

饲料中动物源性成分显微近红外光谱检测分析*

吕程序 杨增玲 韩鲁佳 刘 贤

(中国农业大学工学院, 北京 100083)

【摘要】 探讨了应用显微近红外光谱分析技术检测饲料中动物源性成分的可行性。利用 12 个动物源性成分饲料样品和 14 个植物源性成分饲料样品建立偏最小二乘定标模型,数学预处理方法为导数 + 多元散射校正,利用平均光谱来优化模型实现数据压缩,模型的决定系数、交互验证标准差分别为 0.969、0.090。4 个配合饲料样品作为外部验证未出现误判。结果表明显微近红外光谱分析技术可用于检测饲料中动物源性成分。

关键词: 饲料 动物源性成分 检测 显微近红外光谱

中图分类号: O657.33; S816 文献标识码: A 文章编号: 1000-1298(2011)05-0171-04

Detection of Processed Animal Proteins in Feeding Stuffs
by Near-infrared Microscopy

Lü Chengxu Yang Zengling Han Lujia Liu Xian

(College of Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract

With the aim to investigate the feasibility of near-infrared microscopy method for discrimination of processed animal proteins in feeding stuffs, twelve processed animal protein samples and 14 plant based feed samples were collected. At the same time, four feeds were prepared for validation. The spectra were got with PerkinElmer spotlight 400 + spectrum 400 FT-NIR microscope, and the calibration equation was established by partial least squares method with the pretreatment of Savitzky – Golay derivative 1442, full multiplicative scatter correction and average variables 2. The result showed that the calibration gave determination coefficients of 0.969, and a standard error of cross validation of 0.090. The processed animal protein samples could be detected in nature feed samples. The results indicate that near-infrared microscopy has huge potential in detecting the processed animal proteins in feeding stuffs.

Key words Feeding stuffs, Processed animal proteins, Detection, Near-infrared microscopy

引言

现有饲料中动物源性成分检测方法有显微镜检测、近红外漫反射光谱法等^[1~4]。由于动物源性成分组成复杂,单一的检测方法虽然各具特点但也存在不同程度的局限性。鉴于此,在不断完善各类单一检测技术的同时,开展不同检测仪器结合技术研究,以突破单一检测技术的局限,一直是国内外学者研究的热点和重要方向^[5]。显微近红外 (near-

infrared microscopy,简称 NIRM) 光谱分析技术是现代分析仪器发展的重要突破,它是将传统傅里叶变换近红外光谱技术与光学显微镜检测技术有机结合的产物,基于变尺度的点模式获取不同样品单个颗粒微区的近红外光谱进行分析,从而检测精度得以大幅度提高。应用显微近红外光谱分析技术检测饲料中的动物源性成分,在简化制样方法的同时避免了单纯光学显微镜检测需人眼直接观测判断,相比近红外漫反射光谱法,基于微区分析可获取饲料中

收稿日期: 2010-07-27 修回日期: 2010-09-13
* 国家自然科学基金资助项目(31072062)、国际科技合作项目(2010DFA34540)、欧盟第七框架协议项目(FP7-265702-QSAFFE)和中国与比利时科技合作项目(国科外函[2010]177号)
作者简介: 吕程序,博士生,主要从事生物物质资源利用研究,E-mail: lvchengxu1026@163.com
通讯作者: 韩鲁佳,教授,博士生导师,主要从事生物物质资源利用研究,E-mail: hanlj@cau.edu.cn

单一组分的光谱,使不同组分吸收峰差异更加显著,有利于定性检测不同种属饲料成分,同时有利于检测精度的提高。国外学者已对饲料中动物源性成分的显微近红外光谱进行了研究^[6~8],国内尚未见相关报道。

本文应用显微近红外光谱分析技术,探索饲料中动物源性成分的检测方法,建立其相应的定量分析模型,并用验证集样品对模型进行可靠性检验。

1 材料与方法

1.1 样品的采集与制备

收集国产精补料 10 个、猪配合饲料 2 个、鸡配合饲料 2 个、鱼粉 6 个、陆生动物肉骨粉 6 个作为定标集。收集国产猪配合饲料 2 个、鸡配合饲料 2 个作为验证集。

所有样品采集后经 ZM100 型旋风磨(德国 Retsch GmbH 公司)粉碎,使其通过 1.0 mm 标准筛孔。抽真空避光于 4℃ 样品冷藏箱中保存。参照欧盟检测饲料中动物源性成分标准方法^[9]进行显微镜检测,确认样品真实性。实验开始前,将样品在实验室放置 24 h 至温度达到室温(20~22℃),然后将样品过筛,取筛分粒度大于 250 μm 的样品颗粒^[4],在体式显微镜下摆放在直径为 1.0 cm 的聚四氟乙烯背景片上,尽量使各个样品颗粒互相分离,然后将样品置于制动工作台备用。

1.2 光谱采集

光谱采集仪器为 spotlight 400 + spectrum 400 傅里叶变换显微近红外系统(英国 PerkinElmer 公司)。参数设定为:点模式采集反射光谱,光斑尺寸为 50 μm × 50 μm,分辨率 8 cm⁻¹,扫描速度 1.0 cm/s,扫描间隔 2 cm⁻¹,扫描范围 7 800~4 000 cm⁻¹,背景扫描次数 100,样品扫描次数 10,数据以吸光度形式存储,使用随机软件 SpectrumIMAGE Software 进行光谱采集。每个样品采集一个背景架的光谱约 200 条^[4],26 个定标样品共采集 4 951 条光谱,4 个验证样品共采集 730 条光谱。

1.3 数据处理

使用 WinISI III v1.50 软件(美国 Foss 公司)计算每个样品各光谱的距中心点距离(global hood,简称 GH)和临近马氏距离(neighbor hood,简称 NH)。GH 值反映了样品光谱与平均光谱的差异,GH 大于 3.0 的光谱视为异常光谱予以剔除,即每个样品距离中心样品点的距离大于标准变异单位 3.0 倍的光谱予以剔除。NH 值反映样品光谱的代表性,NH 大于 0.6 倍平均值的光谱视为具有代表性的样品光谱予以保留,即以某一样品为中心,半径 0.6 倍平均值

以内的样品将被认为与此样品为相似样品,其光谱的性质不会增加定标集样品的变异范围,为过剩样品,不参加定标予以剔除^[10]。

利用 The Unscrambler v9.1 软件(挪威 Camo 公司)进行光谱数据预处理和定性模型的建立以及验证集样品的预测。采用 Savitzky - Golay (简称 SG)平滑,Savitzky - Golay 一、二阶导数,多元散射校正(multiplicative scatter correction,简称 MSC),归一化(normalize)等方法对光谱进行预处理。采用平均波长光谱(reduce)对数据进行压缩。

采用偏最小二乘法(partial least squares,简称 PLS)作为建模算法,对动、植物源性成分颗粒光谱分别赋值 0、1,定标过程中设定最大主成分因子数 20,最优的主成分因子数根据预测集标准误差(SEP)最小的原则选出,并以此避免模型的过拟合。预测结果得分小于等于 0.5 的光谱判别为动物源性成分光谱,得分大于 0.5 的光谱判别为植物源性成分光谱。评价定性模型性能的统计学指标主要包括定标和预测的决定系数(R^2)、校正集标准误差(SEC)、预测集标准误差(SEP)以及判断正确率等。为快速选择预处理方法,建模时内部验证选择杠杆率校正,建立最终模型并用于全交互验证。

2 结果与讨论

2.1 样品 NIR 光谱的选择与分析

定标集 26 个样品的 4 951 条光谱经 GH 剔除异常样品和 NH 选择代表性样品后,结果如表 1 所示。GH 剔除异常光谱过程中剔除了动、植物源性成分 3.30%、3.70% 的光谱,其中植物源性成分选用的精补料以及配合饲料含有少量矿物成分,在这一步骤予以剔除。根据选用 NH 大于 0.6 光谱的原则,剔除了动、植物源性成分 63.80%、58.60% 的光谱,因为光谱采集过程中每个样品采集了约 200 条光谱,其中大部分光谱过于相似,如果带入定标并不会增加样品变异,反而使建模样品冗余,因此根据 NH 值剔除了大部分样品。定标集同一样品采集多少条光谱适宜有待进一步研究。本文最终共选择 1 756 条光谱用于建立饲料中动植物源性成分显微近红外光谱分析定标模型,其中动物源性成分光谱 757 条,植物源性成分光谱 999 条。

图 1 为 757 条动物源性成分和 999 条植物源性成分的平均一阶导数光谱。从图中可以看出在近红外谱区,动植物源性成分光谱在 5 300~4 000 cm⁻¹的合频区有着强烈的吸收,在 7 000~5 300 cm⁻¹的一倍频区吸收相对较弱。在 5 800~5 681、4 336~4 262 cm⁻¹存在两处脂肪吸收,在 4 868~4 397 cm⁻¹

存在蛋白吸收,图 1 中动植物源性成分光谱吸收峰差异显著。

表 1 建模光谱选择结果
Tab.1 Results of spectral selection

光谱类别	动物源性成分		植物源性成分		总计	
	光谱数	百分比/%	光谱数	百分比/%	光谱数	百分比/%
原始	2 303	46. 52	2 648	53. 48	4 951	100. 00
GH 剔除	77	3. 30	98	3. 70	175	3. 50
NH 剔除	1 469	63. 80	1 551	58. 60	3 020	61. 00
最终选用	757	32. 90	999	37. 70	1 756	35. 50

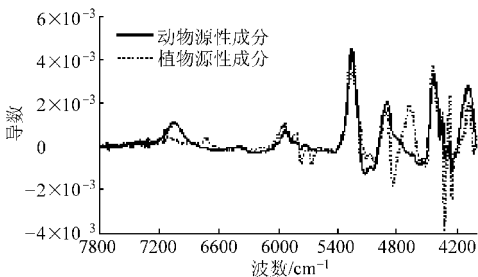


图 1 动、植物源性成分的平均一阶导数光谱
Fig.1 First derivative average spectra of processed animal proteins and plant based feeds

进而对 1 756 条动、植物源性成分显微近红外光谱进行主成分分析,图 2 为其第 1、3、4 主成分得分图。同一样品不同颗粒的光谱用相同灰度表示。从主成分得分图可以看出交叉的光谱仅为某些样品许多光谱中的几条,大部分动、植物源性成分样品点可以显著地区分开,这使建立动、植物源性成分定性判别模型成为可能。

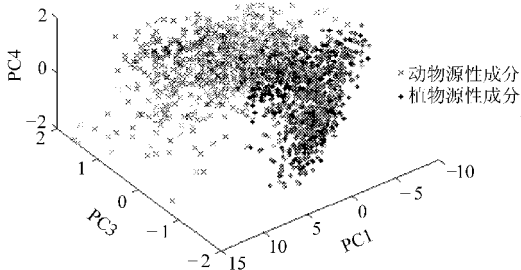


图 2 动、植物源性成分光谱的第 1、3、4 主成分得分图
Fig.2 PC scores plot of feed samples

2.2 定标模型的建立

为研究不同预处理对定标结果的影响,利用 26 个样品 1 756 条光谱建立 PLS 模型,结果如表 2 所示。

不同预处理方法对模型建立影响不同。如表 2 所示,选择适当的导数参数,可优化定标模型,主要是因为经导数处理光谱信号被放大,利于有效信息

表 2 不同预处理建模结果
Tab.2 Effect of pretreatment on calibration results

预处理	定标集		验证集		正确判断光谱数
	R^2	SEC	R^2	SEP	
无预处理	0. 922	0. 138	0. 921	0. 139	1 756
SG 导数	1442 *	0. 944	0. 118	0. 943	0. 118
	1772	0. 920	0. 140	0. 920	0. 140
	2442	0. 934	0. 127	0. 934	0. 128
	2772	0. 939	0. 122	0. 939	0. 123
归一化	平均数方差法	0. 936	0. 126	0. 934	0. 127
	最大值法	0. 944	0. 117	0. 943	0. 118
	最大最小值法	0. 944	0. 117	0. 943	0. 118
多元散射校正	全校正法	0. 955	0. 105	0. 955	0. 106
	共偏法	0. 928	0. 133	0. 927	0. 134
	放大法	0. 923	0. 137	0. 922	0. 138
SG 导数 1442 + 多元散射校正		0. 969	0. 087	0. 969	0. 088
SG 平滑 442 * * + SG 导数 1442		0. 943	0. 118	0. 942	0. 119
SG 平滑 442 + SG 导数 1442 + 多元散射校正		0. 969	0. 087	0. 969	0. 088

注: * 4 个数字(如 1442)分别为导数阶数,求导左、右数据点数和拟合方程次数; * * 3 个数字(如 442)分别为平滑左、右数据点数和拟合方程次数。

的检出。归一化后数据建模效果优于原始光谱,因为归一化规范了光谱数据,使差异更显著。多元散射校正后模型参数明显优于原始光谱模型,因为散射校正消除了样本粒度分布不均匀引起的散射。

由表 2 可见,SG 导数 1442 + 多元散射校正混

合预处理和 SG 平滑 442 + SG 导数 1442 + 多元散射校正混合预处理结果均较优。考虑到选择较简单预处理可以减少建模工作量,最终选择 SG 导数 1442 + 多元散射校正混合预处理为较优预处理方法。

2.3 定标模型的优化

为了优化定标模型,实现数据压缩,本文对平均波长光谱进行了研究,结果如表 3 所示。

表 3 平均波长光谱建模效果

Tab.3 Effect of average variables on calibration results						
预处理	平均波长数目	定标集		验证集		正确判断光谱数
		R^2	SEC	R^2	SEP	
无预处理	2	0.922	0.139	0.921	0.139	1 756
	5	0.921	0.139	0.921	0.140	1 756
	10	0.921	0.139	0.920	0.140	1 755
SG 导数 1442 + MSC	2	0.969	0.087	0.969	0.088	1 756
	5	0.967	0.088	0.968	0.088	1 756
	10	0.947	0.113	0.947	0.114	1 755

由表 3 可见,选择不同的平均波长数目建模效果不同。因为平均波长数目越大,数据维数越少、实现数据压缩的效果越好,模型的稳定性也就越好,同时建模工作量、成本更小,模型维护效率更高。但较大的平均波长数目导致数据有效信息量损失较大,削弱了数据间的差异,也可使建模效果变差。

如表 3 所示,SG 导数 1442 + 多元散射校正 + 平均波长数目 2 的混合预处理方法结果与 SG 导数 1442 + 多元散射校正相同,但使用了平均波长数目 2 使建模工作量减半,速度大大提高。同时,平均波长数目 5 的混合预处理方法结果与平均波长数目 2 的相近,建模速度会得到更大的提高,但本文考虑建模的精度,最终选择了 SG 导数 1442 + 多元散射校正 + 平均波长数目 2 的混合预处理方法。

为了快速选择预处理方法、优化模型,内部验证选择杠杆率校正。SG 导数 1442 + 多元散射校正 + 平均波长数目 2 混合预处理的全交互验证结果定标

集 R^2 和 SEC 分别为 0.969、0.087,验证集 R^2 和交互验证标准差(SEC_V)分别为 0.967、0.090,未出现误判。图 3 所示为该模型的第 1、2 主成分得分图,可见,该模型可以显著地区分动植物源性成分光谱。

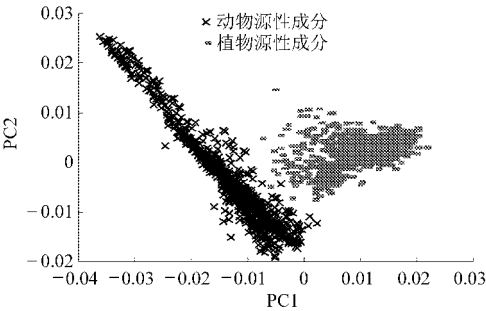


图 3 PLS 模型第 1、2 主成分得分
Fig.3 PC score plots of PLS model

2.4 外部验证

采集市售的猪、鸡配合饲料样品各 2 个作为外部验证,收集到样品后进行显微镜检测,确认含有动物源性成分。当扫描颗粒数为 156 ~ 200 时,4 个配合饲料样品显微近红外光谱检测结果均为阳性,与显微镜检一致。研究表明所建立的模型可检测实际生产配合饲料混合样品中的动物源性成分。但所选用验证集样品的动物源性成分具体含量未知,下一步的研究应探讨该方法可检测动物源性成分含量的检出限。

3 结束语

研究了显微近红外光谱分析技术在饲料中动物源性成分检测上的应用,对比各种预处理方法的建模效果,选择 SG 导数 1442 + 多元散射校正 + 平均波长数目 2 的混合预处理,模型的结果较优,4 个实际生产样品可被模型正确检出。研究表明显微近红外光谱分析技术可用于饲料中动物源性成分检测。

参 考 文 献

1 杨增玲,韩鲁佳,李琼飞,等. 基于 NIRS 的反刍动物饲料中肉骨粉判别[J]. 农业机械学报,2009,40(7):124 ~ 128,142.
Yang Zengling, Han Lujia, Li Qiongfei, et al. Discriminate analysis of meat and bone meal content in ruminant feed based on NIRS [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2009, 40(7):124 ~ 128,142. (in Chinese)

2 Gizzi G, Holst C, Baeten V, et al. Determination of processed animal proteins including meat and bone meal in animal feed [J]. Journal of AOAC International, 2004, 87(6):1 334 ~ 1 341.

3 Gizzi G, Raamsdonk L, Beaten V, et al. An overview of tests for animal tissues in animal feeds used in the public health response against BSE [J]. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz., 2003, 22(1):311 ~ 331.

4 Dardenne P. Startfeed-strategies and methods to detect and quantify mammalian tissues in feeding stuffs [M]. Namur: European Communities, 2005:1 ~ 14.

5 卜登攀,王加启,贺云霞,等. 动物源性成分检测技术研究进展[J]. 中国畜牧兽医,2008,35(2):55 ~ 60.
Bu Dengpan, Wang Jiaqi, He Yunxia, et al. Detection of the animal origin materials in feedstuff: a review [J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2008, 35(2):55 ~ 60. (in Chinese)

学科设计者不同意,该零件就不能被删除,需要通过相关学科设计者间的协商来确定是否删除该零件。

4 结束语

产品设计是从功能到物理结构的映射,而功能是用用户需求在产品设计师所处的技术环境中的映射,设计者关注的是产品的功能,产品设计始于功能需求,终于功能需求的满足。在多学科协同设计中,

多学科设计间的协调和一致性维护是保证协同设计成功的关键。对于添加/删除组件对象的情形,需要通过基于功能语义的推理来实现,本文对此进行了研究,给出了相应的原理和实现方法,开发了一个原型系统,以减速器为例进行了分析和说明。这种语义推理的方法灵活和柔性,也与人的设计思维和推理过程相吻合,从而有效地实现多学科设计间的动态协调,提高协同设计的质量和效率。

参 考 文 献

1 Lottaz C, Smith I F, Nicoud Y R, et al. Constraint-based support for negotiation in collaborative design [J]. *Artificial Intelligence in Engineering*, 2000, 14(3):261 ~ 280.

2 张少彤,熊光楞,李涛. 基于参数协调模型的多学科协同设计方法[J]. *计算机学报*, 2004,27(1):115 ~ 120.
Zhang Shaotong, Xiong Guangleng, Li Tao. Multidisciplinary design method based on parameter coordination model [J]. *Chinese Journal of Computers*, 2004, 27(1):115 ~ 120. (in Chinese)

3 Xue D, Xu Y. Web-based distributed system and database modeling for concurrent design [J]. *Computer-Aided Design*, 2003, 35(5):433 ~ 452.

4 Xuan F Zha, H Du. Knowledge-intensive collaborative design modeling and support, part II: system implementation and application [J]. *Computers in Industry*, 2006, 57(1):56 ~ 71.

5 何德林,王耕耘,李志刚. 基于分布式约束网络的协同设计研究[J]. *计算机辅助设计与图形学学报*, 2002, 14(4):329 ~ 332.
He Delin, Wang Gengyun, Li Zhigang. Study on collaborative design based on distributed constraint-net [J]. *Journal of Computer-Aided Design & Computer Graphics*, 2002, 14(4):329 ~ 332. (in Chinese)

6 王伟明,王迎春,胡洁,等. 基于仿真的广义动态约束网络建模技术[J]. *上海交通大学学报*,2005, 39(12):1 933 ~ 1 937.
Wang Weiming, Wang Yingchun, Hu Jie, et al. The modeling method of generalized dynamic constraints network based on simulation [J]. *Journal of Shanghai Jiao Tong University*, 2005,39(12):1 933 ~ 1 937. (in Chinese)

7 Pierre-Alain Yvars. A CSP approach for the network of product lifecycle constraints consistency in a collaborative design context [J]. *Engineering Applications of Artificial Intelligence*, 2009, 22(6):961 ~ 970.

8 Xue D, Yang H, Tu Y L. Modeling of evolutionary design database [J]. *Journal of Computing and Information Science in Engineering*, 2006, 6(3):22 ~ 32.

9 陈亮,王伟. 产品多学科协同设计中的一致性维护方法[J]. *中国机械工程*,2010,21(12):1 447 ~ 1 452.
Chen Liang, Wang Wei. Consistency maintenance of multidisciplinary collaborative product design [J]. *China Mechanical Engineering*, 2010, 21(12):1 447 ~ 1 452. (in Chinese)

(上接第 174 页)

6 Piraux F, Dardenne P. Feed authentication by near-infrared microscopy [C]//*Proc. of the 9th International Conference on NIRS*, 1999.

7 Delgado B, Soldado A, Fernández A, et al. Application of NIRM for the detection of meat and bone meals in animal feeds: a tool for food and feed safety [J]. *Food Chemistry*, 2007, 105(3):1 164 ~ 1 170.

8 Holst C, Baeten V, Boix A, et al. Transferability study of a NIRM method for the detection of banned meat and bone meal in feeding stuffs [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2008, 392(1 ~ 2):313 ~ 317.

9 Commission Regulation (EC) No.152/2009. Laying down the methods of sampling and analysis for the official control of feed [S].

10 Baeten V, Holst C, Garrido A, et al. Detection of banned meat and bone meal in feedstuffs by NIRM analysis of the dense sediment fraction [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2005, 382(1):149 ~ 157.