

# 小麦和大豆蛋白质含量的近红外漫反射光谱分析实验研究

李 大 群

**摘要:** 近红外漫反射光谱分析技术是一种新的光谱分析技术。本文详细论述了近红外漫反射光谱学原理及分析技术,对影响近红外漫反射光谱技术的主要因素进行了探讨,首次在固定滤光片式近红外漫反射分析仪上应用了模拟导数光谱的差分变换方法并得到了小麦和大豆蛋白质含量分析测定的满意结果。

## 一、引 言

在农业、粮食、食品检测及饲料加工等行业的定量分析工作中,对样品特定成份含量的测定以往多采用化学方法。虽然利用化学方法得到的分析结果准确度高,但在实验中需要配备一定数量的分析试剂,并经过一系列复杂且冗长的化学反应过程才能实现,很难适合大量样品品质分析工作的需要。

自从本世纪六十年代美国的Karl, Norris及其同事首次对固体样品开展近红外漫反射光谱定量分析工作<sup>[1]</sup>以来,这种新的光谱分析技术的优越性逐渐被人们所认识,即样品制备简单,分析费用低,分析快速且不破坏样品的化学性质。进入七十年代以来,近红外分析仪器不断完善,微机技术迅猛发展,特别是二者的结合,不但提高了仪器的自动控制操作能力,更使大量光谱数据的实时处理成为可能,近红外漫反射光谱分析技术的研究应用进入了更广泛的领域<sup>[2][3][4]</sup>。

目前,这种新的光谱分析技术在我国刚刚开始应用,一些必要的研究工作尚未进行。鉴于对我国的国民经济有着重要意义,我们较系统地开展了这方面的实验研究工作。

## 二、近红外漫反射光谱学原理

根据分子光谱学理论,红外吸收谱是分子在不同的振动能级间的跃迁所产生。分子的红外吸收谱有许多谱带是位于中红外区基波带的谐波带和不同振动能级相互作用产生的组合带,组成了分子的近红外谱带。

对于一个非散射的单成份物质来说,其吸光度  $A$  与成份含量  $c$  之间的关系由 Beer—Lambert 定律给出:

$$A = \log(1/T) = abc$$

式中  $T$  为透射率,  $b$  为样品厚度,  $a$  为吸收系数,与物质种类及波长有关。但对于一个单成

注: 本文作者的导师为陈垦旦

份的光厚物质来说, Beer—Lambert仍近似成立, 只是以光的漫反射取代了光的透射, 即:

$$A = \log(1/R) \propto c$$

$R$ 为漫反射率。利用近红外漫反射光谱进行定量分析的基础正是由于样品特定化学成份含量与样品在此成份吸收波长处漫反射率倒数的对数之间存在着上述的线性关系。但由于样品往往包含多种化学成份, 而且这些成份的近红外漫反射谱带的交叠严重, 使近红外漫反射光谱分析工作有一定的复杂性。实际上, 样品特定成份含量与该样品的近红外漫反射光谱间的定量关系式一般可表述为:

$$c = F_0 + F_1(f_1) + F_2(f_2) + \dots + F_{n_w}(f_{n_w})$$

$f_1 \sim f_{n_w}$ 为反映样品漫反射特性的光谱函数,  $F_0 \sim F_{n_w}$ 为相应的特定常数,  $n_w$ 为函数项数。由于此定量关系式是非确定性函数关系, 故其特定常数的求解过程实际上是数理统计的回归计算过程。整个过程可分为定标和预测两部分, 如图1所示。

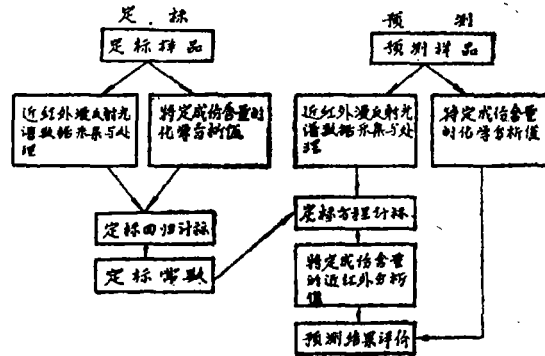


图1 定标和预测流程图

### 三、影响近红外漫反射光谱分析技术的一些主要因素的探讨

1. 定标样品数目 在定标样品的回归计算中, 定标样品的选择必须具备有代表性, 这往往要通过选择大量且特定成份含量分布均匀的定标样品来实现。当定标函数项数  $n_w$  一定时, 具有代表性的定标样品数越多, 其定标稳定性越好。利用定标标准差SEC的公式及  $F$  检验的  $F$  值计算公式<sup>[5]</sup>可推得下式:

$$\frac{SEC}{SD_{Rc}} = \sqrt{\frac{1}{1 + \frac{n_w(F-1)}{n_c - 1}}}$$

$SD_{Rc}$  为定标样品特定成份含量化学分析值的分布标准差,  $n_c$  为定标样品数。根据此关系式原则上可获得所需最少的定标样品数, 即首先确定可接受的  $SEC/SD_{Rc}$  值, 然后选定置信水平, 对于一定的  $n_w$  值, 依此公式即可获得相应的最小定标样品数  $n_c$ 。

2. 样品的物理因素和化学因素 样品物理因素主要是指样品的粒度。同一样品若粒度不同, 其近红外漫反射光谱也不同, 因此样品粒度不均匀时, 其光谱定量分析的灵敏度下降。样品的化学因素主要指其油份和水份含量。高油份样品粉碎后易为膏状, 样品盒不易清洗, 样品的表面影响增大; 高水份样品粉碎后, 其粒度不均匀性增大, 都使分析的灵敏度降低。

## 四、实验研究

1. 设备及材料 实验采用美国 Technicon 公司生产的 450 型近红外分析仪<sup>[5]</sup>, 其分光系统是 19 个窄带 (带宽 10nm) 滤光片, 中心波长见表 1, 实验使用 99 个小麦样品 (蛋白质含量 13.8% 至 21.3%) 和 54 个大豆样品 (蛋白质含量 37.9% 至 49.2%), 所有样品蛋白质含量的化学分析值由 Kjelfoss 自动定氮系统测定, 结果以干基表示。

表 1

滤光片号	2	3	4	5	6	7	8	9	10
波长(nm)	2336	2348	2310	2270	2230	2208	2190	2139	2180
11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1982	1818	1778	2100	1759	1940	1734	1722	1945	1680

2. 测量方法及结果讨论 经过对小麦和大豆中主要成份蛋白质、淀粉和油的近红外漫反射光谱<sup>[6]</sup>分析并结合表 1, 我们把 2180nm 附近做为蛋白质光谱定量分析的主要波长区域, 测量上运用了三种不同的回归方式。

1)  $\log(1/R)$  回归方式 关键是选择适当的定标波长, 首先选择一、两个蛋白质吸收波长, 其余参考波长由计算机从剩余波长中优化选择, 使定标标准差最小。实验得到至少要用三个定标波长用于小麦和大豆蛋白质定量分析, 结果见表 2, 小麦的定标和预测相关系数分别达到 0.976 和 0.982; 大豆的分别为 0.990 和 0.952, 结果较好。表中波长的选择也很有意义, 小麦中对蛋白质的主要干扰成份是淀粉, 波长 2100nm 和 1778nm 是淀粉的吸收波长, 不是蛋白质的吸收波长, 用于消除淀粉干扰; 大豆中油份含量高, 故要选择 2348nm 用于消除其干扰。另外实验也发现这种方式定标波长的选择并不严格, 这是由于不同波长的  $\log(1/R)$  间相关性高的缘故。

表 2

波长(nm)	小 麦			大 豆			
	定标系数	定标参数	预测参数	波长(nm)	定标系数	定标参数	预测参数
	$F_0$ 25.275	$n_0$ 76	$n_p$ 18		$F_0$ 45.420	$n_0$ 34	$n_p$ 18
2180	471.544	$R_0$ 0.976	$R_p$ 0.982	2348	-109.231	$R_0$ 0.990	$R_p$ 0.952
1778	-230.354	$F$ 484	$SEP$ 0.336	2139	-1133.317	$F$ 506	$SEP$ 0.887
2100	-306.608	$SEC$ 0.395		2180	1243.499	$SEC$ 0.433	

2) 二阶差分回归方式 此种方式以如下变换为回归函数, 即:

$$f_1 = \log(1/R_{2139}) + \log(1/R_{2230}) - 2 \log(1/R_{2180})$$

得到小麦结果较好, 见表 3。大豆结果较差, 需进一步研究。

表 3

样 品	参 数	$F_0$	$F_1$	$n_c$	$R_c$	$F$	$SEC$	$n_p$	$R_p$	$SEP$
小 麦		16.2	-596	31	0.949	261	0.622	17	0.974	0.456

3) 一阶差分比回归方式 经实验得出以如下变换为回归函数时, 即:

$$f_1 = \frac{\log(1/R_{2180}) - \log(1/R_{2130})}{\log(1/R_{2190}) - \log(1/R_{2230})}$$

得到小麦和大豆蛋白质含量分析结果较好, 见表 4。

表 4

样 品	参 数	$F_0$	$F_1$	$n_c$	$R_c$	$F$	$SEC$	$n_p$	$R_p$	$SEP$
小 麦		31.6	13.8	31	0.957	316	0.570	17	0.972	0.486
大 豆		33.1	29.3	31	0.980	686	0.633	16	0.928	0.972

以上结果表明, 差分变换使定标自由度减少, 所需定标样品数也相应减少, 这具有应用意义。差分本身消除了散射背景谱的累加干扰部分, 而差分比又进一步消除了散射背景谱的因子干扰部分, 使分析灵敏度和稳定度增高。

## 参 考 文 献

- [1] D.R.Massie, K.H.Norris, Trans. Am. Soc. Agric. Eng., 1965, 8, 598
- [2] L.G.Weyer, Appl. Spectrosc. Rev., 1985, 21, No. 1 and 2, 1
- [3] E.Stark, K.Luchter, and M.Margoshes, Appl. Spectrosc. Rev., 1986, 22, No. 4, 335
- [4] E.Ciurczak, Appl. Spectrosc. Rev., 1987, 23, No. 1 and 2, 147
- [5] E.Peuchant, C.Salles, and R.Jensen, Anal. Chem., 1987, 59, 1816
- [6] P.C.Williams, K.H.Norris, «Near Infrared Technology», Ame. Assoc. Cereal. Chem, Inc., 1987

## Experimental Researches on Near-Infrared Reflectance Spectroscopy to Analysis of Protein Content in Wheat and Soybean

Li Daqun

### Abstract

Near-Infrared Reflectance (NIR) spectroscopic analysis is a new technique. This paper describes the principles of NIR spectroscopy and the technique of NIR spectroscopic analysis, discusses some major variables affecting NIR spectroscopic analysis, and first applies the finite-difference transform that simulates derivatives to measurement of protein content in wheat and soybean using the Infra Alyzer 450 with 19 fixed filters. The experimental results are satisfactory.