

近红外漫反射光谱快速检测规模化奶牛场粪便运移全程中的全氮含量

王 鹏^{1,2}, 孙 迪², 牟美睿³, 刘海学³, 张克强², 孟祥辉¹, 杨仁杰^{1*}, 赵 润^{2*}

1. 天津农学院工程技术学院, 天津 300384
2. 农业农村部环境保护科研监测所, 天津 300191
3. 天津农学院农业分析测试中心, 天津 300384

摘 要 为实现现场、快速且相对准确地获得规模化奶牛场粪便从牛舍到还田前各环节的全氮含量, 连续 6 天采集天津市某典型奶牛场粪便处理全过程环节(收集—筛分—堆储)111 个粪便样品, 使用电热鼓风干燥箱将样品烘干后粉碎并过 18 目筛。采用凯氏定氮仪测得各环节样品中全氮含量, 其浓度范围为 0.20%~3.86%; 采用美国 PE 公司的傅里叶近红外光谱仪在 4 000~12 000 cm^{-1} 范围内采集所有样品的近红外漫反射光谱。基于蒙特卡洛交叉验证法对异常样品进行检查, 剔除 17 个异常样品, 并对剩余 94 个样品的近红外漫反射光谱进行 SG 一阶导数与去噪预处理。接着对 94 个样品预处理后的近红外漫反射光谱数据进行主成分分析, 前两个主成分可以解释所有变量方差的 89%, 通过主成分分析得出规模化奶牛场粪便处理全过程环节样品的变异情况: 从鲜粪到混合粪环节, 样品的性质和有机组分变化不大, 而到垫料环节, 性质和有机组分发生较大变化, 表明粪便样品随着处理环节的变化, 其性质和组成在发生动态的变化。因此, 要实现规模化奶牛场粪便处理全过程环节样品动态的、实时的总氮快速检测, 就必须建立适用于粪便处理全过程环节的定量分析模型。最后, 采用 K-S 法从 94 个样品中选择 63 个样品, 包括 24 个鲜粪样品、28 个混合粪样品、11 个垫料样品, 作为校正集建立规模化奶牛场粪便处理全过程环节定量分析总氮的偏最小二乘模型。利用所建立的全环节模型对预测集 31 个未知样品, 包括 12 个鲜粪样品、9 个混合粪样品、10 个垫料样品, 进行预测, 预测浓度与实际浓度的相关系数(R)为 0.91, 预测均方根误差(RMSEP)为 0.151%。表明: 将近红外漫反射光谱与化学计量学结合快速定量分析规模化奶牛场全程粪便中全氮的含量完全可行, 为粪便全氮快速检测近红外仪器的开发和现场应用提供理论和实验依据, 为粪便定量还田提供技术支撑。

关键词 规模化奶牛场; 粪便; 全氮; 近红外漫反射光谱; 偏最小二乘

中图分类号: X55 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2020)10-3287-05

引 言

近年来, 奶牛场规模化程度的不断攀升给环境造成巨大压力, 特别是在非农用季节大量粪便的出路问题日趋严峻。将粪污固液筛分, 固体粪便经过堆沤和风干后制备卧床垫料, 在储粪设施中存放以备补充垫料或还田的做法成为现阶段牧场主缓解粪便积压的主要路径之一。2018 年初国家正式发布的《畜禽粪污土地承载力测算技术指南》中表明, 氮素是粪肥还田的重要衡量指标, 通过文献和实地调研得知, 在粪污收储、处理及处置环节容易产生氮素损失^[1-2], 从而影响

还田时氮素含量的变化, 导致无法快速且准确预知还田时的氮素含量, 成为奶牛场粪污还田难的瓶颈之一。因此监测现场环境条件下典型规模化奶牛场粪便处理全过程环节的变化规趋, 研发满足现场、快速且相对准确地获得奶牛粪便中氮素含量的技术方法是粪肥安全、科学还田的重要保障, 具有重要的理论和实践指导意义。

近红外光谱检测技术, 相比传统的实验室常规检测方法, 具有快速测定、使用简单、灵活性强、检测可靠性高等优越性^[3], 在食品、饲料、中药、土壤、堆肥等领域得到广泛应用^[4-8]。同时在畜禽粪便检测领域也有相关研究报道, 如樊霞^[9]、Reeves^[10]、Takashi^[11]等利用近红外光谱技术对牛

收稿日期: 2019-07-21, 修订日期: 2019-11-10

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFD0800100), 天津市现代奶牛产业技术体系创新团队建设专项(ITTCRS2017006), 国家自然科学基金项目(41771357, 21607114, 81471698), 天津市自然科学基金项目(18JCYBJC96400, 16JCQNJC08200)资助

作者简介: 王 鹏, 1994 年生, 天津农学院工程技术学院硕士研究生 e-mail: wppeng@163.com

* 通讯联系人 e-mail: rjyang1978@163.com; 15900389657@163.com

粪样品进行检测都取得较好的效果。除了牛粪样品,杨增玲^[12]、Saey^[13]等还建立了猪粪样品的近红外定量分析模型,并对猪粪中的全氮和全磷指标进行分析等。但都是在实验室开展利用近红外检测实现快检氮磷含量的可行性探究,鲜见面向奶牛场粪污治理全过程环节(收集—筛分—堆储)粪便样品中氮素含量变化,研究适于现场快速检测的方法及模型构建的相关报道。

奶牛场环境复杂,且包括很多复杂因素,如不同牛群的清粪方式不同,粪便处理方式不同,本工作旨在将近红外漫反射光谱与化学计量学相结合,尝试建立适用于现场粪便处理全过程环节的全氮含量快速检测方法模型,为规模化奶牛场粪便安全、科学还田与粪便全氮快检仪器的开发及现场应用提供技术支撑。

1 实验部分

1.1 奶牛场概况

研究对象选取位于天津市滨海新区的一家典型规模化奶牛场,该场养殖区占地约 25 ha,建筑面积 $5.98 \times 10^4 \text{ m}^2$,其中生产区主要包括成母牛舍、后备牛舍、青贮窖、干草棚、挤奶车间及粪污处理车间等。农用地面积约 680 ha,种植 347 ha 玉米、燕麦及 333 ha 苜蓿,为奶牛场提供粗饲料并直接消纳该场粪污,是滨海新区和天津市典型的种养结合型规模化示范牧场。

1.2 样品采集与全氮测定

该场粪便处理工艺为:刮板/铲车清粪—固液分离—堆沤—平铺晾晒—储存—回垫卧床、还田,属于目前国家首推的种养结合模式,泌乳牛、大育成牛、小育成牛及犊牛的粪便全部进入粪污处理后还田主系统。2018年10月16日—21日,连续6d采集该场粪便处理全过程环节中的固态粪便和垫料样品共计111个,粪便处理工艺全过程环节及采样点位标识如图1所示。对采集的111个粪污治理全过程环节粪便样品,使用XCA-80001电热鼓风干燥箱在55℃环境下烘干48h后用FW100型高速万能粉碎机进行粉碎并过18目筛。参照2012版《有机肥料标准》中的第5.3条,采用福斯2300凯氏定氮仪对样品中的全氮含量进行测定。111个牛粪样品的全氮含量范围为0.20%~3.86%,平均含量为1.62%。



图 1 粪便处理工艺流程及采样点位标识

Fig. 1 Cow dung treatment process and the position of sample collection

1.3 光谱采集

采用美国 PerkinElmer 公司的傅里叶变换近红外光谱仪,InGaAs 检测器,仪器自带积分球附件,光谱扫描范围为 $4\ 000 \sim 12\ 000 \text{ cm}^{-1}$,光谱扫描参数为:分辨率为 8 cm^{-1} ,扫描间隔为 2 cm^{-1} ,扫描次数 64。将粪便样品装入样品杯中,并放置在积分球旋转样品台上,以积分球内置参比为背景,分别采集每一个样品的近红外漫反射光谱。

2 结果与讨论

2.1 规模化奶牛场粪便近红外漫反射光谱特性

图 2 为处理全过程环节 111 个样品在 $4\ 000 \sim 12\ 000 \text{ cm}^{-1}$ 范围的近红外漫反射光谱。从中可观察到在 $4\ 324$, $5\ 188$, $5\ 780$ 和 $6\ 842 \text{ cm}^{-1}$ 处存在明显的吸收峰,其中 $4\ 324 \text{ cm}^{-1}$ 附近的波带主要是 C—H(CH_3 , CH_2) 的组合频吸收所引起的; $5\ 188 \text{ cm}^{-1}$ 附近波带为游离的 O—H 组合频吸收引起; $5\ 780 \text{ cm}^{-1}$ 附近波带为 CH_3 和 CH_2 一级倍频吸收所引起; $6\ 842 \text{ cm}^{-1}$ 附近波带为游离的 NH 基团一级倍频吸收所引起。虽然待分析的粪便样品来自不同粪便处理环节,但是其光谱在全谱范围内整体轮廓相似,仅在吸光度强度上存在差别,这也表明了利用近红外漫反射光谱技术对同一奶牛场不同粪便处理环节中全氮含量的分析是可行的。

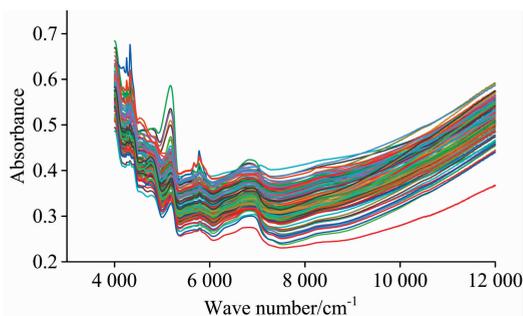


图 2 111 个粪便样品的近红外漫反射光谱

Fig. 2 Near-infrared spectra of 111 dung samples in the whole process of treatment

2.2 主成分分析

对上述粪便处理全过程环节样品的原始近红外漫反射光谱进行 SG 一阶导数与去噪预处理,并采用蒙特卡洛交叉验证法对预处理后的光谱数据进行异常样品检测,根据各样品在均值和方差图上的分布,剔除 17 个异常样品。

为明确该奶牛场粪便处理全过程环节样品之间的关系以及性质组成的变化,对剔除异常样品后的 94 个样品进行主成分分析。在主成分得分图上,样品之间的距离越近,表明这些样品性质、组成越相似;距离越远,表明样品间性质或组分变化较大。

图 3 为前两个主成分的得分图,其中第一主成分 PC1 (principal component 1) 解释 81% 的总变量,第二主成分 PC2 解释 8% 的总变量。图中红色椭圆里所包含的为鲜粪样品,蓝色椭圆里所包含的为混合粪样品,黑色椭圆里所包含的为垫料样品。鲜粪样品主要分布在 PC2 大于 0 的区域,混合粪

样品主要分布在 PC1 和 PC2 都小于 0 的区域，而垫料样品主要分布在 PC1 大于 0 同时 PC2 小于 0 的区域。鲜粪样品分布在较大区域，其原因是这些样品来源于不同育龄的奶牛，包括犊牛、小育成牛、大育成牛、青年牛、泌乳牛等，但这些样品距离较近，表明虽然这些样品来自不同育龄牛，但其性质和组成相似。从图中还可以看出，鲜粪与混合粪样品存在重叠，表明从鲜粪环节到混合粪环节，样品的性质和组分变化不大。值得注意的是，垫料类样品到鲜粪类和混合粪类样品距离较远，表明垫料类环节的样品相对于鲜粪和混合粪环

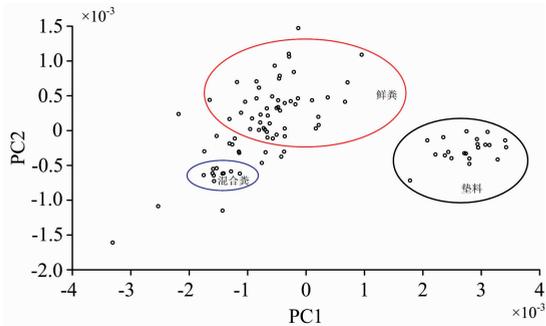


图 3 前两个主成分得分图

Fig. 3 Score plot of the first two principal components

节，其性质和组成发生了较大变化，其主要原因可能是经过固液筛分后的粪便在自然堆沤存放过程中氮素以气态形式损失造成组分和含量发生变化，通过常规的实验室分析可以直观看出分离后的样品与垫料类样品氮素含量有明显的降低。

2.3 奶牛场粪便处理全过程环节全氮定量分析 PLS 模型的建立

采用 K-S^[14-15]法从 94 个样品中选择 63 个样品(24 个鲜粪样品、28 个混合粪样品、11 个垫料样品)作为校正集建立模型，31 个样品(12 个鲜粪样品、9 个混合粪样品、10 个垫料样品)作为预测集来验证模型。

采用间隔偏最小二乘(iPLS)法^[16]来选择建模光谱特征区间，将全谱分别划分为 16, 17, ..., 21, 22 个子区间，以此来考察不同波数变量区间对建模效果的影响。不同子区间最佳局部模型的性能指标如表 1 所示。可以看出，在第 17 个子区间(4 892~4 446 cm⁻¹)建立的模型具有良好预测能力，因此选择该波数变量区间对校正集 63 个样品的光谱数据矩阵(63×223)和对应的全氮浓度矩阵(63×1)，建立偏最小二乘模型，在 3 个因子数下模型的交叉验证均方根误差(RMSECV)为 0.201 6%。由于校正集中包含了粪便处理全环节的代表性样品，因此所建立的模型适合对奶牛粪便处理过程各环节动态样品的全氮进行定量分析。

表 1 不同子区间最佳局部模型的性能

Table 1 Performance of optimal partial models for different subintervals

区间数	最佳模型区间	最佳模型波数范围/cm ⁻¹	模型的主因子数	RMSECV	RMSEP	相关系数 r
全波	全波	12 000~4 000	2	0.308 1	0.173 6	0.893 63
16	15	5 002~4 502	5	0.245 3	0.167 4	0.907 63
17	16	4 944~4 472	4	0.223 2	0.160 3	0.908 76
18	17	4 892~4 446	3	0.201 6	0.156 5	0.912 07
19	18	4 844~4 422	3	0.225 2	0.162 6	0.907 96
20	19	4 802~4 402	3	0.220 6	0.163 3	0.907 28
21	20	4 764~4 382	3	0.224 4	0.167 3	0.899 61
22	21	4 728~4 364	3	0.222 5	0.168 2	0.898 49

以相关系数(*r*)、预测均方根误差(RMSEP)、相对分析误差(RER)以及 RMSEP/RMSEC 来判定模型的稳定性与准确性。一般认为当 RER>20, 可成功定标, RMSEP/RMSEC ≤1.2 模型稳定性良好。图 4 是所建粪便处理全过程全氮 PLS 模型对预测集 31 个未知样品中全氮的预测含量与真实含量的线性拟合, 其中绿色直线为 45°线, 拟合线与 45°线重合度较高, 其 *R* 为 0.91, RMSEP 为 0.151%, RER 值为 24.17, RMSEP 与 RMSEC 的比值为 1, 说明该模型稳定性与准确性相对较好。从上述分析结果可以看出, 所建立的粪便处理全过程总氮 PLS 模型能对未知样品(包括了各环节动态变化的样品)提供较好的预测结果。因此, 基于近红外漫反射光谱实现纵向同一奶牛场粪便处理全过程环节全氮含量的检测是可行的。

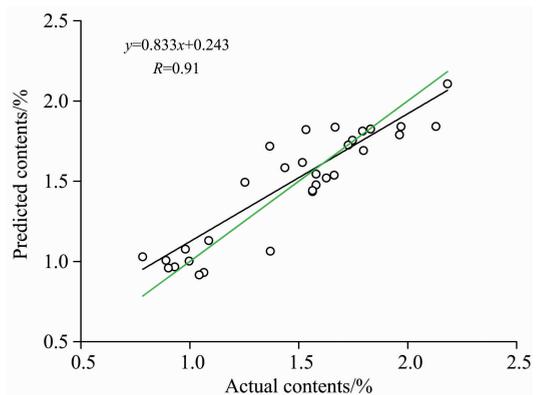


图 4 预测集样品中全氮预测含量和实际含量之间的线性拟合

Fig. 4 Linear fitting between predicted and actual TN contents in predicted set

3 结 论

通过对天津市典型规模化奶牛场粪便处理全过程环节粪便和垫料样品的近红外漫反射光谱的主成分分析和偏最小二乘分析,可得出以下结论:

(1)不同育龄奶牛鲜粪便性质和组分相似,从鲜粪到混合粪环节,性质和组分变化不大,而到垫料环节,性质和组

分发生较大变化。

(2)将近红外漫反射光谱与化学计量学结合快速定量分析规模化奶牛场全程粪便中全氮的含量是可行的;所建模型对不同育龄奶牛鲜粪、不同处理环节粪便中的全氮含量都能提供较好的预测结果。

(3)该研究为粪便全氮快速检测近红外仪器的开发和现场应用提供理论和实验依据,为现场粪便定量还田提供支撑。

References

- [1] Zhao-hai B, Lin M, Shu-qin J, et al. *Environmental Science Technology*, 2016, 50: 13409.
- [2] CAO Yu-bo, XING Xiao-xu, BAI Zhao-hai, et al(曹玉博,邢晓旭,柏兆海,等). *Scientia Agricultura Sinica(中国农业科学)*, 2018, 51(3): 566.
- [3] WANG Qin, LIU Ye-hai, GAO Min-guang, et al(王 琴,刘业海,高闽光,等). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2016, 36(12): 3941.
- [4] Amodi M L, Ceglie F, Chaudhry M M A, et al. *Postharvest Biology and Technology*, 2017, 125: 112.
- [5] Dixon R M, Coates D B. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 2008, 48: 835.
- [6] LI Wen-long, QU Hai-bin(李文龙,瞿海斌). *China Journal of Chinese Materia Medica(中国中药杂志)*, 2016, 41(19): 3511.
- [7] Dematte J A M, de Castro Oliveira J, Tavares T R, et al. *Environmental Earth Sciences*, 2016, 75(18): 1277.
- [8] Cascant M M, Sisouane M, Tahiri S, et al. *Talanta*, 2016, 153: 360.
- [9] FAN Xia, HAN Lu-jia, HUANG Cai-jin, et al(樊 霞,韩鲁佳,皇才进,等). *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery(农业机械学报)*, 2006, (3): 76.
- [10] Reeves III J, Van K J S. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 2000, 8(3): 151.
- [11] Asai T, Shimizu S, Koga T. *Japanese Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 1993, 64(6): 669.
- [12] YANG Zeng-ling, HAN Lu-jia, LI Qiong-fei, et al(杨增玲,韩鲁佳,李琼飞,等). *NIRS Sensing of Nutrient Contents in Fatlening Pig Manure(利用 NIRS 测定肥育猪粪便中主要成分含量的研究)*. *Proc. of 2005 Annual Meeting of the Chinese Society of Agricultural Engineering(2005 年中国农业工程学会学术年会论文集)*, 2005. 273.
- [13] Saeys W, Mouazen A M, Ramon H. *Biosystems Engineering*, 2005, 91(4): 393.
- [14] SHI Lu-zhen, ZHANG Jing-chuan, JIANG Xia, et al(石鲁珍,张景川,蒋 霞,等). *Food Science and Technology(食品科技)*, 2016, 41(1): 82.
- [15] XU Hong-yu, ZHANG Jing-fang, HOU Li-xuan, et al(徐洪宇,张京芳,侯力璇,等). *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology(中国食品学报)*, 2013, 13(11): 153.
- [16] CHU Xiao-li, YUAN Hong-fu, LU Wan-zhen(褚小立,袁洪福,陆婉珍). *Progress in Chemistry(化学进展)*, 2004, (4): 528.

Rapid Detection of Total Nitrogen Through the Manure Movement of in Large-Scale Dairy Farm by Near-Infrared Diffuse Reflectance Spectroscopy

WANG Peng^{1,2}, SUN Di², MU Mei-rui³, LIU Hai-xue³, ZHANG Ke-qiang², MENG Xiang-hui¹, YANG Ren-jie^{1*}, ZHAO Run^{2*}

1. College of Engineering and Technology, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China

2. Agro-Environmental Protection Institute, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Tianjin 300191, China

3. Laboratory of Agricultural Analysis, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China

Abstract In order to achieve on-site, rapid and relatively accurate acquire the total nitrogen (TN) content of manure in the large-scale dairy farm that is going through the whole sections from the barn to the farmland before, 111 manure samples during the whole process (collection-separation-stacking) were collected from a typical large-scale dairy farm in Tianjin lasting for 6 consecutive days. All samples were dried using electrothermal blast dryer, rushed and sifted through 18 meshes. The total nitrogen contents were measured by Kjeldahl nitrogen analyzer, and the range of concentration is 0.20%~3.86%. Near-infrared (NIR) diffuse reflectance spectra of all samples were collected in the range of 4 000~12 000 cm^{-1} using the PerkinElmer Fourier NIR spectrometer. 17 outlier samples were removed based on Monte Carlo cross validation method. The NIR diffuse reflectance spectra of the remaining 94 samples were pretreated by SG first derivative and denoising. Then, the principal component analysis was adopted to obtain the variation of samples in the whole process of fecal treatment in large-scale dairy farm. The first two principal components (PCA) can explain 89% of the total variance. The results of PCA showed that the properties and components of fresh feces of dairy cows in different reproductive ages were similar. From feces to manure, the properties and components of fresh feces were not changed any more. However, the properties and components were greatly changed in the bedding stage. Therefore, it is necessary to establish a global TN quantitative analysis model suitable for the whole process of fecal treatment for realizing the real-time and rapid detection of TN in the whole process of fecal treatment in large-scale dairy farms. 94 samples were divided into calibration and prediction sets based on K-S method. 63 samples, including 24 fresh manure samples, 28 mixed manure samples and 11 cushion samples, were used as calibration set to construct a calibration set. The partial least squares model for quantitative analysis of TN was established in the whole process of fecal treatment in large-scale dairy farms. 31 unknown samples, including 12 fresh manure samples, 9 mixed manure samples and 10 cushion samples, were predicted by the established global model. The correlation coefficient (R) between the predicted concentration and its actual concentration was 0.91, and the root means square error of prediction (RMSEP) was 0.151%. The research showed that it was fully feasible to determine the TN contents in the manure of large-scale dairy farms integrated the near infrared diffuse reflectance spectroscopy with chemometrics, not only providing the theoretical and experimental basis for the development and field application of a near-infrared instrument for rapid detection of TN in the manure, but also the support for quantitatively recycling the manure to the farmland.

Keywords Large-scale dairy farm; Manure; Total nitrogen (TN); Near-infrared diffuse reflectance spectroscopy; Partial least squares

(Received Jul. 21, 2019; accepted Nov. 10, 2019)

* Corresponding authors