# 以近紅外線光譜分析儀 (NIRS) 檢測飼料中內 骨粉之探討<sup>(1)</sup>

## 李免蓮(2)(3) 徐阿里(2)

收件日期:96年5月20日;接受日期:96年10月15日

## 摘要

我國已禁止在飼料中使用肉骨粉,尤其是反芻動物用飼料。本試驗目的在探討使用 NIRS 以快速識別乳牛配合飼料 (乳牛料) 中是否摻雜使用肉骨粉。選擇國內主要乳牛飼料製造廠計 3 個廠牌,採集不同批次之乳牛空白料 (即不含肉骨粉) 及主要單味原料。試驗分兩階段進行,第一階段 (試驗 I ) 先進行原料種類及廠牌之識別,第二階段 (試驗 II 及 III ) 再進行同廠牌內肉骨粉含量之有無識別。試驗 I 、II 採集單味原料 56 件、乳牛料 15 件;試驗II 採肉骨粉 32 件、乳牛料 37件,並由空白料添加 1%、3%、5%、7%、10% 肉骨粉之飼料作為測試樣品,進行識別試驗。使用 NIRS (Bran+Lubbe InfraAlyzer 500型) 儀器,掃描各測試樣品後進行識別分析。結果顯示,NIRS 可提供單味原料與配合飼料之快速識別,亦能快速識別不同廠牌之乳牛料;當添加同一來源肉骨粉時,NIRS 對不同廠牌乳牛料間之肉骨粉識別濃度極限為 3%,而對同一廠牌內之識別極限則可達 1%,添加不同來源之肉骨粉時,NIRS 對同一廠牌之乳牛料添加肉骨粉之識別極限為 3%。

關鍵詞:肉骨粉、近紅外線光譜分析、識別分析。

## 緒言

近紅外線反射光譜分析儀 (NIRS) 使用之波長由 1100~2500 nm,其間每 2 nm 即有一掃描吸光值,而每一樣品之吸收光譜互異,由已知樣品之光譜經電腦統計分析後,可尋找出各樣品間差異較大之某些波長,利用多度空間之數學模式,建立各樣品之識別空間,當有未知樣品之光譜輸入時,即可快速鑑定該樣品所屬群落而加以辨識。Oyabu and Kubodera (1989) 曾以掃描光譜做動物組織之辨識分析,只使用兩個波長之比率即可辨識瘦肉與脂肪,在豬肉與牛肉之辨識上亦可檢測但效果不大顯著。Cho and Iwamoto (1989) 則利用 NIRS 從事芝麻油之純度鑑定,使用 1710 nm 及1725 nm 兩個波長可鑑定單一芝麻油之純度,而使用 1700、1720、1748、2232 nm 四個波長可快

<sup>(1)</sup> 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第1406號。

<sup>(2)</sup> 行政院農業委員會畜產試驗所營養組。

<sup>(3)</sup> 通訊作者, E-mail: mainlian@mail.tlri.gov.tw。

速鑑定出混合芝麻油之比率。Sato et al. (1989) 則利用 NIRS 檢測乳製品中之油脂摻雜,使用 2110 ~2160 nm 間之波長掃瞄即可於 90 秒內將可能有植物性油脂摻雜之可疑樣品篩選出來。Sirieix and Downey (1993)利用 NIRS 之識別分析能力檢測不同廠牌之麵粉,結果在 99 個樣品中其識別之正確率高達 97%。NIRS 為不需破壞原樣品之快速分析方法,最高可同時做 100 種物質之鑑定。

狂牛症於 1986 年在英國被發現並於 1995 爆發重大疫情,造成世界恐慌。日本也於 2001 發生狂牛症病例,並於疫情發生後全數銷毀肉骨粉並禁止飼料中添加肉骨粉。國內畜牧用飼料原料中會使用肉骨粉,但基於產品規格要求,某些飼料被要求禁止添加動物性肉骨粉,如何由複雜之混合飼料中快速檢測出肉骨粉之添加與否已成為迫切之重要課題。Murray et al. (2001) 採用 NIRS 之識別功能,將 22 個純魚粉及 45 個添加肉骨粉 3%、6%、9% 之魚粉樣品中,建立識別模式,並成功地將估測樣品 (24 個純魚粉及 45 個添加肉骨粉樣品)檢出,正確率達 97%。本試驗擬利用近紅外反射光譜及電腦之解析功能,針對牛隻配合飼料原料及飼料中添加肉骨粉加以檢測,並探討其識別能力。

## 材料與方法

#### I. 樣品採集

- (i) 試驗 I:NIRS 對飼料原料及乳牛配合飼料之判定及對不同廠牌飼料之識別能力 由國內生產乳牛配合飼料(以下簡稱乳牛料)之主要廠牌中選擇三家(以下分別以 A, B, C 代號表示),採取該廠牌使用之主要單味原料(含玉米、大豆粕、魚粉、肉骨粉)及乳牛 料,隔月採樣一次,共進行五批次之樣品採集,總計採有肉骨粉 13 件,魚粉 18 件,大 豆粕 13 件,玉米 12 件及不添加肉骨粉之乳牛料(空白料)15 件。
- (ii) 試驗Ⅱ:NIRS 對乳牛料中添加同一來源肉骨粉之識別能力由 A、B、C 廠牌提供不同批次之乳牛料(確定未添加肉骨粉之空白料),各5 批次共15件樣品,分別添加同一來源之肉骨粉,其肉骨粉添加量分別為1%、3%、5%、7%、10%,加上空白料共六處理組,供識別試驗用。
- (iii) 試驗Ⅲ: NIRS 對乳牛料中添加不同來源肉骨粉時之識別能力 另採集 A、B、C 廠牌不同批次之乳牛料 (計 A 廠牌 12 批次、B 廠牌 10 批次、C 廠牌 15 批次) 以及各批次別所使用之肉骨粉。共計採集乳牛料 37 件、肉骨粉樣品 32 件。

#### Ⅱ. 測試樣品之調配製作:

- (i) 單味原料之製作:將採集之樣品經 0.75 mm 之離心粉碎機粉碎後,裝罐供試。
- (ii) 乳牛空白料之製作:由各廠採集之乳牛料做為空白飼料,經 0.75 mm 之離心粉碎機粉碎後,裝罐供試。
- (iii) 含肉骨粉之乳牛料之製作:由各空白飼料中添加 1%,3%,5%,7%,10% 之肉骨粉, 充分混合後,裝罐待試。

為方便分析資料處理,各處理組以 A0, A1, A3, A5, A7 及 A10 表示, A0 即為 A 廠牌乳牛空白料, A1 為添加 1% 肉骨粉之乳牛料,其餘類推之。

#### Ⅲ. 樣品之掃瞄及圖譜收集處理

使用 Bran+Luebbe InfraAlyzer 500 之 NIRS 儀器,掃描光譜範圍為 1100~2500 nm,每隔 2 nm 擷取一吸收值。於每處理樣品採樣 10 次,並掃瞄 2 回,取其平均值為該次取樣之光譜值,每一處理樣品共可收集 10 個光譜值,其中 7 個光譜值供檢量線製作用,其餘 3 個光譜值則供估測

用。

#### IV. 識別模式之使用與處理

本試驗以 WINISI II 軟体系統,將 NIRS 掃描建立之 (\*.nir) 資料經 GH、NH 演算後建立資料檔案庫 (\*.pca及\*.lib),依序進行資料分析以建立完整之識別模式 (Model) 供估測組檔案進行估測分析,以了解該模式之辨識能力。

### 結果與討論

I. 試驗 I 進行 NIRS 對飼料單味原料及乳牛料之判定能力及對不同廠牌乳牛料之識別能力;由試驗 I 收集之試樣掃描圖譜資料庫,經 WINISI II 軟体之圖譜篩選系統選擇可供分析之光譜,計有肉骨粉 (MBM) 88 筆,魚粉 (FM) 125 筆,大豆粕 (SOY) 90 筆,玉米 (CORN) 84 筆,A 廠牌 206 筆 (內含A0~A10),B廠牌 209 筆 (內含B0~B10) 及 C 廠牌 207 筆 (內含 C0~C10),共有 7 個資料庫。

WINISI II 之識別軟体 (Discriminate Equation) 分析,針對同一資料庫之光譜,經 1,4,4,1 (一次 微分) 之數學處理後,在三度空間中,計算出該資料庫之位置。本試驗共有七個資料庫,分析結果如圖 1,各單味原料及不同廠牌乳牛料之識別能力達 100%。由 3D 圖表現,肉骨粉、玉米及 A 廠牌可清楚區隔,而大豆粕、魚粉及 B、C 廠牌乳牛料之分佈雖較密集,但若以 2D 分佈圖重現 (圖 2A、2B),則大豆粕與魚粉在 NIRS 之軟體上亦能區隔得十分清楚;此外三種廠牌之乳牛料在 3D 圖之分佈也可明顯區隔 (圖 3)。以此程式預估預測組資料庫 (內含 MBM 39 筆,CORN 36 筆,FM 54 筆,SOY 39 筆,A、B 及 C 各 90 筆),可達 100% 之識別能力。

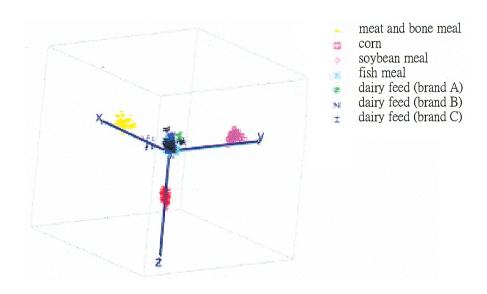


圖 1. 各飼料原料及不同廠牌乳牛料之 3D (GH≤3) 分佈圖。

Fig. 1. Spatial distribution (3D) (GH≤3) of feed ingredients and dairy feeds from different companies.

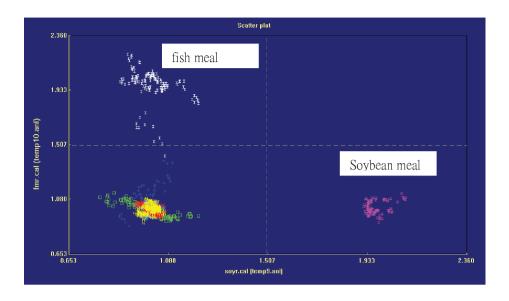


圖 2A. 大豆粕與魚粉之 2D 分佈圖。

Fig. 2A. 2D distribution of soybean meal and fish meal.

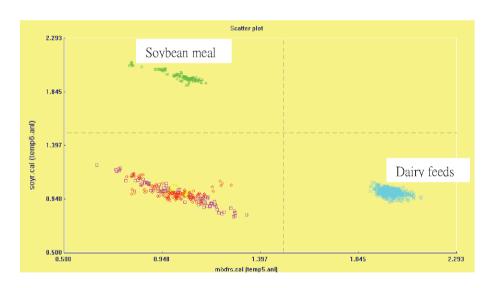
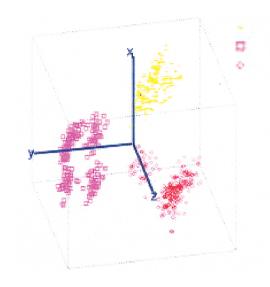


圖 2B. 乳牛料與大豆粕之 2D 分佈圖。

Fig. 2B. 2D distribution of soybean meal and dairy feeds.

李免蓮 徐阿里 5



dairy feeds of brand A dairy feeds of brand B dairy feeds of brand C

圖 3. A、B 及 C 三廠牌乳牛料之 3D (GH≤3) 分佈圖。

Fig. 3. Spatial distribution (3D) ( $GH \le 3$ ) of dairy feeds from brand A, B and C.

#### Ⅱ. 試驗Ⅱ目的在於了解 NIRS 對乳牛料中添加同一來源肉骨粉之識別能力

#### (i) 添加 1% 肉骨粉乳牛料與空白乳牛料之識別分析

將  $A \times B \times C$  三廠牌乳牛料空白組之合併資料庫 (即含  $A0 \times B0$  及 C0 之測試樣品光譜共 103 筆) 及添加 1% 肉骨粉之乳牛料之合併資料庫 (即含  $A1 \times B1$  及 C1 之測試樣品共102 筆),進行 WINISI II 之識別分析,建立識別模式之分析結果如表  $1 \times B1$  。結果顯示空白組 (0%) 與含 1% 肉骨粉測試組間之正確識別能力不夠理想,正確率只有  $77 \times 78\%$ ,其原因在於不同廠牌間之差異性大於處理間之差異性,故無法在 0% 空白組與 1% 處理組間做一正確之辨識。

#### 表 1. 乳牛料中添加 1% 肉骨粉之識別分析結果

Table 1. Discriminant analysis of 1% meat and bone meal (MBM) in dairy feed

Treatment	Samples	Ca	alibration, r	A aguragy 9/	
Treatment	Samples	pass	Fail	Uncertain	Accuracy, %
Control (A0+B0+C0)	103	81	9	13	79
MBM 1% (A1+B1+C1)	102	79	16	7	77

#### (ii) 添加肉骨粉 3% 乳牛料與空白乳牛料之識別分析

將不同廠牌添加 3% 肉骨粉之乳牛料光譜合併資料庫 (即含 A3、B3 及C3,104 筆) 與空白組合併資料庫建立識別公式 (表 2),結果此式可使 103 個空白料組通過正確判別,而添加3% 組之樣品中,判別準確度亦達 98%。將此方程式應用於估測樣品之判別分析,結果空白料組分別與添加 3% 以上肉骨粉乳牛料組之試樣間之正確識別率為 100%,而對添加 1% 肉骨粉之 45 個估測試樣,則有 26 個樣品誤判 (即佔 26/45)。此一結果顯示

NIRS 對於肉骨粉添加量在 1% 之樣品則有一半的機會被誤判為空白樣品,而添加量在 3% 或以上之樣品均可正確地加以識別。

#### 表 2. 飼料中含3%肉骨粉之識別分析結果

Table 2. Discriminant analysis of 3% meat and bone meal in dairy feed

Tourse	C 1	Ca	libration,	Accuracy	
Treatment	Samples	Pass	Fail	Uncertain	%
Control (A0+B0+C0)	103	103	0	0	100
MBM 3% (A3+B3+C3)	104	102	1	1	98

不同廠牌之乳牛料由於飼料配方、原料來源等之差異,致光譜表現不同,即使同一廠牌,其前後批次使用原料不同,在光譜表現上差異性亦甚大,故肉骨粉添加量至少在3%或以上者,才可使用 NIRS 加以識別。

#### (证) 同一廠牌乳牛料添加肉骨粉之識別分析

由於 NIRS 具有識別不同廠牌之能力,為提高 NIRS 對單一廠牌乳牛料內所含肉骨粉之識別能力,乃進行同一廠牌之肉骨粉識別能力分析。

分別以 A0 與 A1,B0 與 B1,C0 及 C1 資料庫間進行識別分析,結果如表 3 所示,對於 A、C 廠牌之 0% 組與 1% 組樣品,正確識別率甚高 (90%以上);對 B 廠牌雖有識別誤判情形,但正確識別率亦可達 86% 以上。

表 3. 不同廠牌乳牛空白料及添加肉骨粉 1% 乳牛料組之識別分析結果

Table 3. Discriminant analysis of 0% and 1% meat and bone meal in different brands of dairy feed

Brand	Calibration, records			Prediction, records			
	Pass	Fail	Uncertain	Accuracy, %	Pass	Fail	Accuracy, %
A0	35	0	3	92	14	1	93
A1	33	0	1	97	15	0	100
В0	32	3	1	89	14	1	93
B1	29	6	2	78	13	2	86
C0	32	1	2	91	13	2	86
C1	34	0	3	92	15	0	100

#### Ⅲ. 試驗Ⅲ進行 NIRS 對乳牛飼料中添加不同來源肉骨粉時之識別能力

依試驗 I、II之試驗結果,NIRS 識別飼料中之肉骨粉添加量若採兩階段,即先區別出飼料廠牌,再檢測各廠牌乳牛料之肉骨粉之含量,將可提高其識別能力。試驗III之樣品均在乳牛料中添加不同來源之肉骨粉,以試驗III之檢量線(添加單一肉骨粉)估測,結果無法做正確判別,其原因應來自試驗IIII用不同來源之肉骨粉,使添加單一肉骨粉之判別式無法適用。

綜合不同廠牌之樣品圖譜資料,以檢量線組之資料建立 0~1 (即空白組與添加 1% 肉骨粉)、 0~3~0~5~0~7~0~10 各組間之識別方程式,結果如表 4~NIRS 對乳牛料中添加同一種肉骨粉時之檢測濃度為 1%,但添加不同來源之肉骨粉時,其檢測能力則下降為 3%。

李免蓮 徐阿里 7

以三種廠牌之識別方程式估測預測組之圖譜,結果如表 5,不同廠牌之乳牛料中,未添加肉骨粉與添加量在 3%或以上者,NIRS均可正確判別,但對於只添加 1%肉骨粉者,辨識之正確性不高(有70%之樣品判為0%,30%之樣品判別為3%)。Murray et al. (2001)之試驗中,魚粉添加肉骨粉之最低含量為3%,其識別能力可達97%。本試驗結果亦顯示NIRS對於乳牛料中肉骨粉之判別極限應不低於3%,若低於此含量,檢出是有困難的。

#### 表 4. NIRS 對不同廠牌乳牛空白料與各不同肉骨粉含量組間之識別結果

Table 4. Discriminant analysis by NIRS on blank and different meat and bone meal content in dairy feed among brands

Brand	Samples		C	Calibration resu	lt	
Dianu	records	0~1*	0~3*	0~5*	0~7*	0~10*
A	84	Fail	Pass	Pass	Pass	Pass
В	70	Fail	Pass	Pass	Pass	Pass
С	105	Fail	Pass	Pass	Pass	Pass

<sup>\*</sup> percentage of meat and bone meal.

#### 表 5. NIRS 對不同廠牌乳牛料添加肉骨粉識別試驗之估測結果

Table 5. Prediction ability by NIRS on blank and different meat and bone meal contents in dairy feed among brands

Dranda	Samples	Calibration result						
Brands	records	0*	1*	3*	5*	7*	10*	
A	36	Pass	Uncertain	Pass	Pass	Pass	Pass	
В	30	Pass	Uncertain	Pass	Pass	Pass	Pass	
C	45	Pass	Uncertain	Pass	Pass	Pass	Pass	

<sup>\*</sup> Percentage of meat and bone meal.

由以上試驗分析結果顯示,以 NIRS 掃描光譜並使用 WINISI II 識別軟體建立之識別方程式,可先進行原料種類識別,再進行廠牌識別,最後再識別有無含肉骨粉,本法可快速辨別空白樣品,判別極限不低於 3%。乳牛料係採用多種原料調配而成,在樣品基質上較之麵粉、油脂等單一產品更為複雜,再加上飼料配方因不同工廠而異,更增加以 NIRS 識別之困難度。但 NIRS 對於添加 3% 以上肉骨粉之乳牛料具快速篩選能力,可提高飼料品質管理效率,然而對添加量低於 3% 之樣品,則需採用其他識別方法。

## 誌謝

本試驗承李佳鴻先生及康翠芳女士協助樣品處理及掃描事宜,以及王永琴博士、廖宗文博士提供寶貴意見與指正,使本試驗順利完成,謹此誌謝。

## 參考文獻

- Cho, R. K. and M. Iwamoto. 1989. The purity identification of sesame oil by near-infrared reflectance spectroscopy. Proc. of the 2nd International NIRS Conference. Tsukuba Japan. 142-147.
- Murray, I., L. S. Aucott and I. H. Pike. 2001. Use of discriminant analysis on visible and near infrared reflectance spectra to detect adulteration of fishmeal with meat and bone meal. J. Near Infrared Spectrosc. 9:297-311.
- Oyabu, M. and T. Kubodera. 1989. Discrimination and imaging of animal tissues by light scanning. Proc. of the 2nd International NIRS Conference. Tsukuba Japan. 298-304.
- Sato, T., M. Yoshino, I. Suzuki, S. Kawano and M. Iwamoto. 1989. Use of near-infrared spectroscopy to detect foreign fat adulteration of dairy product. Proc. of the 2nd International NIRS Conference. Tsukuba Japan. 148-156.
- Sirieix, A. and G. Downey. 1993. Commercial wheat flour authentication by discriminant analysis of near infrared reflectance spectra. J. Near Infrared Spectrosc. 1:187-197.

## Discriminant analysis of meat and bone meals in feeds by near infrared reflectance spectra<sup>(1)</sup>

Mian-Lian Lee (2)(3) and A-Li Hsu (2)

Received: May 20, 2007; Accepted: Oct. 15, 2007

#### **Abstract**

In Taiwan, the use of meat and bone meal in feeds has been forbidden, especially in ruminant feed. The objective of this study was to develop a quick method to detect meat and bone meals (MBM) used in feeds of dairy cows by NIRS. Various feeds and feed ingredients for cows were sampled from 3 local feed plants to evaluate the method. In Exp. I, MBM were discriminated from 56 feed ingredients and 15 feeds for cows. In Exp. II and III, further discrimination on MBM in some feeds for cows, 32 meat and bone meals, and 37 feeds were conducted. Feeds in Exp. III were then mixed with 1, 3, 5, 7 and 10% of meat and bone meals, respectively. All of the samples were scanned with NIRS (Bran + Lubbe InfraAlyzer 500) and the data were analyzed using software of WINISI.

The results showed that NIRS could quickly discriminate the ingredients from the feeds for cows. It could also discriminate the feeds from different feed plants. The discrimination limit on MBM were 3% or 1% for the feeds for cows from different or the same company, respectively. Nevertheless, when the MBM was from different sources, the discrimination limit on MBM used in the same brand of feed fell below 3%.

Key words: Meat and bone meal, NIRS analysis, Discriminant analysis.

<sup>(1)</sup> Contribution No. 1406 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

<sup>(2)</sup> Nutrition Division, LRI -COA, Hsinhua, Tainan 71246, Taiwan, R. O. C.

<sup>(3)</sup> Corresponding author, E-mail: mainlian@mail.tlri.gov.tw