

近红外光谱技术检测液态奶中微量三聚氰胺的可行性研究

Analysis on feasibility of detection of melamine in liquid milk based on near-infrared spectroscopy

程文宇¹ 管 晓¹ 刘 静²

CHENG Wen-yu¹ GUAN Xiao¹ LIU Jing²

(1. 上海理工大学医疗器械与食品学院, 上海 200093; 2. 上海海事大学信息工程学院, 上海 200135)

(1. School of Medical Instruments and Food Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China; 2. College of Information Engineering, Shanghai Maritime University, Shanghai 200135, China)

摘要:为了快速检测液态奶中违法添加的三聚氰胺量,利用近红外光谱技术进行可行性研究分析。对采集的 54 组添加不同三聚氰胺含量的液态奶样本的近红外漫反射光谱进行小波变换(wavelet transform, WT)结合主成分分析(principal component analysis, PCA)后,提取得到特征信号,利用广义回归神经网络(general regression neural network, GRNN)建模进行三聚氰胺的定量分析,结果显示当三聚氰胺浓度低于 0.05% 时,模型预测能力较差,预测集模型 R^2 仅为 0.654。进一步利用支持向量机(support vector machine, SVM)建模对液态奶中是否添加三聚氰胺进行定性判别,结果显示测试集准确率为 94.44%。因此,通过近红外光谱结合适当的化学计量学方法,对液态奶中添加三聚氰胺虽无法精确定量,但可准确对其进行定性判别。

关键词:近红外光谱;液态奶;三聚氰胺;小波变换;支持向量机

Abstract: The reasonability using near-infrared spectra (NIRS) for detection of melamine in liquid milk were studied. NIRS of samples were obtained by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) spectrometer, samples of liquid milk with adding melamine were analyzed while characteristic signals were extracted by wavelet transform and principal component analysis. Quantitative analysis was taken by General the Regression Neural Network (GRNN) for the diffuse reflectance spectroscopy of liquid milk adding melamine first. The result is not satisfactory enough that when concentration of melamine is lower than 0.05%, the R^2 of predict model is only 0.567. Qualitative discrimination by support vector machine was carried out later.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:31101348)

作者简介:程文宇(1991—),女,上海理工大学在读硕士研究生。

E-mail:cheng1830@foxmail.com

通讯作者:刘静

收稿日期:2014-11-26

The results showed that the model has a very good discriminate ability of the spectrum. The accuracy of the test set was 94.44%. Overall, NIRS combined with appropriate chemometrics methods is a feasible way to take qualitative discrimination of liquid milk whether or not adding melamine.

Keywords: near-infrared spectra (NIRS); liquid milk; melamine; wavelet transform (WT); support vector machine (SVM)

乳制品中非法添加三聚氰胺,长期或反复大量摄入会对肾与膀胱产生影响,导致肾结石。三鹿毒奶粉事件的直接原因即是奶粉中含有超量三聚氰胺^[1]。为了维护乳制品安全,不同国家对其中的三聚氰胺限量有不同要求。中国政府 2008 年明确规定,乳制品中(包括原料乳)三聚氰胺含量不得超过 2.5 mg/kg^[2];国际食品法典委员会 2012 年 7 月规定每公斤液态牛奶中三聚氰胺含量不得超过 0.15 mg^[3]。

三聚氰胺的常用检测方法主要有高效液相色谱法和气质联用法,但这些方法主要在实验室进行,且需要专业操作人员,不利于原料乳品质的在线监控^[4]。在计算机技术的飞速发展、光学技术和化学计量学方法的不断进步下,近红外光谱分析技术在多个领域显示了其独特的优势,其中无损、高效、快速、成本低、无污染的优点,使其明显优于传统的分析检测技术,而且样品无需预处理,更加便于实现在线分析^[5]。

有机物在近红外光谱区主要表现为含氢官能团 X—H (X=C、N、O、S)基频振动的不同倍频与合频吸收峰,由于合频和倍频跃迁几率低,谱带强度弱并重叠严重,因此提取的有用信息为弱信息和多元信息,对微量物质的定量效果往往不佳。刘景旺等^[6]利用近红外光谱对牛奶中的三聚氰胺

进行了检测,但存在准确性不高等问题。近年来随着化学计量学的发展,近红外技术结合适当的化学计量学处理方法,可以对食品组成成分以及外源添加物进行定性判别^[6-8],并有效提高检测限度。

小波变换被誉为数学上的显微镜,是一种理想的信号处理方法,它能将重叠的混合信号转变为不同频率的基元信号,具有多分辨率、方向选择性等特点,可对信号进行局部化分析^[9]。在近红外光谱分析中,小波变换可以有效地消除光谱噪音,提高局部特征信号^[10],是近红外光谱预处理常用的方法之一。本研究拟通过近红外光谱小波变换结合主成分分析以及广义回归神经网络(WT-PCA-GRNN)对添加三聚氰胺的液态奶进行定量分析,并结合支持向量机(WT-PCA-SVM)对其进行定性判别,目的是探讨近红外光谱技术结合化学计量学方法对液态奶中三聚氰胺快速检测的可行性,为快速检测液态奶中的三聚氰胺提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 仪器设备

傅里叶近红外光谱仪:MPA 型,德国 Bruker 公司。光谱采集模式为漫反射(光纤),谱区范围 4 000~12 501 cm^{-1} ,分辨率 8 cm^{-1} ,扫描次数 64 次;

电子天平:AB104-N 型,上海第二天平仪器厂;

均质机:APV1000 型,上海顺仪实验设备有限公司。

1.2 试样准备

将取自上海金山奶牛场的新鲜原料乳,通过蒸馏水稀释配制成蛋白质浓度为 1.5% 的基底乳,备用。将不等量的三聚氰胺分别掺入基底乳中模拟掺假试样,三聚氰胺掺入量控制在 0.001%~1.000% (质量分数),在均匀分布浓度梯度下,共制备 54 组样本。在建模时从 54 组样本中随机选取 15 组作为定量模型的测试集,剩余 39 组样为训练集。另外取 18 组未添加三聚氰胺的原料乳样本,分别用蒸馏水稀释至蛋白质含量为 1.5%~3.2% (质量分数),浓度梯度 0.1%。表 1 为训练集和测试集划分结果。

1.3 光谱采集与数据处理

将样品在恒温水浴锅中保持 25 $^{\circ}\text{C}$ 、环境相对湿度为 45%,使机器开机预热 10 min。采集光谱前,将不同样本用转速 2 000 r/min 均质机搅拌 60 s。样本的漫反射近红外光谱利用光纤探头采集,每组样本测量 10 次,取平均值作为该样本典型光谱,每组样本光谱由 2 203 个数据点构成。数据采集软件为 OPUS 6.5,数据处理分析软件为 Matlab R2009b。

2 结果与分析

2.1 光谱预处理

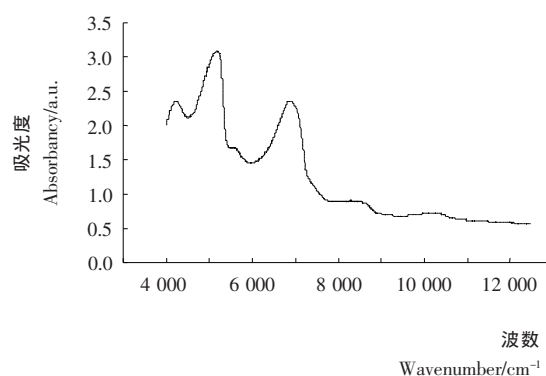
本试验采用 Daubechies(db2)小波对原始光谱信号进行 4 层小波分解^[6]。处理效果见图 1。

表 1 测试集的选择结果[†]

Table 1 Results of division of test set

序号	三聚氰胺质量分数/%	序号	三聚氰胺质量分数/%	序号	三聚氰胺质量分数/%
1	0.001*	19	0.028*	37	0.100
2	0.002	20	0.030	38	0.150
3	0.003	21	0.032	39	0.200
4	0.004*	22	0.034	40	0.250
5	0.005	23	0.036	41	0.300*
6	0.006	24	0.038*	42	0.350
7	0.007	25	0.040	43	0.400
8	0.008	26	0.045*	44	0.450
9	0.009	27	0.050	45	0.500
10	0.010*	28	0.055*	46	0.550
11	0.012	29	0.060	47	0.600*
12	0.014	30	0.065	48	0.650*
13	0.016	31	0.070*	49	0.700
14	0.018	32	0.075	50	0.750
15	0.020*	33	0.080	51	0.800
16	0.022	34	0.085	52	0.850*
17	0.024*	35	0.090*	53	0.900
18	0.026	36	0.095	54	1.000

† *用于测试集。



(a) 基底乳光谱



(b) 小波变换图谱

图 1 小波变换图谱

Figure 1 Transformed spectrums by WT

据报道^[11],三聚氰胺中 NH_2 的波动处于近红外区域,在 6 644~6 812 cm^{-1} 间有明显的吸收峰,而根据朗伯—贝耳定律,红外线通过水分时是被选择性吸收,其吸收量大小遵循近红外辐射经过物质后的光强,与物质的浓度(水分含量)之

间存在一定关系,即吸收能量随着被测物浓度的增加而增加^[12]。

为验证三聚氰胺在波数为 6 644~6 812 cm^{-1} 区域内的吸收峰,将小波变换后的图谱进行一阶导数分析,先将 6 644~6 812 cm^{-1} 内 43 个光谱数值拟合成多元函数,处理后发现最大导数值处为 6 792 cm^{-1} ,因此选取 6 792 cm^{-1} 处进行分析,将所有样品的光谱在该处导数进行比较分析,结果见图 2。

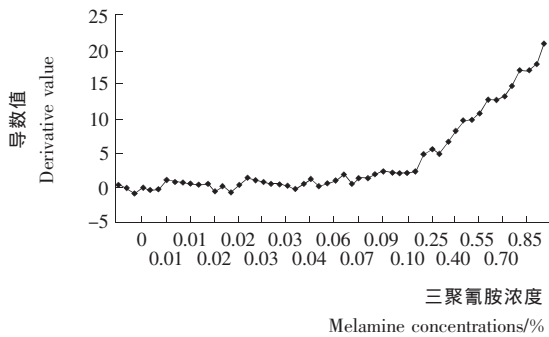


图 2 不同三聚氰胺浓度下 6 972 cm^{-1} 导数值

Figure 2 Derivative value at 6 972 cm^{-1} at different concentrations

由图 2 可知,三聚氰胺浓度与 6 792 cm^{-1} 处导数值基本成正比例关系,这与三聚氰胺在 6 644~6 812 cm^{-1} 内存在吸收峰的推断吻合。但由图 2 也不难发现,当三聚氰胺在浓度低于 0.05% 时,浓度与峰值导数比例关系并不明显,并且有几组样品在 6 792 cm^{-1} 处导数为负值,这是由于样品背景及其它组分等干扰,以及设备等系统误差所共同导致的光谱峰漂移^[13, 14]。

2.2 主成分分析

由于低浓度变化规律不明显以及光谱漂移等问题,本试验采用主成分分析(PCA)对光谱进一步处理。主成分分析是通过线性变换重新组合原来具有一定相关性的众多指标,选出较少个数重要且互不相关的变量,从而使进一步研究变得简单的一种多元统计分析方法^[15]。本试验目的是将 6 644~6 812 cm^{-1} 内已被小波变换放大的特征信号进行进一步提取,获得更具代表性的特征值进行后续分析。表 2 为主成分分析结果。

表 2 主成分分析结果

Table 2 Result of PCA

主成分	初始特征值		
	方差	方差百分比	方差累计值
1	2 034.458	92.349	92.349
2	83.071	3.771	96.120
3	65.507	2.974	99.094
4	6.849	0.311	99.405
5	2.805	0.127	99.532

由表 2 可知,通过主成分分析,可以将 6 644~6 812 cm^{-1} 内 43 个数据点转换成少量的代表性变量,本试验取前 4 个主成分因子作为建模自变量,累积贡献率达到 99.405%。

2.3 对三聚氰胺的定量分析

GRNN 是由输入层、隐含层和一个线性输出层组成的,是径向基函数(radial basis function, RBF)网络的一种。GRNN 的拓扑结构如图 3 所示。GRNN 多用于函数局部逼近,并具有非线性映射能力强、训练速度快的优点,适用于样本数量较少的建模。此外,GRNN 只有一个光滑因子需要调整,因而合适的预测网络能够很快地被找到,具有一定的运算优势。因此,本试验采用 GRNN 对液态奶中三聚氰胺含量进行建模^[16]。

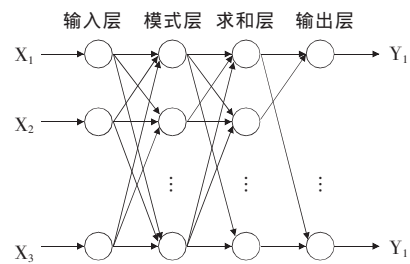


图 3 GRNN 拓扑结构

Figure 3 Topology of GRNN

利用 Matlab 软件建立 GRNN 模型,取通过主成分分析得到的 4 个因子作为模型自变量,三聚氰胺含量作为模型因变量,将表 1 中所选取的 39 组数据用于建立模型,15 组测试集用于评价模型效果,采用模型相关系数 R^2 评价模型效果。经过软件寻优,平滑因子取值为 0.1,此时三聚氰胺含量训练集模型 R^2 为 0.694 3,测试集模型 R^2 为 0.654。结果显示如图 4、5 所示,虽然模型对三聚氰胺含量预测与实际值总体趋势相同,但预测准确度不高, R^2 值偏低,作为定量分析仍有待进一步完善。

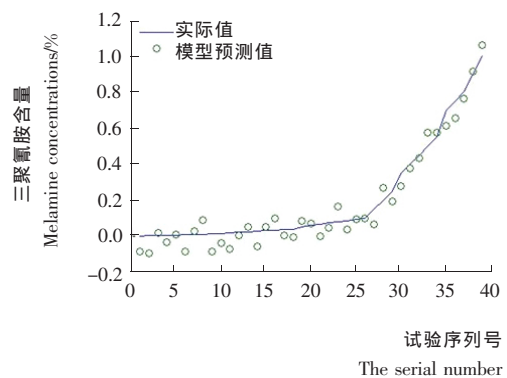


图 4 训练集预测结果

Figure 4 Predicted results of train set

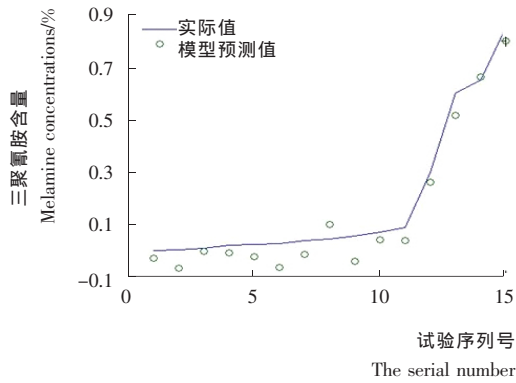


图 5 测试集预测结果

Figure 5 Predicted results of test set

2.4 对三聚氰胺的定性判别

由上述分析可以看出,尽管无法对液态奶中的三聚氰胺含量进行准确定量,但对三聚氰胺含量的预测规律与实际值相同。因此,本试验进一步利用支持向量机方法对掺入三聚氰胺的液态奶样本进行定性判别。

支持向量机是在结构风险最小原理和统计学习理论基础上建立的,在模型的复杂性和学习能力之间根据有限的样本信息寻求最优,从而能够推广应用到函数拟合等其他机器学习问题中。在近红外光谱分析中,样本数量得到的通常不多,而 SVM 作为一种专门研究小样本情况下预测问题和统计估计的方法,能够较好地解决小样本、非线性、高维数和局部极值等诸多实际问题^[17, 18]。图 6 为支持向量机拓扑结构图。

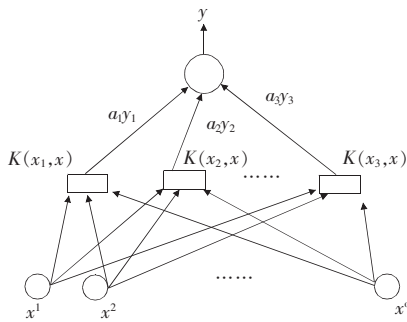


图 6 SVM 拓扑结构

Figure 6 Topology of SVM

由于新加入的 18 组未添加三聚氰胺的液态乳样本未进行有效主成分提取,所以需要将这 18 组样本与上述 54 组加入不同比例三聚氰胺的液态奶样本合并,共得到 72 组样本,对其原始光谱重复上述小波变换预处理。随后将 72 组样本随机划分,其中 54 组为训练集,18 组为测试集。对训练集进行主成分分析,通过计算提取得 5 个主成分因子,累积贡献率为 99.11%。再利用支持向量机建立模型,其中 5 项主成分因子为模型自变量,是否掺入三聚氰胺作为因变量,掺入为 1,未掺入为 0,分别采用不同核函数建立 SVM 模型。随后将 18 组测试集带入主成分分析模型,将得到的主成分因子

带入支持向量机模型检验,模型效果见表 3。

表 3 不同核函数的预测结果

Table 3 Predicted results by using different kernel function

核函数	训练集(54 个)	预测集(18 个)
线性	64.814 8%(35/54)	61.111%(11/18)
多项式	81.481 5%(44/54)	88.889%(16/18)
径向基	94.444 4%(51/54)	94.444%(17/18)
神经元的非线性作用函数	90.740 7%(50/54)	88.889%(16/18)

由表 3 可知,采用 RBF 作为核函数时,本试验预测效果最佳,训练集与预测集预测准确率均为 94.44%,结果令人满意。这表明利用近红外光谱技术对液态奶中掺入三聚氰胺的定性判别是完全可行的。

3 结论

通过近红外光谱技术,对液态奶中三聚氰胺进行研究,首先采用小波变换放大三聚氰胺特征信号,再利用主成分分析获得有效的特征因子,分别对液态奶中三聚氰胺进行了定量及定性的研究,结果表明:① 当液态奶中三聚氰胺质量比低于 0.05% 时,模型预测能力较差,这是由于近红外光谱技术本身的特点所致;② 利用支持向量机对液态奶中三聚氰胺进行定性分析可获得较好的判别结果,并且近红外光谱技术具有前处理简单、无污染、无破坏性等优势。进一步扩充模型光谱数量,提高模型精度,将有利于推广近红外光谱分析技术在实际液态奶质量监控工作中的应用。

参考文献

- 李高杰. 现代近红外光谱技术在食品分析中的应用[J]. 经营管理者, 2010(19): 403.
- 中华人民共和国卫生部,中华人民共和国工业和信息化部,中华人民共和国农业部,国家工商行政管理总局. 国家质量监督检验检疫总局公告 2008 年第 25 号[J]. 中国食品卫生杂志, 2008, 20(6): 564.
- 新华. 牛奶中三聚氰胺含量设定新标准[J]. 北京农业, 2012(22): 9.
- 张鑫,顾欣,陈美莲,等. 近红外光谱技术在乳品行业的研究现状及应用前景[J]. 上海畜牧兽医通讯, 2010(6): 12~13.
- 李慧,曾铭,要磊,等. 近红外光谱技术在食品检测中的应用研究进展[J]. 食品工业, 2011(12): 85~88.
- 刘景旺,张博洋,李树峰,等. 近红外吸收光谱技术快速检测奶制品中添加三聚氰胺[J]. 光散射学报, 2010, 22(3): 291~297.
- 金长江,郑先哲. 应用近红外光谱技术快速检测黑加仑浆果的主要营养成分[J]. 东北农业大学学报, 2011, 42(5): 41~47, 147.
- Pojić M, Jasna Mastilović, Dragan Palić, et al. The development of near-infrared spectroscopy (NIRS) calibration for prediction of ash content in legumes on the basis of two different reference methods[J]. Food Chemistry, 2010, 123(3): 800~805.

(下转第 81 页)

3 结论

本试验测定了新疆不同地区的3个主栽品种的枣果微量元素。结果表明,红枣中的矿物质元素含量丰富,尤以K($>12\ 277\ \mu\text{g/g}$),Ca($>785\ \mu\text{g/g}$),Mg($>646\ \mu\text{g/g}$),Al($>179\ \mu\text{g/g}$),Fe($>22\ \mu\text{g/g}$),Na($425\ \mu\text{g/g}$)含量较高,这和杨艳杰等^[3]对不同红枣中微量元素含量测定结果保持一致。其中阿克苏骏枣和哈密大枣的K含量均高于其他地区 and 品种的枣,也和张艳红等^[12]的研究结果相一致。

中国GB 2762—2012中规定的Cd在水果及其制品中限量指标 $<0.05\ \text{mg/kg}$,本试验所测定样品是 $80\ ^\circ\text{C}$ 烘干至恒重的红枣干样,Cd含量均低于检出限。新疆不同地区的红枣中常量元素K、Ca、Mg、Na等含量均丰富,不同地区红枣栽培品种的微量元素含量相差较大,这可能与当地的土壤环境以及施肥、农药使用等状况有关,各个地区的红枣主栽品种中的矿质元素含量与土壤矿物质含量、红枣成熟度等的相关性有待进一步研究。通过湿法消解,结合ICP—AES法测定红枣中矿质元素的含量,红枣中含有丰富的矿质元素,可作为补充人体矿物质的膳食来源,具有较高的营养价值。

参考文献

- 新疆维吾尔自治区统计局.新疆统计年鉴2012[Z].北京:中国统计出版社,2013.
- 王军,张宝善,陈锦屏,等.红枣营养成分及其功能的研究[J].食品研究与开发,2003,24(2):68~72.
- 杨艳杰,何弘水.不同品种红枣中微量元素的分析[J].光谱实验室,2008,25(3):484~486.
- 李志洲,陈均志.红枣中微量元素含量的测定[J].光谱实验室,2007,24(2):109~112.
- Marczenko Z, Freiser H. Spectrophotometric determination of trace elements[J]. Critical Reviews in Analytical Chemistry, 1981, 11(3):195~260.
- Duyck C, Miekeley N, Porto da Silveira C L, et al. The determination of trace elements in crude oil and its heavy fractions by atomic spectrometry[J]. Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, 2007, 62(9):939~951.
- Zhu Zhen-li, Liu Ji-xin, Zhang Si-chun, et al. Determination of Se, Pb, and Sb by atomic fluorescence spectrometry using a new flameless, dielectric barrier discharge atomizer[J]. Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, 2008, 63(3):431~436.
- Bianchi F, Maffini M, Mangia A, et al. Experimental design optimization for the ICP—AES determination of Li, Na, K, Al, Fe, Mn and Zn in human serum[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2007, 43(2):659~665.
- Ashoka S, Peake B, Bremner G, et al. Comparison of digestion methods for ICP—MS determination of trace elements in fish tissues[J]. Analytica Chimica Acta, 2009, 653(2):191~199.
- 朱明扬,余莲芳,任欢,等.8种干制水产品中7种金属元素含量的检测分析[J].食品与机械,2012,28(6):99~102.
- 张艳红,陈兆慧,王德萍,等.红枣中氨基酸和矿质元素含量的测定[J].食品科学,2008,29(1):263~266.
- 叶嘉荣,任露陆,郭新东,等.微波消解—电感耦合等离子体质谱法测定水果中19种元素[J].食品与机械,2012,28(3):76~79.
- 李淳,李双石,章宇宁.不同品种葡萄皮渣中常量元素和微量元素的测定[J].食品与机械,2013,29(6):59~62.
- 叶润,刘芳竹,刘剑,等.微波消解—电感耦合等离子体发射光谱仪测定大米中铜、锰、铁、钙、镁、钾、钠8种元素[J].食品科学,2014,35(6):117~120.
- 赵燕,李鑫,李建科,等.电感耦合等离子体发射光谱法测定铅法皮蛋中的多种无机元素[J].食品科学,2010,31(24):337~340.
- 田高友,袁洪福,刘慧颖,等.小波变换用于近红外光谱性质分析[J].分析化学,2004,32(09):1125~1130.
- 郝勇,陈斌,朱锐.近红外光谱预处理中几种小波降噪方法的分析[J].光谱学与光谱分析,2006,26(10):838~841.
- Haughey S A, Graham S F, Cancouët E, et al. The application of near-infrared reflectance spectroscopy(NIRS) to detect melamine adulteration of soya bean meal[J]. Food Chemistry, 2013, 136(3~4):1557~1561.
- Deeruyenaere V, Froidmont E, Bartiaux-Thill N, et al. Faecal near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) compared with other techniques for estimating the in vivo digestibility and dry matter intake of lactating grazing dairy cows[J]. Animal Feed Science and Technology, 2012, 173(3~4):220~234.
- Dalle Zotte A, Berzaghi P, Jansson LM, et al. The use of near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) in the prediction of chemical composition of freeze-dried egg yolk and discrimination between different n-3 PUFA feeding sources[J]. Animal Feed Science and Technology, 2006, 128(1~2):108~121.
- 张华秀,李晓宁,范伟,等.近红外光谱结合 Boosting-PLS 快速检测奶粉中蛋白质含量[J].计算机与应用化学,2010,27(9):1197~1200.
- Aoyama S, Toshima T, Saito Y, et al. Maternal breast milk odour induces frontal lobe activation in neonates: A NIRS study[J]. Early Human Development, 2010, 86(9):541~545.
- Brunet D, Woignier T, Lesueur-Jannoyer M, et al. Determination of soil content in chlordecone (organochlorine pesticide) using near infrared reflectance spectroscopy (NIRS)[J]. Environmental Pollution, 2009, 157(11):3120~3125.
- Bruno-Soares AM, Murray I, Paterson RM, et al. Use of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) for the prediction of the chemical composition and nutritional attributes of green crop cereals[J]. Animal Feed Science and Technology, 1998, 75(1):15~25.
- 张仲源,刘静,管晓,等.近红外光谱分析技术在食品检测中的应用研究进展[J].食品与发酵工业,2011,37(11):159~165.

(上接第74页)