

电子舌检测奶粉中抗生素残留

谈国风¹, 田师一², 沈宗根³, 张根华³, 邓少平^{2*}

(1. 江苏大学食品与生物工程学院, 镇江 212013; 2. 浙江工商大学食品感官科学实验室, 杭州 310035;
3. 常熟理工学院生物与食品工程学院, 苏州 215500)

摘要: 为了找到能快速检测乳制品中抗生素残留的方法, 该文利用电子舌对奶粉中相同质量浓度的 6 种抗生素进行了辨识, 并对新霉素检测质量浓度进行了初步研究。采用铂、金、钯、钨、钛和银 6 个电极组成的传感器阵列和 1、10 和 100 Hz 3 个脉冲频率进行检测, 并通过主成分分析、线性判别分析和偏最小二乘法进行数据分析。结果显示: 电子舌对不同种抗生素和不同质量浓度的新霉素具有较好的辨识能力, 定性分析能够达到国家最高残留限量标准; 利用偏最小二乘法 (PLS) 建立模型定量分析, 新霉素最适检测质量浓度范围在 300~1 100 $\mu\text{g/L}$ 附近。电子舌依据其独特的优点, 为食品掺杂掺假的检测提供了新的思路和方法。

关键词: 抗生素, 主成分分析, 智能传感器, 电子舌, 新霉素, 线性判别分析, 偏最小二乘法

doi: 10.3969/j.issn.1002-6819.2011.04.063

中图分类号: TP212.9

文献标志码: A

文章编号: 1002-6819(2011)-04-0361-05

谈国风, 田师一, 沈宗根, 等. 电子舌检测奶粉中抗生素残留[J]. 农业工程学报, 2011, 27(4): 361—365.

Tan Guofeng, Tian Shiyi, Shen Zonggen, et al. Electronic tongue detection for residual antibiotic in milk powder [J]. Transactions of the CSAE, 2011, 27(4): 361—365. (in Chinese with English abstract)

0 引言

某些微生物或动植物所产生的物质 (例如青霉素) 能抑制另一些微生物细胞壁、细胞膜、蛋白质的合成, 核糖核酸和脱氧核糖核酸的转录复制, 抗代谢物溶菌酶形成的化学物质统称为抗生素^[1]。抗生素可用于治疗人或家畜的疾病, 对泌乳期奶牛用药不当或用药治疗后停止用奶时间不够容易造成牛乳中抗生素残留, 尤其是采用乳房灌注治疗奶牛乳房炎时, 更易造成牛乳中抗生素的残留^[2]。牛奶中若含有抗生素, 对长期饮用者来说无疑等于长期服用小剂量的抗生素, 而对于有过敏体质的人服用残留抗生素的牛奶后会发生过敏反应, 如皮疹、过敏性休克等, 即使是正常体质的饮用者也会由于服用残留抗生素的牛奶而破坏肠道内的菌群平衡, 引发胃肠疾病和生理紊乱, 降低人体免疫功能^[3]。因此, 牛奶中抗生素的残留严重危害人体的身体健康和生命安全; 从乳制品加工的角度来看, 原料乳中抗生素残留物严重干扰发酵乳制品的生产, 抗生素可严重影响干酪、黄油、发酵乳

的起酵和后期风味的形成^[4]。

目前, 牛奶中抗生素残留的检测方法大致分为 3 类: 生物测定法、免疫法、理化分析法。但是都存在很多缺点, 如检测时间长, 样品前处理繁琐, 试剂成本较高等^[5]。电子舌是一种模拟人类味觉感受机制。以传感器阵列为基础结合模式识别对被测样品综合性质分析检测的仪器。具有检测时间短、样品无需前处理等优点^[6]。本课题组自主研发的电子舌是以惰性金属传感器为基础、多频大幅脉冲为激发信号的新型智能伏安型电子舌^[7-8], 目前已在白酒、葡萄酒、饮料^[9-11]等多种食品中取得良好的应用效果。本文利用电子舌系统检测奶粉溶液中掺入的抗生素, 并以新霉素为例探索电子舌在乳制品中抗生素残留定性和定量检测能力。

1 材料与方法

1.1 试验材料

符合食品卫生安全标准的进口奶粉: 市售惠氏金装爱儿乐婴儿奶粉。购于生工生物工程 (上海) 有限公司的 6 种抗生素: 金霉素; 大观霉素; 红霉素; 林可霉素; 新霉素; 庆大霉素。

1.2 主要仪器与检测方法

检测仪器为电子舌, 由本实验室自主研发。电子舌由传感器阵列、多频脉冲扫描仪和智能算法 3 个部分组成 (见图 1), 是以多频率大幅脉冲作为激发扫描信号, 通过几种特定的贵金属传感器组成的传感器阵列, 检测被测物质整体特征性响应信号, 辅以主成分分析等数学方法而构建的新型电子舌系统。电子舌采用标准的三电极系统, 由铂电极 (Pt)、金电极 (Au)、钯电极 (Pd)、钨电极 (Wu)、钛电极 (Ti) 和银电极 (Ag) 6 种不同

收稿日期: 2010-09-07 修订日期: 2011-03-30

基金项目: 苏州市社会发展项目 (SZD0927); 苏州市农业科技攻关项目 (SNG0836); 苏州市食品品质与安全重点实验室项目 (SZSZD0904); 多频脉冲电子舌电化学机理研究, 博士学科点专项科研基金 (200803530002); 脉冲弛豫组合谱电子舌信号响应机理的基础研究, 省自然科学基金 (Y3090523); 食品微生物快速检测的新型电子舌研究, 省科技厅 (2009C33046)

作者简介: 谈国风 (1985—), 女, 江西南昌人, 研究方向为食品科学与工程。镇江 江苏大学食品与生物工程学院, 212013。

Email: 373902087@qq.com

*通信作者: 邓少平 (1957—), 男, 博士生导师, 主要从事感官科学及相关研究。杭州 浙江工商大学食品感官科学实验室, 310035。

Email: spdeng@hzic.edu.cn

的非修饰金属电极组成工作电极, 辅助电极为铂电极, 参比电极为 Ag/AgCl 电极, 外盐桥使用饱和氯化钾。以常规大幅脉冲激发信号为基元模式, 每个脉冲频率段的大幅脉冲的脉冲幅度均采用相同脉冲幅度变化, 从+1.0 V 开始, 然后每次变化 0.2 V, 一直到-1.0 V。同时, 采用了 1、10 和 100 Hz 3 个脉冲频率段, 比常规脉冲采集的信息量更大^[8]。

本试验在测量样品之前, 都要将 6 种金属传感器组成的传感器阵列置于空白奶粉溶液中, 以 3 个频率大幅脉冲作为激发扫描信号进行预扫描并进行标准化处理, 使响应信号趋于稳定并消除漂移现象, 然后依次置于盛有约 15 mL 待测液的 25 mL 烧杯中进行检测, 检测时间为 180 s, 每次测量前后, 对传感器都要进行电化学清洗, 清洗时间为 90 s, 提取响应电流信号的物理化学特征值, 利用电子舌自带的数据处理软件对数据进行采集、分析和模式识别。

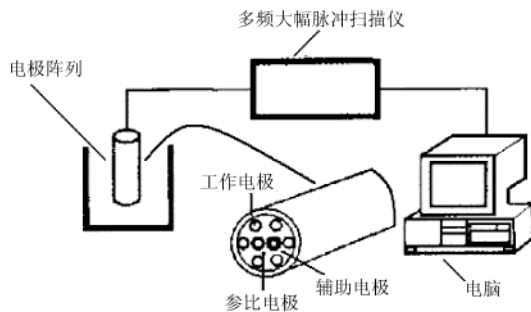


图 1 电子舌结构示意图

Fig.1 Structure diagram of smartongue

1.3 试验方法

1.3.1 奶粉溶液的准备

根据泡制奶粉要求, 奶粉和水的比例为 8.5 g : 60 mL, 称取 85 g 奶粉, 用 600 mL 100°C 纯净水冲泡, 充分溶解后, 冷却至室温, 制得质量浓度约为 1.03g/mL 的奶粉溶液。

1.3.2 抗生素溶液的准备

分别称取 0.1 g 金霉素, 大观霉素, 红霉素, 林可霉素, 新霉素, 庆大霉素, 加超纯水 100 mL 制得体积质量浓度为 1 g/L 溶液待用。

1.3.3 抗生素-奶粉溶液的配制

用移液枪吸取 50 μ L 抗生素溶液, 用冷却的奶粉溶液定容至 100 mL 容量瓶中, 分别配置 500 μ g/L 6 种抗生素-奶粉溶液; 以中华人民共和国农业部公告第 235 号^[12]中规定乳制品中新霉素的最高残留限量标准 500 μ g/kg(约 515 μ g/L)为依据, 设计并配置不同质量浓度的新霉素-奶粉溶液(见表 1)。

表 1 不同体积质量浓度的新霉素-奶粉溶液

Table 1 Different concentrations of neomycin-milk powder solution

编号	质量浓度/(μ g \cdot L ⁻¹)	编号	质量浓度/(μ g \cdot L ⁻¹)
A	0	E	800
B	200	F	1 000
C	400	G	1 200
D	600		

1.4 数据处理方法

1.4.1 主成分分析

主成分分析^[13] (principal component analysis, PCA) 是模式识别中最基本的多元统计分析方法, 它在保留原始变量主要信息的前提下将多指标问题转换成少数几个综合指标(即主成分), 起到降维与简化问题的作用, 主成分的累计方差大于总方差的 85%, 则基本可以代表原数据的特征。主成分得分图以散点图为基础, 每个点代表一个样品, 点之间的距离代表样品之间特征差异的大小。采用 Matlab 7.1 软件编写的 smartongue 数据处理软件处理。

1.4.2 线性判别式分析

线性判别式分析^[14-15] (linear discriminant analysis, LDA) 是一种常用的分类方法, 这种数学分类规则可将 N 维空间分成一些子空间, 并将其定义在直线、平面或超平面上。LDA 选择能够最大程度分开所给各类的分割面作为它的方向, 即找到一个函数, 该函数的变量为原始变量的线性组合, 称之为正规变量。这种计算判别函数的方法可以使组间变异与组内变异的比率达最大, 可直观的看出梯度浓度样品的整体线性趋势, 为进一步的定量分析及线性拟合提供依据。本试验采用 Matlab 7.1 软件编写的自带数据处理软件处理。

1.4.3 偏最小二乘法

偏最小二乘法^[16] (partial least square method, PLS) 是一种高效抽提信息的方法, 在建模过程中集中了主成分分析, 典型相关分析和线性回归分析方法的特点, 因此在分析结果中可以提供一个更为合理的回归模型, 已作为一种标准的多元建模工具。PLS 建立 2 个矩阵: X 和 Y, 其原则是寻找输入矩阵(X)的那些与输入变量尽可能相关的成分, 同时与 Y 矩阵的目标值达到最大相关。在试验数据处理过程中, X 由传感器响应信号矩阵构成, Y 由样品中抗生素质量浓度矩阵构成, 采用 The Unscrambler V 9.1 软件中的偏最小二乘法分析。

2 结果与分析

2.1 相同质量浓度(500 μ g/L) 不同抗生素的主成分分析

分别用 6 个工作电极 3 个频率段对空白奶粉溶液和含有不同抗生素的共 7 种奶粉溶液进行检测, 对检测所得数据进行主成分分析。在金电极 1 Hz, 钛电极 1 Hz 和银电极 1 Hz 频率段下区分效果最好, 得到主成分 1、主成分 2 的主成分分析(PCA)得分图, 如图 2 所示, 图中每一小圈代表这种样品的整体特性, 其中 6 个记号点分别代表此样品的 6 个重复样品, 主成分 1 和主成分 2 保留了原始数据 87.3% 的信息量。不同样品的类间品质差异可以通过主成分得分图上的距离表征, 2 类样品的距离越近说明其品质特性越相似。

从图 2 可以看出, 未添加抗生素的奶粉溶液和添加抗生素的奶粉溶液在主成分图上可以很好地区分开来。且不同种类的抗生素之间, 相互距离较远, 差异性越大。

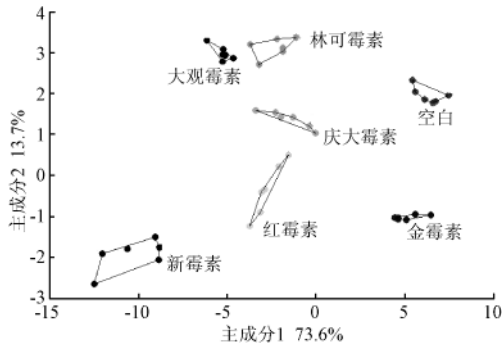


图 2 相同质量浓度(500 µg/L)的 6 种抗生素-奶粉溶液的主成分得分图

Fig.2 PCA score plot of 500 µg/L mass concentration of six kinds of antibiotic-milk powder solution

新霉素与其他的抗生素之间差异最大，林可霉素和大观霉素差异较小，金霉素和大观霉素差异较大。电子舌对奶粉溶液中不同抗生素的区分能力为电子舌建立相应的抗生素定性定量系统提供了可能。

2.2 不同质量浓度新霉素的线性判别分析

对空白奶粉溶液和含有不同质量浓度新霉素奶粉溶液进行检测所得数据进行线性判别分析。图 3 为样本点在线性判别空间的第一和第二正规变量空间构成的平面的分布结果。其中每个圈中的 8 个记号点分别代表此样品的 8 个重复样品。由软件处理结果得：第一和第二正规变量空间构成的平面所涵盖的方差变异占整个数据矩阵方差变异的 93.9%。这样，样本在第一和第二正规变量空间构成的平面中的分布情况可基本代表样本在始变量空间的分布状况。从图中 3 可以看出，空白样品和含新霉素质量浓度介于 200~1 200 µg/L 之间的奶粉溶液相距较远，当新霉素质量浓度在 200~1 000 µg/L 时呈一定的线性关系，但高质量浓度的新霉素（1 200 µg/L 附近）可能会引起检测体系电化学性质混淆，继而影响电子舌对于体系的检测，这个质量浓度有可能是电子舌对于新霉素的检测上限。

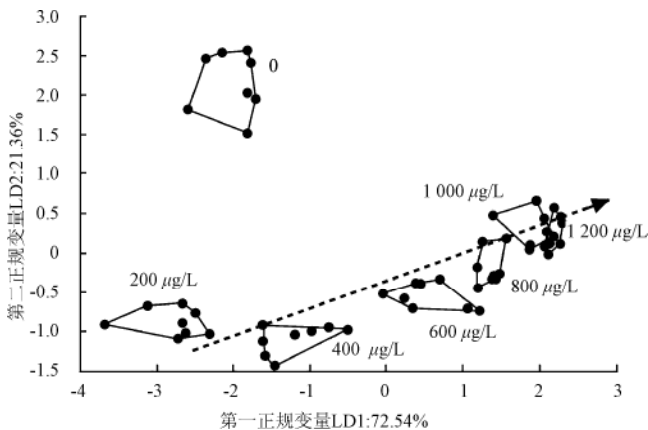


图 3 样本点在线性判别空间第一和第二正规变量空间的分布
Fig.3 Distribution of samples in CV1 - CV2 ordinates by linear discriminant analysis

2.3 新霉素偏最小二乘法定量分析

将 6 个工作电极 3 个频率段对不同质量浓度的新霉素-奶粉溶液进行检测所得数据建立偏最小二乘回归 PLS 模型。结果显示在铂电极 1 Hz 频率段下效果最好，故以每个样品的检测信号特征值矩阵组成 X 变量，以 7 个浓度梯度值构成的列向量为 Y 变量，对 20 个主成分进行内部交互验证，建立 PLS 模型。在交互验证过程中，以校正样品集的交互验证均方根误差 (root mean square error of cross-validation, RMSECV) 和预测残差平方和^[17] (predicted residual error sum of squares, PRESS) 为优化参数，选择最适主成分数，考察主成分数对 RMSECV 和 PRESS 值的影响，当 RMSECV 和 PRESS 值均最小时，所选主成分数最佳。由图 4 可以看出，当主成分数为 11 时，模型有最小的 RMSECV 和 PRESS 值；当主成分数继续增加时，两者均有上升趋势，可说明最佳主成分数为 11。在选好主成分数的条件后，使用 PLS 对校正组的数据建立模型，决定系数为 0.978 (图 5)，图中每个数字代表一个样品测试编号，由图 5 可以看出，除个别样品偏差较大，相同样品聚合在一起的程度较高，且含有不同质量浓度新霉素的奶粉溶液呈现很好的线性关系，所建立的模型具有较高的相关性。

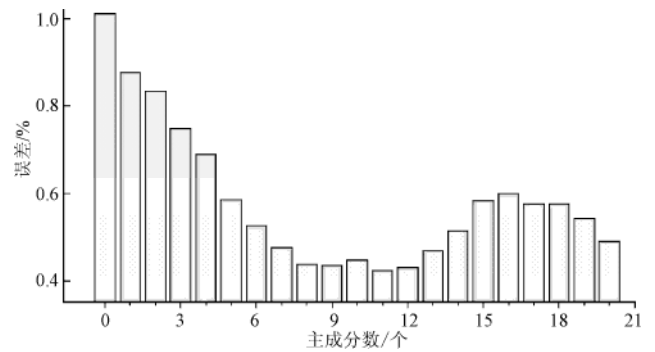


图 4 新霉素-奶粉溶液最小偏二乘回归(PLS)模型主成分个数对 PLS 定量分析模型的交互验证均方根误差(RMSECV)及预测残差平方(PRESS)值的影响

Fig.4 Effect of the number of PCs on root mean square error of cross-validation (RMSECV) and predicted residual error sum of squares (PRESS) value in the partial least square method (PLS) model of neomycin-milk powder solution

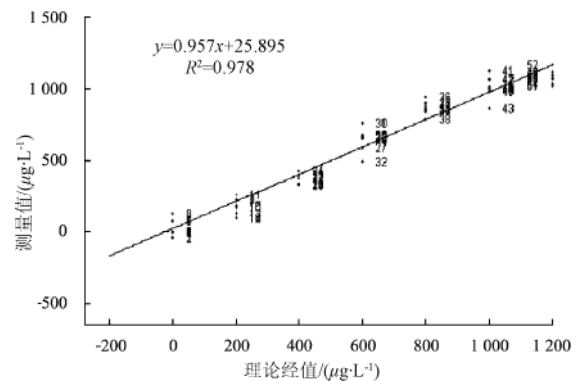


图 5 新霉素-奶粉溶液最小偏二乘回归模型
Fig.5 Partial least square method model of neomycin-milk powder solution

建立最优模型后,用 100、300、500、700、900、1 100 和 1 300 $\mu\text{g/L}$ 的新霉素-奶粉溶液各 2 个样品进行预测。用最优模型对检测所得数据进行新霉素质量浓度的预测,预测结果以及相对误差列于表 2,线性关系如图 6 所示。从表 2 和图 6 可以看出:除去 1、2、13 和 14 号样品的预测结果相对误差较大,其余样品预测相对误差均在 10%以内。结果表明:当新霉素质量浓度在 300~1 100 $\mu\text{g/L}$ 之间时,该模型具有较好的预测能力,与图 3 线性判别分析定性分析结果基本一致。总体来说,利用 PLS 建立模型具有较高的精确度,新霉素最适检测质量浓度范围在 300~1 100 $\mu\text{g/L}$ 附近。

表 2 最佳校正模型预报新霉素质量浓度结果

Table 2 Results of the prediction of mass concentration of neomycin by optimal correction model

样品编号	实际质量浓度/ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	预测质量浓度/ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	相对误差 /%
1	100	112.754	12.75
2	100	119.379	19.38
3	300	284.996	5.00
4	300	311.513	3.84
5	500	509.693	1.94
6	500	498.652	0.27
7	700	757.306	8.19
8	700	742.103	6.01
9	900	935.846	3.98
10	900	879.432	2.29
11	1 100	1180.504	7.32
12	1 100	1001.283	8.97
13	1 300	1476.301	13.56
14	1 300	1492.094	14.78

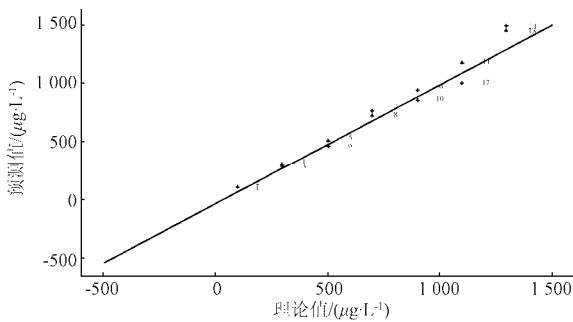


图 6 最佳校正模型预报新霉素质量浓度结果

Fig.6 Results of the prediction of mass concentration of neomycin by optimal correction model

3 结 论

1) 电子舌对抗生素具有良好的检测区分效果,利用主成分分析对数据进行处理结果显示:电子舌能同时区分不含抗生素的空白奶粉溶液和 6 种质量浓度为 500 $\mu\text{g/L}$ 不同种类的抗生素-奶粉溶液。

2) 采用线性判别法对电子舌检测结果分析表明,电子舌对不含新霉素的空白奶粉溶液和含新霉素质量浓度

为 200~1 200 $\mu\text{g/L}$ 奶粉溶液具有显著的区分效果;当新霉素质量浓度在 200~1 000 $\mu\text{g/L}$ 之间时,电子舌能区分各奶粉溶液,能够达到国家最高残留限量标准;当新霉素质量浓度增加到 1 200 $\mu\text{g/L}$ 时,电子舌表现出较弱的检测能力。

3) 采用偏最小二乘法对电子舌检测质量浓度为 0~1 200 $\mu\text{g/L}$ 新霉素-奶粉溶液的结果建立模型,除 100 和 1 300 $\mu\text{g/L}$ 以外,已建立的模型对新霉素的预测都较为准确。下一阶段将对其他单一抗生素及混合抗生素建立相应的定性和定量模型。

[参 考 文 献]

[1] 马兆瑞,祝战斌,卡尔·莱金特. 乳和乳制品中残留抗生素的检测方法[J]. 中国乳品工业, 2003, 31(4): 37-39.
Ma Zhaorui, Zhu Zhanbin, CARL LACHAT. Screening test of antibiotics residues in milk and milk products[J]. Chain Dairy Industry, 2003, 31(4): 37-39. (in Chinese with English abstract)

[2] 沈永聪,李守军,杨林. 牛奶中抗生素残留检测技术进展[J]. 畜牧兽医科技信息, 2006(5): 87-89.
Shen Yongcong, Li Shoujun, Yang Lin. The progress of detecting technology of antibiotics residues in milk[J]. Chinese Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2006(5): 87-89. (in Chinese with English abstract)

[3] 陈晓汀,王陆迪. 一种新型快速的牛奶抗生素检测系统[J]. 农业质量标准, 2009(4): 37-38.
Chen Xiaoting, Wang Ludi. A new rapid system to detect antibiotics in milk[J]. Agricultural Quality and Standards, 2009(4): 37-38. (in Chinese with English abstract)

[4] Jones G M. On-farm test for drug residues in milk[Z]. Virginia cooperative extension, Knowledge for the common wealth, Virginia Polytechnic and State University, U.S.A. 1999(5): 401-404.

[5] 贾芳,杨再禹. 牛奶中抗生素残留检测方法研究进展[J]. 中国乳业, 2010(4): 100-103.
Jia Fang, Yang Zaiyu. Development for detecting methods of antibiotics residues in milk[J]. China Dairy, 2010(4): 100-103. (in Chinese with English abstract)

[6] Ciosek P, Brzózka Z, Wróblewski W. Electronic tongue for flow-through analysis of beverages[J]. Sensors and Actuators B, 2006, 118(1/2): 454-460.

[7] Tian S Y, Deng S P, Ding C H, et al. Discrimination of red wine age using voltammetric electronic tongue based on multifrequency large-amplitude pulse voltammetry and pattern recognition Method[J]. Sensors and Materials, 2007, 19(5): 287-298.

[8] Tian S Y, Deng S P, Chen Z X. Multifrequency large amplitude pulse voltammetry: A novel electrochemical method for electronic tongue[J]. Sensors and Actuators B, 2007, 123(2): 1049-1056.

[9] 田师一,邓少平. 对酒类品种区分与辨识[J]. 酿酒科技, 2006(11): 24-26.
Tian Shiyi, Deng Shaoping. Multifrequency pulse electronic tongue for discriminating different brands of wine[J].

- LiquorI-Making Science and Technology, 2006 (11): 24–26. (in Chinese with English abstract)
- [10] 田师一. 多频脉冲电子舌系统的构建及应用[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2007: 10–45.
Tian Shiyi. The System Fabric and Application of Multifrequency Pulse Electronic Tongue[D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2007: 10–45. (in Chinese with English abstract)
- [11] 王茹, 田师一, 邓少平. 电子舌在白酒区分辨识中的应用研究[J]. 酿酒科技, 2008(11): 54–56.
Wang Ru, Tian Shiyi, Deng Shaoping. Application of smart-tongue in the discrimination of liquor[J]. LiquorI-Making Science and Technology, 2008(11): 54–56. (in Chinese with English abstract)
- [12] 中华人民共和国农业部公告第 235 号, 动物性食品中兽药最高残留限量[S]. 2002-12-24.
- [13] 何晓群. 多元统计分析[M]. 第 1 版. 北京: 中国人民大学出版社, 2004: 135–165.
- [14] Rencher A C. Methods of Multivariate Analysis[M]. New York: John Willey, 1995.
- [15] Berrueta L A, Alonso-Salces R M, Héberger K. Supervised pattern recognition in food analysis[J]. Journal of Chromatography A, 2007, 1158(1/2): 196–214.
- [16] 梁逸曾, 俞汝勤. 化学计量学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2003: 191–219.
- [17] 陆婉珍, 袁洪福, 徐广通. 现代近红外光谱分析技术[M]. 北京: 中国石化出版社, 2000: 141–150.

Electronic tongue detection for residual antibiotic in milk powder

Tan Guofeng¹, Tian Shiyi², Shen Zonggen³, Zhang Genhua³, Deng Shaoping^{2*}

(1. School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China;

2. Sensory Science Lab, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310035, China;

3. College of Biological and Food Engineering, Changshu Institute of Technology, Suzhou 215500, China)

Abstract: To find the rapid method to detect residual antibiotic in dairy products, discrimination on the same concentration of six kinds of antibiotics in milk powder using smartongue and detection on the concentration of neomycin is researched in this paper. Platinum, gold, palladium, tungsten, titanium and silver electrodes as sensor array were used in this experiment and detected at different frequency of 1 Hz, 10 Hz and 100 Hz. Principal component analysis, linear discriminant analysis and partial least square method were used to analysis the experiment data. The results showed that smartongue could well discriminate different antibiotic and different concentration of neomycin, qualitative analysis result could reach the national maximum residue limit standard basically. A optimal concentration range of neomycin about 300-1 100 $\mu\text{g/L}$ was obtained by quantitative model established by partial least square method. Smartongue provide a new method to detect adulterations in food by its special advantages.

Key words: antibiotics, principal component analysis, smart sensors, smartongue, neomycin, linear discriminant analysis, partial least square method