

饲料中粗灰分、钙、总磷和氯化钠快速测定 近红外光谱法

Method for determination of crude ash, calcium, phosphorus and chlorides
in feeds-Near infrared reflectance spectroscopy

2019 - 07 - 03 发布

2020 - 01 - 01 实施

前 言

本标准根据GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

本标准由江西省农业农村厅提出并归口。

本标准起草单位：江西省兽药饲料监察所、双胞胎（集团）股份有限公司。

本标准主要起草人：杨琳芬、文虹、邢磊、姜文娟、符金华、廖丰、范昌成、邓倩、孙新、尹腾桂、董泽民、刘国花、李存、黄艳清、李丹

饲料中粗灰分、钙、总磷和氯化钠快速测定 近红外光谱法

1 范围

本标准规定了以近红外光谱仪快速测定饲料中粗灰分和钙、总磷、氯化钠的术语和定义、仪器和软件、样品处理、分析方法、分析的允许误差。

本标准适用于配合饲料中粗灰分、钙、总磷和氯化钠的测定，不适合仲裁检测。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6436 饲料中钙的测定

GB/T 6437 饲料中总磷的测定 分光光度法

GB/T 6438 饲料中粗灰分的测定

GB/T 6439 饲料中水溶性氯化物的测定

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

标准分析误差 standard error of the calibration

样品的近红外光谱法测定值与国标方法测定值间残差的标准差，表达如下 $\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (d_i - \bar{d})^2}{n-1}}$ ，对于定标样品常以SEC表示。

3.2

残差 residual

样品的近红外光谱法测定值与国标分析方法测定值的差值。

3.3

偏差 bias

残差的平均值。

3.4

相关系数 correlation coefficient

近红外光谱法测定值与国标法测定值的相关性。

3.5

异常样品 exception sample

仪器扫描报警样品，表示样品可能与定标模型使用的样品差异较大。

3.6

马氏距离 mahalanobis distance

广义上为度量未知样品于特定类之间的距离，常用于光谱的判别分析。马氏距离分为GH和NH，GH为未知样品距离中心样品点的距离，NH为未知样品与相邻样品间的距离。

3.7

t 检验 student's t test

用t分布理论来推论差异发生的概率，从而比较两个平均数的差异是否显著。

4 仪器和软件

4.1 近红外光谱仪

带可连续扫描单色器的漫反射型近红外光谱仪或其他类产品，扫描范围400nm~2500nm，波长准确度0.5nm，波长的重现性为0.04nm。

4.2 软件

具有NIR光谱数据的收集、存储、加工等功能。

5 样品处理

样品粒度与定标模型所对应粒度处理方式一致。

6 分析方法

6.1 仪器校准

6.1.1 仪器自检

仪器噪声自检通过，以多次扫描光谱吸光度残差的标准差来反映仪器的噪声。

6.1.2 波长准确度和重现性

波长准确度和重现性通过仪器自检。

6.1.3 仪器标准样品测定

将一个仪器标准样品作为仪器外用检验标准样品，测定该样品中粗灰分、钙、总磷、氯化钠含量并做T检验，应无显著差异。

6.2 定标

6.2.1 定标模型的选择

NIR分析的准确性取决于定标工作，定标的总则和程序见附录A。定标模型的选择原则为定标样品的NIR光谱能代表被测定样品的NIR光谱。通过比较它们光谱间的H值，如果待测样品GH值 <3 ，则可选用该定标模型；如果待测样品GH值 >3 ，则不能选用该定标模型；如果没有现有的定标模型，则需要对现有模型进行升级。定标模型建立见附录B。

6.2.2 定标模型的升级

定标模型升级的目的是为了使该模型在NIR光谱上能适应于待测样品。通过选择20个~30个与待测样品相似的样品，扫描其NIR光谱，并用国标方法测定粗灰分、钙、总磷、氯化钠含量，然后将这些样品加入到定标样品中，用原有的定标方法进行计算，即获得升级的定标模型。

6.3 样品的测定

将饲料样品处理待测，开机持续预热1.5h左右，仪器自检，取适量样品，装填均匀，开始扫描；扫描结束后，清扫样品，重新装样，进行第二个样品的扫描，样品全部扫描结束后，分析结果。

6.4 结果分析

根据待测样品 NIR光谱选用对应的定标模型，对样品进行扫描，然后进行待测样品NIR光谱与定标样品间的比较。如果待测样品NH值 ≤ 0.6 ，则仪器将直接给出样品的粗灰分、钙、总磷、氯化钠含量；如果待测样品NH值 >0.6 ，则说明该样品已超出了该定标模型的分析能力，对于该定标模型，该样品被称为异常样品。

6.5 异常样品的分类

形成异常测定结果的原因，可能来自于该样品测定参数的含量超过了该仪器的定标模型的范围，或者该样品的品种与参与该仪器定标样品集的种类有很大差异。“好的”异常样品NH值为 >0.6 或GH值 ≤ 5 ，并且该异常样品加入定标模型后，SEC不会显著增加，可增加该模型的分析能力。

6.6 异常样品的处理

应对造成测定结果异常的原因进行分析和排除，再进行第二次NIR测定予以确认，如仍出现报警，则确认为异常样品。NIR分析中发现异常样品后，要用国标方法对该样品进行分析，并封存样品，将异常样品的情况通报NIR管理者或仪器生产商，以利于今后对定标模型进行升级。

7 分析的允许误差

检测项目分析的允许误差见表1。

表1 检测项目分析的允许误差

样品中组分	含量(%)	平行样间相对偏差小于(%)	测定值与国标方法测定值之间的偏差小于(%)
粗灰分	>5.0	2	0.50
	≤5.0	4	0.40
钙	>1.0	5	0.30
	≤1.0	10	0.15
总磷	>0.5	3	0.20
	≤0.5	10	0.10
氯化钠 (水溶性氯化物)	>0.5	8	0.15
	≤0.5	5	0.10

附 录 A
(规范性附录)
定标的总则和程序

A.1 样品的选择

参与定标的样品应具有代表性，即需涵盖将来所要分析样品的特性。创建一个新的校正模型，至少需要收集50个样品。通常以70个~150个样品为宜。样品过少，将导致定标模型的欠拟合性；样品过多，将导致模型的过拟合性。

A.2 稳定样品组

为了使定标模型具有较好的稳定性，即其预测性能不受仪器本身波动和样品的温度发生变化的影响，在定标中应加上温度发生变化的样品和仪器发生变化的样品。

A.3 定标样品选择的方法

对定标样品的选择应使用主成分分析法PCA和聚类分析。根据某样品NIR光谱与其他样品光谱的相似性，仅选择其NIR光谱有代表性的样品，去除光谱非常接近的样品。对于PCA方法，通常是选用前12个目标值用于选择定标样品组。或者从每一PCA中选择具有最大和最小目标值的样品(min/max)；或者将每一PCA种的样品分为等同两组，从每一组中选择等同数目的代表性样品参与定标。两种方法中以min/max法是最通常采用的方法。对于聚类分析方法，使用马哈拉诺比斯距离(或H值)等度量样品光谱间的相似性。通常选择有代表性样品的边界H值为0.6，即如果某样品NIR光谱与其他样品的H统计值大于或等于0.6，则将其选择进入定标样品；如果某样品NIR光谱与其他样品的H统计值小于0.6，则不将其选择进入定标。

A.4 定标样品真实值的测定

对于定标样品需要知道其钙、总磷、粗灰分、氯化钠含量的“真值”，在实际操作中，通常以GB/T 6436, GB/T 6437, GB/T 6438, GB/T 6439的测定值来代替。

A.5 定标方法

A.5.1 逐步回归

选择回归变量，产生最优回归方程的一种常用数学方法。它首先通过单波长点的回归校正，误差最小的波长点的光谱读数就为多线性回归模型中的第一独立变量；以此为第一变量，进行二元回归模型比较，误差最小的波长所对应的光谱读数则为第二独立变量；以此类推获得第三……独立变量。但是独立变量的总数量不应超过 $[(N/10)+3]$ ，N为定标系中样品数量，否则将产生模型的过适应性。

A.5.2 主成分回归法

如果在回归中应用所有的100个(NIT)或700个(NIR)波长点光谱的信息,这样在建立回归模型时,至少需要101个或701个样品建立101个或701个线性方程组。主成分分析可用于压缩所需要的样品数量,同时又应用光谱所有的信息。它将高度相关的波长点归于一个独立变量中,进而就以为为数不多的独立变量建立回归方程,独立变量内高度相关的波长点可用主成分得分将其联系起来。内部的检验用于防止过模型现象。

A. 5. 3 偏最小二乘法回归法

部分最小偏差回归法是80年代末应用到近红外光谱分析上的。该法与主成分回归法很相似,仅是在确定独立变量时,不仅考虑光谱的信息(X变量),还考虑化学分析值(Y变量)。该法是目前近红外光谱分析上应用最多的回归方法,在制定饲料中粗灰分、钙、总磷、氯化钠测定的定标模型时使用此方法。

A. 5. 4 定标模型的更新

定标是一个由小样本估计整体的计量过程,因此定标模型预测能力的高低取决于定标样品的代表性。由于预测样品的不确定性,在实际分析工作中边分析边选择异常样品,定期进行定标模型的升级,可概括为以下步骤:

- a) 定标设计;
- b) 分析测定;
- c) 定标运算;
- d) 实际预测;
- e) 异常数据检查;
- f) 再定标设计;
- g) 再分析测定;
- h) 再定标运算。

A. 5. 5 对定标模型的检验和选取

检验定标模型的适用性,其简单的方法是直接比较一个有代表样品群的预测值(y_i)和真实值(Y_i)的偏差。

附 录 B
(资料性附录)
定标模型建立

B.1 饲料中粗灰分的测定

定标样品数为105个，以改进的偏最小二乘法(MPLS)建立定标模型，模型的参数为：SEP =0.33%，Bias=-0.02%，MPLS独立向量(Term)=12，光谱的数学处理为：一阶导数、每隔4nm进行平滑运算，光谱的波长范围为800nm~2498nm。

B.2 饲料中钙的测定

定标样品数为95个，以改进的偏最小二乘法(MPLS)建立定标模型，模型的参数为：SEP =0.07%，Bias=0.01%，MPLS独立向量(Term)=12，光谱的数学处理为：一阶导数、每隔4nm进行平滑运算，光谱的波长范围为800nm~2498nm。

B.3 饲料中总磷的测定

定标样品数为103个，以改进的偏最小二乘法(MPLS)建立定标模型，模型的参数为：SEP =0.05%，Bias=-0.01%，MPLS独立向量(Term)=12，光谱的数学处理为：一阶导数、每隔4nm进行平滑运算，光谱的波长范围为800nm~2498nm。

B.4 饲料中氯化钠(水溶性氯化物)的测定

定标样品数为101个，以改进的偏最小二乘法(MPLS)建立定标模型，模型的参数为：SEP =0.08%，Bias=-0.02%，MPLS独立向量(Term)=12，光谱的数学处理为：一阶导数、每隔4nm进行平滑运算，光谱的波长范围为800nm~2498nm。