

利用电子鼻区分羊奶中不同浓度抗生素

Discrimination of different concentration of antibiotics in goat milk by electronic nose

张 瑶 丁 武

ZHANG Yao DING Wu

(西北农林科技大学食品学院, 陕西 杨凌 712100)

(College of Food Science and Engineering, Science, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

摘要:采用电子鼻方法,利用主成分分析(PCA)和线性判别分析(LDA)进行数据采集,对添加硫酸土霉素、盐酸链霉素、硫酸庆大霉素的羊奶进行快速检测与识别。结果表明,PCA只能区分盐酸链霉样品,LDA的区分效果明显优于PCA。电子鼻能够有效的区分添加以上3种不同浓度抗生素的羊奶。

关键词:电子鼻;羊奶;抗生素

Abstract: A rapid detection was made to determine goat milk with different concentrations of antibiotics (oxytetracycline, streptomycin, gentamicin) using an electronic nose (E-nose). The data obtained by electronic nose (E-nose) were analyzed by the method of principle components analysis (PCA) and Linear Discriminant Analysis (LDA). The results analyzed by LDA were superior to that by PCA, which could distinguish all the milk samples completely. However PCA just could discriminate the samples with streptomycin. E-nose could detect those three antibiotics in goat milk with different concentrations effectively and rapidly.

Keywords: electronic nose; goat milk; antibiotic

羊奶作为一种新兴的奶源,与牛奶相比其脂肪、蛋白质含量分别高5%~10%,脂肪球直径约为2 μ m,是牛奶的1/3,羊奶富含短链脂肪酸(约为牛奶的5倍),不含脂肪凝集素(牛奶含),在灭菌后食用可全部消化吸收。乳中的抗生素残留问题一直受到各国政府和食品安全机构的广泛关注^[1,2],中国羊奶制品尚处于起步阶段,对其质量监控更是缺少一种快速而有效的方法。

电子鼻是一种模拟嗅觉系统的仿生学仪器。J·W·Gardner博士给其下的定义是“电子鼻是一种由一定选择性

的电化学传感器阵列和适当的识别装置组成的仪器,能识别简单和复杂的气味”,它们具有准确性高、成本低的优点^[3-5]。基于自身的特点,电子鼻技术在食品、化妆品、医药、环境控制以及临床诊断等领域的应用十分广泛^[6-9]。而且,在过去的10年中,出现了很多描述电子鼻应用的文献^[9-11]。目前中国的电子鼻技术在乳品品质检测方面的应用并不十分广泛,主要集中在风味,掺假,货架期的检测等方面^[12-18]。

本试验使用电子鼻对羊奶中掺入不同浓度,种类的抗生素进行检测及区分,用主成分分析方法、判别函数分析方法和负荷加载分析法对试验数据进行了分析。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

无抗羊奶:采自西北农林科技大学畜牧实验基地的萨能奶山羊;

硫酸土霉素、盐酸链霉素:中国 Solarbio 公司;

硫酸庆大霉素:美国 sanland 公司;

超纯水:本实验室自制。

1.2 仪器设备

便携式电子鼻系统: PEN3 型,德国 AIRSENSE 公司;

自动双重纯水蒸馏器: SZ-93,上海亚荣生化仪器厂。

1.3 试验方法

1.3.1 材料准备 将所有样品用蒸馏水配置成1 mg/kg 的标准储备液(因为抗生素质量小,标准液质量分数近似为1 μ g/mL)。以链霉素为例,在试管中加入8 g 新鲜乳液。分别加入0,0.50,1.00,2.00 mL 标准液,然后分别加入蒸馏水调整试验样品达到10 g,使样品中链霉素含量分别达到0,50,100,200 μ g/kg。使用铝箔封口,放置于4 $^{\circ}$ C 冰箱内冷藏30 min 后进行测量。每个梯度的样品进行3次平行。

基金项目:陕西省自然科学基金资助项目(编号:K332020916)

作者简介:张瑶(1986-),男,西北农林科技大学在读硕士研究生。

E-mail: hoangyan198629@163.com

通讯作者:丁武

收稿日期:2011-08-01

1.3.2 测定方法 样品从冰箱取出后立刻在清洗时间为100 s,测定时间为60 s,进气量为600 mL/min条件下,进行测量。采用静态顶空采样系统,然后通过针头将挥发性气体吸到电子鼻的传感器通道里,将尾气排出后,再进行第2轮顶空采样。每测完1次,都要对样品通道进行清零。

1.4 数据分析

用线性判别式分析(linear discriminant analysis, LDA)、主成分分析(principal component analysis, PCA)对试验数据进行分析。

2 结果与分析

电子鼻采集的数据如图1所示,横轴为采样时间,纵轴为电子鼻传感器的响应值(G/G_0 , G 为初始电阻, G_0 为最后电阻),各条曲线分别代表组成电子鼻阵列的各个传感器对羊奶样品挥发性气味的响应。曲线在45 s后达到平衡,所以选取51~55 s为分析的时间段。

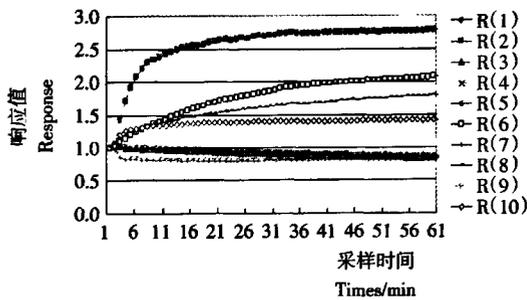


图1 电子鼻各感应器响应值

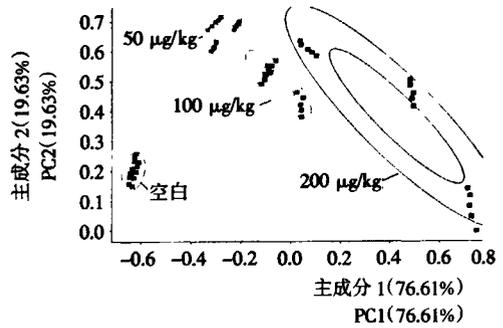
Figure 1 Response curves of 10 sensors' of the E-nose to the samples

2.1 PCA和LDA分析添加不同浓度的盐酸链霉素羊奶样品

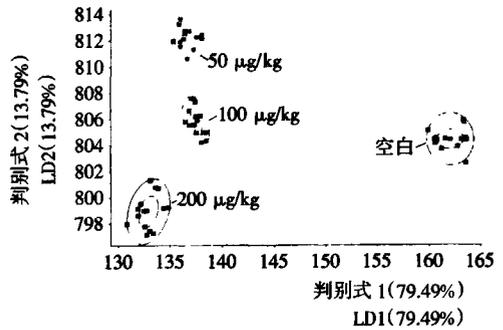
由图2可知,PCA两轴的贡献率分别为76.61%和19.63%,两者之和为96.24%。所以前两个主成分可以用来分析羊奶样品中添加的不同浓度的链霉素。各浓度的样品分布区域同不含抗生素的奶样分离较远,而含链霉素的样品能够分开但是距离较近,其中含量为200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的样品采集点相当离散(图2(a))。这说明传感器能够将链霉素以羊奶挥发性气体的影响中区分开来。所以PCA分析可以将含不同浓度的盐酸链霉素的羊奶样品区分。

LDA主要为了建立不同样本分类间的差异,其两判别式的贡献率分别为79.49%和13.79%,累积贡献率达到了93.28%。随着链霉素含量的增加,与不含抗生素的样品越远。且呈规律性分布,即从图的右下侧逆时针变化到左下侧(图2(b))。说明不同浓度的链霉素对于羊奶挥发气体的影响能够被电子鼻区分。因此,LDA可以将各类样品区分开。

虽然两种分析都能将不同样品区分开来,但是,LDA分析中,各组采集点更加集中,且分布规律性更明显,所以,LDA较优于PCA。



(a) PCA分析



(b) LDA分析

图2 不同浓度的盐酸链霉素羊奶样品的PCA和LDA分析

Figure 2 PCA and LDA plots for the samples with different concentrations of streptomycins

2.2 PCA和LDA分析添加不同浓度的硫酸土霉素羊奶样品

由图3可知,PCA分析中,PC1的贡献率为77.90%,PC2的贡献率为15.75%,总贡献率达到了93.65%。但是,从两个主轴来看,随着时间的变化,信号并没有规律性的变化。同时,含有抗生素的样品同空白样品之间的分离明显,但是,含抗羊奶的分布区分困难,因此,PCA方法不适合检测含有不同浓度硫酸土霉素的羊奶样品。

LDA分析中,判别式LD1的贡献率为56.51%,LD2的贡献率为35.87%,累积贡献率为92.38%。同PCA分析图相比,LDA更适合用于分析不同浓度硫酸土霉素的羊奶样品。同盐酸链霉素相同,随着土霉素含量的增加,与不含抗生素的样品越远。且呈规律性分布,即从图的右下侧逆时针变化到左下侧。这说明电子鼻能够区分不同浓度硫酸土霉素的羊奶样品,LDA可以对此类样品进行分析,能够各类样品区分开来。LDA分析结果明显优于PCA分析。

2.3 PCA和LDA分析添加不同浓度的硫酸庆大霉素羊奶样品

由图4可知,PCA分析中,两主轴的贡献率分别为81.14%和15.89%,累积贡献率达到了97.03%。含有抗生素样品的羊奶与空白样品分布区域区分明显,但是3个浓度之间分布较近,其中100,200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 有所重叠,而50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的分布则较离散。这说明电子鼻传感器对于是否含有硫酸庆大

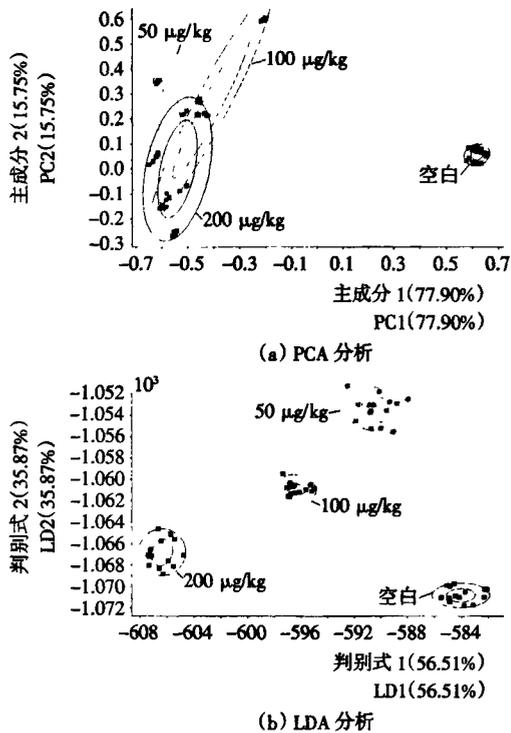


图 3 不同浓度的硫酸土霉素羊奶样品的 PCA 和 LDA 分析

Figure 3 PCA and LDA plots for the samples with different concentrations of oxytetracycline

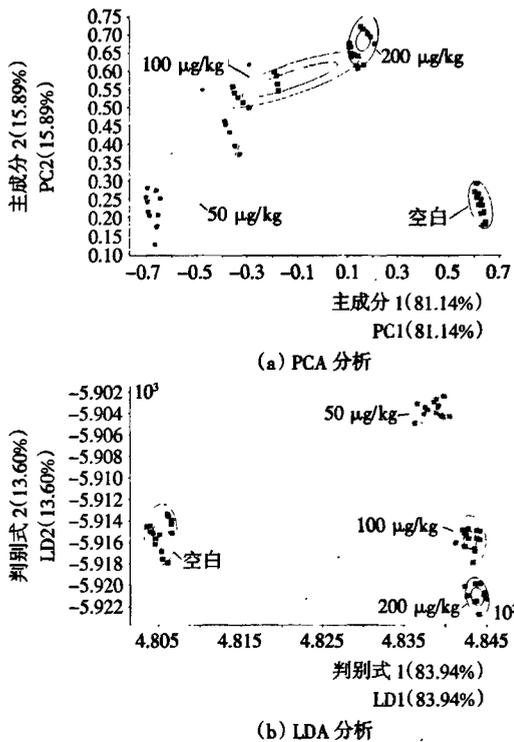


图 4 不同浓度的硫酸庆大霉素羊奶样品的 PCA 和 LDA 分析

Figure 4 PCA and LDA plots for the samples with different concentrations of gentamicin

霉素的羊奶响应区别明显,但对于不同浓度之间的区分还存在局限。在 LDA 分析中,两判别式的累积贡献率为 97.53%,其中判别式 LD1 为 83.94%,判别式 LD2 为 13.60%。利用 LDA 分析能够区分不同浓度硫酸庆大霉素的羊奶样品,且随着浓度的增加,气味变化呈一定的趋势,即从图的左下侧顺时针变化到右下侧。说明电子鼻能够区分不同浓度硫酸庆大霉素的羊奶样品,LDA 可以对此类样品进行分析,能够将各类样品区分开来。

通过分析可以看出,对于不同浓度硫酸庆大霉素的样品响应结果的分析,LDA 分析优于 PCA 分析。

3 结论

(1) 电子鼻能够对添加硫酸土霉素、盐酸链霉素、硫酸庆大霉素的羊奶样品进行区分。

(2) PCA 分析只能够将不同浓度的盐酸链霉素样品区分开,但是对于其他两种样品,只能将是否含有抗生素的羊奶区分,不同浓度的区分不明显,存在很大的局限性;LDA 可以将各个等级的样品明显的区分,效果优于 PCA 分析。

(3) 本试验只对 3 种抗生素进行了检测,并且浓度梯度设置较少,今后应当增加抗生素种类、浓度梯度以及多种抗生素混合测定的设置,以期建立电子鼻检测羊奶中抗生素残留的检测模型。

参考文献

- 郭军,刘艳辉,李翠枝. 乳及乳制品的抗生素和其他兽药残留问题[J]. 中国乳品工业,2004(9):28~32.
- Nina Bilandžić, Božica Solomun Kolanovic, Ivana Varenina, et al. Veterinary drug residues determination in raw milk in Croatia [J]. Food Control, 2011,22:1 941~1 948.
- Gardner J W, Bartlett P N. A brief history of electronic nose[J]. Sensors and Actuators B, 1994,18(19):211~220.
- T C Pearce, S S Schiffman, H T Nagle, et al. Handbook of machine olfaction; electronic nose technology [M]. USA; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2003.
- J W Gardner, P N Bartlett. Electronic noses, principles and applications[M]. New York; Oxford University Press, 1999.
- Rock F, Barsan N, Weimar U. Electronic nose; current status and future trends[J]. Chem. Rev., 2008, 108(2): 705~725.
- Julian W, Gardner, Hyun Woo Shin, Evor L Hines. An electronic nose system to diagnose illness[J]. Sensors and Actuators B, 2000(70):19~24.
- 周牡艳,沈忠均,陈靡然,等. 电子鼻在珍珠粉品牌区分及真假辨别中的应用[J]. 食品工程, 2011(1):42~45.
- 金翠云,崔瑶,王颖. 电子鼻及其在各领域的最新研究进展[J]. 传感器世界, 2010(3):6~10.
- 洪雪珍,王俊,周博,等. 猪肉储藏时间的电子鼻区分方法[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2010, 36(5): 568~572.
- 唐月明,王俊. 电子鼻技术在食品检测中的应用[J]. 农机化研究, 2006(10):169~172.
- Miguel Peris, Laura Escuder-Gilabert. A 21st century technique for food control; Electronic noses[J]. Analytica Chimica Acta, 2009(638):1~15.

(下转第 156 页)

表 3 红麻花色素在正负离子模式下所得的分子量
Table 3 On the positive and negative ion mode of the first band pigments from the flowers of ambary's molecular weight

分子量	1	2	3
[M+H] ⁺	579	481	679
[M-H] ⁻	577	479	677
[M]	578	480	678

3 结论

(1) 红麻花丙酮可溶性色素经 TLC 分离后的主要成分液进行扫描测定表明,红麻花主要成分色素均有 2 个特征吸收峰,一个在 250~270 nm,另一个在 300~370 nm。

(2) 经显色反应、液相色谱及液质联用检测结果表明:红麻花丙酮可溶性色素的主要成分为大豆素及淫羊藿苷类物质等黄酮类物质。

参考文献

1 彭子模,李进,孟冬丽. The present condition and prospect for the

(上接第 136 页)乳糖斑点(5、7、8 道),说明乳糖基本被乳糖酶全部水解。由于牛乳中除乳糖外,还含有乳蛋白和乳脂肪,某种程度上会影响薄层析的效果。从图 2 中 7、8 道可以看出,牛乳水解物经乙醇处理后,能除去乳脂肪和乳蛋白对乳糖水解产物的层析效果的影响。

3 结论

测定乳糖酶活力的方法主要有还原糖法、乳糖法、ON-PG 法和高效液相色谱法 5 种方法。但存在耗时长,反应复杂、操作麻烦等诸多不足。乳糖酶水解乳糖生成葡萄糖和半乳糖,用薄层层析法可分析其水解产物。葡萄糖和半乳糖混合物经 3 次展层可在层析板上明显分离,清晰观察到有两个蓝色斑点。因此,在研究乳糖酶水解乳糖过程中,可方便、快速地用 TLC 法对乳糖的水解产物进行检测鉴定。即:用硅胶板支持物,在展开剂为正丁醇:乙醇:水=5:3:2;显色剂为苯胺-二苯胺条件下,点样展层 3 次,85℃显色 5 min。

参考文献

1 李宁,贾英民,韩军. 高温乳糖酶产生菌株的诱变选育[J]. 河北

(上接第 146 页)

13 闫李慧,王金水,渠琛玲,等. 仿生电子鼻及其在食品工业中的应用研究[J]. 食品与机械,2010,26(6):156~159.
14 张晓敏. 电子鼻在食品工业中的应用进展[J]. 中国食品添加剂,2008(2):52~56.
15 王金美. 电子鼻及其在食品行业中的应用[J]. 山东食品发酵,2009(1):37~41.
16 兰会会,胡志和. 电子鼻技术在乳品生产与质量控制中的应用

exploitati on and application of natural plant pigment[J]. 新疆师范大学学报(自然科学版),2000,19(4):43~50.
2 杨桂馥,译. State of security, laws and regulations on the exempted certificate test of colour additives in food, medicine and cosmetics in america[J]. 中国食品添加剂,1997(3):57~68.
3 肖宗厚. Chinese drugs chemistry[M]. 上海:上海科学技术出版社,1997:276~290.
4 姚新生,吴立军. Chemistry of natural medicine [M]. 北京:人民卫生出版社,2003:182~195.
5 时海香,仲山民. 常山胡柚天然色素的初步鉴定及其稳定性研究[J]. 林业科学研究 2008,21(6):852~856.
6 徐东翔. 植物资源化学[M]. 第 1 版. 长沙:湖南科技出版社,2004:192~193.
7 梁剑武. 有关葛根的黄酮类成分分析与研究[J]. 广东化工,2004(1):1~3.
8 李梅青,盛旋,邵学广. 反相高效液相色谱法用于葛根黄酮提取物的分离与主要活性成分的测定[J]. 分析化学,2003,31(2):178~180.
9 肖佳尚. HPLC 法测定复方益肾胶囊中淫羊藿苷的含量[J]. 中国医药导报,2011,8(16):68~70.

农业大学学报,2005,28(2):64~66.
2 陈小真,陈惠萍,郭杰炎. 乳糖酶水解牛乳的乳酸菌发酵研究[J]. 工业微生物,1998,28(1):18~21.
3 张伟,姚斌,王磊,等. 来源于 Aspergillus candidus 的乳糖酶基因的克隆及序列分析[J]. 盐城工学院学报,2002,18(5):566~571.
4 惠艺. 国内外强化液体乳制品简介[J]. 中国乳品工业,1999,27(5):35~37.
5 甘宾宾,蒋世琼. 高效液相色谱法测定乳糖酶水解产物中的糖类[J]. 食品与发酵工业,2001,27(12):39~40.
6 李兴峰. 乳糖酶高产菌株分离筛选发酵产酶及酶学性质的研究:[D]. 保定:河北农业大学,2004.
7 王红妹,肖敏,李正义,等. 转糖基β-半乳糖苷酶产生菌筛选和鉴定及酶催化生成低聚半乳糖[J]. 山东大学学报(理学版),2006,41(1):133~138.
8 陆冰真,翟永信. 薄层层析法在食品分析中的应用[M]. 北京:北京大学出版社,1991:80.
9 李建武,肖能庚,余瑞光,等. 生物化学实验原理和方法[M]. 北京:北京大学出版社,1994:19.
10 贾士儒. 生物反应工程原理[M]. 北京:科学出版社,2003:140~141.

[J]. 食品科学,2010(17):468~471.
17 Z Ali, W T O' Hare, B J Theaker. Detection of bacterial contaminated milk by means of a quartz crystal microbalance based electronic nose[J]. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2003 (71):155~161.
18 Wende Li, Farah S. Hosseinian, Apollinaire Tsopmo, et al. Evaluation of antioxidant capacity and aroma quality of breast milk[J]. Nutrition, 2009(25):105~114.