

文章编号: 1672-8785(2011)10-0035-05

用近红外光谱法快速分析玉米青贮 饲料青贮发酵品质

穆怀彬 侯向阳

(中国农业科学院草原研究所, 内蒙古呼和浩特 010010)

摘 要: 采用 DA-7200 型近红外光谱仪的近红外漫反射光谱技术建立了玉米青贮饲料发酵产物及总分定量分析模型。所建立的有机酸氨态氮总分近红外模型的检测结果优于乳酸、乙酸等 6 项发酵产物的近红外模型的检测结果。其中, 有机酸氨态氮总分近红外模型的预测相关系数为 0.8453, 预测均差为 10.3582。青贮品质的判断准确率为 80.15%。综合结果表明, 利用近红外光谱法可以定量测定玉米青贮饲料的有机酸氨态氮总分并分析其品质的优劣, 对于丰富青贮饲料青贮品质快速检测手段具有实际应用意义。

关键词: 近红外光谱法; 青贮玉米; 有机酸; 氨态氮; 总分

中图分类号: S816.17 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3969/j.issn.1672-8785.2011.10.007

Rapid Analysis of Silage Ferment Quality of Corn Ensile Using Near Infrared Spectroscopy

MU Huai-bin, HOU Xiang-yang

(Grassland Research Institute of CAAS, Hohhot 010010, China)

Abstract: A quantitative analysis model for silage ferment quality of corn ensile is established by using the near infrared spectroscopy. The detection result of the near infrared model established for organic acid and ammoniacal nitrogen is better than that of the near infrared model established for six ferment products such as lactic acid and acetic acid. The near infrared model established for organic acid and ammoniacal nitrogen has a prediction correlation coefficient of 0.8453 and a mean difference of 10.3582. Its judgment accuracy for silage quality is 80.15%. The experimental result shows that the near infrared spectroscopy can be used to quantitatively analyze the organic acid and ammoniacal nitrogen content of corn ensile and is expected to be a rapid detection tool for the silage ferment quality of corn ensile.

Key words: near infrared spectroscopy; silage maize; organic acid; ammoniacal nitrogen; comprehensive valuation results

0 引言

青贮饲料是反刍动物的主要粗饲料来源, 其发酵产物主要包括乳酸、乙酸、丁酸和氨态氮等。发酵产物是目前用于评定青贮饲料青贮发酵品质

的主要指标。目前, 我国对青贮饲料的质量评定主要依据 1996 年农业部颁布的《青贮饲料质量评定标准》。该标准包括有机酸 (乳酸/总酸、乙酸/总酸、丁酸/总酸) 含量判别标准和氨态氮/总氮判别标准。将二者加权后得到的总分作为青贮饲

收稿日期: 2011-09-02

作者简介: 穆怀彬 (1978-), 女, 内蒙古包头人, 博士, 副研究员, 主要从事草业科学及草畜种质资源方面的研究。E-mail: huaibinmu@yahoo.com.cn

料的定级依据。因此,青贮饲料发酵产物的测定对于评定青贮品质至关重要。传统的发酵产物有机酸含量测定方法通常为色谱测定法,氨态氮的测定则通常是采用流动注射法、离子色谱法或蒸馏法进行的。这些传统的检测方法需要浸提青贮液体样品,检测程序繁琐,而且检测费用高,耗时长。在生产中,由于缺少能够准确、快速检测青贮饲料发酵产物的有效方法,要对青贮饲料的品级作出准确鉴定就更加不易了。目前,国外研究人员利用近红外光谱技术(Near Infrared Reflectance Spectroscopy, NIRS)快速测定了青贮饲料的发酵产物含量^[1-4]。在国内方面,刘贤等人于2007年利用近红外光谱技术测定了青贮饲料的有机酸含量^[5],这为快速检测青贮发酵产物提供了一种新的检测方法,并为青贮品级的准确、快速鉴定提供了新手段。本文以收集制作的284份玉米青贮饲料作为研究对象,采用近红外光谱技术对玉米青贮饲料发酵物进行定量分析并对青贮品质进行判断,证实了用近红外光谱技术快速检测青贮品质的可行性。

1 材料与方法

1.1 样本制备

供试样品包括收集及制作的284份玉米青贮饲料样品,它们分别来自于廊坊和北京的多个牛场、农户制作的青贮饲料样品以及自制的青贮玉米材料。青贮方式包括青贮窖、青贮袋和青贮桶;青贮工艺包括不同粉碎程度青贮、不同添加剂青贮以及常规青贮。

样品收集后,将每份青贮样品各取25 g浸于225 ml蒸馏水中,并放入冰箱中在4℃温度下浸提24 h。然后用快速定性滤纸对其进行过滤,制得青贮饲料浸提液样品(均匀透明液体),测定其有机酸(乳酸、乙酸、丁酸)和氨态氮含量。将玉米青贮饲料冷冻样品放在4℃下自然解冻,等其达到室温后,用四分法取样300 g左右。然后将样品经烘箱(65℃)烘至干样,并采用德国E.KutRetsch GmbH公司生产的ZM100型样品磨将其磨碎,过40目筛,便制成了用于近红外光谱

采集和粗蛋白质成分分析的干燥粉碎样品。

1.2 玉米青贮饲料样品成分分析方法

采用离子色谱法对浸提液测定其有机酸(乳酸、乙酸、丁酸)含量^[6];采用流动注射法测定其氨态氮含量^[7];粗蛋白质含量测定方法则参照AOAC Official Method 990.03(《动物饲料中粗蛋白的测定—燃烧法》)。每试样取两个平行样进行测定,并对其取算术平均值。

1.3 近红外光谱仪与样品光谱扫描

采用瑞典波通公司生产的DA7200型近红外光谱分析仪、卤钨灯和汞灯光源以及双光束同时进行检测。该仪器具有最稳定的光学系统,可以实现对样品原始光谱的搜集。仪器的工作参数如下:采用全波段光谱(900~1700 nm波长范围)扫描;采样间隔为2.0 nm;扫描次数为100次/s;无波长漂移。为减小误差,对每个样品重复装样3次后进行扫描,取其平均光谱。

1.4 近红外光谱定量分析模型的建立方法

利用Grams32软件(Thermo Galactic Corp.)进行光谱预处理,并采用回归分析等方法处理光谱信息与样品青贮发酵产物信息,从而建立起近红外光谱定量分析校正模型。根据所测参数在近红外谱区的吸光度值分布选择定标样品和验证样品,样品数量按4:1的比例分配。光谱预处理方法主要包括多元散射归一化法(Multivariate Scattering Correcting, MSC)、标准正态变量转化法(Standard Normal Variable, SNV)、一阶导数法(First Derivative, 1st Deriv)、一阶导数/多元散射校正法(1st Deriv.&MSC)、一阶导数矢量归一化法(1st Deriv.&VN)等方法。建立近红外光谱校正模型,确定模型的主成分数。对定标模型进行内部交互验证,并通过独立的验证集对模型进行外部验证。用校正均方差(RMSEE)、校正决定系数(R^2)、交叉验证均方差(RMSECV)和交叉验证决定系数(R^2)衡量模型回归方程的优劣。

2 结果与讨论

2.1 玉米青贮饲料发酵产物的化学分析结果

利用284份青贮样品的有机酸、氨态氮和总氮测定结果,逐一计算出各样品的有机酸与氨

态氮综合得分。根据 1996 年我国农业部颁发的《青贮饲料质量评定标准》^[8] 对 284 份青贮样品进行品质分级。其中, 145 份样品为优等, 39 份样品为良好, 54 份为可以, 38 份为差, 8 份

为极差。表 1 列出了有机酸与氨态氮综合评定中各等级的成分含量变化情况。由表 1 可知, 所搜集样品的发酵产物含量可以涵盖生产中青贮玉米发酵产物含量, 该样品具有代表性。

表 1 有机酸与氨态氮总分评定结果

等级	样品数量		乳酸/总酸 /%	乙酸/总酸 /%	丁酸/总酸 /%	氨态氮/总氮 /%	总分范围
优	145	范围	44.5 ~ 100	0 ~ 55.1	0 ~ 5.2	1.9 ~ 12.2	80.5 ~ 100
		平均	83.8	15.4	0.1	6.2	
良	39	范围	30.8 ~ 83.1	9.39 ~ 96.0	0 ~ 1.6	4.6 ~ 19.0	61 ~ 78
		平均	55.4	40.8	0.3	13.4	
可	54	范围	10 ~ 87.7	11.3 ~ 90	0 ~ 6.4	12.2 ~ 29.9	41.5 ~ 60
		平均	60.4	37.8	1.3	19.2	
差	38	范围	43.1 ~ 73.2	22.9 ~ 55.6	1.4 ~ 3.2	25.7 ~ 40.4	32.5 ~ 39.5
		平均	50.6	47.1	2.13	31.6	
极差	8	范围	0.7 ~ 35.6	58.3 ~ 73.0	4.6 ~ 27.3	25.4 ~ 49.7	9 ~ 18
		平均	12.8	61.2	6.47	36.9	

2.2 秸秆青贮饲料的近红外光谱

与其它光谱分析技术一样, 近红外光谱分析技术根据化学键吸收和反射一定波长的不同光学特性, 鉴别和分析被测样品中化合物的组成结构和含量等相关信息。但不同的是, 近红外光谱分析技术还可同时采集到构成样品的所有有机化合物的组成和结构信息。通过整理这些信息, 一方面能够得到近红外光谱与有机化合物的组成和结构之间的对应函数关系, 便于测定样品的物理化学特性; 另一方面可同时获得具有强特异性并且能够准确反映被测样品个性特征的较全面的信息。

图 1 为青贮玉米干燥粉碎样品的近红外光谱图。从图 1 中可以看出, 丰富的信息量集中在 1100 ~ 1600 nm 范围内, 多个强烈吸收峰分别出现在 1200 nm、1380 nm、1480 nm 和 1600 nm 等附近, 它们包含了关于青贮玉米饲料的结构与性质的大量信息, 为其青贮发酵品质分析奠定了基础。

2.3 玉米青贮饲料青贮品质指标的近红外光谱模型的建立与验证

在青贮中, 乳酸、乙酸和丁酸占总酸总量的多少反映了青贮发酵产物的成分比例。乳酸

/总酸值越高, 得分越高, 品质越好; 乙酸/总酸值和丁酸/总酸值越高, 青贮品质越差。由于青贮玉米样品中被检出含丁酸的数量较少, 不满足建立近红外模型的要求。氨态氮是青贮过程中有害菌降解粗蛋白及氨基酸所产生的可降低青贮品质的重要成分。因此, 氨态氮/总氮值越高, 表明青贮中被降解的粗蛋白与氨基酸越多, 青贮品质越差。有机酸与氨态氮总分指标是表明有机酸情况与氨态氮情况的综合指标。分别对乳酸含量、乙酸含量、氨态氮含量、乳酸/总酸、乙酸/总酸、氨态氮/总氮、有机酸氨态氮总分等 7

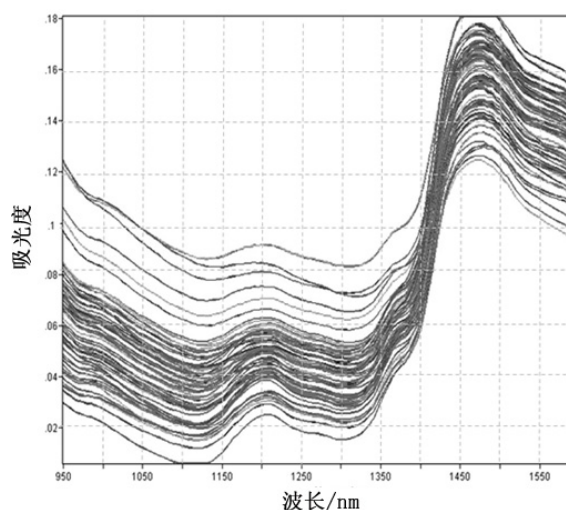


图 1 青贮玉米饲料的近红外光谱图

项值赋予光谱信息,提取主因素,建立 7 项指标的近红外模型。表 2 列出了各模型的具体参数。由表 2 可知,乳酸含量、乙酸含量和氨态氮含量值的近红外定标模型的 R^2 值分别为 0.4376、0.3737 和 0.5865,其交叉验证标准差 SECV 值很高。因此,利用近红外法检测青贮玉米粉碎固体样品的乳酸含量、乙酸含量和氨态氮含量等单项指标的效果不佳,其精度需进一步提高。将乳酸/总酸、乙酸/总酸和氨态氮/总氮三项指标作为样品主因素建立的定量模型的 R^2 值分别为 0.6869、0.6730 和 0.7307,其提取的光谱信息对这三项指标的定标效果较好。对 205 份样品的有

机酸与氨态氮加权总分赋予光谱信息,建立用于定性品质鉴定的近红外定标模型。其交叉验证决定系数 R^2 值为 0.8346,交叉验证标准差为 8.7745,说明用近红外光谱法对青贮玉米有机酸与氨态氮总分的分析效果优于乳酸、乙酸、氨态氮、乳酸/总酸、乙酸/总酸、氨态氮/总氮六项指标的定标结果。根据以上结果可知,青贮玉米固体样品中具有可反映青贮品质的有效信息,而且用近红外光谱法可以很好地提取青贮玉米青贮品质信息,并可通过有机酸与氨态氮总分的近红外预测模型对青贮玉米总分进行预测。

表 2 青贮品质指标的近红外模型参数

指标	光谱处理方法	样品数	交叉验证决定系数 R^2	交叉验证标准差 SECV
乳酸	MSC Sg1-7	229	0.4376	524.5036
乙酸	MSC Sg1-7	229	0.3737	234.6047
氨态氮	MSC Sg1-7	234	0.5865	17.2804
乳酸/总酸	SNV Sg1-7	216	0.6869	9.0451
乙酸/总酸	UAN Sg1-7	222	0.6730	10.0102
氨态氮/总氮	MSC Sg1-7	214	0.7307	7.1897
总分	MSC Sg1-7	205	0.8346	8.7745

分别对有机酸、氨态氮总分模型进行校正与交叉验证,并选取 74 份样品进行外部检测。根据所建模型获得的样品总分进行优、良、可、差、极差五个等级的划分。与样品化学测定总分的划分等级结果相比,校正模型、交叉验证模型和预测模型的准确率均达到 80 % 左右(结果见表 3)。其中,校正相关系数为 0.8346,校正均差为 8.7745;交叉验证相关系数为 0.8226,交叉验证均差为 10.8559;预测相关系数为 0.8453,预

测均差为 10.3582。表 4 列出了部分样品的化学测定结果、青贮等级与近红外预测模型结果的比较情况。预测模型的准确率达到 80.15 %,其对青贮玉米青贮品质的判断准确率高。

验证结果表明,利用近红外光谱分析法可以定量分析青贮玉米饲料的有机酸氨态氮总分值,进而对青贮等级进行判断。近红外光谱分析法可作为一种利用固体粉碎样品进行青贮玉米青贮品质等级判断的快速分析方法。

表 3 青贮玉米有机酸与氨态氮总得分的近红外模型结果

参数	校正结果			交叉验证结果			预测结果		
	RMSEE	R^2	准确率	RMSECV	R^2	准确率	RMSEP	R^2	准确率
总分	8.7745	0.8346	82.46 %	10.8559	0.8226	78.45 %	10.3582	0.8453	80.15 %

表 4 不同方法对青贮品质的判断结果比较

样品号	化学测定结果		NIRS 测定结果		样品号	化学测定结果		NIRS 测定结果	
	总分	青贮等级	总分	青贮等级		总分	青贮等级	总分	青贮等级
6	75	良	77	良	55	90	优	85	优
9	55	可	75	良	69	59	可	70	良
15	90	优	96	优	76	72	良	59	可
22	68	良	74	良	90	42	可	59	可
26	72	良	76	良	94	69	良	66	良
28	78	良	84	优	96	26	差	40	差
31	36	差	40	差	102	74	良	52	可
37	56	可	51	可	117	23	差	40	差
42	66	良	76	良	138	50	可	50	可
48	78	良	73	良	175	53	可	50	可

3 结论

本文采用近红外光谱法测定青贮玉米固体粉碎样品的乳酸、乙酸和氨态氮含量的结果并不理想;对乳酸/总酸、乙酸/总酸、氨态氮/总氮的分析结果较好;对青贮玉米评定指标的有机酸氨态氮总分的测定结果较好。因此,可以利用近红外光谱技术建立青贮玉米的有机酸与氨态氮总分模型,以用于预测青贮玉米的总分值。本文建立模型的预测均方差 RMSEP 为 10.3582,预测决定系数 R^2 为 0.8453;验证结果的青贮品质等级的准确率为 80.15%。结果表明,利用近红外光谱法可以对青贮玉米的有机酸与氨态氮总分实现定量测定。与传统化学分析法的测定结果相比,其准确率较高,而且依据总分可以较为准确地对青贮玉米的青贮品质进行判断。因此,近红外光谱分析法可以作为一种用于判断青贮玉米青贮品质的快速准确分析方法。

参考文献

- [1] Snyman L D, Joubert H W. Near Infrared Reflectance Analysis of the Fermentation Characteristics of Silage Prepared by Chemical Treatment to Prevent Volatilisation of Fermentation End Products [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 1992, **37**(1): 47-58.
- [2] Sinnbeve G, Dardenne P, Agneeseens R, et al. The Use of Near Infrared Spectroscopy for the Analysis of Fresh Grass Silage [J]. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 1994, **2**(1): 79-84.
- [3] 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]. *Animal Feed Science and Technology*, 1998, **72**(1): 155-167.
- [4] Sorensen L K. Prediction of Fermentation Parameters in Grass and Corn Stage by Near Infrared Spectroscopy [J]. *Journal of Dairy Science*, 2004, **87**(11): 3826-3835.
- [5] 刘贤, 韩鲁佳, 杨增玲. 近红外光谱快速分析青贮饲料 pH 值和发酵产物 [J]. *分析化学*, 2007, **27**(9): 1285-1289.
- [6] 傅彤, 刘庆生, 范志影, 等. 应用离子色谱测定青贮饲料中有机酸含量的研究 [J]. *中国畜牧兽医*, 2005, **32**(2): 5-9.
- [7] 范志影, 陈金辉, 肖靖泽, 等. 流动注射法测定青贮饲料中的氨态氮 [J]. *中国农业科技导报*, 2008, **10**(z2): 98-100.
- [8] 青贮饲料质量评定标准 [J]. *中国饲料*, 1996, **15**(21): 5-7.
- [9] 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): 39-42.
- [10] 褚小立, 袁洪福, 王艳斌, 等. 近红外稳健分析校正模型的建立 (I)——样品温度的影响 [J]. *光谱学与光谱分析*, 2004, **24**(6): 666-670.
- [11] 刘燕德, 应义斌. 傅里叶近红外光谱的雪青梨酸度偏最小二乘法定量分析 [J]. *光谱学与光谱分析*, 2006, **26**(8): 1454-1457.
- [12] 魏良明, 严衍禄, 戴景瑞. 近红外反射光谱测定玉米完整籽粒蛋白质和淀粉含量的研究 [J]. *中国农业科学*, 2004, **37**(7): 630-633.
- [13] 卢宝红, 张俊, 张义荣, 等. 玉米完整籽粒近红外品质分析模型的比较及改进 [J]. *中国粮油学报*, 2005, **20**(4): 44-49.
- [14] 杨胜. *饲料分析及饲料质量检测技术* [M]. 北京: 中国农业大学出版社, 1993.
- [15] 聂志东, 韩建国, 玉柱. FT-NIR 光谱法测定紫花苜蓿青干草的 6 项品质指标 [J]. *光谱学与光谱分析*, 2007, **27**(7): 1308-1311.