

近红外漫反射光谱法快速测定新鲜青贮饲料化学成分含量

董苏晓^{1,2} 刘贤^{1,2} 韩鲁佳^{1,2}

(1. 中国农业大学 工学院, 北京 100083; 2. 现代精细农业系统集成研究教育部重点实验室, 北京 100083)

摘要 探讨近红外漫反射光谱技术(NIRS)测定新鲜青贮饲料化学成分的可行性。在液氮(-196℃)冷冻下对119份具有代表性的青贮饲料样品进行粉碎处理,利用传统分析方法测得其化学成分含量,同时利用近红外光谱仪扫描得到其近红外光谱,采用改良偏最小二乘回归方法(MPLS)建立其近红外定量分析校正模型。结果表明:干物质(DM)、中性洗涤纤维(NDF)、酸性洗涤纤维(ADF)和粗灰分(CA)的相对分析误差RPD值(SD/SECY)均大于3,校正模型的外部验证决定系数 R^2 均大于0.85;粗蛋白(CP)、酸性洗涤木质素(ADL)和可溶性碳水化合物(WSC)的RPD值均大于2,其 R^2 分别为:0.82、0.65和0.71。近红外漫反射光谱法可以很好的测定新鲜青贮饲料中的DM、NDF、ADF和CA含量;CP含量测定效果较好,需要通过扩大样品CP含量变异范围进一步验证;可粗略估测ADL和WSC含量,测定精度有待于提高。

关键词 近红外漫反射光谱(NIRS);快速测定;新鲜青贮饲料;化学成分;定量分析

中图分类号 S861.53

文章编号 1007-4333(2007)06-0085-04

文献标识码 A

Rapid measurement for chemical compositions of fresh silage by near-infrared reflectance spectroscopy

Dong Suxiao^{1,2}, Liu Xian^{1,2}, Han Lujia^{1,2}

(1. College of Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China;

2. Key Laboratory of Modern Precision Agriculture System Integration, Ministry of Education, Beijing 100083, China)

Abstract In order to study the feasibility of analysis of chemical compositions of fresh silage using near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS), which is different from the pretreatment of comminuting after drying process as conventional means, a representative population of 119 silage samples was grounded under the protection of liquid nitrogen. Using the traditional methods to analysis chemical composition of the silage samples and using the spectrometer to scan their spectrums at the same time. All the NIRS calibrations for the fresh silage were developed by means of Modified Partial Least Squares (MPLS) regression. Results showed that the RPD (SD/SECY) values of Dry Matter (DM), Neutral Detergent Fiber (NDF), Acid Detergent Fiber (ADF) and Crude Ash (CA) were all greater than 3. And the correlation coefficient of validation (R^2) of the parameters were all greater than 0.85. The RPD of the parameters for Crude Protein (CP), Acid Detergent Lignin (ADL) and Water Soluble Carbohydrate (WSC) were all greater than 2 and the R^2 of them were 0.82, 0.65 and 0.71 respectively. We concluded that NIRS could provide accurate prediction of a wide range of chemical compositions, including the contents of DM, NDF, ADF and CA; and NIRS could provide relatively accurate prediction of CP but extra samples should be collected to enlarge the variation range of CP for further validation. ADL and WSC content in fresh silage can roughly be estimated by NIRS, however, the precisions for them should be improved in future.

Key words near infrared reflectance spectroscopy (NIRS); rapid measurement; fresh silage; chemical composition; quantitative analysis

收稿日期: 2007-04-16

基金项目: 国家“十五”科技攻关计划课题(2004BA514A16)

作者简介: 董苏晓, 硕士研究生; 韩鲁佳, 教授, 博士生导师, 通讯作者, 主要从事生物质资源开发与利用研究, E-mail: hanlj@cau.edu.cn

青贮是我国广泛应用的提高秸秆饲用价值的方法。随着青贮饲料生产规模化和集约化水平及对畜牧产品(尤其是奶制品)质量和安全性要求的提高,青贮饲料的品质检测日益成为国内外普遍关注的问题^[1],而化学成分含量的测定是青贮饲料品质评价中的重要环节。传统的测定青贮饲料化学成分的方法存在费时费力,需要消耗化学试剂,要求测定人员具有较高的操作技术等问题。近年来得到广泛应用的近红外漫反射光谱技术 NIRS 具有分析速度快、样品制备简单、光谱测量方便、测试重现性好等优点^[2],非常适用于青贮饲料的多组分快速测定。由于新鲜青贮饲料样品粒径较大且不均匀,而粒径大小及均匀度是影响近红外漫反射分析的主要因素^[3],因此国外研究者考虑在液氮或干冰保护下粉碎新鲜青贮饲料,以减小样品粒度从而改善均匀性,提高模型预测精度^[4-5]。目前,国内关于 NIRS 技术分析青贮饲料化学成分的研究^[6-8]中,其样品前处理均为干燥粉碎,而利用 NIRS 技术对新鲜青贮饲料(玉米、水稻、高粱、小麦和苜蓿)的研究尚未见报道。为了在样品前处理方式上有所尝试,本研究拟对新鲜青贮饲料在液氮冷冻下进行粉碎处理,并对 NIRS 快速测定新鲜青贮饲料中化学成分含量的可行性进行探讨。

1 材料与方法

1) 样品采集。样品共计 119 份,分别于不同时间(2003-05—2004-10),采集自不同地区(北京、河北、浙江、江苏、吉林、黑龙江、陕西和广西)的牛场和实验室,包含了不同种类(玉米、水稻、高粱、小麦和苜蓿)、不同预处理(是否添加剂青贮)和不同青贮方式(窖贮、袋贮和桶贮)的青贮饲料样品。

2) 化学成分含量的实验室化学分析。干物质(DM)、粗蛋白(CP)、粗灰分(CA)含量按 AOAC^[9]方法测定;中性洗涤纤维(NDF)、酸性洗涤纤维(ADF)和酸性洗涤木质素(ADL)含量用 Van Soest^[10]的方法测定;WSC 采用蒽酮-硫酸比色法^[11]测定。每个试样取 2 个平行样测定(结果以湿基表示)。

3) 试验仪器及光谱采集。FOSS NIRSystems 6500 光栅型近红外光谱仪,丹麦 FOSS 公司。采集光谱时仪器工作参数为:谱区范围 1 100~2 498 nm,扫描 32 次,数据间隔 2 nm,数据以 $\lg(1/R)$ (反射吸光度,其中 R 为漫反射率)的形式存储于计算机中。样品经液氮(-196℃)冷冻后用高速万能粉碎机(FW

135 型,天津市泰斯特仪器有限公司)粉碎,混合均匀,室温条件下将样品装填在与仪器配套的 1/4 方形样品杯内扫描。为了更好的消除样品粒度差异以及装样过程由于压实程度不同而产生的影响,每个样品重复装样扫描 3 次,取其平均光谱为样品光谱。

4) 定量分析校正模型的建立方法。采用 Winisi 定量分析软件(美国 Infracsoft 公司)中的改良偏最小二乘回归方法(MPLS)建立新鲜青贮饲料化学成分含量的近红外光谱校正模型,建模前计算样品 GH(马氏距离)值,对校正集样品光谱进行异常值检验^[12],GH 值代表每个样品的谱带与所有样品平均谱带的差异,一般将 $GH < 3.0$ 的样品视为来自同一群体,如果计算得到某样品 $GH > 3.0$,则视为异常样品予以剔除^[13]。为了消除仪器背景或漂移对信号的影响,考虑对原始光谱使用导数(一阶或二阶)和平滑处理;为了校正样品间因粒度分布不均匀产生散射而引起的光谱误差,对原始光谱采用变量标准化(SNV)、去趋势(Detrend)和多元散射校正(MSC)方法进行校正^[14]。为防止过拟合现象的发生对校正模型进行交互验证,同时确定模型的主因子数,根据交互验证标准差 SECV 最小原则确定最优模型^[7],并通过独立的检验样品集对所建模型进行外部检验。校正集样品和独立外部检验集样品按浓度梯度隔 3 选 1 的方式选择。另外,利用相对分析误差 RPD($SD/SECV$,SD 为校正集样品标准偏差,SECV 为交互验证标准差)值对定标模型的定标效果和预测精度做进一步验证。如果 $RPD > 3$,说明定标效果良好,建立的定标模型可以用于实际检测^[15];如果 $RPD > 2$,说明利用 NIRS 对饲料中该成分进行粗略的定量分析是可行的,但精度有待提高;如果 $RPD < 2$,则说明利用 NIRS 难以对该成分进行定量分析^[16]。

2 结果与分析

2.1 新鲜青贮饲料成分含量的统计结果及近红外漫反射光谱

对 119 份新鲜青贮饲料样品进行常规化学成分分析结果见表 1。可以看出所采集青贮饲料样品的成分含量变化幅度较大,具有较好的代表性。由样品光谱图(图 1)可以看出,样品光谱具有较好的代表性;由于新鲜青贮饲料样品的含水率较大(约 65%~85%),导致样品光谱在 1 440 nm 和 1 940 nm 附近存在水分的强烈吸收峰。

表 1 新鲜青贮饲料化学成分质量分数的统计结果

Table 1 Statistic results of range in chemical parameters of fresh silage samples g/kg

化学成分	平均值	最小值	最大值	标准偏差
酸性洗涤纤维 (ADF)	96.06	45.62	180.13	28.37
酸性洗涤木质素 (ADL)	13.42	6.50	34.92	5.55
粗灰分 (CA)	18.49	7.87	49.20	8.34
粗蛋白 (CP)	21.88	8.11	58.91	7.08
干物质 (DM)	257.70	133.77	435.11	61.87
中性洗涤纤维 (NDF)	153.30	92.60	284.67	37.79
可溶性碳水化合物 (WSC)	5.88	0.39	32.47	5.85

注：化学成分质量分数均以湿基表示。

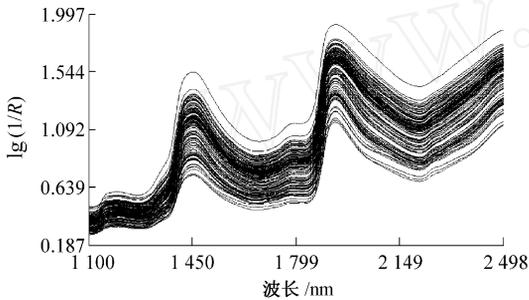


图 1 119 个新鲜青贮饲料样品的近红外漫反射光谱

Fig. 1 NIRS spectra of 119 fresh silage samples

2.2 近红外光谱校正模型的建立

1) 异常样品的剔除和模型参数优化。所有化学成分均取光谱范围为 1 100 ~ 2 498 nm 建模。表 2 给出了校正集中各成分剔除的异常样品数、最终采用的校正集和外部检验集样品数、确定的最佳光谱预

处理方法以及最佳主因子数。

2) 校正模型的建立及检验。采用表 2 中所确定的最佳预处理方法和主因子数分别建立新鲜青贮饲料 DM、CP、NDF 等化学成分含量的近红外光谱校正模型。校正模型及外部检验结果见表 3。可见新鲜青贮饲料中 DM、NDF、ADF 和 CA 含量的校正模型决定系数 R^2 均较高分别为 0.96、0.92、0.90 和 0.93，交互验证标准差 SECV 分别为 15.73、10.52、8.87 和 2.59，计算所得 RPD 值均大于 3，而且外部检验所得近红外校正模型测定值与化学值的决定系数 R^2 均大于 0.85，说明所建立的校正模型可以很好的测定新鲜青贮饲料中 DM、NDF、ADF 和 CA 的含量。以 NDF 为例，其外部检验集近红外测定值和化学分析值相关关系见图 2(a)。CP 的校正模型决定系数 R^2 (0.89) 较高而交互验证标准差 SECV (1.91) 较低，CP 的外部检验集决定系数也达到了 0.82 (图 2(b))，说明所建立的校正模型可以较好地测定样品中 CP 的含量，但其 RPD 值却小于 3，分析原因可能是由于所采样品的粗蛋白含量过于集中，变化范围不够大造成的，在以后的研究中应补充样品，增加样品 CP 含量的变异范围。青贮饲料中 ADL 和 WSC 含量的校正模型决定系数 R^2 分别为 0.76 和 0.71，交互验证标准差 SECV 分别为 2.34 和 2.24，外部检验集化学值与校正模型测定值的决定系数 R^2 分别为 0.65 和 0.71，计算所得 RPD 值均大于 2，说明利用 NIRS 对 ADL 和 WSC 进行粗略估测是可行的，但精度有待于提高。

表 2 新鲜青贮饲料化学成分含量近红外光谱校正模型的建模参数

Table 2 Optimized NIRS calibration methods for chemical parameters of fresh silage

化学成分	异常样品数	校正集样品数	外部检验集样品数	最佳光谱预处理方法	最佳主因子数
酸性洗涤纤维 (ADF)	0	90	29	0,0,1,1 + Standard MSC	3
酸性洗涤木质素 (ADL)	1	88	30	0,0,1,1 + Detrend only	5
粗灰分 (CA)	0	89	30	2,10,5,1 + SNV and Detrend	8
粗蛋白 (CP)	4	85	30	2,8,6,1 + Weighted MSC	6
干物质 (DM)	1	88	30	2,4,4,1 + Detrend only	6
中性洗涤纤维 (NDF)	4	86	29	0,0,1,1 + Weighted MSC	7
可溶性碳水化合物 (WSC)	0	89	30	0,0,1,1 + Detrend only	8

注：“+”号前面 4 位数字的含义：第 1 位数字表示求导次数，如果为 0 表示不做求导处理；第 2 位数字表示求导时的光谱点间隔；第 3 位数字表示做 1 次平滑处理时的间隔点；第 4 位数字表示做 2 次平滑处理时的间隔点，如果为 1 表示不做 2 次平滑处理。“+”号后面的含义：SNV，变量标准化；Detrend，去趋势；Standard MSC，标准多元散射校正；Weighted MSC，加权多元散射校正。

表3 新鲜青贮饲料化学成分含量的近红外光谱校正模型及检验结果

Table 3 Statistics of NIRS calibration and validation for the chemical parameters

化学成分	校正模型					外部检验		
	R^2	SEC / (g/kg)	R_{cv}^2	SEC _v / (g/kg)	RPD	R_v^2	SEP / (g/kg)	Slope
酸性洗涤纤维(ADF)	0.90	8.39	0.89	8.87	3.25	0.85	11.22	1.06
酸性洗涤木质素(ADL)	0.76	2.13	0.71	2.34	2.13	0.65	2.43	0.97
粗灰分(CA)	0.93	2.05	0.89	2.59	3.22	0.89	2.82	0.93
粗蛋白(CP)	0.89	1.47	0.81	1.91	2.34	0.82	2.35	0.82
干物质(DM)	0.96	10.28	0.91	15.73	3.83	0.93	20.65	0.84
中性洗涤纤维(NDF)	0.92	9.84	0.91	10.52	3.68	0.91	11.80	0.88
可溶性碳水化合物(WSC)	0.71	1.92	0.60	2.24	2.50	0.71	1.98	0.84

注: 校正决定系数; 校正标准差; 交互验证决定系数; 交互验证标准差; 相对分析误差; 验证决定系数; 验证标准差; 斜率,以近红外预测值为横坐标,实验室化学分析值为纵坐标。

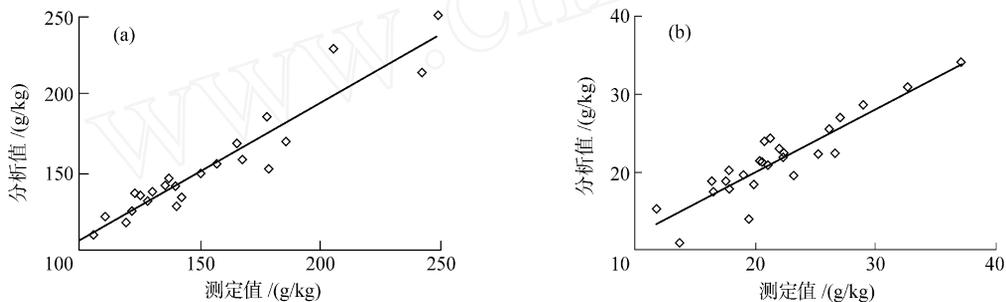


图2 中性洗涤纤维(a)和粗蛋白(b)含量的近红外测定值与化学分析值的相关关系

Fig. 2 NIRS value vs. chemical value of NDF (a) and CP (b)

3 结论

NIRS技术可以很好地测定新鲜青贮饲料中DM、NDF、ADF和CA的含量;测定CP含量效果较好,但应补充样品,通过增加样品CP含量的变异范围进一步对其定标效果进行验证;NIRS技术可以粗略估测ADL和WSC的含量,但精度有待提高。

参考文献

- [1] 刘贤. 基于近红外光谱的青贮饲料快速分析方法与模型研究[D]. 北京:中国农业大学,2006
- [2] 徐广通,袁洪福,陆婉珍. 现代近红外光谱技术及应用进展[J]. 光谱学与光谱分析,2000,20(2):134-142
- [3] 陆婉珍,袁洪福,徐广通,等. 现代近红外光谱分析技术[M]. 北京:中国石化出版社,2001
- [4] Park R S, Agnew R E, Gordon F J, et al. The use of near infrared reflectance spectroscopy on undried samples of grass silage to predict chemical composition and digestibility parameters [J]. Animal Feed Science and Technology, 1998, 72:155-167
- [5] Reeves J B, Blosser T H, Colenbrander V F. Near infrared reflectance spectroscopy for analyzing undried silages [J]. Journal of Dairy Science, 1989, 72:79-88
- [6] 刘强,孟庆翔,白琪林,等. 利用近红外光谱法快速测定青贮玉米饲料中NDF与ADF含量[J]. 中国畜牧杂志, 2005, 41(11):39-41
- [7] 刘贤,韩鲁佳. 近红外漫反射光谱法快速测定秸秆青贮饲料成分含量[J]. 光谱学与光谱分析,2006,26(11):2016-2020
- [8] 白琪林,陈绍江,严衍禄,等. 近红外漫反射光谱法测定青贮玉米品质性状的研究[J]. 中国农业科学,2006,39(7):1346-1351
- [9] 威廉姆斯,李述信,孟广政. AOAC分析方法手册[M]. 北京:中国光学学会光谱专业委员会,1986
- [10] 杨胜. 饲料分析及饲料质量检测技术[M]. 北京:北京农业大学出版社,1993
- [11] 宁开桂. 实用饲料分析手册[M]. 北京:中国农业科技出版社,1993
- [12] 闵顺耕,李宁,张明祥. 近红外光谱分析中异常值的判别与定量模型优化[J]. 光谱学与光谱分析,2004,24(10):1205-1209
- [13] 吴建国,石春海,张海珍. 构建整粒油菜籽脂肪酸成分近红外反射光谱分析模型的研究[J]. 光谱学与光谱分析,2006,26(2):259-262
- [14] 严衍禄,赵龙莲,韩东海,等. 近红外光谱分析基础与应用[M]. 北京:中国轻工出版社,2005
- [15] Malley D F, Williams P C, Stainton M P. Rapid measurement of suspended C, N and P from precambrian shield lakes using Near-infrared reflectance spectroscopy [J]. Water Research, 1996, 30(6):1325-1332
- [16] Sorensen L K. Prediction of fermentation parameters in grass and corn silage by near infrared spectroscopy [J]. Journal of Dairy Science, 2004, 87(11):3826-3835