

近红外漫反射光谱法快速测定秸秆青贮饲料成分含量

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 采用傅里叶近红外漫反射光谱技术, 结合偏最小二乘回归法, 以 158 个不同种类的秸秆青贮饲料样品建立了常规化学成分和发酵成分含量的近红外定量分析校正模型。其中常规化学成分中, 粗蛋白、中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维、半纤维素、干物质、粗灰分和酸性洗涤木质素含量的校正模型决定系数 R^2 分别为 0.95, 0.90, 0.86, 0.91, 0.86, 0.95 和 0.90; 发酵成分的 pH、乳酸、乙酸、丙酸、丁酸和氨态氮含量的校正模型决定系数 R^2 分别为 0.98, 0.83, 0.85, 0.3, 0.90 和 0.92。研究发现除乙酸、丙酸和丁酸之外, 其他成分含量的相对分析误差 RPD(SD/SECV) 均大于 2.5; 除乳酸、乙酸、丙酸和丁酸之外, 所建近红外定量分析模型对独立检验集样品其他成分含量的预测值与化学值的相关决定系数 R^2 均大于 0.08。该研究结果对青贮饲料品质的快速检测具有重要的实际意义。

主题词 近红外漫反射光谱; 秸秆; 青贮饲料; 成分含量

中图分类号: S816.5 文献标识码: A 文章编号: 1000-0593(2006)11-2016-05

引 言

青贮饲料是反刍动物饲料的主要来源之一, 其营养品质的检测对于畜牧业生产具有重要意义。传统测定青贮饲料品质的方法耗时费力、花费高并且对测定人员有着严格的操作技术要求, 而近红外漫反射光谱技术(NIRS)则具有测定速度快、样品制备简单、不耗费化学试剂、操作简便等优点^[1], 非常适合于青贮饲料的多组分快速测定。国外许多研究者已成功利用 NIRS 测定各种青贮饲料及原料的成分含量, 如 Valdes^[2], Boever^[3], Cozzolino^[4] 等分别用 NIRS 成功预测了牧草青贮饲料、玉米秸秆青贮饲料和青贮原料全株玉米中的粗蛋白(CP)、中性洗涤纤维(NDF)、酸性洗涤纤维(ADF)等成分含量。在国内, 杨曙明应用 NIRS 对青贮牧草进行了研究, 白琪林等建立了玉米秸秆中 NDF 和 ADF 含量的 NIRS 定量分析校正模型^[5], 但目前, 关于 NIRS 分析秸秆青贮饲料的研究尚未见报道。本试验对 NIRS 测定秸秆青贮饲料中干物质(DM), CP, NDF 等常规化学成分含量以及 pH、乳酸(Laa)、氨态氮(Ammonia)等发酵成分含量进行了探讨, 旨在建立一种快速检测秸秆青贮饲料品质的方法。

1 材料与方法

1.1 秸秆青贮饲料样品的采集与制备

供试样品采集自不同时间(2003.5~2004.10)和不同地区(北京、吉林、浙江、河北、江苏、广西和陕西), 包括不同种类(玉米、水稻、高粱、小麦和苜蓿)、不同预处理(添加剂青贮与否)、不同青贮方式(窖贮、袋贮、桶贮)和不同制作方法(牛场制作、实验室制备)的样品, 共计 158 份。

样品经烘箱干燥(65℃, 48 h)后采用旋风磨粉碎, 过 1.0 mm 筛。

1.2 秸秆青贮饲料样品成分含量的实验室化学分析

样品的 DM、CP、粗灰分(CA)、pH 值和 Ammonia 含量按 AOAC^[6] 方法测定; NDF、ADF 和酸性洗涤木质素(ADL)含量的测定采用 Van Soest^[7] 方法, 半纤维素(Hem)含量是 NDF-ADF; 乳酸(Laa)、乙酸(Aca)、丙酸(Pra)和丁酸(Bua)采用高效液相色谱法^[8](色谱柱: Hitachi GL G-610H; 检测器: L-7420 S 型 UV-Vis; 检测波长: 210 nm)。每个试样取两个平行样测定, 取平均值, 成分含量均在干物质基础上表示为 g·kg⁻¹ DM。

1.3 近红外漫反射光谱仪与样品的光谱扫描

近红外仪器采用 Spectrum one NTS 傅里叶近红外光谱仪(美国 Perkin Elmer 公司), 积分球附件, InGaAs 检测器。样品装填在直径 40 mm 带有石英玻璃窗口的样品杯内进行扫描。

光谱扫描时仪器工作参数为: 谱区范围 10 000~4 000

收稿日期: 2005-09-16, 修订日期: 2005-12-18

基金项目: “十五”国家科技攻关计划课题(2004BA514A16)饲料资源开发与产业化利用关键技术研究资助

作者简介: 刘 贤, 1979 年生, 中国农业大学工学院博士 * 通讯联系人

©1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

cm^{-1} , 扫描次数 64 次, 分辨率 8 cm^{-1} , 为克服样品的粒度差异, 每个样品重复扫描 3 次, 取其平均光谱。

1.4 光谱预处理和校正模型的建立方法

利用美国 Perkin Elmer 公司的 QUANT+ 定量分析软件进行光谱预处理和建立校正模型, 采用偏最小二乘回归法 (PLS) 结合平滑、微分、变量标准化 (SNV-D) 和附加散射校正 (MSC) 等数学预处理方法建立近红外光谱定量分析校正模型。为了防止过拟合现象的发生, 对校正模型进行交互验证, 确定模型的主成分数, 并通过一个独立的样品检验集进行外部检验。校正模型的建立过程中采用马氏距离 (Mahalanobis' distance) 和化学值绝对误差 (Residual) 分别对光谱和化学值进行异常值检验^[9]。最后根据校正模型测定系数 R^2 、交互验证标准差 SECV (最小), 校正标准差 SEC、预测标准差 SEP 确定最优模型^[11, 10]。另外, 根据相对分析误差 RPD (SD/SECV) 值对模型进行更为详细的评价。如果 $\text{RPD} \geq 3$, 说明定标效果良好, 建立的定标模型可以用于实际检测; 如果 $2.5 < \text{RPD} < 3$, 说明利用 NIRS 对该成分进行定量分析是可行的, 但预测精度有待于进一步提高; 如果 $\text{RPD} < 2.5$, 则说明该成分难于进行 NIRS 定量分析^[11]。

2 结果与分析

2.1 秸秆青贮饲料成分含量的实验室化学分析结果

表 1 为 158 个样品成分含量的平均值 (Mean)、最小值 (Min)、最大值 (Max) 和标准偏差 (SD)。由表 1 可以看出所

选用秸秆青贮饲料样品的成分含量变化幅度较大, 基本上可以涵盖牛场与实验室中青贮饲料的成分含量, 具有很好的代表性。各成分之间的相关性分析发现, 秸秆青贮饲料中的 pH 和 Laa, Aca 和 Pra, NDF 和 ADF, DM 和 Aca, ADF 和 pH 之间存在较强的相关性, 相关系数分别为: -0.73 , 0.71 , 0.66 , -0.63 和 0.62 。

Table 1 The range in chemical parameters of straw silage samples ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ DM)

Parameter	Mean	Min	Max	SD
CP	86.33	48.38	201.09	25.71
NDF	591.83	446.78	739.65	54.64
ADF	371.44	177.91	508.91	52.13
Hem	220.40	72.39	431.22	44.94
DM	256.19	133.77	435.11	61.05
CA	71.00	39.90	146.33	20.78
ADL	51.57	26.75	116.93	14.63
pH	3.97	3.60	5.23	0.34
Laa	108.32	0.00	259.74	40.40
Aca	54.37	0.00	161.54	27.06
Pra	39.43	0.00	120.37	18.81
Bua	10.26	0.00	117.47	21.66
Ammonia	2.82	0.33	17.97	2.53

CP: 粗蛋白, NDF: 中性洗涤纤维, ADF: 酸性洗涤纤维, Hem: 半纤维素, DM: 干物质, CA: 粗灰分, ADL: 酸性洗涤木质素, Laa: 乳酸, Aca: 乙酸, Pra: 丙酸, Bua: 丁酸, Ammonia: 氨态氮

Table 2 Correlation coefficients between chemical parameters of straw silage samples

Parameter	CP	NDF	ADF	Hem	DM	CA	ADL	pH	Laa	Aca	Pra	Bua
NDF	-0.41											
ADF	-0.17	0.66										
Hem	-0.31	0.45	-0.37									
DM	-0.22	-0.23	-0.04	-0.24								
CA	0.30	-0.13	0.34	-0.57	0.10							
ADL	0.35	0.10	0.57	-0.55	0.16	0.34						
pH	0.01	0.54	0.62	-0.06	-0.17	0.43	0.30					
Laa	0.18	-0.49	-0.54	0.03	-0.09	-0.28	-0.27	-0.73				
Aca	0.18	0.25	0.00	0.31	-0.63	-0.17	-0.20	0.11	0.22			
Pra	0.29	0.07	-0.04	0.13	-0.51	-0.12	-0.03	-0.04	0.42	0.71		
Bua	-0.09	0.44	0.42	0.05	-0.34	0.15	0.13	0.59	-0.33	0.23	0.33	
Ammonia	0.28	0.23	0.23	0.01	-0.35	0.14	0.22	0.49	-0.26	0.38	0.29	0.35

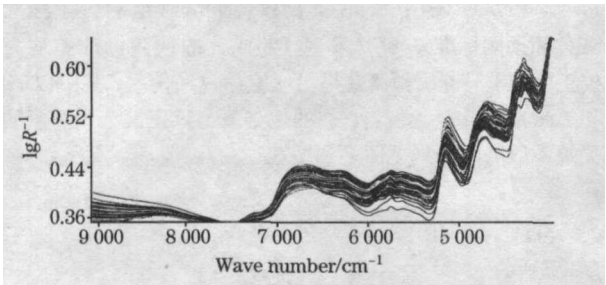


Fig 1 NIRS spectra of 158 straw silage samples

2.2 秸秆青贮饲料的近红外漫反射光谱

对 158 个秸秆青贮饲料样品分别进行光谱扫描, 光谱如图 1 所示。横坐标为波数 (cm^{-1}), 纵坐标为反射吸光度 $\lg R^{-1}$ 。可以看出, 样品光谱具有很大的代表性, 全波长范围内, 光谱存在多个吸收峰, 从而为秸秆青贮饲料中各成分的定量分析提供了丰富的信息。

2.3 秸秆青贮饲料成分含量的近红外光谱校正模型的建立

2.3.1 异常值的剔除和模型参数优化

利用 QUANT+ 定量分析软件, 采用马氏距离, 即光谱影响值和化学值绝对误差分别对光谱和化学值进行异常值检

验, 即根据 Outlier test 的结果剔除异常样品。然后筛选建模的最佳预处理方法, 确定谱区范围、主成分维数, 以及剔除异常样品后各成分含量的校正集和检验集的样品数分别如表 2 中所示。所有成分的最佳定标谱区均为全谱范围 $10\ 000 \sim 4\ 000\text{ cm}^{-1}$ 。

Table 3 The conditions for establishing NIRS models of chemical parameters of straw silage

Parameter	Calibration samples	Validation samples	Spectral preprocessing	Ranks
CP	116	39	Smooth (9) + 1st Deriv. + SNV	8
NDF	119	38	2st Deriv.	8
ADF	116	37	Smooth(5) + 2st Deriv.	4
Hem	116	39	1st Deriv.	8
DM	116	39	Smooth(9) + 1st Deriv. + SNV	8
CA	116	39	2st Deriv. + SNV	7
ADL	116	38	1st Deriv. + SNV	9
pH	114	38	Smooth(5) + 2st Deriv. + SNV	6
Laa	116	38	Smooth(5) + 2st Deriv	4
Aca	110	38	1st Deriv	8
Pra	118	38	Smooth(5) + 2st Deriv. + SNV	2
Bua	112	38	Smooth(5) + 2st Deriv. + SNV	2
Ammonia	112	38	1st Deriv	7

2.3.2 校正模型的建立

采用表 3 中所确定的最佳预处理方法、谱区范围和主成分维数, 分别建立秸秆青贮饲料中 DM, CP, NDF 等常规化学成分含量以及 pH, Laa, Ammonia 等发酵成分含量的近红外校正模型。由此条件所建立的模型其决定系数 R^2 最大, 交互验证标准差 SECV 最小, 其中交互验证决定系数 R_{cv}^2 、交互验证标准差 SECV、RPD 值、校正模型决定系数 R^2 、校正标准差 SEC、预测标准差 SEP、检验集样品的化学值和校正模型预测值之间相关关系决定系数 R_c^2 以及斜率 slope(以化学值为横坐标, 预测值为纵坐标) 列于表 4。

Table 4 IRS calibration and validation statistics for the chemical parameters($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ DM)

Parameter	R_{cv}^2	Calibration				Validation			
		SECV	RPD	R^2	SEC	R_c^2	SEP	Slope	
CP	0.95	5.51	4.67	0.95	4.98	0.93	7.61	0.98	
NDF	0.85	21.51	2.54	0.90	18.37	0.88	20.64	0.78	
ADF	0.84	20.14	2.59	0.86	19.66	0.83	19.67	0.80	
Hem	0.88	14.16	3.171	0.91	11.70	0.86	16.91	0.87	
DM	0.87	22.55	2.71	0.86	22.05	0.90	23.41	0.81	
CA	0.92	5.70	3.65	0.95	4.59	0.92	6.66	0.81	
ADL	0.89	4.71	3.11	0.90	4.61	0.82	6.86	0.91	
pH	0.96	0.06	5.67	0.98	0.05	0.90	0.09	0.83	
Laa	0.85	15.77	2.56	0.83	17.47	0.64	21.31	0.78	
Aca	0.81	11.66	2.32	0.85	10.53	0.69	15.27	0.76	
Pra	0.28	16.14	1.17	0.36	15.51	0.111	7.93	0.19	
Bua	0.68	9.63	2.25	0.90	5.90	0.66	8.13	0.76	
Ammonia	0.88	0.52	4.87	0.92	0.45	0.81	0.65	0.90	

分析结果发现, 秸秆青贮饲料中 CP, NDF, ADF, Hem, DM, CA 和 ADL 含量的校正模型决定系数 R^2 均较高分别为 0.95, 0.90, 0.86, 0.91, 0.86, 0.95 和 0.90, 交互验证标准差 SECV 分别为 5.51, 21.51, 20.14, 14.16, 22.55, 5.70 和 4.71。计算所得 RPD 值均大于 2.5, 说明所建立的以上成分含量的校正模型均可用于对秸秆青贮饲料样品的定量分析。这和相关报道的研究结果是一致的, 如 Cozzolino 采用 NIRS 对 400 个全株玉米样品进行研究发现, DM, CP, CA, NDF, ADF 和 Hem 的分析结果 R^2 分别为: 0.72(SEC 9.5), 0.96(SEC 7.7), 0.98(SEC 6.1), 0.96(SEC 34.3), 0.98(SEC 16.5) 和 0.72(SEC 52.0)^[4]。

对秸秆青贮饲料样品的发酵成分分析结果表明, 除了 Pra 的定标结果较差, 校正模型决定系数 R^2 和交互验证标准差 SECV 为 0.36 和 16.14, pH, Laa, Aca, Bua 和 Ammonia 的校正模型决定系数 R^2 均较高分别为 0.98(SEC 0.06), 0.83(SEC 15.77), 0.85(SEC 11.66), 0.90(SEC 9.63) 和 0.92(SEC 0.52), 其中 pH 的校正模型定标效果最好, RPD 值达 5.67。Bua 的校正模型决定系数 R^2 和交互验证的决定系数 R_{cv}^2 分别是 0.90 和 0.68, 这两个数值之间较大的差异说明此 NIRS 校正模型的预测误差较大。而进一步对 RPD 值进行分析发现, Aca 和 Bua 的定标结果也不够理想, RPD 值分别为 2.32 和 2.25, 均小于 2.5, 表明利用 NIRS 达不到对其进行定量分析的要求, 只可以对它们进行粗略的检测。NIRS 对 Aca, Pra 和 Bua 的预测精度低的原因可能与样品的干燥过程有关, 因为青贮饲料在烘干过程中会损失一部分挥发性物质, 如短链挥发性脂肪酸和乙醇等^[12], 尽管 Deinum 等研究得出当温度为 65~70 °C 时, 这个损失会降到最低^[13], 但是 Jones 提出只有采取冷冻干燥法才可以避免干燥过程中青贮饲料的部分损失^[14], 因此采用 NIRS 很难对干燥后青贮饲料样品中的挥发性酸类物质进行准确的测定。

利用一组独立的秸秆青贮饲料样品, 对所建校正模型的预测效果进行外部检验, 结果见上表 4。除了 Laa, Aca, Pra 和 Bua 之外, 其他成分的化学值与校正模型预测值的相关决定系数 R_c^2 均高于 0.80, 其中 CP 的最高为 0.93, Ammonia 的最低为 0.81, 校正模型预测值非常接近于化学值, 预测效果较好。所建立的校正模型对 Laa, Aca, Pra 和 Bua 相应的预测精度较低, 化学值与校正模型预测值的相关决定系数 R_c^2 分别为 0.64(SEP 21.31), 0.69(SEP 15.27), 0.11(SEP 17.93) 和 0.66(SEP 8.13)。比较各成分含量的校正标准差 SEC 和预测标准差 SEP 发现, 各成分的预测标准差均高于校正标准差, 说明预测效果均比定标效果稍差。其中以 NDF 和 Aca 成分含量为例, 它们的化学值与校正模型预测值的相关关系散点图分别见图 2 和图 3。

3 结论与讨论

本试验采用偏最小二乘回归法建立了秸秆青贮饲料中常规化学成分含量(粗蛋白、中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维、半纤维素、干物质、粗灰分和酸性洗涤木质素)以及发酵成分

含量(pH、乳酸、乙酸、丙酸、丁酸和氨态氮)的近红外光谱定量分析校正模型。研究结果表明近红外漫反射光谱法可以快速测定秸秆青贮饲料中的粗蛋白、中性洗涤纤维、酸性洗

涤纤维、半纤维素、干物质、粗灰分和酸性洗涤木质素以及 pH、乳酸和氨态氮的含量,对乙酸和丁酸含量的预测效果不够理想,但可以进行粗略的检测,然而很难进行丙酸含量的测定。

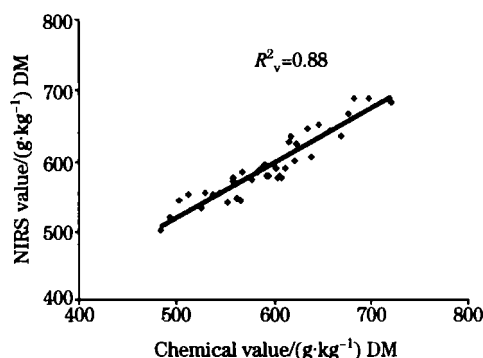


Fig 2 Chemical value vs NIRS value of NDF

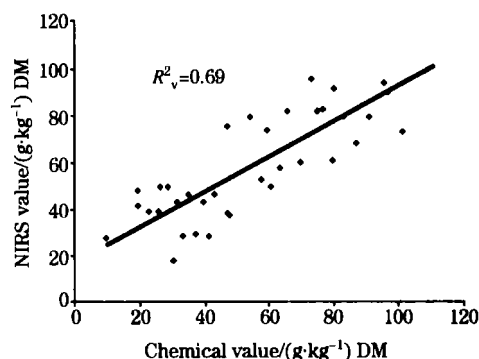


Fig 3 Chemical value vs NIRS value of butyric acid

参 考 文 献

- [1] LU Wan-zhen, YUAN Hong-fu, XU Guang-tong, et al(陆婉珍, 袁洪福, 徐广通, 等). The Modern Analysis Technique for Near-Infrared Spectra(现代近红外光谱分析技术). Beijing: Chinese Oil and Chemical Press(北京: 中国石油化工出版社), 2001. 1.
- [2] Valdes E V. J. Anim. Sci., 1985, 65(3): 753.
- [3] De Boever J L, Cottyn B G, De Brabander D L, et al. Animal Feed Science and Technology, 1997, 66(1): 211.
- [4] Cozzolino D, Fassio A, Gimenez A. Journal of the Science of Feed and Agriculture, 2000, 81: 142.
- [5] BAI Qi-lin, CHEN Shao-jiang, DONG Xiao-ling, et al(白琪林, 陈绍江, 董晓玲, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2004, 24(11): 1345.
- [6] Association of Official Analytical Chemists, Official Methods of Analysis, 15th edn. Association of Official Analytical Chemists, Washington, District of Columbia, 1990.
- [7] YANG Sheng(杨胜). Analysis of Feed and Assay Methodology of Feed Quality(饲料分析及饲料质量检测技术). Beijing: Beijing Agricultural University Press(北京: 北京农业大学出版社), 1999. 58.
- [8] Saag K. HPLC in Food Analysis. Academic Press, 1988, 185.
- [9] MIN Shu-neng, LI Ning, ZHANG Ming-xiang(闵顺耕, 李 宁, 张明祥). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2004, 24(10): 1205.
- [10] Malley D F, Ronicke H, Findlay D L, et al. Journal of Paleolimnology, 1999, 21: 295.
- [11] Murray I. Forage Analysis by Near Infrared Spectroscopy, in Sward Measurement Handbook, 2nd edn, Ed by Davies A, Baker R D, Grant S A, Laidlaw A S. The British Grassland Society, 1993, 285.
- [12] McDonald P, Henderson A R, Heron S J E. The Biochemistry of Silage, Second edn. Marlow: Chalcombe Publications, 1991, 340.
- [13] Deinum B, Maassen A. Anim. Feed Sci. Technol., 1994, 46: 75.
- [14] Jones D I H. Chemical Composition and Nutritive Value. In: Hodgson J, Baker R D, Davies A, et al. (Eds.), Sward Measurement Handbook, British Grassland Society, Hurley, Maidenhead, Berkshire. 1981. 243.

Feasibility of Using Near-Infrared Reflectance Spectroscopy for the Analysis of Compositions of Straw Silage

LIU Xian^{1, 2}, HAN Lu-jia^{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 100081, China

Abstract Near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) calibrations of chemical composition in 158 straw silage samples were developed by means of partial least-squares (PLS) regression. Results showed that the correlation coefficients of calibration (R^2) were 0.95, 0.90, 0.86, 0.91, 0.86, 0.95 and 0.90 for crude protein, neutral detergent fibre, acid detergent fibre, hemicellulose, dry matter, crude ash and acid detergent lignin respectively; the R^2 of pH, lactic acid, acetic acid, propionic acid, butyric acid and ammonia were 0.98, 0.83, 0.85, 0.36, 0.90 and 0.92 respectively. The RPD (SD/SECv) of these parameters were all greater than 2.5 except acetic acid, propionic acid and butyric acid, and the correlation coefficients of validation (R_v^2) of the parameters were all greater than 0.80 except lactic acid, acetic acid, propionic acid and butyric acid. These results are of great practical importance in rapid evaluation of silage quality.

Keywords Near infrared reflectance spectroscopy; Straw; Silage; Composition

(Received Sep. 16, 2005; accepted Dec. 18, 2005)

* Corresponding author

《中国学术期刊文摘》中文版和英文版 2007 年征订启事

《中国学术期刊文摘》分中文版(简称 CSAC)和英文版(简称 CSAE)两种,各自收录了我国高水平学术期刊中基础科学、医学、农业科学和工程技术领域约 40 个学科的论文文摘,全景展现我国的科研成果与进展。

作为综合性科技类检索刊物,《中国学术期刊文摘》致力于将我国科学技术各领域的原创性学术成果全面、快速地向科技工作者交流、传播,其中 CSAE 是我国第一份综合性英文版科技类学术检索刊物。

《中国学术期刊文摘》由中国科学技术协会主管,科技导报社主办并负责编辑、出版、发行,对科研单位、高等院校、图书馆以及广大科技工作者检索和了解我国的科技研究成果、学术研究动向具有重要的参考价值。

《中国学术期刊文摘(中文版)》刊号为 CN 11-3501/N, ISSN 1005-8923, 2007 年为半月刊,大 16 开,国内定价 38.00 元/册,全年定价 912 元,邮发代号:82-707。

《中国学术期刊文摘(英文版)》刊号为 CN 11-5411/N, ISSN 1673-4084, 2007 年改为月刊,大 16 开,国内定价 15.00 元/册,全年定价 180 元,邮发代号:80-487。

欢迎广大科技工作者、科研单位、高等院校、图书馆订阅。

通讯地址:北京市海淀区学院南路 86 号科技导报社(邮编 100081)

联系电话:010-62103122

联系人:姚玉琴

征订信箱:wzbjb@cast.org.cn

单位主页:<http://www.csac.org.cn>

户名:科技导报社

账号:0200001409089017271

开户银行:工商银行百万庄支行