

# 生鲜乳中还原乳的近红外光谱法鉴别

韩东海, 鲁超, 刘毅, 皮付伟

中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083

**摘要** 探讨了利用近红外光谱技术快速、准确地进行生鲜乳中是否含有还原乳鉴别的可行性, 并对还原乳检测过程中多元散射校正(MSC)的适用性进行了讨论。文章利用 SIMCA 判别分析方法, 建立了掺入还原乳之生鲜乳的定性判别模型, 结果表明: 当掺入比例为 10 % 时, 正确率达到 96.7 %, 当达到 20 % 以上时, 该方法的正确判别率可以达到 100 %; 另外, 利用偏最小二乘法(PLS)还建立了还原乳掺入量的定量检测模型( $r = 0.971$ ,  $RMSEP = 7.76\%$ ,  $RPD = 5.13$ ), 双尾 T 检验表明, 定量模型预测值与样品真实值间无显著性差异。上述 2 种方法充分说明了近红外技术可以实现生鲜乳中是否含有还原乳的快速鉴别。

**关键词** 近红外光谱; 还原乳; SIMCA 判别; PLS 定量分析; 多元散射校正

**中图分类号**: O657.3 **文献标识码**: A **文章编号**: 1000-0593(2007)03-0465-04

## 引言

随着人们生活水平的提高, 乳制品在国内的消费量迅速增加, 饮用鲜牛乳等液态乳已渐成习惯。生鲜乳作为牛乳生产厂家的基本原料, 其质量控制生产管理是至关重要的环节。某些牛乳供应商为了谋取商业利益, 利用廉价的还原乳充当生鲜乳销售。所谓还原乳, 即由奶粉兑水加工调制而成的牛乳。如果采用劣质奶粉调配还原乳, 虽然成本低廉, 但是营养成分远远不如生鲜乳。

对于还原乳的检测, 主要根据热处理过程中温度、时间的不同所引起的牛乳内部成分的变化进行判别, 一方面利用牛乳原有成分的变化作为识别指示物, 例如乳过氧化氢酶<sup>[1]</sup>、乳清蛋白<sup>[2]</sup>; 另一方面利用热处理过程中生成的新物质作为识别指示物, 例如 Furosine<sup>[3, 4]</sup>、羟甲基糠醛<sup>[5]</sup>。但这些检测方法往往费时费力, 操作复杂, 不能满足市场上还原乳快速准确鉴别的需要。近红外技术作为一种快速、准确的绿色检测技术, 在乳品行业中诸如牛乳理化指标的快速检测<sup>[6, 7]</sup>、生产线上关键点的实时控制<sup>[8]</sup>等方面已经进行了广泛的研究。

本文主要考察了利用近红外光谱技术鉴别生鲜乳中是否含有还原乳的可行性, 并分别建立了还原乳识别的定性、定量两种检测模型。

## 1 实验材料与方法

### 1.1 乳样的获取

#### 1.1.1 生鲜乳

取自中国农业大学中美乳业研究中心的三头荷斯坦奶牛, 每天中午采样, 共 5 d, 采集后放入 4 °C 便携冰箱中冷藏运回, 立即进行光谱采集和混合实验。

#### 1.1.2 还原乳

从市场上购买一种全脂鲜奶粉, 经实验将每袋奶粉(25 g)加入 180 mL 温水冲调, 经摇匀冷却至室温后备用。通过经典化学方法测得其脂肪含量为 3.68 %, 蛋白质含量为 3.33 %, 密度为 1.026, 与本次实验所用生鲜乳的平均数据接近, 可以消除因含量差异所导致的判别结果失真。

#### 1.1.3 不同梯度还原乳的配制

按照还原乳浓度为 10 %, 20 %, 33 %, 50 %, 66 %, 80 %, 100 % 的梯度, 进行生鲜乳和还原乳的配制, 得到还原乳浓度各异的实验样品备用。

实验共获得包括生鲜乳在内的不同梯度实验样品 8 种, 每种 15 个, 样品总数 120 个。

### 1.2 近红外光谱采集

利用 ANTARIS 傅里叶变换近红外光谱仪(Thermo Nicolet, 美国), 结合积分球附件采集了牛乳的漫反射光谱。每次采集时先将样品倒入直径 2 cm, 高 5 cm 的圆柱形样品杯中, 然后, 将样品杯置于光斑为 0.9 cm 的积分球上。为防

收稿日期: 2005-12-29, 修订日期: 2006-04-28

基金项目: 农业部“948”项目(2003-Z74)资助

作者简介: 韩东海, 1958 年生, 中国农业大学食品科学与营养工程学院教授 e-mail: caundt@cau.edu.cn

止光线直接透过样品,以消除样品厚度影响导致的光谱间差异,应保证液面高度大于 4 cm。检测波长范围 833~2 500 nm,间隔 2 nm,每个样品采集 3 次,每次扫描 64 次取平均,数据通过相连的计算机记录吸光度值( $\log 1/R$ )。每次采集光谱前,样品在水浴锅中恒温至 $(40 \pm 0.1)^\circ\text{C}$ 。

### 1.3 数据处理方法

实验数据利用 TQ Analyst V6.2 处理软件(Thermo Nicolet, 美国)Discriminate analysis 判别分析功能,建立了生鲜乳中还原乳鉴别的定性判别模型,本方法首先对训练集中每一类样本的光谱数据矩阵分别进行主成分分析(PCA),建立每一类主成分分析数学模型,然后在此基础上对未知样本进行分类,即将未知样品光谱数据进行主成分分解,在每一类的主成分空间内,进行马氏距离运算,得到每一类样品的距离,从而判断未知样品的归属,这类类似于 SMICA (soft independent modeling of class analogy) 判别方法<sup>[9]</sup> ([9]是仪器的说明书)。模型的优劣根据预测样品的正确判别率进行评价。

用偏最小二乘法(PLS)建立定量检测模型,模型的预测能力通过双尾 T 检验和 RPD (ratio of the standard deviation to the RMSEP) 值评价。当 RPD 值大于 10 时认为模型的预测能力是完美的,在 5~10 之间时认为模型可以进行指标的定量控制,当该值在 2.5~5 之间时认为模型只能进行相关指标的定性判别,当该值为 1 时认为该模型不能进行准确的预测<sup>[10]</sup>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同梯度还原乳的近红外光谱分析

图 1 为不同浓度实验样品的平均近红外光谱图,从图中可以看出,还原乳含量各异的近红外光谱形状基本相似,但随还原乳掺入量的增加谱图有向下漂移的趋势,这种趋势主要是由脂肪球大小以及数量差异所导致的散射不均引起的,详见本文 3.4 节。

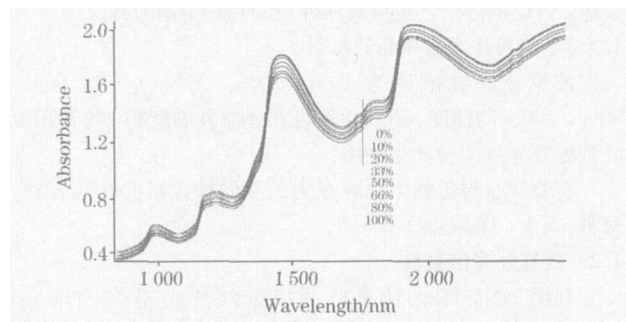


Fig 1 The average spectra of different content reconstructed milk from 0 % to 100 %

图 2 为经过一阶导数处理后,以 100% 还原乳谱图为基准得到的不同梯度还原乳的差谱图,由图 2 可以看出,在 950, 1 140 nm 波长和 1 100~2 500 nm 波段处,随着掺入浓度的提高,差谱图有明显的线性增加趋势。1 100~1 370 nm 波段主要集中了各种基团中 C—H 键伸缩、弯曲振动的二倍

频信息,而 1 600~2 200 nm 波段则大量集中了各种基团 C—H, O—H 键的一倍频跟合频吸收,由于牛奶中含有大量的富含 C—H, O—H 键的脂肪,蛋白质等有机成分,因此这些波段的线性变化趋势应该就反映了还原乳的变化趋势,这些特征吸收峰也为还原乳检测的鉴别机理研究提供了参考依据。通过这些特征波段的选取,可以有效的提高还原乳的判别精度。

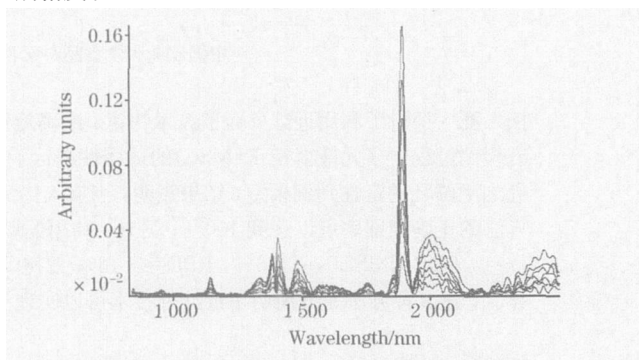


Fig 2 The residual spectra of different content reconstructed milk, after first derivative

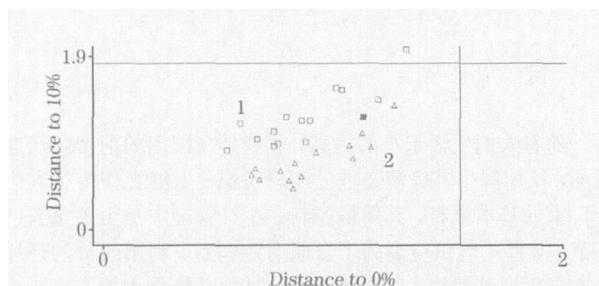


Fig. 3 The discrimination result of raw milk and 10% reconstructed milk (1 sample misclassified)  
1: Raw milk; 2: 10% Reconstructed milk

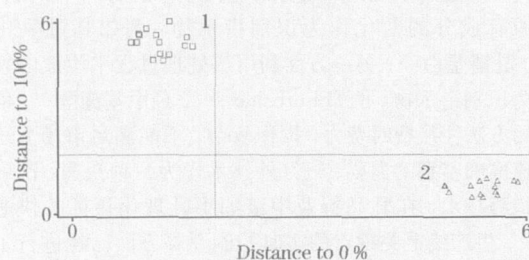


Fig. 4 The discrimination result of raw milk and 100% reconstructed milk  
1: Raw milk; 2: 100% Reconstructed milk

### 2.2 还原乳定性判别模型的建立与优化

根据还原乳的不同浓度将 120 个样品分成 8 类,利用 Discriminate analysis 判别分析法建立定性模型,为得到最优的判别结果,首先计算光谱间的马氏距离,根据 Dixon 检验剔除光谱异常样品 3 个,然后根据图 2 并结合各类样品间的方差谱图,选择最优波段 1 300~2 200 nm,接着对光谱进行多元散射校正处理(MSC),标准正态变换(SNV),一阶求

导,二阶求导,多点平滑等预处理,最终得到最优组合:1 000~1 370 nm和1 600~2 200 nm波段结合一阶导数光谱(见表1)。图3和图4为不同浓度的还原乳和生鲜乳的最优判别分析图,从图3和图4可以看出,对于含有10%还原乳的样品判别结果为:有1个生鲜乳样品被误判为还原乳,没

有还原乳样品被误判为生鲜乳,正确率达到96.7%;当还原乳浓度达到20%以上时,本方法可以进行100%的正确鉴别。在判别过程中,虽然不同梯度还原乳间有一定数量的误判,但不影响对还原乳样品的鉴别。

Table 1 The discriminate analysis result for reconstructed milk by different pretreatment methods

| Range of wave nmuber/ nm | PL S factor | Accuracy of detection of 10 % | Accuracy of detection of 20 % | Accuracy of detection among constructed milk | Pretreatment |
|--------------------------|-------------|-------------------------------|-------------------------------|----------------------------------------------|--------------|
| 833~2 500                | 10          | 53.3                          | 93.3                          | 71.4                                         | None         |
| 833~2 500                | 10          | 83.3                          | 99.0                          | 73.3                                         | MSC          |
| 1 000~1 370, 1 600~2 200 | 10          | 96.7                          | 100                           | 81.0                                         | 1d           |
| 1 250~2 500              | 16          | 90.0                          | 100                           | 86.7                                         | 1d, MSC      |

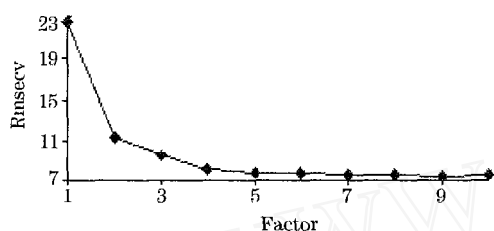


Fig 5 The RMSECV vs. number of latent variables from PLS reconstructed milk calibration

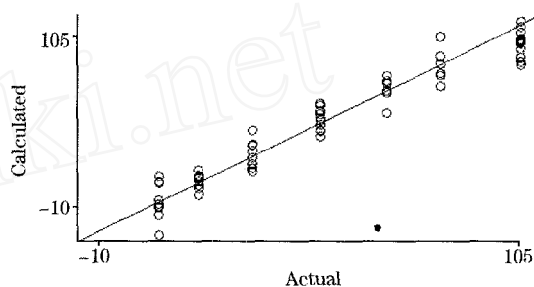


Fig 6 The correlation between calculated value and actual value of reconstructed milk

### 2.3 还原乳定量检测模型的建立与优化

在完成快速、准确的定性判别后,还对105个还原乳样品(原料乳样品未列入)的掺入量进行了定量测定,考察还原乳定量检测的可行性。

先根据样品化学值 $t$ 化残差(Studentized residual)与马氏距离值(Leverage)的关系图<sup>[11]</sup>剔除了4个异常样品,根据

样品浓度分布均匀的原则,选取了60个样品作为校正集,采用一阶求导或MSC的方法对光谱处理后,利用偏最小二乘(PLS)法建立了还原乳浓度检测模型,采用交叉验证的方法确定最优模型的建模主成分数为5个(图5),留一法交叉验证相关系数 $r=0.971$ ,RMSECV=7.76%,其余结果见表2。

Table 2 The PLS calibration parameters and results for reconstructed milk

| Range of wave nmuber/ nm | PL S factor | Correltion coefficient of calibration (R) | RMSECV/ % | RMSEP/ % | Pretreatment |
|--------------------------|-------------|-------------------------------------------|-----------|----------|--------------|
| 833~2 500                | 7           | 0.964                                     | 8.490 0   | 7.78     | None         |
| 833~2 500                | 7           | 0.950                                     | 99.9      | 6.83     | MSC          |
| 1 000~1 370, 1 600~2 200 | 5           | 0.971                                     | 7.76      | 5.93     | 1d           |
| 1 250~2 500              | 7           | 0.960                                     | 9.4       | 7.33     | 1d, MSC      |

根据图2并结合各类样品间的方谱图,经过波长选择后的预测结果明显好于全波长建模的结果,用所建模型预测剩余的41个样品,得到样品的RMSEP=5.93%;由于样品真实值间的标准偏差较大( $SD=30.43$ ),得到模型的RPD值为5.13,由此认为模型可以进行指标的定量控制;将预测样品的真实值和模型的预测值作为成对数据,进行成对数据的双尾T检验,其结果表明 $t$ 检验值绝对值均小于 $t_{0.01}$ ,预测值与真实值之间没有显著差异,能够满足实际定量检测的精度要求。还原乳浓度的模型计算值与真实值间的相关关系见图6。

### 2.4 MSC适用性的探讨

MSC作为一种消除多元散射的预处理方法,在液态食品,特别是牛奶成分的准确检测方面有很好的应用<sup>[12]</sup>。牛乳

中的脂肪球大小不一,均值约为4 000 nm,其对光谱的散射作用不能忽略不计。因此,Chen通过该方法消除牛乳中脂肪球引起的散射,提高了预测的准确度。然而,在本实验中,从表2所列结果可以看出,利用MSC方法进行预处理得到的预测结果并不理想,没有达到预期的结果。由奶粉的加工工艺可知,原料奶经过均质、热杀菌、喷雾干燥等工艺导致牛乳中的成分在物理结构上发生了变化,脂肪球被均一化,且粒度变小,约为400 nm,对光谱的散射影响明显减小;随着样品中还原乳量的不断增加,大脂肪球数量减少,其对光散射的影响也就逐渐减弱,图1中光谱的变化趋势也证明了这一结论。本文利用了散射的影响,有效地解决了生鲜乳中还原乳的鉴别问题,而MSC消除了不同浓度还原乳间的这种差异,也就降低了预测的精度,MSC不适合本研究对象。

由此可见,不同的预处理方法应该根据各自适合的环境灵活运用。

何勇等<sup>[13]</sup>亦曾用近红外光谱法研究过酸奶的品种。

### 3 结 论

实验结果表明了利用近红外技术可以实现还原乳的定性、定量检测,对于还原乳掺入比例达 20 %以上的牛乳样品

可以 100 % 的正确判别;定量判别结果也相当理想 ( $r = 0.971$ ,  $RMSEP = 7.76\%$ ,  $RPD = 5.13$ ),由于目前市场上销售的商品奶中掺入还原乳的比例都远高于 20 %,因此该技术可以很好的达到还原乳鉴别的要求,从而能够最大限度的保证消费者的权益,另外还原乳的定量检测,也为技术监督部门的合理执法提供了有利保证,该技术为牛乳质量的评价与控制提供了一种快速、准确的解决方法,也为牛乳中还原乳检测国家标准的早日建立提供一种参考。

### 参 考 文 献

- [1] Losi G, Castagnetti G B. *Informatore Zootecnico*, 1979, 26: 23.
- [2] Wu Anbang, Juan Wenhui, Cheng Huiwen, et al. *Food Science Taiwan*, 1997, 24(2): 178.
- [3] Resmini F, Pellegrino L, Cattaneo S. *Italian Journal of Food Science*, 2003, 15(4): 473.
- [4] Renterghem R V, Block J D. *International Dairy Journal*, 1996, 6(4): 371.
- [5] Wendie L C, Ann M V L, Marc E H. *Trends in Food Science & Technology*, 2002, 13: 293.
- [6] Tsenkova R, Atanassova S, Itoh K, et al. *J. Anim. Sci.*, 2000, 78: 515.
- [7] Tsenkova R, Atanassova S, Toyoda K, et al. *J. Dairy Sci.*, 1999, 82: 2344.
- [8] Navratil M, Cimander C, Mandenius C F. J. *Agric. and Food Chem.*, 2004, 52: 415.
- [9] Thermo Nicolet Corporation(U. S. A.). *TQ Analyst TM User's Guide*, 2003, 53.
- [10] Huang Y, Rogers T M, Wenz M A, et al. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49: 4161.
- [11] MIN Shun-geng, LI Ning, ZHANG Ming-xiang(闵顺耕, 李 宁, 张明祥). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2004, 24(10): 1205.
- [12] Chen Jieyu, Chie Iyo, Fuminori Terada, et al. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 2002, 10: 301.
- [13] HE Yong, FENG Shui-juan, LI Xiao-li, et al(何 勇, 冯水娟, 李晓丽, 等). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2006, 26(11): 2021.

## Identification of Reconstructed Milk in Raw Milk Using Near Infrared Spectroscopy

HAN Dong-hai, LU Chao, LIU Yi, PI Fu-wei

College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China

**Abstract** Feasibility of reconstituted milk identification in raw milk was investigated using near infrared spectroscopy. And the applicability of MSC for reconstituted milk identification was discussed. The discrimination analysis calibration was developed by SIMCA method, and the result indicated that the accuracy of detection is 100 %, when the content of reconstructed Milk is above 20 %, while for the 10 % reconstituted milk, the accuracy of detection is 96.7 %; On the other hand, the quantity models of reconstituted milk were calibrated by partial least squares regression ( $r = 0.971$ ,  $RMSECV = 7.76\%$ ,  $RPD = 5.13$ ), and there were no significant differences between actual value and reconstituted milk prediction value by  $t$  test ( $p = 0.01$ ). All of these suggested that NIRS has good potential to detect adulteration of raw milk with reconstituted milk.

**Keywords** NIR; Reconstructed milk; SIMCA; PLS; MSC

(Received Dec. 29, 2005; accepted Apr. 28, 2006)