

doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2017.12.045

基于近红外显微成像的豆粕和抗生素菌渣鉴别分析

杨增玲¹ 林玉飞¹ 梁浩¹ 李守学^{1,2} 肖志明² 樊霞²

(1. 中国农业大学工学院, 北京 100083; 2. 中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所, 北京 100081)

摘要: 以豆粕和3种抗生素菌渣为研究对象,通过傅里叶变换近红外显微成像系统采集样品近红外显微图像;对采集到的近红外显微图像进行光谱重构,并对所有样品光谱进行预处理,利用 Duplex 算法分别从不同的样品预处理光谱中筛选具有代表性的光谱建立豆粕和抗生素菌渣的特征光谱库。使用偏最小二乘判别分析(PLS-DA)与支持向量机判别分析(SVM-DA)结合不同的光谱预处理方法,构建豆粕与不同种类抗生素菌渣的近红外显微成像定性判别模型。结果表明:构建的2种模型均能有效对试验中所用豆粕和抗生素菌渣样品进行鉴别分析,正确率均在99.4%以上。进一步比较研究发现,一阶导数+SNV的预处理方式优于无预处理、一阶导数、二阶导数;SVM-DA的模型效果优于 PLS-DA, SVM-DA 中特征提取方法 PLS 优于 PCA。

关键词: 豆粕; 抗生素菌渣; 鉴别分析; 近红外显微成像

中图分类号: O657.33; S816.46 文献标识码: A 文章编号: 1000-1298(2017)12-0363-07

Identification and Analysis of Soybean Meal and Antibiotic Mycelial Residues Based on Near Infrared Micro-imaging

YANG Zengling¹ LIN Yufei¹ LIANG Hao¹ LI Shouxue^{1,2} XIAO Zhiming² FAN Xia²

(1. College of Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China

2. Institute of Quality Standards & Testing Technology for Agro-products, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: AMR (antibiotic mycelial residue) added to animal feed easily leads to drug resistance influencing human health and environment. However, there is a lack of effective detection methods, especially fast and convenient detection technology, to distinguish AMR from animal feed. In order to search effective detection methods, qualitative discriminant analysis of soybean meal and antibiotic residue was made at first. The feasibility of near infrared micro-imaging for the identification of soybean meal and antibiotic mycelial residues was explored. Three soybean meal samples and three kinds of antibiotic mycelial residues were used to collect the near-infrared microscopic images of the samples by Fourier transform near-infrared microscopy. The near-infrared microscopic images collected were reconstructed and the spectra of all the samples were pretreated. The Duplex algorithm was employed to screen the representative spectra from pretreatment spectra of different samples to establish spectral library of soybean meal and antibiotic mycelial residues. Different discriminant models of soybean meal and different kinds of antibiotic mycelial residues were built by using different pretreatment methods combined with PLS-DA (partial least squares discriminant analysis) and SVM-DA (support vector machine discriminant analysis). The results showed that two kinds of modeling methods based on near-infrared micro-imaging spectroscopy were effective in the identification of three kinds of antibiotic mycelial residues and soybean meal samples, and the correctness rate was above 99.4%. The first-order derivative + SNV preprocessing method was better than that without preprocessing, the first derivative and the second derivative. SVM-DA model was superior to PLS-DA, and SVM-DA in feature extraction method was better than PCA (principal component analysis). The results presented indicated that the near infrared microscopic imaging technique can be used to qualitatively distinguish antibiotic mycelial

收稿日期: 2017-07-25 修回日期: 2017-08-29

基金项目: 中国农业科学院基本科研业务费专项(1610072017001)和中国农业科学院“饲料质量安全检测与评价”创新团队经费项目

作者简介: 杨增玲(1977—),女,教授,主要从事生物质工程研究, E-mail: yangzengling@cau.edu.cn

通信作者: 樊霞(1977—),女,副研究员,主要从事饲料质量安全检测技术研究, E-mail: fanxia@caas.cn

residue from soybean meal, and it also provided theoretical basis for further research.

Key words: soybean meal; antibiotic mycelial residue; discriminant analysis; near infrared micro-imaging

引言

目前,我国已经成为世界上最大的抗生素生产国^[1]。在抗生素生产过程中,大量抗生素菌渣(也称药渣、滤渣)随之产生。抗生素菌渣中主要成分是微生物菌丝体、培养基残渣及其他一些未完全代谢利用的有机物,其粗蛋白含量较高^[2-3],基本接近常用的蛋白质饲料原料^[4]。20世纪90年代,国内尝试过将其进行无害化处理后生产蛋白质饲料,出现试图直接利用抗生素菌渣作为饲料或饲料添加剂使用的现象^[5-8]。但对于抗生素菌渣的利用,由于其未进行充分的安全性评价,并存在诱导细菌耐药性的风险,因此所有种类抗生素滤渣在2002年被列入《禁止在饲料和动物饮用水中使用的药物品种目录》^[9],2008年被列入《国家危险废物名录》^[10]。养殖过程使用含有抗生素菌渣的饲料具有以下潜在隐患:抗生素菌渣中含有残留的抗生素,长期喂动物后造成抗生素在肉、蛋、奶等畜禽产品中残留,诱发食品安全问题;抗生素菌渣中含有抗生素培养过程中产生的未知成分中间产物,在没有确定安全性之前,将其作为蛋白质饲料原料应用于饲料生产中存在潜在风险;长期低剂量食用抗生素将会增加抗生素与动物体内细菌的接触机会和时间,使细菌适应了抗生素的环境,逐渐产生耐药性。因此,研究饲料中抗生素菌渣的鉴别分析技术对于保障饲料安全、食品安全乃至人类健康具有重要意义。

由于抗生素菌渣中的主要成分含量与饲料中的部分基础营养成分比较相近^[11],尤其是蛋白饲料中的蛋白含量^[5],仅通过常规的成分检测很难辨别。目前可查阅到的检测方法多为通过化学手段^[12]或标志物指示手段^[13]检测饲料中的抗生素残留来评估饲料中是否添加抗生素菌渣,但是这些方法操作繁琐、成本高、试验周期长,且需要提前知道目标检测物,而抗生素菌渣品种繁多,性质各异,仅依靠化学或标志物指示的方法难以满足饲料大规模检测的要求。目前,国内外对饲料中是否添加使用抗生素菌渣的检测方法研究存在欠缺,尤其是快速便捷的检测技术,难以适应饲料工业和养殖业的发展需要。因此,需要探索一种便捷、高效、无损的检测方法准确鉴别饲料中的抗生素菌渣。

近红外光谱已被广泛应用于异常分析^[14],而近红外显微成像技术则扩展了传统近红外光谱的描述

范围,具有更高灵敏度,能够获取样品在微区上的信息,增强了对样品内部异质组分的分析能力^[15-16],因此可以提高检测分析效率,减少样本分析量。抗生素菌渣化学成分复杂,近红外特征峰重叠严重,单一谱峰很难将其与蛋白饲料区分开来,需要结合多元判别分析方法,构建监督校正模型,才能相对准确地对样品光谱定性判别。

本文主要利用傅里叶变换近红外显微成像系统,采集豆粕与抗生素菌渣样品的可见光图像和近红外图像,利用 Duplex 算法从样品光谱中挑选具代表性光谱分别建立抗生素菌渣光谱库和豆粕光谱库,基于光谱库结合偏最小二乘判别分析(Partial least squares discriminant analysis, PLS-DA)和支持向量机判别分析(Support vector machine discriminant analysis, SVM-DA)定性判别分析方法,建立豆粕和不同种类抗生素菌渣的定性判别分析模型,探究利用近红外显微成像技术对二者鉴别分析的可行性。

1 材料与方法

1.1 样品采集与样品制备

试验所用3种抗生素菌渣均采集于福建省不同的抗生素生产厂家,分别为硫酸链霉素菌渣、土霉素菌渣、硫酸粘杆菌素菌渣,所收样品均为湿菌渣。湿菌渣易变质,不易保存,因此统一将所有收到的湿菌渣样品放置在空气中自然晾晒风干,然后置于105℃的干燥箱中干燥24h,密封保存备用。收集不同产地的豆粕样品3个,其产地及其常规化学指标如表1所示,3种豆粕的含水率以及粗脂肪、粗蛋白含量非常相近。

所有样品经粉碎后过0.5mm分析筛,使所有样品粒度在0.5mm以下,密封包装,贮存于4℃药品冷藏箱中。试验前取出样品,回温放至室温(20℃)。

表1 3种豆粕的产地及常规化学指标

Tab.1 Origin and conventional chemical indexes of three kinds of soybean meal

样品名称	产地	含水率/%	粗脂肪质量分 数/%	粗纤维质量分 数/%	粗灰分质量分 数/%	粗蛋白质量分 数/%
豆粕1	河北	10.90	1.00	9.92	5.79	43.27
豆粕2	湖南	10.53	1.12	8.10	6.18	43.60
豆粕3	江西	10.98	1.19	7.31	5.64	43.55

1.2 近红外显微图像获取

采用 Spotlight 400 型傅里叶近红外显微成像系统(美国 Perkins Elmer 公司)采集样品的近红外显微图像,针对样品特点和近红外显微图像扫描,设置图像采集参数如下:光谱波数范围为 $7\ 800 \sim 4\ 000\ \text{cm}^{-1}$,光谱分辨率为 $32\ \text{cm}^{-1}$,扫描次数为 8 次,空间分辨率为 $25\ \mu\text{m} \times 25\ \mu\text{m}$,干涉仪动镜移动速度为 $1\ \text{cm/s}$,图像扫描面积为 $5\ 000\ \mu\text{m} \times 5\ 000\ \mu\text{m}$ 。图像采集软件为 Spectrum IMAGE。

分别将豆粕和抗生素菌渣样品平铺在聚四氟乙烯样品板上,样品厚度约为 $1\ \text{mm}$,以相同的聚四氟乙烯样品板作为参比板,逐一采集样品光谱。扫描过程中检测室内冲高纯氮进行空气校正,以减少水蒸气和二氧化碳造成的光谱吸收。

1.3 数据处理

近红外显微成像系统采集到的图像为三维数据,图像上的每个像素点代表一条光谱,图像经过重组成为二维的光谱。本试验所收集到的图像为 $200 \times 200 \times 239$,经重组展开为 $40\ 000 \times 239$ 的光谱矩阵。

为消除获取近红外光谱图像过程中所产生噪声信号对定性判别模型的影响,需要合理选取光谱预处理方法。通过近红外显微图像获取的样品的近红外漫反射光谱存在基线漂移现象,光谱在小范围内存在较多的噪声信号。对于基线漂移问题的有效预处理方法是求导数,对于样品颗粒大小不均匀、表面散射及光程变化等问题的有效处理方法是标准正态变量变换(Standard normal variate transformation, SNV)。

由于近红外显微成像技术的特点,微区采集到的光谱存在很多信息一致的重复光谱,且光谱的数据量巨大。本试验中所获取的每幅近红外显微图像中包括 40 000 条光谱。为减少计算量,且保证光谱代表性,本试验利用 Duplex 算法^[17-18]选取具有代表性的光谱用于模型建立和独立验证。Duplex 算法的主要目标是在备选数据集中选择 2 个具有代表性的相似子数据集,所选出的 2 个数据集具有相似的数据分布、性质。首先对备选数据集进行标准化和正交归一化,求出各数据点之间的欧氏距离,将距离最远的 2 个点放入第 1 个样本集,然后将剩余样品中距离最大的 2 个点放入第 2 个样品集,重复以上步骤直至选到设定代表样品数目。通过此算法分别获得豆粕和抗生素菌渣样品的光谱库。

豆粕和 3 种菌渣的成分差异较小,而光谱存在微小差异,若要更具体地说明豆粕和抗生素菌渣光谱的这些微小差异仅通过简单的差异性分析难以辨

别,为此,本文使用皮尔逊相关系数计算豆粕和 3 种抗生素菌渣的光谱相似性。皮尔逊相关系数的计算公式为

$$K(\mathbf{x}, \mathbf{y}) = \frac{(\mathbf{x} - \bar{\mathbf{x}})(\mathbf{y} - \bar{\mathbf{y}})}{\sqrt{(\mathbf{x} - \bar{\mathbf{x}})(\mathbf{x} - \bar{\mathbf{x}})^T} \sqrt{(\mathbf{y} - \bar{\mathbf{y}})(\mathbf{y} - \bar{\mathbf{y}})^T}} \quad (1)$$

式中 $K(\mathbf{x}, \mathbf{y})$ ——皮尔逊相关系数

\mathbf{x}, \mathbf{y} ——待测样本光谱

$\bar{\mathbf{x}}, \bar{\mathbf{y}}$ —— \mathbf{x}, \mathbf{y} 的平均值

K 值越接近 1,2 条光谱的相似性越大,越接近 0 则差异性越大。

基于样品光谱库光谱,分别采用 PLS-DA 和 SVM-DA 方法建立定性分析模型对豆粕和不同种类抗生素菌渣进行鉴别分析。

偏最小二乘法(Partial least squares, PLS)^[19]是基于对矩阵 \mathbf{X} 和 \mathbf{Y} 进行分解消除噪声信号而提出的多元因子回归方法。在对 \mathbf{X} 和 \mathbf{Y} 分解的同时,将 \mathbf{Y} 的信息引入到 \mathbf{X} 矩阵分解过程中,使得 \mathbf{X} 的主成分直接与 \mathbf{Y} 关联,在考虑主成分方差尽可能大的同时,还使主成分与 \mathbf{Y} 最大程度地相关,目的是尽可能利用光谱变量与浓度之间的线性关系。PLS-DA 模型^[20]是基于 PLS 的判别分析,以 \mathbf{Y} 变量为二进制变量(类别变量)取代浓度变量,计算光谱矩阵 \mathbf{X} 与类别矩阵 \mathbf{Y} 的相关关系,取得 \mathbf{X} 与 \mathbf{Y} 的最大协方差 $\text{Cov}(\mathbf{X}, \mathbf{Y})$ 。

支持向量机(Support vector machine, SVM)^[19,21]用于处理分类问题,找出距区分类别最大相位的超平面,以确保分类错误率为最小。SVM 分类法的核心思想是:通过线性或非线形映射(核函数),将输入空间映射到高维特征空间,也将非线性问题通过核函数映射到高维空间转换为线性问题,然后在高维特征空间中构造最优(线性)分类平面对数据进行分类。常用的核函数有线性函数、多项式函数、径向基函数(Radial basis function, RBF)、层感知核函数等^[19],其中 RBF 计算量小,具有良好的学习能力。本研究采用 nu-SVC 算法,选择非线性 Gaussian-RBF 核函数进行 SVM-DA 模型构建。在将原始数据映射到高维特征空间后,虽然转换成线性数据,但是引入了一些冗余信息,为了在确保模型准确的基础上尽量减小数据量、简化计算过程^[22-25],需要对高维空间的线性数据进行特征提取。常用的特征提取方法有 PLS 和主成分分析(Principal component analysis, PCA),经模型验证使用 PLS 特征提取所建模型比 PCA 效果好,因此本研究所建模型均采用 PLS 特征提取。

利用 K-stone 法^[26]对建模所用光谱分集,75%

作为校正集建立豆粕与不同种类抗生素菌渣的定性分析模型,25%作为独立的验证集对建立的定性分析模型进行验证。如果样品为豆粕,而被判为抗生素菌渣,定义为假阳性;如果样品为抗生素菌渣,而被判定为豆粕,定义为假阴性。在总样品中减去假阳性和假阴性样品个数,定义为正确判别样品,利用模型判别正确率(正确判别样品个数占总样品个数百分比)来评价定性判别模型的预测结果。采用交互验证决定系数(R_{CV}^2)和验证决定系数(R_V^2)表征PLS-DA定性判别模型对总样本方差的解释程度,采用交互验证均方差(R_{MSECV})和验证均方差(R_{MSEP})来衡量PLS-DA定性判别模型精度。采用灵敏度、特异度来表征SVM-DA定性判别模型的预测分类效果,利用交互验证均方根均方差(R_{MSECV})来衡量SVM-DA定性判别模型的精度。

本文中所有数据处理与分析在Matlab R2013a(美国Mathworks公司)平台中实现,其中PCA、PLS-DA及SVM-DA使用PLS_toolbox(美国Eigenvector公司)实现。

2 结果与分析

2.1 豆粕和抗生素菌渣近红外光谱特性分析

图1为3种抗生素菌渣和豆粕的近红外显微图像,图像均为Matlab处理后的重构图像。将三维的近红外显微图像光谱进行分解,可得到每个样品的所有光谱。图2为3种豆粕光谱和这3种豆粕的平均光谱,由图2可知3个豆粕样品光谱的吸光度及光谱形状几乎一致,且相关系数达到0.990以上,因此将3个豆粕样品的平均光谱作为豆粕样品的光谱,分析与不同抗生素菌渣光谱之间的差异。

由豆粕光谱与3种抗生素菌渣光谱的皮尔逊相关系数,豆粕与3种抗生素菌渣的相似性由大到小依次为硫酸链霉素(0.991)、硫酸粘杆菌素(0.972)、土霉素(0.960)。

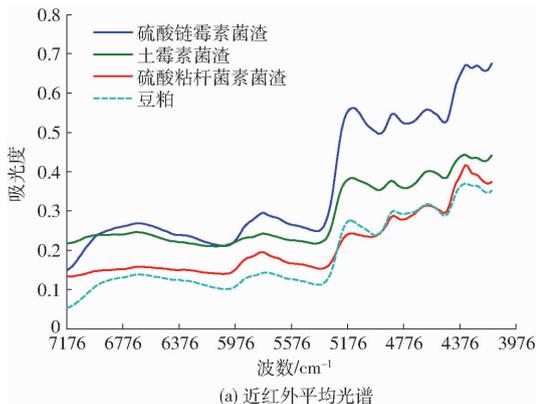


图3 豆粕和3种抗生素菌渣的近红外平均光谱及其二阶导数光谱

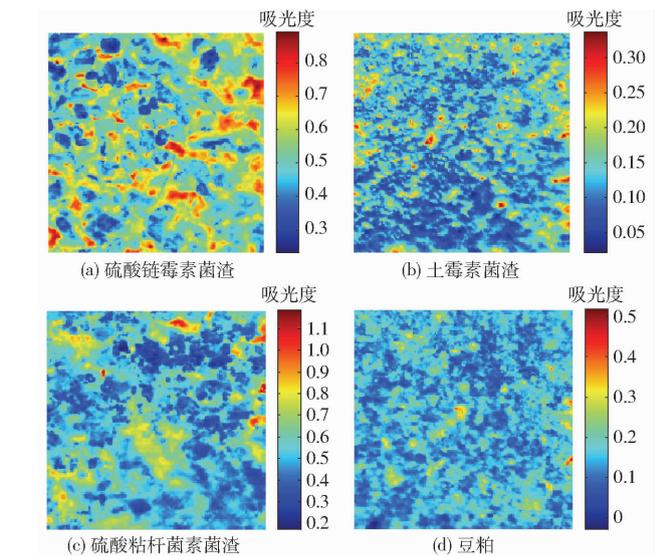


图1 豆粕和3种抗生素菌渣的近红外显微图像

Fig.1 Near infrared microscopic images of soybean meal and three antibioticmycelial residues

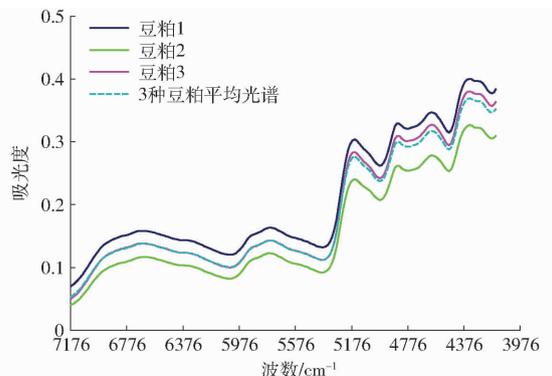


图2 3种豆粕光谱及其平均光谱

Fig.2 Spectra and average spectra of three kinds of soybean meal

图3a为3种抗生素菌渣与豆粕的光谱图像,为使不同样品的差异性更明显,图3b展示了样品的近红外二阶导数光谱,从二阶导数光谱中能够看出,在 $6200 \sim 5800 \text{ cm}^{-1}$ 和 $5500 \sim 5000 \text{ cm}^{-1}$ 区域存在显著差异,这些区间主要反映水($5200 \sim 5100 \text{ cm}^{-1}$)、蛋白($4870 \sim 4400 \text{ cm}^{-1}$)、多糖($4400 \sim 4300 \text{ cm}^{-1}$)、脂肪

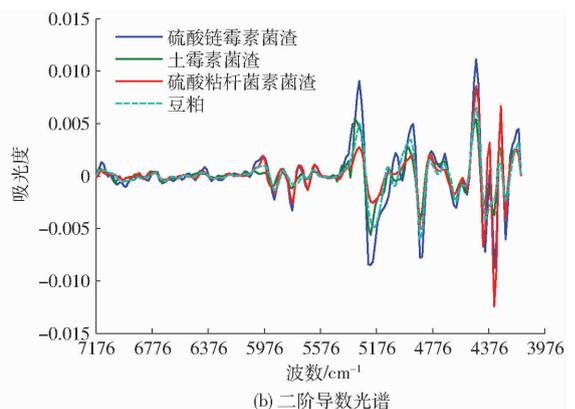


Fig.3 Near-infrared average spectra of soybean meal and three antibiotic mycelial residues and their second derivative spectra

($5\ 790 \sim 5\ 690\ \text{cm}^{-1}$ 和 $4\ 340 \sim 4\ 260\ \text{cm}^{-1}$) 等含氢基团的近红外光谱特征,通过对豆粕和 3 种抗生素菌渣的近红外二阶导数光谱分析可知,两种物料之间存在差异,因此可以使用合适的判别模型对二者进行鉴别分析。

2.2 基于不同预处理方法和建模方法建立相应判别模型

基于豆粕和抗生素菌渣的光谱库光谱,分别构建判别 1(豆粕与硫酸链霉素菌渣)、判别 2(豆粕与土霉素菌渣)、判别 3(豆粕与硫酸粘杆菌素菌渣)、判别 4(豆粕和 3 种抗生素菌渣)4 种基于不同物料的定性判别模型。由表 2 和表 3 中不同建模方法中

不同的抗生素菌渣和豆粕的判别模型可知,4 种经一阶导数 + SNV 预处理的 PLS-DA 的 R_{CV}^2 值均在 0.930 以上, R_{MSECV} 和 R_{MSEP} 均在 0.100 左右;4 种 SVM-DA 判别模型的灵敏度和特异度均达到 0.980 以上, R_{MSECV} 均小于 0.100,模型效果较好。表 2 中判别 1 和判别 4 模型的 R_{CV}^2 值达到 0.948 和 0.933,而判别 2、判别 3 的 R_{CV}^2 值分别为 0.982 和 0.970。表 3 中判别 2 和判别 3 模型的 R_{MSECV} 为 0,而判别 1 和判别 4 的 R_{MSECV} 除判别 1 中的一阶导数 + SNV 的预处理方法为 0 外,其他均大于 0。由以上分析可知,豆粕与土霉素、硫酸粘杆菌素菌渣的定性判别模型优于豆粕与硫酸链霉素菌渣,结果与光谱的相关分析结果一致。

表 2 基于不同预处理方法的豆粕与抗生素菌渣 PLS-DA 判别模型结果

Tab. 2 Qualitative discriminant results of soybean meal and antibiotic mycelial residue in PLS-DA model with different pretreatment methods

建模样品光谱	预处理方法	潜变量数	校正集				验证集		
			R_{CV}^2	R_{MSECV}	R_V^2	R_{MSEP}	假阳性个数	假阴性个数	判别正确率/%
判别 1	无	4	0.867	0.158	0.890	0.151	1	0	99.8
	一阶导数	9	0.897	0.139	0.900	0.137	1	0	99.8
	二阶导数	9	0.859	0.163	0.865	0.159	2	0	99.6
	一阶导数 + SNV	9	0.948	0.099	0.946	0.101	0	0	100
判别 2	无	4	0.931	0.114	0.935	0.111	0	0	100
	一阶导数	9	0.964	0.082	0.964	0.082	0	0	100
	二阶导数	9	0.949	0.098	0.948	0.099	0	0	100
	一阶导数 + SNV	9	0.982	0.059	0.983	0.057	0	0	100
判别 3	无	5	0.826	0.180	0.813	0.187	0	0	100
	一阶导数	9	0.920	0.123	0.913	0.187	0	0	100
	二阶导数	9	0.902	0.135	0.897	0.139	0	0	100
	一阶导数 + SNV	9	0.970	0.075	0.968	0.078	0	0	100
判别 4	无	5	0.833	0.204	0.925	0.193	0	0	100
	一阶导数	9	0.897	0.161	0.952	0.119	0	0	100
	二阶导数	9	0.852	0.192	0.933	0.147	0	0	100
	一阶导数 + SNV	9	0.933	0.129	0.968	0.096	0	0	100

为比较不同建模方法对定性判别模型的影响,如表 2 和表 3 所示,选用了 PLS-DA 和 SVM-DA 建立不同定性判别模型。由表 2 可知,经一阶导数 + SNV 预处理的 PLS-DA 模型的决定系数 R_{CV}^2 均在 0.930 以上,模型的 R_{MSECV} 则在 0.100 左右,其中判别 3 和判别 4 的 R_{CV}^2 达到 0.970 以上, R_{MSECV} 则在 0.100 以下,以上结果说明 PLS-DA 模型对豆粕和试验涉及的 3 种菌渣的定性判别是有效的。由表 3 可知,SVM-DA 模型的灵敏度和特异度均在 0.980 以上,模型的 R_{MSECV} 均小于 0.100,其中经一阶导数 + SNV 预处理的判别 2 和判别 3 的灵敏度和特异度为 1, R_{MSECV} 为 0。以上结果说明 SVM-DA 模型对豆粕和试验涉及的 3 种抗生素菌渣的定性判别模型较好,且优于 PLS-DA 模型。

针对近红外图像采集过程中出现在光谱中的噪声信号,分别选取相应的无预处理、一阶导数、二阶导数

和一阶导数 + SNV 4 种建模预处理方法,并比较相同模型中不同预处理方法对模型效果的影响。由表 2 和表 3 可知,在 PLS-DA 中,一阶导数 + SNV 预处理方法较具有明显优势。例如在表 2 的判别 1 中,采用一阶导数 + SNV 预处理的模型的 R_{CV}^2 为 0.948, R_{MSECV} 为 0.099,而其他 3 种预处理方式的 R_{CV}^2 均小于 0.900,而 R_{MSECV} 均大于 0.100。这是由于 PLS-DA 模型对于样品光谱存在的噪声信号比较敏感,而在获取近红外光谱图像过程中,存在基线漂移、表面散射、样品颗粒大小不均造成的噪声信号,而导数 + SNV 刚好能减弱或消除这类噪声,因此预处理效果优于其他 3 种预处理方法。在 SVM-DA 模型中,4 种预处理方式的模型效果差别不大,这是由于 SVM-DA 对样品光谱的处理方式不同于 PLS-DA,将原始光谱映射到高维空间后,定标模型对光谱中的噪声信号不敏感,因此不同预处理方法对 SVM-DA 模型的影响不明。

表3 基于不同预处理方法的豆粕与抗生素菌渣 SVM-DA 定性判别模型结果

Tab.3 Qualitative discriminant results of soybean meal and antibiotic mycelial residue in SVM-DA model PLS with different pretreatment methods

建模样品光谱	预处理方法	潜变量数	校正集			验证集		
			灵敏度	特异度	R_{MSECV}	假阳性个数	假阴性个数	判别正确率/%
判别 1	无	4	1	0.984	0.009	0	0	100
	一阶导数	9	0.999	0.995	0.045	0	0	100
	二阶导数	9	1	0.987	0.045	2	1	99.4
	一阶导数 + SNV	9	1	0.995	0	0	0	100
判别 2	无	4	1	1	0	0	0	100
	一阶导数	9	1	1	0	0	0	100
	二阶导数	9	0.998	1	0	0	0	100
	一阶导数 + SNV	9	1	1	0	0	0	100
判别 3	无	5	1	1	0	0	0	100
	一阶导数	9	0.999	1	0	0	0	100
	二阶导数	9	1	0.997	0	0	0	100
	一阶导数 + SNV	9	1	1	0	0	0	100
判别 4	无	5	0.999	1	0.026	0	0	100
	一阶导数	9	1	0.998	0.023	0	0	100
	二阶导数	9	0.999	0.995	0.043	0	0	100
	一阶导数 + SNV	9	1	0.999	0.025	0	0	100

2.3 近红外显微成像定性判别模型的外部独立验证

为验证所建立的定性判别模型的准确性,本研究采用外部独立验证对所建立模型的准确性加以验证,验证集的结果如表2和表3所示。PLS-DA模型的判别正确率在99.4%以上,其中判别2、3、4的判别正确率达到100%。SVM-DA模型的正确率几乎为100%,仅有判别1中的二阶导数处理模型存在判别错误。从验证集的结果分析,也可验证SVM-DA模型的定性鉴别结果优于PLS-DA模型,判别2和判别3的判别效果优于判别1和判别4。

3 结束语

针对目前缺乏对饲料中抗生素菌渣快速检测手段的问题,在豆粕与抗生素菌渣具有相似成分组成的前提下,本文提出了采用近红外显微成像技术从

样品微区光谱入手分析饲料样品,旨在以豆粕和3种抗生素菌渣(硫酸链霉素菌渣、土霉素菌渣、硫酸粘杆菌素菌渣)为例论证基于近红外显微成像技术快速检测饲料中抗生素菌渣的可行性。采用PLS-DA和SVM-DA的定性判别模型,对豆粕和抗生素菌渣的种类进行鉴别分析。研究表明,豆粕和3种抗生素菌渣的主要成分虽然相似,但是利用近红外显微成像技术结合定性判别模型的种类鉴别效果比较理想。PLS-DA和SVM-DA模型分析及其外部独立验证表明,基于近红外显微成像光谱数据可以有效对豆粕和抗生素菌渣进行鉴别分析,SVM-DA模型优于PLS-DA模型,定性判别正确率达到99.4%以上。通过该研究可知:近红外显微成像光谱能够定性区分豆粕和抗生素菌渣,为饲料中抗生素菌渣鉴别提供了思路,有进一步研究的价值。

参 考 文 献

- 李再兴,田宝阔,左剑恶,等. 抗生素菌渣处理处置技术进展[J]. 环境工程,2012,30(2):72-75.
LI Z X, TIAN B K, ZUO J E, et al. Progress in treatment and disposal technology of antibiotic bacterial residues [J]. Environmental Engineering, 2012, 30(2): 72-75. (in Chinese)
- SANCHEZ S, CHAVEZ A, FORERO A, et al. Carbon source regulation of antibiotic production [J]. Journal of Antibiotics, 2010, 63: 442-459.
- MASUREKAR P. Antibiotic production [J]. Encyclopedia of Microbiology, 2009, 47(1):174-190.
- 贡雨鹏,郭斌,任爱玲,等. 抗生素菌渣理化特性[J]. 河北科技大学学报,2012,33(2):190-196.
GONG L P, GUO B, REN A L, et al. Physical and chemical properties of antibiotics bacterial residue [J]. Journal of Hebei University of Science and Technology, 2012, 33(2): 190-196. (in Chinese)
- 王乃英. 关于抗生素菌渣的利用[J]. 当代畜牧,1992(1):37,43.
- 何春昌,张振民. 土霉素菌体蛋白饲料的开发利用[J]. 饲料工业,1997,18(8):24-25.
- 张明峰. 抗生素渣的营养价值及饲用效果[J]. 饲料博览,2000(3):40-41.

- 8 阮南, 黄莉静, 徐萌. 青霉菌渣固态发酵法生产菌体蛋白饲料的应用研究[J]. 河北工业科技, 2006, 23(2): 79-81.
RUAN N, HUANG L J, XU M. Application of waste pellets from penicillin fermentation for producing SCP by solid state fermentation (SSF)[J]. Hebei Journal of Industrial Science and Technology, 2006, 23(2): 79-81. (in Chinese)
- 9 农业部 卫生部 国家药品监督管理局公告第 176 号. 禁止在饲料和动物饮用水中使用的药物品种目录[Z]. 2002.
- 10 环境保护部 发展改革委令 2008 年第 1 号. 国家危险废物名录[Z]. 2008.
- 11 李月海, 刘冬玲, 谢幼梅. 抗生素菌渣的综合利用[J]. 山东畜牧兽医, 2000(6): 28-31, 39.
- 12 何春昌, 张振民. 土霉素菌体蛋白饲料中微量土霉素的测定方法[J]. 饲料工业, 1998, 19(4): 26.
- 13 LI Y, SU X O, PENG Q, et al. Method for determination of streptomycin and streptidine as markers for streptomycin industrial dregs monitoring in pig and poultry compound feeds[J]. Journal of Chromatography B, 2016, 1035: 84-90.
- 14 尹宝全, 史银雪, 孙瑞志, 等. 近红外多组分分析中异常样本识别方法[J/OL]. 农业机械学报, 2015, 46(增刊): 122-127. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?flag=1&file_no=2015S021&journal_id=jcsam. DOI:10.6041/j.issn.1000-1289.2015.S0.021.
YIN B Q, SHI Y X, SUN R Z, et al. Outlier sample detection method for NIR multicomponent analysis[J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2015, 46(Supp.): 122-127. (in Chinese)
- 15 吉海彦, 严衍禄. 红外光谱图像技术及其在生物学研究中的应用[J]. 物理, 2000, 29(3): 174-177, 161.
JI H Y, YAN Y L. Infrared spectroscopic imaging and its applications in biology[J]. Physics, 2000, 29(3): 174-177, 161. (in Chinese)
- 16 褚小立, 陆婉珍. 近红外化学成像的原理、仪器及应用[J]. 分析仪器, 2008(4): 1-5.
CHU X L, LU W Z. Principles, instrumentation and applications of near infrared chemical imaging [J]. Analytical Instrumentation, 2008(4): 1-5. (in Chinese)
- 17 PIERAN J F, LECLER B, CONZEN J P, et al. Comparison of various chemometric approaches for large near infrared spectroscopic data of feed and feed products[J]. Analytica Chimica Acta, 2011, 705: 30-34.
- 18 SNEE R. Validation of regression models; methods and examples[J]. Technometrics, 1977, 19(4): 415-428.
- 19 褚小立. 化学计量学方法与分子光谱分析技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2011: 59-75.
- 20 欧阳爱国, 赵战友. 基于近红外光谱与 PLS-DA 的润滑油快速识别[J]. 中国农机化学报, 2013, 34(1): 181-185.
OUYANG A G, ZHAO Z Y. Application of visible and near infrared spectroscopy to identification of lubricant oil using PLS-DA methods[J]. Journal of Chinese Agricultural Mechanization, 2013, 34(1): 181-185. (in Chinese)
- 21 LI H D, LIANG Y Z, XU Q S. Support vector machines and its applications in chemistry [J]. Chemometrics & Intelligent Laboratory Systems, 2009, 95(2): 188-198.
- 22 姜训鹏. 基于光谱/空间信息的肉骨粉近红外显微成像分析方法研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2014.
JIANG X P. Integration of spectral-spatial information for the identification of meat and bone meal using NIR microscopic imaging [D]. Beijing: China Agricultural University, 2014. (in Chinese)
- 23 姜训鹏, 杨增玲, 刘贤, 等. 肉骨粉显微近红外标准光谱库的快速构建方法[J/OL]. 农业机械学报, 2012, 43(7): 141-144. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?file_no=20120726&flag=1. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2012.07.026.
JIANG X P, YANG Z L, LIU X, et al. Rapid construction of near-infrared microscopic spectra database for identification of meat and bone meal[J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2012, 43(7): 141-144. (in Chinese)
- 24 吕程序, 杨增玲, 韩鲁佳, 等. 饲料中动物源性成分显微近红外光谱检测分析[J]. 农业机械学报, 2011, 42(5): 171-174.
LÜ C X, YANG Z L, HAN L J, et al. Detection of processed animal proteins in feeding stuffs by near-infrared microscopy[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2011, 42(5): 171-174. (in Chinese)
- 25 姜训鹏, 杨增玲, 韩鲁佳, 等. 精料补充料中肉骨粉的显微近红外成像识别[J]. 农业机械学报, 2011, 42(7): 155-159.
JIANG X P, YANG Z L, HAN L J, et al. Discrimination of meat and bone meal in concentrate supplement by near-infrared microscopic imaging[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2011, 42(7): 155-159. (in Chinese)
- 26 KENNARD R W, STONE L A. Computer aided design of experiments[J]. Technometrics, 1969, 11(1): 137-148.