

激光与光电子学进展

基于三维荧光特征峰的橄榄油品质鉴别研究

丁志群^{1*}, 程培红¹, 赵洪霞¹, 张书芬²¹宁波工程学院电子与信息工程学院, 浙江 宁波 315211;²宁波市食品检验检测研究院, 浙江 宁波 315048

摘要 由于特级初榨橄榄油的国家标准中各项理化指标检测需要昂贵的理化分析仪器及相关专业人才,使得橄榄油市场的监管力度受到严重制约。为此,通过采集特级初榨橄榄油、精炼橄榄油及其他品种食用植物油的三维荧光光谱,提取它们各自的特征荧光峰,建立基于三维荧光特征峰区域积分比值的橄榄油品质分析算法。然后,对四个不同品牌特级初榨橄榄油、精炼橄榄油及特级初榨橄榄油掺杂体积分数 10%~50% 精炼油的混合油样测试,得到橄榄油品质因子动态范围为 37 dB,能够有效鉴别不同比例掺杂样品、品牌特级初榨橄榄油和伪劣特级初榨橄榄油,实验结果表明,其敏感性和特异性远优于样品的三个传统理化指标。此荧光分析法所需的荧光光谱数据量小,可以为实现橄榄油品质的低成本、快速鉴定提供新的理论依据。

关键词 光谱学; 荧光光谱; 特征峰提取; 特征峰区域积分比; 橄榄油品质分析

中图分类号 O433.4

文献标志码 A

DOI: 10.3788/LOP202259.1730003

Quality Identification of Olive Oil Based on Three-Dimensional Fluorescence Characteristic Peak

Ding Zhiquan^{1*}, Cheng Peihong¹, Zhao Hongxia¹, Zhang Shufen²¹School of Electronic and Information Engineering, Ningbo University of Technology, Ningbo 315211, Zhejiang, China;²Ningbo Food Inspection and Testing Research Institute, Ningbo 315048, Zhejiang, China

Abstract Detection of various physical and chemical indicators in the national standard of extra virgin olive oil necessitates the use of expensive physical and chemical analysis instruments and related professionals, which limits the supervision of olive oil market. In this study, a novel olive oil quality analysis algorithm based on the regional integral ratio of the three-dimensional fluorescence characteristic peaks is proposed, in which the characteristic fluorescence peaks of extra virgin olive oil, refined olive oil, and other edible vegetable oil are extracted using their three-dimensional fluorescence spectra. Ten samples were prepared, including four brands of extra virgin olive oils, refined olive oil, and adulterated olive oils, which are extra virgin olive oil doped with 10%-50% refined oil. The quality factor's dynamic range for olive oil is 37 dB. It can also effectively identify various proportions of doped samples, brand extra virgin olive oil, and fake extra virgin olive oil. The experimental results show that the quality factor of the proposed analysis algorithm outperforms the samples' three traditional physical and chemical indicators. Since the approach requires less fluorescence spectroscopy data than other fluorescence approaches, it can provide a new theoretical basis for the low-cost and rapid identification instrument of olive oil quality.

Key words spectroscopy; fluorescence spectrum; characteristic peak extracted; characteristic peak range integral ratio; quality analysis of olive oil

1 引言

橄榄油产品全球消费数量巨大,然而由于传统的橄榄油指标检测需要各种进口大型生化仪器和相关专

业人才,只有少数有资质的食品检测中心才有能力完成相关检测,严重地制约了对橄榄油市场的监管力度。各种不同品质的橄榄油贴上特级初榨橄榄油的标签在市场上销售,严重侵害消费者利益。

收稿日期: 2021-12-27; 修回日期: 2022-01-10; 录用日期: 2022-01-12

基金项目: 浙江省基础公益研究计划项目(LGC19F050001)、大气环境污染监测先进技术与装备国家工程实验室开放基金课题(2005DP170365-2019-02)

通信作者: *dingzq0522@163.com

橄榄油品质检测方法除了传统的气相色谱法、电导率法和质谱法外,将光谱检测技术与化学计量学分析相结合是国内外研究的趋势^[1],它具有速度快、不需要对样品预处理等特点。欧美国家最先开展了橄榄油品质或掺杂的各种光谱检测方法研究,如傅里叶变换红外光谱法^[2]、拉曼光谱技术^[3]、同步荧光光谱法^[4-5]、核磁共振光谱法^[6]等。我国相关研究虽起步晚,但在研究方法上已有所创新,如利用太赫兹光谱技术^[7]、布里渊散射及紫外可见吸收光谱法^[8]、激光诱导荧光技术^[9]、三维荧光光谱法^[10]等。虽然橄榄油掺杂和橄榄油品质鉴别在国外已有十多年的研究历史,但橄榄油品质的定量分析依然是世界难题。另外,现有的光谱法检测很多要依靠高端进口光谱仪获取数据再进行化学计量学分析,距离低成本实现橄榄油品质检测的定量鉴别还有相当距离^[11]。因此,为满足当前橄榄油的品质检测社会需求,迫切需要研究一种可以快速、低成本、无试剂添加的橄榄油品质鉴定方法。

物质的三维荧光光谱具有丰富的指纹特征,其激发-发射荧光光谱矩阵包含大量数据信息,且检测灵敏度极高,被广泛应用于细胞鉴定、水质污染分析、农药残留等^[12-13]。本研究提出一种橄榄油荧光光谱检测法,在特级初榨橄榄油、精炼橄榄油及其他品种食用油的三维荧光光谱中提取与橄榄油品质密切相关的若干三维特征荧光峰,通过对三维荧光特征峰进行光谱积分算法分析,得到一个与橄榄油品质相关的常数,称为品质因子,该研究可以为橄榄油品质的快速鉴定提供依据。

2 基本原理及实验

2.1 三维荧光光谱原理

三维荧光光谱是荧光发射强度、激发波长、发射波长的三维矩阵光谱(EEM),它的纵坐标Z轴为物质发射的荧光强度计数单位 I_{EM} ,Y轴为激发单色光波长 λ_{ex} ,X轴为发射荧光单色光波长 λ_{em} 。

$$I_{EM} = \sum_{i=1}^n \alpha_i \times b_i(\lambda_{ex}) \times c_i(\lambda_{em}) \quad (1)$$

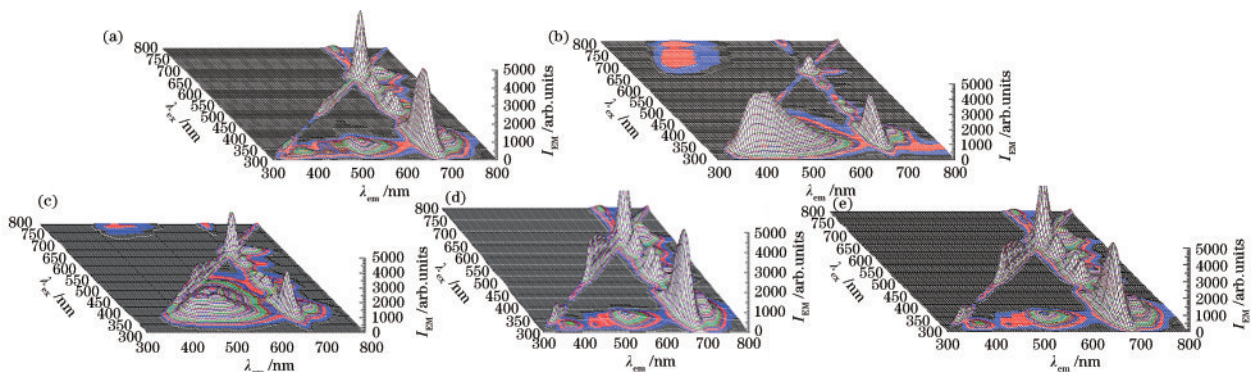


图2 四种橄榄油的三维荧光光谱。(a)(d)(e)品牌A、C、D特级初榨橄榄油;(b)品牌A精炼橄榄油;(c)品牌B特级初榨橄榄油
Fig. 2 Three-dimensional fluorescence spectra of four olive oils. (a) (d) (e) Extra virgin olive oil of brand A, C, and D; (b) refined olive oil of brand A; (c) extra virgin olive oil of brand B

三维荧光光谱获取系统结构如图1所示,氙灯光源经狭缝到激发单色仪分光,单色光打在样品池上,在入射光的90°夹角方向接收油样发射荧光,再经狭缝到发射单色仪分光,荧光分离的单色光由光电倍增管(PMT)接收,离散的光谱数据经数据采集与处理后形成连续的三维荧光光谱^[11,14]。三维荧光光谱表征的是随激发光波长改变而得到的荧光发射光谱的集合,可用三维立体图或平面等高线图的形式显示。由于样品成分中的细微差别都会在其三维荧光光谱中体现,通常通过荧光峰的位置、荧光强度、主峰陡度以及走向角等特征参数来对样品进行识别。

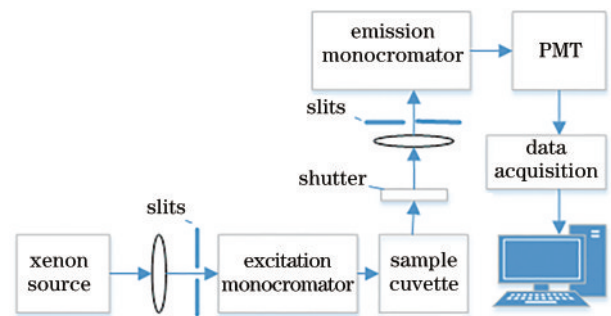


图1 三维荧光光谱获取系统结构示意图

Fig. 1 Schematic diagram of three-dimensional fluorescence spectrum acquisition system

2.2 橄榄油样品的三维荧光光谱获取

利用日立F7000荧光光度计采集了不同等级橄榄油的三维荧光光谱,实验测试条件如下:石英样品池宽度为10 mm,激发狭缝长度5 nm,发射狭缝长度5 nm,激发波长范围为300~800 nm,荧光发射波长为300~800 nm,激发间隔和发射间隔均为5 nm,扫描速率为12000 nm/min,光电倍增管高压为400 V,积分形式选择为矩形积分法。

从超市购得四种品牌特级初榨橄榄油和精炼橄榄油,利用F7000荧光分光光度计测得上述样品的三维荧光光谱。采集特级初榨橄榄油(品牌A)和同一品牌的精炼橄榄油三维荧光光谱分别如图2(a)、(b)所示。

由图 2 可知,特级初榨橄榄油和精炼橄榄油的荧光特征峰在 400~500 nm 波段有差异明显。品牌 A、C、D 的特级初榨橄榄油的三维荧光光谱如图 2(a)、(d)、(e) 所示,具有共性。图 2(c) 是不知名品牌 B 特级初榨橄榄油荧光光谱,其荧光光谱与图 2(a)、(d)、(e) 所示的品牌 A、C、D 特级初榨橄榄油的荧光光谱明显不同,和图 2(b) 精炼橄榄油相似,在蓝光部分有较高的荧光峰,有掺杂一定比例精炼橄榄油的可能(该样品采购时价格远低于其他同级别的特级初榨橄榄油)。

特级初榨橄榄油与精炼橄榄油具有不同的三维荧光峰,主要由于精炼橄榄油需要进行多道化学加工工艺,如碱炼、高温脱色、脱臭等处理,同时会使橄榄油中一些微量营养物质丢失,活性物质分解、氧化、环化,从而在蓝光波段产生荧光^[15]。根据潘钊等^[16-18]的研究成果可知,特级初榨橄榄油与其他常用植物油如花生油、玉米油、大豆油等其他常见食用植物油的三维荧光光谱和橄榄油也有显著区别。特级初榨橄榄油在 400~500 nm 短波段基本没有荧光峰,而在 680 nm 处有较强的荧光特征峰^[9-10]。因此:充分挖掘特级初榨橄榄油三维荧光光谱与其他常见食用植物油三维荧光光谱的差异,提取精炼橄榄油特有的荧光峰,将荧光发射波长 400~450 nm 范围作为第一特征荧光峰;提取其他常用食用植物油的荧光峰所在位置,将发射波长 500~520 nm 作为第二特征荧光峰;特级初榨橄榄油特有的最强荧光特征峰在 680 nm 附近,主要由橄榄中特有的生育酚、叶绿素等贡献,将其作为第三特征荧光峰。

不同激发波长激发的荧光通量可用积分获得,表示为

$$\phi_T = \int_{\lambda_i}^{\lambda_j} \phi_\lambda d\lambda, \quad (2)$$

表 1 橄榄油样品的传统理化指标

Table 1 Traditional detection index of olive oil samples

Sample number	Acid value / (mg/g)	Peroxide number / [g/(100 g)]	Trans fatty acids / [g/(100 g)]	Remark
1#	0.50	0.190	0.0360	Brand A, extra-virgin olive oil
2#	0.05	0.048	0.0565	Brand A, refining olive oil
3#	0.37	0.048	0.1980	Brand B, extra-virgin olive oil
4#	0.39	0.073	0.0269	Brand C, extra-virgin olive oil
5#	0.54	0.110	0.0315	Brand D, extra-virgin olive oil
6#	0.42	0.110	0.0386	Brand A, EVOO (90%) + FV (10%)
7#	0.34	0.110	0.0403	Brand A, EVOO (80%) + FV (20%)
8#	0.34	0.100	0.0459	Brand A, EVOO (70%) + FV (30%)
9#	0.25	0.110	0.0472	Brand A, EVOO (60%) + FV (40%)
10#	0.21	0.087	0.0510	Brand A, EVOO (50%) + FV (50%)

式中: ϕ_T 为总的荧光辐射通量,它是从 $i \sim j$ 波长范围内单一波长荧光辐射通量对波长的积分。

从实验仪器中获取的实际是离散的三维荧光光谱,因此用求和的形式表达荧光辐射通量的积分,表示为

$$I_{EM} = \sum_{\lambda=1}^j dEx_\lambda = dEx_i + dEx_{(i+1)} + \dots + dEx_j, \quad (3)$$

式中: I_{EM} 为荧光发射强度,它是所设激发波长范围内所有波长激发出的此波长荧光强度的叠加。将初榨橄榄油的荧光特征峰积分求和作为分子;将精炼橄榄油的第一特征荧光峰波长范围 $\lambda_h \sim \lambda_i$ 荧光特征峰区域积分与其他常用植物油的荧光峰波长范围 $\lambda_j \sim \lambda_k$ 的荧光峰的区域积分值之和作为分母。得到橄榄油油样的区域荧光峰积分比值,作为判定橄榄油品质的参数——橄榄油品质因子 N , 表示为

$$N = \frac{\sum_{\lambda_i}^{\lambda_m} \phi_\lambda}{\sum_{\lambda_a}^{\lambda_b} \phi_\lambda + \sum_{\lambda_j}^{\lambda_k} \phi_\lambda}. \quad (4)$$

2.3 橄榄油样品制备及数据

超市采购的四种不同品牌的特级初榨橄榄油和一种精炼橄榄油,以及在特级初榨橄榄油中掺杂体积分数分别为 10%、20%、30%、40%、50% 的精炼橄榄油的混合橄榄油,共得到十个样品,不需添加任何化学添加剂,直接进行三个传统理化指标的检测和三维荧光光谱特征峰提取。检测油样的酸价、过氧化值、反式脂肪酸等传统理化指标如表 1 所示,油样的三维荧光特征峰提取数据如表 2 所示。表中,EVOO 代表 A 品牌的特级初榨橄榄油,FV 代表 A 品牌的精炼橄榄油。

表 2 橄榄油样品的三维荧光特征峰计数值

Table 2 Three-dimensional fluorescence characteristic peaks of olive oil samples

Sample number	Integrate value of fluorescence characteristic peak 1		Integrate value of fluorescence characteristic peak 2		Integrate value of fluorescence characteristic peak 3	
	Start	End	Start	End	Start	End
	400 nm	450 nm	500 nm	520 nm	679 nm	681 nm
1#	94	176	373	542	2278	2217
2#	3220	2722	1422	1086	607	566
3#	245	551	460	431	268	254
4#	27	57	159	338	2691	2747
5#	260	408	670	788	1502	1425
6#	143	175	362	556	2188	2128
7#	241	250	417	588	2050	1984
8#	467	468	570	697	2433	2443
9#	805	689	706	798	1788	1709
10#	888	751	726	792	1663	1586

3 分析与讨论

从表 1 的理化指标可以看出,所有油样的酸价指标都满足 GB 23347—2009 中特级初榨橄榄油的标准:游离脂肪酸含量不超过 0.8 mg/100 g,即酸价(KOH)小于 1.6 mg/g。而在表 1 中从酸价、过氧化值、反式脂肪酸三个传统理化指标上,无法区分橄榄油掺杂了多少比例精炼橄榄油,因为不同掺杂比例油样的酸价或氧化值相同。

根据表 2 三维荧光特征峰数据,按照式(4)计算出的橄榄油品质因子 N 如表 3 所示。由表 1 和表 3 数据绘制的曲线如图 3 所示。7 个数据油样中精炼橄榄油的体积分数分别为 100%、50%、40%、30%、20%、10%、0。圆点、正三角、倒三角分别代表当前橄榄油国家标准中传统的三个橄榄油等级判定指标酸价、过氧化值和反式脂肪酸,靠近横轴的三条线中,掺杂体积分数 10% 和 50% 精炼橄榄油的数据相差不大,有些值甚至完全相同,因此对特级初榨橄榄油、精炼橄榄油及二者混合的掺杂橄榄油样的区分度和特异性不强,如掺杂体积分数 20% 和 30% 的精炼橄榄油的酸价一样,无法有效鉴别橄榄油品质。

表 3 中通过获取的三个特征荧光峰数据计算得到精炼橄榄油的 N 值为 0.13,同品牌特级初榨橄榄油的

表 3 橄榄油样品的品质因子 N Table 3 Quality factors N of olive oil samples

Sample number	N	Remark
1#	3.80	Brand A, extra-virgin olive oil
2#	0.13	Brand A, refining olive oil
6#	3.49	Brand A, EVOO (90%) + FV (10%)
7#	2.69	Brand A, EVOO (80%) + FV (20%)
8#	2.14	Brand A, EVOO (70%) + FV (30%)
9#	1.56	Brand A, EVOO (60%) + FV (40%)
10#	1.02	Brand A, EVOO (50%) + FV (50%)

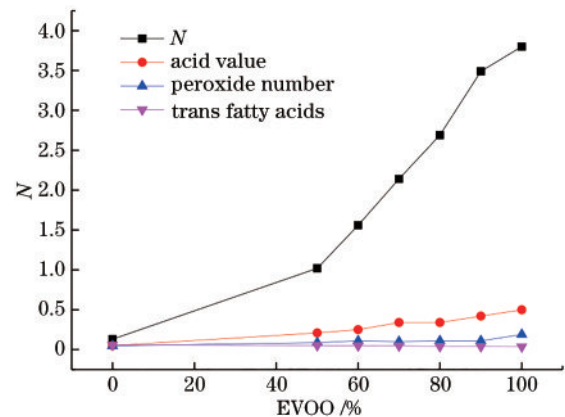


图 3 特级初榨橄榄油、精炼橄榄油及其掺杂橄榄油的品质因子

Fig. 3 Quality factors of extra virgin olive oil, refined olive oil, and their adulterated olive oil

N 值为 3.80,特级初榨橄榄油掺杂体积分数 10%~50% 精炼橄榄油油样的 N 值也有显著变化,且与掺杂比例呈负相关特性。3#样品即品牌 B 特级初榨橄榄油计算的 N 值只有 0.21,远小其他三个品牌的 N 值,和精炼橄榄油的 N 值接近,符合之前的判断。品牌 C 特级初榨橄榄油的 N 值为 9.52,优于品牌 A,也与其在四种特级初榨橄榄中的最高售价匹配。计算可得橄榄油品质因子动态范围为 37 dB。

4 结论

本文通过研究品牌特级初榨橄榄油、精炼橄榄油及其他常见食用油的三维荧光光谱,提取一种全新的橄榄油品质荧光光谱分析算法,即利用三个荧光特征峰的荧光峰区域积分比值作为橄榄油的品质因子。通过不同特级初榨橄榄油和掺杂样品的实验结果证明,橄榄油品质因子值可以线性拟合定量分析掺杂比例,也可以鉴别特级初榨橄榄油品质的高低,与橄榄油品质呈正相关。该荧光分析方法应用的宽波段荧光积分

数据,既可以避免单一荧光峰波动带来的计算误差,也方便今后简化荧光采集光学系统,为研发造价相对低的橄榄油品质检测光学仪器提供理论依据。为进一步验证和优化该荧光积分比值定量分析算法,还有很多深入研究工作等待完成。

参 考 文 献

- [1] 俞玥, 宋嘉慧, 鲁玉杰, 等. 食用植物油掺伪鉴别技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(13): 5153-5161.
Yu Y, Song J H, Lu Y J, et al. A review of the determination methods of edible vegetable oils adulteration [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(13): 5153-5161.
- [2] Dong X B, Li Q H, Sun D J, et al. Direct FTIR analysis of free fatty acids in edible oils using disposable polyethylene films[J]. Food Analytical Methods, 2015, 8(4): 857-863.
- [3] Mendes T O, Rocha R A, Porto B L S, et al. Quantification of extra-virgin olive oil adulteration with soybean oil: a comparative study of NIR, MIR, and Raman spectroscopy associated with chemometric approaches [J]. Food Analytical Methods, 2015, 8(9): 2339-2346.
- [4] Kongbonga Y M, 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.
- [5] Hernández-Sánchez N, Lleó L, 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.
- [6] Ravaglia L M, Pizzotti A B C, Alcantara G B. NMR-based and chemometric approaches applicable to adulteration studies for assessment of the botanical origin of edible oils[J]. Journal of Food Science and Technology, 2019, 56(1): 507-511.
- [7] 余俊杰. 基于太赫兹光谱技术的橄榄油品质快速检测方法的研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2018: 1-2.
Yu J J. Study on rapid detection of olive oil quality based on terahertz spectroscopy[D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2018: 1-2.
- [8] 曹晨鹏, 郝仕国, 罗宁宁, 等. 基于受激布里渊散射及紫外-可见吸收光谱的橄榄油等级鉴别与分析[J]. 中国激光, 2018, 45(9): 0903002.
Cao C P, Hao S G, Luo N N, et al. Authentication and analysis of olive oil based on stimulated Brillouin scattering and UV-visible absorption spectrum[J]. Chinese Journal of Lasers, 2018, 45(9): 0903002.
- [9] 李婷, 陈思颖, 张寅超, 等. 激光诱导荧光初榨橄榄油掺杂定量分析[J]. 光谱学与光谱分析, 2018, 38(S1): 285-286.
Li T, Chen S Y, Zhang Y C, et al. Quantification of adulterated extra virgin olive oil using laser induced fluorescence[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2018, 38(S1): 285-286.
- [10] 丁志群, 王金霞, 赵洪霞, 等. 基于三维荧光光谱技术的食用油快速分析研究[J]. 光子学报, 2015, 44(6): 0630004.
Ding Z Q, Wang J X, Zhao H X, et al. Rapid analysing edible oil using three dimensional fluorescence spectroscopy [J]. Acta Photonica Sinica, 2015, 44(6): 0630004.
- [11] 李新会. 基于化学计量学和 FT-IR、GC-MS 技术的食用油品质分析[D]. 郑州: 郑州大学, 2016: 5-10.
Li X H. Quality analysis of edible olive oil by chemometrics methods and FT-IR, GC-MS[D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2016: 5-10.
- [12] 宋晓康, 赵强, 张元志, 等. 利用三维荧光光谱与平行因子分析法测定细胞培养基中多类代谢成分的含量[J]. 中国激光, 2022, 49(9): 0911001.
Song X K, Zhao Q, Zhang Y Z, et al. Utilizing three dimensional fluorescence spectra and parallel factor analysis algorithm to quantify the concentration of multiple metabolic fluorophores in the cell culture medium[J]. Chinese Journal of Lasers, 2022, 49(9): 0911001.
- [13] 王翔, 殷高方, 赵南京, 等. 荧光动力学法藻类初级生产力测量中光合尺寸单元校正方法研究[J]. 光学学报, 2021, 41(17): 1726002.
Wang X, Yin G F, Zhao N J, et al. Correction method of photosynthetic size unit in algae primary-productivity measurement using fluorescence kinetics[J]. Acta Optica Sinica, 2021, 41(17): 1726002.
- [14] 陈仲锴, 厉小润, 赵辽英. 基于高光谱数据波段选择的茅洲河悬浮物浓度反演[J]. 激光与光电子学进展, 2021, 58(20): 2001001.
Chen Z K, Li X R, Zhao L Y. Inversion of suspended particulate matter concentration in Maozhou River based on band selection of hyperspectral data[J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2021, 58(20): 2001001.
- [15] 张咏, 程瑶, 闫雨桐, 等. 几种常见食用油加热后荧光光谱特性变化的研究[J]. 激光技术, 2013, 37(1): 109-113.
Zhang Y, Cheng Y, Yan Y T, et al. Study on characteristics of fluorescent spectra of several kinds of heated common edible oil[J]. Laser Technology, 2013, 37(1): 109-113.
- [16] 潘钊, 崔耀耀, 吴希军, 等. 三维荧光光谱结合 Tchebichef 矩快速鉴别掺伪芝麻油[J]. 发光学报, 2018, 39(4): 568-572.
Pan Z, Cui Y Y, Wu X J, et al. 3D fluorescence spectra combined with Tchebichef moments for rapid identification of doping sesame oil[J]. Chinese Journal of Luminescence, 2018, 39(4): 568-572.
- [17] 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.
Huang X L, Huang F, Chen J C, et al. Fluorescence spectrum analysis of 8 kinds of edible vegetable oil[J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(14): 64-67, 72.
- [18] 卢先勇, 何文绚, 陈昊聪, 等. 基于植物油三维荧光光谱的茶油鉴定模型[J]. 光谱学与光谱分析, 2020, 40(12): 3854-3859.
Lu X Y, He W X, Chen H C, et al. Identification model of camellia oil based on 3D fluorescence spectra of vegetable oils[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2020, 40(12): 3854-3859.