

近红外漫反射光谱法(NIRS)分析稻草纤维 及硅化物组成

沈恒胜¹, 陈君琛¹, 种藏文¹, 赵武善², 倪德斌³, 汤葆莎¹, Valdes E. V.⁴

(¹福建省农业科学院 福州 350003; ²Foss 北京代表处 北京 100081;

³华中农业大学 武汉 430070; ⁴Guelph 大学, 安大略 加拿大)

摘要:水稻稻草硅质化是影响稻谷生产与稻草营养品质的主要因素之一,对水稻稻草硅化特点的化学分析费时、耗资、准确度较低。利用近红外漫反射光谱法(NIRS)具有分析速度快、精度高、结果稳定的优点。对同年采自福建省不同种植地、不同季节、不同品种的稻草及稻叶、叶鞘、茎秆共92份样品进行半纤维素、纤维素、木质素、可溶及不可溶性硅化物成分的近红外光谱分析。研究利用改进最小偏差(改进最小二乘法回归技术)回归法(Modified PLS)进行定标建模,并进行交叉验证(cross-validation)探讨了用近红外漫反射光谱技术建立稻草纤维及硅化物组成快速预测模型的可行性,以及影响NIRS技术在建模应用中的主要因素。

关键词:近红外漫反射光谱技术;稻草;纤维;硅化物

Study on the Application of Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) Technique for the Prediction of Fiber Composition and Silicification of Rice Straw

SHEN Heng-sheng¹, CHEN Jun-chen¹, ZHONG Zang-wen¹, ZHAO Wu-shan²,

NI De-bin³, TANG Bao-sha¹, Valdes E. V.⁴

(¹Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350003;

²Foss Beijing Representative, Beijing 100081; ³Huazhong Agricultural University,

Wuhan 430070; ⁴The University of Guelph, ONT, Canada)

Abstract: The silicification of rice straw is a factor that affects the grain production and straw nutritive quality. The procedure of chemical analysis on silicon in straw is, however, time and labor consuming, and slightly poor in accuracy. The study has attempted to apply near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) technique as an advanced alternative to predict the fiber composition and silicification of rice straw. Ninety-two samples from different seasons and varieties were collected over the provincial region. Their chemical analyses were carried out on the aspects of hemicellulose, cellulose, lignin, extractable and non-extractable silicon, and the results were used as a data base for NIRS analyses. The factors that might affect the calibration, cross-validation and the prediction for the application of NIRS on rice straw were also discussed.

Key words: NIRS; Rice straw; Fiber composition; Silicon

稻草高效降解利用性能在一定程度上与稻草硅质化特点及其纤维组成有相关性,并受水稻品种抗

逆高产特性、种植技术和气候变化等因素影响^[1~3]。近十几年来,以稻草作为饲草和菌草资源的应用报

道虽多,但分析稻草硅质化的技术较繁琐、耗时、成本高,限制了稻草硅化作用影响水稻生产的研究及与稻草资源合理利用的进一步探讨。

近红外漫反射光谱技术(near infrared reflectance spectroscopy, NIRS)在农业科学应用研究领域迅速发展。NIRS技术已用于饲草水分含量测定(moisture in forage, AOAC official method 991.01)、酸性洗涤纤维和粗蛋白含量分析(acid detergent fiber and crude protein in forage, AOAC official method 989.03)以及饲草营养成分和饲草降解效率预测分析的研究^[4~8],但在稻草硅化物分析上的应用研究尚未见报道。NIRS技术的优点为:①分析样品用量少(无损、可重复使用)、分析速度快、精度高、结果稳定性好;②样品不受常规化学分析的制样影响,其结果保持直接与客观性;③分析结果(光谱)采集信息量广,包括植物体大分子结构的多元信息量和微信息量^[9]。配合现代的数字信息处理(化学计量学)手段,应用此项技术可在短时间内完成大量群体样品的定标建模和验证工作,并可利用预测模型对同类待测样品进行快速分析,进而建立数据信息库。

根据NIRS技术在快速预测饲草纤维成分、钙、磷、钾含量的应用分析^[8]和稻草硅化物在细胞壁中的分子结构特点^[10],笔者以采自福建省不同水稻种植地区的稻草样品作为标样,对其进行纤维组分与硅化物含量的化学分析和NIRS光谱扫描,以此建立定标模型并进行内部交叉验证,并对模型作预测检验,以探讨用NIRS技术建立稻草纤维组分和硅质化特点预测模型的可行性。NIRS技术在快速准确分析稻草纤维成分和硅化物含量、稻草的合理利用以及研究水稻硅质化特点,在育种和生产上都有重要意义。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试稻草采自福建省不同地区13个水稻种植乡、镇共21个品种。样品为2000年早、中、晚季的主栽品种稻草及大面积种植品种稻草的稻叶、茎、鞘等各部位样品共96份。于水稻收获时,从稻田中随机多点齐泥收割、风干、脱粒、分解,粉碎后过1.0 mm筛,干燥保存用于分析。

1.2 化学分析

根据饲草纤维的序列分析方法^[11,12],分析上述稻草样品的半纤维素、纤维素、酸不溶木质素、总硅、不可溶硅和可溶性硅含量^[3],为快速预测模型提供

标样。

1.3 近红外漫反射光谱法(NIRS)及定标

采用NIRSystems 6500近红外分析仪,扫描范围为400~2500 nm,间隔点为2 nm,对上述稻草样品进行近红外漫反射光谱扫描;采用ISI软件系统,利用主成分分析技术自动剔除超常样品并选择代表性样品,以代表光谱间最大差异为原则确立定标样品组,结合所选样品的光谱信息与化学分析含量,利用改进最小(二乘法)回归法(Modified PLS)进行定标建模和内部交叉验证(cross-validation)。

1.4 稻草纤维及硅化物成分快速预测模型的验证分析

从上述96份样品中分别随机选出15份样品作为待测样不参与定标建模,以剩余样品为标样并建立预测模型,用待测样对已建定标模型进行预测性能的验证分析。

2 结果与分析

2.1 标样量对定标建模的影响

表1和表2的结果分别显示不同样本量参与定标建模、定标误差(SEC)和相关系数(RSQ),预测模型的内部交互验证误差(SECV)和内部交互验证相关系数(1-VR)的影响。结果表明,随定标组样本量增加,虽然在一定程度上影响定标误差,也改变了标样组光谱信息变异与实际化学分析结果变异的相关程度,但大样本群也增加了标样组信息量和光谱信息最大变异区间,从而增强了所选标样组的信息在定标建模应用中的代表性,以及预测模型在快速分析实际应用中的可信性。

交互验证相关系数(1-VR)可用以解释预测值的变异来源,描述建模标样的信息值与模型预测值之间相关程度的参数,保证由预测模型分析待测样品所提供的被检成分信息的置信度。比较不同样本量参与定标的1-VR值(表2)表明,应用NIRS分析技术对稻草半纤维素和纤维素成分快速预测的相关程度较稳定,优于模型对稻草木质素和硅化物成分的预测相关性。其原因一方面受对标样木质素和硅化物成分含量的化学分析准确性影响;另一方面受被测个样的特性影响。因此,增加参与定标的样本量,扩充用以定标的信息量和光谱变异区间,有利于通过群体样本来削弱化学分析中因个样误差或特异性造成的模型预测值误差,以提高预测分析的准确性。

表 1 样本量对定标建模的定标误差(SEC)、定标误差系数(RSQ)的影响

Table 1 Effect of sample size on standard error and the fraction of explained variance for calibration

组分 Constitute	N = 37		N = 73		N = 81	
	SEC	RSQ	SEC	RSQ	SEC	RSQ
半纤维素 HCellu	0.5700	0.9457	1.2393	0.8895	1.9421	0.9086
纤维素 Cellulose	0.9230	0.9557	2.0733	0.8342	1.9066	0.8481
木质素 AIL	0.7098	0.5214	0.7781	0.8541	1.1924	0.7385
可溶性硅 EBSi	0.5814	0.6241	0.7573	0.7017	0.7098	0.7742
不可溶硅 NDISi	0.6318	0.9463	0.8131	0.9040	0.7692	0.9197
总硅 ADISi	0.8129	0.9259	0.7989	0.9257	0.8102	0.9183

表 2 样本量对预测模型交互验证误差(SECV)、交互验证相关系数(1-VR)的影响

Table 2 Effect of sample size on the standard error of cross validation(SECV) and the fraction of explained variance for cross validation(1-VR)

组分 Constitute	N = 37		N = 73		N = 81	
	SECV	1-VR	SECV	1-VR	SECV	1-VR
半纤维素 HCellu	1.5180	0.6245	1.7409	0.7820	2.6836	0.8234
纤维素 Cellulose	2.0518	0.7822	2.7668	0.7136	2.3774	0.7692
木质素 AIL	0.8814	0.2696	0.9592	0.7893	1.2485	0.7137
可溶性硅 EBSi	0.6126	0.5963	0.9135	0.5646	0.9976	0.5541
不可溶硅 NDISi	1.1283	0.8292	1.0978	0.8290	1.1063	0.8344
总硅 ADISi	1.4451	0.7687	1.0845	0.8668	1.0893	0.8532

2.2 定标样品的化学分析与 NIRS 测定的相关性分析

由表 3 中稻草成分含量的化学分析值与定标模型交互验证值的相关性(r^2)分析结果表明,对稻草不同部位(叶、茎、鞘, $n = 59$)纤维成分和硅化物成分含量的 NIRS 光谱信息分析值与其化学分析的定标值相关程度较高,而对整株稻草木质素和可溶性硅含量($n = 33$)预测模型的交互验证分析与其化学分析结果间没有表现较好的相关关系。与不同样本量

定标建模的交互验证相关系数(1-VR,表 2)分析结果相似,增加定标建模的标样组群体量,可改善模型对稻草木质素和可溶性硅的预测置信度,模型预测值与标样化学分析值的相关性由 $r^2 = 0.2985$ (木质素)与 0.3579 (可溶性硅)($n = 33$)分别提高到 $r^2 = 0.8073$ 与 0.6825 ($n = 92$)。此外,标样组的样品代表性和化学分析结果的准确性都是造成 NIRS 技术预测结果与化学分析结果偏离的重要因素,可由提高定标模型的标样群体量来改善。

表 3 稻草标样纤维和硅化物成分的化学分析与交互验证值的相关性¹⁾(RSQ)

Table 3 Correlation(r^2) between Lab analyses vs. NIRS calibration of fibrous and silicon of rice straw

标样 Sample	半纤维素 HCellul	纤维素 Cellulose	木质素 AIL	可溶性硅 EBSi	不可溶硅 NDISi	总硅 ADISi
叶茎鞘 Fractions $n = 59$	0.8554	0.8558	0.8363	0.7409	0.7981	0.8392
整株稻草 Straws $n = 33$	0.8888	0.6247	0.2985	0.3579	0.8407	0.8734
合样 Over all $n = 92$	0.8872	0.8432	0.8073	0.6825	0.8193	0.8512

¹⁾ NIRS 交互验证值由总体样本预测模型得到 Validated data were from the equation of total straw samples

2.3 定标模型对待测稻草样品纤维及硅化物成分的预测分析

由表 4 看出,经 NIRS 分析建立的对稻草各纤维组分和硅化物成分的预测模型中,除可溶性硅的交互验证相关系数(1-VR) < 0.6 外,其它各系数均 > 0.7 ,因此认为,该模型可用于对同类样品纤维组分和硅化物成分的预测分析。预测验证中,模型对待测样品除木质素外的其它纤维成分和硅化物含量预测的相关系数(RSQP)均略低于模型的交互验证

相关系数(1-VR),这是因为小样本的待测未知样没有参与定标建模的总体样本。值得注意的是,待测样品各成分的化学分析值与对应预测值的相关性(r^2)均高于其模型的预测相关系数(RSQP),接近模型交互验证相关系数(1-VR)。这表明模型得到的预测值较为客观地描述了该待测样品成分含量的特性。若提高标样化学分析的准确度则能更好地改善模型对稻草纤维和硅化物成分的预测分析相关系数(RSQP)。

表 4 应用 NIRS 技术对稻草纤维和硅化物含量预测分析

Table 4 Predicting the fibrous and silicon content of rice straw with NIRS technique

组分 Constituents		预测模型 Equation					待测样本 Sample for prediction			
		N	SEC	RSQ	SECV	1-VR	N	SEPC	RSQP	r^{21}
半纤维素	HCellu	79	1.942	0.909	2.684	0.823	15	3.686	0.618	0.786
纤维素	Cellulose	78	1.907	0.848	2.377	0.769	15	2.873	0.577	0.759
木质素	AIL	77	1.192	0.739	1.249	0.714	15	1.116	0.781	0.883
可溶性硅	EBSi	79	0.710	0.774	0.998	0.554	15	1.481	0.294	0.543
不可溶硅	NDISi	77	0.769	0.920	1.106	0.834	15	1.243	0.675	0.821
总硅	ADISi	79	0.810	0.918	1.089	0.853	15	1.757	0.696	0.834

1) r^2 待测样 NIRS 预测值与样品化学分析值的相关性 Correlation between predictive-value and laboratory-value for analyzed samples

2.4 化学分析值 (Lab) 与预测值 (NIRS) 对稻草纤维和硅化物成分相关特性分析的比较

从表 5 可知,由 Lab 值与 NIRS 值分析的各成分间相关性趋势相同,且 NIRS 值分析的相关程度略高于 Lab 值的分析结果。结果表明,稻草中木质素含量和半纤维素、不可溶硅含量分别呈弱正相关($n_1 = 59; r^2 = 0.66, 0.65; n_2 = 92; r^2 = 0.65, 0.57, P < 0.05$),而稻草的不可溶硅与总硅含量则呈明显的正相关($n_1 = 59, r^2 = 0.83; n_2 = 92, r^2 = 0.87, P < 0.05$)。纤维成分间的相关分析结果趋势与此前研究报道^[3]基本一致,其相关性间接地证明了在稻草细胞壁形成中不可溶硅与半纤维素和木质素之间存

在着的结构关系,以及与木质素协同作用而构成对稻草纤维降解的阻碍作用。对采自福建省 13 个乡镇的 21 个水稻品种不同季节的稻草分析结果表明,虽然稻草纤维和硅化物成分的含量因地、因季节、因品种不同而存在差异,稻草各纤维组分间的相关程度有所变化,但其间的相关趋势一定。因此,有必要进一步扩大定标模型的样本量和代表性,提高标样化学分析的准确度,应用近红外光谱技术为分析稻草纤维和硅化物成分含量提供快速可行的预测通道,为深入研究稻草硅质化特性在水稻高产优质育种中的利用,以及为稻草合理化综合利用提供分析手段。

表 5 比较由分析值 (Lab) 和预测值 (NIRS) 对稻草纤维与硅化物成分间的相关关系 (r^2)Table 5 Comparing the correlation (r^2) of constituents analyzed from Lab value and NIRS predicted value respectively

	纤维素 Cellulose		木质素 AIL		可溶性硅 EBSi		不可溶硅 NDISi		总硅 ADISi	
	Lab	NIRS	Lab	NIRS	Lab	NIRS	Lab	NIRS	Lab	NIRS
叶茎稍样品	Fraction samples ($n_1 = 59$) ¹⁾									
半纤维素	-0.22	-0.23	0.45	0.66	-0.18	-0.05	0.44	0.64	0.33	0.54
HCellu										
纤维素			-0.38	-0.30	-0.03	0.02	-0.16	-0.40	-0.19	-0.34
Cellulose										
木质素					-0.43	-0.55	0.42	0.65	0.13	0.27
AIL										
可溶性硅							-0.18	0.08	0.54	0.48
EBSi										
不可溶性硅									0.74	0.83
NDISi										
总样本	Total samples ($n_2 = 92$)									
半纤维素	-0.01	-0.07	0.52	0.65	-0.32	-0.21	0.32	0.52	0.18	0.35
HCellu										
纤维素			-0.23	-0.10	-0.04	0.03	0.01	-0.14	-0.06	-0.11
Cellulose										
木质素					-0.45	-0.53	0.38	0.57	0.14	0.25
AIL										
可溶性硅							-0.21	0.03	0.43	0.47
EBSi										
不可溶性硅										
NDISi									0.80	0.87

1) $n_1 = 59$ 为稻草不同部位样品, $n_2 = 92$ 为分析总样 $n_1 = 59$ in total of fractions, $n_2 = 92$ in total of samples

3 结 论

近红外漫反射光谱技术(NIRS)用于稻草纤维组分和硅化物成分的快速预测,其待测样的化学分析值与对应预测值的相关性(r^2)均高于其预测模型的预测相关系数(RSQ),接近模型交互验证相关系数(1-VR)表明NIRS分析的预测值能较客观地描述被测样所分析成分的含量特性。

虽然定标建模的样本量在一定程度上影响了定标误差(SEC),同时也改变标样组光谱信息变异与实际化学分析结果变异的相关程度(RSQ),但标样组的个样代表性和化学分析结果的准确性,是造成NIRS模型的预测结果与化学分析结果偏离的重要因素。降低所建预测模型的交互验证相关系数(1-VR)很大程度上决定了所建模型的可应用性。因此,进一步研究和提高标样化学分析准确性时,应通过增加定标建模的标样组群体量和个样代表性,明确标样光谱信息最大变异区间,以达到改善所建模型在对同类样品快速分析预测应用中的适应性和预测置信度。

References

- [1] Shen H. Studies on untreated and urea-treated rice straw from three cultivation seasons. Agricultural University of Norway, 1998.
- [2] 沈恒胜,陈君琛,谢华安. 汕优63稻草营养品质与品种特性的关系. 福建农业科学, 2001, 16(2): 1-5.
Shen H S, Chen J C, Xie H A. Relationship between straw nutritive quality and variety feature of Shanyou63. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2001, 16(2): 1-5. (in Chinese)
- [3] 沈恒胜,陈君琛,倪德斌. 稻草硅化和溶解特性对稻草纤维降解率及其利用的影响. 中国农业科学, 2001, 34(6): 672-678.

Shen H S, Chen J C, Ni D B. Effects of rice straw silicification and characters of extraction biogenic silicon on the degradation of fibrous components in straw. *Scientia Agricultura Sinica*, 2001, 34(6): 672-678. (in Chinese)

- [4] Association of official analytical chemists, chapter 4, animal feed. In: *AOAC Official Methods of Analysis*. Ver. 16. 1995: 2.
- [5] Association of official analytical chemists, chapter 4, animal feed. In: *AOAC Official Methods of Analysis*. Ver. 16. 1995: 11.
- [6] Guzman J L, Garrido A, Gomez-Cabrera A, Guerrero J E, Murray I. Use of NIRS to estimate the improvement in digestibility after ammonia treatment of cereal straws. *Animal Feed Science Technology*, 1996, 57: 149-157.
- [7] Roza B, Martinez A. The use of near infrared reflectance spectroscopy to predict the nutritive value and *in vivo* digestibility of grass silages. In: Murray I, Cowe I A. eds. *Making Alight Work: Advances in Near Infrared Spectroscopy*. VCH, 1992: 269-271.
- [8] Clark D H. History of NIRS analysis of agricultural products. In: Marten G C, Shenk J S, Barton II F E. eds. *Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS): Analysis of Forage Quality*. Agriculture handbook No. 643. United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, 1985: 7-11.
- [9] Marten G C, Shenk J S, Barton II F E. *Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS): Analysis of Forage Quality*. Agriculture handbook No. 643. United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, 1985.
- [10] Mengel K, Kirkby E A. Further elements of importance. In: *Principles of Plant Nutrition*. Ver. 4. IPI Bern, Switzerland, 1987: 577-582.
- [11] Van Soest P J, Robertson J B. Analysis of forages and fibrous food. In: *A Laboratory Manual for Animal Science 613*. New York: Cornell University, Ithaca, 1985: 74-75, 80-82.
- [12] Van Soest P J, Robertson J B, Lewis B A. Method for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 1991, 74: 3 583-3 597.

(责任编辑 卞海军)