

ICS 67.120

B 45

团体标准

T/HXCY XX-2020

青藏高原区藨草粗蛋白含量测定 近红外法

**Determination of Crude Protein in Reed Canary Grass from
Qinghai-Tibet Plateau-Near Infrared Method**

2020-XX-XX 发布

2020-XX-XX 实施

北京华夏草业产业技术创新战略联盟发布

目 次

前 言..... I

1 范围..... 1

2 规范性引用文件..... 1

3 原理..... 1

4 术语与定义..... 1

5 仪器..... 2

6 样品采集及前处理..... 2

7 分析步骤..... 2

8 分析的允许误差..... 3

前 言

本标准按 GB/T 1.1-2009 给出的规则起草。

本标准由北京华夏草业产业技术创新战略联盟提出并归口。

本标准起草单位：四川省草原科学研究院、中国农业大学、四川农业大学、扬州大学、北京助尔生物科学研究院。

本标准主要起草人：季晓菲、游明鸿、白史且、李达旭、雷雄、吴婧、陈丽丽、闫利军、鄢家俊、张玉、张昌兵、李平、张建波、常丹、张蕴薇、马啸、严学兵。

本标准为首次发布。

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。

青藏高原区藦草粗蛋白含量测定

近红外法

范围

本标准规定了近红外法测定藦草粗蛋白含量的分析方法。

本标准适用于青藏高原区藦草粗蛋白含量的分析。

本标准不适用于仲裁检验，对于仲裁检验应以经典方法为准。

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 6432 饲料中粗蛋白测定方法

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

原理

利用有机物中含有 C-H、N-H、O-H、C=O、C-C 等化学键的泛频振动或转动，以漫反射方式获得在近红外区的吸收光谱，通过化学计量学方法建立藦草的特征光谱与其粗蛋白含量之间的线性或非线性模型，从而利用藦草近红外光谱信息计算其粗蛋白含量。

术语与定义

下列术语和定义适用于本标准。

1.1 定标模型 calibration model

见 GB/T 24895 中的术语与定义。

1.2 校正集 calibration set

具有代表性、基本覆盖藦草粗蛋白含量范围、用于定标的样品集合。

1.3 验证集 validation set

对定标模型进行外部验证的样品集。

1.4 定标模型验证 calibration model validation

见 GB/T 24895 中的术语与定义。

仪器

1.5 近红外分析仪

傅立叶变换近红外光谱仪，带漫反射采样模块，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。

1.6 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。

样品采集及前处理

广泛采集青藏高原区具有代表性的藜草样品，使用规定的粉碎设备将样品粉碎，使之全部通过40目筛，并混合均匀。参与定标的藜草样品应具有代表性，应包含不同物候期、不同栽培条件、不同地点等来源，即粗蛋白含量范围能涵盖将来所要分析样品的含量。创建一个新的校正模型，至少需要收集100个样品。通常以100~400个样品为宜。

分析步骤

1.7 一般要求

每次测定前按仪器（5.1）使用说明书规定的日常检测程序，对仪器状态进行检测及维护，样品和环境温度尽量保持一致，仪器开机后在正常状态下预热30min，减少仪器波动带来的误差。谱区范围4000~10000 cm^{-1} ，分辨率8 cm^{-1} ，扫描间隔4 cm^{-1} ，扫描次数32。

1.8 定标

7.2.1 光谱数据收集

光谱数据收集过程中，测定条件（如样品和环境温度、样品的装样厚度和松紧程度）尽量保持一致。将样品装入测量池，保持表面平整以防漏光。样品重复扫描3次（每次扫描重新装样），数据以相对漫反射率（R）表示。

7.2.2 样品化学值的测定

按照国家标准《饲料中粗蛋白测定方法》GB/T 6432，采用凯氏定氮法测定每个样品的粗蛋白含量。

7.2.3 定标模型的建立

利用仪器建模软件,将近红外波段光谱信息和粗蛋白测定值一一对应,将样品按照2:1~3:1的比例分为校正集和验证集,采用偏最小二乘法等算法利用化学计量学软件优化各建模条件,建立藜草粗蛋白定标模型。

7.2.4 定标模型验证

使用验证集样品对模型进行外部验证。通过校正决定系数、校正标准差、验证决定系数、验证标准差、残差等参数对模型进行评价,对化学值和预测值进行成对数据双尾t检验,确保t0.05未达到显著水平。

1.9 已建立的定标模型

定标样品数210个,粗蛋白含量范围为2.70%~29.08%,采用偏最小二乘法建立模型,建模波段为4000~10000 cm^{-1} ,光谱预处理方法为sa3+nc1+db1(3点平滑+趋近归一化+一阶导数处理)、初/次级主成分数为8/1-4。模型校正决定系数为0.9821,校正标准差(SEC)为0.7802,验证决定系数为0.9802,验证标准差(SEP)为0.7832,残差(bias)为-0.0005。双尾t检验表明化学值和预测值无显著差异。

1.10 未知样品测定

测定条件与建模条件保持一致(如环境温度、样品的装样厚度和松紧程度)。将待测藜草样品装入测量池进行近红外光谱扫描,获得其近红外波段光谱信息,利用7.2建立的定标模型或7.3已建立的定标模型得到该待测样品的粗蛋白含量预测值。

分析的允许误差

在重复性条件下获得两次独立预测结果。

当粗蛋白质含量在25%以上时,允许相对偏差为1%。

当粗蛋白质含量在10%-25%之间时,允许相对偏差为2%。

当粗蛋白质含量在10%以下时,允许相对偏差为3%。