基于中红外光谱对牛乳中乳铁蛋白含量的快速检测

徐大江，马占峰*，孙 艳，赵丽娟，高一娜，杨青青

哈尔滨市产品质量综合检验检测中心，黑龙江哈尔滨 150036

摘 要：[目的]为满足乳制品加工过程中快速、精准定量检测大量样品中乳铁蛋白含量的需求，利用中红外光谱结合化学计量学建立牛乳中乳铁蛋白含量检测校正模型。[方法]以108份牛乳样本为研究对象，使用高效液相色谱法测量其中乳铁蛋白含量，并采集牛乳样本的光谱数据，考察归一化、一阶导数、二阶导数、标准正态变量变换、多元散射校正以及小波变换等预处理方法对乳铁蛋白偏最小二乘算法（PLS）定量模型预测精度的影响。[结果]一阶导数和标准正态变量变换是最优的光谱数据预处理方法；模型校正集决定系数为0.941 7，校正均方根误差为1.142；预测集的预测均方根误差为1.187，具有较好的预测能力。[结论]本研究结果对乳制品生产过程中的品质控制及生产效率优化有重要意义。

关键词：乳铁蛋白；中红外光谱；PLS预测模型；定量分析；质量监测

文章编号：1671–4393（2025）07–0115–06 DOI:10.12377/1671–4393.25.07.19

0 引言

我国是全球最大的乳制品消费国，也是生产大国之一。随着乳制品需求的不断增长，消费者对乳制品品质的要求也在逐渐提高，不仅对蛋白质、维生素、脂肪等基础营养成分的需求日益增加，并对热敏感和生物活性物质指标，如糖氨酸、乳铁蛋白等也越来越关注。乳铁蛋白是转铁蛋白家族中的一种铁结合糖蛋白，存在于母乳（占总蛋白质的10%~15%）和各种黏膜分泌物中[1]。乳铁蛋白具有多种功能，包括调节铁的吸收[2]、广谱抗菌[3]、调节免疫反应[4]、抗氧化[5]、抗癌[6]、抗病毒[7]以及药物协同[8]等。乳铁蛋白在人初乳中的浓度约700 mg/100 mL，

基金项目：国家市场监督管理总局科技计划项目（2021MK132）

作者简介：徐大江（1982–），男，河北邢台人，硕士，高级工程师，研究方向为食品监督检验；
孙 艳（1971–），女，山东招远人，硕士，高级工程师，研究方向为食品监督检测；
赵丽娟（1978–），女，山东烟台人，硕士，高级工程师，研究方向为食品监督检验；
高一娜（1985–），女，黑龙江哈尔滨人，硕士，高级农艺师，研究方向为检验检测；
杨青青（1982–），女，黑龙江齐齐哈尔人，硕士，高级工程师，研究方向为食品监督检验。
*通信作者：马占峰（1966–），男，黑龙江哈尔滨人，硕士，研究员级工程师，研究方向为食品监督检验。

中国乳业线上阅读

人常乳中浓度约100 mg/100 mL，牛初乳中约150 mg/100 mL，牛常乳中约5 mg/100 mL[9]。

目前，检测乳铁蛋白含量的主要方法包括免疫学分析法和色谱法[10~12]。然而，这些方法对乳制品中乳铁蛋白含量的检测均存在一定局限性，例如，免疫扩散法的操作步骤较复杂，检测时间较长，且需要通过人工精确测量环的直径获取结果，可能因此引入人为误差；酶联免疫法虽具有高选择性，但仅能分析单一蛋白质，不适用于大批量样品分析；免疫层析快速检测法可能出现假阴性和假阳性结果；高效液相色谱法对样品纯度要求较高，且设备成本高昂；高效液相色谱串联质谱法的前处理过程需对乳铁蛋白进行酶解，但活性和非活性乳铁蛋白均可参与此过程，因此，其最终检测结果仅反映样本中乳铁蛋白的总量，不能区分活性和非活性乳铁蛋白；凝胶电泳检测法的操作过程较复杂，不适用于大批量样品分析。

根据波长对红外光谱区域进行划分，中红外区位于2.5~25 μm波段。鉴于多数有机化合物的光谱吸收峰集中在此区域，这一区间更适宜开展红外光谱的定性及定量分析[13]。中红外光谱技术在乳制品相关领域的应用非常广泛，包括定量分析牛奶的营养成分（乳脂、乳蛋白、乳糖、非脂固形物和氨基酸等）和健康指标（体细胞数、尿素氮等）[14~16]、鉴别乳制品掺假[17]、检测牛奶中矿物质含量[18]、评价乳制品新鲜度[19]和推测乳制品生产日期[20]等。但使用中红外光谱检测乳铁蛋白含量的报道较少。本研究采用中红外光谱技术，结合主成分分析和聚类分析方法，成功建立乳制品中乳铁蛋白含量的快速检测模型。该模型不仅简单、高效，成本低廉，同时能更有效地控制乳制品品质，为进一步完善乳制品检测标准提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

巴氏杀菌乳样品，黑龙江完达山阳光乳业有限公司；牛乳铁蛋白标准品（纯度95%，铁含量35 mg/100 g），美国SIGMA-ALDRICH公司；乙腈、三氟乙酸（色谱纯），美国Fisher Scientific公司；氯化钠、磷酸、磷酸二氢钠（分析纯），天津科密欧化学试剂有限公司；肝素亲和柱（1 mL），美国Cytiva思拓凡公司。

1.2 仪器与设备

红外光谱仪（LactoScope™ FT-A），美国PerkinElmer公司；高效液相色谱仪配紫外检测器美国Waters公司；超纯水机，Milli-Q Advantage；天平（感量0.01 g和0.1 mg），美国梅特勒公司；冷冻离心机，德国SIGMA；pH计，上海仪电科学仪器股份有限公司；恒温水浴锅，天津泰斯特仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 样品化学值检测

样品中乳铁蛋白含量的检测参照《食品安全国家标准 食品中乳铁蛋白的测定》[21]。具体操作为：巴氏杀菌乳样品中的牛乳铁蛋白经磷酸盐缓冲液提取，肝素亲和柱富集净化后，反相高效液相色谱柱分离，紫外检测器于280 nm处检测，外标法定量。

1.3.2 样品中红外光谱采集

参考黄明月等[22]方法，使用LactoScope™ FT-A 红外光谱仪对XX组巴氏杀菌乳样品的中红外光谱数据进行采集。利用傅里叶变换红外技术，每次正式检测前仪器预热30 min。每个样品重复采集检测，取平均值作为样品的光谱信息进行分析。设置光谱条件：扫描范围4000~800 cm^{-1}、分辨率8 cm^{-1}、扫描次数32 次。

1.4 数据处理

1.4.1 光谱数据预处理

使用归一化（Normalize）[23]、导数处理[24]、标准正态变量变换（SNV）[25]、多元散射校正（MSC）[26]

中国乳业线上阅读

以及小波变换[27]等方法预处理光谱数据。分析比较处理效果，选择最优处理方法。按4∶1的比例将样本随机分为校正集和预测集，即108 个作为校正集，24 个作为预测集。对比分析验证均方根误差（RMSECV）、预测均方根误差（RMSEP）和相关系数 （R）作为模型评价指标[28]。RMSECV和RMSEP越小，表明模型对外部样品的预测能力越高，反之其预测能力越低[29]。R越趋近于1，表明预测值与实测值之间相关性越强[30，31]。三者的计算方式如下：

$$RMSECV=\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(\hat{y}_i-y_i)^2}{n}} \quad (1)$$

$$RMSEP=\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(y_i-\hat{y}_i)^2}{n}} \quad (2)$$

$$R=\sqrt{1-\frac{\sum_{i=1}^{n}(\hat{y}_i-y_i)^2}{\sum_{i=1}^{n}(y_i-\bar{y})^2}} \quad (3)$$

1.4.2 模型的建立与验证

采用主成分分析法取不同主成分数，结合偏最小二乘（PLS）方法建立预测模型[32]。采集到的巴氏杀菌乳样品光谱为X值，乳铁蛋白含量的化学指标为Y值，采用PLS方法对数据进行拟合，建立模型。通过比较模型的RMSECV、RMSEP和R确定最优模型。此外，采用外部验证对模型的准确性和稳定性进行验证、评价，采集验证集的巴氏杀菌乳样品光谱带入最优模型，并用高效液相色谱法测定乳铁蛋白含量的化学指标，筛选最优模型。

2 结果与分析

2.1 中红外光谱数据处理

108 份巴氏杀菌乳样品的原始中红外光谱如图1所示。不同样品在各波长下的吸收特性一致可作为建立定量分析模型的基础。

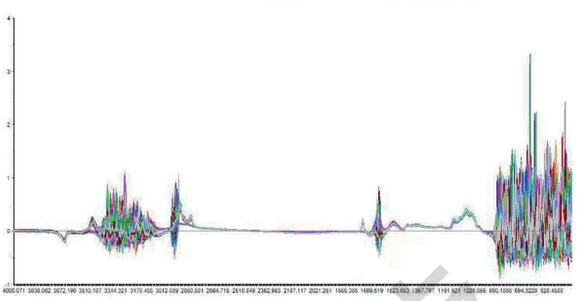


图 1 样品中红外光谱图

2.2 乳铁蛋白含量分析

乳铁蛋白含量分析和分集结果如表1所示。乳铁蛋白含量校正集的范围为52.70~108.90，校正集的平均含量为73.62 mg/kg，预测集的范围为42.9~77.8 ，预测集的平均含量为62.3 mg/kg，覆盖范围较广，样本具有良好的代表性，满足建立准确、稳健模型的条件。

表 1 乳铁蛋白含量校正集和预测集样品划分结果

	检测成分	乳铁蛋白含量（mg/kg）
校正集	最大值	108.90
	最小值	52.70
	平均值	73.62
	标准差	11.53
预测集	最大值	77.80
	最小值	42.90
	平均值	62.30
	标准差	8.18

2.3 乳铁蛋白含量定量模型的构建

2.3.1 光谱数据预处理

光谱预处理是克服近红外光谱测量不稳定的有效方法，旨在针对待测光谱和样品体系，一方面减弱测量的光谱的随机噪声、样品 背景干扰以及测样器件引起的光谱差异等因素对校正结果的影响，另一方面优化光谱信息，选择样品信息较强的光谱区域，为建立稳定、可靠的校正模型奠定基础，因此，在建立模型前，需对原始光谱进行预处理。采用主成分分析（PCA）去除数据中的异常值，通过评估相关系数和误差得到最佳光谱数据预处理方

中国乳业线上阅读

法，结果如表2所示。

由表2 可知，标准正态变量变换+一阶导数预处理方法所建模型具有较高的R，较低的RMSECV和RMSEP，因此该方法为最优预处理方法。

2.3.2 主成分的选择

使用PLS方法建立校正模型的主要问题之一在于如何确定建立模型所使用的主成分数。如果建立模型时使用的主成分过少，则无法反映未知样品被测组分产生的量测数据（如光谱）变化，导致模型预测准确度降低，出现欠拟合（Underfit）现象；如果使用过多主成分建立模型，会将一些代表噪音的主成分引入模型，使模型的预测能力下降，出现过拟合（Overfit）现象。因此，确定参加建立模型的主成分数是充分利用光谱信息和滤除噪音的有效方法之一。本实验采用交互验证法计算 预测平方和（PRESS值），确定主成分数，结果如图2所示，本实验PRESS最小值乳铁蛋白含量为0.4，对应的最佳主因子数为6。

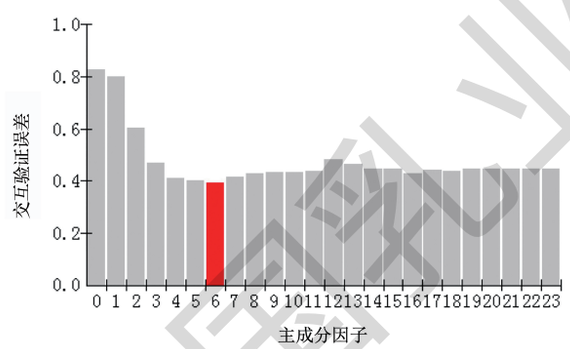


图 2 Norris 平滑后交互验证误差值和 PLS 方法主成分因子关系图

2.3.3 模型的构建与验证

采用标准正态变量变换+一阶导数预处理方法对光谱进行预处理，在波段为1000~1580 nm、1000~1650nm条件下，主成分数为6，采用PLS方法构建校正模型，结果如图3所示，得到乳铁蛋白含量的相关系数为0.941 7，得到回判直线方程为Y=0.9417X+4.2934。

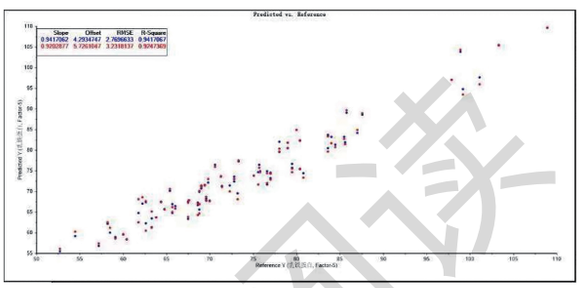


图 3 乳铁蛋白实测值与中红外预测值的相关关系

2.3.4 模型的外部检验

为检验模型的预测效果，采用预测集样品对模型进行外部检验。本文对未参与建模的24 个预测集样品进行预测，结果如表3所示，87.5%预测值与化学值的相对偏差在±10%，只有12.5%预测值与化学值的相对偏差介于±10%~±20%，结果表明在一定误差范围内，模型准确度高，稳定性好。

由表3可计算出，乳铁蛋白含量中红外光谱检测值与液相法检测值的差值基本可以控制在合理的相对误差之内，由此证明中红外光谱可替代现有的乳铁蛋白方法进行日常实际应用检测。

3 结论

本研究采用中红外光谱结合PLS方法构建了巴氏杀菌乳中乳铁蛋白含量定量分析模型，其校正集相关系数为 0.941 7 ，预测集的预测均方根误差为1.187，具有较好的预测准确性和稳定性，可满足大批量样品同时快速检测的需求。此模型的建立为乳

表 2 不同预处理方法对乳铁蛋白含量模型的影响

预处理方法	一阶导数			二阶导数			标准正态变量变换 + 一阶导数			多元散射校正法 + 一阶导数		
	RM–SECV	RMSEP	R	RM–SECV	RMSEP	R	RM–SECV	RMSEP	R	RM–SECV	RMSEP	R
乳铁蛋白	0. 010	0. 011	0. 941 0	0. 015	0. 012	0. 921 0	0. 014	0.007 2	0.941 6	0. 014	0.007 2	0.940 9

中国乳业线上阅读

表 3 验证集预测值与化学值的偏差值

序号	乳铁蛋白含量（mg/kg）		
	化学值	预测值	相对偏差
1	59.56	56.83	4.6
2	64.98	65.93	−1.5
3	68.89	66.42	3.6
4	62.73	60.92	2.9
5	77.12	78.83	−2.2
6	53.90	54.43	−1.0
7	61.70	62.05	−0.6
8	64.08	60.20	6.1
9	62.16	60.38	2.9
10	56.29	54.60	3.0
11	70.53	70.85	−0.5
12	42.90	43.06	−0.4
13	62.30	61.99	0.5
14	67.94	66.63	1.9
15	53.87	52.29	2.9
16	60.85	61.27	−0.7
17	60.40	56.85	5.9
18	58.73	56.91	3.1
19	76.37	78.58	−2.9
20	77.88	79.51	−2.1
21	63.25	61.52	2.7
22	61.08	60.31	1.3
23	54.43	52.11	4.3
24	53.32	51.67	3.1

制品中活性成分的检测和品质监测提供了新思路。然而，本研究选择样品集为局部地区产品，建立模型有局限性，在未来研究中仍需检测大量具有代表性的样品，建立覆盖样品更多、适用范围更广的模型，以更好地应用于实践和指导生产。

参考文献

[1] Kim B J，Kuhfeld R F，Haas J L，et al. Digestive Profiles of Human Milk，Recombinant Human and Bovine Lactoferrin：Comparing the Retained Intact Protein and Peptide Release[J].Nutrients，2024，16（14）：2360.

[2] McCarthy K E，O’Callaghan T F.Bovine lactoferrin and its potential use as a functional ingredient for tackling the global challenge of iron deficiency[J].Current Opinion in Food Science，2024，59：101211.

[3] Hu C，Shen W，Xia Y，et al.Lactoferrin：Current situation and future prospects[J].Food Bioscience，2024，62：105183.

[4] Wu S J，Feng R，Meng R，et al.Exploring the binding mechanism and functional properties of lactoferrin–berberine complex：Based on multispectral analysis，molecular docking，and dynamics simulations[J].Food Chemistry，2025，464（Pt 1）：141639.

[5] Narmuratova Z，Hentati Faiez，Girardet J M，et al.Equine lactoferrin：Antioxidant properties related to divalent metal chelation[J].Food science & technology，2022，161：113426

[6] Moastafa T M，El–Sissy A E D E，El–Saeed G K，et al.Study on the Therapeutic Benefit on Lactoferrin in Patients with Colorectal Cancer Receiving Chemotherapy[J].International scholarly research notices，2014：1–10.

[7] Zhang Y，Zhang L，Xia S，et al.Site–specific glycoproteomic analysis of purified lactoferrin from human and animal milk[J].International Journal of Biological Macromolecules，2024，254（Pt 1）：127766.

[8] Abdelmoneem M A，Abd Elwakil M M，Khattab S N，et al.Lactoferrin–dual drug nanoconjugate: Synergistic anti–tumor efficacy of docetaxel and the NF–κB inhibitor celastrol[J].Materials Science & Engineering C，2021，118：111422.

[9] 闫晓斌，高瑞雄，袁凯，等.乳铁蛋白功能及作用效果[J].食品工业，2024，45（9）：223–229.

[10] 王明录，范慧丽，王骏，等.比色–光热双模式免疫层析法检测功能食品中的乳铁蛋白[J].分析实验室，2025，44（411）：828–835.

[11] 黄文慧，逯海，梁文林，等.乳铁蛋白测量方法研究进展[J].食品安全质量检测学报，2024，15（14）：213–223.

[12] 张宁，叶巧燕，郑百芹，等.高效液相色谱法检测奶及奶制品中未变性乳铁蛋白[J].食品安全质量检测学报，2024，15（15）：20–28.

[13] 刘杨.牛奶中红外光谱的标准化方法研究[D].武汉：华中农业大学，2023.

[14] 刘莉，李永青，褚楚，等.中红外光谱在牛奶成分预测及奶牛性状研究的进展[J].中国畜禽种业，2024，20（9）：49–59.

[15] 肖仕杰，王巧华，李春芳，等.傅里叶变换中红外光谱的牛奶品质无损检测分级[J].光谱学与光谱分析，2022，42（4）：1243–1249.

[16] 褚楚，张静静，丁磊，等.基于中红外光谱的牛奶中三种氨基酸含量预测模型的建立及应用[J].畜牧兽医学报，2023，54（8）：3299–3312.

[17] 褚楚，罗雪路，王海童，等.基于机器学习和中红外光谱预测牦牛奶掺假[J].华中农业大学学报，2025（2）.

[18] 郝磊晓，褚楚，温佩佩，等.基于中红外光谱的中国荷斯坦牛牛奶中钠钾镁含量预测模型的建立[J].中国农业科学，2024，57（14）：2862–2873.

[19] 侣博学，张养东，郑楠，等. 基于中红外光谱技术快速检测

中国乳业线上阅读

生乳中的腐胺[J].动物营养学报，2024，36（8）：5432-5440.
[20] Magro S，Sneddon N W，Costa A，et al.Does the age of milk affect its mid-infrared spectrum and predictions? [J].Food Chemistry，2024，441：138355.
[21] 中华人民共和国国家卫生健康委员会，国家市场监管理总局.GB 5009.299—2024 食品安全国家标准 食品中乳铁蛋白的测定[S].
[22] 黄明月，赵晨，吴海云，等.掺杂婴幼儿奶粉的中红外光谱检测[J].天津农学院学报，2022，29（4）：60-64.
[23] 车红，徐璐，曾令，等.土壤有机质高光谱灰信息关联估测模型[J].山东农业大学学报（自然科学版），2024，55（5）：782-788.
[24] 罗浪琴.基于近红外光谱技术对核桃仁可溶性蛋白、脂肪和单宁含量检测研究[D].阿拉尔：塔里木大学，2023.
[25] 代露茗，郭涛，李飞，等.无芒雀麦营养成分含量近红外预测模型的分析与建立[J].中国草地学报，2023，45（6）：134-142.
[26] 吴友日，金肖克，冯建强，等.基于高光谱成像技术的棉花杂质检测[J].现代纺织技术，2024，32（11）：46-54.
[27] 孙嘉豪，张伟，施鉴芩，等.光谱数据预处理策略选择及应用[J].计量学报，2023，44（8）：1284-1292.
[28] 焦文聪.基于光谱技术分析芝麻油品质和木脂素含量的方法研究[D].郑州：河南工业大学，2023.
[29] 尹成诚，康景，刘建新，等.基于SNV和MSC结合遗传算法对羊肉葡萄糖含量可见—近红外光谱建模效果研究[J].草业科学，2024，41（10）：2427-2434.
[30] 刘杰，郭嘉华，赵鹏，等.基于多元线性回归模型估测蒙古黄芪药效成分含量[J].北方园艺，2024（2）：100-108.
[31] 崔颢凡，刘红芝，郭芹，等.近红外光谱技术对花生蛋白组分与亚基的高通量模型建立[J].光谱学与光谱分析，2024，44（7）：1982-1987.
[32] 梁世岳，李泽青，李宁，等.基于冷冻干燥基础的猪肉营养成分近红外快速检测模型构建[J].天津农业科学，2023，29（10）：37-41.

Study on Lactoferrin in Milk Based on Mid-infrared Spectroscopy Rapid Detection of Content

XU Dajiang，MA Zhanfeng*，SUN Yan，ZHAO Lijuan，GAO Yina，YANG Qingqing
Harbin Product Quality Comprehensive Inspection and Testing Center，Harbin Heilongjiang 150036

Abstract：[Objective]To meet the demand for rapid and accurate quantitative determination of lactoferrin content in a large number of samples during dairy processing a detection and correction model for lactoferrin content in milk was established by combining mid-infrared spectroscopy with chemometric.[Method]Taking 108 milk samples as the research objects，the lactoferrin content was measured by high performance liquid chromatography，and the spectral data of the milk samples were collected. To investigate the effects of preprocessing methods such as normalization first derivative second derivative standard normal variable transformation multiple scattering correction and wavelet transform on the prediction accuracy of partial least squares PLS quantitative model lactoferrin.[Result] The first derivative and the standard normal variable transformation were the optimal preprocessing methods for spectral data. The determination coefficient of the model correction set was 0.941 7, and the root mean square error of the correction was 1.142. The root mean square error of prediction was 1.187 which had good prediction ability. [Conclusion]The results of this study are of great significance for quality control and production efficiency optimization in dairy production proces.

Keywords：lactoferrin；mid-infrared spectroscopy；PLS prediction model；quantitative analysis；quality monitoring

中国乳业线上阅读