

文章编号:1001-9014(2006)04-0267-04

近红外反射光谱分析技术快速检测复合 化学肥料中肉骨粉含量的研究

朱荣光¹, 韩鲁佳¹, 杨增玲¹, 甘利雅弘²

(1. 中国农业大学工学院, 北京 100083; 2. 日本畜产草地科学研究所, 日本筑波 305-0901)

摘要:肉骨粉是产生牛海绵状脑病(BSE)的主要原因,根治 BSE 很有必要研究饲料和肥料中的肉骨粉的检出方法。本文探讨了利用近红外反射光谱(NIRS)分析技术快速检测复合化学肥料中肉骨粉含量的可行性。对混合有肉骨粉的 4 种复合肥料样品和这些所有样品,采用偏最小二乘法(PLS),获得 5 个校正模型的决定系数(R^2)分别为 0.9989、0.9957、0.9977、0.9969 和 0.9955,相对标准偏差(RSD)分别为 3.82%、4.07%、3.92%、3.99% 和 5.13%;检验集的真值和模型预测值的决定系数(r^2)分别为 0.9951、0.9981、0.9960、0.9943 和 0.9884, RSD 分别为 6.74%、2.58%、3.55%、6.17% 和 7.44%。结果表明,利用 NIRS 分析技术可以成功检测出复合肥料中肉骨粉的含量。

关键词:肉骨粉;复合化学肥料;近红外反射光谱

中图分类号:0657.33 **文献标识码:**A

RAPID DETECTION OF MEAT AND BONE MEAL CONTENT IN COMPOUND FERTILIZER BY NEAR INFRARED REFLECTANCE SPECTROSCOPY

ZHU Rong-Guang¹, HAN Lu-Jia^{1*}, YANG Zeng-Ling¹, Amari Masahiro²

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

2. National Institute of Livestock and Grassland Science, Tsukuba 305-0901, Japan)

Abstract: Bovine spongiform encephalopathy (BSE) is mainly caused by meat and bone meal (MBM). In order to eliminate BSE, it is imperative to develop a method to examine the content of MBM mixed in feedings and fertilizers. The objective of this study was to investigate the feasibility of using near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to determine MBM content in compound fertilizers. By partial least squares (PLS) regression, 5 NIRS models were developed from 5 calibration sets, which were of mixed samples of 4 various compound fertilizers with MBM and their collectivity. The determination coefficient (R^2) of 5 calibration sets was, respectively, 0.9989, 0.9957, 0.9977, 0.9969, 0.9955, and the relative standard deviation (RSD) was, respectively, 3.82%, 4.07%, 3.92%, 3.99%, 5.13%. The coefficient of determination (r^2) of independent validation sets was 0.9951, 0.9981, 0.9960, 0.9943, 0.9884 respectively, and the RSD was 6.74%, 2.58%, 3.55%, 6.17%, 7.44% respectively. It is concluded that NIRS can be used as a method to detect MBM content in compound fertilizer.

Key words: meat and bone meal (MBM); compound fertilizer; near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS)

引言

牛海绵状脑病(BSE),俗称“疯牛病”,是一种可传播性人畜共患病。BSE 的病原^[1]是一种叫做朊蛋白(prion protein)的自我复制蛋白。自 1986 年英国确诊第一例“疯牛病”后,它在世界许多国家先后出现,造成巨大的经济、政治和社会动荡。

NIRS 分析技术是 20 世纪 70 年代兴起的一种有机物新型定性、定量分析技术。目前广泛应用于农业、食品、石化、纺织与医药等领域^[2-4]。通过分析特殊的蛋白质在近红外区域的吸收,NIRS 方法可以达到快速、简易识别饲料与肥料中的动物性蛋白含量的目的。用 NIRS 检测饲料中肉骨粉的研究^[5,6]显示,该方法具有对饲料中肉骨粉进行定量检测的能

收稿日期:2005-10-17,修回日期:2006-01-16

基金项目:国家自然科学基金(30571074)资助项目

作者简介:朱荣光(1982-),男,河南周口人,硕士研究生,主要从事生物质资源开发与利用研究。

Received date: 2005-10-17, revised date: 2006-01-16

力,但仍需深入研究以提高其模型的精度和稳定性.甘利雅弘^[7]研究表明 NIRS 方法可以从复合化学肥料中检测出肉骨粉.目前国内未有复合化学肥料中肉骨粉检测的报道.

本文研究应用 NIRS 分析技术,在国内首次探索以不同比例添加到复合化学肥料中的肉骨粉的检测方法,建立其相应的校正模型,并用检验集对校正模型的可靠性进行了验证.

1 实验材料与方法

1.1 样品的收集与制备

实验用 4 种复合肥料购自北京农村市场,按其 N、P₂O₅ 和 K₂O 含量分别表示为 15-15-15、15-10-5、14-11-8 和 12-8-5. 肉骨粉来自国家饲料检测中心,其中 1 种为进口,2 种为国产.对全部复合肥料和肉骨粉进行粉碎,过 1mm 标准筛处理,然后把肉骨粉按不同比例(0.10%~10.00%)均匀混合到复合肥料中,获得实验用样品 140 个,其中每种复合肥料的样品数目为 35 个.为扩大样品代表性,同时采用上述所有复合肥料样品为一样品集.表 1 所示为各样品集中样品的肉骨粉含量的统计结果.

1.2 光谱采集与处理

1.2.1 仪器及参数设定

试验仪器:SPECTRUM ONE NTS 傅里叶变换近红外光谱仪(美国 Perkin Elmer 公司),Spectrum Quant + V5.0.1 定量分析软件,漫反射积分球附件.

仪器参数:扫描次数为 32 次,分辨率为 8cm⁻¹,扫描波数范围为 10 000~4 000cm⁻¹.

1.2.2 光谱处理与数据分析

利用 Spectrum Quant + V5.0.1,采用偏最小二乘法(PLS)作为建模算法,对原始光谱分别进行卷积平滑、多元散射校正、向量标准化转换以及一阶、二阶导数等预处理.通过比较校正集决定系数(R²)、校正标准差(SEC)、交互验证决定系数(R_{cv}²)和交互验证标准差(SEC_{cv}),选择最优的散射校正和数学处理方法建立校正模型.用检验集预

测值与真值的决定系数(r²)、标准差(SEP)考查模型的预测精度^[8].

2 实验数据与分析

2.1 样品近红外反射光谱分析

图 1 所示为复合肥料 15-15-15 的 35 个样品的近红外光谱图.由图中可以看出,在 10 000~4 000 cm⁻¹谱区内,肉骨粉中丰富的蛋白质和脂肪类含有大量的 C-H、O-H 和 N-H 基团^[9],在 5 300~4 000 cm⁻¹的合频区形成强烈的吸收;在 7 000~5 300 cm⁻¹的一倍频区有较强烈的吸收;在 10 000~7 000 cm⁻¹的高倍频区吸收相对较弱,鲜明的光谱特征为肉骨粉含量的定量分析提供了丰富的信息.

2.2 异常值的剔除

在 Quant + 软件中,可采用光谱影响值 Leverage 和化学值绝对误差 Residual 这两个指标量分别对光谱和化学值进行异常值检验(Outlier test)^[10].

本文试验研究中,用 PLS 算法对各样品集光谱进行全交互验证(cross-validation),获得了 Outlier test 结果,剔除异常值样品.各样品集剔除的异常值样品数见表 2 所列.

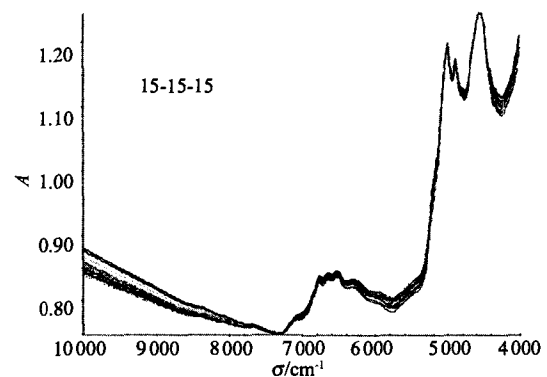


图 1 35 个样品近红外漫反射光谱
Fig. 1 NIRS spectra of 35 samples

表 2 建模信息统计

Table 2 Statistics of calibrating information

	校正集 样品	检验集 样品	异常值 样品	最佳 预处理方法	主因子数
15-15-15	23	11	1	9 点平滑、 SNV + Detrend	7
15-10-5	23	11	1	9 点平滑、 SNV + Detrend	3
14-11-8	23	10	2	9 点平滑	7
12-8-5	23	11	1	9 点平滑	4
总体样品	91	47	2	9 点平滑、 1 阶 9 点导数	6

表 1 复合肥料中肉骨粉含量统计
Table 1 MBM content in fertilizer

样品数	最大值 /%	最小值 /%	平均值 /%	标准偏差 /%	
15-15-15	35	10.00	0.10	3.81	3.58
15-10-5	35	10.00	0.10	5.36	3.05
14-11-8	35	10.00	0.10	4.65	3.05
12-8-5	35	10.00	0.10	5.01	3.19
总体样品	140	10.00	0.10	4.71	3.24

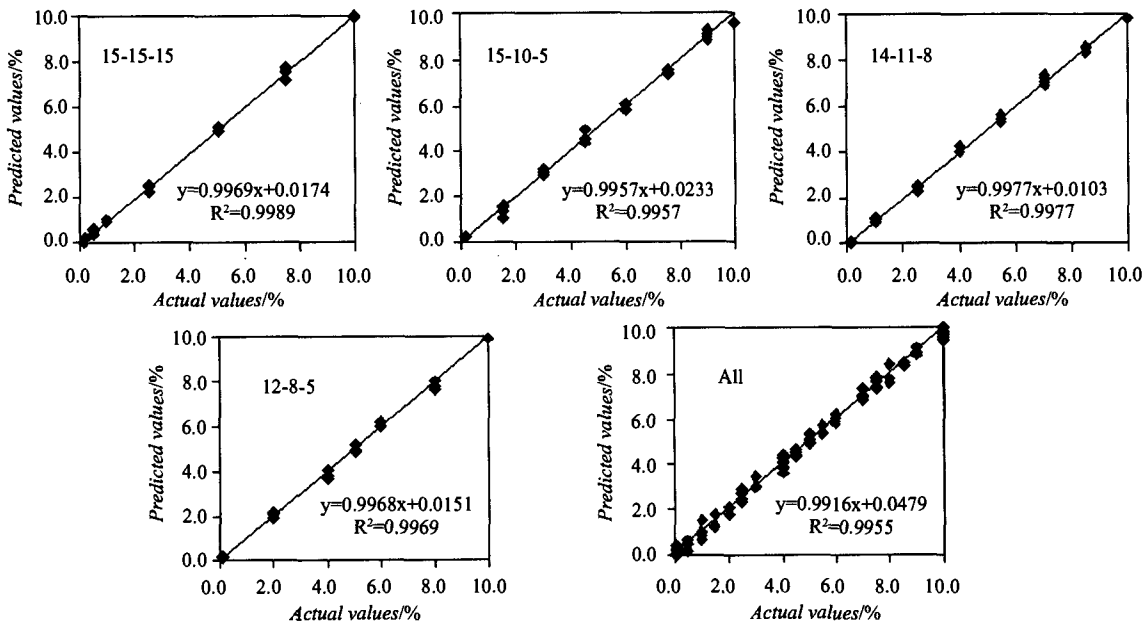


图2 校正集真值与NIRS预测值相关关系

Fig.2 Predicted value vs. actual value for calibration set

2.3 NIRS 校正模型的建立和检验

按含量梯度法隔2选1,确定校正集样品和独立的检验集样品.各校正样品集均采用全谱范围 $10\ 000\text{cm}^{-1}\sim 4\ 000\text{cm}^{-1}$ 建立校正模型;为了预测考察校正模型的准确性,用其对独立的检验集样品中的肉骨粉含量进行了预测.表2所列为校正集和检验集的样品数目、建立校正模型选择的最优预处理方法和利用交互验证方法确定的最佳主因子数目等统计信息.采用交互验证方法获得的 R_{CV}^2 和 SEC_{CV} 结果、校正模型和检验模型的结果如表3所列.各校正集和检验集中肉骨粉含量的真值与模型预测值的相关关系散点图见图2和图3.

复合肥料15-15-15、15-10-5、14-11-8和12-8-5中肉骨粉NIRS分析模型的决定系数校正集分别为0.9989、0.9957、0.9977和0.9969,检验集分别为0.9951、0.9981、0.9960和0.9943;校正标准差(SEC)分别为0.0014、0.0022、0.0018和0.0019,检

验标准差(SEP)分别为0.0028、0.0013、0.0019和0.0034;进一步得到其相对标准差(RSD)校正集分别为3.82%、4.07%、3.92%和3.99%,检验集分别为6.74%、2.58%、3.55%和6.17%.

为扩大样品的代表性和提高模型的适应性,采用上述所有复合肥料样品建立校正模型,并对该模型进行了检验.获得总体复合肥料中的肉骨粉NIRS分析模型的决定系数校正集为0.9955,检验集为0.9884;SEC为0.0020,SEP为0.0037;相对标准差(RSD)校正集为5.13%,检验集为7.44%.

从表3、图2和图3可以看出,在校正集和检验集中,复合肥15-15-15、15-10-5、14-11-8、12-8-5样品和总体样品中肉骨粉含量的真值与模型预测值之间的决定系数都在0.90以上,具有很好的线性相关性;相对标准差RSD均小于10%,具有较高的预测精度.这些结果表明用PLS方法所建立的预测复合化学肥料中的肉骨粉含量的NIRS定标模型比较理想,可以用于实际检测.

表3 校正集与检验集的结果统计

Table 3 Statistics for results of calibration set and validation set

	校正集					检验集		
	R_{CV}^2	SEC_{CV}	R^2	SEC	RSD(%)	r^2	SEP	RSD(%)
15-15-15	0.9973	0.0021	0.9989	0.0014	3.82	0.9951	0.0028	6.74
15-10-5	0.9971	0.0018	0.9957	0.0022	4.07	0.9981	0.0013	2.58
14-11-8	0.9981	0.0015	0.9977	0.0018	3.92	0.9960	0.0019	3.55
12-8-5	0.9972	0.0019	0.9969	0.0019	3.99	0.9943	0.0034	6.17
总体样品	0.9961	0.0021	0.9955	0.0020	5.13	0.9884	0.0037	7.44

3 结语

本文研究结果表明,使用偏最小二乘法(PLS),选择最优的散射校正和数学处理等预处理方法,在NIRS全谱区范围内建立校正模型,能够准确快速地检测复合肥料中肉骨粉的含量,可以实现定量检出复合肥料中肉骨粉的目的.这些研究结果令人鼓舞,

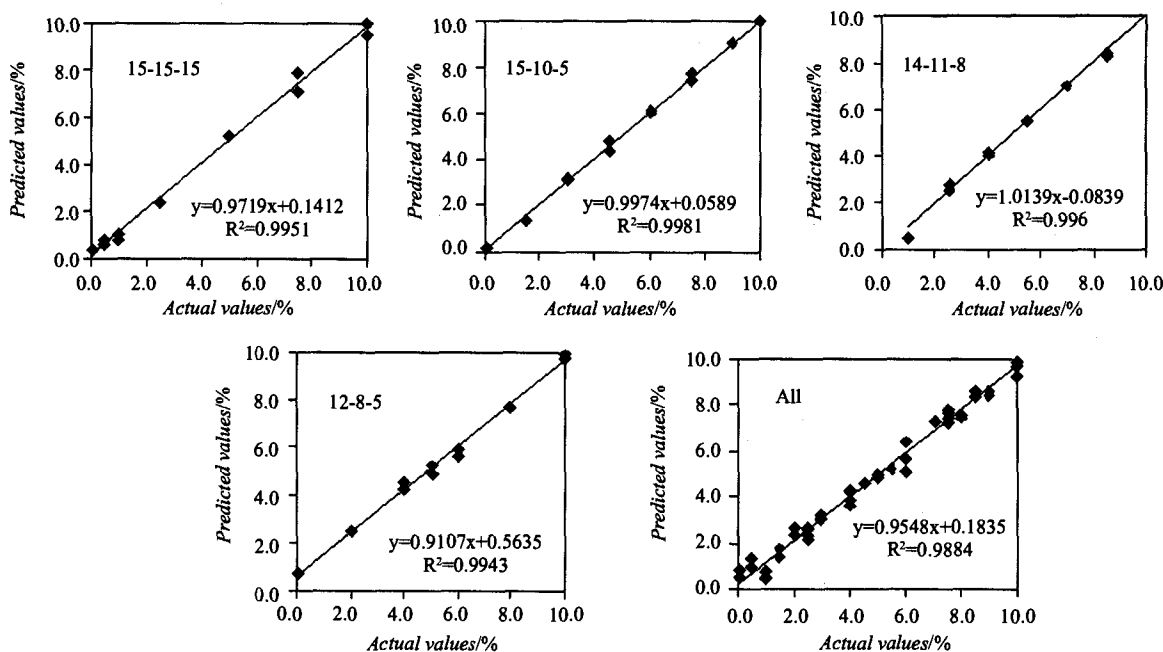


图3 检验集真值与NIRS预测值相关关系

Fig.3 Predicted value vs. actual value for validation set

但在进行实际应用前,有必要深入扩大样品集的范围,以进一步检验模型和提高模型的适应性。

从建模过程看,异常值的处理是很重要的。在复合化学肥料 15-15-15 分析模型中,如果不对 1 个异常点样品进行处理,则模型的相对标准误差(RSD)有较大增加。同时,异常值的处理是很复杂的。扩大后的总体样品集的某异常样品也是单种复合肥料样品集的异常样品,但反之却不一定成立。当然,客观、科学地处理异常值是值得进一步探讨的问题。

另外,模型的优化至关重要,只有选择合适的预处理方法和波长范围来扣除干扰信息,才能获得较理想的结果。在总体样品的分析模型中,如果采用无平滑的 2 阶导数处理,则检验集模型的决定系数 r^2 有较大降低。当然,具体采用哪种预处理以及如何选择波长范围是值得进一步深入探讨的问题。

REFERENCES

[1] GUO Zhi-Ru, JIN Ning-Yi. Development of the BSE researchment[J]. *Chinese J. Veteri. Sci* (郭志儒,金宁一. 疯牛病研究进展. *中国兽医学报*), 2001, **21**(3):307—316.

[2] LU Wan-Zhen, YUAN Hong-Fu, XU Guang-Tong, et al. *Modern Analysis Technique for Near Infrared Spectra* [M]. Beijing: Chinese Oil and Chemical Press (陆婉珍,袁洪福,徐广通,等. 现代近红外光谱分析技术. 北京:中国石化出版社), 2001:6—8.

[3] Pérez-Mar:n D C, Garrido-Varo A, Guerrero-Ginel J E, et al. Near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) for the mandatory labelling of compound feedingstuffs; chemical

composition and open-declaration [J]. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2004, **116**:333—349.

- [4] HUANG Lan, TIAN Feng-Hua, DING Hai-Shu, et al. The study of methods for measuring tissue oxygenation by using NIRS [J]. *J. Infrared millim. Waves* (黄岚,田丰华,丁海曙,等. 用近红外光谱对组织氧测量方法的研究. *红外与毫米波学报*), 2003, **22**(5):379—383.
- [5] JIA Dong-Yao, DING Tian-Huai. Novel method of detecting foreign fibers in lint by fiber's infrared absorption characteristic [J]. *J. Infrared Millim. Waves* (郑东耀,丁天怀. 利用纤维红外吸收特性的皮棉杂质检测新方法. *红外与毫米波学报*), 2005, **24**(2):147—150.
- [6] Xiccato G, Trocino A, De Boever J L, et al. Prediction of chemical composition, nutritive value and ingredient composition of European compound feeds for rabbits by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) [J]. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2003, **104**:153—168.
- [7] Amari Masahiro, Otani Fumihiro, Matsumoto Mitsuo. Quantitative Analysis of MBM in fertilizer by NIRS [J]. *Grass Science*, 2004, **50**:442—443.
- [8] Park R S, Agnew R E, Gordon F J, et al. The use of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) on undried samples of grass silage to predict chemical composition and digestibility parameters [J]. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 1998, **72**:155—167.
- [9] Cozzolino D, Chree A, Scaife J R. The assessment of the chemical composition of fishmeal by near infrared reflectance spectroscopy [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2002, **8**:149—155.
- [10] LI Ning, MIN Shun-Geng. Nondestructive analysis of protein and fat in whole kernel soybean by NIR [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis* (李宁,闵顺耕. 近红外光谱法非破坏性测定黄豆籽粒中蛋白质、脂肪含量. *光谱学与光谱分析*), 2004, **24**(1):45—49.