



中华人民共和国国家标准

GB/T 18868—202×
代替GB/T 18868—2002

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

Rapid determination of moisture, crude protein, crude fibre, crude fat,
lysine and methionine in feeds—Near infrared spectroscopy

(公开征求意见稿)

202×-××-××发布

202×-××-××实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会

发布

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。

本文件代替 GB/T 18868—2002《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》，与 GB/T 18868—2002 相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

- a) 更改了适用范围（见第1章，2002年版的第1章）；
- b) 更改了术语和定义（见第3章，2002年版的第4章）；
- c) 更改了原理（见第4章，2002年版的第3章）；
- d) 更改了仪器设备（见第5章，2002年版的第5章）；
- e) 更改了样品（见第6章，2002年版的第6章）；
- f) 更改了试验步骤（见第7章，2002年版的第7章）；
- g) 增加了试验数据处理（见第8章）；
- h) 更改了精密度（见第9章，2002年版的第8章）。

请注意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专利的责任。

本文件由全国饲料工业标准化技术委员会（SAC/TC 76）提出并归口。

本文件起草单位：四川威尔检测技术股份有限公司、中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所[国家饲料质量检验检测中心（北京）]、通威农业发展有限公司。

本文件主要起草人：

本文件及其所代替文件历次版本发布情况为：

——2002年首次发布为GB/T 18868—2002；

——本次为第一次修订。

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

1 范围

本文件描述了饲料中水分、粗蛋白质、粗纤维、粗脂肪、赖氨酸和蛋氨酸的近红外光谱快速测定方法。

本文件适用于配合饲料、浓缩饲料、精料补充料和饲料原料（不含矿物质饲料原料）中水分、粗蛋白质、粗纤维和粗脂肪的测定，以及配合饲料、浓缩饲料、精料补充料和蛋白质饲料中赖氨酸和蛋氨酸的测定。

本文件水分、粗蛋白质、粗纤维和粗脂肪的定量限均为 0.1%，赖氨酸和蛋氨酸的定量限分别为 0.04% 和 0.01%。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 饲料中粗蛋白的测定 凯氏定氮法
- GB/T 6433 饲料中粗脂肪的测定
- GB/T 6434 饲料中粗纤维的含量测定
- GB/T 6435 饲料中水分的测定
- GB/T 15399 饲料中含硫氨基酸的测定 离子交换色谱法
- GB/T 18246 饲料中氨基酸的测定

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

近红外光谱仪 NIR spectrometer

在本文件规定的条件下，利用近红外光谱的吸光度与试样成分含量及性能参数建立关系模型，对试样成分含量及性能参数进行预测的仪器，包含光源、测量附件、分光系统、检测器、样品台、冷却系统或通风系统，并有配套的近红外操作软件、定标软件等。

仪器基于近红外谱区的漫反射、透射或其它类型进行检测，其光谱区包括：近红外全谱区 770 nm ~ 2 500 nm ($12\,987\text{ cm}^{-1} \sim 4\,000\text{ cm}^{-1}$)，或全谱区内的某段光谱范围。该谱区根据分光方式的不同，可选用波长或者波数表示。按照工作原理可以分为色散型（连续波长和离散波长）、干涉型或声光调制等类型。按照功能可以分为通用型和专用型，前者通常为宽谱区（短波、中波、长波近红外谱区）可以测定样品的透射与漫反射光谱，主要用于实验室分析；后者通常为窄谱区应用于专门样品的光谱仪。

3.1.1

光源 light source

近红外光谱仪包含的光源灯。

注：最常用的光源是卤钨灯，在 2 800 K 灯丝温度下，卤钨灯的光谱辐射亮度峰值位于约为 $10\ 000\ \text{cm}^{-1}$ (1 000 nm)。

3.1.2

测量附件 measuring accessories

包括承载试样的器件、获得光谱的器件以及相关配套器件。

3.1.3

分光系统（也称单色器） spectroscopic system (monochromator)

将复合光变成单色光的系统。

注：按单色器分类，商品化近红外光谱仪主要分为滤光片型、光栅色散型、傅里叶变换型和声光可调滤光器型四类。

3.1.4

检测器 detector

把携带试样信息的近红外光信号转变为电信号，再通过 A-D 转变为数字形式输出。

注：短波区域多采用 Si 检测器，长波区域多采用 PbS 或 InGaAs 检测器。

3.1.5

样品台 sample table

承载样品杯（或样品槽）旋转或上下往复运动的操作台。

3.1.6

冷却系统（或通风系统） cooling system (or ventilation system)

光源灯发热时，及时将热量散发出去，使光源灯保持恒温恒定状态的系统。

3.1.7

波长准确度 wavelength accuracy

光谱仪器波长的标准值与仪器输出的单色光实际波长值之间的符合程度。

3.1.8

波长重复性 wavelength repetition

光谱仪器重复扫描标准物质时指定吸收峰多个（波长）测定值之间相符合的程度。

3.1.9

吸光度重复性 absorbance repetition

多次重复测定同一个样品某谱峰吸光度值之间相符合的程度。

3.1.10

信噪比 signal to noise ratio

信号强度与噪声强度之比。

3.2

近红外软件 NIR software

用来操作和控制近红外光谱仪的运行，采集、处理、储存、显示、分析光谱数据等的软件。

注：分为建模软件、扫描软件、网络化管理软件，相互可以分开独立运行，也可集成于一套软件系统。

3.2.1

建模软件 quantitative&qualitative analysis software

通过化学计量学各种方法，用于分析、处理光谱信息，结合算法以建立、分析近红外模型的软件。

3.2.2

扫描软件 scanning software

用来操作和控制近红外光谱仪的运行，采集、处理、储存、显示、简单分析光谱数据等的软件。

3.2.3

网络化管理软件 networked management software

统一管理并使用网络校正模型、扫描参数配置，处理、储存、显示、分析结果和光谱数据的软件。

3.3

近红外光谱 NIR spectrum

近红外光谱是指在 770 nm ~ 2 500 nm (12 900 cm^{-1} ~ 4 000 cm^{-1}) 近红外光范围内，测量试样对近红外光的吸收强度。

3.3.1

波长（或波数）范围 wavelength (or wave number) range

近红外光谱仪能够有效检测到的光谱范围。

注：近红外波长范围是指 770 nm ~ 2 500 nm 的近红外光谱区域，一般分为两段，770 nm ~ 1 100 nm 的短波区域和 1 100 nm ~ 2 500 nm 的长波区域；波数是指 12 900 cm^{-1} ~ 4 000 cm^{-1} 的近红外光谱范围。

3.3.2

光谱范围 spectral range

近红外分析使用的光谱波长上下限规定的区域范围。

3.3.3

吸光度 absorbance

近红外光谱仪对近红外光的吸收强度。

3.3.4

带宽（分辨率） spectral bandwidth (resolution)

近红外光谱仪区分两个相邻吸收峰能力的量度。

3.3.5

扫描间隔 scan interval

在近红外光谱仪连续记录两个近红外光谱信号间的波长差。

3.4

近红外模型 NIR quantitative&qualitative analysis model

近红外模型是指仪器使用 770 nm ~ 2 500 nm (12 900 cm⁻¹ ~ 4 000 cm⁻¹) 部分或整体的光谱区域进行检测, 然后采用光谱数据处理技术将吸光度值与试样成分含量值或属性进行相关性分析。

3.4.1

光谱预处理 spectral pretreatment

将近红外光谱通过选用合理的预处理方法降低近红外光谱中的噪声信息, 增强有效信息的方法和过程, 常用的预处理方式有均值中心化、标准化、平滑、微分、多元散射校正、标准正态变量交换、正交信号校正等。

3.4.2

参数项 parameter item

近红外模型在建立过程中所选用的预处理方法。

3.4.3

试样成分含量 (化学值) sample composition content (chemical values)

试样采用标准方法或者经典分析方法进行测定分析得到试样组分的含量, 也称参考值。

3.4.4

校正集试样 calibration set

基于一组已知试样建立校正模型, 这组试样称为校正集试样, 简称校正集。校正集中要包含所有可预期到的变换因素下的所有试样, 通常也称为建模样品集、训练集试样。

3.4.5

交互验证 cross validation

从校正集中拿出来一定数量的试样作预测, 用剩余的试样建立校正模型, 来预测拿出来的试样, 重复上述过程, 经反复建模及预测, 直至这所有试样均被预测一次且只被预测一次, 得到一因子数预测残差平方和 (PRESS)。

3.4.6

主成分回归法 principal components regression, PCR

一种统计学方法, 采用多元统计中的主成分分析, 先对近红外光谱矩阵进行分解, 然后选取主成分得分来进行多元线性回归运算。

3.4.7

偏最小二乘回归法 partial least square regression, PLS

一种多元线性回归方法, 与主成分回归有关系。PLS 把矩阵分解和回归并为一步, 即在对近红外光谱阵和浓度阵分解的同时, 将浓度阵的信息引入到光谱矩阵分解过程中, 在每计算一个新主成分前, 将光谱阵的得分与浓度阵的得分进行交换, 使得到的光谱阵主成分直接与浓度关联。

3.5

应用效果 application effect

近红外模型在实际样品应用过程中的评价与分析。

3.5.1

验证集 validation set

试样通过近红外光谱仪测量试样光谱，并用适当的光谱预处理方法，剔除一些不必要的试样，把除了近红外建模的校正试样余下的试样部分作为验证集。

3.5.2

盲样（即未知样品） blind samples (i.e. unknown samples)

与校正集具有相同属性及成分含量除校正集和验证集的试样。

3.5.3

偏差分析 deviation analysis

近红外预测值与化学值进行比较，产生偏差的原因。

3.5.4

报警 warning

当未知试样的光谱残差、马氏距离和最邻近距离中有任何一项超出相应阈值。

3.5.5

光谱残差 spectral residual

化学计量学处理后的残差，是模型未描述的光谱变异。

3.5.6

马氏距离 mahalanobis distance

根据计算得分确定每个试样与校正集中心点的距离。

3.5.7

最邻近距离 nearest distance

根据计算得分确定每个试样与其他试样之间的最邻近距离。

3.6

模型性能 model performance

模型的性能是利用近红外光谱仪，测量验证集试样的近红外光谱，根据已建的近红外模型快速得出验证集试样定量分析结果准确性、适用性的综合评价。

3.6.1

偏差或残差 (d_i) deviation or residuals

试样参考方法和近红外预测值之间的差异，一般要求绝对偏差小于参考测量方法规定的再现性。按公式(1)计算：

$$d_i = \hat{y}_i - y_i \dots\dots\dots (1)$$

y_i ——第 i 个试样参考方法的测定值；

\hat{y}_i ——校正集或验证集第 i 个试样的近红外预测值。

3.6.2

校正标准偏差 (SEC 或 RMSEC) calibration standard deviation

校正集样品的近红外预测值与参考测量方法值的标准偏差。按公式 (2) 计算:

$$SEC = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-1}} \dots\dots\dots (2)$$

式中:

y_i ——第 i 个试样参考方法的测定值;

\hat{y}_i ——用所建模型对校正集中第 i 个试样的近红外预测值;

n ——校正集的试样数。

3.6.3

交互验证的校正标准偏差 (SECV 或 RMSECV) correction standard deviation of cross validation

交互验证得到的校正标准偏差。按公式 (3) 计算:

$$SECV = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-1}} \dots\dots\dots (3)$$

式中:

y_i ——第 i 个试样参考方法的测定值;

\hat{y}_i ——用校正集交互验证过程中第 i 个试样的近红外预测值;

n ——校正集的试样数。

3.6.4

预测标准偏差 (SEP 或 RMSEP) square error of prediction or root mean square error of prediction

以不参与定标过程的样品为预测样品,其定标模型测定值和参考值经过偏差校正后的平均差异即为预测标准误差 (SEP)。按公式 (4) 计算:

$$SEP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-1}} \dots\dots\dots (4)$$

式中:

y_i ——第 i 个试样参考方法的测定值;

\hat{y}_i ——用验证集预测过程中第 i 个试样的近红外预测值;

n ——验证集的试样数。

3.6.5

验证集标准偏差与预测标准偏差的比值 (RPD) ratio of standard deviation of verification set to standard deviation of prediction

按公式 (5) 计算:

$$RPD = \frac{SD}{SEP} \dots\dots\dots (5)$$

式中:

SD——验证集所有试样浓度值的标准偏差;

SEP——预测标准偏差。

3.6.6

决定系数 (R²) 或相关系数 (R) coefficient of determination (R²) or correlation coefficient (R)

是一个统计学概念, 用来表示两个变量的相关程度。按公式 (6) 计算:

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2} \dots\dots\dots (6)$$

式中:

y_i ——第 i 个试样参考方法的测定值;

\hat{y}_i ——用校正集或验证集预测过程中第 i 个试样的近红外预测值;

\bar{y} ——校正集或验证集所有试样参考方法测定值的平均值;

n ——校正集或验证集的试样数。

3.6.7

成对 t 检验 paired t-test

假设光谱方法与参考方法间无系统偏差, 则两种方法测定结果间差值的平均值 \bar{d} 与 0 之间应无显著性差异, 即 $\bar{d}=0$ 。按公式 (7) 计算:

$$t = \frac{\bar{d}}{S_d / \sqrt{m}} \dots\dots\dots (7)$$

式中:

\bar{d} ——近红外光谱法和参考方法两种测定结果间偏差的平均值;

S_d ——近红外光谱法和参考方法两种测定结果间偏差的标准偏差;

m ——测定试样数。

3.7

异常试样 (也称界外试样、奇异点或异常点等) abnormal samples

预测过程异常试样的识别主要是用来检验待测试样是否在所建校正模型的覆盖范围内, 以确保对其预测结果的准确性, 模型异常试样主要有以下三类:

3.7.1

浓度异常试样 abnormal concentration sample

即使用马氏距离通过光谱主成分得分, 检测未知试样的浓度是否超过了校正试样的浓度范围, 根据校正过程中确定的马氏距离阈值判断异常试样;

3.7.2

光谱残差异常试样 spectral residual anomaly sample

即使用光谱残差方均根 (RMSSR) 检测未知试样是否含有校正集试样不存在的组分, 根据校正集的光谱残差及光谱的重复性确定光谱残差方均根 (RMSSR) 阈值;

3.7.3

最临近距离异常试样 the closest distance anomaly sample

即使用最临近距离检测位置试样是否位于校正集试样分布稀疏的区域, 根据主成分得分计算校正集

所有试样间的马氏距离，得到校正集试样之间的最大距离。

当未知试样的光谱残差、马氏距离和最临近距离中有任何一项超出相应阈值时，则说明该试样为模型异常试样，其预测结果的准确性将受到较大质疑。

4 原理

利用有机物中含有 C-H、N-H、O-H、C=C 等化学键的泛频振动或转动，以漫反射、透反射或透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光谱与物质成分含量值之间的线性或非线性模型，从而实现用试样的近红外光谱吸光度建立的相关性模型，对待测样品成分含量值的快速计量。

5 仪器设备

5.1 近红外光谱仪

仪器具备自我诊断系统，用于检测仪器的噪音、重现性、波长/波数准确度和波长/波数精度（对扫描型光谱仪）。仪器具有反射或透射扫描模式，其谱区范围为近红外全谱区或全谱区内的部分谱区或是选择的谱区组合。对于透射扫描模式，依据仪器制造商关于信号强度的推荐值进行样品光程（试样厚度）优化，获得最佳的线性和最大的信噪比。技术要求如下：

- （1）波长准确度优于 $\pm 1.0 \text{ nm}$ （光栅型）、 $\pm 0.1 \text{ cm}^{-1}$ （傅里叶变换型）；
- （2）波长重复性优于 0.04 nm （光栅型）、 0.02 cm^{-1} （傅里叶变换型）；
- （3）吸光度重复性优于 0.0004 AU ；
- （4）在 1690 nm 处，杂散光小于 $0.01 \text{ T}\%$ 。

5.2 建模软件（也称化学计量学软件）

建模软件的核心任务是建立定量校正模型，具有以下功能：

（1）光谱预处理，如微分、平滑、均值化、标准化、多元散射校正、正交信号校正、标准正态变量法和小波变换等；

- （2）波长筛选，如相关系数法、方差分析法、无信息变量消除、区间偏最小二乘、遗传算法等；
- （3）多元定量校正，如 MLR、PCR、PLS、LWR 和 ANN 等；

还可附加以下功能：

- （1）模型传递，如 FIR、DS、PDS 和 Shenk's 算法等；
- （2）模型界外试样的识别、校正试样的选择、模型质量控制以及模型评价等。

5.3 扫描软件

扫描软件的核心任务是光谱的采集，具有以下功能：

- （1）光谱采集与参数设置，如分辨率、测量次数、积分时间等；
- （2）仪器的自检和故障诊断，如噪声水平、能量衰减、波长准确性以及恒温控制等；

还可附加以下功能：

（1）光谱变换，如基线校正（微分、扣减）、平滑、吸光度和透光率之间的转换，波长和波数之间的转换等；

- （2）光谱显示，如光谱放大、缩小和叠加等；
- （3）光谱格式的转换，如将光谱文件转换成国际通用的数据或文本文件等；
- （4）光谱峰谷标定、积分计算等。

5.4 样品杯（槽、皿）

由可透过近红外光的石英、玻璃或 CaF_2 等材料制成盛装样品的杯槽或皿等。

6 样品

包括用于近红外仪器定标的建模样品、用于定标模型验证的验证样品、用于仪器稳定性检查的仪器质控样品及用于定标模型性能监控的监控样品。

6.1 建模样品和验证样品

建模样品和验证样品需具有代表性，涵盖各种影响因素，需考虑：

- a) 样品的主要成分与次要成分及其含量范围；
- b) 对饲草和饲料原料样品，需考虑季节、地域和品种等因素的影响；
- c) 加工技术和工艺的不同；
- d) 储存条件的不同；
- e) 样品和仪器的温度变化；
- f) 仪器变化（例如仪器间差异）。

建模样品和验证样品可从同一样品集中，按所分析成分含量排序后轮流或取第 n 个样品的方法选择。

6.2 仪器质控样品

仪器质控样品要能够长时间稳定的保存，并尽可能与所分析样品类似。仪器质控样品的成分含量/技术参数值要保持稳定，并等同于或至少从生物化学性质的角度尽可能的接近所分析样品。

6.3 定标模型性能监控样品

定标模型性能监控样品宜从待测试样中随机选取。需采用一定的采样策略确保样品在定标范围内分布均匀，例如将样品按含量高低进行分段后在每段中随机选择样品，或选择能够涵盖常规范围的样品。

7 试验步骤

7.1 校正集试样选择

建立模型需要大量有代表性且化学值已知的试样。模型包含的试样数并不是越多越好，试样数越多干扰信息就越多，因此必须从大量试样中挑选部分试样，这部分试样既为化学分析所能承受，又能充分代表原来试样的全部信息。校正集中要包含所有可预期到的变换因素下的试样，如果没有收集全代表各种变化因素的试样就会对模型的适应性产生较差的影响。定标模型的稳定性决定于校正集所覆盖范围的大小。

参与定标的试样应具有代表性，所谓代表性就是校正集试样包含的有效信息与背景信息的范围要足够宽，从猜测组分含量到试样来源即需涵盖将来所要分析试样的特性。

7.1.1 试样收集

收集具有差异化物理特性和化学特性的样品，如种类、表面特征、化学性质、颗粒形状大小、色泽差异等。天然的样品还要根据样品品种、栽培方式、生长条件、气候差异、根茎叶的质地、收获季节、收获时间和加工贮存条件等因素加以收集。因此，建模并非一成不变，需要逐年优化。

7.1.1.1 分类收集保存

应按照样品类别分类收集保存。保存时应选择合适的保存条件，确保所收集试样的组成在未测量光谱和进行基础数据测量之前不发生任何变化。

7.1.1.2 信息登记

收集试样时，应登记试样的相关信息，信息准确和完整。

7.1.2 稳定试样组

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试样的温度发生变化的影响，在定标中应加上温度发生变化的试样和仪器发生变化的试样。

7.1.3 校正集试样选择方法

选择校正集试样的方法众多。一可根据试样的品种、产地、年份、形状等特征进行人工挑选，应尽可能地增大上述因素的变化范围从而使挑选出的建模样品更具代表性；二可按照已知组分的化学值，在综合考虑常量成分与微量成分及其成分含量范围的基础上，通过正交试验设计等方法进行人工设计挑选；三可根据试样的近红外光谱特征用数学方法进行计算机挑选。对于简单的测量体系，至少需要 50 个有代表性的试样；对于复杂的测量体系，需要上百个有代表性的试样。

7.2 采集样品近红外光谱

将试样处理待测，开机持续预热至仪器性能相关测试全部通过，达到稳定状态，取适量试样（平衡至室温），装填均匀，开始扫描；扫描结束后，清扫试样，重新装样，进行同一试样的第二次扫描，试样全部扫描结束后，分析结果。

7.2.1 测量方式

近红外光谱的测量方式是决定光谱质量的重要因素之一，而光谱质量将显著影响模型的预测能力，因此选择合适的近红外光谱测量方式至关重要，合适的测量方式应满足以下条件：

- (1) 光谱有较好的重复性和再现性；
- (2) 测试方便、快速；
- (3) 光谱具有较高的信噪比；
- (4) 光谱包含完整的试样物化信息。

以下是近红外光谱常见的测量方式：

- (1) 透射测量：透射是均匀透明液体最理想的测量方式；
- (2) 透反射测量：为了实现光源和探测器的整体化设计，实现直接对液体或者固体测量，同时也可以增加液体样品光谱吸收的光程，往往采用透反射测量；
- (3) 漫反射测量：对于固体颗粒、粉末等试样，近红外最常见的测量方式是漫反射。常用的测量附件为积分球和光纤漫反射探头，漫反射法测量的主要是浅层试样的某种组分浓度，如果试样不均匀，某组分浓度和内部浓度不相等，这样漫反射测出浓度就不能代表试样中这一组分的浓度。为减少试样不均匀性的影响，测试试样时应尽可能充分混匀并旋转试样或者光源。

7.3 样品化学分析

对于定标试样需要知道其粗蛋白质、粗脂肪、粗纤维、水分、赖氨酸和蛋氨酸等含量的化学值，在实际操作中，通常采用 GB/T 6432、GB/T 6433、GB/T 6434、GB/T 6435、GB/T 15399 和 GB/T 18246 的测定值。

7.4 定标模型建立

7.4.1 定标方法

通常选择PCR和PLS等定标方法。

7.4.2 建立定标模型

使用与近红外光谱仪配套的化学计量学软件。模型建立的顺序大致如下：

- (1) 光谱和对应基础数据组成校正数据阵；
- (2) 对光谱进行必要的光谱预处理；
- (3) 光谱区（范围）的选择；

(4) 定量校正（交互验证过程），将处理后的光谱数据和性质数据通过偏最小二乘回归法进行回归运算，得到定量校正模型。在定量校正过程中，需确定各参数项。建模过程实际是这些方法和各参数项的筛选过程，筛选的依据是模型交互验证结果和验证集预测结果；

(5) 异常试样的剔除。异常试样是指交互验证过程得到的预测值与其实际值有显著性差别的试样，异常值有两类，一类是这些异常值样品的化学值分析或光谱扫描有较大的误差，另一类异常值的样品是样品的化学值与光谱都是准确的，但这些样品和建模的大部分样品有较大的差异，其化学值或光谱与其他样品相比有特殊性。

7.5 定标模型评估

检验定标模型，可从校正标准偏差、交互验证的校正标准偏差、预测标准偏差、RPD、决定系数、成对 t 检验等计算结果进行比较：

(1) SEC 越小，表明模型回归的越好。一般 SEC 与参考测量方法规定的重复性相当。如果 SEC 过小，说明校正过程可能存在过拟合现象；

(2) 通常 SECV 大于 SEC；

(3) SEP 越小，结果越准确，通常 SEP 要大于 SEC 和 SECV。按照概率统计，通过 SEP 可以估计出近红外预测值与参考方法实际值之间的偏差。若光谱方法的预测值为 \hat{y} ，则参考方法实际值落在 $[\hat{y} \pm \text{SEP}]$ 范围的概率为 67%，落在 $[\hat{y} \pm 2 \times \text{SEP}]$ 范围为 95% 左右；

(4) 验证集试样的性质分布越宽越均匀，SEP 越小，RPD 值将越大。通常认为，若 $\text{RPD} > 5$ ，表明模型的预测结果可以接受；若 $\text{RPD} > 8$ ，表明模型的预测性很高；若 $\text{RPD} < 2$ ，表明模型的预测结果不可以接受；

(5) 在验证集试样标准偏差（SD）相同的前提下，R 越接近 1，回归或预测结果应越好；

(6) 对一给定的显著性水平 α ，若 $|t| < t_{(\alpha, m-1)}$ ，说明校正模型的预测值与参考方法的平均测定值结果之间无显著性差异，如果通过了 t 检验，只能说明光谱方法与参考方法之间不存在系统误差，并不能完全说明其预测结果的准确性。

7.5.1 选择定标模型

在模型建立完成后，需要用一组验证集试样对模型的准确性、重复性、稳健性和传递性等性能进行验证。验证集试样包含待测试样所包含的所有化学组分，验证集试样的浓度或性质范围要至少覆盖校正集试样的浓度或性质范围的 95%，且分布是均匀的。此外，验证集试样的数量应足够多以便进行统计检验，通常要求不少于 20 个试样。

7.5.2 测定

在对未知试样进行预测分析时，只有待测试样在模型覆盖的范围之内，才能保证分析结果的有效性和准确性，未知试样的形态需与校正集一致。通过三个判据来保证模型的适用性，一是马氏距离，如果待测试样的马氏距离大于校正集试样的最大马氏距离，则说明待测试样中的一些组分浓度超出了校正集

试样组分浓度的范围。二是光谱残差，如果待测试样的光谱残差大于了规定的阈值，则说明待测试样中含有校正集试样中所没有的组分。三是最邻近距离，如果待测试样与所有校正集试样之间的距离的最小值（最邻近距离）大于了规定的阈值，则说明待测试样落入了校正集分布比较稀疏的地方。四是模型组分范围限定，如果超出模型组分值的最大值或者最小值，预测结果的准确性将受到质疑。

7.6 定标模型维护与质量控制

模型的更新是近红外光谱分析方法的主要内容之一，仪器和软件是否先进、模型库是否有大量的数据，这些条件都不能确保校正模型的长期准确性。在实际应用中，模型的更新是必须和必要的。

7.6.1 模型更新

模型更新可分为两类；

（1）遇到异常样品。这时应搞清楚异常样品产生的原因，是待测试样的化学组分发生了变化，还是非试样化学组成因素引起的，如环境引起的光谱仪改变、光源工作异常、试样温度或粒度等发生显著变化等。若是第一种情况，需要及时将这些试样补充到校正集中，对模型进行更新，扩充模型的覆盖范围。若属于第二种情况，则需要找出具体原因，加以解决，如排除硬件故障，保证分析条件的一致性。对于试样温度、农产品水分含量或粒度等因素引起的异常，也可通过将把这些异常样品引入模型的办法来解决，但这样做会在一定程度上降低模型的精度；

（2）对模型定期维护更新。这是建立稳健模型的需要，因为仪器或试样的一些微小的变动，在很多时候通过模型适用性判据很难做出判别。所以，非常有必要利用定期验证试样的对比数据，集中（如2个月）对模型进行更新，以提高模型的稳健性。

在进行模型更新时，需要重新进行校正过程的异常点检验，如果只添加一个代表新范围或新类型的试样，那么新试样有可能作为异常点被剔除，因此要求添加多个每一类型的新试样。模型更新后需要重新进行验证，可以使用初始的验证集试样对新模型进行验证，但是必须补充代表新范围或新类型的试样，其比例应不小于新试样在校正集中所占的比例。

7.6.2 分析质量保证与控制

在近红外光谱日常分析时，另一项重要的工作是定期对模型和仪器进行检测，称之为分析质量的保证和控制。可以采用以下方式进行检验：

（1）采用实际分析试样定期验证。依据模型的验证效果确定分析试样的验证频率，如每周2~3次，与建立模型所用的参考方法进行对比，其绝对偏差不应超过再现性范围。另外，若引起待测试样组分发生变化的工艺条件发生较大变动时，如温度、溶剂或催化剂改变时，或近红外光谱仪器更换部件时，如光源和测量附件更换后，不论模型是否适合，都应及时加样进行对比分析；

（2）如果待测试样可以密封保存。选取3~5个代表性强的实际试样，进行密封保存，定期进行测量，如1天1次或隔天1次等；

（3）如果待测试样的组成体系简单，可通过配制标样，定期进行准确性验证。将一个饲料试样密封在样品杯中作为标样，测定该试样中粗蛋白质、粗纤维、粗脂肪和水分含量并做成对t检验，应无显著差异。

可以使用参考值和近红外预测值差异控制图对定量模型例行分析性能进行评估，控制图以分析试样数作为横坐标，参考值和近红外预测值的差作为纵坐标。（95%的概率）和（99.8%的概率）可以用作报警线和警戒线。

出现下列情况之一时，说明近红外预测值不在可控范围之内：

- （1）1个试样超过了警戒线；
- （2）连续3个试样中有2个试样在报警线之外；
- （3）连续9个试样在0线的同一侧。

如果出现上述结果时，首先应重新多次采集近红外光谱，进行预测分析，以确保光谱采集的正确，再对基础数据的准确性进行核对，然后再判断待测试样是否与校正集中的试样存在较大差异。若不是上述问题，则还应对光谱仪的硬件进行全面的测试检查，直到找出出错原因。

7.6.2.1 异常试样分类

异常试样可为“好”、“坏”两类，“好”的异常试样加入定标模型后可增加该模型的分析能力，而“坏”的异常试样加入定标模型后，只能降低分析的准确度。“好”、“坏”异常试样的甄别标准有：一是通常“好”的异常试样最邻近距离超出标准范围值且马氏距离小于标准范围值的 130%，通常“坏”的异常试样马氏距离超出标准范围值的 130%；二是 SEC 值，通常“好”的异常试样加入定标模型后，SEC 值不会显著增加，而“坏”的异常试样加入定标模型后，SEC 值将显著增加。

7.6.2.2 异常试样处理

NIR 分析中发现异常试样后，要用参考方法对该试样进行分析，同时对该异常试样类型进行确定，属于“好”的异常试样则保留，并加入到定标模型中，对定标模型进行升级；属于“坏”的异常试样则放弃。

8 试验数据处理

试样中水分、粗蛋白质、粗纤维、粗脂肪、赖氨酸或蛋氨酸的测定结果以质量分数 w_i 表示，单位以质量百分含量（%）表示，按公式（8）计算：

$$W = \frac{W_1 + W_2}{2} \dots\dots\dots (8)$$

式中：

w_{i1} ——试样中水分、粗蛋白质、粗纤维、粗脂肪、赖氨酸或蛋氨酸的测定值，单位为质量百分含量（%）；

w_{i2} ——试样中水分、粗蛋白质、粗纤维、粗脂肪、赖氨酸或蛋氨酸的测定值，单位为质量百分含量（%）。

9 精密度

9.1 重复性限

在同一实验室，由同一操作者使用同一设备，按相同的操作步骤，在短时间内，对同一被测样品独立进行近红外扫描得到的两个近红外测定值的绝对差值，超过表1所给出的重复性限 r 的情况不大于 5%。

表 1 重复性限 r

样品名称	水分 (%)	粗蛋白质 (%)	粗脂肪 (%)	粗纤维 (%)	赖氨酸 (%)	蛋氨酸 (%)
鱼粉	0.11	0.32	0.17	0.09	0.05	0.02
猪肉粉	0.12	0.30	0.31	—	0.02	0.02
鸡肉粉	0.12	0.41	0.11	—	0.05	0.02
DDGS	0.23	0.30	0.16	0.08	0.01	0.01

玉米	0.19	0.16	0.09	0.15	—	—
玉米蛋白粉	0.13	0.18	0.13	0.15	0.01	0.02
豆粕	0.25	0.40	0.03	0.22	0.05	0.03
棉粕	0.11	0.44	0.04	0.38	0.03	0.01
花生粕	0.12	0.42	0.03	0.01	—	—
小麦	0.18	0.06	0.03	0.08	—	—
麸皮	0.26	0.47	0.11	0.27	—	—
米糠	0.15	0.08	0.34	0.14	—	—
猪配合饲料	0.19	0.27	0.04	0.13	0.07	0.02
鸡配合饲料	0.19	0.22	0.02	0.06	0.03	0.02
鸭配合饲料	0.17	0.20	0.03	0.13	0.04	0.02
水产颗粒配合饲料	0.23	0.18	0.28	0.53	0.05	0.02
水产膨化配合饲料	0.21	0.22	0.39	0.45	0.06	0.01
猪浓缩饲料	0.10	0.24	0.14	0.19	0.05	0.01
鸡浓缩饲料	0.13	0.27	0.06	0.22	0.05	0.02
牛羊浓缩饲料	0.10	0.20	0.02	0.05	—	—
牛羊精料补充料	0.06	0.15	—	—	—	—

9.2 允许误差

饲料中水分、粗蛋白质、粗纤维、粗脂肪、赖氨酸和蛋氨酸的近红外测定结果与参考值的绝对差值，超过表 2 所给出的允许误差的情况不大于 5%。

表 2 允许误差

样品名称	水分 (%)	粗蛋白质 (%)	粗脂肪 (%)	粗纤维 (%)	赖氨酸 (%)	蛋氨酸 (%)
鱼粉	0.32	0.57	0.58	—	0.17	0.10
猪肉粉	0.35	0.55	0.62	—	0.20	0.10
鸡肉粉	0.28	0.56	0.60	—	0.23	0.13
DDGS	0.36	0.44	0.52	0.63	0.12	0.09
玉米	0.35	0.36	0.41	0.42	—	—
玉米蛋白粉	0.29	0.52	0.42	—	0.06	0.15
豆粕	0.29	0.56	0.41	0.55	0.14	0.14
棉粕	0.16	0.56	0.28	0.53	0.17	0.10
花生粕	0.26	0.50	—	—	—	—

小麦	0.36	0.40	0.11	0.14	—	—
麸皮	0.35	0.40	0.65	—	—	—
米糠	0.35	0.45	0.69	0.62	—	—
猪配合饲料	0.35	0.50	0.54	0.67	0.21	0.58
鸡配合饲料	0.36	0.55	0.60	0.39	0.21	0.14
鸭配合饲料	0.35	0.45	0.65	0.64	0.19	0.11
水产颗粒配合饲料	0.25	0.41	0.28	0.55	0.19	0.13
水产膨化配合饲料	0.34	0.48	0.65	0.57	0.16	0.12
猪浓缩饲料	0.35	0.54	0.53	0.66	0.31	0.10
鸡浓缩饲料	—	—	—	—	0.26	0.12
牛羊浓缩饲料	0.52	0.62	—	—	—	—
牛羊精料补充料	0.52	0.46	—	—	—	—