

近红外光谱作为 三聚氰胺掺杂的 筛查工具



引言

由于测试过程的快速和无损，近红外（NIR）光谱是一种很有吸引力的粉末物质中掺杂物的筛查工具。当然，对于ppm或ppb量级的痕量杂质，近红外光谱的灵敏度无法与像GC/MS这样的技术竞争。如果没有样品预处理过程，近红外光谱的检测限在0.1%的水平，这对于含量一般在百分之几的商品掺杂物的筛查已经足够了。原则上来说，光谱成像方法可以在更低的含量水平上检测杂质颗粒，但是不适合作为日常筛查方法。

三聚氰胺掺杂

三聚氰胺（melamine）是一种商品掺杂物。如果使用凯氏定氮法或燃烧法通过总氮含量间接测定蛋白质的含量，加入三聚氰胺可以提高样品中表观蛋白质含量。在奶粉和谷朊粉（面筋粉）中掺杂三聚氰胺的恶性事件已经发生了很多。选择掺杂三聚氰胺这种廉价物质是因为其中氮元素含量达到66%，大约是相同质量蛋白质中氮含量的4倍。实际上，混合物中三聚氰胺的加入量达到百分之几时（远高于ppm含量水平）才能够显著降低生产成本。2007期间发生于美国的谷朊粉掺假事件中，掺假谷朊粉中三聚氰胺的含量达到了8%，而最终的宠物食品中三聚氰胺的含量低于0.2%。目前食品和药物中三聚氰胺的含量上限一般在1~2 ppm。近红外光谱并不适合于检测成品中如此低含量的三聚氰胺，但是非常适合于筛查原材料。相比于在成品中检测出三聚氰胺，如果在原材料中检测出三聚氰胺则更容易追查其来源。

掺杂检测

使用SIMCA等定性分析方法，近红外光谱可以用于未知的、含潜在污染物的非针对性筛查。该方法需要确定跟样品相关的正常光谱变化范围，然后识别位于该范围之外的异常样本。然而，利用污染物已知光谱特征的方法可以达到对特定掺杂物的更低检测限。这类方法对于在近红外光谱上具有一些显著特征的三聚氰胺来说尤其适用。偏最小二乘（PLS）定量校正模型可以容纳矩阵光谱贡献的变动。更简单的定性分析方法是计算样品光谱与可疑掺杂物光谱的相似度。

三聚氰胺（2,4,6-三氨基均三嗪）是结晶化的固体，在近红外光谱上有一些比较窄的谱带。奶粉和谷朊粉等被掺杂基质的近红外光谱吸收峰都很宽（如图1所示）。三聚氰胺与基质成分之间光谱干扰最小的区域在6900~6500 cm^{-1} ，该区域内三聚氰胺具有显著的 NH_2 特征峰。三聚氰胺含量为0.5%时，可以直接观察到6820 cm^{-1} 处显著的吸收峰（如图2所示）。使用二阶导数光谱可以消除基质成分吸收峰的干扰。

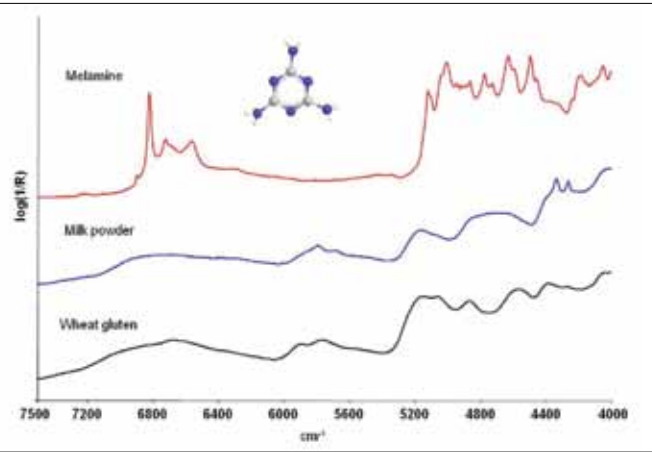


图1. 三聚氰胺与基质的近红外光谱。

定量校正

检测粉末混合物中含量较低的成分时，采样方法是一个重要的考虑因素。三聚氰胺的颗粒尺寸大约在20到100 μm 之间，而奶粉颗粒大约为10 μm 但是容易黏结在一起。有两点要求，一是样品充分的混合，一是测量足够大的体积以获得有代表性的光谱。配制一系列标样，10 g奶粉中三聚氰胺最高含量为1%。有两种光谱测量方式是可用的。Frontier 光谱仪的近红外漫反射附件的光斑

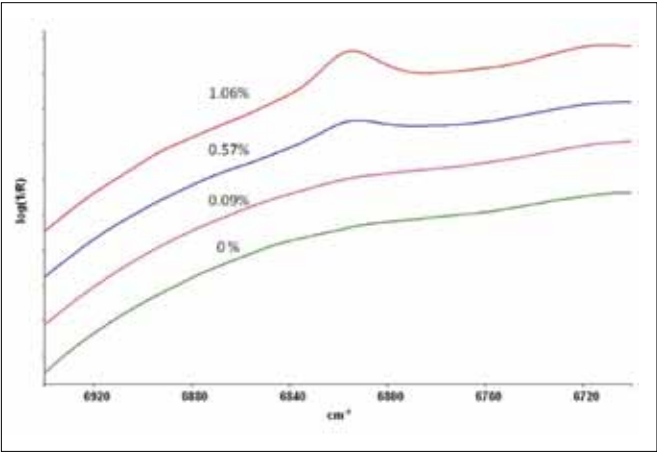


图2. 谷朊粉中的三聚氰胺。

直径可达12 mm，常规方法是使用静态的玻璃瓶。然而，如果样品的均匀性是个问题，可以将样品放入转动的Petri盘，使用旋转样品台附件测试更大的体积。同一样品的重复测试结果表明，使用旋转样品台的光谱变动性显著小于静态测试方法，因此在建模过程中采用旋转样品台的测试数据。

光谱测量分辨率为16 cm^{-1} ，45秒内累加128次扫描。PLS校正模型所用光谱范围为6900-6400 cm^{-1} ，取25点宽度的二阶导数光谱。如图3所示，单一因子模型的校正标准差（standard error of calibration）为0.065%，对不同样品的预测标准差（standard error of prediction）为0.066%。三聚氰胺在5250-4250 cm^{-1} 范围内也有很强的吸收谱带，使用该范围光谱的校正模型效果与上述模型基本一致。然而，6800 cm^{-1} 附近的光谱区域更适于建模，因为基质成分在这一区域内的潜在光谱干扰较少。

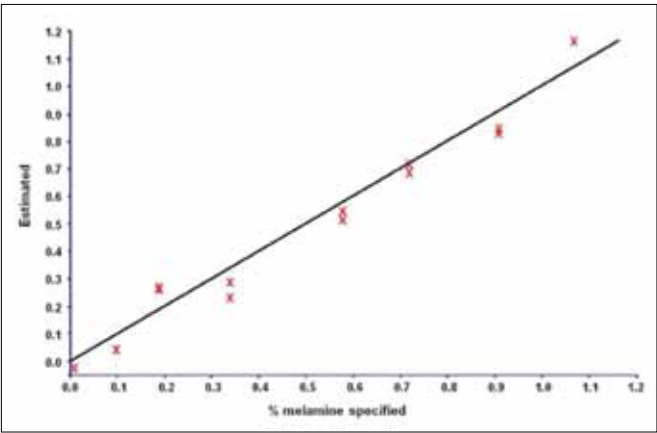


图3. 谷朊粉中三聚氰胺的验证曲线。

与三聚氰胺光谱的相关系数

使用二阶导数可以增强三聚氰胺光谱与基质光谱的差异，而计算较窄区域光谱的相关系数可以使基质成分的干扰最小化。图4所示数据为定量校正所用的样本，以及一些三聚氰胺掺杂的谷朊粉样本。未掺杂样本与三聚氰胺的光谱相关系数小于0.2。三聚氰胺含量达到0.1%的掺杂样本与三聚氰胺的光谱相关系数在0.4左右，而三聚氰胺含量进一步增加时相关系数高于0.7。上述结果表明，基质中三聚氰胺含量达到0.1%时可以在一分钟之内检测出来。

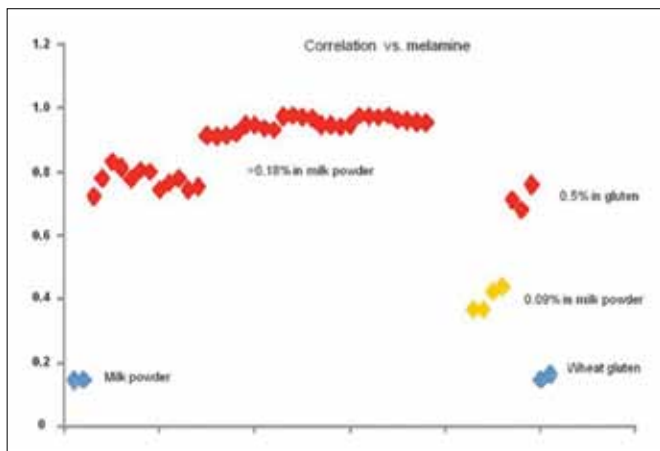


图4. 与三聚氰胺对照光谱的相关系数。

成像方法

近红外光谱成像技术可以用于检测含量较低的颗粒状污染物。其原理在于，如果污染物以离散颗粒的形式存在，局部的浓度可能非常高。图5所示为4x4 mm区域内含有0.15%三聚氰胺的奶粉的光谱图像，像元尺寸为50 μm。图像中的亮点对应的样品光谱与三聚氰胺具有较高的相关系数。图5中还显示了与三聚氰胺相关系数最高点的光谱，以及纯三聚氰胺的光谱。从相对峰强度可知，该像元对应的样品区域中三聚氰胺的含量接近50%。

在本研究实例中，通过三分钟的成像测试即可检测到含量为0.1%的三聚氰胺。然而，确定该类方法的检测限是比较困难的。原则上来说，要检测到的杂质含量越低，需要成像的样品面积越大，以确保图像中包含三聚氰胺颗粒。可靠地检测特定含量的杂质时所需要的成像面积与杂质的颗粒尺寸也有关系。增大像元尺寸可以覆盖更大的样品区域，但是不利于检测小于像元尺寸的颗粒。综上，成像方法在特定的情况下可以获得很好的结果，然而并非总是优于宏观测试方法。

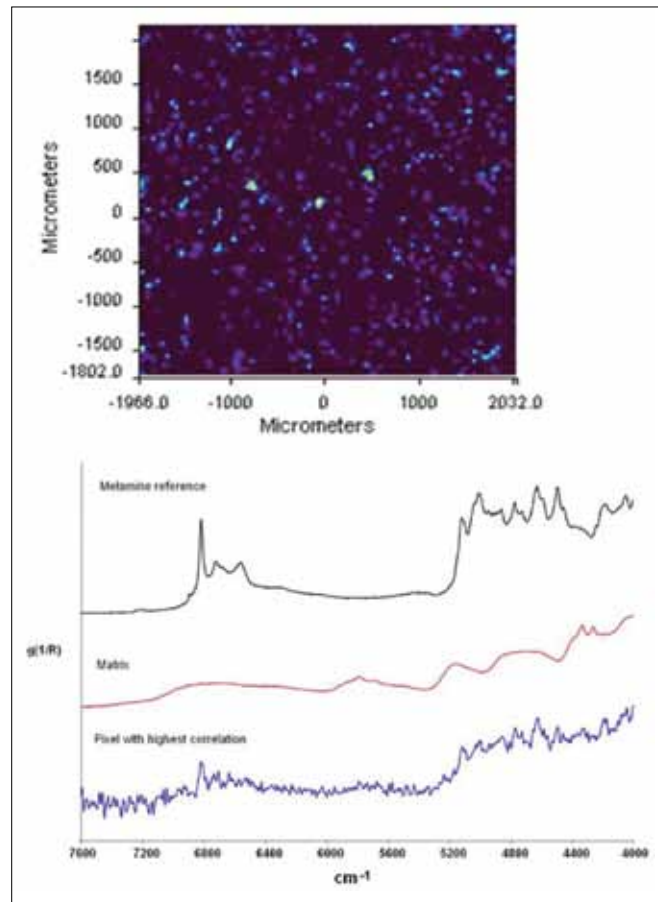


图5. 谷朊粉中三聚氰胺的光谱成像。

PerkinElmer, Inc.

珀金埃尔默仪器（上海）有限公司

地址：上海 张江高科技园区 张衡路1670号

邮编：201203

电话：021-60645888

传真：021-60645999

www.perkinelmer.com.cn



要获取全球办事处的完整列表，请访问[http:// www.perkinelmer.com.cn/AboutUs/ContactUs/ContactUs](http://www.perkinelmer.com.cn/AboutUs/ContactUs/ContactUs)

版权所有 ©2012, PerkinElmer, Inc. 保留所有权利。PerkinElmer® 是PerkinElmer, Inc. 的注册商标。其它所有商标均为其各自所有者或所有者的财产。