

近红外光谱法快速检测婴儿配方奶粉中的脂肪酸含量

穆同娜¹, 庄胜利², 赵玉琪¹, 吴燕涛¹, 于晓瑾¹, 孙婷¹

(1. 北京市海淀区产品质量监督检验所, 北京 100094) (2. 北京工业大学环境与能源工程学院, 北京 100124)

摘要: 采用傅里叶近红外光谱结合偏最小二乘法(PLS)法建立了测定婴儿配方奶粉中的总脂肪酸、饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸含量的近红外数学模型, 并通过交互验证和外部检验两种方式考察了近红外数学模型的可靠性。通过选择不同的波长范围, 采用平滑、矢量归一化、一阶求导、二阶求导和散射校正对近红外光谱进行处理, 总脂肪酸、饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸的校正模型相关系数(R^2)分别为 0.9337、0.9374、0.9020, RPD 分别为 3.63、3.65、2.90。结果表明近红外数学模型具有良好的预测性能。采用建立的模型对验证集中的 20 个婴儿配方奶粉样品进行预测, 总脂肪酸含量、饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸的预测值与化学测定值之间经配对 t 检验分析, 与常规化学方法得到的检验结果无显著差异。

关键词: 近红外光谱; 婴儿配方奶粉; 总脂肪酸; 饱和脂肪酸; 不饱和脂肪酸; 测定

文章编号: 1673-9078(2015)4-277-281

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.4.045

Rapid Determination of Total Fatty Acids, Saturated Fatty Acids, and Unsaturated Fatty Acids in Infant Formula using Near-infrared Spectroscopy

MU Tong-na¹, ZHUANG Sheng-li², ZHAO Yu-qi¹, WU Yan-tao¹, YU Xiao-jin¹, SUN Ting¹

(1. Haidian District Institute of Products Quality Supervision and Inspection, Beijing 100094, China)

(2. College of Environmental and Energy Engineering, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China)

Abstract: A near-infrared mathematical model for the detection of the total fatty acid (TFA), saturated fatty acid (SFA), and unsaturated fatty acid (UFA) contents in infant formula was established using Fourier near-infrared (NIR) spectroscopy combined with partial least squares (PLS) regression prediction. The reliability of the model was verified by cross-validation and external validation. Different wavelengths and different correction algorithms, including smoothing, vector normalization, first derivative, second derivative, and multiple scatter correction (MSC), were used to process the NIR spectra. The correction model correlation coefficients (R^2) for TFA, SFA, and UFA contents were 0.9337, 0.9374, and 0.9020, respectively. The coefficient residual predictive deviations (RPDs) were 3.63, 3.65, and 2.90, respectively. These data demonstrated that this NIR mathematical model had good predictive performance. Twenty collected infant formula samples were predicted using the established model. Paired sample t test analysis showed that the chemically measured and predicted values of TFAs, SFAs, and UFAs had no distinct statistical differences.

Key words: near-infrared spectroscopy, infant formula, total fatty acid, saturated fatty acid, unsaturated fatty acid, determination

脂肪酸是膳食脂肪的重要组成部分, 也是体内脂肪代谢的中间产物。婴儿配方奶粉中总脂肪酸、饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸的含量与婴儿的健康息息相关, 充足、合理的摄入脂肪酸有助于婴儿的生长发育, 收稿日期: 2014-12-29

基金项目: 国家重大科学仪器设备开发专项项目(2012YQ090167); 北京市重大科技计划项目(D101105046010003)

作者简介: 穆同娜(1979-), 女, 高级工程师, 研究方向为食品质量安全检测技术

特别是 n-3 和 n-6 系列不饱和脂肪酸可以促进婴幼儿视网膜、大脑和神经系统发育^[1-2]。传统的婴儿配方奶粉中脂肪酸含量测定大多基于分析化学方法, 其存在破坏样品、成本高、耗时长、操作复杂、无法实现在线分析等缺点。近年来, 关于奶粉中有害物质的检测多有报道^[3-4], 而关于奶粉脂肪酸快速检测的文献相对较少。随着化学计量学方法研究的发展, 近红外光谱技术(NIRS)在过程分析和工业控制领域快速崛起。NIRS 的核心之一是建立光谱信息和样品成分之

间的函数关系,即建立校正模型。样品的性质如成分含量及各种物化性质均取决于样品组成。同时 NIRS 具备无损、高效、快速、成本低等特点,利用 NIRS 测量婴儿奶粉中脂肪酸含量可以克服传统方法的诸多弊端。王若兰等^[5]采用近红外光谱法测定了稻谷的脂肪酸值,所建立模型的定标相关系数为 0.9026,外部验证相关系数为 0.948,且标准方法与近红外测定两种方法经 T 检验无显著差异;刘景旺等^[6]对奶制品中添加三聚氰胺的近红外吸收光谱快速检测技术进行了可行性研究,应用偏最小二乘法建立数学模型。研究结果表明,应用近红外吸收光谱技术可以对奶制品中添加三聚氰胺进行快速检测。吴燕涛^[7]等利用偏最小二乘法对婴儿乳粉中亚油酸和 α -亚麻酸等必需脂肪酸进行了测定,均取得较好的效果。

本文主要是应用近红外光谱技术结合偏最小二乘法对婴儿配方奶粉中的总脂肪酸、饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸进行快速分析,通过光谱的预处理方法选择,模型的优化与验证,建立婴儿配方奶粉中总脂肪酸、饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸组成的快速检测方法,为快速筛查婴儿配方奶粉中脂肪酸组成情况提供一种有效可行的方法参考。

1 材料与方法

1.1 原料

全部原料均由市场采集,样品来自产地为黑龙江、陕西、内蒙古、山西、广东、浙江等地的婴儿配方奶粉生产厂家生产的不同批次样品,共计 120 个。根据 GB 5413.27-2010《食品安全国家标准 婴幼儿食品和乳品中脂肪酸的测定》中第一法乙酰氯-甲醇甲酯化法^[8],采用毛细管柱气相色谱法对婴儿奶粉中各脂肪酸的含量进行外标法定量分析。100 个校正集样品的总脂肪酸、饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸含量见表 1。将样品按照总脂肪酸含量排序,采用隔五选一的方法将样品分为校正集 100 个,验证集 20 个。

表 1 婴儿配方奶粉样品中不同脂肪酸含量

Table 1 Contents of different fatty acids in infant formulae

成分	Mean/%	Min/%	Max/%	SD
TFA	190.46	138.20	245.8	26.37
SFA	87.7	43.30	123.00	15.93
UFA	53.69	27.55	99.72	14.63

Note: TFA, Total Fatty Acid; SFA, Saturated Fatty Acid, including C4:0, C6:0, C8:0, C10:0, C11:0, C12:0, C13:0, C14:0, C15:0, C16:0, C17:0, C18:0, C20:0, C21:0, C22:0, C23:0, C24:0.; UFA, Unsaturated Fatty Acid, including C14:1n5, C15:1n5, C16:1n7,

C17:1n7, C18:1n9, C20:1, C22:1n9, C24:1n9, C18:2n6, C18:3n3, C20:2, C20:3n6, C20:4n6, C20:3n3, C20:5n3, C22:2n6, C22:6n3.

1.2 主要仪器与试剂

乙酰氯(分析纯)、甲苯(色谱纯)、碳酸钠(分析纯);Spectrum 400 傅里叶变换近红外光谱仪(美国 PE 公司),配带积分球漫反射附件采样系统;GC 7890A 气相色谱仪(FID 检测器,美国 Agilent 公司),配毛细管色谱柱。

1.3 近红外光谱数据采集

将奶粉样品混合均匀后倒入样品皿中压实,置于漫反射旋转台上进行近红外光谱反射扫描测定。光谱采集参数为:扫描范围 10000~4000 cm^{-1} ,扫描次数 16 次,分辨率为 16 cm^{-1} 。以空气作为背景,在环境温度 25 ± 1 $^{\circ}\text{C}$,湿度 45~60%的实验室中进行数据采集。

1.4 模型的建立及评价

采用 Spectrum Quant+ 定量分析软件结合偏最小二乘法(PLS)建立婴儿配方奶粉中各种脂肪酸测定的数学模型。采用交互验证和外部检验两种方式对于模型效果进行评价,以交互验证决定系数(R^2)、校正标准偏差(SEC)、预测标准偏差(SEP)、相对分析误差(RPD)作为衡量定标模型质量优劣的指标。根据 t 检验结果,衡量模型用于外部样品检验的可靠性。其中 R^2 越接近 1、SEC 和 SEP 越小且越接近,表明模型越稳定,预测精度越高。RPD 值可用于进一步评价模型预测精度,即 $\text{RPD} = \text{SD} / \text{SEP}$ (SD 为标准偏差)。RPD 值大于等于 2 时,说明预测效果良好;t 检验结果无显著差异,则模型的预测可靠性好^[9-11]。

2 结果与讨论

2.1 奶粉近红外光谱曲线

从图 1 中可以看出,在 10000~8554 cm^{-1} 之间具有较强的噪音,在 7014~4000 cm^{-1} 之间具有明显的特征吸收峰。4000 cm^{-1} 附近为甲基 C-H 的变形振动、伸缩振动合频;4260 cm^{-1} 和 4330 cm^{-1} 附近为亚甲基 C-H 的变形振动、伸缩振动组合频;4732 cm^{-1} 为 N-H 的对称弯曲振动和伸缩振动的组合频;5300~5100 cm^{-1} 为水分 O-H 的合频和 CH=CH 的 C-H 的合频;6660 cm^{-1} 和 6940 cm^{-1} 附近分别为 N-H 和 O-H 伸缩振动的一级倍频,在 9000~8000 cm^{-1} 为 C-H 伸缩振动的二倍频峰^[12-15]。

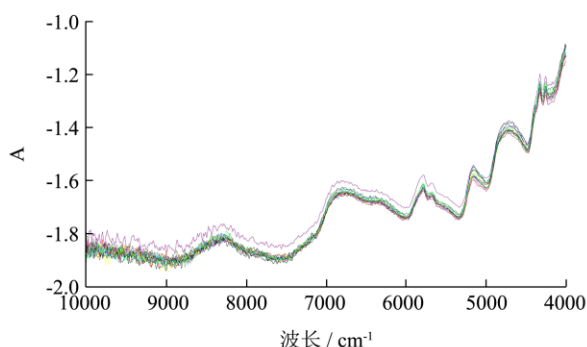


图1 婴儿配方奶粉近红外光谱图

Fig.1 NIR spectra of infant formulae

2.2 光谱波长范围的选择

表2 不同脂肪酸的不同波长范围模型参数

Table 2 Results of model parameters of different fatty acids at different wavelength ranges

成分	光谱区域 /cm ⁻¹	校正结果				
		主因子数	R ²	SEC	SEP	RPD
TFA	10000~4000	6	0.914 2	7.95	8.36	3.15
	8554~4000	7	0.922 6	7.58	8.08	3.26
	7054~4000	6	0.895 0	8.79	9.34	2.82
SFA	10000~4000	8	0.908 4	5.03	5.48	2.91
	8554~4000	8	0.909 5	5.00	5.42	2.94
	7054~4000	8	0.903 2	5.17	5.58	2.85
UFA	10000~4000	6	0.802 4	6.37	7.54	1.94
	8554~4000	8	0.884 3	5.84	6.33	2.31
	7054~4000	6	0.767 2	7.94	8.78	1.67

在建立校正模型时，并非所有的光谱数据对建立模型都有用，如果波长范围选择过大，将包含大量的无用信息，不能够提高模型的性能，甚至降低模型的预测效果。因此本文根据图1样品的近红外光谱图，选择10000~4000 cm⁻¹、8554~4000 cm⁻¹、7054~4000 cm⁻¹三个样品波长范围进行考察。由表2可以看出，选择不同的波长范围建立模型，将会产生不同的最佳主因子数。而10000~4000 cm⁻¹光谱范围内包含了大量冗余信息，影响了模型的建立，同时降低了模型的性能；在7054~4000 cm⁻¹光谱范围内波谱数据信息量不够充分，不能够与相应的化学值建立最优的相关性。而在8554~4000 cm⁻¹光谱范围内，3类脂肪酸在该波长范围内也均出现了较好的结果。因此饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸及总不饱和脂肪酸的最优建模光谱范围均为8554~4000 cm⁻¹。

2.3 光谱数据预处理

在近红外光谱分析中，为了消除光谱数据受采集

时样品不均匀、高频随机噪音、基线漂移、杂散射光等影响带来的误差，在建立模型时，常采用不同的光谱预处理方式对光谱进行处理建模，可以提高模型的精确性。本文主要采用平滑(smoothing)、矢量归一化(SNV)、一阶求导(first derivative)、二阶求导(second derivative)、多元散射校正(MSC)对光谱进行处理。表3为各脂肪酸采用不同的预处理方式下模型的R²、SEC、SEP、RPD评价参数。

由表3可见，在处理的结果中，对光谱进行不同的预处理建立模型，将会产生不同的最佳主因子数。Smoothing处理对饱和脂肪酸、不饱和脂肪酸、总脂肪酸定量校正模型影响不大，而Second derivative处理降低了3类脂肪酸的校正模型准确性能，可能因为Second derivative处理在提高信号强度的同时也提高了噪声值，影响模型的性能^[13]。SNV处理方法对三种脂肪酸模型的预测能力均有所提高，且与其他预处理方法比较，SNV为最佳处理方法，得到的结果分别为饱和脂肪酸R²为0.937 4，RPD为3.65；不饱和脂肪酸R²为0.9020，RPD为2.90；总脂肪酸R²为0.9337，RPD为3.63。3类脂肪酸校正模型均具有较高的R²，而且RPD值均大于2，说明模型具有良好的预测性能。

2.4 模型检验

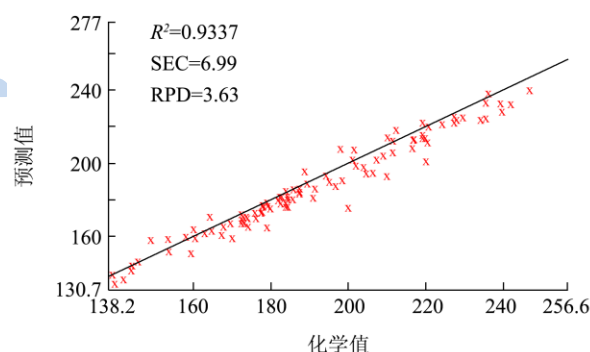


图5 TFA校正集预测值与化学测定值之间的相关性

Fig.5 Correlation between chemically measured results and correction set predicted results for TFAs

在8554~4000 cm⁻¹的区间，3类脂肪酸的近红外光谱经SNV处理后，运用PLS建立最优的校正模型，总脂肪酸、饱和脂肪酸、不饱和脂肪酸的近红外光谱校正模型中预测值与化学测定值之间的相关性分别见图5、图6、图7。用已经建立的模型对20个验证集中样品的3类脂肪酸含量进行预测，结果如图8、图9、图10，3类脂肪酸结果显示，3类脂肪酸含量的分析模型的预测值与化学测定值较为接近。将近红外的预测值和化学测定值进行t检验，根据t检验的双边检测结果，SFA、UFA、TFA的P值分别为0.351、0.408、

0.303, 都大于 0.05, 表明近红外光谱技术与常规化学方法得到的检验结果无显著差异, 说明采用 NIRS 方

法预测婴儿配方奶粉中饱和脂肪酸、不饱和脂肪酸和总脂肪酸含量的方法是可行的。

表 3 不同的预处理方式下模型结果

Table 3 Results of models with different processing methods

成分	光谱范围 cm^{-1}	光谱预处理	主因子数	R^2	SEC	SEP	RPD
TFA	8554~4000	无处理	7	0.922 6	7.58	8.08	3.26
		Smoothing	7	0.922 3	7.60	8.10	3.26
		SNV	6	0.933 7	6.99	7.27	3.63
		First derivative	5	0.927 8	7.25	7.49	3.52
		Second derivative	3	0.734 8	13.75	14.13	1.87
		MSC	5	0.924 2	7.43	7.68	3.44
SFA	8554~4000	无处理	8	0.909 5	5.00	5.42	2.94
		Smoothing	8	0.909 5	5.00	5.42	2.94
		SNV	8	0.937 4	4.16	4.36	3.65
		First derivative	5	0.884 3	5.56	5.82	2.74
		Second derivative	3	0.752 6	8.05	8.29	1.92
		MSC	5	0.863 5	6.04	6.22	2.56
UFA	8554~4000	无处理	8	0.884 3	5.84	6.33	2.31
		Smoothing	8	0.881 2	5.79	6.30	2.32
		SNV	7	0.902 0	4.68	5.04	2.90
		First derivative	6	0.885 3	5.34	5.48	2.66
		Second derivative	4	0.786 5	7.05	7.62	1.92
		MSC	8	0.894 8	5.29	5.24	2.79

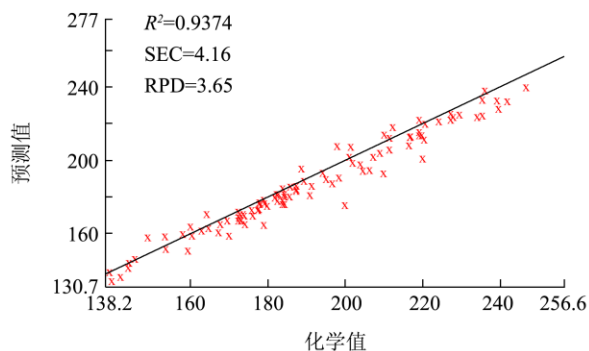


图 6 SFA 校正集预测值与化学测定值之间的相关性

Fig.6 Correlation between chemically measured results and correction set predicted results for SFAs

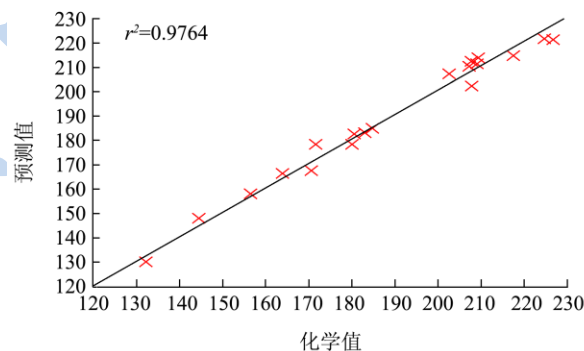


图 8 TFA 预测集预测值与化学测定值之间的相关性

Fig.8 Correlation between prediction set predicted results and chemically measured results for TFAs

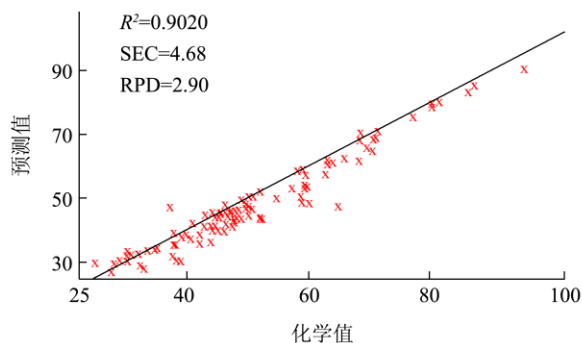


图 7 UFA 校正集预测值与化学测定值之间的相关性

Fig.7 Correlation between chemically measured results and correction set predicted results for UFAs

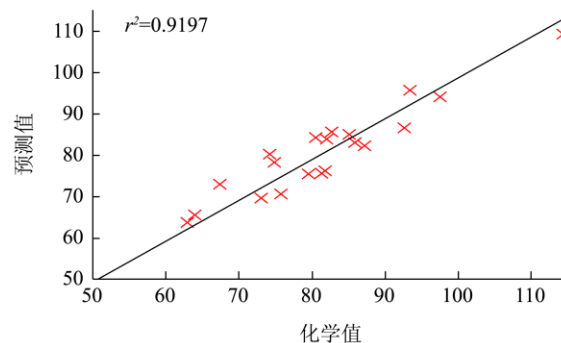


图 9 SFA 预测集预测值与化学测定值之间的相关性

Fig.9 Correlation between prediction set predicted results and chemically measured results for SFAs

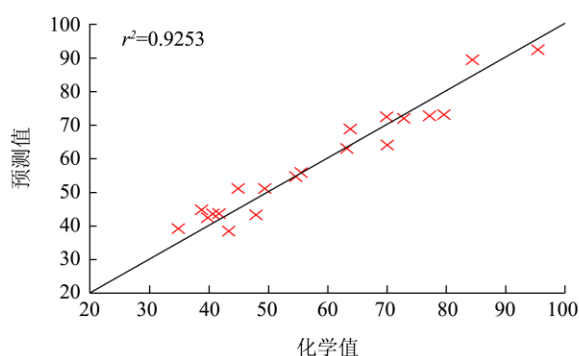


图 10 UFA 预测集预测值与化学测定值之间的相关性

Fig.10 Correlation between prediction set predicted results and chemically measured results for UFAs

3 结论

本文利用傅里叶近红外光谱结合偏最小二乘法(PLS)法建立了婴儿配方奶粉中的饱和脂肪酸、不饱和脂肪酸、总脂肪酸的近红外数学模型,通过不同预处理方法和波段选择等优化手段,最终确定在波长范围为 $8554\sim 4000\text{cm}^{-1}$,预处理方式为SNV时,3类脂肪酸校正模型可取得最好结果,其中总脂肪酸 R^2 为0.9337,RPD为3.63,饱和脂肪酸 R^2 为0.9374,RPD为3.65,不饱和脂肪酸 R^2 为0.9020,RPD为2.90。用已经建立的模型对验证集中的20个样品进行预测,结果奶粉中3类脂肪酸含量的预测值与化学测定值较为接近线性相关系数(r^2)分别为0.9764、0.9197、0.9253;同时t检验结果表明近红外光谱技术与常规化学方法得到的检验结果无显著差异。结果表明,近红外光谱法可用于奶粉中SFA、UFA、TFA定量检测分析,作为传统方法的有效补充,对于快速筛查婴儿配方奶粉中SFA、UFA、TFA含量具有一定的实际应用意义。

参考文献

- [1] Chardigny JM, Wolff RL, Mager E, et al. Fatty acid composition of French infant formulas with emphasis on the content and detailed profile of trans fatty acids [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1996, 73(11), 1595-1601
- [2] Bernardini M, Dal Bosco A, Castellini C. Effect of dietary n-3/n-6 ratio on fatty acids composition of liver, meat and perirenal fat in rabbits [J]. Animal Science, 1999, 68, 647-654
- [3] 罗海英,洗燕萍,侯向昶,等.QuEChERS-超高效液相色谱串联质谱法测定乳粉中的双氰胺[J].现代食品科技, 2013, 29(5):1148-1153
LUO Hai-ying, XIAN Yan-ping, HOU Xiang-chang, et al. Determination of dicyandiamide in milk powder samples by QuEChERS-Ultra-HPLC-Tandem MS [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(5): 1148-1153
- [4] 苏永祺,李珮斯,任露陆,等.微波消解-电感耦合等离子体质谱法测定奶粉中的铬[J].现代食品科技,2010,26(4):415-417
SU Yong-qi, LI Pei-si, REN Lu-lu, et al. Determination of chromium in milk powder by ICP-MS combined with microwave digestion [J]. Modern Food Science and Technology, 2010, 26(4): 415-417
- [5] 王若兰,王春华,黄亚伟等.小麦脂肪酸值的近红外光谱快速测定研究[J].现代食品科技,2013,29(2):393-396
WANG Ruo-lan, WANG Chun-hua, HUANG Ya-wei. Rapid Determination of Fatty Acid Content in Wheat by Near-Infrared Spectroscopy [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(2): 393-396
- [6] 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
LIU Jing-wang, ZHANG Bo-yang, LI Shu-feng, et al. Near infrared spectroscopy technique for detecting the melamine of dairy products [J]. The Journal of Light Scattering, 2010, 22(3): 291-297
- [7] 吴燕涛,穆同娜,兴丽.主成分分析近红外光谱法快速测定婴儿乳粉中必须脂肪酸含量的研究[J].分析实验室, 2013, 32(4):59-61
WU Yan-tao, MU Tong-na, XING Li, et al. Study on the determination of essential fatty acids in infant milk powder based on principal component analysis of near infrared spectroscopy [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2013, 32(4): 59-61
- [8] 中华人民共和国卫生部. GB 5413.27-2010 婴幼儿食品和乳制品中脂肪酸的测定[S].北京:中国标准出版社, 2010
The Ministry of Health of The People's Republic of China. GB 5413.27-2010 National food safety standard determination of fatty acids in foods for infants and young children, milk and milk products [S]. Beijing: China Standards Press, 2010
- [9] Chang C W, Laird D A, Mausbach M J, et al. Near-infrared reflectance spectroscopy-principal components regression analyses of soil properties [J]. Soil. Sci. Soc. Am. J., 2001, 65(2): 480-490
- [10] Chang C W, Laird D A. Near-infrared reflectance spectroscopic analysis of soil C and N [J]. Soil. Sci., 2002, 167(2): 110-116
- [11] Fearn T. Assessing calibrations: SEP, RPD, RER and R2 [J]. NIR News, 2002, 13(6): 12-22
- [12] Wu D, He Y. Exploring near and midinfrared spectroscopy

- to predict trace iron and zinc contents in powdered milk [J]. *J. Agric. Food Chem.*, 2009, 57(5): 1697-1673
- [13] 徐宁,魏萱,任冰.发酵冬虫夏草菌粉水分腺苷的近红外光谱定量分析及波段选择[J].*光谱学与光谱分析*, 2012, 32(7): 1762-1765
- XU Ning, WEI Xuan, REN Bing, et al. Near-infrared spectroscopy analysis of adenosine and water in fermentation cordyceps powder and wavelength assignment [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2012, 32(7): 1762-1765
- [14] Westad F, Schmidt A, Kermit M. Incorporating chemical band-assignment in nearinfrared spectroscopy regression [J]. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 2008, 16: 265-273
- [15] XU L, SHI P T, FU X S, et al. Protected geographical endication identification of a chinese green tea by near-infrared spectroscopy and chemometric class modeling techniques [J]. *Journal of Spectroscopy*, 2013(2013): 1-8