|  |  |
| --- | --- |
| ICS  | 65.020 |
| CCS  |

|  |
| --- |
| D:\000000部门项目\09标准化插件开发\程序源代码\StandardEditor_ShanDongKeXieYuan\团标首页面字母T.pngD:\000000部门项目\09标准化插件开发\程序源代码\StandardEditor_ShanDongKeXieYuan\团标首页面字母T后面的反斜杠.png CSTC |

B30 |

中国热带作物学会团体标准

T/CSTC XXXX—XXXX

原料蔗品质快速检测技术规程

Technical specification for rapid detection of sugarcane quality by NIRS

XXXX - XX - XX发布

XXXX - XX - XX实施

中国热带作物学会  发布

1. 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。

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。

本文件由中国热带作物学会提出并归口。

本文件起草单位：广西大学、农业农村部全国农业技术推广服务中心。

本文件主要起草人：黄江锋、张木清、王茂瑶、姚伟、陈保善、颜宁、沈银娟、蒋洪涛、陈常兵、史梦雅、胡琴、肖胜华、余凡、暴怡雪、蒋福红、胡倩。

原料蔗品质快速检测技术规程

* 1. 范围

本文件规定了近红外光谱技术快速测定原料蔗蔗茎品质指标的定标模型建立和检测技术要求。

本文件适用于甘蔗品种（系）在不同成熟期葡萄糖、果糖、蔗糖、纤维分、重力纯度及水分含量指标快速检测。

* 1. 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 10498 糖料甘蔗

GB/T 9289-2010 制糖工业术语

GB/T 2677.2-2011 造纸原料水分的测定 第7部分和第8部分

NY/T 1841-2010 苹果中可溶性固形物、可滴定酸无损伤快速测定 近红外光谱法 第3部分和第4部分

* 1. 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

原料蔗 sugarcane

供糖厂加工制糖的甘蔗，去除了叶片、叶鞘和嫩梢。

定标模型 calibration model

利用化学计量学方法建立的近红外光谱与对应的标准理化分析方法测定值之间关系的数学模型

马氏距离 mahalanobis distance

表示数据的协方差距离、计算两个未知样本集的相似度的方法，通常用字母H表示。

马氏距离阈值 mahalanobis distance limitation value ($H\_{L}$)

$$H\_{L}=\overline{H}+3×SD\_{MD}$$

式中：

$\overline{H}$——定标集样品马氏距离的平均值；

$SD\_{MD}$——定标集样品马氏距离的标准差。

异常样品 abnormal sample

试样的马氏距离（H）大于马氏距离阈值（$H\_{L}$）,已超出了该定标模型的分析能力的样品。

* 1. 仪器
		1. 甘蔗粉碎系统

DM540-CPS（或其它等效系统）。该系统通过高速旋转刀片将甘蔗迅速粉碎，并同步将粉碎的样品传送到检测系统。

* + 1. 近红外光谱采集系统

MATRIX-F（Bruker Optik GmbH，Germany）近红外光谱仪配备Q419探头，波长范围4000 ~ 12000 cm-1。配备OPUS软件包（7.8版及以上版本）。

* + 1. 高效阴离子色谱系统
	1. 定标及检测流程

利用近红外光谱法快速检测原料蔗品质包括定标建模流程和检测流程，流程图见图1。



**图1 原料蔗品质快速检测流程图**

* 1. 定标建模与模型维护
		1. 定标模型建立和验证

采集纤维份、蔗糖分差异明显且成熟度不同的甘蔗样品（不少于300份）作为样品集。采用随机抽样的方式，将样品集的4/5作为定标集，1/5作为验证集。样品经DM540-CPS系统粉碎后，用MATRIX-F近红外光谱仪扫描获得光谱信息。用标准理化分析方法测定品质指标；用化学计量学方法建立定标模型，并用外部验证方法检验模型。原料蔗品质指标标准理化分析的详细信息见附录A；化学计量学建模及验证信息见附录B。模型验证各指标要求：*RMSEP*（残差均方根）应按照附录C的要求不高于表C.1所示参数要求的数值，*R2ev*（外部验证决定系数）和*RPD*（性能偏差比）应按照附录C的要求不低于表C.1所示参数要求的数值。

* + 1. 模型维护升级

模型应用过程中逐年添加异常样品到定标集中，更新模型以提高其适用范围。模型更新维护详细信息见附录B.6。模型应用各指标要求：*RMSEC* 和*RMSECV*应按照附录C的要求不高于表C.2所示参数要求的数值，*R2*、*R2ev*和*RPD*应按照附录C的要求不低于表C.2所示参数要求的数值。

* 1. 待测样品检测
		1. 待测样品制备

采集具有代表性的甘蔗6根（不少于3 Kg）。

* + 1. 样品检测

待测原料蔗样品经DM540-CPS系统粉碎后，实时传送到MATRIX-F近红外光谱仪，用Q419探头进行全波段扫描获取光谱信息。波长范围设为4000 ~ 12000 cm-1，步长设为4 cm-1。利用6.1建立的模型（或6.2升级的模型）同步在线检测样品各品质指标。

注：采集光谱前先对仪器进行自检，并用标准品（设备内置）对仪器校正。每间隔1 h 利用内置标准品矫正设备，以确保光谱采集稳定性。

* + 1. 检测结果记录及异常处理

检测原始结果记录表格见附录D表D.1规定，结果保留两位小数。原始记录应保存完好备查。

检测结果出现以下任何一种情况，均记为异常检测。马氏距离超出阈值；仪器或化学计量学软件出现报警情况下的检测结果。出现异常检测后，对样品进行至少3次复测。复测确认马氏距离超出阈值的样品，记录为异常样品。

* + 1. 检测报告

检测报告宜当日出具。检测报告单见附录D表D.2，结果保留两位小数。

1.
2. （资料性）
原料蔗品质指标标准理化分析

A.1 样品水分含量测定

应按照GB/T 2677.2-2011第7部分和第8部分规定的方法检测甘蔗样品水分含量。称量铝盒的质量（精确到0.10 g）并记录为*m0*。准确称量经DM540-CPS系统粉碎后的甘蔗样品100.0 g（记录为*m1*）于铝盒中，在105 ℃ $\pm $ 2 ℃条件下杀青处理1 h，然后在60 ℃条件下烘干至恒重。称量铝盒及干燥后的样品质量并记录为*m2*。甘蔗样品水分含量计算公式如下：

 $W=\frac{m\_{1}−(m\_{2}−m\_{0})}{m\_{1}}×100$ ………… 公式A.1

*W*——甘蔗含水量（%）；

*m0*——铝盒质量（g）；

*m1*——甘蔗湿样质量（g）；

*m2*——铝盒及干燥后的甘蔗样品质量（g）。

检测完毕的样品，使用微型植物粉碎机将干燥后的甘蔗样品粉碎，置于干燥箱中保存备用。

A.2 可溶性糖提取

准确称量0.1000 g备用样品，加入一定体积（10.0 mL）的超纯水，5.0 mL乳糖（1.0 mg/mL），50℃条件下160 r/min孵育2 h。样品定容至50 mL，经0.22 μm微孔滤膜过滤，稀释20倍后用高效阴离子色谱法分析蔗糖、葡萄糖和果糖含量。

A.3 标准溶液配置

准确称量蔗糖标准品（0.1000 g）、葡萄糖（0.0100 g）和果糖（0.0100 g），用ddH2O溶解后定容至100 mL，配置成标准品混标母液。准确称量0.0100 g乳糖，用ddH2O溶解后定容到100 mL，配置成内标母液。按照表A.1配置成不同浓度的混合标准溶液。

表A.1 标准曲线配置方法表

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 标准曲线浓度梯度 | 加入混标母液体积（mL） | 加入内标母液体积（mL） | 定容体积（mL） | 内标浓度（μg/mL） | 蔗糖浓度（μg/mL） | 葡萄糖、果糖浓度（μg/mL） |
| 1 | 0.25 | 5.0 | 100 | 5.0 | 2.5 | 0.25 |
| 2 | 0.50 | 5.0 | 100 | 5.0 | 5.0 | 0.50 |
| 3 | 1.0 | 5.0 | 100 | 5.0 | 10.0 | 1.0 |
| 4 | 2.0 | 5.0 | 100 | 5.0 | 20.0 | 2.0 |
| 5 | 3.0 | 5.0 | 100 | 5.0 | 30.0 | 3.0 |
| 6 | 4.0 | 5.0 | 100 | 5.0 | 40.0 | 4.0 |
| 7 | 5.0 | 5.0 | 100 | 5.0 | 50.0 | 5.0 |
| 8 | 6.0 | 5.0 | 100 | 5.0 | 60.0 | 6.0 |
| 9 | 8.0 | 5.0 | 100 | 5.0 | 80.0 | 8.0 |

A.4 工作曲线绘制

分别用蔗糖、葡萄糖和果糖的峰面积除以内标（乳糖）的峰面积，得到各组分与内标的峰面积比（公式A2）。以各组分的峰面积比为自变量，以各组分浓度为因变量，分别建立蔗糖、葡萄糖和果糖浓度标准曲线（图A.1）。

 $A=\frac{Ax}{As}$ ………… 公式A.2

*A*——峰面积比；

*Ax*——样品峰面积；

*As*——内标峰面积。



图A.1葡萄糖、果糖和蔗糖浓度标准曲线示例图

A.5 色谱分析参数

离子色谱仪：ICS 5000+ 离子色谱仪（配脉冲安培检测器），Carbopac PA1 色谱柱，分析柱：250 mm × 4 mm，10 μm；保护柱50 mm × 4 mm，10 μm。

色谱条件：柱温30 ℃；进样体积25 μL；等度洗脱程序：60% 流动相A（ddH2O）+ 40% 流动相B（50% NaOH）；流速2.0 mL/min。

电化学检测条件：采用Ag工作电极，Ag/AgCl参比电极。检测电位波形采用ICS 5000+离子色谱仪内置的Carbohydrates（Standard Quad）波形（参数见表A.2）。

表A.2 离子色谱检测器电位波形参数表

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 时间/s | 电位/v | 积分区间 |
| 0.00 | 0.1 |  |
| 0.20 | 0.1 | begin |
| 0.40 | 0.1 | end |
| 0.41 ~ 0.42 | -2.0 |  |
| 0.43 | 0.6 |  |
| 0.44 ~ 0.5 | -0.1 |  |

A.6 甘蔗样品糖含量、纤维分计算

 A.2提取的甘蔗糖溶液，按照A.5色谱分析条件检测可溶性糖含量。并按照如下公式，分别计算甘蔗样品糖浓度、甘蔗干重糖分、甘蔗鲜重糖分、甘蔗干重纤维分、干重鲜重纤维分。

甘蔗样品糖浓度

甘蔗样品配置的糖液离子色谱进样检测浓度。将各组分（蔗糖、葡萄糖和果糖）峰面积比代入标准曲线公式中计算所得值。

 *C* = a*A* + b ………… 公式A.3

*C*——甘蔗样品糖浓度（μg/mL）；

*A*——峰面积比；

a——标准曲线斜率；

b——标准曲线截距。

注：甘蔗样品蔗糖浓度记为*Cs*；葡萄糖浓度记为*Cg*；果糖浓度记为*Cf*。

甘蔗干重糖分

高效阴离子色谱法测得甘蔗干样中蔗糖、葡萄糖和果糖的重量百分率。

 *D*$=\frac{C×20×50}{1000000×0.1}×100$………… 公式A.4

*D*——甘蔗干重糖分（%）；

*C*——甘蔗样品糖浓度（μg/mL）。

注：甘蔗干重蔗糖分记为*Ds*；葡萄糖含量记为*Dg*；果糖含量记为*Df*。

甘蔗鲜重糖分

以甘蔗干重糖分和甘蔗含水量为基础，计算甘蔗鲜样中蔗糖、葡萄糖和果糖的重量百分率。

 *S=* $\frac{100−W}{100}×D$………… 公式A.5

*S*——甘蔗鲜重糖分（%）；

*W*——甘蔗含水量（%）；

*D*——甘蔗干重糖分（%）。

注：甘蔗干重蔗糖分记为*Ss*；葡萄糖含量记为*Sg*；果糖含量记为*Sf*。

甘蔗干重纤维分

以甘蔗干重糖分含量为基础，计算甘蔗干重纤维分。

 *Fd* = 100 – *D* ………… 公式A.6

*Fd*——甘蔗干重纤维分（%）；

*D*——甘蔗干重糖分（%）。

甘蔗鲜重纤维分

以甘蔗干重纤维分和甘蔗含水量为基础，计算甘蔗鲜样中纤维分。

 *Ff =* $\frac{100−W}{100}×F\_{d}$………… 公式A.7

*Ff*——甘蔗鲜重纤维分（%）；

*W*——甘蔗含水量（%）；

*Fd*——甘蔗干重纤维分（%）。

重力纯度

以甘蔗干重蔗糖、葡萄糖和果糖含量为基础，计算重力纯度。

 *GP=* $\frac{D\_{s}}{D\_{s} + D\_{g}+D\_{f}}$………… 公式A.7

*Ds*——甘蔗干重蔗糖分（%）；

*Dg*——甘蔗干重葡萄糖含量（%）；

*Df*——甘蔗干重果糖含量（%）。

1.
2. （资料性）
原料蔗品质近红外模型的建立与维护

B.1 定标建模样品制备

每个样品采集6根具有代表性的甘蔗茎秆，去除叶片、叶鞘和嫩梢后用于分析。应避免选择有腐烂、生理性病害、侵染性病害、虫害的茎秆。

B.2 近红外光谱采集

样品经DM540-CPS系统粉碎（此过程为机械破碎，不产生蔗汁），并同步传输到MATRIX-F配备的Q419探头，使用MATRIX-F在线采集近红外光谱数据。采集光谱前应对仪器进行自检，并用标准品（设备内置）对设备校正。光谱采集使用动态全波段扫描，波长范围为4000 ~ 12000 cm-1，步长为4 cm-1。每间隔1 h 利用内置标准品矫正设备。

B.3定标集样品蔗茎品质指标测定

按照附录A规定的方法测定定标集样品蔗茎含水量，按照附录B规定的方法测定甘蔗干重糖分、鲜重糖分、干重纤维分、鲜重纤维分。每个样品3次技术重复，误差超过10%的样品重新测定。

B.4 定标模型的建立

使用OPUS软件包，选择合适的光谱处理方法（包括消除常数偏移量、减去一条直线、矢量归一化、最小-最大归一化、多元散射校正、一阶导数、二阶导数、一阶导数 + 减去一条直线、一阶导数 + 矢量归一化、一阶导数+多元散射校正），配合波长范围选择，对定标集样品光谱进行预处理，使用偏最小二乘法建立定标模型。

B.5 定标模型的验证

用附录A规定的方法测定验证集样品蔗茎品质指标。同时，利用定标模型预测检验集甘蔗样品品质各指标。按照B.7规定的公式计算外部验证残差均方根（*RMSEP*）、外部验证决定系数（*R2ev*）和外部验证性能偏差比（*RPD*）评价模型。

B.6 定标模型维护升级

逐年加入异常样品到定标集中，优化升级模型。用B.4至B.5所规定的方法建立新的定标模型。按照B.7规定的公式计算校正残差均方根（*RMSEC*），校正决定系数（*R2*）、交叉验证残差均方根（*RMSECV*)、交叉验证决定系数（*R2cv*）和模型性能偏差比（*RPD*）评价模型。

**B.7 定标模型参数计算**

B.7.1 残差均方根（Root Mean Squared Error, *RMSE*)

残差均方根表示预测值和实际值之间的偏差。

 *RMSE* = $\sqrt{\frac{\sum\_{i=1}^{n}(y\_{i}−\hat{y\_{i}})}{n−1}}$ ………… 公式B.1

*yi*——第i 个样本的某个组分的标准值；

$\hat{y\_{i}}$——第i 个样本的相应组分的预测值。

注：定标模型残差均方根为*RMSEC*、内部交叉验证残差均方根为*RMSECV*、外部验证残差均方根为*RMSEP*。

B.7.2 **性能偏差比（Ratio of Performance to Deviation, *RPD*）**

标准差和残差均方根的比值，直观地反应模型预测性能

$ RPD=\frac{SD}{RMSE}$ ………… 公式B.2

*SD*——样本集某组分的标准差；

*RMSE*——残差均方根。

B.7.3 **决定系数（*R2*）**

因变量的全部变异能通过回归关系被自变量解释的比例，衡量回归模型对数据拟合程度的指标。

 *R2* = 1 - ${\sum\_{i=1}^{n}(y\_{i} −\hat{y\_{i}})^{2}}/{\sum\_{i=1}^{n}(y\_{i} −\overbar{y\_{i}})^{2}}$ ………… 公式B.3

*yi*——第i 个样本的某个组分的标准值；

$\hat{y\_{i}}$——第i 个样本的相应组分的预测值；

$\overbar{y\_{i}}$——样品集相应组分的平均值。

注：定标模型决定系数记为*R2c*、内部交叉验证决定系数记为*R2cv*、外部验证决定系数记为*R2ev*。

1. （规范性）
2. （资料性）

表C.1 定标模型外部验证评价指标

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 参数指标 | 类型 | 含量范围% | *RMSEP* | *R2ev* | *RPD* |
| 水分 | 鲜重 | 65.4~82.68 | 0.63 | 0.96 | 4.87 |
| 葡萄糖 | 鲜重 | 0.06~1.38 | 0.05 | 0.87 | 2.77 |
| 果糖 | 鲜重 | 0.19~1.26 | 0.08 | 0.82 | 2.36 |
| 蔗糖 | 鲜重 | 5.14~17.67 | 0.63 | 0.92 | 3.65 |
| 纤维分 | 鲜重 | 9.50~18.07 | 0.63 | 0.88 | 2.33 |
| 葡萄糖 | 干重 | 0.23~5.55 | 0.21 | 0.81 | 2.3 |
| 果糖 | 干重 | 0.74~6.38 | 0.27 | 0.79 | 2.18 |
| 蔗糖 | 干重 | 25.61~60.26 | 2.35 | 0.82 | 2.39 |
| 纤维分 | 干重 | 36.57~72.98 | 1.99 | 0.86 | 2.45 |
| 重力纯度 | - | 0.70~0.98 | 0.01 | 0.89 | 3.05 |

表C.2 定标模型评价指标

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 参数指标 | 类型 | 含量范围% | *RMSEC* | *R2* | *RMSECV* | *R2cv* | *RPD* |
| 水分 | 鲜重 | 65.10~91.21 | 0.46 | 0.99 | 0.51 | 0.99 | 9.86 |
| 葡萄糖 | 鲜重 | 0.03~1.38 | 0.04 | 0.94 | 0.06 | 0.87 | 2.75 |
| 果糖 | 鲜重 | 0.10~1.26 | 0.05 | 0.93 | 0.08 | 0.86 | 2.65 |
| 蔗糖 | 鲜重 | 0.36~21.47 | 0.51 | 0.99 | 0.57 | 0.98 | 7.86 |
| 纤维分 | 鲜重 | 6.90~20.24 | 0.46 | 0.93 | 0.52 | 0.91 | 3.26 |
| 葡萄糖 | 干重 | 0.10~5.71 | 0.23 | 0.94 | 0.28 | 0.91 | 3.32 |
| 果糖 | 干重 | 0.38~7.54 | 0.3 | 0.95 | 0.37 | 0.92 | 3.52 |
| 蔗糖 | 干重 | 3.50~69.92 | 2.1 | 0.97 | 2.36 | 0.96 | 5.27 |
| 纤维分 | 干重 | 26.12~89.78 | 2.03 | 0.96 | 2.21 | 0.95 | 4.66 |
| 重力纯度 | - | 0.70~0.99 | 0.01 | 0.86 | 0.01 | 0.81 | 2.27 |

1. （资料性）

表D.1 原料蔗品质检测结果记录表

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 样品名 | 品质指标类型 | 预测值 | 单位 | 马氏距离 | 组分值密度 | 异常标注 |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |
| 检测人员： 复核人员： 日期： 注：原料蔗品质检测时，检测人员与复核人员需同时在检测现场。 |

表D.2 原料蔗品质检测报告

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 样品名 | 水分含量（%） | 重力纯度 | 干重（%） | 鲜重（%） |
| 蔗糖分 | 葡萄糖 | 果糖 | 纤维分 | 蔗糖分 | 葡萄糖 | 果糖 | 纤维分 |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 检测人员： 复核人员： 日期： 注：原料蔗品质检测时，检测人员与复核人员需同时在检测现场。 检测单位： （签章） |