

# 近紅外線光譜儀-現在及未來之應用

## Near Infrared Spectroscopy: Present and Future Applications

Nelson Ruiz, Ph.D., ContiGroup Companies, Inc, U.S.A.

利用近紅外線光譜儀 (NIRS)於飼料分析並不是個新的嘗試，早在 25 年前即有相關的應用。Hymowitz 於 1974 年、Rinne 及 Williams 於 1975 年及 Norris 於 1976 年均有 NIRS 在飼料領域上的研究或應用。由於近年來電腦科技的進步及商業化應用的普及；統計研究人員，數學研究人員或化學研究人員可以利用簡單的程式或軟體來處理大量的數據。因此，不需要具備統計或化學背景也可以輕易的操作 NIRS。不諱言的，NIRS 可以用來分析生物產品中任何可能的分析物。NIRS 可以用來分析生物產品中大量的組成分，甚至連微量的有機或無機物質都可以檢測。

使用 NIRS 最大的優勢在於其為非破壞性分析法。因此，不需要任何的化學試劑。僅需要數分鐘就可以分析出數種飼料中的組成。相較於傳統的分析則可能需要數小時或數天才能完成一種組成的分析。本文將以客觀的角度來介紹利用 NIRS 這種新的分析工具在動物飼料產業上的應用。

### NIRS 簡介

紅外線是屬於電磁波的一種光譜，通常是超過可見光區的最長波。而近紅外線如其名是指在紅外線可見光區中較近的區間 (如圖 1 所示)。光譜學家們將紅外線的依其光譜區間分為近，中及遠紅外線。在實際應用上，構成近紅外線的波長介於 800 至 2500 奈米。有許多相當不錯的研究利用近紅外線技術來分析飼料原料、預混料或完全飼料中的純化學物質或化合物(Dyer and Feng, 1997; McGinnis, 1998)。

值得一提的是，目前有二種近紅外線的技術可應用於飼料組成分析：近紅外線反射比 (NIR)及近紅外線透射比 (NIT)。前者是建立於近紅外線的放射線自樣品表面反射至感應器之數值，而後者是藉由近紅外線穿透樣品所得之數值。而近紅外線反射比一般需要先將樣品研磨至具相同大小的表面來測量反射值。而近紅外線透射比則幾乎不需要任何樣品前置處理。因此，近紅外線透射比分析法會較近紅外線反射比分析法較迅速且有較佳的再現性。但近紅外線反射比法則較近紅外線透射法敏感度佳。

基本上，NIRS 主要是應用於有機化會物中富含有 O-H 鍵結 (例如：水份、碳水化合物及脂肪)、C-H 鍵結 (例如：有機化合物或石油衍生物)和 N-H 鍵結 (例如：蛋白質或胺基酸)。NISR 儀器的作用主要統計相關性的方法來分析 NISR 於不同波長的信號及欲分析物質及特性。換言之，NIRS 是利用數學統計的方法來取得各樣品中的各種組成訊息。因為所有其生物活性的物質都具有 O-H、C-H 和 NH 等分子鍵結。因此，當生物樣品如飼料暴露在近紅外放射線中，會產生錯綜複雜的光譜。而藉由分析這些光譜可以取得樣品之物理及化學組成特性。每一種生物物質都具有其獨特的 NIRS 光譜。如果二個生物樣品具有相同的光譜，我們便可推測此二種樣品可能具有相同的物理及化學特性。反之，如果光譜不同，則可推測此二種樣品可能具有不同的物理或化學特性。

而實際上樣品組成如蛋白質或離胺酸等量化的數值，主要是利用一種化學量化刻度來評估其含量。Jordon 博士 1996 年時指出 NISR 是建立在化學分析及數學統計模式分析二個基礎上。這個化學量化刻度是利用統計方法如多重線性回歸 (multiple linear regression ; MLR)、不完全最小平方 (partial least squares ; PLS)及主要組成分分析(Principle component analysis ; PCA)等方法來分析光譜資料及樣品化學組成的相關性。而這些化學或物理特性數質是由光譜推測得來而非直接分析樣品中特定組成濃度。因此，在建立這些光譜與特定成份的物理或化學特性時，必需先利用實驗室中傳統的分析方法來建立最初的標準曲線。在建立起標準曲線後，樣品便可藉由 NIRS 掃描後的光譜數據並經由統計方法來推測該樣品的化學組成。

從實務的角度來看，大家需要了解二個基本的概念：Globe-H (GH) 及 Neighborhood-H (NH)。在 NIRS 中利用的化學量化刻度需要轉化二維的光譜資料成為一個經由多重數學模式所呈現出的多元數值。簡言之，這些二維的光譜可以經由數學統計模式同時透過圖表的方式具體的來解釋該樣品的組成特性。

如圖 2 所示，GH 在實務上的重要性是該軟體會告訴分析者，其所分析之樣品並不在已經建立化學量化刻度的標準樣品組成份資料庫；換言之，可能該樣品存在未知的化學組成。當 GH 數值低於 3.0 時，表示受測的樣品內之組成份均在已建立的標準樣品組成份資料庫中。而當 GH 數值高於 3.0 時，表示該受測樣品含有未知物質。以混合飼料為例，當使用 NIR 做為品管時，若 GH 高於 3.0 則表示該混合飼料可能受其它外來物質污染。因此，可能需要進一步的將該樣品送至實驗室做傳統化學分析。在得到此一新物質資訊後，便可再進一步將此一新物質建立至 NIRS 的化學量化刻度的標準樣品組成份資料庫中，做為未來分析此物質的依據。

而當 NH 值低於 0.6 時表示受測物質之光譜與資料庫中之化學組成十分相似，因此，所推測之組成份分析信賴度十分高。而當 NH 值接近 1 時，表示 NIRS 分析值可信賴度不高，即便是 GH 值低於 3 也不應採用此推測值。若以人類言語來表達，NIR 軟體其實想藉由 GH 及 NH 二個值來告訴使用者：“是的，我以前看過這個樣品，這是我的推測值，相信我”。或者是“對不起，我以前從來沒見過這種東西，你最好到實驗室中做傳統分析。”

## NIRS 使用需求配備

### 一、NIS 光譜儀

目前市面上有許多種不同的 NIRS 光譜儀可供選擇。在選擇建議上，以實用為原則，選擇該機型具有欲使用之光譜長度，同時搭配的軟體也可以配合分析光譜結果。就動物飼料而言，我們需要大量分析需多不同原物料的化學組成份。因

此在硬體及軟體的選擇上需要十分注意。一般使用在農業應用上的光譜波長範圍介於 1100 至 2500 奈米間。但有很大的可能性需要使用更廣的範圍。而目前市面上亦有 NIR 光譜儀具有 400 至 2500 奈米波長的機型。

## 二、電腦

目前市面上許多 NIRS 的機器均需額外配備電腦來使用搭配之分析軟體。因此，需備配一台符合 NIRS 儀器廠商建議需求之電腦。

## 三、小型實驗室用研磨機

雖然部份原料可以不需研磨即可建立化學量化刻度。但大多數樣品是需要先研磨至一定顆料大小。如青貯料或草料，或者是用來測定總胺基酸或可消化胺基酸，都必需先將樣品研磨至一定大小。樣品顆料大小對 NIRS 分析的可信度及再現性非常重要。將樣品研磨至小於 1000 微米時將會導致樣品水分嚴重的流失。由於有許多其它替代方法可以用來測定水分，因此一般使用 NIRS 分析多會以乾基的方法來測定。

## 四、傳統化學分析實驗室

雖然使用 NIRS 儀器來做為例行分析可以減少許多傳統化學分析的時間，一般大型飼料公司會建立一個 NIRS 儀器網絡，在其傳統化學分析實驗室中有一中央 NIRS 設備。同時在各個不同的地區飼料廠中設置衛星 NIR 設備。所有的衛星 NIRS 均接收來自中央 NIRS 所建立的標準樣品組成份資料庫。雖然 NIRS 具有相當高的便利性，但仍然需要不斷的利用傳統化學分析方法做監測及修正。因為所以 NIRS 建立的化學量化標準刻度都是建立在精確及準確的傳統化學分析方法上。

## 五、一個稱職的 NIRS 分析管理人員

NIRS 需要有個負責的分析管理人員。而這個 NIRS 分析管理人員最好具有化學或營養背景。而分析管理人員不但要負責 NIR 儀器及軟體的使用，也要建立及監控各組成份的標準刻度。也因此該分析管理人員需同時也熟悉傳統的飼料分析方法。

## NIRS 的優缺點

使用 NIRS 具有以上優點：

- 一、 方便迅速，而由於不需要化學試劑，因此是個較安全的檢驗方法。
- 二、 就例行性分析而言，NIRS 的檢驗成本大約為傳統分析方法的三分之一。
- 三、 樣品前處理較簡單。
- 四、 可以在一天內分析許多不同的組成份。
- 五、 NIRS 方法較傳統實驗室方法準確。

## NIRS 之缺點

- 一、 初期投資成本高。
- 二、 建立各組成份之標準曲線耗時耗力。

建立標準曲線主要重點並不在建立數學或統計模式，建立標準曲線主要是建立一個可信的樣品資料庫，這些樣品可以是原物料、飼料或是動物排泄物。而這個資料庫數據必需包含一個廣大範圍的波長區間。然而在建立這個資料庫時，並不需要利用傳統方法分析所有樣品。因為 NIRS 軟體會主動選擇出需要進一步進行傳統分析方法的樣品。

## NIRS 在飼料上之應用

圖 3 為一個典型的 NIRS 在原物料的應用(評估黃玉米及高脂玉米之油脂質含量)。而 NIRS 的軟體會進一步藉由原本建立之標準曲線資料庫來推測油脂含量 (如表 1 所示)。

在 1997 年家禽科學營養研討會中，有二篇關於文獻利用近紅外線技術來改善飼料廠品管及飼料配方設計的速度及準備性 (Lesson, 1997; Kempen *et al.*, 1997)。Kempen *et al.* (1997) 的報告也利用 NIRS 來評估商業化完全家禽飼料中之可消化胺基酸的變異性，並利用 NIRS 之檢測提高飼料品質來改善家禽的經濟性能表現。

Kempen *et al.* (1997)及 Kempen 和 Bodin (1998)的文章中利用典型的誤差及 r-square 值來預測飼料原料中的真胺基酸消化率 (如圖 4 所示)。這是一個很好利用動物試驗(*In vivo*)及體外試驗(*In vitro*)之相關性來建立 NIRS 應用技術的例子，可用來做為例行品管監測及飼料配方設計。NIRS 可能是目前最快速的 *In vitro* 技術。同時 NIRS 分析結果可以與大部份複雜、昂貴且耗時的 *In vivo* 結果具高度相關性。

另 Valdes 和 Lesson(1992) 利用 NIRS 技術結合家禽營養在 *In vivo* 和 *In vitro* 之關係來預測原物料及家禽飼料的表面代謝能 (AMEn)。

最後在圖 5 及圖 6 顯示利用 NIRS 技術做為家禽完全飼料的品管，利用 NIRS 可以在飼料離開飼料廠前快速且低成本的做飼料組成分析。在過去，一般認為 NIRS 可能會影響飼料生產流程。但目前的技術，NIRS 更快速更簡便，因此並不存在這個問題。

### **NIRS 技術其它之應用**

NIRS 分析是一個利用光譜數據及原物料化學特性及組成相關性的一個間接分析方法。而 NIRS 還有許不多同的應用，Jordon(1996)年利用 NIR 技術來利用來分析葡萄乾的水份、糖份及酸度；因為葡萄乾之水份、糖份及酸度與其大小，外觀及表面皺折有關。

NIRS 技術也曾被利用來預測雞肉的烹煮失重 (cooling lose)及屠體分級 (Park *et al.*, 1996)。Smith *et al.* (1999)也成功的利用 NIRS 來預測家禽排泄物中之植酸磷、水份、氮、鈣、總磷及總能。

# 電磁波光譜

1

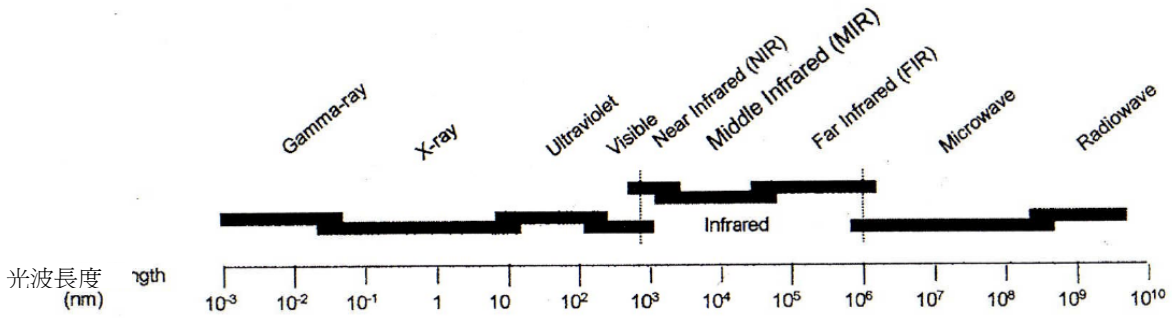


圖 1. 1.1

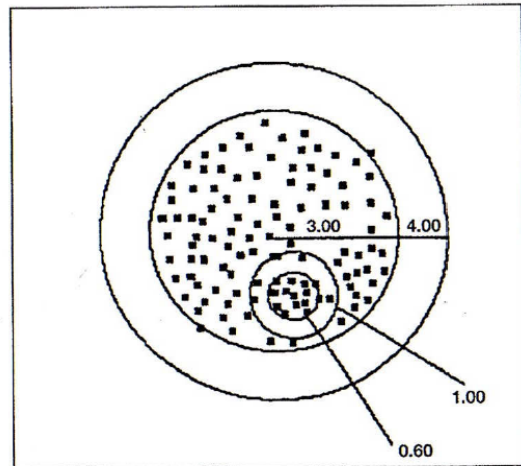
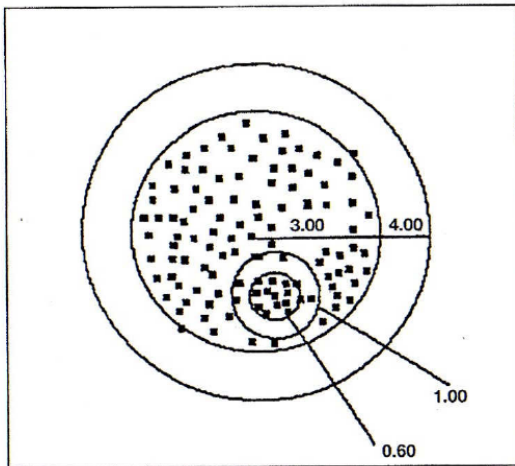
Cortesia de Foss NIRSystems

FOSS TECATOR

Fig 2: GLOBAL H & NELGHBORHOOD H

MIXED FEEDS

MEAT AND BONE MEAL



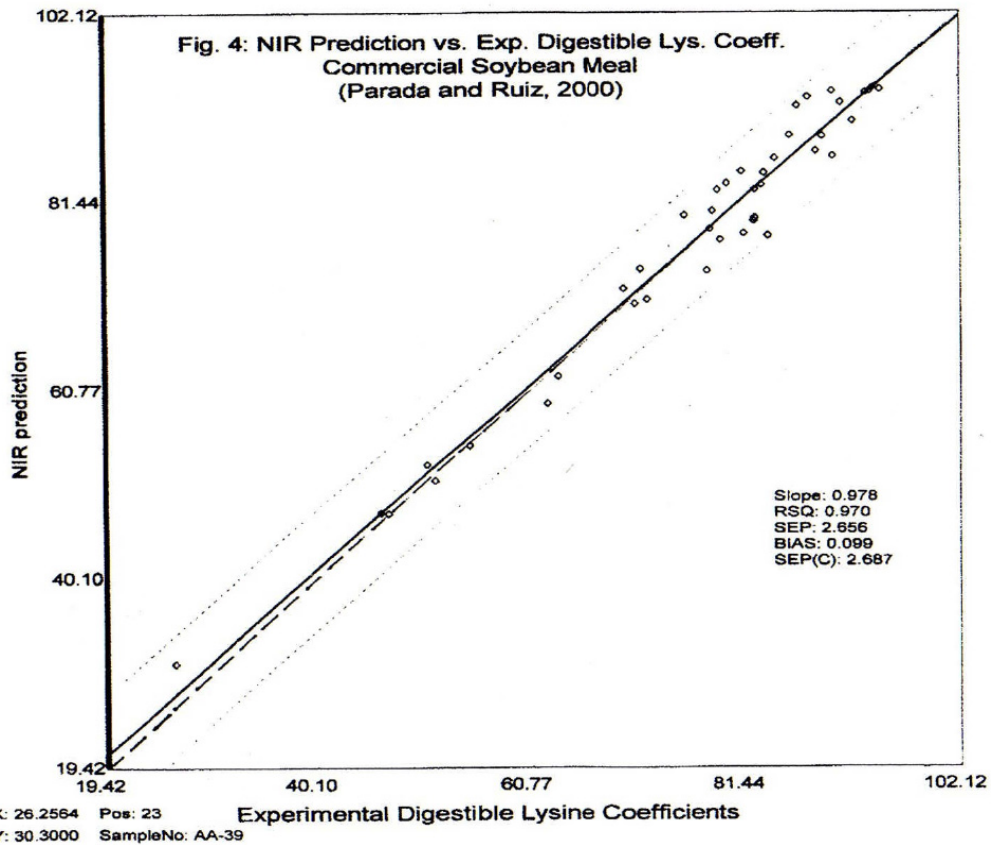
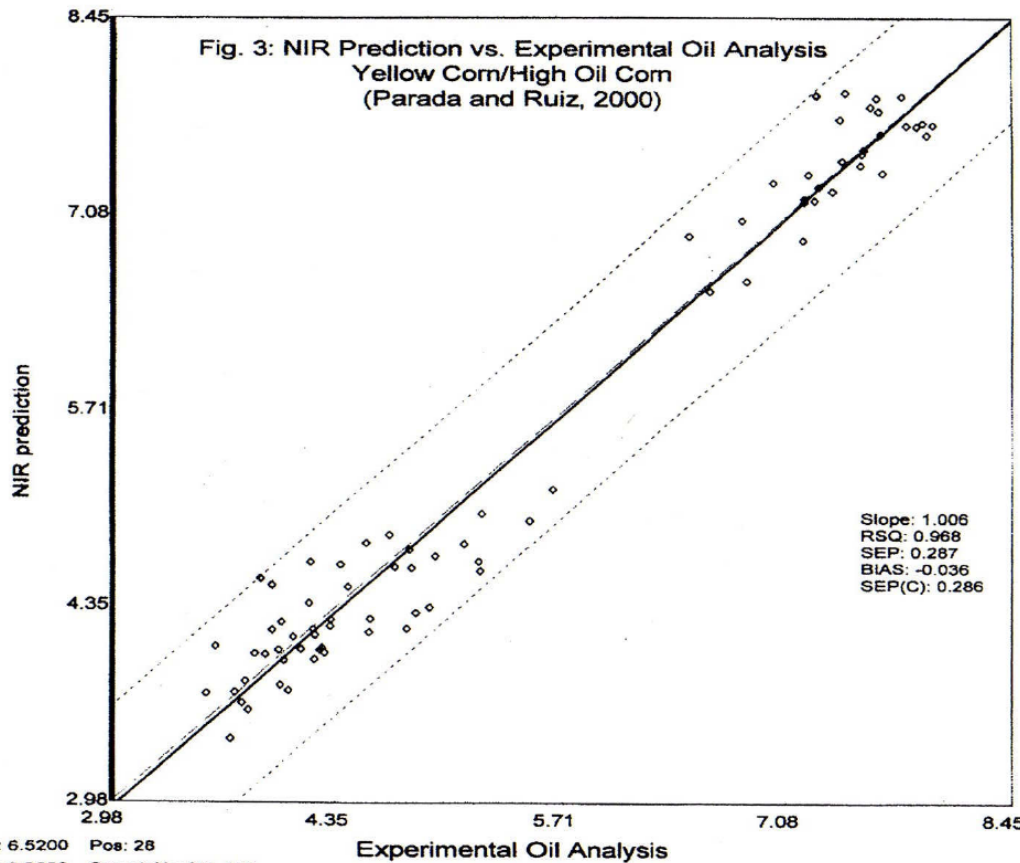
Global H = G 'H'

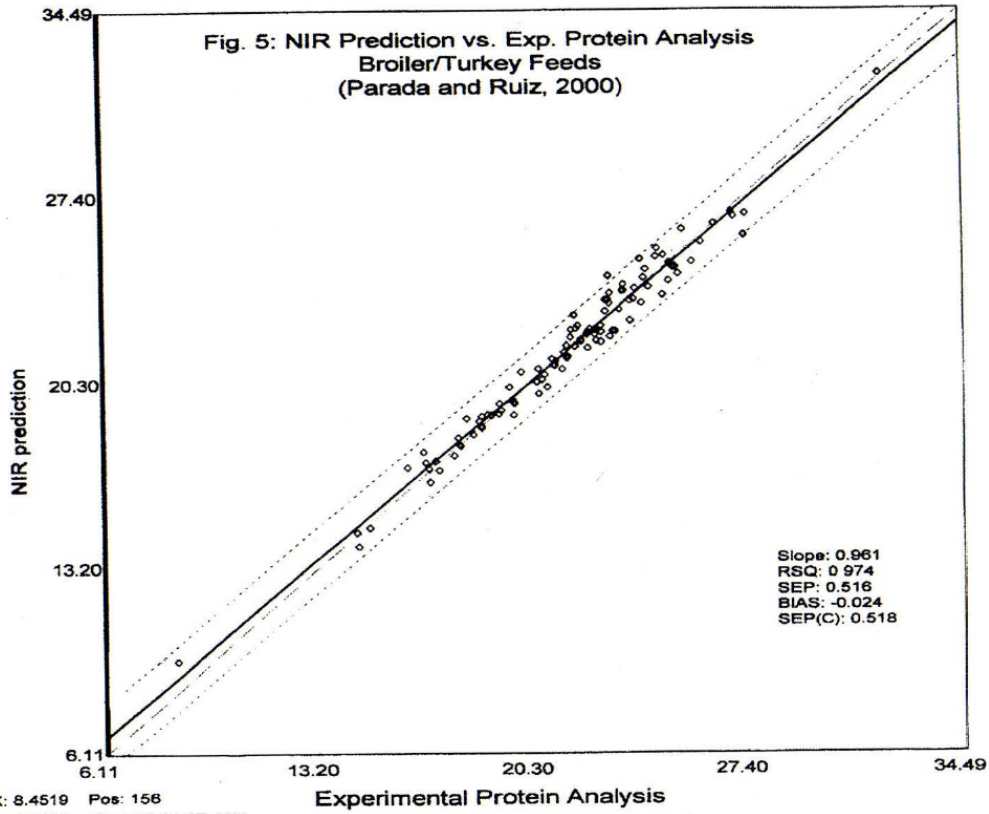
- 0.00 - 2.99 = No Stars
- 3.00 - 3.99 = One Star \* High G 'H'
- 4.00 - >4.00 = Two Stars \*\* High G 'H'

Nighborhood H = N 'H'

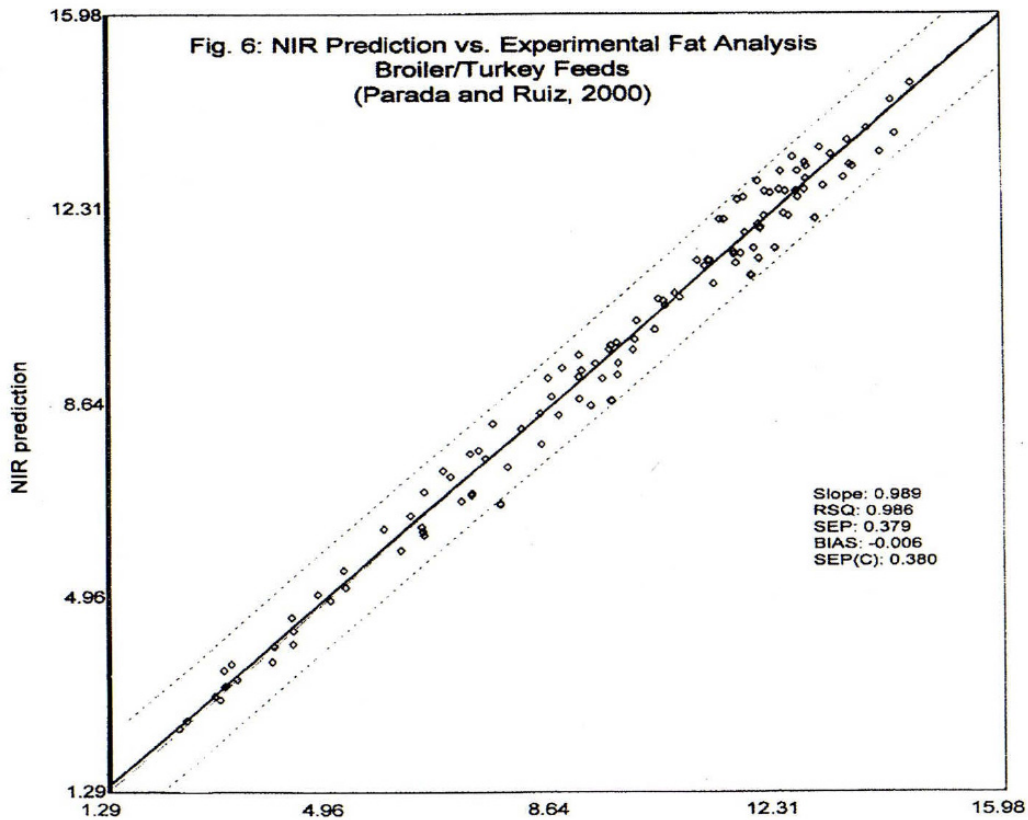
- 0.00 - 0.59 = No Stars
- 0.60 - 0.99 = One Star \* High G 'H'
- 1.00 - >1.00 = Two Stars \*\* High G 'H'

(Courtesy of Foss NIRSystem)





蛋白質分析



脂肪分析

表 1. 圖 3-6 的原始數據

類別	SEP	RSQ	N	範圍(%)	斜率
圖 3. 飼料黃玉米的油脂含量	0.287	0.968	78	3.43 – 7.91	1.006
圖 4. 黃豆粕的離胺酸消化率	2.656	0.970	41	30.3 – 93.8	0.978
圖 5. 家禽飼料中的蛋白質含量	0.516	0.976	130	9.6 – 32.0	0.968
圖 6. 家禽飼料中的脂肪含量	0.546	0.972	134	2.53 – 14.34	0.985

SEP: 標準機差：數據的最小與最大值。

RSQ: 複回歸判定係數：實際試驗數據與 NIR 的斜率。

N: 試驗中所使用的黃豆粕(SBM)樣品數。