



近红外光谱 快速检测淀粉 品质

孙晓荣 著

 吉林大学出版社
JILIN UNIVERSITY PRESS

第一章 绪 论

1.1 近红外光谱技术的发展历程

近红外光谱技术（Near infrared Spectroscopy，缩写为 NIR）是一种高效快速的现代分析技术，它综合运用了计算机技术、光谱技术和化学计量学等多个学科的最新研究成果，以其独特的优势在多个领域得到了日益广泛的应用，并已逐渐得到大众的普遍接受和官方的认可。

近红外区域按 ASTM 定义是指波长在 780 ~ 2 526nm 范围内的电磁波，是人们最早发现的非可见光区域，距今已有近 200 年的历史。20 世纪初，人们采用摄谱的方法首次获得了有机化合物的近红外光谱，并对有关基团的光谱特征进行了解释，预示着近红外光谱有可能作为分析技术的一种手段得到应用。由于缺乏仪器基础，20 世纪 50 年代以前，近红外光谱的研究只限于为数不多的几个实验室中，且没有得到实际应用。50 年代中后期，随着简易型近红外光谱仪器的出现及 Norris 等在近红外光谱漫反射技术上所

做的大量工作，掀起了近红外光谱应用的一个小高潮，近红外光谱在测定农副产品（包括谷物、饲料、水果、蔬菜、肉、蛋、奶等）的品质（如水分、蛋白、油脂含量等）方面得到广泛使用。这些应用都基于传统的光谱定量方法，当样品的背景、颗粒度、基体等发生变化时，测量结果往往产生较大的误差。进入 60 年代中后期，随着中红外光谱技术的发展及其在化合物结构表征中所起的巨大作用，使人们淡漠了近红外光谱在分析测试中的应用。在此后约 20 年的时间里，除在农副产品领域的传统应用之外，近红外光谱技术几乎处于徘徊不前的状态，以致被人们称为光谱技术中的沉睡者。^[1]

进入 20 世纪 80 年代后期，近红外光谱才真正为人们所注意，这在很大程度上应归功于化学计量学的应用，再加上过去中红外光谱技术积累的经验，使近红外光谱分析技术得到迅速推广。90 年代国际匹茨堡会议与我国的 BCE-IA (Beijing Conference and Exhibition on Instrumental Analysis) 等重要分析专业会议均先后把近红外光谱分析与紫外、红外光谱分析等技术并列，作为一种独立的分析方法。2000 年 PITTCON 会议上近红外光谱方法是所有光谱法中最受重视的一类方法，这种分析方法已经成为 ICC (International Association for Cereal Science and Technology 国际谷物科技协会)、AOAC (American Association of Official Analytical Chemists 美国公职化学家协会)、AACC (American Association of Cereal Chemists 美国谷物化学家协会) 等行业协会

的标准。各发达国家药典如 USP (United States Pharmacopoeia 美国药典) 均收入了近红外光谱方法。我国 2005 年版的药典也将该方法收入。在应用方面近红外光谱分析技术已扩展到石油化工、医药、生物化学、烟草、纺织品等领域。发达国家已经将近红外方法作为质量控制、品质分析和在线分析等快速、无损分析的主要手段。

我国对近红外光谱技术的研究及应用起步较晚, 上世纪 70 年代开始, 进行了近红外光谱分析的基础与应用研究, 到了 90 年代, 石化、农业、烟草等领域开始大量应用近红外光谱分析技术, 但主要是依靠国外大型分析仪器生产商的进口仪器。目前国内能够提供完整近红外光谱分析技术(近红外光谱分析仪器、化学计量学软件、应用模型的研发)的公司正处于发展阶段。由于我国经济的快速发展, 持续发展型经济与建立节约型社会方针的确定与贯彻我国生产、科研、教学领域和市场对产品的检测与控制要求迫切, 按照国际经验, 近红外光谱分析技术将是一种首选技术。随着国产近红外光谱仪的研制和生产, 近红外光谱分析技术在分析界必将为更多的人所认识和接受, 会在越来越多的领域被广泛应用。

1.2 近红外技术在食品安全检测方面的应用

国外对近红外光谱快速检测技术的研究起步较早, 检测对象的涵盖面比较广, 在食品安全检测方面的应用尤其

突出。O. Marvik (1997 年)^[2] 和 Takahashi 等人 (1996 年)^[3] 通过近红外光谱漫反射方法, 将测定探头直接安装在粮食的谷物传送带上, 检验种子或作物的质量, 如水分、蛋白质及小麦硬度等; E. Johnsen (1997 年)^[4] 将近红外光谱技术用于作物及饲料中的油脂、氨基酸、糖分、灰糰等含量的测定以及谷物中污染物的测定; Iben 等人 (1998 年)^[5] 采用近红外光谱技术快速检测了冰冻鲑鱼的二甲胺、甲醛等品质参数, 并取得良好预测效果; Thomas Rohe (1999 年)^[6] 应用近红外光谱快速检测方法对食品生产的条件, 如湿度、聚合条件、反应条件对产品品质的影响作出了评定, 为及时调整反应条件, 控制产品质量提供了依据; Ze'ev Schmilovitch 等人 (2000 年)^[7] 运用近红外技术成功测定新鲜的粗牛奶中的脂肪, 给近红外光谱技术快速测量其他流质组分提供了依据; Jeroen Lammertyn 等人 (2000 年)^[8] 应用近红外光谱技术对水果非破坏性的品质进行了快速检测, 其中对可溶性固形物含量的预测效果十分理想; B. Steuer 等人 (2001 年)^[9] 用近红外光谱技术对柚子、橙、中国柑桔、柠檬、酸橙中的一种十分有价值的成分——桔油, 进行了快速测定并且与传统测定方法进行了对比; X. Otte 等人 (2002 年)^[10] 将乳酪溶解在氯仿-乙腈 (1:1), 运用傅立叶转换近红外仪测定乳酪中尿素含量, 达到了预期效果; Hans Büning-Pfaue (2003 年)^[11] 应用近红外光谱快速检测出农业及食品原料中的水分, 证明了这种快速检测方法对于成品以及生产的在线控制同样适用, 并指出水

峰出现在波长 1 440 和 1 930nm 附近, 研究还发现样品中的氢键及测定温度对光谱均有影响; Dolores 等人 (2004 年)^[12] 针对不同动物的配合饲料玉米、甜菜根等分为地上和地下的原料的化学组分用近红外光谱技术进行了快速测定并加以区分; A. H. Hoving - Bolink (2005 年)^[13] 对新鲜屠宰的猪肉采用近红外快速检测水分流失、色泽变化、嫩度以及肌肉脂肪含量, 在屠宰终端线上, 除对水分流失的预测不是很理想外, 其他几项指标均得到较好的结果, 并且对近红外快速检测在此方面的应用作出了展望; D. K. Lovett 等人 (2005 年)^[14] 用近红外光谱技术对玉米青贮饲料原料营养价值的生物参数, 如粉碎粒度、烘干温度、残留水分进行了快速检测, 得到了理想的效果。

国内对近红外光谱快速检测技术的研究起步较晚, 检测对象也显得比较单一, 但随着近红外光谱技术优越性的日益体现, 近红外光谱快速检测方法正在得到越来越多的重视及应用。史月华等 (2000 年)^[15] 应用近红外光谱法对维生素 E 进行了定量分析, 取得了很好的预测效果; 王东丹, 李天飞等 (2001 年)^[16] 应用傅立叶变换近红外漫反射光谱仪, 对 300 个烟草样品建立了近红外光谱与总糖、还原糖、尼古丁、总氯 4 种主要成分含量间的关系模型, 其各成分近红外预测值与实测值之间的平均相对误差均小于 5%, 结果证明近红外光谱分析技术可初步用于烟草常规化学成分的快速定量分析; 于丽燕等 (2001 年)^[17] 探讨了用近红外光谱透射法快速检测酱油中总酸、氨基酸态氮和全

氮 3 种组分的可行性, 结果表明近红外光谱法可以满足酱油生产中理化指标所要求达到的测定精度; 陈文杰, 谭小力等 (2002 年)^[18] 利用傅立叶变换近红外光谱仪漫反射技术对完整油菜种子中的 6 种脂肪酸、硫甙、总氮、含油量 9 种指标进行非破坏性测定分析研究, 利用内部交叉法进行验证, 结果表明利用该技术能够满足油菜品质育种中对品种的快速筛选; 甘莉, 孙秀丽等 (2003 年)^[19] 用近红外光谱分析了油菜品质; 刘燕德, 应义斌 (2004 年)^[20] 用近红外漫反射光谱法找出苹果内部糖度定量分析的两类吸收峰, 从而为水果内部品质的在线检测提供新思路; 白琪林, 陈绍江等 (2004 年)^[21] 应用近红外光谱技术在国内首次建立了适合不同品种类型、不同生长发育时期和不同部位且适配范围广的近红外漫反射光谱测定玉米秸秆中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维含量的稳定校正模型, 对青贮玉米秸秆材料快速鉴定和筛选具有重要的意义; 芦永军等 (2005 年)^[22] 采用近红外光谱分析技术对茶多酚中儿茶素进行了光谱分析, 结果表明该技术能够解析出儿茶素中各主要基团在近红外波段的吸收特性, 并且结合定标过程定量快速检测总儿茶素在茶多酚中的含量, 分析结果给出了较高的精度; 张洪江, 吴金红等 (2005 年)^[23] 运用近红外光谱快速分析技术, 使用偏最小二乘法建立了近红外光谱和水稻糙米直链淀粉含量的数学模型, 并进行糙米直链淀粉含量预测, 结果表明该方法在不破坏样品的前提下快速分析水稻直链淀粉含量, 可用于稻种资源的快速鉴定, 对于水稻

优质育种及其相关研究具有重要意义。

1.3 近红外光谱分析技术的特点

在短短的 10 年内近红外光谱分析技术在很多领域得到广泛的应用，主要因为其有如下几个方面的优越性。

(1) 分析速度快，分析效率高

近红外光谱采集时间大约为 2s，其后的数据处理等工作都是通过计算机完成，这样，在日常的分析中，5min 内即可得到有效的数据表征样品的某些特性。通过一张光谱，便可测得样品的各种成分和物理化学性质。

(2) 非破坏性分析，不污染环境

样品分析过程不用进行前期处理，不必做任何形态的改变。近红外光谱的取得是通过漫反射方式，这样从外观到内部都不会对样品造成损伤。对样品本身无消耗，不使用任何化学试剂，这样，样品仍可送回生产线，且不会对环境造成任何污染，属于“绿色分析”技术。

(3) 成本低，操作方便

近红外光谱检测所用的光学材料为石英或玻璃，较紫外光和中红外光检测，其仪器价格偏低。可采用不同形状的探头直接对液态样品检测，并且有更加先进的数据处理软件，便于操作者使用，具有较高的自动化程度。

(4) 测试重现性好

由于光谱测量较为稳定，受到人为干扰相对较小，其

测试的重现性就比较好。

(5) 便于在线分析

由于近红外光谱在光纤介质中具有很好的传输特性，可通过光纤实现远距离检测，即使客观环境危险、恶劣，也不会影响近红外检测。

当然，伴随着以上优点，近红外光谱分析技术也存在着如下的不足：

(1) 近红外光谱分析测试的灵敏度相对较低，这主要是因为近红外光谱作为分子振动的非谐振吸收跃迁几率较低，一般近红外倍频和合频谱带强度是其基频吸收的十万分之一。所以对组分的分析而言，其含量一般应大于0.1%才适合采用近红外光谱分析技术。当然这个数值并不是理论限值，随着近红外分析技术的不断发展，相信它的最小检出限还将会有所突破。

(2) 近红外光谱分析技术属于一种间接分析技术，且前期投入较多。因为需要选取大量代表性样品进行化学分析，提供其组分或性质的已知数据来建立和维护模型，所以需要较多的化学分析知识、分析费用和时间。另外，近红外光谱分析结果的准确性与定标模型建立的质量和模型的合理使用有很大关系。

(3) 由于分析必须要依赖模型，所以近红外光谱分析技术不适合作为样品和所测项目经常变化的分散性样品检测的手段。

1.4 近红外光谱分析技术的研究展望

现代近红外光谱分析经过约半个世纪的发展，在理论和技术上已经趋于成熟；但应当指出，近红外方法虽然具有应用广泛、操作简便的优点，但对于还没有建立数学模型，或难以建立数学模型的一些样品，目前还不能用近红外法测定。近红外化学计量方法是通过数学模型来预测未知样品的，由于种种复杂背景的变化，测量方法、测量条件的影响，近红外法不能保证预测的每一个样品达到相同高的准确度，测定结果只能用统计方法给出测定结果的置信度，只能达到一定的准确率。对于广大的近红外光谱分析技术用户，建立优秀的数学模型有时有一定困难，影响了该技术的广泛应用。当前近红外技术需要借助于光学技术、计算机技术（硬件技术、算法、软件技术、网络技术等）与电子技术等当代技术的发展，继续改进软硬件技术，特别应侧重在应用领域的开拓，解决应用中的各种问题。

(1) 在降低近红外光谱分析的技术难度上加大研究力度

近红外光谱分析建模过程，对一般使用人员有相当大的困难，为了使该技术成为一项“大众化”的分析手段，应当注意研究降低近红外分析技术的使用难度，特别要以软件技术和网络技术为依托，建立、优化、维护、使用数学模型，发展免建模型的专用仪器以及运用网络技术的近

红外光谱仪器，发展新的算法，发展智能化软件。

(2) 研究和发展近红外图像分析技术

传统的光谱分析只能得到分析对象空间各点的平均光谱，从而得到对象空间平均的结构与组成，因此通常只能用于均匀物质的分析，但是物体特别是生物体的各种复杂功能主要还是决定于空间各个层次的结构。例如细胞与组织的功能决定于空间微米和亚微米尺度的空间结构；又如，遥感技术要得到地面各点的结构特征，就不能只依靠平均光谱。近年来发展的图像分析可以得到空间分布的信息，但只是形象的信息，不能得到结构和组成的信息。需要把光谱技术和图像技术结合在一起，得到光谱图像即物体空间各个点的光谱，运用化学计量学方法通过对空间各个点的光谱分析，就能得到对象各点的结构和组成信息。由于近红外与中红外谱区信息量丰富，这些谱区的光谱图像技术必将对许多领域，特别是生物学与遥感技术的研究产生重大影响。品质分析从实验室的湿化学分析发展到近红外无损分析，使分析效率提高了一个到几个数量级。如果进一步在田间作物收割前用近红外品质分析遥感技术直接分析作物的品质，还可以使分析效率再提高几个数量级。从光谱图像中提取空间信息目前还缺少有效的算法，为此还需要发展空间化学计量学。

(3) 研究和发展近红外过程分析技术

产品质量的保证必须从生产的全过程实现质量的监控，国际产业界对过程控制仪器给予了高度的重视。传统的化

学分析方法对原料与产品质量分析费时、费事，难以进行现场分析或在线分析；传统过程控制主要依靠压力、温度、流量等间接参数进行生产监控，而对生产线上的原料、中间产品及最终产品的品质直接快速分析比较困难。由于近红外光谱分析技术可以不需对样品进行前处理，具有同时对多组分进行瞬间分析的能力，因此特别适合于过程分析，直接分析生产线上有关物料的内在品质，并迅速反馈给生产人员进行质量控制或进行自动控制，近红外光谱分析技术是当代过程控制的主导技术。

(4) 研究和发​​展近红外光谱分析技术与其他分析技术的综合应用

近红外技术与其他分析技术一样，有其长处，也有一定的局限性。例如，因为近红外谱区的吸收较低，近红外法的检测低限不如中红外定量分析，不适宜做含量过低的样品、微量样品的显微分析。因为近红外光谱谱峰重叠严重，不宜进行官能团定性分析。因此应注意发展近红外光谱分析技术的综合应用。例如，为了实现对复杂物的综合品质性状的分析，需要运用多种仪器分析手段进行分析，并对各种分析结果取长补短，进行综合分析处理。对此可以研究运用军事科学中近来发展的“数据融合”技术，运用现代计算机技术和数学方法，对多种仪器分析方法得到的信息在一定的准则下加以综合、分析、过滤、相关与合成，并以此辅助对复杂物进行综合性状品质分析。

1.5 小结

本章简要介绍了近红外光谱技术的发展历程，以及近红外技术在食品安全检测方面的应用，最后介绍了近红外光谱分析技术的特点及近红外技术研究展望。

第二章 近红外光谱分析技术原理

2.1 近红外光谱检测原理

近红外 (Near Infrared Spectroscopy, 简称为 NIR) 光是指波长介于可见区与中红外区之间的电磁波, 因此它具有光的属性, 即具有“波”和“粒”的二重性。当光源发出的红外光线经一定的路径照射到由一种或多种分子组成的物质上, 其中的分子会改变自身的振动能态, 从而引起跃迁现象, 产生近红外光谱吸收, 其波长范围约为 800 ~ 2 500nm, 波数范围约为 $12\ 500 \sim 4\ 000\text{cm}^{-1}$ 。近红外光谱是人们认识的最早的非可见光区域, 其在整个电磁波谱中的位置如图 2.1 所示。

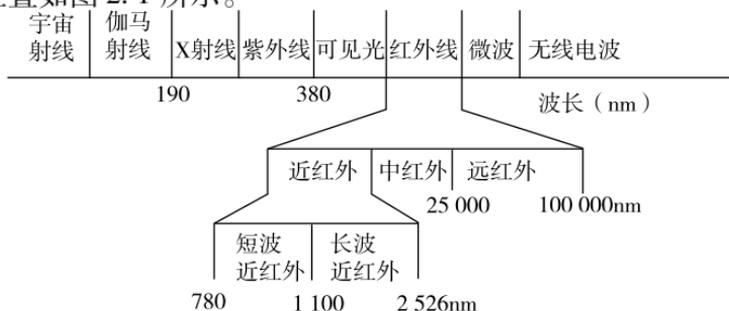


图 2.1 近红外光谱在电磁波谱中的位置

近红外谱区的吸收主要是分子或原子振动基频在 2000cm^{-1} 以上的倍频与合频吸收，主要包括 C-H、N-H 和 O-H 等含氢基团的倍频和合频吸收带。因为不同的基团或同一基团在不同的特定化学环境下近红外所吸收的波长与强度有明显差别，所以近红外光谱具有大量而丰富的结构和物化信息。如，食用油脂结构中的 $\text{-C}=\text{C-}$ 和 -C-H- 键的伸缩振动第一组合频在 $5600\sim 5800\text{cm}^{-1}$ 和 $4400\sim 4800\text{cm}^{-1}$ 两个光谱范围的吸收最为明显，即反应了油脂脂肪酸的含量差异，这些吸收特征为近红外光谱定量及定性分析样品的物理化学性质提供了前提。

近红外光谱分析检测技术分为两大类：透射技术和反射技术。透射光谱法是把样品放于光源与检测器之间，用以测定均匀透明的溶液或固体样品。反射光谱分析法是把样品放于光源与检测器的同侧，且用以测定固体或半固体样品。

在透射技术中，若样品是透明真溶液，透射光强与样品中各组分的浓度符合比尔定律，如式 2.1 所示。

$$A = -\lg \frac{I}{I_0} = \varepsilon bc \quad (2.1)$$

其中：

I_0 ——波长为 λ 的平行、均匀入射光束强度；

I ——透过溶液后的光束强度；

A ——吸光度；

ε ——待测组分的摩尔吸光系数；

b ——光程；

c ——待测物质组分的浓度。

若样品是浑浊的，那么由于光散射的原因，光经过样品时的路径不确定，不符合比尔定律，将其称之为漫透射分析测定法。

物体对光的反射分为规则反射和漫反射。应用漫反射进行的分析测定称为漫反射分析测定法，该方法在现代近红外光谱分析中起着非常重要的作用。当样品发生漫反射时，光线将包含有关样品中的大量的物质成分信息，即不同成分在特定波长下吸收了不同能量的光，对样品成分的分析提供了方便。但漫反射并不遵循比尔定律，其遵循 Kubelka - Munk 方程，如式 2.2 所示。

$$A = \log\left(\frac{1}{R_\infty}\right) = -\log\left(1 + \frac{K}{S} - \sqrt{\left(\frac{K}{S}\right)^2 + 2\left(\frac{K}{S}\right)}\right) \quad (2.2)$$

其中：

R_∞ ——样本厚度无穷大时的相对漫反射率；

A ——吸光度；

K ——吸收系数；

S ——散射系数。

2.2 近红外光谱分析发展概述

一、化学计量学的发展

近红外光谱分析技术的发展离不开化学计量学方法的

发展。化学计量学的应用是近红外光谱技术得以广泛应用的一个关键技术，通常近红外光谱仪都带有化学计量学软件。化学计量学是综合应用数学、统计学和计算机科学方法从化学量测的数据中提取信息的学科。20世纪70年代初首次提出这个名词，同时也为这门学科的发展奠定了基础。随着计算机科学的发展，80年代以后化学计量学的专著及专业期刊大量出现。化学计量学已用于化学学科各个领域，在分析测试中，广泛用于色谱、电化学、质谱等领域。

化学计量学中的多元校正变成了近红外光谱定量及定性分析时不可缺少的部分。在近红外光谱分析中，常用的化学计量学大致有四个方面。即：（1）光谱数据预处理；（2）定量校正；（3）模式识别定性方法；（4）模型传递。

二、仪器的发展

近红外光谱仪是一种测量物质对近红外辐射的吸收率（或透过率）的分析仪器，它可以利用每种物质的特征吸收谱对被测物质进行定性分析。它同样可以利用物质总量与吸收总量所呈现的线性关系，对被测物质的特征成分进行定量分析。按分光器分类，近红外光谱仪器可分为滤光片型、光栅色散型、傅立叶变换型和声光可调滤光器型。近红外光谱仪器主要由光源、分光系统、样品池、控制系统、检测器、数据采集和分析软件等部分构成。其结构如图2.2所示。