

А.Р.Цыганов, кандидат химических наук, доцент; В.И.Каль, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент; П.М.Рябцев, заведующий химико-экологической лабораторией
Белорусская сельскохозяйственная академия

УДК 581.192:633.14

Инфракрасный экспресс-метод определения биохимических показателей качества зерна озимой пшеницы

Применен инфракрасный экспресс-метод для определения биохимических показателей качества зерна озимой пшеницы.

Получены калибровочные уравнения для анализа показателей качества зерна озимой пшеницы, что является основной задачей при наработке программ анализов инфракрасным методом. При наработке программ на анализ качества зерна проведены химические анализы на содержание белка, жира, клетчатки, клейковины, золы, кальция, фосфора, калия. При сравнении результатов химического и инфракрасного анализов качества зерна озимой пшеницы установлена высокая сходимость результатов.

Эффективность применения ИК экспресс-метода обусловлена хорошей корреляцией между оптическими и аналитическими, а также качественными показателями.

Значительный объем агропромышленного производства в Республике Беларусь определяет потребность в большой работе по контролю качества сельскохозяйственной продукции на всех технологических стадиях выращивания, переработки и хранения, т.е. проведения большого количества анализов на многие показатели. Как правило, химические методы требуют большой затраты времени и средств, что определяет низкую производительность и высокую стоимость анализов. Значительные перспективы в автоматизации проведения аналитических работ как сельскохозяйственных, так и пищевых продуктов имеют инфракрасные методы. Методы инфракрасной спектроскопии основаны на изменении интенсивности отраженного инфракрасного излучения от поверхности анализируемого образца. Первые инфракрасные

Infra red express method was performed to define of biochemical quality indices of winter wheat grain.

Calibration equations have received to analyse quality indices of winter wheat grain that is the main task in the case of development of the programs of infra red method analysis. Chemical analysis have fulfilled as regards availability of albumen, fat, cellular tissue, ashes, calcium, phosphorus, potassium in the framework of these programs developing. Comparison of the results both chemical and infra red analysis of quality of winter wheat grain has shown their high similarity.

The efficiency of infra red express method application is grounded by quite good correlation between optical and analytical and quality indices.

анализаторы начали использоваться в агрохимических анализах в США около 30 лет назад К.Норрисом, а в настоящее время во всем мире используются десятки тысяч анализаторов более 30 модификаций [1-6].

Метод ИК-спектроскопии в ближней области наиболее чувствителен к анализу таких показателей, как влажность, белок, жир, крахмал, зола, клетчатка, клейковина и др.

Инфракрасный анализатор /NIR SCANNER model 4250/, использованный нами, разработан фирмой "Пацифик Сайентифик" /США/, научно-методическим центром по инфракрасной спектроскопии ВИАУ НПК "ИК - Луч" /СССР/ и фирмой "М.Ж.Экспорт" /Индия/. ИКС-3 работает в ближней инфракрасной области, расположенной между видимым диапазоном электромагнитного спектра и фундаментальной ИК-областью,

ориентировочно в интервале от 1620 до 2320 нанометров (нм). Видимый диапазон характерен тем, что электромагнитные волны в этой области содержат относительно хорошо разрешенные полосы поглощения, связанные с колебательным, вращательным и колебательно-вращательным движением молекул. Колебательные и вращательные движения атомных групп молекулы характеризуют ее структуру и поэтому тесно связаны с химическим составом вещества. Однако не каждое колебание молекул сопровождается появлением соответствующей полосы в ИК-спектре (молекулы водорода, кислорода, азота и др.). Электромагнитное излучение в ближней ИК-области проникает в исследуемую пробу на несколько миллиметров. Это позволяет анализировать пробу, используя режим диффузного отражения. Диффузное отражение характеризуется тем, что изменения амплитуды электромагнитных колебаний при прохождении через анализируемый образец определяются не только поглощением отдельных атомных групп, но и рассеиванием на частицах вещества. Величина рассеивания зависит от размеров частиц, степени их сжатия. Обычно спектры сельскохозяйственных продуктов в ближней ИК-области имеют несколько широких, слабо разрешенных максимумов поглощения. Поэтому длины волн, выбранные для анализа того или иного показателя, не обязательно лежат на линиях максимального поглощения. В этом заключается одна из основных проблем, связанных с проведением аналитических работ на ИК-анализаторе – поиск аналитических длин волн, на которых наблюдается приемлемая корреляция между химическими и оптическими данными. Довольно сложный характер спектров в ближней ИК-области выдвигает на передний план статистические методы расчета с использованием ЭВМ [7].

В инфракрасном анализаторе 4250 сканирующий прибор соединен с персональным компьютером, имеющим мощное программное обеспечение, позволяющее проводить сбор, хранение, обработку оптических данных для нахождения оптимальных длин волн, вида градуировочного уравнения и математического преобразования спектра.

Оптический блок, основу которого составляет голографическая дифракционная решетка и три подвижных интерференционных фильтра, обеспечивает получение оптических данных в диапазоне длин волн от 1620 до 2320 нм в 375 точках. Благодаря вращению кюветы с образцом и устранению спектров компенсируется неоднородность пробы. Прецизионные оптические, электронные и механические узлы обеспечивают стабильность и воспроизводимость результатов.

Однако необходимо отметить, что инфракрасные анализаторы поставляются для пользователей без банка данных, что требует значительных затрат на получение химических данных на каждый сельскохозяйственный продукт и получение оптических калибровочных данных. В связи с вышеизложенным нами проведена обработка методики инфракрасного анализа ка-

чества зерна озимой пшеницы. Были введены данные по 162 образцам на содержание белка, жира, клетчатки, золы, клейковины, кальция, фосфора, калия.

Программное обеспечение для расчета градуированных параметров ИК-4250 состоит из следующего пакета:

1. С помощью программы NIR – 42 записываем спектры образцов, отобранных в качестве калибровочных.

2. В программе “ДАТА” вводим данные лабораторного анализа в файл, содержащий спектральные данные.

3. С помощью программы “UNICAL” производится автоматический вывод калибровочного уравнения. При наличии обширного и представительного набора образцов программа создает универсальные калибровочные уравнения, которые могут давать достаточно точные результаты при анализе широкого круга образцов.

4. Вводим уравнение в файл INIT-42. SYS.

5. В программе “ANL” рассчитываем содержание компонентов с помощью калибровочного уравнения с использованием ранее собранной спектральной информации.

6. С помощью программы “STAT” производим статистический анализ полученных результатов и сравниваем их с данными химического анализа.

7. Возвращаемся в программу “ДАТА” для проведения коррекции информации в калибровочном файле. Из расчета исключаются те компоненты, в которых расхождение между NIR и химическими выше допустимых.

8. С помощью программы “UNICAL” выводим окончательное калибровочное уравнение на основании отредактированного спектрального файла.

9. Вводим новое уравнение в файл INIT-42. SYS.

10. Используя полученное калибровочное уравнение, с помощью программы NIR анализируем новые образцы с неизвестным содержанием компонентов.

Мощное программное математическое обеспечение имеет принципиальное значение при градуировке инфракрасного анализатора. При наличии малого числа калибровочных образцов трудно принять обоснованное решение по выбору наилучшего калибровочного уравнения. Минимально допустимое количество образцов в калибровочном наборе – 50. Если число проверочных образцов слишком мало, статистические данные о качестве проведенной калибровки вводят в заблуждение.

В калибровочный набор включено максимально возможное число образцов зерна озимой пшеницы для получения возможно точного калибровочного уравнения (табл.1). При выборе оптимального числа членов калибровочного уравнения использован метод модифицированной пошаговой регрессии.

Качество проведенной градуировки ИК-анализатора определяется коэффициентом множественной корреляции, стандартной ошибкой калибровки, стан-

Таблица 1. Калибровочное уравнение для озимой пшеницы

Показатель	N	Среднее	SEC	RSQ	SEV(c)	RSQ _i	n
Белок	107	13,184	371	966	340	972	3
Жир	104	1,536	153	203	150	251	1
Клетчатка	100	2,097	135	000	161	000	1
Зола	109	1,707	092	605	088	551	4
Кальций	117	432	046	695	045	746	3
Фосфор	107	783	079	691	087	683	3
Калий	104	619	067	386	070	488	2
Клейковина	81	24,748	1,612	923	1,701	901	2

Примечание: RSQ_i – часть объяснимой дисперсии для проверочного набора;

RSQ – часть объяснимой дисперсии для калибровки;

n – число членов управления.

дартной ошибкой предсказания, скорректированной ошибкой предсказания, смещением. Для оценки этих параметров необходима информация о результатах химических анализов – V. CHEM и полученных на ИК-анализаторе – V. NIR. Коэффициент множественной корреляции определяет меру линейности между V. CHEM и V. NIR. Качество калибровки характеризуется величиной стандартной ошибки калибровки SEC. Лучшей калибровке соответствует большая величина SEC, которая рассчитывается:

$$SEC = \sqrt{\frac{\sum (V. CHEM - V. NIR)^2}{W - K - 1}}$$

где K – количество степеней свободы;

W – количество образцов.

Стандартная ошибка предсказания, скорректированная на систематическую (для проверочного набора), рассчитывается:

$$SEV(c) = \sqrt{\frac{\sum (V. CHEM - V. NIR)^2}{V - K - 1}}$$

где V – число образцов, используемых при расчете уравнения среднего – среднее значение лабораторных данных, используемых при калибровке.

Как видно из данных табл.1, в калибровочном уравнении “усеченные” статистические характеристики / SEC и SEV (c) / по каждому компоненту не имеют резких различий между собой. Это указывает на то, что у калибровочных образцов нет отклонений в пределах допустимых величин. “Усеченные” статистики SEC и SEV (c) рассчитываются на основе лишь тех значений, для которых значения T (критерий Стьюдента) не выходят за допустимые пределы. Этот параметр задает границы критерия Стьюдента T, при выходе за которые расхождение между данными ИК-анализа и результатом лабораторного метода сравнения для соответствующего образца считаются неприемлемыми. Обычно рекомендуемое значение устанавливается равным 3. Ошибка калибровки SEC и ошибка предсказания SEV (c) при правильном выборе уравнения должны максимально приближаться к нулю. Если SEV (c) не превышает SEC более чем на 30%, то значит распределение выбросов в калибро-

вом и проверочном подмножеством образцов весьма сходно для данного уравнения.

Таким образом, основным итогом работы является получение калибровочного уравнения, с помощью которого можно анализировать неизвестные образцы.

В табл.2 приведены данные для сравнения химического и инфракрасного анализов по 10 неизвестным образцам зерна озимой пшеницы. Сходимость результатов по всем анализируемым компонентам (белок, жир, клетчатка, кальций, фосфор, калий, клейковина) достаточно высокая. Это обуславливает высокую эффективность применения инфракрасного экспресс-метода определения показателей качества зерна озимой пшеницы.

Анализируя данные по коэффициентам вариационной статистики (табл.3), следует отметить, что средняя арифметическая для хим-анализа для всех показателей качества зерна одинакова, кроме клейковины, и составляет соответственно 28,4 и 23,4.

Среднее квадратичное отклонение для белка составляет 0,67, средняя ошибка – 0,21, коэффициент вариации – 5,5%, точность опыта – 1,7%. По остальным показателям качества зерна статистические коэффициенты находятся в более широких пределах. Так, среднее квадратичное отклонение колеблется в пределах от 0,1 до 2,98, средняя ошибка – 0,03-0,94, коэффициент вариации – от 5,5 до 25,5%, точность анализов – от 1,73 до 9,3%.

Литература

1. Кислер И. Методы инфракрасной спектроскопии в химическом анализе. – М., Мир, 1964. – 287 с.
2. Малышев В.И. Введение в экспериментальную спектроскопию. – М., Наука, 1979. С. 27.
3. Толмачев Ю.А. Новые спектральные приборы. – Л., Изд. ЛГУ, 1976. – 126 с.
4. Лебедев В.В. Техника оптической спектроскопии. – М., Изд. МГУ, 1977. – 382 с.
5. Смит А. Прикладная ИК-спектроскопия. – М., Мир, 1982. – 327 с.
6. Мальцев А.А. Молекулярная спектроскопия. – М., Изд. МГУ, 1980. – 271 с.
7. Эляшберг М.Е., Грибов А.А., Серов В.В. Молекулярный спектральный анализ и ЭВМ. – Наука, 1980. С.8.

Таблица 2. Результаты химического и инфракрасного анализов образцов озимой пшеницы, в % на воздушно-сухое вещество

№	Наименование	Белок	Жир	Клетчатка	Зола	Кальций	Фосфор	Калий	Клейковина
1.	Хим-данные	9,98	1,60	2,77	1,66	0,46	0,55	0,70	13,05
	NIR-данные	9,84	1,70	2,28	1,73	0,47	0,53	0,72	14,19
2.	Хим-данные	10,60	1,68	2,08	1,78	0,42	0,53	0,62	20,82
	NIR-данные	10,69	1,71	2,10	1,73	0,37	0,60	0,68	21,56
3.	Хим-данные	11,12	1,42	2,15	1,72	0,41	0,83	0,70	20,00
	NIR-данные	11,02	1,54	2,10	1,78	0,42	0,89	0,65	19,96
4.	Хим-данные	12,31	1,22	2,04	1,61	0,32	0,78	0,62	27,75
	NIR-данные	12,54	1,57	2,08	1,69	0,37	0,72	0,66	26,30
5.	Хим-данные	12,26	1,83	2,09	1,80	0,35	0,64	0,72	20,10
	NIR-данные	12,25	1,71	2,08	1,84	0,40	0,68	0,70	21,90
6.	Хим-данные	13,00	1,57	2,17	1,88	0,32	0,72	0,68	25,27
	NIR-данные	12,55	1,52	2,09	1,79	0,34	0,77	0,69	25,17
7.	Хим-данные	14,19	1,65	1,96	1,64	0,43	0,73	0,62	33,12
	NIR-данные	14,51	1,52	2,07	1,72	0,39	0,74	0,60	32,95
8.	Хим-данные	12,88	1,49	2,29	1,42	0,47	0,97	0,39	27,60
	NIR-данные	12,55	1,52	2,13	1,49	0,50	0,95	0,42	26,11
9.	Хим-данные	13,63	1,49	2,18	1,64	0,45	0,93	0,55	24,70
	NIR-данные	13,57	1,49	2,11	1,59	0,89	0,89	0,59	25,86
10.	Хим-данные	12,23	1,33	2,27	1,60	0,60	0,99	0,67	18,10
	NIR-данные	12,52	1,47	2,13	1,59	0,56	0,91	0,65	19,94

Таблица 3. Коэффициенты вариационной статистики инфракрасного анализа образцов озимой пшеницы

Показатель	M	M_1	σ	m	$V\%$	$P\%$
Белок	12,2	12,2	0,67	0,21	5,5	1,73
Жир	1,5	1,5	0,36	0,11	22,7	7,0
Клетчатка	2,1	2,1	0,37	0,11	17,3	5,2
Зола	1,6	1,6	0,21	0,06	1,2	3,9
Кальций	0,4	0,4	0,11	0,04	25,5	9,3
Фосфор	0,7	0,7	0,14	0,04	18,2	3,0
Калий	0,6	0,6	0,1	0,03	15,8	4,7
Клейковина	28,4	23,4	2,98	0,94	11,5	3,6

где M – средняя арифметическая хим-анализа;
 M_1 – средняя арифметическая инфракрасного анализа;
 σ – квадратичное отклонение;
 m – средняя ошибка;
 V – вариационный коэффициент;
 P – показатель точности.