

ICS 65.020.30

B 40

团体标准

T/HXCY 102-2025

饲料桑青贮干物质、粗蛋白、中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维含量快速测定 技术规程——近红外光谱法

Technical specification for rapid determination of dry matter, crude protein, neutral detergent fiber, and acid detergent fiber content in mulberry silage by Near infrared spectroscopy (NIRS)

2025-1-22 发布

2025-1-23 实施

北京华夏草业产业技术创新战略联盟 发布

目 次

前 言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件.....	1
3 术语和定义.....	1
4 仪器设备.....	2
5 测定	3
6 结果处理和表示.....	4
7 异常样品的确认和处理.....	5
8 测试报告.....	6
附录 A（资料性附录）	7
附录 B（资料性附录）	8
附录 C（资料性附录）	9
附录 D（资料性附录）	11

前 言

本文件按照 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由北京华夏草业产业技术创新战略联盟提出并归口。

本文件起草单位：中国农业大学、贵州大学、中国科学院亚热带农业生态研究所。

本文件主要起草人：倪奎奎、李沁雨、杨富裕、李冬梅、张秀敏。

本文件为首次发布。

本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

全国团体标准

饲料桑青贮干物质、粗蛋白、中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维含量快速测定技术规程——近红外光谱法

1 范围

本文件规定了近红外法测定饲料桑青贮饲料中干物质、粗蛋白、中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维含量的术语和定义、仪器设备、测定、结果处理和表示、异常样品的确认和处理、准确性和精密度、测试报告等内容和技术。

本文件适用于我国饲料桑青贮饲料中干物质、粗蛋白、中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维含量测定。

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（包括所有的修改版）适用于本文件。

GB/T 18868 饲料中水分、粗蛋白质、粗纤维、粗脂肪、赖氨酸、蛋氨酸快速测定 近红外光谱法

GB/T 20806 饲料中中性洗涤纤维（NDF）的测定

GB/T 24895 粮油检验 近红外分析定标模型验证和网络管理与维护通用规则

GB/T 24896 粮油检验 稻谷水分含量测定 近红外法

GB/T 29858 分子光谱多元校正定量分析通则

GB/T 37969 近红外光谱定性分析通则

NY/T 1459 饲料中酸性洗涤纤维的测定

NY/T 4427 饲料近红外光谱测定应用指南

3 术语和定义

GB/T 18868 和 GB/T 24895 确立的术语和定义适用于本文件。

3.1 定标模型 calibration

将获得的近红外光谱扫描数据进行数学预处理，通过化学分析方法结合湿化学值来建立饲料桑青贮中干物质、粗蛋白、中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维的近红外光谱模型。

3.2 定标样品集 calibration sets

样品干物质、粗蛋白、中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维含量数据已知，具有代表性，包含所有将要分析样品含量成分范围，用来建立校正定标模型的样品。

3.3 验证模型 validation

已获得的数学模型需要进行验证，以验证定标模型性能。

3.4 验证样品集 validation sets

样品集中定标样品集外的样品，用来验证定标模型，评估模型的确性和精确度的样品集。

3.5 异常样品 outliers

马氏距离 (GD 值) 代表每个样品与所有样品的谱带与所有样品平均谱带的差异，一般将 GD 值 < 3 的样品看作取自同一群体，倘使计算样品的 GD 值 > 3，则被认为 Outliers，应当予以剔除。

3.6 标准分析误差 (SEC 或 SEP)

样品的近红外光谱法测定值与经典方法测定值间残差的标准差，表达为 $\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (d_i - \bar{d})^2}{n-1}}$ ，样品常以 SEC 表示，检验样品常用 SEP 表示。

4 仪器设备

4.1 近红外光谱分析仪

近红外光谱仪扫描范围包含波段 910 nm~2150 nm(10989 cm⁻¹~4651 cm⁻¹)；仪器的噪声应控制在 20 μAU 以下；波长准确度 ≤ 0.015 nm，波长重现性优于 0.005 nm；随机软件具有近红外光谱数据的收集、存储分析和计算等功能，能够建立可靠的定标模型。

4.2 样品粉碎设备

粉碎后样品的粒度分布和均匀性应符合近红外光谱分析仪建立定标模型时的要求，使用时应采用和定标模型建立与验证时同样的制备过程。

5 测定

5.1 样品集准备

将饲料桑青贮样品置于 65℃烘箱内烘干至恒重,用高速万能粉碎机粉碎并过 1 mm 筛,粉碎的样品要符合近红外分析仪建立定标模型要求,将粉样装入封闭洁净盒中保存,以备光谱扫描和化学分析检测。定标样品集样品个数与验证样品集样品个数的比例为 2:1。

5.2 分步步骤

5.2.1 仪器检测

每次测定前,按照近红外光谱分析仪(5.1)说明书的要求,对仪器状态自检测试及维护。仪器开机后在正常状态下预热,夏季 15 min~20 min,冬季 30 min 以上。

5.2.2 定标

5.2.2.1 定标样品选择

参与定标的样品应具有代表性,即需包含所有将要分析样品的特性。创建一个新的定标模型,对于工业研究上需要 200 个样品以上,按照 Kennard and Stone 算法确定建模集与验证集样品,其中 1/3 作为预测集样品,其余用于定标外部检验。

5.2.2.2 定标样品化学值测定

采用称重法测定干物质含量(附录 A);

采用杜马斯燃烧定氮法测定粗蛋白含量(附录 B);

采用范式法测定中性洗涤纤维含量(附录 C)

采用范式法测定酸性洗涤纤维含量(附录 D)。

5.2.2.3 光谱数据收集

光谱数据收集过程中,测定条件以及样品和环境温度尽量保持一致。将样品装入与仪器相配套的托盘上,压平至俯视呈圆形,保持表面平整以防漏光。样品重复扫描 2 次,完成第一次测量后,将待测样品从光源处挪开,将另一份待测样品放置在光源下,数据以吸光度(-log 相对漫反射率, log 1/R)表示。为防止验证模型时外推预测数值的情况出现,各项指标的最大、最小值划归定标集。

5.2.2.4 定标模型建立

利用仪器建模软件,优化各建模参数,进行光谱预处理,将近红外波段光谱信息分别和

干物质、粗蛋白、中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维含量测定值一一对应，采用偏最小二乘法（Partial least squares, PLS）利用化学计量学软件建立饲料桑青贮饲料干物质、粗蛋白、酸性洗涤纤维和中性洗涤纤维含量定标模型。

5.2.3 NIRS 模型评价

通过校正决定系数（ R^2 ）、校正标准差（SECV）、验证标准差（SEP）、残差（Bias）、验证决定系数（ r^2 ）等参数对模型评估。 R^2 和 RMSE 常常应用于定量分析真值和预测值之间的相关性和偏差程度，对于定性分析而言，可以判别带分析组分是否属于干物质、粗蛋白、酸性洗涤纤维和中性洗涤纤维。

5.2.4 模型验证及使用

已获得的数学模型需进行验证及模型优化，扫描待测样品获得光谱数据进而利用所建立的模型预测出待测样品的成分含量。按照近红外分析仪（4.1）说明书的要求，取适量的饲料桑青贮样品，使用规定的粉碎设备（4.2）粉碎，将粉碎好的样品用近红外光谱分析仪进行测定，记录测定数据。每个样品应测定两次，第一次测定后的测定样品应与原待测样品混匀后，再次取样进行第二次测定。

6 结果处理和表示

6.1 试样结果

为了得到有效的结果，测定结果应在仪器使用的定标模型所覆盖的干物质、粗蛋白、酸性洗涤纤维和中性洗涤纤维含量范围内。

6.1.1 准确性

测试样品干物质、粗蛋白、酸性洗涤纤维和中性洗涤纤维含量的预测标准偏差(SEP)应不大于 3%。

6.1.2 重复性

在同一实验室，由同一操作者使用相同的仪器设备，按相同测试方法，在短的时间内通过重新分样和重新装样，对同一被测样品相互独立测定，获得的干物质、粗蛋白、酸性洗涤纤维和中性洗涤纤维含量两次测定结果的绝对差应不大于 1.5%。

6.1.3 再现性

在不同实验室，由不同操作人员使用同一型号不同设备，按相同的测定方法，对相同饲料样品测定获得的干物质、粗蛋白、酸性洗涤纤维和中性洗涤纤维含量，两个独立测定结果之间的绝对差应不大于 2%。

6.2 结果处理

如果两个测试结果的绝对差值不符合 6.1 的要求，则应再做 2 次独立测试，获得 4 个独立测试结果，若 4 个独立测试结果的极差($X_{\max}-X_{\min}$)小于或等于绝对差允许值的 1.3 倍，则取 4 个独立测试结果的平均值作为最终测试结果；如果 4 个独立测试结果的极差($X_{\max}-X_{\min}$)大于允许差的 1.3 倍，则取 4 个独立测试结果的中位数作为最终测试结果。对于异常测试结果，所得数据不应作为有效测试数据。

7 异常样品的确认和处理

7.1 异常样品的分类

异常样品可为“好”、“坏”两类，好的异常样品加入定标模型后，可增加该模型的分析能力，而坏的异常样品加入定标模型后，只能降低分析的准确度。“好”、“坏”甄别标准有二：一是 GD 值，通常“好”的异常样品 GD 值为 > 0.6 或 H 值 ≤ 3 ，通常“坏”的异常样品 GD 值 > 3 ；二是 SEC，通常“好”的异常样品加入定标模型后，SEC 不会显著增加，而“坏”的异常样品加入定标模型后，SEC 将显著增加。

7.2 异常样品的分析

样品干物质、粗蛋白、中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维的含量超过了该仪器定标模型的范围；采用了错误的定标模型；样品杂质过多；光谱扫描过程中样品发生了位移；样品温度超出定标模型规定的温度范围。

7.3 异常样品的处理

近红外分析中发现异常样品后要用经典方法对该样品进行分析，同时对该异常样品类型进行确定，属于“好”异常样品则保留，并加入到定标模型中，对定标模型进行升级；属于“坏”异常样品则放弃。

8 测试报告

测试报告应包括(但不限于):

- 本文件编号;
- 对试样的名称、采样方法、制备方法、编号等信息的描述;
- 仪器型号和序列号;
- 建模波段;
- 光谱预处理方法;
- 定标模型名称;
- 定标模型的适用浓度范围、温度范围;
- 试样测试时的温度;
- 试样测定结果及必要说明;
- 采用的测定的方法或标准;
- 出现异常样品时, 应提供异常样品类型及处理的有关信息;
- 测试单位、测试人及测试时间;
- 本文件或引用文件中未规定的并可影响结果的任何操作。

附录 A

烘干法测定干物质含量

A1 方法原理

饲料桑青贮样品在 65 °C 条件下，将样品加热干燥，其失去的重量即为水分的重量，剩余的重量即为干物质的量。

A2 试验材料和试剂

电子天平（0.01 g）、电热恒温干燥箱、样品盘或纸袋、记号笔。

A3 样品预处理

对于已经为切碎状态的饲料桑青贮饲料样品可直接进行烘干处理。

A4 测定步骤

用电子天平称样品盘或纸袋重量，记为 m_2 ，装入样品 200-300 g，记为 m ，随后置于电热恒温干燥箱中 65 °C 烘干 6-8 小时，放置在室内空气中 4 小时，称重，记为 m_1 。重复上述过程，烘干至恒重，直至两次重量相差小于 0.5 g。记录该过程样品的减重情况。

A5 结果计算

干物质 (DM) 含量的质量分数以 w 表示，数值以%计，按下式计算：

$$w = \frac{m_1 - m_2}{m} \times 100\%$$

式中：

m_1 ——称量盘(纸袋)和半干试样的总质量，单位为 g

m_2 ——称量盘(纸袋)质量，单位为 g

m ——青贮试样质量，单位为 g

附录 B

杜马斯燃烧定氮法测定粗蛋白含量

B1 方法原理

饲料桑青贮样品在 900-1200 °C 高温下燃烧，燃烧过程中产生混合气体，其中的干扰成分被一系列适当的吸收剂所吸收，混合气体中的氮氧化物被全部还原成分子氮，随后氮的含量被热导检测器检测。

B2 试验材料和试剂

燃烧气、载气、氧化剂、还原剂、吸附、标准物、杜马斯燃烧定氮仪、分析天平（0.0001 g）、锡箔方片、固定杯模和压样器。

B3 样品预处理

饲料桑青贮样品烘干至恒重后用球磨仪粉碎，将粉碎后的样品置于密闭容器中备用。

B4 测定步骤

1.校准：仪器开机后，将样品盘复原，进行预热，温度达到设定后，编辑列表（2 个 runin、和 2-3 个 blank，方法均选择 black with O₂，3 个标准品，方法选择 250mgstandard-2），在对应的样品盘中放入标准品（50-70 mg）进行测定，得到日校正因子（要求在 0.9-1.1）；

2.测定：校准达到要求后，开始运行样品，称取 0.10-0.15 g 样品，包在锡箔方片中，编辑对应的列表（样品重量、编号、方法选择 250mgstandard-2）将包好的样品依次放到对应的样品盘中，15-20 个样品后，插入 1-2 个标准品，点击开始测定。

B5 结果

仪器显示的 Protein[%]值即为样品的粗蛋白含量，单位为（%）。

附录 C

范式法测定中性洗涤纤维含量

C1 方法原理

植物性饲料经中性洗涤剂煮沸处理，不溶解的残渣为中性洗涤纤维，主要为细胞壁成分，其中包括半纤维素、纤维素、木质素和硅酸盐。

C2 试验材料和试剂

中性洗涤剂（3%十二烷基硫酸钠）：乙二胺四乙酸二钠（ $C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2 \cdot 2H_2O$ ）、四硼酸钠（ $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ ）、十二烷基硫酸钠（ $C_{12}H_{25}NaSO_4$ ）、乙二醇乙醚（ $C_4H_{10}O_2$ ）、无水磷酸氢二钠（ Na_2HPO_4 ）；丙酮、无水亚硫酸钠、 α -淀粉酶（耐热型）。

C3 样品预处理

饲料桑青贮样品烘干至恒重后用高速粉碎机粉碎，并过 1 mm 筛，将粉碎后的样品置于密封盒中备用。

C4 测定步骤

1. 称重：取纤维袋（安康 F57），先用中性笔编号，称其质量，精确至 0.1 mg，记为 m1，称取试样 0.5 g，精确至 0.1 mg，记为 m，装入纤维袋内，用封口机封口，并准确称量一个空白滤袋；

2. 酸性洗涤剂的配置：称取 37.22 g 乙二胺四乙酸二钠和 13.62 g 四硼酸钠，放入 200 ml 烧杯中，加适量蒸馏水溶解（可加热），再加入 60 g 十二烷基硫酸钠和 20 ml 乙二醇乙醚；称取 9.12 g 无水磷酸氢二钠置于另一烧杯中，加蒸馏水加热溶解，冷却后将上述两溶液转入 2000 ml 容量瓶并用水定容。此溶液 pH 值 6.9-7.1；

3. 消煮：将装有试样的纤维袋放入纤维仪中，一批摆放 24 个样品，所有样品需朝同一方向摆放（全部逆时针或全部顺时针），选中 NDF。加入 20 g 无水亚硫酸钠，并倒入 2 L 中性洗涤液至触发感应器，右侧烧杯内加入 242 ml 蒸馏水+8 ml α -淀粉酶（耐热型），仓内加入 4 ml 淀粉酶，拧盖，等待结束；

4. 丙酮洗：将消煮后的纤维袋洗净后放在烧杯中，用丙酮浸泡 3-5 min 去除残留脂肪，用量以浸没样品袋为标准，确保剩余物和丙酮充分混合，至滤液无色为止。取出纤维袋放置

通风橱中让溶剂挥发干净；

5.烘干称重：纤维袋于干燥箱中（105±2）℃干燥4 h，取出于干燥皿中冷却15 min后，准确称量，精确至0.1 mg，记为m₂。

C5 结果计算

中性洗涤纤维结果按下式计算：

$$\omega(\text{NDF}\% \text{DM}) = \frac{m_2 - m_1}{m} \times 100\%$$

式中：

ω ——样品中性洗涤纤维(NDF)的质量分数，单位为干物质百分比（%DM）；

m ——试样的质量，单位为克（g）；

m_1 ——纤维袋的质量，单位为克（g）；（需乘校正系数：空白滤袋中洗烘干后重/空白滤袋原始重）

m_2 ——纤维袋及其袋内残渣在105℃干燥后的质量，单位为克(g)。

附录 D

范式法测定酸性洗涤纤维含量

D1 方法原理

植物性饲料经酸性洗涤剂处理，剩余的残渣为酸性洗涤纤维，其中包括纤维素、木质素和硅酸盐。

D2 试验材料和试剂

酸性洗涤剂：十六烷基三甲基溴化铵（ $C_{19}H_{42}BrN$ ）、浓硫酸。

D3 样品预处理

饲料桑青贮样品烘干至恒重后用高速粉碎机粉碎，并过 1 mm 筛将粉碎后的样品置于密封盒中备用。

D4 测定步骤

1.酸性洗涤剂的配置：称取 40 g 十六烷基三甲基溴化铵溶解于 2 L 硫酸中（55.4 mL 浓硫酸蒸馏水定容至 2 L）；

2.消煮：取测定 NDF 后的纤维袋放入纤维仪中，一批摆放 24 个样品，所有样品需朝同一方向摆放，选中 ADF，加入酸性洗涤剂液体。触发感应器，拧盖，等待结束；

3.丙酮洗：将消煮后的纤维袋洗净后放在烧杯中，用丙酮浸泡 5 min 去除残留脂肪，用量以浸没样品袋为标准，确保剩余物和丙酮充分混合，至滤液无色为止。取出纤维袋放置通风橱中让溶剂挥发干净；

4.烘干称重：纤维袋于干燥箱中（ 105 ± 2 ） $^{\circ}C$ 干燥 4 h，取出于干燥皿中冷却 15 min 后，准确称量，精确至 0.1 mg，记为 m_3 。

D5 结果计算

酸性洗涤纤维结果按下式计算：

$$\omega(\text{ADF}\% \text{DM}) = \frac{m_3 - m_1}{m} \times 100\%$$

式中：

ω ——样品酸性洗涤纤维(ADF)的质量分数，单位为干物质百分比（%DM）；

m ——试样的质量，单位为克（g）；

m1——纤维袋的质量，单位为克（g）；（需乘校正系数:空白滤袋酸洗烘干后重/空白滤袋原始重）

m3——纤维袋及其袋内残渣在 105℃干燥后的质量，单位为克(g)。

全国团体标准信息平台