

前表面荧光光谱法 在食品质量分析中的应用进展

黄海峰¹, 陈秀珊¹, 刘凤银¹, 王宇², 刘佳², 梁岳¹, 阮媚¹, 高向阳³, 穆洪涛^{1,*}

(1. 广东第二师范学院生物与食品工程学院, 广东广州 510303;

2. 广州市食品检验所, 广东广州 511400;

3. 华南农业大学食品学院, 广东广州 510642)

摘要:前表面荧光光谱法(Front-face Fluorescence Spectrometry, FFFS)具有前处理方法简单、快速、准确和无损的特点,适用于非透明或非澄清的液体和固体样品,故在食品的质量分析中发挥着越来越重要的作用。本文系统综述了食品中荧光的物质基础、前表面荧光光谱法分析的基本流程、前表面荧光光谱分析中常用的化学计量学方法和前表面荧光在不同食品中的应用,并对前表面荧光光谱法的发展趋势进行了展望。

关键词:前表面荧光光谱法, 化学计量学, 食品质量分析, 快速检测方法

Application and Research Progress of Front-face Fluorescence Spectrometry in Food Quality Analysis

HUANG Hai-feng¹, CHEN Xiu-shan¹, LIU Feng-yin¹, WANG Yu², LIU Jia²,

LIANG Yue¹, RUAN Mei¹, GAO Xiang-yang³, MU Hong-tao^{1,*}

(1. College of Biology and Food Engineering, Guangdong University of Education, Guangzhou 510303, China;

2. Guangzhou Institute for Food Control, Guangzhou 511400, China;

3. College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Front-face fluorescence spectrometry (FFFS) which can measure the fluorescence signals generated by fluorescent molecules distributed in the front face of non-transparent and non-clarified liquid/solid food samples has advantages of simple sample-treatment, fast, high accuracy and nondestructive. FFFS plays an increasingly important role in food quality analysis. This article systematically reviews the basis fluorescence molecules in food samples, general analytical method of FFFS, the chemometric methods commonly used in front surface fluorescence spectrometry and the application of front surface fluorescence in different foods. The development trend of FFFS is prospected.

Key words: front-face fluorescence spectrometry; stoichiometry; food quality analysis; rapid detection method

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2019)12-0309-08

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2019.12.050

引文格式: 黄海峰, 陈秀珊, 刘凤银, 等. 前表面荧光光谱法在食品质量分析中的应用进展[J]. 食品工业科技, 2019, 40(12): 309-316.

随着生活水平的不断提高, 饮食习惯、消费行为和食品供应链产业的不断变化, 人们更加重视食品的质量。快速无损检验技术成为食品分析检验发展的一个重要方向。前表面荧光光谱法(Front-Face Fluorescence Spectrometry, FFFS)用于食品分析检验时具有快速、灵敏和无损的优点, 是一项具有巨大应用前景的新型检测技术。FFFS法是基于分子被光子激发而产生荧光的特性, 对非透明或非澄清的液体

和固体样品的表面分子所产生的荧光进行收集和测量的方法。FFFS的激发光无法像传统的透射荧光光谱法一样穿透样品, 而是仅对样品表面的分子进行荧光的激发, 样品和激发光之间必须形成一个特殊的夹角, 以确保数据免受激发光反射的干扰(图1)。荧光光谱法因其数据量大、复杂且高维的特性, 一般结合使用化学计量学进行数据挖掘和处理, 以实现样品的分析检测。FFFS法避免了复杂的样品前处

收稿日期: 2018-11-01

作者简介: 黄海峰(1997-), 男, 大学本科, 研究方向: 食品的安全快速检测, E-mail: 841836336@qq.com。

* 通讯作者: 穆洪涛(1981-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 食品安全快速检测, E-mail: muht2008@foxmail.com。

基金项目: 国家自然科学基金(31601540); 广东省自然科学基金(2016A030310304); 广东省公益研究与能力建设项目(2016B020204004); 大学生创新创业训练计划项目(201714278036、201814278036、201814278113); 攀登计划(pdjhb0377)。

理程序,具有快速、灵敏的特点,在食品的质量分析中应用前景广阔,特别适合大量食品样品的质量筛查,是一种经济有效的分析检验方法。本文对前表面荧光光谱的基本原理、前表面荧光光谱分析中常用的化学计量学方法和国内外此方法在各种食品中的应用进展进行了综述。

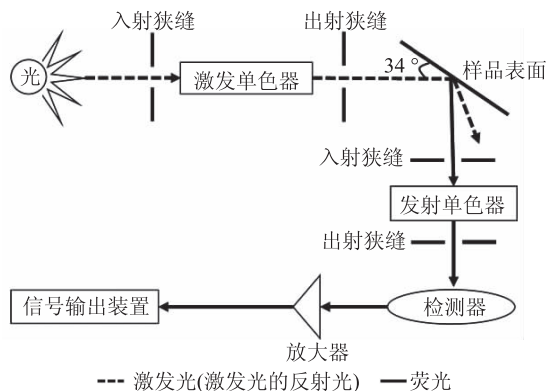


图1 前表面荧光的原理图

Fig.1 Schematic diagram of front-face fluorescence

1 前表面荧光光谱

1.1 食品中荧光的物质基础

食品营养丰富成分复杂,多以浑浊、非透明或非澄清的液体和固体等状态存在,如酒类、油脂类、肉类、谷物类、乳类、鱼类、面包糕点类、蛋类和水果类等食品。相较于传统的荧光光谱法只能用于透明样品的局限性,FFFS 基于食品样品表面的荧光信号进行分析,免去了繁杂的样品前处理步骤,优势明显。食品中含有多种荧光物质,如维生素、氨基酸、蛋白质、核酸等,利用不同样品中的某些共有物质及其相对含量的差异可以对样品进行掺假鉴别^[1-2]和质量分类^[3];也可针对食品中的某些特殊物质(如红酒中的多酚^[4])进行定量分析;另外,对于某些本身无荧光但因荧光猝灭效应或共振能量转移效应的物质,理论上也可通过此方法进行判定和分析^[5]。大多数食品成分复杂(如鱼肉和畜禽肉^[6]),需利用 FFFS 获得的荧光光谱,结合化学计量学方法对荧光数据中细微差异进行提取和分析,与化学计量学方法的联用大大扩大了 FFFS 在食品质量分析中的应用范围。

1.2 前表面荧光光谱法分析的基本流程

荧光光谱法容易受到浓度、分子环境和光学散射的影响。浓度与荧光强度相关,分子环境如溶剂的极性、荧光猝灭温度、pH、荧光的内滤效应和自吸现象等会对荧光信息的表达产生影响。光学散射分为瑞利散射和拉曼散射,拉曼散射峰的波长与激发光波长及频移的关系为 $\lambda_{\text{Raman}} = \frac{\lambda_{\text{ex}}}{1 - \Delta\sigma \cdot \lambda_{\text{ex}}}$, 其中, λ_{Raman} 为拉曼峰的波长, λ_{ex} 为激发光的波长, $\Delta\sigma$ 为频移(激发光与拉曼光的波数差值),由此式可预测溶剂拉曼散射峰的位置,了解其对荧光光谱的影响,以选择实验最佳的溶剂和测定波长^[7]。FFFS 由于特殊的成像特性,基本能够避免荧光的内滤效应和自吸现象,故其灵敏度(发射荧光强度)比透射荧光光谱高。

FFFS 的分析步骤包括:进行样品荧光信息的收集和整理,并通过等高线图谱和三维荧光光谱图(图2)等对简单的荧光特征峰等进行判断和归类分析;依据实验目的和荧光数据的特点选择合适的化学计量学方法进行数据处理;结合实际情况与科学性,分析并得出结论。

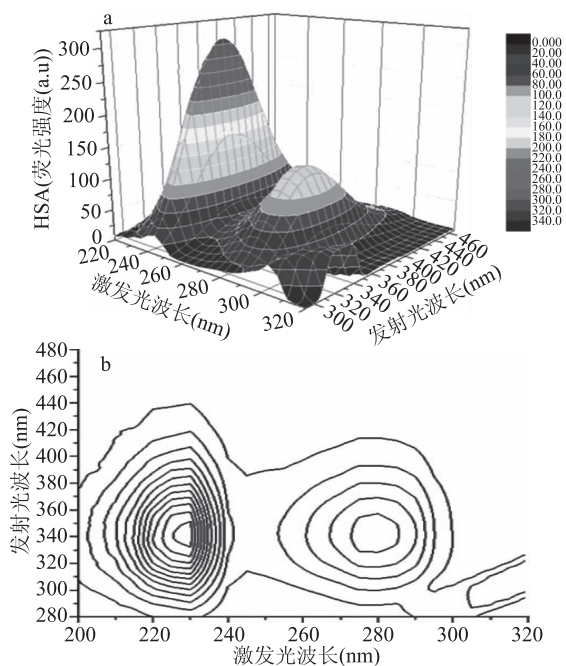


图2 人血清白蛋白(Human Serum Albumin,HSA)的三维荧光图谱(a)和等高线图谱(b)

Fig.2 Three-dimensional emission spectra(a) and Contour map(b) of HAS

注: $C_{\text{HSA}} = 4.3 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$, $T = 298 \text{ K}$ 。

2 前表面荧光光谱分析中常用的化学计量学方法

化学计量学是一门通过统计学或数学方法将对化学体系的测量值与体系的状态之间建立联系的学科,在前表面荧光光谱分析中有着举足轻重的作用。通过化学计量学可以对数据量大、复杂和高维的荧光数据进行选择、简化和降维,具有在复杂的数据中提取光谱数据与判断因变量之间存在的内在关系功能。常用于前表面荧光光谱分析的化学计量学方法主要有二维统计学方法、模式识别法、二阶校正法等。

2.1 二维统计学方法(Two-Dimensional Statistical Method)

二维统计学方法,即将三维图谱中的荧光信息以二维的形式离散化表示,基于离散化的数据利用统计学方法表示其分布特征(线性特征),通常使用平均值、标准差、原点矩, x 与 y 的相关系数等。二维统计学方法常应用于简单的 FFFS 分析,如:求样品中某单一量。

2.2 模式识别算法(Pattern Recognition Algorithm)

模式识别算法用于提取三维光谱中最符合研究目的的荧光信息,便于复杂成分的鉴别和分析。常

见的方法有主成分分析法 (Principal Component Analysis, PCA)^[8]、Fisher 线性判别法 (Linear Discriminant Analysis, LDA)^[9]和独立成分分析法 (Independent Component Analysis, ICA)^[10]。PCA 是将原先变量重新组合成一组新的互相无关的综合变量,同时可根据荧光的特征,从中提取较少的尽可能反应原变量信息的变量,也是一种数学降维方法;LDA 是另一种数据降维的方法,既考虑了各类参考总体出现的概率大小,又考虑了因误判造成的损失大小,比较适合在样本数量较少情况下进行判别;ICA 是一种将互相独立但混杂的荧光信号解混并分析的一种化学计量学方法,它与 PCA 的差别是 PCA 仅适用于高斯分布而 ICA 适用于多数统计学运算。化学计量学中的(偏)最小二乘法、奇异值分解等方法通常与模式识别方法结合使用。

2.3 二阶校正法 (Second - Order Calibration Method)

利用二阶校正法对前表面荧光数据进行分析处理,可分离样品中多种荧光物质,也可对存在未知物质或干扰物的多个样品进行多组分直接定量分析,避免了样品复杂的前处理和多次建模分析的繁琐流程,使数据处理过程更加省时、高效。

由一系列向量构成的矩阵的数据称为二阶数据。FFFS 的激发-发射矩阵 (Excitation - Emission Matrix, EEM) 数据属于二阶数据,目前对于二阶数据主要的处理方法有直接求解法和三线性分解法。

2.3.1 直接求解法 直接求解法常见有广义秩消因子法 (Generalized Rank Annihilation Factor Analysis, GREM) 和直接三线性分解法 (Direct Trilinear Decomposition, DTLTD)。GREM 主要用于一个校准分析体系和一个未知组分的分析体系^[11];DTLTD 目的是得到最小二乘的解,可以对多个样品体系进行线性优化,但常因出现虚数解而失效。直接求解方法适用于信噪比较高、组分数难以准确估计的化学体系^[12]。

2.3.2 三线性分解法 三线性分解法常见有平行因子分析法 (Parallel Factor Analysis, PARAFAC)、交替三线性分解法 (Alternating Trilinear Decomposition, ATLD)、自加权交替三线性分解法 (Self-weighted Alternating Trilinear Decomposition, SWATLD)、N 向偏最小二乘法 (N-way partial least squares, N-PLS)、多元曲线分辨交替最小二乘法 (Multivariate Curve Resolution - alternating Least Square, MCR - ALS)。PARAFAC 是最常见的三维数据处理方法,可以完全识别具有足够多的三维变量的样品体系,但普遍存在的缺点是收敛速度较慢,对噪声或模型偏差较敏感^[13];ATLD 基于最小二乘原理和递次求近法的改进,较 PARAFAC 具有更快的收敛速度,在噪声或模型偏差的情况下仍具有较高准确性^[14]。SWATLD 基于 ATLD,是一种具有快速收敛速度且对干扰因素不敏感的稳定方法。SWATLD 在处理因子数量不同的分析体系时(不少于真实因子的数量),性能十分稳定,它可以不需要像 PARAFAC 那样花费大量时间和

精力来精确地确定所研究的分析体系中的基本因子数量,是使用最广泛的化学计量学之一^[15];N-PLS 由展开偏最小二乘法 (Unfolded - Partial Least Squares, U-PLS) 发展而来,N-PLS 较于其它的化学计量学方法稳定性更高,但一般不单独使用,结合分散 (L1-惩罚式) N 向偏最小二乘法 [Sparse (L1 - penalized) N-PLS regression] 的添加变量选择降低预测误差,从而提高 N-PLS 的可解释性和可使用性^[16]。MCR - ALS 是一种较为新型的化学计量学方法,通常基于硬性动态建模 (Kinetic Hard - modeling)^[17]和 MCR - ALS 相关校准,结合多元多线性分析结构模型^[18]来描述数据集的规律性。在运行 MCR - ALS 可以添加预测初步子空间最大可能性的步骤来降低噪声传播效应,一般用于减少非同方差的误差和直接选择组分数目,以提高 MCR - ALS 初始预测的准确性^[19]。

3 前表面荧光在不同食品中的应用

荧光光谱法被广泛地运用于食品质量分析领域,普通荧光扫描在荧光光谱法中占主导地位,前表面荧光扫描虽然前景良好,优势明显,但是受限于技术发展,仍未被广泛使用。普通荧光扫描在国内外的研究中主要用于物质的相互作用分析^[20]和物质的定量分析^[21],下文主要归纳总结 FFFS 在食品领域的应用进展,如饮料类、油脂类、肉类、谷物类、乳制品类、鱼类、面包糕点类、蛋类、水果类等,表 1 列举了 FFFS 在食品分析领域的应用,并对各类食品的前表面荧光检测过程做了详细描述。

3.1 酒类

葡萄酒成分包括 80%~86% 水,10%~15% 酒精和少量的多酚化合物,如黄酮类、花青素、酚酸和聚合单宁等^[44]。多酚化合物常用于葡萄酒的前表面荧光分析中,用以葡萄酒种类鉴别和定量分析。但在研究多酚类化合物时,常在葡萄酒的自然 pH 条件下进行,pH 改变可引起多酚的结构变化从而导致其荧光光谱显著变化,为保证判定指标的单一性,可通过引入 pH 作为附加参数以提高葡萄酒的鉴别能力^[45]。FFFS 可应用于发酵过程中葡萄酒品种的鉴别和产地的分辨^[22],品种的鉴别利用咖啡酸;产地的分辨利用色氨酸和羟苯基甲酸衍生物;酿酒的鉴别利用儿茶酸和对羟苯基乙醇的相关荧光基团。也可应用于葡萄酒烈酒白兰地的鉴别,如对白兰地与混合酒的鉴别^[46],其荧光物质如表儿茶素、儿茶素、咖啡酸、没食子酸、香草酸的荧光特征峰通常在 $\lambda_{ex} = 240 \sim 290$ nm 和 $\lambda_{em} = 290 \sim 450$ nm 区间,白藜芦醇主要在 $\lambda_{ex} = 300 \sim 360$ nm 和 $\lambda_{em} = 330 \sim 400$ nm 区间内^[47],综上所述,酚类物质是基于前表面荧光对葡萄酒类的食品进行荧光分析的重要成分。

啤酒的苦味来自于啤酒花中的 α 酸^[48],但 α 酸对荧光的贡献不大,不能作为 FFFS 的判别标准,啤酒中荧光贡献率最大的化合物为核黄素和芳香族氨基酸,因此,核黄素和芳香族氨基酸通常作为研究啤酒品质的判别依据^[23],芳香族氨基酸中,荧光贡献率较大为色氨酸 ($\lambda_{ex} = 230$ nm, $\lambda_{em} = 350$ nm) 和酪氨酸 ($\lambda_{ex} = 280$ nm, $\lambda_{em} = 345$ nm)。

表 1 FFFS 在食品领域应用一览表
Table 1 Application list of FFFS in food industry

类型	样品	成分	研究目的	仪器	化学计量学
酒类	葡萄酒 ^[4,22]	多酚	定量	荧光光谱仪(Xeniusspectro, SAFAS 公司, 摩纳哥)	PARAFAC
			鉴别种类	荧光光谱仪(Varian Model Cary Eclipse, VARIAN 公司, 美国)	ICA
	啤酒 ^[23]	核黄素/芳香族氨基酸	定量	荧光光谱仪(3-11 Spex-Jobin Yvon, Horiba Scientific 公司, 日本)	PLS
油脂	橄榄油 ^[24]	维生素/多酚	与包装的相互作用	荧光光谱仪(Aqualog, Horiba Scientific 公司, 日本)	ICA
	植物油中的牛奶脂肪 ^[25]	生育酚/氨基酸/核黄素	掺假辨别	荧光光谱仪(F-7000 FL, 日立公司, 日本)	PCA
	葵花籽油 ^[26]	整体成分分析	热稳定性	荧光光谱仪(Xeniusspectro, SAFAS 公司, 摩纳哥)	ICA
		色氨酸、维生素 A、胶原蛋白/吡啶啉/核黄素、NADH 和维生素 E	品质评价	荧光光谱仪(FluoroMax-4, Jobin-Yvo 公司, 法国)	PLS PLSDA PCA
肉	牛肉 ^[27-29]	干物质含量/脂肪含量、蛋白质含量与结构/胶原蛋白含量	分类		PLSDA
			分类	荧光光谱仪(FluoroMax-2, Jobin-Yvo 公司, 法国)	PLSDA
	肉的蒸煮时间 ^[30]	美拉德反应产物/色氨酸残基	加热的变化		PCA PARAFAC
鱼	鸡肉 ^[31]	硫代巴比妥酸反应物	脂质的氧化	荧光光谱仪(1S 50B, Perkin-Elmer 公司, 美国)	简单统计学
	鲑鱼 ^[32]	整体成分分析	新鲜度	荧光光谱仪(FluoroMax-4, Jobin-Yvo 公司, 法国)	PCA
	牛奶 ^[33]	美拉德反应产物/色氨酸/核黄素	来源辨别	荧光光谱仪(F-7000 FL, 日立公司, 日本)	PCA
乳制品	酸奶 ^[34]	核黄素	定量	荧光光谱仪(BioView, Delta Light and Optics 公司, 丹麦)	PCA PLSR
谷物	谷物粉末 ^[35-36]	维生素 E/维生素 B ₆ /对氨基苯甲酸	分类	荧光光谱仪(Fluorolog-3 Model FL3-221 spectrofluorometer system, Jobin-Yvo 公司, 法国)	PARAFAC
面包糕点	蛋糕 ^[37-38]	脂质	脂质氧化	荧光光谱仪(Fluorom ax 4, Jobin-Yvo 公司, 法国)	ANOVA LSD PLSR
	面包 ^[39]	整体成分分析	发酵最佳时间	荧光光谱仪(Xeniusspectro, SAFAS 公司, 摩纳哥)	PCA
		花青素	表征成熟度	荧光光谱仪(FluoroMax-2, Jobin-Yvo 公司, 法国)	PCA
水果类	葡萄 ^[40-41]	多酚类提取物	品质评价	荧光光谱仪(Varian Model Cary Eclipse, VARIAN 公司, 美国)	PARAFAC PLS
	苹果汁 ^[42]	多酚	品质评价	ISC 分析仪(LDI AS, 爱沙尼亚)	PCA
	橙汁 ^[43]	抗自由基的活性/总黄酮	掺假辨别	荧光光谱仪(Xeniusspectro, SAFAS 公司, 摩纳哥)	ICA

3.2 油脂类

油脂类的研究主要集中在植物油方面,如橄榄油、大豆油、花生油和葵花籽油等,通常通过天然抗氧化成分,如酚类化合物、维生素(V_{R2}、V_E)和色素(叶绿素,类胡萝卜素等)等对油脂进行品质评价^[49]用以辨别区分油脂的种类。由于酚类化合物影响橄榄油的营养程度、感官特性和氧化稳定性,一般以油脂类的多酚化合物作为研究对象,橄榄油也可基于前表面荧光对总酚(TPC)进行定量^[50],但大多数研究方向仍然为品质鉴定(变化过程的研究)^[51-52]和掺假判别^[53-55]。研究的食品不仅仅局限于油脂,也可应用于成分中含有油脂的食品,如蛋黄酱则利用了油脂中的酪氨酸、色氨酸和核黄素来进行品质鉴定^[56]。

因植物油澄清透明,在使用荧光方法进行检测时,既可以运用传统透射荧光法又可使用 FFFS,与传统透射荧光相比,使用 FFFS 扫描获得的光谱数据信号强度明显提高(橄榄油样品透射的发射荧光强度由 2 个光度单位增加到 12 个),可见内滤光现象对普通的荧光光谱法具有很大的影响,故在橄榄油的研究中,FFFS 优于传统透射荧光方法^[57]。吴希军等^[58]在其研究成果中利用荧光光谱对市售的八种植物油(大豆油、玉米油、橄榄油、稻米油、花生油、核桃油、葵花籽油和芝麻油)的三维荧光图谱进行了阐述,较为系统地区分了植物油的种类。鉴于我国国情,地沟油问题时有发生,FFFS 在对地沟油的检测上有很好的应用前景。地沟油中成分混杂且具有不确

定性,很难仅从单一指标来辨别,目前一般根据维生素和酚类抗氧化剂在反复煎炸过程中的减少(被氧化)量来辨别煎炸油(UFO)在精制植物油(EVO)的掺假度^[59],故 FFFS 对地沟油的鉴定的前景巨大,利用价值非常高。

3.3 肉类

在研究肉类过程中,由于肉类的组织分布不均匀,容易造成结果的偏差。肉类应用于 FFFS 时需要预处理,常用的方法是利用液氮将肉类冷却并研磨为粉末,具体的操作步骤以牛肉为例:将牛肉切成 1 cm³ 的立方块,放入液氮中-80 ℃保存后研磨成牛肉液氮粉末进行前表面荧光的研究^[60]。研究肉类常见为牛肉,可对牛肉的胸纵肌、腹直肌和半腱肌进行辨别分类,通常以 λ_{ex} = 335 nm 作为 FFFS 的最佳鉴别波长,而且 FFFS 往往是在肌肉样本之间进行区分的最佳鉴别方式^[61]。肉类的自体荧光成分复杂,利用 λ_{ex} = 340 nm 的激发光对骨、软骨、结缔组织和肉分别进行荧光检测,肉的荧光信号最弱,骨、软骨和结缔组织的荧光信号均较强,但有共性,即都有 λ_{ex} = 390 nm, λ_{em} = 455 nm 和 λ_{em} = 475 nm 的尖峰^[62]。肉类的成分复杂,通常用于前表面荧光分析的化合物有脂质氧化产物^[63]、原卟啉 IX^[64]、胶原蛋白、NADH 和色氨酸残基等,也可以通过维生素、抗氧化剂以及天然色素分子对肉类进行研究^[65]。在肉类的荧光研究中,通常使用干物质含量、脂肪含量、蛋白质含量、胶原蛋白含量等指标综合判别肉的种类,理化检测与荧光光谱法相结合共同表征则可以更好解决肉类

的品质鉴别问题。因成分复杂,干扰因素较多,肉类的荧光研究难度大,稳定性差,目前尚无对肉类中的物质进行定量的研究,但肉类于生活中甚为重要,故研究价值和潜力巨大。

3.4 鱼类

鱼类与肉类的研究方法类似,目前 FFFS 在鱼肉方面的研究主要集中在新鲜度和质量评估方面。鱼肉的脂质和蛋白质在各种相同的组织成分中分布相对均匀,因而可以将鱼肉切成 1 cm^3 的肉块进行检测^[32]。鱼类的研究通常使用激发光 $\lambda_{\text{ex}} = 290、340、380、410\text{ nm}$ 激发后的荧光发射光谱进行分析辨别^[66-68]。同肉类相似,鱼肉的成分复杂,内源性荧光化合物较多,在进行鱼肉的新鲜度判别和质量评估时,需要结合常规的理化指标进行分析。物理化学指标主要由 AOAC 方法直接进行成分分析测定^[69]和 FFFS 结合 TVB-N 含量($\text{mg}/100\text{ g}$)^[70]对鳕鱼肉进行质量评估^[71]。基于前表面荧光强度对鱼肉进行分析,一般以色氨酸和 NADH 荧光信号作为测量指标并结合物理化学指标进行综合研究。

3.5 乳制品类

基于 UPLC-Q-Exactive Orbitrap Mass 对山羊奶、牛奶和豆奶脂质组分的分析研究中,脂质的含量和分布具有显著性差异^[72],但乳类中脂质荧光贡献率一般较低。在乳制品中,荧光贡献率占主导地位的是核黄素、氨基酸、NADH 和 FADH。牛乳是乳制品中常见的研究对象,蛋白质含量高,包括色氨酸($\lambda_{\text{ex}} = 230\text{ nm}, \lambda_{\text{em}} = 350\text{ nm}$)、酪氨酸($\lambda_{\text{ex}} = 280\text{ nm}, \lambda_{\text{em}} = 345\text{ nm}$)、NADH ($\lambda_{\text{ex}} = 370\text{ nm}, \lambda_{\text{em}} = 520\text{ nm}$)和 FADH ($\lambda_{\text{ex}} = 450\text{ nm}, \lambda_{\text{em}} = 525\text{ nm}$),故蛋白质为研究牛乳的研究对象之一^[73]。乳类的成分相对肉类简单,自体荧光物质、荧光信号相互独立且明显,能够高效地辨别乳类中掺加的抗生素等外源物质,研究磷酸盐等物质对牛乳的影响^[73-74],研究加热过程中的视黄醇的变化^[75],以及山羊乳和牛乳的掺假^[76]等。乳类食品的研究方向多而且较为深入,一般以维生素和氨基酸以及 NADH 和 FADH 作为研究对象,来探究乳制品的掺假^[77-78]以及外源条件对乳制品的影响^[79-80]等。FFFS 还可以对乳制品中的物质进行定量^[81]。由于乳制品的特性,一般将牛乳作为荧光的基本研究样品。

3.6 谷物类

不同种类的谷物所表现出来荧光特征峰的种类和强度各不相同。谷物产品的鉴别如:小麦、玉米、黑麦、大米、燕麦、大麦和荞麦等^[82]通常将谷物样品研磨成粉末状,通过前表面荧光技术对样品粉末进行扫描,得到各类样品的三维荧光图谱,结合化学计量学分析荧光数据之间的差异则可以对样品进行初步的判别分析。Ahmad 等^[83]对谷类粉末的内在荧光进行了深入的研究,在 $\lambda_{\text{ex}} = 255\sim 305\text{ nm}, \lambda_{\text{em}} = 300\sim 410\text{ nm}$ 和 $\lambda_{\text{ex}} = 310\sim 400\text{ nm}, \lambda_{\text{em}} = 380\sim 490\text{ nm}$ 之间发现了四种主要的荧光峰,并确认其中一个被分配到氨基酸,另三个被分配到维生素 E、维生素 B6、4-氨基苯甲酸,故研究谷物一般利用氨基酸、维生素

E、维生素 B6 和 4-氨基苯甲酸等荧光物质,谷物类的食物也与烘焙食品相关,研究的物质一般以研究蛋白质、核黄素和 NADH 为主^[84-85]。

3.7 面包糕点类

面包一般以小麦、黑麦为主要原料,加入水、盐、酵母揉制成型,经烘、烤、蒸、炸而成。面包在制作过程中往往添加了鸡蛋和牛奶,蛋糕则在其基础上添加了植物奶油。FFFS 对面包糕点类产品的检测一般研究烘焙过程中物质随时间变化^[84-85]以及在储藏过程中的变化。在 $\lambda_{\text{em}} = 305\sim 490\text{ nm}$ 和 $\lambda_{\text{ex}} = 252\sim 390\text{ nm}$, 荧光光谱显示蛋糕随着储存时间和配方中使用油的类型不同而发生变化,通过色氨酸和脂质来研究蛋糕使用油的类型与储藏时间的关系^[86]。利用在 $\lambda_{\text{em}} = 510\text{ nm}$ 处的荧光特征、蛋糕在存储过程中脂质老化的特点和茴香胺值,评估蛋糕新鲜度的相关系数达到 0.73^[37],可以初步评估蛋糕烘焙过程中物质随时间而发生的变化。

3.8 水果类

在研究水果的过程中,通常利用水果中的色素、多酚以及水果中的特殊成分如总黄酮等荧光贡献率大的物质对其进行分析。在 FFFS 对苹果汁的研究中,用多元线性回归 (MLR) 和偏最小二乘回归 (PLS) 分析证实了荧光预测总黄酮含量 (TFC) 比总酚含量 (TPC) 和总抗氧化能力 (TAC) 更具有代表性^[87]。葡萄的成熟度可以利用葡萄在转色期时葡萄皮中花青素的荧光特征,结合总可溶性固形物回归模型 (TSS) 和总酸度、锦葵色素-3G、总花色苷酚在可见光和荧光光谱的含量来共同表征^[39]。利用多酚含量的不同,可以对巴氏苹果汁、鲜榨苹果汁和浓缩苹果浆的品质进行研究,建立模型对苹果汁进行质量评估模型^[42]。故在研究水果的过程中可以将天然色素作为 FFFS 的指标,但多数研究仍然使用总黄酮含量 (TFC) 和总酚含量 (TPC) 作为指标。

4 展望

FFFS 在食品质量分析中主要应用于非澄清透明液体类食品和固体食品,仅取对待检测物的少许试样即可对待测物进行检测和筛查,具有应用范围广 (适合多种食品类型)、快速、无损、灵敏度高、特异性强等特点,适用于对大量样品的现场抽样筛查,必要时结合仪器分析方法进行结果确证,此策略检验效率高、经济,有效节省大量的人力和物力。目前 FFFS 的发展趋势总结如下:荧光作为分子发射光谱容易受到温度的影响,故温控前表面荧光装置的开发将会进一步提高 FFFS 的分析精度;开发 FFFS 专用的液体和固体专用样品支架增强测试的易操作性和重复性;荧光仪器的小型化,有利于实现农产品品质的现场检测;基于智能手机的荧光信号采集装置的开发也是今后的发展趋势之一;基于云端的数据模型分析与处理,有利于 FFFS 的普及与应用。

参考文献

[1] 毛立新, 张晓丽, 范三红. 同步荧光光谱法测定橙汁中原果汁的含量[J]. 食品工业科技, 2016, 37(6): 90-93, 99.

- [2] 黄秀丽, 黄飞, 陈嘉聪, 等. 8 种食用植物油的荧光光谱分析[J]. 食品工业科技, 2014, 35(14): 64-67, 72.
- [3] 陈国庆. 荧光光谱技术在食品安全监控中的应用研究[D]. 无锡: 江南大学, 2010.
- [4] Cabrera-Bañeíl M, Hurtado-Sánchez M D, Galeano-Díaz T, et al. Front-face fluorescence spectroscopy combined with second-order multivariate algorithms for the quantification of polyphenols in red wine samples[J]. Food Chemistry, 2017, 220: 168-176.
- [5] 毛永强, 李娜. 共振能量转移同步荧光猝灭法测定水体中孔雀石绿[J]. 环境工程学报, 2015, 9(5): 2055-2060.
- [6] 高亚文, 汤海青, 欧昌荣, 等. 基于前表面荧光光谱鉴别新鲜与冻融大黄鱼[J]. 农业工程学报, 2016, 32(16): 279-285.
- [7] 李宏亮, 张加玲, 田若涛. 荧光分析中溶剂的拉曼散射[J]. 中国卫生检验杂志, 2009, 19(3): 478-480, 494.
- [8] Boehme J, Coble P, Conmy R, et al. Examining CDOM fluorescence variability using principal component analysis: Seasonal and regional modeling of three-dimensional fluorescence in the Gulf of Mexico[J]. Marine Chemistry, 2004, 89(1-4): 3-14.
- [9] Guimet F, Boque R, Ferre J. Application of non-negative matrix factorization combined with Fisher's linear discriminant analysis for classification of olive oil excitation-emission fluorescence spectra[J]. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems. 2006, 81(1): 94-106.
- [10] Ammari F, Cordella C B Y, Boughanmi N, et al. Independent components analysis applied to 3D-front-face fluorescence spectra of edible oils to study the antioxidant effect of *Nigella sativa* L. extract on the thermal stability of heated oils[J]. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 2012, 113: 32-42.
- [11] Sanchez E, Kowalski B R. Generalized rank annihilation factor analysis[J]. Analytical Chemistry, 1985, 58(2): 496-499.
- [12] Sanchez E, Kowalski B R. Tensorial resolution: A direct trilinear decomposition[J]. Journal of Chemometrics, 2010, 4(1): 29-45.
- [13] Harshman R A, Lundy M E. PARAFAC: Parallel factor analysis[J]. Computational statistics and data analysis, 1994, 18(1): 39-72.
- [14] Wu H L, Shibukawa M, Oguma K. An alternating trilinear decomposition algorithm with application to calibration of HPLC-DAD for simultaneous determination of overlapped chlorinated aromatic hydrocarbons[J]. Journal of Chemometrics, 1998, 12(1): 1-26.
- [15] Chen Z P, Wu H L, Jiang J H, et al. A novel trilinear decomposition algorithm for second-order linear calibration[J]. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 2000, 52(1): 75-86.
- [16] Hervás D, Prats-Montalbán J M, Lahoz A, et al. Sparse N-way partial least squares with R package sNPLS[J]. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 2018, 179: 54-63.
- [17] Roy B, Hajari A, Kumar V, et al. Kinetic model analysis and mechanistic correlation of ammonia borane thermolysis under dynamic heating conditions[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2018: 1-10.
- [18] Rodriguez Aldana Y, Hunyadi B, Maranon Reyes E J, et al. Nonconvulsive epileptic seizure detection in scalp EEG using multiway data analysis[J]. IEEE Journal of Biomedical and Health Informatics, 2018: 1-1.
- [19] Jaumot J, De Juan A, Tauler, et al. MCR-ALS GUI 2.0: New features and applications[J]. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 2015, 140: 1-12.
- [20] 胡佳薇, 田丽, 王敏娟, 等. 超高效液相色谱-大体积流通池荧光法检测食品中的 4 种黄曲霉毒素[J]. 中国卫生检验杂志, 2017, 27(8): 1109-1111, 1130.
- [21] Liu H, Liu W, Han D, et al. Three-dimensional fluorescence fingerprint technique for milk quality evaluation: Antibiotic residual detection and heat-treated evaluation[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2018, 38(5): 1633-9.
- [22] Schueuermann C, Silcock P, Bremer P. Front-face fluorescence spectroscopy in combination with parallel factor analysis for profiling of clonal and vineyard site differences in commercially produced Pinot Noir grape juices and wines[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2018, 66: 30-38.
- [23] Sikorska E, Gliszczynskaswigło A, Insińskarak M, et al. Simultaneous analysis of riboflavin and aromatic amino acids in beer using fluorescence and multivariate calibration methods[J]. Analytica Chimica Acta, 2008, 613(2): 207-217.
- [24] Tan J, Li R, Jiang Z T, et al. Detection of extra virgin olive oil adulteration with edible oils using front-face fluorescence and visible spectroscopies[J]. Journal of the American Oil Chemists Society, 2018, 95(5): 535-46.
- [25] Ntakatsane M P, Liu X M, Zhou P. Short communication: rapid detection of milk fat adulteration with vegetable oil by fluorescence spectroscopy[J]. Journal of Dairy Science, 2013, 96(4): 2130-2136.
- [26] Ammari F, Jouan-Rimbaud-Bouveresse D, Boughanmi N, et al. Study of the heat stability of sunflower oil enriched in natural antioxidants by different analytical techniques and front-face fluorescence spectroscopy combined with independent components analysis[J]. Talanta, 2012, 99(99): 323-329.
- [27] Ait-Kaddour A, Loudiyi M, Ferlay A, et al. Performance of fluorescence spectroscopy for beef meat authentication: Effect of excitation mode and discriminant algorithms[J]. Meat Science, 2018, 137: 58-66.
- [28] Sahar A, Dufour E. Classification and characterization of beef muscles using front-face fluorescence spectroscopy[J]. Meat Science, 2015, 100(26): 69-72.
- [29] Sahar A, Boubellouta T, Lepetit J, et al. Front-face fluorescence spectroscopy as a tool to classify seven bovine muscles according to their chemical and rheological characteristics[J]. Meat Science, 2009, 83(4): 672-677.
- [30] Sahar A, Rahman U, Kondjoyan A, et al. Monitoring of thermal changes in meat by synchronous fluorescence spectroscopy[J]. Journal of Food Engineering, 2016, 168: 160-165.

- [31] Gatellier P, Gomez S, Gigaud V, et al. Use of a fluorescence front face technique for measurement of lipid oxidation during refrigerated storage of chicken meat [J]. *Meat Science*, 2007, 76 (3): 543–547.
- [32] Hassoun A, Karoui R. Monitoring changes in whiting (*Merlangius merlangus*) fillets stored under modified atmosphere packaging by front face fluorescence spectroscopy and instrumental techniques [J]. *Food Chemistry*, 2016, 200 (9): 343–353.
- [33] Liu J, Zamora A, Castillo M, et al. Modeling the effect on skim milk during ultra-high pressure homogenization using front-face fluorescence [J]. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2018, 47: 439–444.
- [34] Becker E M, Christensen J, Frederiksen C S, et al. Front-face fluorescence spectroscopy and chemometrics in analysis of yogurt: Rapid analysis of riboflavin [J]. *Journal of Dairy Science*, 2003, 86 (8): 2508–2515.
- [35] Lenhardt L, Zeković I, Dramićanin T, et al. Characterization of cereal flours by fluorescence spectroscopy coupled with PARAFAC [J]. *Food Chemistry*, 2017, 229: 165–171.
- [36] Karoui R, Cartaud G, Dufour E. Front-face fluorescence spectroscopy as a rapid and nondestructive tool for differentiating various cereal products: A preliminary investigation [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54 (6): 2027–34.
- [37] Botosoa E P, Chèné C, Karoui R. Use of front face fluorescence for monitoring lipid oxidation during ageing of cakes [J]. *Food Chemistry*, 2013, 141 (2): 1130–1139.
- [38] Nhouchi Z, Botosoa E P, Chene C, et al. Potentiality of front-face fluorescence and mid-infrared spectroscopies coupled with partial least square regression to predict lipid oxidation in pound cakes during storage [J]. *Food Chemistry*, 2019, 275: 322–32.
- [39] Garcia R, Boussard A, Rakotozafy L, et al. 3D-front-face fluorescence spectroscopy and independent components analysis: A new way to monitor bread dough development [J]. *Talanta*, 2016, 147: 307–314.
- [40] Le M M, Dufour E, Bertrand D, et al. Front face fluorescence spectroscopy and visible spectroscopy coupled with chemometrics have the potential to characterise ripening of Cabernet Franc grapes [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2008, 621 (1): 8–18.
- [41] Cabrera-Banegil M, Valdes-Sanchez E, Moreno D, et al. Front-face fluorescence excitation-emission matrices in combination with three-way chemometrics for the discrimination and prediction of phenolic response to vineyard agronomic practices [J]. *Food Chemistry*, 2019, 270: 162–172.
- [42] Poryvkina L, Tsvetkova N, Sobolev I. Evaluation of apple juice quality using spectral fluorescence signatures [J]. *Food Chemistry*, 2014, 152 (2): 573–577.
- [43] Ammari F, Redjdal L, Rutledge D N. Detection of orange juice frauds using front-face fluorescence spectroscopy and independent components analysis [J]. *Food Chemistry*, 2015, 168 (168): 211–217.
- [44] Vallverdú-Queralt A, Boix N, Piqué E, et al. Identification of phenolic compounds in red wine extract samples and zebrafish embryos by HPLC-ESI-LTQ-Orbitrap-MS [J]. *Food Chemistry*, 2015, 181: 146–151.
- [45] Saad R, Bouveresse J R, Locquet N, et al. Using pH variations to improve the discrimination of wines by 3D front face fluorescence spectroscopy associated to independent components analysis [J]. *Talanta*, 2016, 153: 278–284.
- [46] Markechová D, Uríčková V, Májek P, et al. Classification of wine spirits using fluorescence spectrometry [J]. *Chemicke Listy*, 2014, 108 (3): 233–236.
- [47] Airado-Rodríguez D, Durán-Merás I, Galeano-Díaz T, et al. Front-face fluorescence spectroscopy: A new tool for control in the wine industry [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2011, 24 (2): 257–264.
- [48] 张清稳. 应用异 α -酸改进啤酒发酵工艺的研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江大学, 2010.
- [49] Teresa C, Paolo P, Patrizio C. Is it advisable to store olive oil in PET bottles? [J]. *Food Reviews International*, 2009, 25 (4): 271–283.
- [50] Squeo G, Caponio F, Paradiso V M, et al. Evaluation of total phenolic content in virgin olive oil using fluorescence excitation-emission spectroscopy coupled with chemometrics [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2019, 99 (5): 2513–2520.
- [51] MbesseKongbonga Y, Ghalila H, Majdi Y, et al. Investigation of heat-induced degradation of virgin olive oil using front face fluorescence spectroscopy and chemometric analysis [J]. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 2015, 92 (10): 1399–1404.
- [52] Hernández-Sánchez Natalia, Lleó Lourdes, Ammari F, et al. Fast fluorescence spectroscopy methodology to monitor the evolution of extra virgin olive oils under illumination [J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2017, 10 (5): 949–961.
- [53] Tan J, Li R, Jiang Z T, et al. Detection of extra virgin olive oil adulteration with edible oils using front-face fluorescence and visible spectroscopies [J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2018, 95 (5): 535–546.
- [54] Durán I M, Domínguez J M, Airado D R, et al. Detection and quantification of extra virgin olive oil adulteration by means of autofluorescence excitation-emission profiles combined with multi-way classification [J]. *Talanta*, 2018, 178: 751.
- [55] Tan J, Li R, Jiang Z T, et al. Synchronous front-face fluorescence spectroscopy for authentication of the adulteration of edible vegetable oil with refined used frying oil [J]. *Food Chemistry*, 2017, 217: 274–280.
- [56] Azcarate S M, Teglia C M, Karp F, et al. A novel fast quality control strategy for monitoring spoilage on mayonnaise based on modeling second-order front-face fluorescence spectroscopy data [J]. *Microchemical Journal*, 2017, 133: 182–187.
- [57] Zandomenighi M, Carbonaro L, Caffarata C. Fluorescence of vegetable oils; Olive oils [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53 (3): 759.
- [58] 吴希军, 潘钊, 赵彦鹏, 等. 荧光光谱及平行因子分析法在植物油鉴别中的应用 [J]. *光谱学与光谱分析*, 2014, 34 (8): 2137–2142.
- [59] Tan J, Li R, Jiang Z T, et al. Synchronous front-face

fluorescence spectroscopy for authentication of the adulteration of edible vegetable oil with refined used frying oil [J]. Food Chemistry, 2017, 217: 274–280.

[60] Aïtkaddour A, Loudiyi M, Ferlay A, et al. Performance of fluorescence spectroscopy for beef meat authentication: Effect of excitation mode and discriminant algorithms [J]. Meat Science, 2018, 137: 58–66.

[61] Sahar A, Rahman U U, Kondjoyan A, et al. Monitoring of thermal changes in meat by synchronous fluorescence spectroscopy [J]. Journal of Food Engineering, 2016, 168: 160–165.

[62] Aïtkaddour A, Thomas A, Mardon J, et al. Potential of fluorescence spectroscopy to predict fatty acid composition of beef [J]. Meat Science, 2016, 113: 124–131.

[63] Jensen S A, Reenberg S, Munck L. Fluorescence analysis in fish and meat technology [J]. Fluorescence Analysis in Foods, 1989, 61: 181–192.

[64] Veberg A, Olsen E, Nilsen A N, et al. Front – face fluorescence measurement of photosensitizers and lipid oxidation products during the photooxidation of butter [J]. Journal of Dairy Science, 2007, 90(5): 2189–2199.

[65] Durek J, Bolling J S, Knorr D, et al. Effects of different storage conditions on quality related porphyrin fluorescence signatures of pork slices [J]. Meat Science, 2012, 90(1): 252–258.

[66] Karoui R, Hassoun A, Ethuin P. Front face fluorescence spectroscopy enables rapid differentiation of fresh and frozen – thawed sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets [J]. Journal of Food Engineering, 2017, 202: 89–98.

[67] Hassoun A, Karoui R. Monitoring changes in whiting (*Merlangius merlangus*) fillets stored under modified atmosphere packaging by front face fluorescence spectroscopy and instrumental techniques [J]. Food Chemistry, 2016, 200(9): 343–353.

[68] Hassoun A, Karoui R. Front–face fluorescence spectroscopy coupled with chemometric tools for monitoring fish freshness stored under different refrigerated conditions [J]. Food Control, 2015, 54: 240–249.

[69] Hwang B S, Wang J T, Choong Y M. A rapid gas chromatographic method for the determination of histamine in fish and fish products [J]. Food Chemistry, 2003, 82(2): 329–334.

[70] 蔡健荣, 万新民, 陈全胜. 近红外光谱法快速检测猪肉中挥发性盐基氮的含量 [J]. 光学学报, 2009, 29(10): 2808–2812.

[71] Ohashi E, Okamoto M, Ozawa A, et al. Characterization of common squid using several freshness indicators [J]. Journal of Food Science, 2010, 56(1): 161–163.

[72] 周晓丽. 基于 UPLC–Q–Exactive Orbitrap Mass 技术的山羊奶、大豆奶、牛奶的脂质组分析研究 [J]. 中国饲料, 2017(10): 33–38.

[73] Huan L, Wen L, Dong – hai H, et al. Three – dimensional fluorescence fingerprint technique for milk quality evaluation: Antibiotic residual detection and heat – treated evaluation [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2018, 38(5): 1633–1639.

[74] Karoui R, Kamal M. Rennet – induced coagulation of raw and

heated camel and cow milk gels determined by instrumental techniques: effects of added calcium and phosphate [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2017, 97(12): 3948–3957.

[75] Liu J, Zamora A, Castillo M, et al. Using front – face fluorescence spectroscopy for prediction of retinol loss in milk during thermal processing [J]. LWT – Food Science and Technology, 2018, 87: 151–157.

[76] Brandao M P, Neto M G, Anjos V D C D, et al. Detection of adulteration of goat milk powder with bovine milk powder by front – face and time resolved fluorescence [J]. Food Control, 2017, 81(C): 168–172.

[77] Liu H, Liu W, Han D, et al. Detection of the presence of reconstituted milk in raw milk and in pasteurized milk using synchronous fluorescence spectroscopy [J]. Food Analytical Methods, 2017, 10(6): 2078–2084.

[78] Liu H, Han D H, Wang S P. Potentiality of synchronous fluorescence technology for determination of reconstituted milk adulteration in fresh milk [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2014, 34(10): 2685–2689.

[79] Kokawa M, Nishi K, Ashida H, et al. Predicting the heating temperature of soymilk products using fluorescence fingerprints [J]. Food and Bioprocess Technology, 2016, 10(3): 1–7.

[80] Kamal M, Karoui R. Monitoring of mild heat treatment of camel milk by front – face fluorescence spectroscopy [J]. LWT – Food Science and Technology, 2017, 79: 586–593.

[81] Ayala N, Zamora A, González C, et al. Predicting lactulose concentration in heat – treated reconstituted skim milk powder using front – face fluorescence [J]. Food Control, 2017, 73: 110–116.

[82] Zeković I. Classification of intact cereal flours by front – face synchronous fluorescence spectroscopy [J]. Food Analytical Methods, 2012, 5(5): 1205–1213.

[83] Ahmad M H, Nache M, Waffenschmidt S, et al. Characterization of farinographic kneading process for different types of wheat flours using fluorescence spectroscopy and chemometrics [J]. Food Control, 2016, 66: 44–52.

[84] Ahmad M H, Nache M, Waffenschmidt S, et al. A fluorescence spectroscopic approach to predict analytical, rheological and baking parameters of wheat flours using chemometrics [J]. Journal of Food Engineering, 2016, 182: 65–71.

[85] Nhouchi Z, Botosoa E P, Chene C, et al. Potentiality of front – face fluorescence and mid – infrared spectroscopies coupled with partial least square regression to predict lipid oxidation in pound cakes during storage [J]. Food Chemistry, 2019, 275: 322–332.

[86] Włodarska K, Pawlak – Lemańska K, Khmelinskii I, et al. Multivariate curve resolution – alternating least squares analysis of the total synchronous fluorescence spectra: An attempt to identify polyphenols contribution to the emission of apple juices [J]. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 2017, 164: 94–102.

[87] Włodarska K, Pawlak – Lemańska K, Khmelinskii I, et al. Screening of antioxidant properties of the apple juice using the front – face synchronous fluorescence and chemometrics [J]. Food Analytical Methods, 2017, 10(5): 1582–1591.