

文章编号: 1001-3806(2011)06-0742-03

液态纯牛奶的3维荧光光谱特性与成分分析

谷玲, 黄奇峰, 马超群, 史院平, 陈国庆, 高淑梅*
(江南大学理学院, 无锡 214122)

摘要: 为了能够快速检测牛奶质量问题, 采用3维荧光光谱和多峰拟合成分的方法, 对纯牛奶的3维荧光光谱的特征及其主要成分进行了分析研究。结果表明, 激发光谱在250nm~310nm范围, 最佳激发波长在290nm附近; 发射光谱主要在285nm~500nm, 具有较强的荧光, 荧光峰在330nm附近。液态纯牛奶的荧光光谱主要由5个谱峰(I~V)组成, 其中峰I是乳糖影响下部分蛋白质的荧光、峰II为脂肪和VE共同产生的、峰III为蛋白质直接所为、峰IV是其它成分影响下的蛋白质的荧光、峰V是VA, VB₁和VB₆等微量元素共同产生的。研究结果可为液态纯牛奶的荧光光谱检测技术研究提供实验和理论依据。

关键词: 光谱学; 3维荧光光谱; 多峰拟合; 液态纯牛奶; 成分

中图分类号: O433.5 **文献标识码:** A **doi:** 10.3969/j.issn.1001-3806.2011.06.005

Characteristics and composition analysis of pure liquid milk based on 3-D fluorescent spectra

GU Ling, HUANG Qi-feng, MA Chao-qun, SHI Yuan-ping, CHEN Guo-qing, GAO Shu-mei
(School of Science, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: To detect the quality of pure milk rapidly, its spectral characteristics were analyzed combining 3-D fluorescent spectra with multi-peak fitting method, and its main compositions were obtained. The results show that its excitation spectrum ranges from 250nm to 310nm, and the peak wavelength is 290nm. The main emission spectrum ranges from 280nm to 500nm with the peak adjacent to 330nm. Meanwhile, the fluorescent spectrum has five spectral peaks(I~V), where peak I is generated by some proteins under the influence of lactose, peak II is generated by fat and vitamin E jointly, peak III is generated by protein directly, peak IV is generated by some proteins under some unknown influence, and peak V is generated jointly by microelements including vitamin A, vitamin B₁, and B₆. The study results provide some basic principles for studying milk composition with fluorescent spectroscopy.

Key words: spectroscopy; 3-D fluorescent spectra; multi-peak fitting; pure liquid milk; composition

引言

牛奶含有大量易于人体吸收的必需的营养物质, 如蛋白质、脂肪、乳糖、矿物质和维生素等, 是人们日常生活中必不可少的食品之一, 因此, 奶制品的质量监控问题越来越受到重视。特别是近年来一系列奶制品质量问题重大事件的出现^[1], 如在牛奶中添加可致肾结石的三氯氰胺、可造成婴幼儿早熟的激素类物质等, 使人们强烈意识到加强奶制品质量监管的重要性和迫切性。

目前国内外在牛奶成分分析领域, 存在多种测量

方法, 主要是化学法、超声波法和光谱法。化学分析法在国家标准中, 对生鲜牛乳、巴氏杀菌乳、灭菌乳等乳制品的各项指标及检测均有严格的规定, 其在全球范围的乳品成分检测中仍占主导地位, 它具有灵敏度高的优点, 但有费时且破坏样品等缺点; 超声波分析法可用于对牛奶中多种成分的同时分析^[2], 目前已出现了多种超声波牛奶分析仪, 具有不破坏样品、消耗量少和分析速度快等优点, 但灵敏度较低; 光谱分析法主要有中红外光谱分析法和近红外光谱分析法, 中红外光谱法和近红外光谱法具有检测速度快、不破坏样品等优点, 但由于一般液态纯牛奶中水的含量高达87.5%, 水对近红外光有强吸收, 从而降低了牛奶的近红外吸收谱灵敏度。考虑到水不发荧光, 荧光光谱灵敏度比吸收光谱的高得多。为此, 可将荧光光谱技术应用于牛奶质量检测中。事实上采用荧光光谱分析法研究牛奶的变质^[3]和稳定性^[4]已有报道, 但就对其成

基金项目: 江苏省自然科学基金资助项目(BK2009066); 江苏省教育厅资助项目(JH08-18; CX08B-088Z)

作者简介: 谷玲(1987-), 女, 硕士研究生, 主要从事光谱检测的研究工作。

* 通讯联系人。E-mail: gaosm@jiangnan.edu.cn

收稿日期: 2011-03-02; 收到修改稿日期: 2011-04-11

分检测尚未有相关的报道。

本文中采用牛奶的荧光光谱和多峰拟合研究了牛奶的3维荧光光谱和主要成分,为快速检测牛奶质量提供了一定的实验和理论依据。

1 实验材料与方法

1.1 实验仪器

本文中的牛奶荧光光谱均是采用英国 Edinburgh Instruments Incorporation 生产的 FLS920 型稳态和时间分辨荧光光谱仪获得的。实验装置原理如图 1 所示,其中激发光源为 450W 氙灯,探测器为光电倍增管 (program map table, PMT), 实验中其扫描波长在 210nm ~ 850nm 范围。考虑到牛奶受温度的影响较大,为使所获得的数据具有可比性,选用 Julobo 生产的 F12-ED 温控仪控温,以保持样品室的温度不变。牛奶样品放入样品室时均需等待 10min,以保证牛奶样品与样品室温度一致。

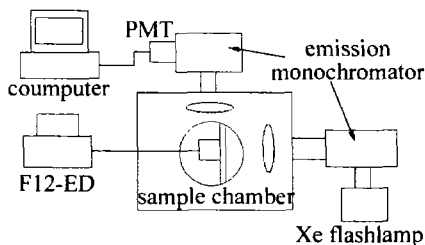


Fig. 1 Experimental device

1.2 实验材料与方法

所用实验样品是在超市购买的蒙牛盒装纯牛奶、伊利盒装牛奶和光明盒装牛奶,生产日期为 2010-09-02,本实验是在 2010-09-25 进行的。本文中以纯净水为溶剂,将牛奶稀释成所需体积分数的样品。下面所称的样品体积分数都是相对所购买的纯牛奶(统称牛奶)而言的。

选择激发光和发射光的带宽度均为 1.5nm,积分时间为 0.1s,并选择避免一级散射,固定波长差(发射波长减去激发波长)为 10nm。激发波长范围 200nm ~ 290nm,发射波长扫描范围为 210nm ~ 850nm,精度为 0.5nm。每次取 3mL 的样品移入石英皿中,使用温控系统控制样品室温度在 20℃,在测试前均摇匀,测量结果均进行了仪器的发射光谱修正,以消除仪器所带来的系统误差。

2 结果

经前期实验发现,不同体积分数、不同品牌的牛奶荧光光谱谱型相同,只是强度不同。本文中选择信噪比较高的牛奶样品(体积分数为 0.03)的 3 维荧光光谱进行分析。为了便于分析,这里只给出有效的激

发与发射部分,以蒙牛牛奶为例,如图 2 所示。图 2 中的 3 维图谱显示发射光只存在一个较宽的谱峰,谱线范围为 285nm ~ 460nm,随着激发光波长的增加,峰值位置在 330nm 处基本不变,而强度始终在增强。而激发谱在 250nm ~ 290nm 范围,强度随激发光波长红移几乎在线性地增大。

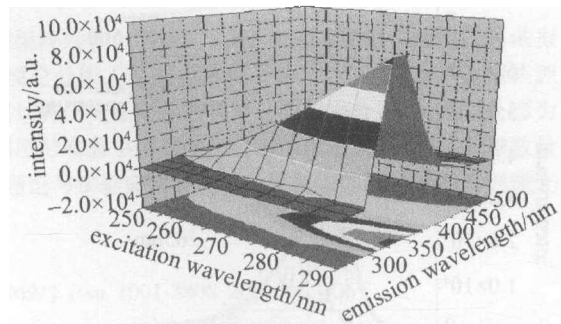


Fig. 2 3-D fluorescent spectra of milk

为了更清楚地看出激发光对荧光发射谱的影响,针对 334nm 荧光检测了其激发谱,并与 265nm 光激发的发射谱进行同图比较,如图 3 所示。可见,激发谱与发射谱在 280nm 处开始有明显重叠,即激发光对荧光发射产生了影响,这将导致实际测到的误差加大,从激发谱中看出,激发波长在 250nm ~ 290nm 范围时,随着激发波长的增加,荧光强度增大;激发波长大于 290nm 时,随着激发波长的增加,荧光强度减弱。故图 2 中只给出 250nm ~ 290nm 光激发的 3 维荧光光谱。下面只以激发光波长小于 280nm 的荧光光谱进行分析。

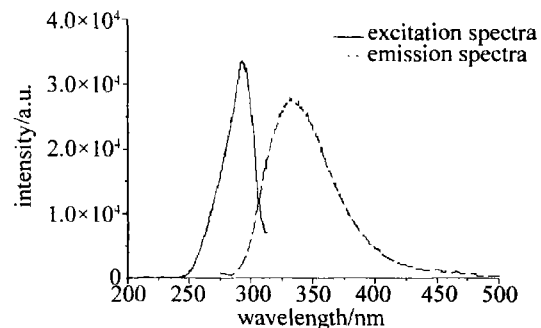


Fig. 3 Excitation and emission spectra of milk

3 机理分析与讨论

牛奶是一种成分复杂的混合物,存在多种荧光团。如果它们的发射谱比较接近,就可能产生较宽的发射谱峰。对于这种宽光谱的成分构成和特性分析有多种方式,多峰拟合法是最直接、最直观、也是最快捷的方法^[5]。

为了比较激发光对荧光光谱的影响,选择图 2 中激发光波长为 275nm 和 265nm 的牛奶荧光光谱进行了多峰拟合分析,如图 4 所示。经分析,采用 5 个峰进行拟合,结果拟合曲线与实验谱线几乎完全吻合,拟合峰分别定义为峰 I ~ 峰 V。比较图 4a 和图 4b,它们

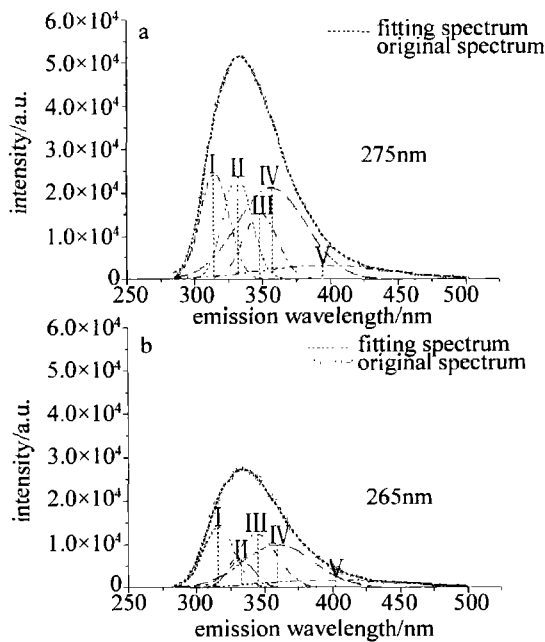


Fig. 4 Fitting image of milk (volume fraction is 0.03) under different excitation

对应的峰位见表1,可以看出,这5个谱峰的峰位变化不大,但强度变化较明显,这是由于不同的荧光团对不同波长光的吸收产生的量子效率可能不同。峰IV和峰V范围较宽,尤其是峰V的半峰全宽近150nm,但是强度很弱,作者分析它的成分可能很复杂,不是单一荧光团产生的。

Table 1 Peaks of different spectral curve

excitation wavelength	fitting spectrum	I	II	III	IV	V (300nm ~ 500nm)
275nm	peak place/nm	314	331	348	356	396
265nm	peak place/nm	316	331	345	359	402

牛奶中有水、蛋白质、脂肪、乳糖、盐类、维生素E (vitamin E, VE)、维生素A (vitamin A, VA)、维生素B₁ (vitamin B₁, VB₁)、维生素B₆ (vitamin B₆, VB₆)、钙、铁、锌和少量卵磷脂、胆固醇等物质,其中牛乳蛋白质主要有酪蛋白、乳清蛋白及少量的脂肪球膜蛋白质,酪蛋白具有很强的水结合能力,乳清蛋白可与水以及一些阳离子相结合;脂肪主要是棕榈酸、硬脂酸的甘油酯,也含少量低级脂肪酸如丁酸、己酸、辛酸等;乳糖、水溶性盐类、水溶性维生素等呈分子或离子态分散于乳中。这些物质大部分都可以发荧光,有些物质本身不发荧光但可以影响有些荧光团的发光特性,导致谱峰的移动或强度变化,从而形成液态纯牛奶特有的荧光光谱特性。

一般牛奶的主要化学成分(质量分数)为:水分0.875、脂肪0.035、蛋白质0.034、乳糖0.046、无机盐0.007。据报道,饱和脂肪酸和VE的激发与发射峰均分别在293nm和327nm附近^[6-7];蛋白质的荧光主要来自于色氨酸,其激发与发射峰分别在280nm和

348nm^[8];而乳糖由于可与蛋白质分子折叠成更紧密的结构而引起蛋白质荧光峰的蓝移^[9];VA,VB₁和VB₆的荧光峰分别在490nm,415nm和395nm处^[10-11]。

从分子结构上看,蛋白质的荧光效率应远高于脂肪,不同种类的蛋白质荧光效率会有差别。考虑到荧光光谱的高灵敏性,根据液态纯牛奶的成分结构,认为峰II主要来源于奶中的脂肪和少量的VE;峰III是某种蛋白质的直接贡献,峰I是受乳糖作用导致部分蛋白质荧光峰蓝移的结果,而峰IV则可能是液态纯牛奶中其它物质存在导致的或某类蛋白质的谱峰红移,这些物质的改变可能会导致该谱峰的变化,从而探测出这些物质变化的动态信息;峰V是由微量元素如维生素VA,VB₁和VB₆共同作用的结果,由于其成分复杂,每一种荧光团的激发谱都会有不同,所以改变激发光波长,峰V的荧光峰位置会发生改变。而对峰IV和峰V进一步研究,可能会分辨出液态纯牛奶的掺杂成分变化的信息。

4 结论

综上所述,液态纯牛奶在280nm~460nm范围存在较强荧光,其激发谱在250nm~310nm范围内;液态纯牛奶的激发与发射光谱存在较大的重叠区(280nm~310nm),荧光峰在330nm附近,激发峰在290nm处;采用多峰拟合的方法可以较准确地分析出液态纯牛奶主要由5个部分组成及其光谱特性;得出峰I反映的是乳糖对液态纯牛奶中部分蛋白质的作用;峰II是脂肪和少量的VE共同的信息;峰III是某种蛋白质的直接贡献;峰IV则是液态纯牛奶中其它物质的存在对某类蛋白质谱峰影响;峰V反映的是VA,VB₁和VB₆等微量元素信息。因此,通过多峰拟合方法可以初步地辨别液态纯牛奶中的主要成分,为进一步分析牛奶中的成分提供实验和理论依据。

本文中仅根据不同波长光激发的液态纯牛奶荧光光谱的多峰拟合结果进行了初步的机理和成分分析,由于牛奶中的成分很复杂,还存在着各个成分之间未知的相互作用及拟合造成的误差,更准确的结果还需大量的实验验证和进一步的理论分析。

参考文献

- [1] HE Y C. Development of Chinese dairy industry[M]. Beijing: Science Press, 2010: 63-78 (in Chinese).
- [2] ZHANG X L, HUA R, YANG Q L, et al. Hand-held extinction photometer for the detection of idntegrate quality of milk on-site rapidly[J]. Analytical Chemistry, 2009, 37(s1): 45 (in Chinese).
- [3] LU J, YU C Q, LI J Z, et al. Study on the deteriorating course of fresh milk by laser-induced fluorescence spectra[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2001, 21(6): 769-771 (in Chinese).
- [4] CHEN X, GU R, CHEN X, et al. Research on feature extractions

(下转第769页)

参 考 文 献

- [1] WU Zh L, LOU Q H, ZHOU J, *et al.* Research progress of pumping methods for fiber laser[J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2004 (4):30-34(in Chinese).
- [2] LOU Q H, ZHOU J, ZHU J Q, *et al.* Recent progress of high-power fiber lasers[J]. *Infrared and Laser Engineering*, 2006, 35(2):135-138(in Chinese).
- [3] ZHAO Ch J, CHEN G H, MU W, *et al.* Research progress of pumping technology for high power fiber lasers[J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2007(3): 35-43(in Chinese).
- [4] DONG L, LI J, McKAY H A, *et al.* Large effective mode area optical fibers for high power lasers[J]. *Proceedings of SPIE*, 2009, 7195: 71950N1-71950N8.
- [5] JEONG Y, SAHU J K, PAYNE D N, *et al.* Ytterbium-doped large-core fiber laser with 1.36kW continuous-wave output power[J]. *Optics Express*, 2004, 12(25):6088-6092.
- [6] WANG Zh J, WANG Y, MEI L. The progress of KW fiber laser[J]. *Laser Journal*, 2006, 27(6):11-12(in Chinese).
- [7] DAWSON J W, MESSERLY M J, BEACH R J, *et al.* Analysis of the scalability of diffraction-limited fiber lasers and amplifiers to high average power[J]. *Optics Express*, 2008, 16(17):13240-13266.
- [8] ZHOU P, HOU J, CHEN Z L, *et al.* Comparative study for coherent beam combining and spectral beam combining of fiber lasers[J]. *Laser Technology*, 2008, 32(4):413-416(in Chinese).
- [9] FAN T Y, SANCHEZ A. Coherent (phased array) and wavelength (spectral) beam combining compared [J]. *Proceedings of SPIE*, 2005, 5709: 157-164.
- [10] ZHAN Sh B, ZHAO Sh H, XU J, *et al.* Study of spectral beam combining based on transmitting volume Bragg grating[J]. *Journal of Optoelectronics · Laser*, 2008, 19(3):317-321(in Chinese).
- [11] CULPEPPER M A. Coherent combination of fiber laser beam[J]. *Proceedings of SPIE*, 2002, 4629:99-108.
- [12] EFIMOV O M, GLEBOV L B, SMIRNOV V I. High efficiency volume diffractive elements in photo-thermo-refractive glass; US, 6673497[P]. 2004-06-01.
- [13] EFIMOV O M, GLEBOV L B, SMIRNOV V I. Diffractive optical elements in photosensitive inorganic glasses [J]. *Proceedings of SPIE*, 2001, 4452:392.
- [14] GLEBOV L B, GLEBOVA L. Swelling of photo-thermo-refractive glass resulted from thermal development [J]. *Glass Science and Technology*, 2002, 75: 294-297.
- [15] GLEBOV L B. High brightness laser design based on volume Bragg gratings[J]. *Proceedings of SPIE*, 2006, 6216:621601.
- [16] EFIMOV O M, GLEBOV L B, SMIRNOV V I. Process for production of high efficiency volume diffractive elements in photo-thermo-refractive glass; US, 6586141[P]. 2003-07-01.
- [17] GLEBOV L. Fluorinated silicate glass for conventional and holographic optical elements [J]. *Proceedings of SPIE*, 2007, 6545: 654507.
- [18] CIAPURIN I V, GLEBOV L B, GLEBOVA L N, *et al.* Incoherent combining of 100W Yb-fiber laser beams by PTR Bragg grating[J]. *Proceedings of SPIE*, 2003, 4974: 209-219.
- [19] CIAPURIN I V, GLEBOV L B, SMIRNOV V I. Spectral combining of high-power fiber laser beams using Bragg grating in PTR glass [J]. *Proceedings of SPIE*, 2004, 5335:116-124.
- [20] SEVIAN A, ANDRUSYAK O, CIAPURIN I V, *et al.* Spectral beam combining with volume Bragg gratings: cross-talk analysis and optimization schemes[J]. *Proceedings of SPIE*, 2006, 6216: 6210V/1-6210V/12.
- [21] CIAPURIN I V, GLEBOV L B, SMIRNOV V I. Modeling of phase volume diffractive gratings, part I: transmitting sinusoidal uniform gratings [J]. *Optical Engineering*, 2006, 45(1): 015802/1-015802/9.
- [22] SEVIAN A, ANDRUSYAK O, CIAPURIN I, *et al.* Ultimate efficiency of multi-channel spectral beam combiners by means of volume Bragg gratings [J]. *Proceedings of SPIE*, 2007, 6453: 64530R/1-64530R/8.
- [23] ANDRUSYAK O, CIAPURIN I V, SMIRNOV V I, *et al.* Spectral beam combining of fiber lasers with increased channel density [J]. *Proceedings of SPIE*, 2007, 6453: 64531L/1-64531L/7.
- [24] SEVIAN A, ANDRUSYAK O, CIAPURIN I, *et al.* Efficient power scaling of laser radiation by spectral beam combining [J]. *Optics Letters*, 2008, 33(4):384-386.
- [25] ANDRUSYAK O, SMIRNOV V, VENUS G, *et al.* Applications of volume Bragg gratings for spectral control and beam combining of high power fiber lasers [J]. *Proceedings of SPIE*, 2009, 7195: 71951Q1-71951Q11.
- [26] ANDRUSYAK O, CIAPURIN I, SMIRNOV V, *et al.* External and common-cavity high spectral density beam combining of high power fiber lasers [J]. *Proceedings of SPIE*, 2008, 6873: 687314.
- [27] JAIN A, DRACHENBERG D, ANDRUSYAK O, *et al.* Coherent and spectral beam combining of fiber lasers using volume Bragg gratings [J]. *Proceedings of SPIE*, 2010, 7686: 768615/1-768615/8.
- [9] GU L L, WANG K, WANG M, *et al.* Fluorescence study on the interaction of galactose and β -galactosides with a galectin from the edible mushroom *agrocybe aegerita* [J]. *Analytical Science*, 2006, 22(6): 621-625(in Chinese).
- [10] WU G H, HE C Y. Application of artificial neural network to simultaneous spectrofluorimetric determination of vitamin B₁, B₂ and B₆ [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2003, 23(3): 535-538(in Chinese).
- [11] ZAIDI F, ROUISSI H, DRIDI S, *et al.* Front-face fluorescence spectroscopy as a rapid and non-destructive tool for differentiating between Sicilo-Sarde and Comisana ewe's milk during lactation period: a preliminary study [J]. *Food & Bioprocess Technology*, 2008, 1(2): 143-151.

(上接第744页)

of 3-D spectrum of milk [J]. *China Dairy Industry*, 2009, 37(7): 13-15(in Chinese).

- [5] LU J, CAO Sh M, XIONG J, *et al.* Characteristics and mechanism for fluorescence spectroscopy of female urine [J]. *Laser Technology*, 2010, 34(1): 45-47(in Chinese).
- [6] LI Y L, DENG L Q, GUO X M, *et al.* Determination of vitamin E in vegetable by synchronous fluorescence spectrometry [J]. *Hebei University (Natural Science Edition)*, 2009, 29(4): 412-415(in Chinese).
- [7] ZHAO W Y, YANG C F, LIU Y. A study on spectral characteristics of saturated fatty acids-ethanol solution [J]. *Xuzhou Normal University (Natural Science Edition)*, 2009, 27(2): 55-58(in Chinese).
- [8] ZHAO N M, ZHOU H M. Biophysics [M]. Beijing: Higher Education Press, 2000: 300-302(in Chinese).