

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 1423—2007

鱼粉和反刍动物精料补充料中肉骨粉 快速定性检测 近红外反射光谱法

Method for Quick Discrimination of Meat and Bone Meal
in Fishmeal and Ruminant Concentrate Supplement
—Near Infrared Reflectance Spectroscopy

2007-06-14 发布

2007-09-01 实施



中华人民共和国农业部 发布

鱼粉和反刍动物精料补充料中肉骨粉 快速定性检测 近红外反射光谱法

1 范围

本标准规定了鱼粉和反刍动物精料补充料中肉骨粉的近红外反射光谱检测方法。

本标准适用于鱼粉和反刍动物精料补充料中可能掺有肉骨粉的快速定性检测。

本方法最低检出限为 1%。

2 原理

近红外反射光谱(near infrared reflection spectroscopy, NIRS)分析方法是利用有机物中含有 C-H、N-H、O-H 等含氢基团的倍频和合频吸收带,以漫反射方式获得在近红外区的吸收光谱,通过逐步多元线性回归(stepwise multiple linear regression, SMLR)、主成分回归(principal component regression, PCR)、偏最小二乘法(partial least squares, PLS)和人工神经网络(artificial neural network, ANN)等现代化学计量学的手段,建立物质的特征光谱与待测成分之间的相关关系模型,从而实现利用物质近红外光谱信息对未知样品成分的快速定性检测。

3 术语

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

定标标准差 standard error of calibration(SEC)

$$SEC = \left[\frac{\sum_{i=1}^{n_c} (y_i - \hat{y}_i)^2}{n_c - k - 1} \right]^{1/2}$$

式中:

y_i ——样品 i 的真实值;

$\hat{y}_i$ ——样品 i 的 NIRS 检测值;

n_c ——定标集样品数;

k ——回归因子数目。

3.2

检验标准差 standard error of prediction(SEP)

$$SEP = \left[\frac{\sum_{i=1}^{n_p} (y_i - \hat{y}_i)^2}{n_p - 1} \right]^{1/2}$$

式中:

y_i 和 $\hat{y}_i$ ——同 3.1;

n_p ——检验集样品数。

3.3

决定系数(R^2 或 r^2) correlation coefficient square

定标集以 R^2 表示;检验集用 r^2 表示。

$$R^2(r^2) = \left[1 - \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2} \right] \times 100\%$$

式中:

y_i 和 $\hat{y}_i$ ——同 3.1;

$\bar{y}$ ——真实值的平均值;

n ——样品数目,定标集为 n_c ,检验集为 n_p 。

3.4

马氏距离 mahalanobis distance(MD)

$$MD_i = [(t_i - \bar{T}) \cdot M^{-1} \cdot (t_i - \bar{T})']^{1/2}$$

式中:

MD_i ——定标集样品 i 的马氏距离;

t_i ——定标集样品 i 的光谱得分;

$\bar{T}$ ——定标集 n_c 个样品光谱的平均得分矩阵, $\bar{T} = \frac{\sum_{i=1}^{n_c} t_i}{n_c}$;

M ——定标集样品的马氏矩阵(Mahalanobis 矩阵), $M = \frac{(T - \bar{T})'(T - \bar{T})}{n_c - 1}$;

T ——定标集样品光谱得分矩阵。

3.5

马氏距离阈值 mahalanobis distance limitation value(MD_L)

$$MD_L = \overline{MD} + 3 \times SD_{MD}$$

式中:

$\overline{MD}$ ——定标集样品马氏距离的平均值;

SD_{MD} ——定标集样品马氏距离的标准差。

4 仪器

4.1 漫反射型近红外光谱仪:扫描范围包含波段 1 100 nm~2 500 nm(9 090 cm⁻¹~4 000 cm⁻¹);仪器噪音以多次扫描仪器内部陶瓷参比光谱吸光度的残差来表示,应控制在 30×10^{-6} AU 以下;波长准确度优于 0.3 nm,波长重现性优于 0.02 nm;随机软件具有 NIRS 光谱数据的收集、存储、加工等功能。

4.2 样品皿:旋转式或往复移动式近红外反射光谱仪专用样品皿,容纳样品量大于 20 g。

4.3 样品磨:旋风磨,筛片孔径为 0.5 mm 或 1.0 mm,或同类产品。

4.4 分析天平:感量 0.000 1 g。

5 试样制备

将样品粉碎,使之全部通过 0.5 mm 或 1.0 mm 标准孔筛(内径),并混合均匀。为避免交叉污染,每个样品粉碎前,均需彻底清洁样品磨。

6 分析步骤

6.1 一般要求:每次测定前应按生产商规定的日常诊断程序,对仪器进行噪声、波长准确度和重现性

诊断。

6.2 定标

NIRS 分析的准确性在一定程度上取决于定标工作,定标总则和程序见附录 A。

6.2.1 定标模型的选择

定标模型的选择原则为定标样品的 NIRS 光谱能够代表试样的 NIRS 光谱,操作上是比较二者光谱间的马氏距离(MD)。如果试样的 MD 小于或等于 MD_L ,则可选用该定标模型;如果试样的 MD 大于 MD_L ,则不能选用该定标模型。

6.2.2 定标模型的升级

定标模型升级的目的是为了扩大定标模型在 NIR 光谱上对试样的适应性。操作上是将新采集到的具有代表性的肉骨粉、鱼粉和反刍动物精料补充料样品按附录 A 定标样品制备方法重新配制成新的定标样品,扫描其近红外光谱,然后将这些样品加入到定标样品集中,用原有的定标方法进行计算,即获得升级的定标模型。

6.3 试样的测定

根据试样选用对应的定标模型,对试样进行扫描,然后进行试样与定标样品集间 NIR 光谱的比较。如果试样的 MD 小于或等于 MD_L ,则仪器将直接给出试样的测定结果;如果试样的 MD 大于 MD_L ,则说明该试样已超出了该定标模型的分析能力,对于该定标模型,该试样视为“异常”样品。

如果试样的温度条件与定标样品不同,可按照仪器生产商推荐程序进行校正。

7 结果表示

根据试样的 NIR 光谱,将其在各波长点处的吸光度值代入相应的定标模型,即可得到相应的检测结果:

结果表示为阳性、阴性和不确定,给出所检试样是否与送检产品质量相符合的判定意见。

附录 A
(资料性附录)
定标的总则和程序

A.1 定标样品制备

将采集到的足够数量的具有代表性的肉骨粉、鱼粉和反刍动物精料补充料样品粉碎,使之全部通过 0.5 mm 或 1.0 mm 标准孔筛(内径)。为避免交叉污染,样品粉碎前需彻底清洁样品磨。分别按质量分数为 0%~40% 比例,以 2% 均匀梯度,按照随机区组试验设计方法,准确配制含有肉骨粉的鱼粉和反刍动物精料补充料定标样品。所有样品需充分混合均匀,必要时真空密封低温保存。

推荐使用的最小定标样品数量为 150 个,其中 1/3 用于定标外部检验。

A.2 光谱数据收集

光谱数据的收集过程中,装样条件以及样品和环境温度尽量保持一致。

A.3 光谱预处理

采用基线校正(baseline correction)和归一化(normalization)等方法进行光谱预处理。基线校正主要扣除仪器背景或漂移对信号的影响,其中微分处理(derivative)可减少谱带重叠的影响,一阶导数消除基线平移,二阶导数同时消除平移和线性倾斜。归一化方法中,变量标准化(standard normal variate,简称 SNV)可有效消除光谱中多元散射干扰和颗粒度的影响;附加散射校正(multiplicative scatter correction,简称 MSC)可补偿在反射光谱中遇到的波长依赖的光散射变化。

A.4 定标方法

使用基于判别分析的偏最小二乘法(discriminant partial least square,简称 DPLS)或马氏距离判别法等。DPLS 是以二进制类别变量取代浓度变量,通过采用偏最小二乘法计算光谱向量与类别向量的相关关系,建立定性判别定标模型。马氏距离判别法是根据光谱信息计算样品的马氏距离,建立定性判别定标模型。

A.5 定标模型评价

通常要求反刍动物用精料补充料中肉骨粉检测的正确判别率大于或等于 90%,鱼粉中肉骨粉检测的正确判别率大于或等于 85%。