2006 Near-Infrared Reflectance Spectroscopy is a Rapid, Cost-Effective Predictor of Seagrass Nutrients. *Journal of Chemical Ecology* 32: 1353-1365

Martens, H. & Næs T. 1991. *Multivariate Calibration*. John Wiley & sons, Chichester.

Martens, H. & Næs T. 2001. *Multivariate Calibration by Data Compression*. *Julkaisussa: Williams, P. & Norris, K. (toim.) Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*. American Association of Cereal Chemists inc. St.Paul, Minnesota. s. 59-100.

Milchunas, D. G. 2009. Estimating Root Production: Comparison of 11 Methods in Shortgrass Steppe and Review of Biases. *Ecosystems*. Published online 19.11.2009

Osborne, B. G. 2000. *Near-infrared Spectroscopy in Food Analysis*. *Julkaisussa: Meyers, R. A. (toim.) Encyclopedia of Analytical Chemistry Applications, Theory and Instrumentation*. John Wiley & sons, Chichester.

Osborne, B. G., Fearn, T. & Hindle, P. H. 1993. *Practical NIR Spectroscopy with Applications in Food and Beverage Analysis*. Second edition. Longman Scientific & Technical, Singapore.

Pavia, D. L., Lampman, G. M. & Kriz, G. S. 2001. *Introduction to Spectroscopy*. Third edition. Thomson learning.

Roumet, C., Picon-Cochard, C., Dawson, L. A., Joffre, R., Mayes, R., Blanchard, A. & Brewer, M. J. 2006. Quantifying Species Composition in Root Mixtures Using Two Methods: Near Infra-Red Reflectance Spectroscopy and Plant Wax Marker. *New Phytologist* 170: 631-638.

Saarinen, T. 1996. Biomass and Production of Two vascular Plants in a Boreal Mesotrophic Fen. *Canadian Journal of Botany* 74: 934-938.

Sjörs, H. 1991. Phyto- and Necromass Above and Below Ground in a Fen. *Holarctic Ecology* 14: 208-218.

Stuart, B. 2004. *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Application*. John Wiley & Sons. 244 s.

Söderström, M. T. 2005 Fourier Transform Infrared Spectroscopy in Analysis of Chemicals Related to the Chemical Weapons Convention. *Julkaisussa: Mesilaakso. M. (toim.) Chemical Weapons Convention Chemical Analysis*. John Wiley & Sons. s 354-385

Terhoeven-Urselmans, T., Schmidt, H., Joergensen, R. G. & Ludwig, B. 2008. Usefulness of Near-infrared Spectroscopy to Determine Biological and Chemical Soil Properties: Importance of Sample Pre-treatment. *Soil and biochemistry* 40: 1178-1188.

Tigabu, M. 2003. Characterization of Forest Tree Seed Quality with Near Infrared Spectroscopy and Multivariate Analysis. *Acta Universitatis Agriculturae Suecia. Silvestria* 274. Umeå.

Vávřová, P., Stenberg, B., Karsisto, M., Kitunen, V., Tapanila, T. & Laiho, R. 2008. Near Infrared Spectroscopy for Characterization of Plant Litter Quality: Towards a Simpler Way of Predicting C Turnover in Peatlands? Vymazal, J. (toim.), *Plant Dynamics, Management and Wastewater Treatment in Constructed and Natural Wetlands*. Springer, 65-87

Vogt K. A., Vogt D. J., Palmiotto P. A., Boon P., O'Hara J. & Asbjornsen H. 1996. Review of Root Dynamics in Forest Ecosystems Grouped by Climate, Climatic Forest Type and Species. *Plant and Soil* 187: 159-219.

Vogt K. A., Vogt D. J. & Bloomfield J. 1998. Analysis of Some Direct and Indirect Methods for Estimating Root Biomass and Production of Forest at an Ecosystem Level. *Plant and Soil* 200: 71-89.

Liite 1. Infrapunaspektrinäytteiden sekoittaminen

Tasapainoisen kalibrointiaineiston aikaansaamiseksi vertailuaineiston näytesarjassa tulisi olla tasainen vaihtelu, niin lajien välillä kuin niiden sisällä massaosuuksissakin. Lajimäärän lisääntyessä spektrinäytteissä pienien massaosuuksien määrä kasvaa väistämättä. Tällöin malleista rakentuu periaatteessa suorituskykyisempiä pienien massaosuuksien määrittämiseen. Mallit haluttiin kuitenkin yhtä toimiviksi kaikilla massaosuuksilla, niinpä loppupuolella spektrinäytteiden sekoittamista suurien massaosuuksien määrää pyrittiin tietoisesti lisäämään.

Spektrinäytteiden sekoittaminen eteni vaiheittain ja sekoittamiskaavaa muokattiin toimivammaksi koko ajan. Ensimmäiseksi sekoitettiin näytteet 0 - 2 mm läpimittaluokalle. Kaikista mahdollisista kahden lajin massayhdistelmistä tehtiin taulukko 10 %:n välein. Yhdistelmistä valittiin toteutettavaksi joka seitsemäs ja seitsemästoista, jolloin saatiin 60 valmistettavaa näytettä. Ne valmistettiin ja niiden spektrit mitattiin. Spektrien mittaamisen jälkeen, puoleen näistä näytteistä lisättiin kolmatta lajia. Tätä kolmatta lajia lisättiin noin 33 % olemassa olevan näytteen massasta, jolloin kolmannen lajin osuudeksi uudessa näytteessä tuli noin 25 %.

Kolmen lajin näytteistä 25:een lisättiin neljättä lajia, joko 200 % tai 9 % alkuperäisen näytteen massasta. Näin saatiin 67 % tai 8 % pitoisuudet uudelle lajille. Pienten massaosuuksien lisäämisen tarkoituksena oli saada suuria osuuksia enemmän. Viiden ja lajin näytteet tehtiin lisäämällä neljän lajin näytteisiin yhtä lajia puolet alkuperäisestä massasta. Kuuden lajin näytteet taas tehtiin myös neljän lajin näytteistä. Nyt niihin lisättiin kahta lajia. Toista lajia puolet ja toista lajia kaksi kertaa alkuperäinen massa. Molempia sekoituksia tehtiin 10 näytettä.

Seuraavaksi sekoitettiin läpimittaluokkia yhdistäviä näytteitä. Läpimittaluokan 0 - 2 mm kahden lajin näytteisiin lisättiin toista jo näytteessä olevaa lajia 2 - 5 mm läpimittaluokassa. Näitä näytteitä tehtiin 15 kpl. Uutta läpimittaluokkaa lisättiin noin puolet näytteen massasta eli sen pitoisuudeksi seoksessa tuli noin 33 %. Spektrien mittaamisen jälkeen näihin lisättiin vielä näytteen toista lajia 2 - 5 mm läpimittaluokassa. Nyt tähdättiin 20 %, 40 %,

60 % ja 80 % massoihin valmiissa seoksessa. Tämän jälkeen näihin 15:sta näytteeseen sekoitettiin kolmatta lajia läpimittaluokassa 0 - 2 mm.

Läpimittaluokan 2 - 5 mm näytteet sekoitettiin toisessa vaiheessa. Tämän läpimittaluokan suhteille tehtiin taulukko 10 %:n välein kaikissa mahdollisissa kahden lajin yhdistelmissä, kuten 0 - 2 mm luokallekin. Näistä valittiin 50 toteutettavaa näytettä eli joka viides. Näytteiden valinta aloitettiin ensimmäisestä. Valituista kaikki 40 - 60 %, 20 - 80 % ja 30 - 70 % massasuhteet muutettiin 10 - 90 % ja 5 - 95 % massasuhteiksi. Näin pyrittiin jälleen kerran saamaan enemmän suuria massaosuuksia.

Kolmen lajin näytteet tehtiin lisäämällä kahden lajin näytteiden massasta puoleen kolmatta lajia. Uutta lajia lisättiin 40 - 280 % alkuperäisen näytteen massasta, 40 prosenttiyksikön välein. Näytteisiin käytettiin vain puolet kahden lajin näytteiden massasta. Jäljelle jäänyt puolikas käytettiin neljän lajin näytteisiin. Nämä tehtiin sekoittamalla kaksi kahden lajin näytettä keskenään. Puoleen neljän lajin näytteistä lisättiin vielä viidettä lajia. Viidettä lajia lisättiin noin puolet edellisen seoksen massasta. Näin saatiin viidennelle lajille 33 % osuus lopullisesta näytteestä. Toiseen puoleen neljän lajin näytteistä lisättiin samalla kertaa kahta lajia. Tuloksena oli kuudenlajin spektrinäytteitä. Toista lajia lisättiin 50 % ja toista 200 % alkuperäisestä massasta.

Lisättävät lajit valittiin aina saman kaavan mukaan. Tieteellisen nimen mukaan aakkosjärjestyksessä olevasta taulukosta aina pykälän oikealle sekä alas edeten. Jos järjestelmän mukainen laji oli lopussa tai esiintyi jo näytteessä, hypättiin sen yli seuraavaan lajiin.

Viimeiseksi näytteisiin lisättiin turve, jota lisättiin kaikkiin valmiisiin näytteisiin. Turpeelle pyrittiin saamaan tasaisesti 20 - 100 % massaosuuksia. Turpeen massaosuuksien jakaumasta ei kuitenkaan saatu aivan tasaista (kuva 8).

Liite 2. Tutkimuksessa luotujen kalibrointimallien tunnusluvut.

Esikäsittelemätön											
Muuttuja	PLS1					PLS2					
	lpm/mm	PC	Kalibrointimalli		Varmennusmalli		PC	Kalibrointimalli		Varmennusmalli	
			SEC/%	r²	SEP/%	r²		SEC/%	r²	SEP/%	r²
Vaivaiskoivu	0-2	19	3,924	0,920	4,334	0,903	30	3,929	0,920	4,237	0,907
	2-5	19	3,672	0,935	4,103	0,919	30	3,790	0,931	4,165	0,917
	0-5	14	5,674	0,916	6,039	0,905	20	5,467	0,922	5,812	0,912
Hieskoivu	0-2	20	4,541	0,881	5,217	0,843	30	4,874	0,863	5,464	0,828
	2-5	19	5,763	0,861	6,341	0,832	30	5,827	0,858	6,408	0,828
	0-5	15	5,766	0,915	6,289	0,899	20	6,346	0,897	6,765	0,883
Kanerva	0-2	20	3,944	0,907	4,499	0,879	30	4,077	0,920	4,534	0,907
	2-5	21	4,990	0,891	5,688	0,858	30	5,244	0,931	5,945	0,917
	0-5	13	5,543	0,917	5,868	0,907	20	5,591	0,915	5,930	0,905
Variksenmarja	0-2	12	3,542	0,924	3,833	0,911	30	2,862	0,951	3,074	0,943
	2-5	11	5,646	0,865	5,974	0,849	30	3,647	0,944	4,003	0,932
	0-5	9	6,019	0,900	6,430	0,886	20	5,735	0,909	6,095	0,897
Suopursu	0-2	14	4,072	0,890	4,417	0,871	30	3,141	0,935	3,485	0,920
	2-5	17	4,054	0,914	4,441	0,897	30	3,627	0,931	3,976	0,917
	0-5	12	5,176	0,913	5,513	0,902	20	4,980	0,920	5,317	0,908
Mänty	0-2	17	4,701	0,892	5,157	0,871	30	4,680	0,893	5,166	0,870
	2-5	17	4,055	0,896	4,368	0,879	30	4,007	0,898	4,293	0,883
	0-5	8	6,344	0,874	6,643	0,862	20	5,528	0,905	5,853	0,893
Mustikka	0-2	20	4,588	0,885	5,131	0,856	30	4,725	0,878	5,169	0,854
	2-5	19	5,663	0,876	6,267	0,848	30	5,813	0,869	6,337	0,844
	0-5	13	7,159	0,873	7,575	0,858	20	7,321	0,868	7,712	0,852
Juulukka	0-2	18	5,639	0,840	6,361	0,798	30	5,772	0,833	6,498	0,789
	2-5	17	5,992	0,827	6,748	0,781	30	5,810	0,838	6,605	0,791
	0-5	13	6,408	0,889	6,903	0,871	20	6,294	0,893	6,678	0,879

Liikkuvien keskiarvojen esikäsittely

Muuttuja	lpm/mm	PLS1			PLS2			PC	PLS2		
		PC	Kalibrointimalli SEC/%	r ²	PC	Kalibrointimalli SEC/%	r ²		PC	Kalibrointimalli SEC/%	r ²
Vaivaiskoivu	0-2	18	4,135	0,911	4,522	0,894	30	3,942	0,920	4,288	0,905
	2-5	19	3,692	0,935	4,091	0,920	30	3,832	0,930	4,218	0,915
	0-5	15	5,417	0,923	5,791	0,913	20	5,513	0,921	5,891	0,909
Hieskoivu	0-2	21	4,404	0,888	5,106	0,850	30	4,911	0,861	5,484	0,827
	2-5	19	5,836	0,857	6,378	0,830	30	5,911	0,854	6,468	0,825
	0-5	15	5,838	0,913	6,308	0,898	20	6,393	0,895	6,864	0,879
Kanerva	0-2	20	3,969	0,906	4,542	0,876	30	4,088	0,900	4,526	0,877
	2-5	21	5,048	0,889	5,729	0,863	30	5,297	0,877	5,933	0,845
	0-5	13	5,579	0,916	5,920	0,905	20	5,629	0,914	5,925	0,905
Variksenmarja	0-2	12	3,566	0,923	3,830	0,912	30	2,875	0,950	3,077	0,943
	2-5	11	5,650	0,865	5,961	0,850	30	3,671	0,943	4,036	0,931
	0-5	9	6,026	0,900	6,427	0,888	20	5,746	0,909	6,077	0,898
Suopursu	0-2	14	4,075	0,890	4,382	0,873	30	3,182	0,933	3,502	0,919
	2-5	19	3,546	0,934	3,991	0,917	30	3,663	0,930	4,034	0,915
	0-5	12	5,200	0,912	5,492	0,902	20	4,997	0,919	5,322	0,908
Mänty	0-2	17	4,749	0,890	5,220	0,867	30	4,725	0,891	5,180	0,869
	2-5	17	4,090	0,894	4,402	0,877	30	4,040	0,896	4,342	0,880
	0-5	8	6,370	0,873	6,656	0,862	20	5,535	0,904	5,851	0,893
Mustikka	0-2	21	4,445	0,892	4,962	0,865	30	4,804	0,874	5,268	0,848
	2-5	20	5,481	0,883	6,099	0,856	30	5,810	0,869	6,298	0,846
	0-5	13	7,159	0,873	7,566	0,858	20	7,335	0,867	7,747	0,851
Juolukka	0-2	18	5,650	0,840	6,388	0,796	30	5,772	0,833	6,448	0,792
	2-5	17	6,015	0,826	6,774	0,780	30	5,817	0,837	6,582	0,792
	0-5	13	6,404	0,889	6,873	0,872	20	6,321	0,892	6,711	0,878

St-Golayn 1. derivaatan esikäsittely

Muuttuja	lpm/mm	PLS1			PLS2			PC	Kalibrointimalli			Varmennusmalli	
		PC	SEC/%	r ²	SEP/%	r ²	SEC/%		r ²	SEP/%	r ²		
Vaivaiskoivu	0-2	15	3,951	0,919	4,407	0,899	24	4,137	0,911	4,436	0,898		
	2-5	14	3,648	0,936	4,063	0,921	24	3,631	0,937	3,935	0,926		
	0-5	11	5,362	0,925	5,726	0,914	15	5,648	0,917	5,997	0,906		
Hieskoivu	0-2	17	4,141	0,901	4,902	0,862	24	4,645	0,875	5,139	0,848		
	2-5	17	4,812	0,903	5,478	0,874	24	5,442	0,876	5,977	0,850		
	0-5	11	5,688	0,917	6,119	0,904	15	5,842	0,912	6,228	0,900		
Kanerva	0-2	15	3,982	0,905	4,459	0,881	24	4,218	0,893	4,641	0,871		
	2-5	16	4,831	0,897	5,429	0,871	24	6,132	0,835	6,722	0,801		
	0-5	9	5,232	0,926	5,443	0,920	15	5,416	0,921	5,701	0,912		
Variksenmarja	0-2	9	3,470	0,927	3,662	0,919	24	2,929	0,948	3,102	0,942		
	2-5	14	3,864	0,937	4,308	0,922	24	4,074	0,930	4,418	0,918		
	0-5	10	5,006	0,931	5,344	0,921	15	5,284	0,923	5,521	0,916		
Suopursu	0-2	13	3,241	0,930	3,584	0,915	24	2,912	0,944	3,201	0,932		
	2-5	13	3,610	0,932	3,970	0,918	24	3,323	0,942	3,601	0,932		
	0-5	11	4,231	0,942	4,544	0,933	15	5,525	0,901	5,816	0,890		
Mänty	0-2	11	4,714	0,892	5,094	0,874	24	4,367	0,907	4,730	0,891		
	2-5	10	4,307	0,882	4,553	0,868	24	3,898	0,903	4,144	0,891		
	0-5	6	5,954	0,889	6,158	0,882	15	5,735	0,897	5,986	0,888		
Mustikka	0-2	15	4,311	0,898	4,837	0,872	24	4,907	0,868	5,318	0,845		
	2-5	14	5,647	0,876	6,187	0,851	24	5,702	0,874	6,156	0,853		
	0-5	11	6,612	0,892	6,958	0,880	15	7,252	0,870	7,606	0,856		
Juulukka	0-2	13	5,658	0,839	6,251	0,804	24	5,554	0,845	6,115	0,813		
	2.5	12	6,252	0,812	6,940	0,769	24	6,024	0,825	6,648	0,788		
	0-5	9	6,559	0,883	6,886	0,872	15	6,655	0,880	6,965	0,869		

St-Golayn 1. derivaatan esikäsittely

PLS2					
Muuttuja	PC	Kalibrointimalli SEC/% r ²		Varmennusmalli SEP/% r ²	
Turve	15	4,484	0,974	4,596	0,973
Vaivaiskoivu	15	5,646	0,917	5,951	0,908
Hieskoivu	15	5,843	0,912	6,218	0,901
Kanerva	15	5,413	0,921	5,682	0,913
Variksenmarja	15	5,295	0,923	5,575	0,914
Suopursu	15	5,541	0,901	5,769	0,892
Mänty	15	5,731	0,897	5,947	0,890
Mustikka	15	7,268	0,869	7,682	0,854
Juolukka	15	6,656	0,880	6,954	0,869

Muuttuja	Turve	Betula nana		Betula pubescens		Calluna vulgaris		Empetrum nigrum		Ledum palustre		Pinus sylvestris		Vaccinium myrtillus		Vaccinium uliginosum	
		0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5
1S218						29,6		70,4									
1S219						10,1				89,9							
1S220						83,4				16,6							
1S221						61,0						39,0					
1S222						39,3								60,7			
1S223						21,6										78,4	
1S224						89,5										10,5	
1S225								69,2		30,8							
1S226								48,8				51,2					
1S227								29,7						70,3			
1S228								20,7								79,3	
1S229								88,3								11,7	
1S230										67,6		32,4					
1S231										60,5				39,5			
1S232										48,1						51,9	
1S233												29,0		71,0			
1S234												11,2				88,8	
1S235												88,4				11,6	
1S236														78,8		21,2	
1S237		79,1		20,9													
1S238		77,6								22,4							
1S239		68,0												32,0			
1S240				59,8		40,2											
1S241				49,3								50,7					
1S242				39,2										60,8			
1S243						39,9		60,1									
1S244						29,7						70,3					

Muuttuja	Turve	Betula nana		Betula pubescens		Calluna vulgaris		Empetrum nigrum		Ledum palustre		Pinus sylvestris		Vaccinium myrtillus		Vaccinium uliginosum	
		0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5
1S245						29,8											70,2
1S246								20,1				79,9					
1S247								9,7									90,3
1S248										11,0		89,0					
1S249										79,6							20,4
1S250												68,9					31,1
1S251		77,1						22,9									
1S252		58,3												41,7			
1S253				40,0				60,0									
1S254				20,1										79,9			
1S255						92,0		8,0									
1S256						70,7								29,3			
1S257								58,5				41,5					
1S258		29,4										70,6					
1S259												10,3		89,7			
1S260														88,6			11,4
1S301		7,2		67,7		25,1											
1S302		17,3						25,1		57,5							
1S303		30,3						45,0		24,7							
1S304		38,1										26,1		35,8			
1S305		52,7										21,4		25,8			
1S306		57,4								16,6							26,0
1S307		56,5		15,7													27,8
1S308		58,4		15,5		26,1											
1S309				15,7				26,4				57,9					
1S310								7,4		23,3							69,3
1S311										60,6		23,8					15,5

Muuttuja	Turve	Betula nana		Betula pubescens		Calluna vulgaris		Empetrum nigrum		Ledum palustre		Pinus sylvestris		Vaccinium myrtillus		Vaccinium uliginosum	
		0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5
1S312				29,3						46,9				23,8			
1S313		27,3		35,1												37,6	
1S314				37,5		24,0						38,5					
1S315				53,6				21,3						25,0			
1S316				59,9		15,9						24,2					
1S317						7,6				67,5				24,9			
1S318		23,0				16,6										60,4	
1S319						22,7						53,7				23,6	
1S320		23,7				30,0								46,3			
1S321				24,1		30,3		45,6									
1S322						25,0		15,1				60,0					
1S323								15,1				27,0				57,9	
1S324								36,7				38,5		24,9			
1S325								52,1		23,2						24,6	
1S326		23,2						67,8								8,9	
1S327				26,0						44,8				29,2			
1S328						24,7				36,3						39,0	
1S329								23,9				8,5				67,5	
1S330				26,1								65,3				8,6	
1S401		2,4		22,7		8,4						66,4					
1S402		15,7		9,2				22,8		52,2							
1S403		35,5				6,7						24,3		33,4			
1S404		19,1										7,8		9,4		63,8	
1S405		52,4						8,7		15,2						23,8	
1S406		52,7		14,6						6,9						25,8	
1S407		21,0		5,6		9,4		64,1									
1S408								6,6		20,8		10,7				61,9	

Muuttuja	Turve	Betula nana		Betula pubescens		Calluna vulgaris		Empetrum nigrum		Ledum palustre		Pinus sylvestris		Vaccinium myrtillus		Vaccinium uliginosum	
		0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5
1S409										53,7		21,1		11,5			13,7
1S410				10,0						16,0		65,8		8,1			
1S411		25,2		32,5		7,5											34,8
1S412				34,2		21,9		8,9				35,1					
1S413				19,5		5,2						7,9		67,4			
1S414						6,9				61,4		9,1		22,7			
1S415		20,6				14,9								10,4			54,2
1S416		66,8				7,5						17,9					7,8
1S417		21,3				27,0								41,6			10,2
1S418		8,8				22,8		13,7				54,7					
1S419				64,0				5,4				9,7					20,8
1S420				6,5				34,3				36,0		23,3			
1S421						8,7		47,6		21,2							22,5
1S422		7,7				67,0		22,4									3,0
1S423						22,4		9,2		32,9							35,4
1S424								21,5				7,7		10,4			60,5
1S425				9,6				63,2				24,0					3,2
1S501		11,1		6,5		29,4		16,1		36,9							
1S502		12,4						35,0				5,0		6,1			41,4
1S503				21,2		13,6		5,5				21,8		37,9			
1S504				13,8		3,7						5,6		47,6			29,3
1S505		31,4				4,7				42,1		6,2		15,5			
1S506		15,9		25,1		20,2								31,1			7,6
1S507		6,2				16,0		9,7				38,5		29,6			
1S508				4,4				23,5				24,7		16,0			31,4
1S509		26,9						15,7				5,6		7,6			44,3
1S510				6,8		28,6		45,1				17,2					2,3

Muuttuja	Turve	Betula nana		Betula pubescens		Calluna vulgaris		Empetrum nigrum		Ledum palustre		Pinus sylvestris		Vaccinium myrtillus		Vaccinium uliginosum	
		0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5
1S601		19,9		17,7		3,7		26,4				13,6		18,7			
1S602		24,5						4,1		7,1		5,5		47,7		11,1	
1S603		14,1		3,7		6,3		43,1						29,0		3,7	
1S604		26,9				0,0		3,6		11,2		5,7		19,2		33,3	
1S605						41,9		3,7		29,2		11,5		6,3		7,5	
1S606		26,2		6,6				7,8		10,6		43,5		5,4			
1S607		10,5				7,6		28,6				20,3		5,3		27,7	
1S608				46,5		19,3		4,0				7,1		8,0		15,2	
1S609		2,5		6,5		47,5		15,9						25,6		2,1	
1S610		16,3				12,5		5,1		18,3		28,1				19,7	
2S01		40,6	32,0			27,3											
2S02		58,9	33,3							7,8							
2S03		21,9	34,3													43,8	
2S04				40,2	33,1			26,7									
2S05				61,2	32,2							6,6					
2S06						19,1	35,3	45,5									
2S07						40,6	33,3					26,0					
2S08						59,5	33,5									7,0	
2S09								20,6	30,4					48,9			
2S10												19,4	33,3	47,3			
2S11														53,2	32,5	14,3	
2S12		44,9	33,9											21,1			
2S13				25,3	35,5									39,2			
2S14						19,9	33,2									46,9	
2S15							34,5			7,2		58,3					
2S16		34,1	26,9			22,9	16,1										
2S17		41,8	23,7							5,6	28,9						

Muuttuja	Turve	Betula nana		Betula pubescens		Calluna vulgaris		Empetrum nigrum		Ledum palustre		Pinus sylvestris		Vaccinium myrtillus		Vaccinium uliginosum	
		0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5
3S224				21,1													78,9
3S225						58,4		41,6									
3S226						10,2		89,8									
3S227						48,2			51,8								
3S228						74,2						25,8					
3S229						46,4						53,6					
3S230						94,1								5,9			
3S231						4,1								95,9			
3S232						95,0											5,0
3S233						20,5											79,5
3S234								60,5		39,5							
3S235								11,3		88,7							
3S236								52,3				47,7					
3S237								91,6						8,4			
3S238								9,5						90,5			
3S239								79,2									20,8
3S240								28,0									72,0
3S241										71,4		28,6					
3S242										19,2		80,8					
3S243										59,8				40,2			
3S244										10,3				89,7			
3S245										47,4							52,6
3S246												87,4		12,6			
3S247												38,9		61,1			
3S248												93,1					6,9
3S249												5,9					94,1
3S250														70,6			29,4

Muuttuja	Turve	Betula nana		Betula pubescens		Calluna vulgaris		Empetrum nigrum		Ledum palustre		Pinus sylvestris		Vaccinium myrtillus		Vaccinium uliginosum	
		0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5
3S327					70,5		14,2				15,3						
3S328							21,3		71,3				7,4				
3S329							30,7				33,9		35,5				
3S330							53,3						43,4		3,3		
3S331							1,9								45,1		52,9
3S332			61,4				36,7										1,9
3S333					67,5		6,7										25,8
3S334							69,9		18,2		11,9						
3S335									3,1		24,3		72,6				
3S336									36,4				33,3		30,3		
3S337									52,3						4,8		42,9
3S338			57,7						4,0						38,3		
3S339					61,9				30,2								7,9
3S340							66,7		9,3								24,0
3S341									69,5		21,8		8,7				
3S342											4,3		18,0		77,7		
3S343											42,9				28,9		28,2
3S344			43,0								5,9				51,2		
3S345					56,5						20,6						22,9
3S346							62,4						32,9		4,8		
3S347									69,0				12,1		18,9		
3S348											71,4		26,6				2,0
3S349													1,6		73,4		25,0
3S350			37,5												44,1		18,4
3S351					45,3										11,3		43,4
3S401			44,3		4,2		5,3		46,3								
3S402			18,7		25,5		26,9				28,9						

Muuttuja	Turve	Betula nana		Betula pubescens		Calluna vulgaris		Empetrum nigrum		Ledum palustre		Pinus sylvestris		Vaccinium myrtillus		Vaccinium uliginosum	
		0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5
3S403			40,7				22,2		22,4		14,6						
3S404			2,9				44,7		5,9		46,5						
3S405			37,9				55,4		3,2					3,4			
3S406			11,2				1,7		47,6					39,5			
3S407			26,8				52,5				17,9						2,8
3S408			5,3				8,9				51,4						34,4
3S409			24,0						48,9				22,7		4,5		
3S410			41,8				40,3						14,0		3,9		
3S411			22,5						21,1				19,3		37,0		
3S412			49,1				17,6						20,3				13,1
3S413			2,5						4,5						42,9		50,1
3S414						11,0	40,2		38,7								10,1
3S415						46,3	5,7		13,4								34,5
3S416						31,7			21,6		33,4		13,3				
3S417						5,1			39,6		10,6		44,7				
3S418						26,2					26,3		41,5		6,0		
3S419						53,3					3,7		10,4		32,5		
3S420						21,1					23,1		30,2				25,6
3S421						59,1							32,8		5,8		2,4
3S422						2,8							2,9		47,7		46,6
3S423						40,4							21,5		33,8		4,3
3S424						11,6					27,1				18,2		43,2
3S425							31,8		22,6						32,2		13,4
3S501			29,8		2,8		3,6		31,1		32,7						
3S502			12,7		17,3		18,3				19,6		32,1				
3S503			26,7				14,5		14,7		9,6				34,6		
3S504			1,8				27,2		3,6		28,3						39,1

Muuttuja	Turve	Betula nana		Betula pubescens		Calluna vulgaris		Empetrum nigrum		Ledum palustre		Pinus sylvestris		Vaccinium myrtillus		Vaccinium uliginosum	
		0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5
3S505			24,3		35,9		35,5		2,1					2,2			
3S506			7,4				1,1		31,6		33,6			26,2			
3S507			16,6				32,5				11,1		38,1	0,0			1,7
3S508			3,5				5,9				34,1			33,6			22,8
3S509			15,6						31,7				14,7	2,9			35,1
3S510			27,0		35,4		26,0						9,0	2,5			
3S511			14,9				33,7		14,0				12,8	24,5			
3S512			30,4				10,9		38,1				12,6				8,1
3S513			1,7						3,1		31,7			29,3			34,2
3S514					7,0		25,7		24,7				36,1				6,5
3S515					27,4		3,4		8,0					40,7			20,5
3S516					20,7				14,1		21,8		8,7				34,7
3S517			42,2		2,9				22,9		6,1		25,8				
3S518					16,9		35,6				16,9		26,7	3,9			
3S519					38,1				28,6		2,7		7,4	23,2			
3S520					14,4						15,7		20,6	31,9			17,4
3S521			29,5		41,6								23,1	4,1			1,7
3S522					1,8		36,6						1,8	30,2			29,5
3S523					23,6				41,6				12,6	19,8			2,5
3S524					9,7								39,1	15,2			36,0
3S525							20,7		14,7		34,8			21,0			8,7
3S601			13,8		1,3		1,6		14,4		16,9		52,0				
3S602			5,3		7,2		7,6				8,2		15,4	56,2			
3S603			16,0				8,7		8,8		5,8			18,9			41,7
3S604			0,7		61,3		11,0		1,4		11,4						14,2
3S605			10,7		19,3		15,7		0,9		52,5			1,0			
3S606			3,2						13,4		15,8		56,0	11,1			

Muuttuja	Turve	Betula nana		Betula pubescens		Calluna vulgaris		Empetrum nigrum		Ledum palustre		Pinus sylvestris		Vaccinium myrtillus		Vaccinium uliginosum	
		0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5
TS009	81,0												19,0				
TS010	74,4			2,3		23,4											
TS011	70,0					25,0				5,0							
TS012	74,9									16,9		8,1					
TS013	66,0			20,4		13,7											
TS014	74,9											17,3				7,8	
TS015	68,7	9,5						14,1		7,7							
TS016	73,6			4,1				7,0				15,3					
TS017	66,1			18,2				7,2					8,5				
TS018	74,7			6,1		7,7		11,5									
TS019	67,8			8,4						14,4			9,4				
TS020	51,5	1,2		11,0		4,1						32,2					
TS021	37,5	15,8		20,3		4,7											21,7
TS022	48,3	11,0				13,9							21,5				5,3
TS023	35,2					5,7		30,9		13,7							14,6
TS024	47,8	5,8		3,4		15,3		8,4		19,3							
TS025	35,8	8,0						22,5				3,2	3,9				26,6
TS026	45,8			11,5		7,4		3,0				11,8	20,5				
TS027	35,0			9,0		2,4						3,6	31,0				19,1
TS028	54,3	14,4				2,2				19,2		2,8	7,1				
TS029	32,0	10,8		17,1		13,7							21,2				5,2
TS030	50,0	3,1				8,0		4,8				19,2	14,8				
TS031	44,8			2,4				13,0				13,6	8,8				17,3
TS032	52,3	12,8						7,5				2,7	3,6				21,1
TS033	38,0	12,3		10,9		2,3		16,4				8,4	11,6				0,0
TS034	49,8	12,3						2,0		3,6		2,8	23,9				5,6
TS035	42,8	8,1		2,1		3,6		24,6					16,6				2,1

Muuttuja	Turve	Betula nana		Betula pubescens		Calluna vulgaris		Empetrum nigrum		Ledum palustre		Pinus sylvestris		Vaccinium myrtillus		Vaccinium uliginosum	
		0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5
TS036	47,9	14,0						1,9		5,8		3,0		10,0		17,3	
TS037	37,4					26,2		2,3		18,3		7,2		3,9		4,7	
TS038	46,7	13,9		3,5				4,2		5,6		23,2		2,9			
TS039	33,1	7,0				5,1		19,1				13,6		3,5		18,5	
TS040	45,2			25,5		10,6		2,2				3,9		4,4		8,3	
TS041	30,3	11,4				8,7		3,6		12,7		19,6				13,7	
TS042	83,1								16,9								
TS043	80,5						19,5										
TS044	75,1		24,9														
TS045	83,7				16,3												
TS046	81,1									18,9							
TS047	76,1													23,9			
TS048	84,3																15,7
TS049	81,5											18,5					
TS050	49,0			11,4	9,4			7,6	22,7								
TS051	30,5			35,8	18,8							3,9	11,0				
TS052	56,8			9,1	12,8									14,1	7,2		
TS053	36,1					9,1	15,2									21,5	18,1
TS054	48,4						11,5			2,4	18,3	19,4					
TS055	42,4	14,3	11,3	15,7		9,6	6,7										
TS056	45,8	15,6	8,8			17,0				2,1	10,7						
TS057	38,9	5,8	9,0					18,6								11,5	16,3
TS058	49,4					4,9	9,1	11,8	10,0			14,7					
TS059	39,0					11,1	9,1					7,1	16,9	16,7			
TS060	52,2	16,8				10,3	5,8									1,2	13,7
TS061	33,9			21,2				7,7	11,4					18,3	7,6		
TS062	47,8					16,3						4,9	8,4	12,0	10,5		

Muuttuja	Turve	Betula nana		Betula pubescens		Calluna vulgaris		Empetrum nigrum		Ledum palustre		Pinus sylvestris		Vaccinium myrtillus		Vaccinium uliginosum	
		0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5
TS090	76,2		15,8				0,8		7,2								
TS091	65,1				24,6		5,0		0,0		5,3						
TS092	79,8						4,3		14,4				1,5				
TS093	73,5						8,1				9,0		9,4				
TS094	49,2						27,1						22,0		1,7		
TS095	80,3														8,9		10,4
TS096	72,0		17,2				10,3										0,5
TS097	46,9				35,8		3,5										13,7
TS098	79,9						14,0		3,7		2,4						
TS099	73,3								0,8		6,5		19,4				
TS100	65,2								12,7				11,6		10,5		
TS101	82,1								9,4						0,9		7,7
TS102	75,9		13,9						1,0						9,2		
TS103	67,9				19,9				9,7								2,5
TS104	79,5						13,7		1,9								4,9
TS105	72,6								19,1		6,0		2,4				
TS106	69,5										1,3		5,5		23,7		
TS107	79,3										8,9				6,0		5,8
TS108	75,0		10,7								1,5				12,8		
TS109	67,4				18,4						6,7						7,4
TS110	80,0						12,5						6,6		1,0		
TS111	74,5								17,6				3,1		4,8		
TS112	65,0										25,0		9,3				0,7
TS113	77,8														16,3		5,5
TS114	71,9		10,5												12,4		5,2
TS115	66,9				15,0										3,7		14,4
TS116	47,5		15,6		1,5		1,9		16,3		17,2						

Muuttuja	Turve	Betula nana		Betula pubescens		Calluna vulgaris		Empetrum nigrum		Ledum palustre		Pinus sylvestris		Vaccinium myrtillus		Vaccinium uliginosum	
		0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5
TS117	37,3		8,0		10,8		11,4				12,3		20,1				
TS118	17,8		21,9				11,9		12,1		7,9			28,4			
TS119	47,2		0,9				14,4		1,9		14,9						20,6
TS120	40,7		14,4		21,3		21,0		1,2				1,3				
TS121	20,4		5,9				0,9		25,2		26,8		20,9				
TS122	47,8		8,7				16,9				5,8		19,9				0,9
TS123	31,9		2,4				4,0				23,2			22,9			15,5
TS124	19,0		12,6					25,6				11,9		2,3			28,4
TS125	51,2		13,2		17,3		12,7					4,4		1,2			
TS126	35,2		9,7				21,8		9,1			8,3		15,9			
TS127	31,1		20,9				7,5		26,2			8,7					5,6
TS128	50,4		0,8					1,5		15,7				14,5			17,0
TS129	35,4				4,5		16,6		16,0			23,3					4,2
TS130	19,2				22,2		2,8		6,4					32,9			16,5
TS131	44,6				11,5				7,8		12,1		4,8				19,2
TS132	33,5		28,1		1,9				15,2		4,1		17,2				
TS133	19,5				13,6		28,6				13,6		21,5		3,1		
TS134	47,0				20,2				15,1		1,4		3,9		12,3		
TS135	31,9				9,8					10,7		14,0		21,7			11,9
TS136	22,4		22,9		32,3							17,9		3,2			1,3
TS137	48,5				0,9		18,9					0,9		15,6			15,2
TS138	36,2				15,0				26,5			8,0		12,6			1,6
TS139	26,1				7,1							28,9		11,2			26,6
TS140	50,2						10,3		7,3		17,3			10,5			4,4
TS141	39,2		8,4		0,8		1,0		8,8		10,3		31,6				
TS142	25,2		4,0		5,4		5,7				6,1		11,5		42,0		
TS143	45,5		8,7				4,8		4,8		3,1			10,3			22,7

Muuttuja	Turve	Betula nana		Betula pubescens		Calluna vulgaris		Empetrum nigrum		Ledum palustre		Pinus sylvestris		Vaccinium myrtillus		Vaccinium uliginosum	
		0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5	0-2	2-5
TS144	30,8				42,5		7,6		1,0		7,9						9,8
TS145	20,2		8,5		15,4		12,5		0,7		41,9				0,8		
TS146	44,6		1,8						7,4		8,7		31,0		6,2		
TS147	33,3		4,6				9,0				3,1		10,2		39,2		
TS148	20,4		1,2		43,8		2,0				11,6				13,3		7,7
TS149	49,9		3,2				30,6		6,6				3,1		0,6		6,0
TS150	34,4		8,4		10,9		8,1		34,5				2,8		0,8		
TS151	20,4		5,9				11,5		5,6		41,8		5,1		9,7		
TS152	47,0		8,0				2,9		8,1				3,3		28,6		2,1
TS153	31,8				36,7				0,9		11,6				8,5		9,9
TS154	19,1				2,6		9,5		9,1		41,1		16,2				2,4
TS155	43,1				6,8		0,8		2,0				30,9		11,3		5,1
TS156	28,9				5,9				4,0		6,2		2,5		40,9		11,6
TS157	20,9		12,1		1,1				8,7		2,3		9,8				45,0
TS158	44,1		30,4		3,8		10,9				3,8		6,1		0,9		
TS159	33,2				9,8		35,3		13,1		0,7		1,9		6,0		
TS160	21,9				5,0				42,8		5,5		7,2		11,6		6,1
TS161	45,8		14,6		8,6						25,0		4,8		0,8		
TS162	28,2		39,6		0,5		13,8						0,5		8,7		8,5
TS163	20,8				9,9		40,3		14,4				5,3		8,3		1,1
TS164	49,7				1,6				27,7		3,7		8,9		2,5		5,9
TS165	33,2		11,9				5,5		3,9		37,4				5,6		2,3