

信息采集方式对蛋白质检测的影响与分析

孙建平, 侯彩云, 常国华
(中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

摘 要: 分别利用分光光度比色法与数字图像采集法两种方式, 对蛋白质检测中的原始信息进行了采集与分析。结果表明, 以纯蛋白溶液为研究对象, 采用不同的信息采集方式, 检测结果具有高度的一致性; 以乳粉为研究对象, 采用数字图像采集方式, 以色度 G 值作为特征参数, 可以获得较高的检测精度。通过数字图像采集方式进行乳粉蛋白质的检测, 具有操作简便、结果准确、快速高效的优点, 尤其适宜于流通领域中食品质量的检测与评价。

关键词: 分光光度计; 数字图像; 蛋白质; 色度值

Investigation on Digital Image Collecting Method for Rapid Determination of Protein Content of Milk Powder

SUN Jian-ping, HOU Cai-yun, CHANG Guo-hua
(College of Food Science and Nutrition Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract: The original information of different protein content solution was collected using Spectrophotometric Colorimetry method (SPC) and Digital Image Collecting method (DIC) respectively. Highly consistency was shown for pure protein solution in comparison with the two methods. For milk powder, higher precision was shown using the colorimetric value G as a characteristic parameter by DIC method. The advantages of using DIC method to detect the content of protein in milk powder of easy operation, high precision and instant and high efficiency. It is more suitable for rapidly determining and evaluating the food quality in the field of circulation.

Key words: spectrophotometer; digital image; protein; chroma

收稿日期: 2004-10-21

基金项目: 国家“十五”科技攻关计划项目(2001BA501A16-03)

作者简介: 孙建平(1978-), 博士研究生, 研究方向为食品科学与工程。

- advances in conjugated linoleic acid research [M]. AOCS Press, 1999: 1-11.
- [3] 邓泽元, 等. 不同饲养类型鸡蛋中脂类的含量测定[J]. 食品科学, 2004, 25(9): 140-143.
- [4] Christie WW. Lipid analysis--isolation, separation, identification and structural analysis of lipids [M]. The Oily Press, 2003. 205-300.
- [5] Roach A G, Mossoba M M, Yurawecz M P, et al. Chromatographic separation and identification of conjugated linoleic acid isomers [J]. Anal Chim Acta, 2002, 465: 207-226.
- [6] Jiang J, et al. Production of conjugated linoleic acid by dairy starter cultures [J]. App Microb, 1998, 85: 95-102.
- [7] Shantha N C, Ram L N, et al. Conjugated linoleic acid Concentrations in dairy products as affected by processing and storage [J]. Food Sci, 1995, 60: 695-697.
- [8] Parodi P W, Conjugated linoleic acid in food: In advances in conjugated linoleic acid research [M]. AOCS Press, 2003. 101-122.
- [9] Katan M B, Zock P L, Mensink R P. Trans-fatty acids and their effects on lipoproteins in humans [J]. Annu Rev Nutr, 1995, 15: 473-493.
- [10] Paul M K. Trans fatty acids and coronary heart disease: Weighing the evidence against hardened fat [J]. The Lancet, 1995, 345(8945): 269-270.

中图分类号 Q816;TQ933

文献标识码 A

文章编号 1002-6630(2005)11-0179-04

蛋白质是构成生物体细胞组织的重要成分,食物中的蛋白质是人体中氮的唯一来源,具有糖类和脂肪不可替代的作用^[1]。

测定蛋白质最常用的方法是凯氏定氮法。它是测定总氮最为准确的方法之一,为国内外普遍应用^[2]。在科学研究过程中,经过不断的探索,人们又相继开发出双缩脲分光光度比色法、染料结合分光光度比色法、水杨酸比色法、福林-酚试剂反应法等多种方法^[3~11]。这些方法由于简便快捷,被称为蛋白质的快速测定法。分析发现,无论是双缩脲分光光度比色法,还是水杨酸比色法等方法,均包括对所处理的样品利用分光光度计测定吸光度的步骤,以采集液体的光学信息^[12]。利用这种方式进行蛋白质分析,具有灵敏度高、信息采集准确的优点,但检测效率较低,且对被测液体的澄清度和透明度要求较高,很容易受到一些外界因素的干扰,影响所采集信息的准确性。

计算机图像识别技术是近年来发展较快的一种图像信息采集和处理方式,它是利用图像传感器获取物体的图像信息,将视觉图像信息转换成数字图像信息,并利用计算机模拟人的判别准则去理解和识别信息,达到分析图像和作出结论的目的^[13]。

实验过程中发现,在多种常见的蛋白质含量测定方法中,被测样品经一定显色处理后,溶液的颜色表现出随蛋白质的含量呈梯度变化的规律。本研究认为,倘若可以找出溶液的色度值与蛋白质之间的相关关系,则可以通过采集溶液的图像信息间接地得出蛋白质的含量;由于可以同时采集多个样品的色度信息,检测效率必将显著提高,同时由于色度信息采集器的便携性,也可以使蛋白质的可检测领域大为拓宽。

为此,本研究采用不同的信息采集方式,通过对经过相同处理的蛋白质溶液,分别建立吸光度和色度值与蛋白质含量的相关关系,分析蛋白质检测结果的一致性和干扰因素,探讨了采用数字图像采集方式进行蛋白质检测的可能性。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

纯牛血清白蛋白;乳粉2种,其中1种为市购乳粉、另1种为劣质乳粉,由农业部农产品质量监督检验测试中心(北京)标定其蛋白质含量,分别为24.36g/100g和1.78g/100g;双缩脲试剂^[12]。

离心机(10000r/min);751型分光光度计;计算机;RQS1.0系统软件^[14];扫描仪;比色池;振荡器。

1.2 方法

1.2.1 以纯蛋白为研究对象,比较两种信息采集方式
取纯净的牛血清白蛋白1.000g,溶于0.05N氢氧化钾溶液中,并定容至100ml,制成蛋白质标准液备用。

取6支干净的试管,分别标为0~5号,按表1依次加入试剂,充分混匀,在室温下放置30min。

表1 标准曲线的制备
Table 1 Preparation of the calibration curve

管号	0	1	2	3	4	5
蛋白质标准液(ml)	0	0.6	1.2	1.8	2.4	3.0
蒸馏水(ml)	3.0	2.4	1.8	1.2	0.6	0
双缩脲试剂(ml)	12.0	12.0	12.0	12.0	12.0	12.0
总体积(ml)	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0

待液体稳定显色后,分别以下述两种方式对显色液的原始信息进行采集和处理:

(1) 分光光度计比色

以0号管为空白,在550nm下测定1~5号管中液体的吸光度值。以各管蛋白质含量为横坐标,吸光度值为纵坐标绘制曲线,分析此种方式的信息采集结果与蛋白质含量之间的相互关系。

(2) 数字图像采集

分别移取0~5号管中的显色液各5ml至比色池中,依次置于扫描仪上,启动扫描仪采集图像;

在Windows系统的画图程序中,打开样品液的原始图像,对标准样品与被测样品的显色图像分别进行剪切,按图1所示的顺序由左至右依次排列,建立样品图像剪切图;利用自行开发的RQS1.0系统软件^[14],分析读取各样品图像的色度值。

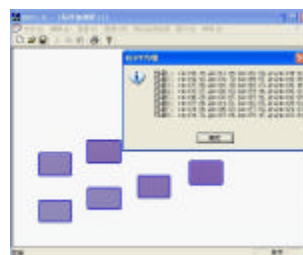


图1 色度值的读取

Fig.1 Read the chroma value

以各管蛋白质含量为横坐标,色度值为纵坐标,绘制曲线,分析此种方式的信息采集结果与蛋白质含量之间的相互关系。

分别以各样品对应的吸光度值为横坐标,RGB色度值为纵坐标,绘制曲线,分析两种比色方式之间的相

互关系。

1.2.2 以乳粉为研究对象, 比较两种信息采集方式

取已由国标法标定其蛋白质含量的乳粉, 按照比例分别配制成不同蛋白质含量的乳粉样品(表2), 分别称取0.4000g, 放入干燥的150ml三角瓶中, 先后加入1ml四氯化碳与40ml双缩脲试剂, 盖上瓶塞, 利用振荡器振荡10min后, 再于室温下放置60min, 取适量溶液倒入离心管中, 在10000r/min下离心10min, 将完全澄清的上清液倒出。分别利用两种方式对已澄清的乳粉显色液进行信息采集。

表2 所配制乳粉的蛋白质含量(g/100g)
Table 2 Protein content of the prepared milk powder

样品号	1	2	3	4	5	6	7	8
蛋白质含量	10.80	13.08	15.32	17.58	19.83	20.89	22.10	24.36

2 结果与分析

2.1 以纯蛋白为研究对象, 两种信息采集方式的比较

表3为以纯蛋白为研究对象时, 两种方式采集信息的结果比较。

表3 两种方式信息采集结果的比较
Table 3 Comparison of two technologies for collecting information

信息采集方式 信息采集指标	分光光度比色 吸光度值	数字图像采集 色度值		
		R	G	B
r_1^2	0.9981	0.9751	0.9822	0.9714
r_2^2		0.9835	0.9910	0.9776

注: r_1 为吸光度和色度值与对应样品的蛋白质含量的相关系数;
 r_2 为吸光度与色度值之间的相关系数。

由表3可以看出, 所采集的吸光度与蛋白质含量之间的相关系数 r_1^2 达到了0.9981, RGB色度值与蛋白质含量之间的相关系数 r_1^2 均高于0.97, 两种方式的信息采集结果均与蛋白质含量存在高度的线性相关; 且两种方式的信息采集结果之间也存在着高度的线性相关, 其中吸光度值与G值的相关性最好($r_2^2=0.991$), 表明当以纯蛋白为研究对象时, 两种信息采集方式存在良好的一致性。

分别以蛋白质含量为横坐标, 对应溶液的色度值为纵坐标, 绘制曲线(如图2), 分析各色度值随溶液中蛋白质含量的变化趋势。

由图2可以看出, 通过所采集的信息表明, G值与蛋白质含量的相关性最好, 相关系数 r^2 达到了0.9822; 在相同的蛋白质含量变化范围内, G值的变化幅度也最大, 即随蛋白质含量的变化, G值的改变最为灵敏。

2.2 以乳粉为研究对象, 两种方式信息采集结果的比较

表4为以乳粉为研究对象时, 两种方式采集信息的

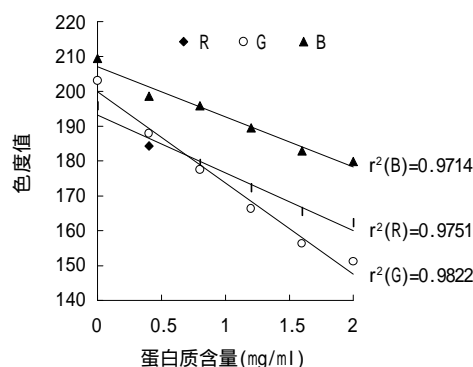


图2 蛋白质含量与色度值的关系图

Fig.2 Relation of the protein content and chroma value

结果比较。

表4 两种方式信息采集结果的比较
Table 4 Comparison of the two technologies for collecting information

信息采集方式 信息采集指标	分光光度比色 吸光度值	数字图像采集 色度值		
		R	G	B
r_1^2	0.9348	0.9429	0.9853	0.8993
r_2^2		0.8924	0.9504	0.9641

注: r_1 为吸光度与色度值与对应样品的蛋白质含量的相关系数;
 r_2 为吸光度与色度值之间的相关系数。

由表4可以看出, 两种方式的信息采集结果中RGB值与吸光度之间的相关系数 r_2^2 最高为0.9641, 而纯蛋白分析结果中色度值与吸光度的相关系数 r_2^2 均不低于0.9776(表3), 表明在以乳粉为研究对象时, 两种信息采集方式的一致性有所下降; 以乳粉为研究对象时, 吸光度值与乳粉中蛋白质含量的相关性下降, 而色度G值与乳粉蛋白质含量的相关系数 r_1^2 达到0.9853, 与纯蛋白时的分析结果($r_1^2=0.9822$, 见表3)相比, 几乎无明显变化, 仍保持高度的线性相关性。

分析认为, 试验所用的乳粉未经脱脂前处理可能是吸光度值与乳粉蛋白质含量的相关性下降的主要原因。当乳粉中脂肪含量较高时, 显色液经澄清后, 液体中仍有微小的脂肪球存在^[6], 此时液体的澄清度虽然较高, 但脂肪球的存在会干扰光线在显色液中的通过, 影响到吸光度的测定。而数字图像采集方式中, 是依靠光线的反射进行液体色度值的采集, 溶液中微小脂肪球的存在几乎不会影响到色度信息的采集。

分别以蛋白质含量和溶液的色度值作为横纵坐标, 绘制曲线(如图3)。

由图3可以看出, 当以乳粉为研究对象时, 在数字图像采集过程中, 仍以G值与蛋白质含量的相关性最好($r^2=0.9853$), 在相同的蛋白质含量变化范围内, G值的变化幅度也最大, 即随蛋白质含量的变化, G值的改

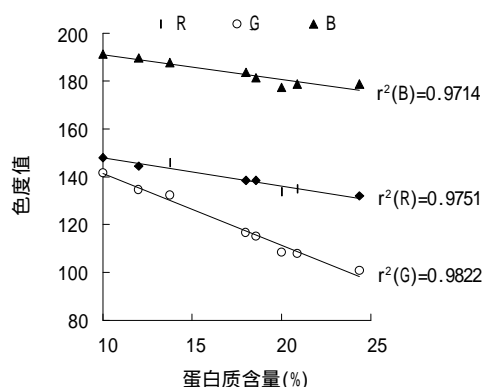


图3 乳粉蛋白质含量与色度值的关系

Fig. 3 Relation of the protein content of milk powder and chroma value

变仍是最为灵敏的。表明,在乳粉的蛋白质检测中,若选用G值作为测定的特征色度指标,检测结果最为稳定、准确。

3 结论

3.1 分别利用数字图像法和分光光度比色法采集纯蛋白溶液的色度和吸光度值,进行蛋白质含量测定的结果具有高度一致性。

3.2 数字图像采集可以同时完成多个样品的信息采集与分析,较分光光度计比色具有更高的检测效率。

3.3 利用数字图像采集方式进行乳粉蛋白质检测,所读取的色度G值几乎不受到样品中脂肪的干扰,与分光光度计读取吸光度值相比,对前处理操作的要求大为降低,有利于在保证检测精度的前提下,提高检测效率,降低检测成本。

3.4 有必要进一步研究检测中操作步骤的相应改进与简化,探讨使数字图像采集方式应用于食品生产与流通领域的可行性。

参考文献:

- [1] 刘志皋. 食品营养学[M]. 中国轻工业出版社, 1993.
- [2] 范天吉. 乳和乳制品分析检测与执行标准实务全书[M]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 2003.
- [3] Gabor E. Rapid simultaneous protein and fat content determination in milk by spectrophotometry[J]. Nahrung, 1989, 33(6): 549-555.
- [4] Molnar Per I, Pinter Szakacs M, Medzihradszky D. Dye-binding 'stoichiometry' and selectivity of cresol red with various proteins[J]. Food Chemistry, 1990, (35): 1, 69-80.
- [5] Kuaye AY. An ultraviolet spectrophotometric method to determine milk protein content in alkaline medium[J]. Food Chemistry, 1994, 49(2): 207-211.
- [6] Ten A, Pamblanco M. Total nitrogen and protein content determination in colostrum and mature human milk by different methods[J]. Nutrition Reports International, 1986, 34(4): 645-650.
- [7] 潘能斌. 双缩脲比色法测定面粉、肉类食品中的蛋白质[J]. 浙江预防医学, 2001, 13(2): 64.
- [8] 程涛, 孙艳波, 李健. 双缩脲法测定乳中酪蛋白含量[J]. 中国乳品工业, 2000, 28(3).
- [9] 石允生, 秦梅, 王运明, 等. 水杨酸分光光度法测定乳制品中蛋白质的含量[J]. 2003, 32(4): 395-397.
- [10] 陈鸿琪, 李宝惠. 定量测定蛋白质的新进展——金属离子染料结合法[J]. 理化检验—化学分册, 2000, 36(2): 91-93.
- [11] 宋文军, 张燕, 张新棠. 大麦中蛋白质的快速测定法——碱浸紫外法[J]. 天津轻工业学报, 2002, (2).
- [12] S Suzanne Nielsen. 食品分析[M]. 杨严俊, 等译. 北京: 中国轻工业出版社, 2002.
- [13] 方如明, 蔡健荣, 许俐. 计算机图像处理技术及其在农业工程中的应用[M]. 北京: 清华大学出版社, 1999.
- [14] 稻谷品质快速检测系统[P]. 软件著作权号: (2003SR1139).
- [15] 郭本桓. 液态奶[M]. 化学工业出版社, 2004.



果汁废渣制果胶

日本一家公司科研人员新近开发出了一种利用苹果榨汁后的剩余物作为原料生产出的健康食品,使废弃物得到了充分利用。

科研人员通过研究发现,在苹果中含有大量的果胶,这种物质对能致癌的氧自由基具有明显的抑制作用。

该产品主要是将苹果榨汁以后的剩余物进行干燥、煮沸,从中提取高浓度的果胶汁,并使之固化而生产出来的。

加工后的剩余物中加入蜂蜜还能生产出苹果纤维糊,使果胶汁的剩余物也得到充分利用,成为商品。这种健康食品形态为苹果果胶的颗粒,每粒(10mg)果胶含量相当于6~7个苹果。