

检测分析

基于近红外光谱的藏区酥油脂肪和蛋白质含量快速检测分析

洛 曲¹, 于修焯¹, 张建新¹, 李赛杰¹, 李春花¹, 贾雄飞¹, 次旦白玛²

(1. 西北农林科技大学 食品科学与工程学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 西藏自治区兽医生物药品制造厂, 拉萨 850000)

摘要:为了建立藏区酥油中脂肪和蛋白质含量快速检测方法,以藏区不同产地酥油为研究对象,采用组合区间偏最小二乘法优选出脂肪和蛋白质的红外光谱特征波段,在此基础上分别对几种光谱预处理方法进行比较挑选出最佳预处理方法,最后建立脂肪和蛋白质的定量分析模型并对模型进行外部验证。结果表明:在脂肪和蛋白质的特征波段内采用 SNV + 数据归一化 + 二阶导数 + S - G 滤波法对光谱预处理后建立脂肪和蛋白质定量模型,模型相关系数(R)分别为 0.994 和 0.997,交叉验证均方差($RMSECV$)分别为 4.09% 和 0.286%。对验证样本的预测值和实测值进行配对 t 检验,两种测量值之间没有显著性差异($P > 0.05$),表明建立的脂肪和蛋白质的近红外定量模型具有良好的预测能力,基于近红外光谱快速测定藏区酥油中脂肪和蛋白质的含量是可行的。

关键词:酥油;近红外光谱;脂肪;蛋白质;快速检测

中图分类号:TS252.56;TS225 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2018)03-0136-05

Rapid determination of fat and protein contents in ghee using near - infrared spectroscopy

LUO Qu¹, YU Xiuzhu¹, ZHANG Jianxin¹, LI Saijie¹, LI Chunhua¹, JIA Xiongfei¹, CIDAN Baima²

(1. College of Food Science and Engineering, Northwest A & F University, Yangling 712100, Shaanxi, China;

2. Veterinary Biomedical Manufacturing Plant of Xizang, Lhasa 850000, China)

Abstract: Rapid determination method of fat and protein contents in ghee was established using near - infrared spectroscopy with partial least squares. The ghee was collected from different regions in Tibet. The quantitative analysis model of fat and protein in those ghee samples was built with SNV, second derivative, data normalization and S - G filter in the characteristic wavelength band using synergy interval partial least squares. Finally, the validation samples were employed to verify the model. The results showed that the correlation coefficients of the quantitative models of fat and protein were 0.994 and 0.997 respectively, and $RMSECV$ were 4.09% and 0.286% respectively. The t test indicated that there was no significant difference ($P > 0.05$) between predicated value and measured value of validation samples. The established near - infrared quantitative model of fat and protein had good prediction ability, and it was feasible to rapidly determine the fat and protein contents in ghee using near - infrared spectroscopy.

Key words: ghee; near - infrared spectroscopy; fat; protein; rapid determination

酥油是将自然发酵后的牛奶反复搅打至奶油和水分分离,静置后在液面上浮起的一层淡黄色黏稠的

物质。酥油中含有较多的营养物质,其中脂肪和蛋白质是评价酥油营养价值的两个重要指标。近年来国内外学者对酥油的研究主要集中在成分分析、储藏过程中品质的变化、新产品的开发和储藏条件等领域^[1-5]。酥油在不同包装材料中其微生物含量和品质变化方面也均有报道^[6-7]。

收稿日期:2017-06-06;修回日期:2017-06-21

作者简介:洛 曲(1987),女,在读硕士,研究方向为食品营养安全与标准化(E-mail)woshiluoqu127@126.com。

通信作者:张建新,教授(E-mail)zhangjx59@foxmail.com。

近红外光谱法是近年来发展较为迅速的一种快速无损测量方法,具有操作简单、检测速度快、稳定性好、精度高,可同时检测多种组分等优点^[8]。近红外光谱法在乳制品组分的快速检测方面研究较多。匡静云等^[9]建立了原料乳中蛋白质和脂肪的近红外定量分析模型,预测模型相关系数分别为0.988 3、0.987 8,预测均方根差分别为1.83%、1.85%,获得了满意的预测效果。孙雷^[10]用PLS+ANN的方法建立酸奶中蛋白质和脂肪含量的近红外定量分析模型,结果表明用近红外光谱分析法预测酸奶中的蛋白质和脂肪含量是可行的。近红外光谱技术在奶粉、奶酪和黄油等的组分定量定性分析方面也有所研究^[11-13]。本研究通过近红外光谱结合偏最小二乘法(PLS)建立藏区不同产地酥油中的脂肪和蛋白质定量分析模型,旨在为近红外光谱快速检测酥油中脂肪和蛋白质含量提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

酥油样品分别采集于拉萨、山南、日喀则、昌都、那曲、阿里、甘南等地,一共54份样本。

DS20型FOSS全自动凯氏定氮仪:丹麦FOSS公司,配有FOSS全自动消化炉和AC-1600制冷循环机;MPA型傅里叶近红外光谱仪:德国布鲁克公司,配有MPA固体光纤探头;HH-2型电热恒温水浴锅:北京科伟永兴仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 脂肪和蛋白质含量的测定

脂肪含量的测定:参照GB 5413.3—2010《食品安全国家标准 婴幼儿食品和乳品中脂肪的测定》;蛋白质含量的测定:参照GB 5009.5—2010《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》。

1.2.2 近红外光谱采集

用近红外漫反射采集样品光谱,光谱范围12 000~4 000 cm^{-1} ,分辨率8 cm^{-1} ,扫描次数64次,每个样本测量3次,以3次的平均值作为样品光谱。

1.2.3 光谱预处理

近红外光谱仪所采集的样品光谱除样品的自身信息外,还包含了其他无关信息和噪声,因此在用化学计量学方法建立模型时,需采用适当的光谱预处理方法消除无关信息和噪音的影响^[14]。对酥油样

品的近红外光谱采取多元散射校正(multiple scatter calibration, MSC)、标准正态变换(SNV)、数据归一化、一阶导数、二阶导数、S-G滤波法、Norris Derivative滤波法以及多种预处理相互结合,以模型相关系数(R)、交叉验证均方差($RMSECV$)作为评价指标,筛选最佳光谱预处理方法。

1.2.4 特征波段的选择

近红外光谱分析结果的准确性取决于模型的合理使用和定标模型质量的好坏。在建立校正模型前进行特征波段的选择尤为重要,能筛选出与目标组分近红外吸收谱图高相关的波段,筛掉无关的冗余波段,有效提高模型准确度,改善模型质量^[15]。采用组合区间偏最小二乘法筛选酥油中脂肪和蛋白质的特征波段。

组合区间偏最小二乘法(SiPLS):将预处理后的全光谱模型波段等分成若干子区间,逐个在各子区间建立PLS回归模型。通过把精度较高的子区间联合起来作为一个整体用于建立模型^[16]。当组合区间的 $RMSECV$ 达到最小时,该组合区间就是模型的最优特征波段。

1.2.5 模型建立与评价

采用内部留一交叉验证法和外部验证法检验模型的准确性和可靠性。对校正集光谱进行内部留一交叉验证,即依次剔除校正集中1个样本,用剩余样本建模预测被剔除样本的组分,比较被剔除样本组分预测值与真实值的差异,由此评判模型的质量。通过所建模型的 R 、 $RMSECV$ 评价模型。

2 结果与分析

2.1 异常样品的剔除

对近红外光谱定量分析来说,其数据异常包括样品光谱或实测值与真实值的显著性异常和样本的光谱或实测值与校正集样本的光谱或实测值范围的显著性差异,可分为光谱异常和实测值异常。借助TQ Analyst软件自身的光谱异常值筛选功能,在建立脂肪定量模型时剔除4号、10号、17b号、19号、20号、42号、47号共7个异常值。

2.2 酥油中脂肪和蛋白质的含量分析

对收集的酥油样品的脂肪和蛋白质含量进行分析,并随机分成校正样品集和验证样品集,具体样品信息见表1。

表1 校正集和验证集

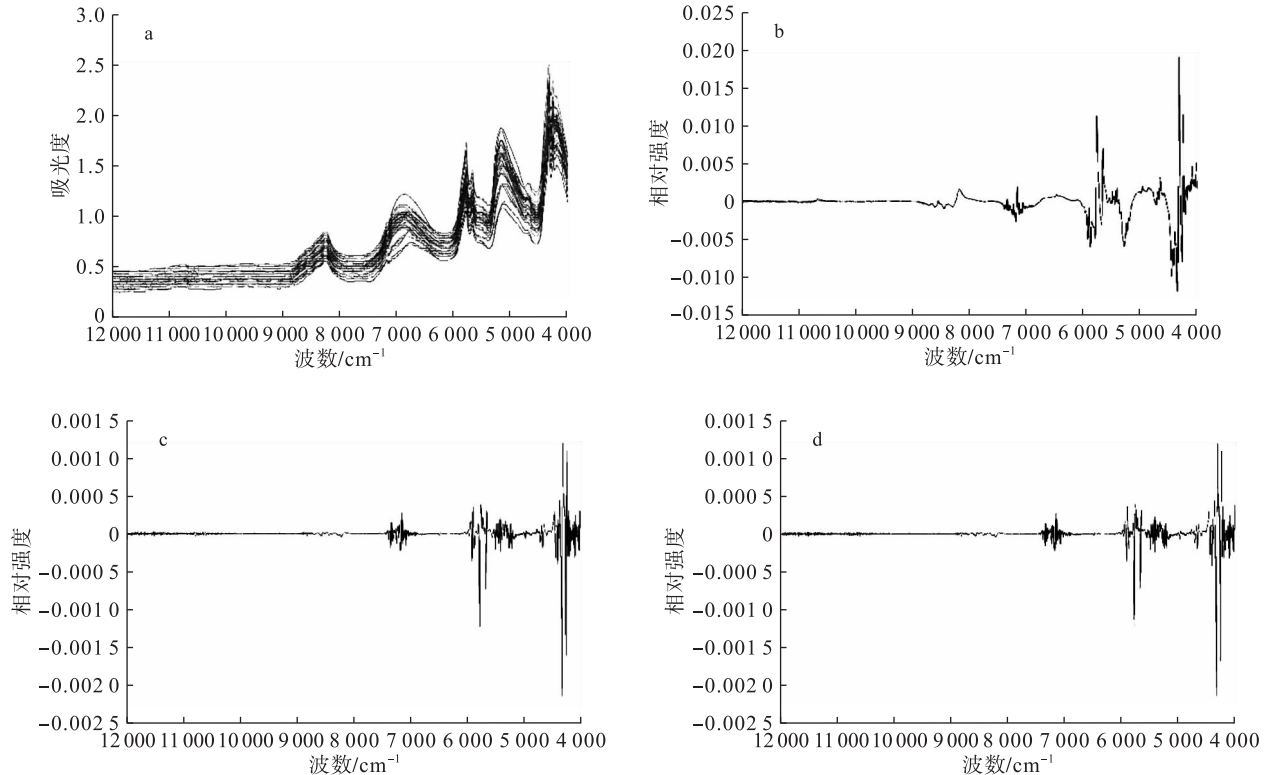
项目	样品集	样本数	最小值/(g/100 g)	最大值/(g/100 g)	平均值/(g/100 g)	标准偏差/(g/100 g)
脂肪	校正集	36	71.02	93.39	87.49	5.17
	验证集	11	80.44	91.27	87.34	3.72
蛋白质	校正集	36	0.51	1.80	0.96	0.28
	验证集	11	0.63	1.61	1.11	0.28

由表 1 可以看出,验证集中脂肪和蛋白质的含量范围分别为 80.44 ~ 91.27 g/100 g 和 0.63 ~ 1.61 g/100 g,均包含于其对应校正集的含量范围内,且校正集和验证集样本的平均值和标准偏差差异较小,表明验证集样品挑选合理,均可用于校正模型的

验证,且从样品来源的地区看基本涵盖西藏各个地区,具有一定的代表性。

2.3 光谱分析

利用近红外光谱仪采集 54 个酥油样品的原始近红外光谱并对光谱进行预处理,结果见图 1。



注:a. 原始光谱;b. 一阶导数光谱;c. 二阶导数光谱;d. 二阶导数 + S - G 滤波法光谱。

图 1 酥油近红外光谱

由图 1(a)可以看出,不同地区酥油的近红外光谱波形相似但吸收强度有所不同,表明各样品之间重现性较好,且存在一定的差异。其中样品在 9 000 ~ 8 000 cm^{-1} 、7 500 ~ 6 200 cm^{-1} 、6 000 ~ 4 000 cm^{-1} 等区间内有较强的光谱吸收,其中 4 660 cm^{-1} 、4 560 cm^{-1} 、7 690 ~ 7 143 cm^{-1} 与 C—H 的组合频有关。而 4 890 ~ 4 000 cm^{-1} 对应于蛋白肽键的吸收^[17],蛋白质一级倍频在 6 666 cm^{-1} 附近。6 944 cm^{-1} 与 6 667 cm^{-1} 附近分别为反对称伸缩和对称伸缩的一级倍频。12 000 ~ 9 000 cm^{-1} 区间为 C—H 的多级倍频区,但此区间光谱信号弱,噪音干扰较大。在实际建模过程中,应通过光谱预处理消除光谱噪音和其他光谱干扰,并根据不同基团的吸收将光谱数据分段建立校正模型,以期找到酥油中脂肪和蛋白质最佳的建模区域。由图 1(b) ~ 图 1(d) 可知,不同的预处理方法其光谱信息不一样,微分处理(图 1b 和图 1c)可消除部分线性或接近线性的背景,噪声光谱对目标光谱的影响,在消除粒径干扰的同时增强了样品的光谱特征,提高分辨率和灵敏度;

二阶导数 + S - G 滤波法处理的光谱(图 1d)信噪比相对图 1c 得到改善,可能是光谱的平滑处理有效降低了微分处理引起的光谱噪音增大的影响。

2.4 光谱预处理

特征波段是通过组合偏最小二乘法将 12 000 ~ 4 000 cm^{-1} 全谱等分为 10、16、20 和 25 个子区间^[18-19],并在不同的子区间上建立区间 PLS 回归模型,比较区间模型的 $RMSECV$ 。根据 $RMSECV$ 进行区间组合,最终优选的区间组合如表 2 所示。

由表 2 可知,筛选出来的两组特征波段分别是将波段分为 16 等分和 20 等分时进行的组合,得到的模型相关性最大, $RMSECV$ 最低,模型预测能力最佳。究其原因可能是当等分波段过长(10)或过短(25)时遗漏细节信息或引入冗余信息进而使得模型稳健性变差。同时,当光谱预处理使用 SNV + 数据归一化 + 2Der + S - G 滤波法时酥油中脂肪和蛋白质的定量模型较其他光谱预处理其模型相关系数明显增大、验证均方差 ($RMSEC$)、 $RMSECV$ 均显著降低。

表2 光谱预处理方法选择

项目	光谱等分数	特征波段/cm ⁻¹	预处理方法	R	RMSECV/%	RMSEC/%	PC(个)
脂肪	16	9 500 ~ 9 000	SNV	0.851	4.16	3.01	4
			MSC	0.852	3.93	3.01	3
		7 500 ~ 7 000	SNV + 2Der	0.905	4.09	2.19	4
			SNV + 数据归一化 + 2Der + S - G 滤波法	0.994	4.09	0.559	6
蛋白质	20	10 800 ~ 10 400	SNV + 1Der	0.880	4.91	0.140	4
		7 200 ~ 6 800	SNV + 1Der + SG	0.897	4.64	0.126	4
		6 000 ~ 5 600	SNV + 数据归一化 + 2Der + S - G 滤波法	0.997	0.286	0.022	7
		4 400 ~ 4 000					

注:1Der表示一阶导数;2Der表示二阶导数;SG表示Savitzky-Golay平滑;PC表示主成分。

2.5 模型建立

采用TQ Analyst软件,样品的光谱经SNV + 数据归一化 + 2Der + S - G滤波法处理并在优选的特征波段内结合偏最小二乘法建立藏区酥油中脂肪和蛋白质的定量分析模型见图2(a)和图2(b)。

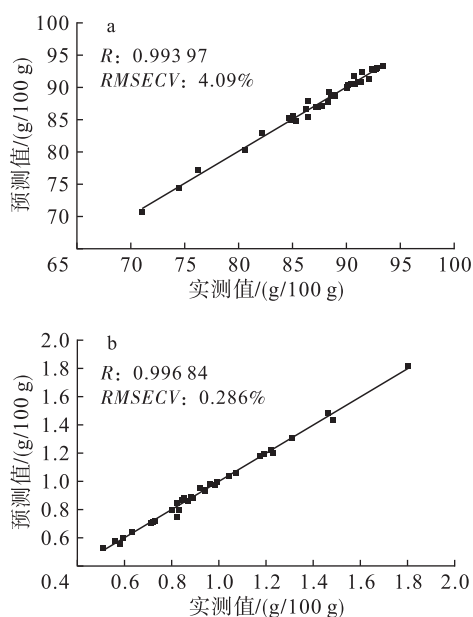


图2 脂肪(a)和蛋白质(b)的校正模型

由图2可知,脂肪和蛋白质的校正模型相关系数均在0.99以上,实测值与预测值之间存在高度相关性,模型拟合较佳。

2.6 模型验证

用2.2中划分的验证集样本对建立的脂肪和蛋白质含量预测模型进行验证,模型验证分析结果见表3。

由表3可知,脂肪含量和蛋白质含量的预测值和实测值经配对t检验,P值分别为0.072和0.113,均大于显著性水平0.05,说明预测值与实测值之间没有显著性差异,基于近红外光谱建立藏区酥油中的脂肪和蛋白质定量模型具有良好的预测能力。

表3 模型验证分析结果 g/100 g

样品编号	脂肪含量		蛋白质含量	
	实测值	预测值	实测值	预测值
1	90.00	92.17	0.96	0.63
5	87.08	89.13	1.27	1.08
23	89.36	87.41	0.90	1.00
24	91.27	90.27	0.63	0.79
25	82.15	81.66	1.47	1.55
31	89.70	89.36	1.20	1.04
34	82.03	84.08	1.61	1.09
36	84.93	88.20	0.92	0.91
37	80.44	84.51	1.26	0.95
46	83.89	85.24	0.97	1.00
50	87.44	88.71	1.00	0.93

3 结论

基于近红外光谱建立藏区酥油中脂肪和蛋白质的定量分析模型。结果表明:在各组分的光谱特征波段(脂肪9 500 ~ 9 000 cm⁻¹、7 500 ~ 7 000 cm⁻¹、5 000 ~ 4 500 cm⁻¹,蛋白质10 800 ~ 10 400 cm⁻¹、7 200 ~ 6 800 cm⁻¹、6 000 ~ 5 600 cm⁻¹、4 400 ~ 4 000 cm⁻¹)内采用SNV + 数据归一化 + 二阶导数 + S - G滤波法光谱预处理后建立酥油中脂肪和蛋白质的定量模型,模型的相关系数分别为0.994和0.997,交叉验证均方差分别为4.09%和0.286%,主成分个数分别为6和7,模型拟合良好。验证集样本的预测值和实测值之间没有显著性差异(P > 0.05),基于近红外光谱的藏区酥油脂肪和蛋白质定量模型具有良好的预测能力,对红外光谱快速检测藏区酥油中脂肪和蛋白质含量具有一定的参考价值。

参考文献:

- [1] 李海朝,贾普友,张辉. 不同酥油理化特性及脂肪酸组成分析[J]. 中国油脂,2013,38(8):93-94.
- [2] 周小玲,刘书杰,崔占洪,等. 牦牛酥油与普通奶油中脂肪酸组成与含量的比较[J]. 中国饲料,2008(23):

- 21 - 22.
- [3] ORRASHID M M, ODONGO N E, SUBEDI B, et al. Fatty acid composition of yak (*Bos grunniens*) cheese including conjugated linoleic acid and *trans*-18:1 fatty acids[J]. *J Agric Food Chem*, 2008, 56(5):1654 - 1660.
- [4] 薛璐,王昌禄,胡志和,等. 基于电子鼻对酥油贮藏期间质量变化规律的研究[J]. *食品科学*, 2012, 33(16): 221 - 224.
- [5] 熊华,郑为完. 西藏酥油茶粉生产技术研究[J]. *中国油脂*, 2003, 28(4):33 - 34.
- [6] 王秋玲,次顿,李颖,等. 不同包装及储藏条件对酥油微生物的影响[J]. *西藏科技*, 2015(4):8 - 11.
- [7] 洪蕾,杨丽杰,陈雪,等. 不同包装条件下精酥油的品质变化研究[J]. *食品工业科技*, 2012, 33(22):331 - 334.
- [8] 陆婉珍. 现代近红外光谱分析技术[M]. 北京:中国石化出版社, 2007.
- [9] 匡静云,管晓,刘静. 原料乳中蛋白质与脂肪的近红外光谱快速定量研究[J]. *分析科学学报*, 2015, 31(6): 783 - 786.
- [10] 孙雷. 利用近红外光谱法检测酸奶中蛋白质和脂肪含量[D]. 长春:吉林大学, 2008.
- [11] 王伟,张玉,王楠,等. 基于傅里叶变换近红外光谱的奶粉品质优劣鉴别[J]. *浙江农业科学*, 2015, 56(11): 1794 - 1795.
- [12] 邹强,方慧,张维,等. 近红外光谱技术在奶酪品质评价中的应用[J]. *光谱学与光谱分析*, 2011, 31(10): 2725 - 2729.
- [13] BASSBASI M, LUCA M D, IOELE G, et al. Prediction of the geographical origin of butters by partial least square discriminant analysis (PLS - DA) applied to infrared spectroscopy data[J]. *J Food Compos Anal*, 2014, 33(2):210 - 215.
- [14] 褚小立,袁洪福,陆婉珍. 近红外分析中光谱预处理及波长选择方法进展与应用[J]. *化学进展*, 2004, 16(4):528 - 542.
- [15] 张德涛,邹小波,石吉勇,等. 近红外光谱结合不同偏最小二乘法快速检测镇江香醋的浑浊度[J]. *中国酿造*, 2012, 31(1):169 - 172.
- [16] 杨琼,朱乾华,任鹏,等. 不同偏最小二乘法在化学需氧量近红外光谱特征波段选择中的应用[J]. *分析科学学报*, 2016, 32(4):485 - 489.
- [17] 王云,徐可欣,常敏. 近红外光谱技术检测牛奶中脂肪及蛋白质含量校正模型的建立[J]. *光学仪器*, 2006, 28(3):3 - 7.
- [18] 李卫华,田士玉,唐玉朝,等. 近红外光谱结合区间偏最小二乘法快速分析污泥中蛋白质含量[J]. *环境工程学报*, 2017, 11(3):1819 - 1824.
- [19] 洗瑞仪,黄富荣,黎远鹏,等. 可见和近红外透射光谱结合区间偏最小二乘法(iPLS)用于橄榄油中掺杂煎炸老油的定量分析[J]. *光谱学与光谱分析*, 2016, 36(8):2462 - 2467.
-
- (上接第 112 页)
- 参考文献:**
- [1] AND G D Y, PUJARI A A. Epoxidation of styrene to styrene oxide: synergism of heteropoly acid and phase - transfer catalyst under ishii - venturello mechanism[J]. *Org Process Res Dev*, 2000, 4(4):88 - 93.
- [2] POLI E, CLACENS J M, BARRAULT J, et al. Solvent - free selective epoxidation of fatty esters over a tungsten - based catalyst[J]. *Catal Today*, 2009, 140(1/2): 19 - 22.
- [3] 李俊卿,张惠芳. 国内增塑剂现状及发展趋势[J]. *塑料加工*, 2006(6):7 - 10.
- [4] 李玉芳,伍小明. 环氧大豆油合成技术研究进展[J]. *精细与专用化学品*, 2015, 23(1):44 - 47.
- [5] ZENG R T, WU Y, LI Y D, et al. Curing behavior of epoxidized soybean oil with biobased dicarboxylic acids[J]. *Polym Test*, 2017, 57:281 - 287.
- [6] 张继昌,张艳维,朱心奇,等. 绿色增塑剂环氧大豆油的合成与表征[J]. *塑料科技*, 2012, 40(8): 93 - 95.
- [7] 李坤兰,高爽,奚祖威. 无酸法合成环氧大豆油的研究[J]. *化学世界*, 2008, 49(5):293 - 295.
- [8] 孙晓英,赵雪冰,杜伟,等. 微量硫酸催化环氧大豆油的合成[J]. *过程工程学报*, 2010, 10(4): 714 - 719.
- [9] 邓芳,魏俊发,石先莹. 无羧酸条件下清洁合成环氧大豆油[J]. *石油化工*, 2006, 35(3):281 - 283.
- [10] 邬凤娟,蒋平平,张萍波,等. Cu - salen 配合物催化大豆油环氧化合成环保塑化剂[J]. *中国油脂*, 2012, 37(5):56 - 60.
- [11] 程争. 无溶剂法合成环氧大豆油新工艺的研究[J]. *辽宁化工*, 1997(1):37 - 40.
- [12] 胡志国,杜二强. 高环氧值环氧大豆油制备工艺的研究[J]. *中国油脂*, 2008, 33(4):32 - 34.