



李朝阳,张帅,江海洋,郑永军,刘星星. 基于智能手机的便携式多功能食品安全快检系统开发[J]. 中国农业大学学报,2024,29(01):88-98.
LI Zhaoyang,ZHANG Shuai,JIANG Haiyang,ZHENG Yongjun,LIU Xingxing. Development of a smartphone-based portable multifunctional food safety rapid
detection system[J]. *Journal of China Agricultural University*,2024,29(01):88-98.
DOI: 10.11841/j.issn.1007-4333.2024.01.08

基于智能手机的便携式多功能食品安全快检系统开发

李朝阳¹ 张帅² 江海洋² 郑永军¹ 刘星星^{1*}

(1. 中国农业大学 工学院,北京 100083;

2. 中国农业大学 动物医学院,北京 100193)

摘要 为解决目前食品安全快速检测系统集成化程度低、图像采集装置便携性差的问题,以智能手机为检测工具,采用数字图像比色法,对莱克多巴胺的现场快速定量检测问题进行研究。设计便携式图像采集装置固定拍摄环境,使用菲涅尔透镜汇聚光线,利用智能手机准确获得检测卡与微孔板的图像信息;设计基于OpenCV的图像处理算法和智能手机应用程序,在移动终端实现对检测卡和微孔板反应区域的自动识别和颜色特征的分析。结果表明:1)本研究设计的图像采集装置可以对检测卡与微孔板准确成像,颜色特征变异系数 $CV<3\%$;2)利用免疫层析法和免疫吸附法对莱克多巴胺进行快速检测,2种方法对应的颜色特征值与莱克多巴胺的质量浓度均呈对数关系,决定系数 $R^2>0.97$,其中,免疫吸附法的检测结果与酶标仪检测结果基本一致($R^2=0.9873$)。本系统具有便携、快速等优点,不需要实验室设备,适用于非专业人员在现场对莱克多巴胺进行快速定量检测。

关键词 智能手机;数字比色法;检测卡;微孔板;莱克多巴胺;多功能食品安全

中图分类号 S24

文章编号 1007-4333(2024)01-0088-11

文献标志码 A

Development of a smartphone-based portable multifunctional food safety rapid detection system

LI Zhaoyang¹, ZHANG Shuai², JIANG Haiyang², ZHENG Yongjun¹, LIU Xingxing^{1*}

(1. College of Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China;

2. College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract In order to address the low degree of integration and poor portability of current food safety rapid detection systems, this study focused on the rapid quantitative detection of ractopamine by using smartphones as the detection tool and employing the digital image colorimetric method. To accurately obtain the image information of the test strip and microplate, a portable image collection device with a fixed shooting environment was designed and the Fresnel lens, which can converge the light, was used. The image processing algorithm based on OpenCV and smartphone application were designed to achieve automatic identification of the reaction area of test strip and microplate and analysis of color features on mobile terminals. The results showed that: 1) The image collection device designed in this study can accurately image the test strip and microplate ($CV<3\%$); 2) The color feature values are logarithmically related to the concentration of ractopamine rapidly detected using the GICT and ELISA method (determination coefficients $R^2>0.97$). Specifically, the detection results obtained using the ELISA method are essentially consistent with those obtained by microplate reader ($R^2=0.9873$). In conclusion, the system

收稿日期: 2023-05-31

基金项目: 北京市自然科学基金面上项目(6222021)

第一作者: 李朝阳(ORCID:0009-0003-5147-3633),硕士研究生,E-mail:lizhaoyang0215@163.com

通讯作者: 刘星星(ORCID:0000-0003-4998-6344),副教授,主要从事智能农业机械相关领域研究,E-mail:liuxingxing56285@163.com

has the advantages of portability and speed, which does not require laboratory equipment, and is suitable for non-professionals to perform rapid quantitative detection of ractopamine on-site.

Keywords smart phone; digital colorimetric method; test strip; microplate; ractopamine; multi-function for food safety

动物源性食品是我国居民膳食结构的重要组成部分,随着国民经济的发展,动物源性食品的消费量逐渐增大,动物源性食品安全问题成为社会关注的焦点。瘦肉精可以促进胴体生长并改善肉质品质^[1-2],曾被广泛添加于饲料中。人食用了含有瘦肉精的食品,会出现心悸、头痛、恶心、呕吐等症状,严重者甚至会危及生命^[3]。因此,需要及时对动物源性食品中的瘦肉精进行检测。

莱克多巴胺(Ractopamine, RAC)属于“第二代瘦肉精”,是畜禽生产过程中的违禁药物^[4],其快速检测方法主要包括胶体金免疫层析法(Immune colloidal gold technique, GICT)和酶联免疫吸附法(Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)等^[5-6]。作为可视化检测方法,这2种方法都是通过抗原和抗体的特异性结合引起的显色反应进行定性、定量分析^[7-8],目前,市场上已经出现许多成熟的检测卡和前处理试剂盒。胶体金免疫层析法以试纸为反应载体,采用目视的方法进行定性判断;酶联免疫吸附法通常以微孔板为反应载体进行高通量检测,需要使用酶标仪测定吸光度进行定量分析。使用目视法进行判断主观性大,在实验室大型仪器上进行读数和定值导致检测时效性低,这些问题制约着莱克多巴胺在现场快速检测方面的发展。

随着智能手机的普及,其处理器计算能力及内置传感器性能得到了显著提升,研究人员将智能手机作为独立的检测设备或与其他附件结合代替实验室设备进行快速检测^[9-12]。摄像头作为智能手机最常用的一种传感器,可以采集样品的数字图片并进行比色分析。Martinez等^[13]提出了以智能手机为检测平台获取纸基微流体装置的颜色信息后,基于智能手机的快速检测受到国内外广泛关注,已经有大量文献报道了利用智能手机摄像头进行数字图像比色分析进而对待测物质进行定性或定量检测的研究^[14-17]。相比于实验室使用的大型检测仪器,基于智能手机的检测设备可以面向非专业人员进行现场快速检测。李周敏等^[18]使用蛋白芯片测定猪肉中克伦特罗和莱克多巴胺的残留量,并利用手机拍照测量灰度值进行浓度判定,但浓度检测

以微孔板条为单位,借助电脑软件进行分析,效率较低。邹盛等^[19]设计了一种96孔板孔位区域选取方案,依据微孔的位置划定孔位区域,降低了颜色特征的波动,但微孔区域依靠经验划定,主观性较强。晁晓欣等^[20]通过设计大孔径聚焦透镜,实现对96孔微孔板全范围准确成像和人血清蛋白(HSA)的准确检测,但光学玻璃制成的透镜易碎,且体积和质量较大,便携性差。目前,便携式的采集系统都只针对一种反应载体进行检测,集成化程度较低。

本研究拟设计一种基于智能手机的快速检测系统:利用智能手机摄像头和图像采集装置采集检测卡与微孔板图像,使用菲涅尔透镜改变光路,实现微孔板全范围准确成像的同时减小图像采集装置的体积和质量、提高便携性;设计基于OpenCV的图像检测算法和智能手机应用程序,在智能手机上完成对样本图像的处理,以期莱克多巴胺现场快速检测系统提供结构和算法上的参考。

1 材料与方法

1.1 快速检测系统设计

本研究设计的基于智能手机的便携式多功能食品安全快检系统主要包括图像采集装置、图像处理算法以及智能手机应用程序,可以实现对检测卡和微孔板反应区域的自动定位和颜色特征分析。

检测卡或微孔板放入图像采集装置中,智能手机应用程序调用系统相机采集图像,并调用图像处理算法对图像进行分析,将计算结果展现应用程序界面中。

1.1.1 图像采集装置

本研究设计的图像采集装置通过控制光源、拍摄角度、拍摄距离尽可能消除不可控的环境因素对拍摄的影响,降低后续图像处理的难度,提高识别的准确度。

图像采集装置的外形为长方体,尺寸141 mm×102 mm×170 mm,使用12 V可充电电池供电,外观及工作状态见图1。装置包含2个抽屉状的样本支架,分别对应检测卡和微孔板,当采集不同反应载

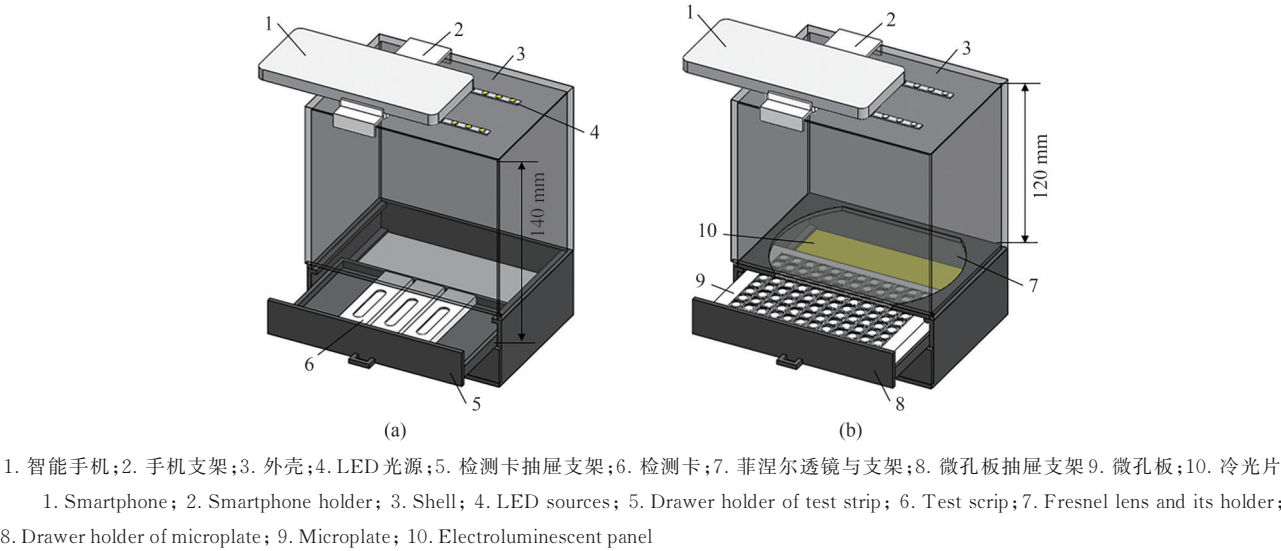


图1 图像采集装置采集检测卡(a)和微孔板(b)图像的工作状态示意图

Fig. 1 Work statues of the image collection device when collecting image of test strip (a) and microplate (b)

体的图像时,需要将对应的抽屉支架放置到上方的工作位置,将另一个支架放置到下方的收纳位置;顶端设计支架固定手机,手机支架与外壳之间设计滑轨,能对手机位置进行微调,避免不同型号手机的摄像头位置存在差异导致照片中样本成像位置偏移;装置外壳开长方形孔,供智能手机拍照使用。

使用装置采集检测卡图像时,布置在装置上方的贴片式LED光源亮起,发出的光线经过试纸表面

反射后进入摄像头成像;使用装置采集微孔板图像时,布置在装置底部的冷光片亮起,发出的光线透过微孔板中的液体,并经过菲涅尔透镜改变光路后进入摄像头成像,避免液面的镜面反射,同时实现微孔板边缘孔底部的准确成像,菲涅尔透镜焦距为120 mm,菲涅尔透镜与支架可以抽出,放置于收纳位置抽屉中。图2示出图像采集装置采集检测卡和微孔板图像时的光路图。

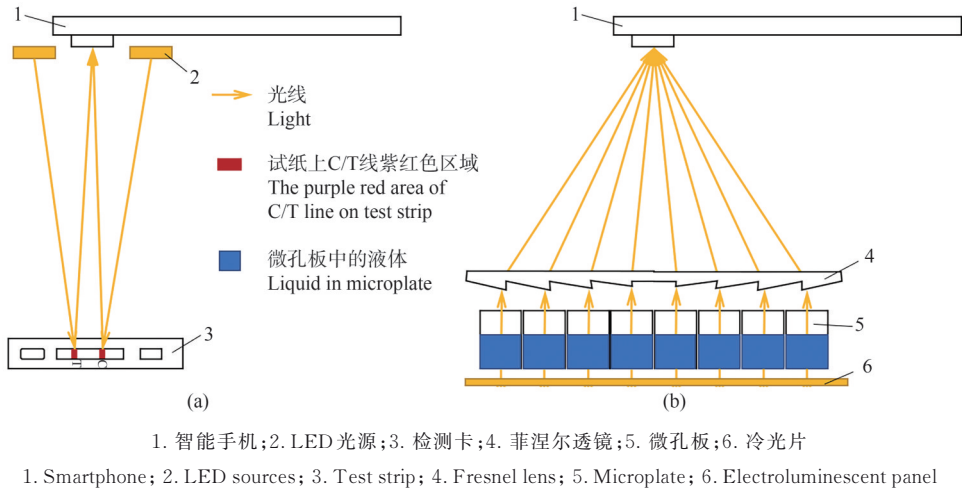


图2 图像采集装置采集检测卡(a)和微孔板(b)图像时的光路图

Fig. 2 Optical path of the image collection device when collecting image of test strip (a) and microplate (b)

1.1.2 图像处理算法

本研究设计的基于OpenCV的图像处理算法,可以自动定位检测卡与微孔板的感兴趣区域

(Region of interest, ROI)并提取颜色特征,采用python语言实现。

对拍摄的图像进行5×5中值滤波,去除噪声的

同时较好地保留边缘特征。将彩色图像转为灰度图,考虑到人眼对红色、绿色、蓝色的敏感程度不同,按照式(1)^[21]进行转化:

$$Y = 0.2989R + 0.5870G + 0.1140B \quad (1)$$

式中: Y 为灰度值; R 、 G 、 B 分别为 RGB 颜色空间下的红色、绿色和蓝色分量。

对检测卡图像,选取使类间方差 g 最大的阈值对图像进行二值化处理^[22]:

$$g = w_0 \times w_1 \times (u_1 - u_0)^2 \quad (2)$$

式中: w_0 和 w_1 分别为前景像素和背景像素所占比例; u_0 和 u_1 分别为前景区域和背景区域平均灰度。

检索二值图像的轮廓,面积最大轮廓的最小外接矩形为检测卡区域。为了避免因手机和检测卡相对位置的微小差异导致图像倾斜,对图像进行仿射变换^[23]校正检测卡角度:

$$\begin{bmatrix} p_x' \\ p_y' \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \cos \theta & -\sin \theta \\ \sin \theta & \cos \theta \end{bmatrix} \begin{bmatrix} p_x \\ p_y \end{bmatrix} \quad (3)$$

式中: (p_x, p_y) 为变换前的坐标; (p_x', p_y') 为变换后的坐标; θ 为旋转角度。

同一品牌检测卡的试纸视窗位置是固定的,对图像进行裁切,初步定位视窗位置,减少无关区域的干扰。将图像变换到 HSV 颜色空间,利用横纵投影法快速定位检测线(T线)与控制线(C线)区域。

在 HSV 颜色空间下将图像分别向 x 和 y 轴投影,得到亮度分量的行均值向量 $\mathbf{V}_{\text{column}}$ 和饱和度分量的列均值向量 $\mathbf{S}_{\text{row}}$:

$$\begin{cases} \mathbf{V}_{\text{column}} = \frac{\sum_{i=0}^r V_i}{r} \\ \mathbf{S}_{\text{row}} = \frac{\sum_{j=0}^c S_j}{c} \end{cases} \quad (4)$$

式中: r 为图像像素行数; V_i 为第 i 行像素点 V 分量的值; c 为图像像素列数; S_j 为第 j 列像素点 S 分量的值。

$\mathbf{V}_{\text{column}}$ 的 2 个极小值元素对应的列为检测卡上试纸的左右边界; $\mathbf{S}_{\text{row}}$ 的 2 个极大值元素对应的行一定在显色区域内,以一个与显色区域宽度相同的算子在这 2 行附近做内积,内积最大的 2 个区域中,位置靠上的为 C 线,靠下为 T 线。特别地,当样本为阳性时, T 线不显色,定位可能不准确,但定位到的背景区

域与显色区域一致,对检测结果的影响很小。

对于微孔板图像,利用霍夫变换算法^[24]寻找区域内的圆为微孔边界。

在笛卡尔坐标系中,圆的公式为:

$$(x - a)^2 + (y - b)^2 = r^2 \quad (5)$$

式中: (a, b) 为圆心坐标; r 为圆的半径。映射到霍夫空间中,有:

$$\begin{cases} a = x - r \cos \theta \\ b = y - r \sin \theta \end{cases} \quad (6)$$

式中: θ 为圆上任意一点和圆心连线与 x 轴的夹角。笛卡尔坐标系中圆上的某个已知点映射到三维霍夫空间是一个圆锥面,若干个共圆的点映射到三维霍夫空间是若干个相交的圆锥面,相交次数最多的点就是笛卡尔坐标系中的圆。

为提高检测霍夫圆的效率,需要事先确定圆的半径范围,即需要估计图片中微孔壁的半径。找到微孔区域后,提取中心正方形区域为 ROI 区域,避免孔底阴影对分析的影响。在本研究中,微孔壁半径在 85~115 像素范围内, ROI 区域为 60 像素 × 60 像素的正方形区域。

采用本研究算法提取的检测卡与微孔板 ROI 区域见图 3。

1.1.3 智能手机应用程序

为了进一步提高系统的便利性,本研究以 Android Studio 为开发工具,采用 Java 语言编写了一款配套比色检测软件,将其安装在 Android 智能手机上,便于非专业人员在现场进行操作。APP 用户界面见图 4。

程序包含 5 个 Android 活动(Activity)分别负责显示主界面、样本选择界面、检测界面、历史记录界面和使用说明界面,在布局中设计按钮控件实现 Activity 之间的跳转及浓度判定、结果保存等操作。进入主界面,点击“开始检测”按钮,进入样本选择界面选择要检测的样本后,跳转到检测界面,用户可以选择调用系统相机拍摄照片或从手机相册中选取照片,点击“计算结果”按钮,程序将自动定位 ROI 区域进行浓度判定,并将结果显示在界面中,点击“保存结果”按钮,本次检测结果将保存在本机之中;点击“使用说明”按钮,用户可以看到本装置的使用方法、检测范围、注意事项等;点击“历史记录”按钮,用户可以查询本设备的检测记录。

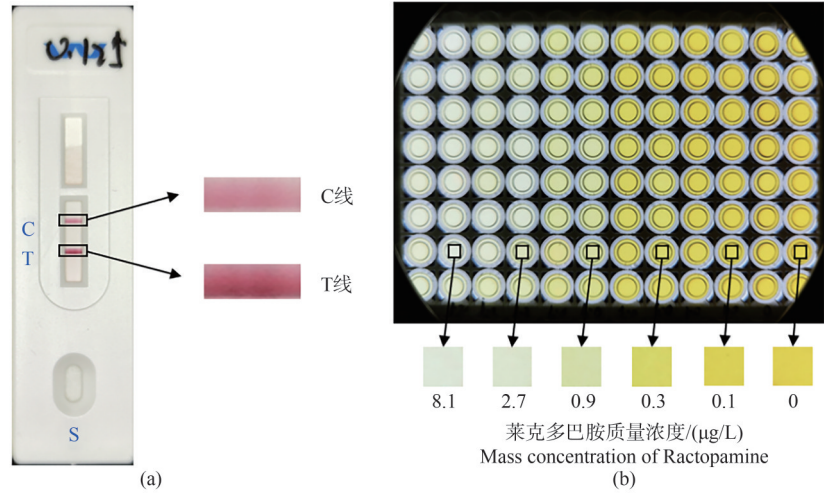


图3 本研究算法提取的检测卡(a)和微孔板(b)ROI区域

Fig. 3 ROI regions of test strip (a) and microplate (b) extracted by algorithm of the study



图4 智能手机APP用户界面

Fig. 4 Smartphone APP user interface

1.2 图像样本采集与评价指标

本研究使用小米12S智能手机采集图像,处理器为骁龙8 Gen1 Plus,感光元件为索尼IMX7071/1.28英寸5 000万像素传感器,F/1.9光圈,拍摄照片大小约为1.5~2.7 MB,分辨率3 072像素×4 096像素。

拍摄过程中手机的拍摄角度、拍摄参数保持一致,采用原相机模式,关闭闪光灯,放大倍数为1,自动对焦。

1.2.1 装置成像效果检测评价指标

将显色后的检测卡放入装置中,用智能手机拍照。

将红色水溶性色素溶于水中,向微孔板的每一个微孔中加入体积相同的红色液体,用智能手机直接或透过菲涅尔透镜对微孔板拍照。

RGB颜色空间是大部分智能手机和屏幕显示彩色图像使用的颜色空间,选取RGB颜色空间的3个颜色分量及灰度值为代表判断装置成像效果,利

用标准偏差(Standard deviation, SD)和变异系数(Coefficient of variation, CV)进行定量评价,标准偏差与变异系数越小,装置成像效果越稳定。

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n}} \quad (7)$$

$$CV = \frac{SD}{\bar{x}} \quad (8)$$

式中: x_i 为样本中第*i*个值; $\bar{x}$ 为样本均值; n 为样本数。

1.2.2 莱克多巴胺定量检测评价指标

试验选用北京维德维康生物技术有限公司的胶体金快速检测卡和ELISA试剂盒对莱克多巴胺进行定量检测。

配制莱克多巴胺标准品溶液,质量浓度分别为0、0.03、0.06、0.13、0.25、0.50、0.75、1.00 $\mu\text{g/L}$,对应浓度梯度编号为1,2 $\cdots$,8。用附带滴管吸取待测溶液,加入3滴于检测卡的样品孔中,静置5 min后将检测卡放入装置中进行拍照。

另配制莱克多巴胺标准品溶液,质量浓度分别为0、0.10、0.15、0.30、0.45、0.90、1.35、4.05、8.10 $\mu\text{g/L}$,按照说明书向微孔板的孔中滴加标准品溶液、酶标记物工作液与抗体工作液,室温下避光反应30 min后加入终止液。用PerkinElmer酶标仪检测450 nm波长下的吸光度,并将微孔板放入图像采集装置拍照,酶标仪检测与拍照过程在5 min内完成。

基于智能手机的数字图像比色法是通过分析颜色特征值与浓度之间的关系实现浓度测定,不同的反应原理、不同的反应载体,以及不同的待测物质,都会导致颜色特征值对待测溶液浓度响应不同。为了确定本系统对莱克多巴胺检测的最佳颜色特征值,在RGB颜色空间分析各个颜色分量与莱克多巴胺质量浓度的相关性,选取与质量浓度相关性好、单调性一致、响应范围宽的颜色特征进行质量浓度-特征值的拟合,并用决定系数(Coefficient of determination, R^2)和均方根误差(Root mean square error, RMSE)对模型性能进行评价,决定系数越高,均方根误差越低,模型性能越好。

$$R^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - \bar{y})^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2} \quad (9)$$

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{n}} \quad (10)$$

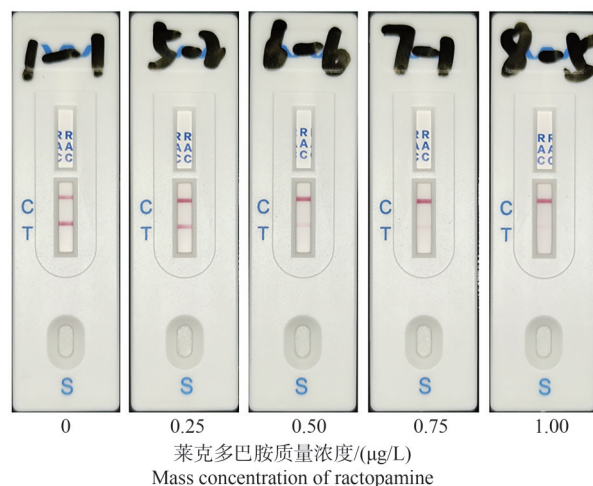
式中: $\hat{y}_i$ 和 y_i 为第*i*个样本的预测值和真实值; $\bar{y}$ 为样本均值。

2 结果与分析

2.1 装置成像效果分析

2.1.1 检测卡成像效果分析

图5为智能手机拍摄的滴加不同质量浓度莱克多巴胺溶液检测卡图像,可以看出,检测卡整体、C线、T线的变化清晰可见,图像无明显反光、阴影,图像质量较好。



检测卡上方的标记为试验编号,第一个数值表示莱克多巴胺质量浓度梯度编号,第二个数值为平行试验的试验编号。

The numbers above the test strip are experimental markers. The first number represents the mass concentration gradient of ractopamine, and the second represents the number of parallel experiment.

图5 智能手机拍摄的滴加不同质量浓度莱克多巴胺溶液检测卡图像

Fig. 5 Images of test strips dropped different mass concentration of ractopamine taken by smartphone

对同一检测卡进行多次拍照,计算T线和C线区域颜色特征的标准偏差和变异系数结果见表1,变异系数 $CV < 3\%$,说明装置成像效果稳定,有利于后续对图像进行处理和浓度预测模型的建立。

2.1.2 微孔板成像效果分析

图6示出智能手机直接拍摄和透过菲涅尔透镜拍摄的微孔板图像。当智能手机直接对微孔板拍照时,仅有中间正对手机摄像头的微孔可以准确成

表 1 同一检测卡多次拍照获得图像的颜色特征结果

Table 1 Color characteristic results of images taken multiple times with the same test strip

颜色特征 Color features	平均值 Mean value	标准偏差 Standard deviation	变异系数/% Coefficient of variation
R	152.19	2.94	1.93
G	141.94	2.78	1.96
B	206.71	3.56	1.72
Y	152.38	3.07	2.01

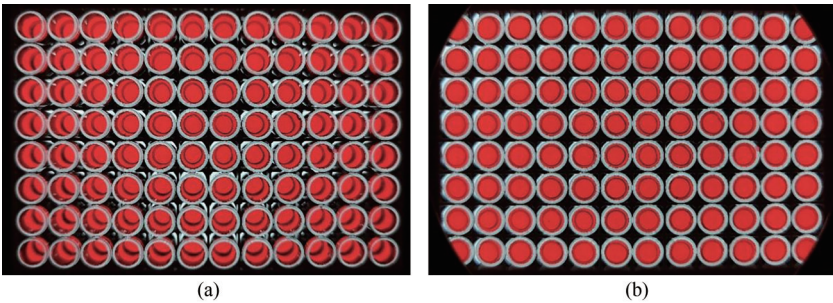


图 6 智能手机直接拍摄(a)和透过菲涅尔透镜拍摄(b)的微孔板图像

Fig. 6 Microplate image taken by smartphone directly (a) and through Fresnel lens (b)

像。由于摄像头的视场角有限,位于边缘的微孔和摄像头在水平方向有一定距离,从孔底和孔壁透过的光线进入摄像头导致微孔背景不一致,影响比色分析的准确性。当智能手机透过菲涅尔透镜对微孔板拍照时,微孔板边缘微孔可以准确成像,且与中间孔一致。由于菲涅尔透镜对光线有汇聚功能,可以改变光路,从孔底透射的光线可以进入摄像头中,微孔的背景为孔底的颜色,且所有微孔的背景颜色一致。

选取同一微孔板中间 80 个微孔,分别计算直接拍照和透过菲涅尔透镜拍照的图像中 ROI 区域颜色特征的标准偏差和变异系数,结果见表 2。使用菲涅尔透镜后,各个颜色特征的标准偏差和变异系数明显减小,与智能手机直接拍照的颜色特征相比,R、G、B 和灰度值 Y 的变异系数分别减小了 86.79%、85.80%、83.72% 和 87.73%,证明数据离散程度变小。各个微孔背景一致,有利于使用微孔板进行高通量分析,提高分析的准确性。

表 2 微孔板一次拍照获得图像的颜色特征结果

Table 2 Color characteristic results of image taken one time with microplate

颜色特征 Color feature	直接拍照 Take photos directly			透过菲涅尔透镜拍照 Take photos through Fresnel lens		
	平均值 Mean value	标准偏差 Standard deviation	变异系数/% Coefficient of variation	平均值 Mean value	标准偏差 Standard deviation	变异系数/% Coefficient of variation
R	199.62	22.98	11.51	225.28	3.43	1.52
G	38.64	5.69	14.72	46.63	0.97	2.09
B	35.84	5.08	14.19	41.45	0.96	2.31
Y	86.44	10.78	12.47	99.42	1.52	1.53

2.2 颜色特征值与莱克多巴胺质量浓度相关性分析

2.2.1 免疫层析法测定莱克多巴胺颜色特征值分析

对于免疫层析法测定莱克多巴胺,检测卡含有被事先固定于硝酸纤维素膜测试区(T线区域)的抗原和控制区(C线区域)的II抗以及固定于结合垫上的金标抗体,滴加莱克多巴胺后C线变为紫红色,莱克多巴胺质量浓度越大,T线的紫红色越浅,直至消失。免疫层析反应是一个动态过程,T线与C线的颜色会随着时间的变化而变化,本研究采用T线区域和C线区域的颜色特征值之比,在一定程度上抵消试纸的固有不均匀性与样品基质的影响^[25],计算方式为:

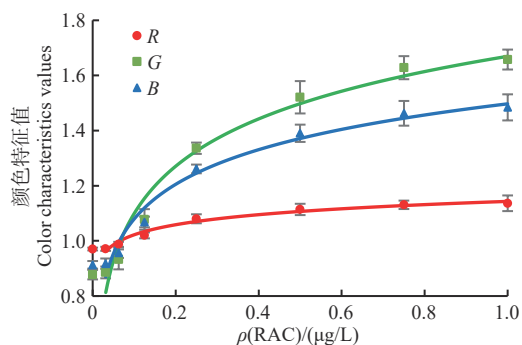
$$V_{\text{strip}} = \frac{V_T}{V_C} \quad (11)$$

式中: V_{strip} 为检测卡的颜色特征值; V_T 和 V_C 为 T 线区域和 C 线区域的颜色特征值。

R 、 G 、 B 这 3 种颜色特征都与莱克多巴胺质量浓度表现出一定的对数关系(图 7),相关系数 $R^2 > 0.97$,使用本系统进行莱克多巴胺检测卡的定量分析是可行的。其中 G 分量响应范围较宽,更适合作为检测卡中莱克多巴胺质量浓度的颜色特征值。

2.2.2 免疫吸附法测定莱克多巴胺颜色特征值分析

对于免疫吸附法测定莱克多巴胺,莱克多巴胺与



标记点上的竖线表示平行数据间的标准偏差; $\rho(\text{RAC})$ 为莱克多巴胺的质量浓度。下图同。

The vertical line on each point represents the standard deviation between parallel data. $\rho(\text{RAC})$ indicates the mass concentration of ractopamine. The same below.

图 7 R 、 G 、 B 颜色分量值随检测卡上莱克多巴胺质量浓度的变化

Fig. 7 Variation of R , G and B with mass concentration of ractopamine on the test strip

微孔板上固定抗原竞争抗体,再加入酶标记物,通过酶催化显色,莱克多巴胺质量浓度越高,溶液黄色越浅。

随着溶液质量浓度的变化,RGB 颜色空间的 3 个颜色分量中, R 和 G 分量的变化并不明显(图 8), B 分量响应范围较宽,和质量浓度具有对数关系,相关系数 $R^2 > 0.98$ 。

将微孔板放入商用酶标仪检测 450 nm 波长下

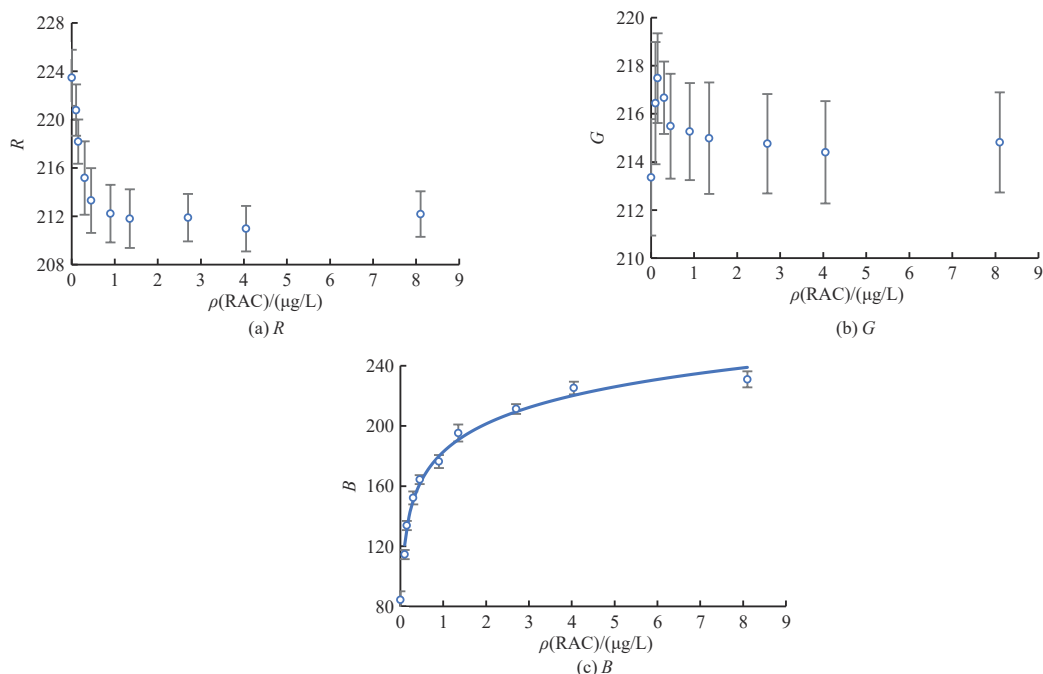


图 8 R 、 G 、 B 颜色分量值随微孔板中莱克多巴胺质量浓度的变化

Fig. 8 Variation of R , G and B with mass concentration of Ractopamine in microplate

的吸光度 OD_{450} , 并与本研究系统检测出的颜色特征值 B 进行比较, 2种仪器的检测结果呈现良好的线性相关关系(图9), 相关系数 $R^2=0.9873$, 证明本研究设计的系统可以代替酶标仪准确检测微孔板中莱克多巴胺的浓度。

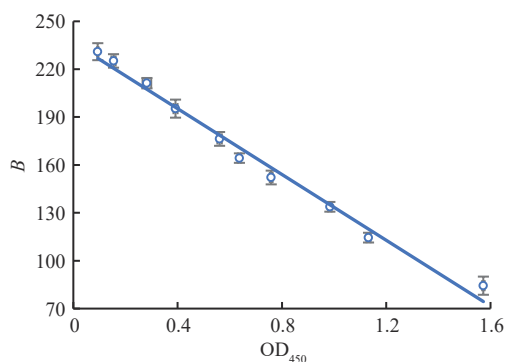


图9 本研究设计系统检测出的颜色特征值 B 与酶标仪检测结果 OD_{450} 的相关性

Fig. 9 Correlation of the measure result between smart phone and microplate reader

2.3 莱克多巴胺浓度预测模型

2.3.1 免疫层析法测定莱克多巴胺质量浓度预测模型

在对数坐标系下建立莱克多巴胺质量浓度与检测卡T线和C线区域 G 值之比的一元回归模型。质量浓度对数与T线和C线区域 G 值之比 G_{strip} 的线性关系见图10, 方程为:

$$G_{\text{strip}} = 0.2477 \times \ln \rho + 1.6694 \quad (12)$$

式中: ρ 为莱克多巴胺质量浓度, $\mu\text{g/L}$ 。模型决定系数 $R^2=0.9757$, 均方根误差 $\text{RMSE}=0.0559 \mu\text{g/L}$,

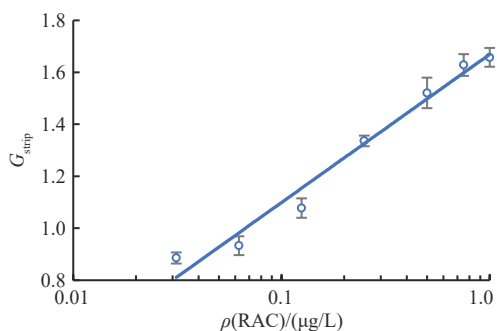


图10 检测卡ROI区域颜色特征值 G_{strip} 与莱克多巴胺质量浓度的对数关系

Fig. 10 The logarithmic relationship between the color characteristic value of the test strip ROI region and the mass concentration of ractopamine

式(12)可以用于免疫层析法对莱克多巴胺的定量检测。

实际样本点与拟合出的直线存在一定的偏差, 分析可知, 主要是由于本试验所选的检测卡为市面上最常用的莱克多巴胺快速检测卡, 依据T线是否可见判断实际样品的阴阳性, T线的深浅与浓度有一定的相关性, 但是定量关系不明显。结果的趋势明显, 表示本研究算法可行, 后续可以设计浓度可视化的试纸进行检测, 提高莱克多巴胺质量浓度与显色度的相关性, 提高检测的准确性。

2.3.2 免疫吸附法测定莱克多巴胺质量浓度预测模型

在对数坐标系下建立莱克多巴胺质量浓度与微孔板ROI区域内 B 分量的一元回归模型。质量浓度对数与微孔板ROI区域内 B 分量的线性关系见图11, 方程为:

$$B = 26.875 \times \ln \rho + 182.73 \quad (13)$$

模型决定系数 $R^2=0.9864$, 均方根误差 $\text{RMSE}=5.0803 \mu\text{g/L}$, 式(13)可以用于免疫吸附法对莱克多巴胺的定量检测。

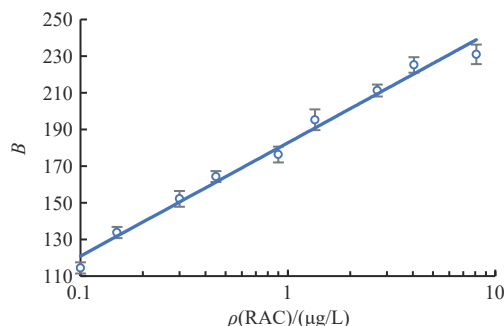


图11 微孔板ROI区域颜色特征值 B 与莱克多巴胺质量浓度的对数关系

Fig. 11 The logarithmic relationship between the color characteristic value of the microplate ROI region and the mass concentration of ractopamine

3 结论与讨论

本研究设计了一种基于智能手机的多功能食品安全快检系统, 包括图像采集装置、图像处理算法和智能手机应用程序, 并利用开发的系统实现不同反应载体中莱克多巴胺的定量检测。主要结论如下:

1) 本研究设计的便携式多功能图像采集装置, 可以实现对检测卡和微孔板的准确成像, 对同一检

测卡以及同一微孔板不同微孔成像获得的 ROI 区域颜色特征值的变异系数 $CV < 3\%$ 。

2) 免疫层析法检测莱克多巴胺时, T 线和 C 线区域的 R 、 G 、 B 3 个颜色分量特征值与莱克多巴胺质量浓度均具有对数关系 ($R^2 > 0.97$); 莱克多巴胺质量浓度为 $0.03 \sim 1.00 \mu\text{g/L}$ 时, 建立质量浓度对数与 T 线区域和 C 线区域 G 值之比的线性预测模型, 决定系数 $R^2 = 0.9757$, 均方根误差 $RMSE = 0.0559 \mu\text{g/L}$ 。

3) 免疫吸附法检测莱克多巴胺时, R 、 G 、 B 3 个颜色分量中 B 分量对莱克多巴胺质量浓度响应范围较宽, 具有对数关系 ($R^2 > 0.98$), B 值与酶标仪测定的结果 OD_{450} 具有良好的线性关系 ($R^2 = 0.9873$), 证明本系统可以代替酶标仪进行快速分析, 莱克多巴胺质量浓度为 $0.10 \sim 8.10 \mu\text{g/L}$ 时, 建立质量浓度对数与 B 值的线性预测模型, 决定系数 $R^2 = 0.9864$, 均方根误差 $RMSE = 5.0803 \mu\text{g/L}$ 。

对于莱克多巴胺的现场快速检测, 本研究设计的快速检测系统可以对检测卡与微孔板进行检测, 在图像采集装置中使用菲涅尔透镜实现对微孔板孔底准确成像, 用数字图像比色法代替人眼或实验室仪器进行检测, 不需要专业人员即可进行操作。本研究证明以智能手机为采集设备, 使用数字图像比色法对以试纸和微孔板为反应载体的兽药残留现场快速检测具有可行性, 可以为实际生产提供参考。

本研究方法的准确性依赖实际样品前处理方法的准确性与快检试纸条、试剂盒的准确性, 定量分析结果只适用于实际样品的快速筛查, 如果检测结果为阳性, 还需要应用仪器方法, 如高效液相色谱法、液质联用法等进行进一步确证。基于本研究已经完成的工作, 下一步可以细化浓度梯度, 对预测模型进行分段回归, 提升模型在全浓度范围内的准确性; 尝试建立如沙丁胺醇、盐酸克仑特罗等不同兽药残留的浓度预测模型。

参考文献 References

- [1] Brigida D J, Antonelo D S, Mazon M R, Nubiato K E Z, Gómez J F M, Netto A S, Leme P R, Cônsolo N R B, Pesce D M C, Silva S L. Effects of immunocastration and a β -adrenergic agonist on retail cuts of feedlot finished Nellore cattle[J]. *Animal*, 2018, 12(8): 1690-1695
- [2] Soares M H, Júnior D T V, de Amorim Rodrigues G, Júnior R L C, Rocha G C, Bohrer B M, Juárez M, de Souza Duarte M, Saraiva A. Effects of feeding ractopamine hydrochloride with or without supplemental betaine on live performance, carcass and meat quality traits, and gene expression of finishing pigs[J]. *Meat Science*, 2022, 191: 108851
- [3] 徐广伟. 瘦肉精的危害及检测方法研究进展[J]. 中国食品, 2018(7): 148-149
- [4] Xu G W. Research progress on hazards and detection methods of clenbuterol[J]. *China Food*, 2018(7): 148-149 (in Chinese)
- [4] 农业农村部. 农业农村部关于印发 2023 年兽药质量监督抽检和风险监测等 3 个计划的通知[EB/OL]. [2023-05-30]. https://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2023-02/22/content_5742673.htm
- [4] Ministry of Agriculture and Rural Affairs. Notice of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs on issuing three plans for veterinary drug quality supervision and sampling and risk monitoring in 2023[EB/OL]. [2023-05-30]. https://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2023-02/22/content_5742673.htm (in Chinese)
- [5] 王耀, 曹金博, 陈曦, 李燕虹, 陈秀金, 李兆周, 邓瑞广, 胡晓飞. 免疫分析技术在“新型瘦肉精”残留检测中的应用[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(6): 231-235
- [5] Wang Y, Cao J B, Chen X, Li Y H, Chen X J, Li Z Z, Deng R G, Hu X F. Application of immunoassay technique in detecting new type lean meat powder residues[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2019, 45(6): 231-235 (in Chinese)
- [6] 李苗, 马月姣, 李建成. 动物产品中莱克多巴胺的残留检测研究进展[J]. 中国兽药杂志, 2022, 56(5): 69-79
- [6] Li M, Ma Y J, Li J C. A review of the development of residue detection for Ractopamine in animal products[J]. *Chinese Journal of Veterinary Drug*, 2022, 56(5): 69-79 (in Chinese)
- [7] 宋丽丽, 王贝贝, 张玲艳, 何云江, 郝珊珊, 王学理. 胶体金免疫层析技术在兽医学中的应用[J]. 基因组学与应用生物学, 2020, 39(6): 2930-2940
- [7] Song L L, Wang B B, Zhang L Y, He Y J, Chi S S, Wang X L. Application of Colloidal Gold Immunochromatography in veterinary medicine[J]. *Genomics and Applied Biology*, 2020, 39(6): 2930-2940 (in Chinese)
- [8] Bonwick G A, Smith C J. Immunoassays: Their history, development and current place in food science and technology[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2004, 39(8): 817-827
- [9] Xiao M, Liu Z G, Xu N X, Jiang L L, Yang M S, Yi C Q. A smartphone-based sensing system for on-site quantitation of multiple heavy metal ions using fluorescent carbon nanodots-based microarrays[J]. *ACS Sensors*, 2020, 5(3): 870-878
- [10] Bhandodkar A J, Imani S, Nuñez-Flores R, Kumar R, Wang C Y, Mohan A M V, Wang J, Mercier P P. Re-usable electrochemical glucose sensors integrated into a smartphone platform[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2018, 101: 181-187
- [11] 杨文韬, 张琳, 刘宏, 顾忠泽. 基于智能手机的纸微流控电化学农药检测芯片的研究[J]. 分析化学, 2016, 44(4): 586-590
- [11] Yang W T, Zhang L, Liu H, Gu Z Z. Smartphone-based paper microfluidic device for potentiometric detection of pesticide[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2016, 44(4): 586-590 (in Chinese)
- [12] Yoon T, Shin D M, Kim S, Lee S, Lee T G, Kim K. Precise observation of *C. elegans* dynamic behaviours under controlled thermal stimulus using a mobile phone-based microscope[J]. *Journal of Microscopy*, 2017, 266(1): 28-34
- [13] Martinez A W, Phillips S T, Carrilho E, Thomas S W 3rd, Sindi H, Whitesides G M. Simple telemedicine for developing regions: Camera phones and paper-based microfluidic devices for real-time, off-site diagnosis[J]. *Analytical Chemistry*, 2008, 80(10): 3699-3707
- [14] Szpiszky C, Van Aartsen D, Criddle S, Rao P, Zentner I, Justine M,

- Mduma E, Mpagama S, Al-Shaer M H, Peloquin C, Thomas T A, Vinnard C, Heyssell S K. Determination of rifampin concentrations by urine colorimetry and mobile phone readout for personalized dosing in tuberculosis treatment[J]. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*, 2021, 10(2): 104-111
- [15] 章安良. 基于智能手机阵列式多样品水体中重金属铜离子检测研究[J]. 传感技术学报, 2022, 35(10): 1439-1444
- Zhang A L. Array-style multi-sample detection of copper ion in water using smartphone[J]. *Chinese Journal of Sensors and Actuators*, 2022, 35(10): 1439-1444 (in Chinese)
- [16] Sajed S, Vafaei K, Arefi F, Fathollahzadeh M, Kolahdouz M, Sadeghi M A, Neshat M. Instant sensitive measurement of Hg concentration using lab-on-a-phone colorimetry[J]. *Physica Status Solidi (a)*, 2019, 216(14): 1800871
- [17] 杨冬冬, 张校亮, 崔彩娥, 谭慷, 李晓春. 基于智能手机数字比色法的有机磷农药快速检测技术研究[J]. 分析测试学报, 2015, 34(10): 1179-1184
- Yang D D, Zhang X L, Cui C E, Tan K, Li X C. Smartphone-based digital colorimetric technology for rapid detection of organophosphorus pesticide residues[J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2015, 34(10): 1179-1184 (in Chinese)
- [18] 李周敏, 常博文, 陈炳丰, 李心爱, 谷苗苗. 基于智能手机利用蛋白芯片法检测猪肉中克伦特罗和莱克多巴胺的残留量[J]. 食品科技, 2021, 46(10): 271-276
- Li Z M, Chang B W, Chen B F, Li X A, Gu M M. Detection of clenbuterol and ractopamine residues in pork using protein chip method based on smart phones [J]. *Food Science and Technology*, 2021, 46(10): 271-276 (in Chinese)
- [19] 邹盛, 赵立宏. 一种酶标板培养孔颜色特征提取的图像检测方法[J]. 自动化仪表, 2018, 39(12): 9-12, 17
- Zou S, Zhao L H. Image detection method for extracting color features of ELISA plate wells[J]. *Process Automation Instrumentation*, 2018, 39(12): 9-12, 17
- [20] 晁晓欣, 李海琴, 杨泽华, 张校亮, 谭慷, 李晓春. 智能手机微孔板分析仪的开发与HSA的定量检测[J]. 分析测试学报, 2020, 39(7): 838-843
- Chao X X, Li H Q, Yang Z H, Zhang X L, Tan K, Li X C. Development of a smartphone-based microplate analyzer and its quantitative detection for Human Serum Albumin[J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2020, 39(7): 838-843 (in Chinese)
- [21] 刘庆祥, 蒋天发. 彩色与灰度图像间转换算法的研究[J]. 武汉理工大学学报: 交通科学与工程版, 2003, 27(3): 344-346
- Liu Q X, Jiang T F. A study of translation arithmetic between color image and grey image [J]. *Journal of Wuhan University of Technology: Transportation Science & Engineering*, 2003, 27(3): 344-346 (in Chinese)
- [22] Otsu N. A threshold selection method from gray-level histograms[J]. *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics*, 1979, 9(1): 62-66
- [23] Reddy B S, Chatterji B N. An FFT-based technique for translation, rotation, and scale-invariant image registration [J]. *IEEE Transactions on Image Processing*, 1996, 5(8): 1266-1271
- [24] Nair P S, Saunders A T. Hough transform based ellipse detection algorithm[J]. *Pattern Recognition Letters*, 1996, 17(7): 777-784
- [25] Li C H, Luo W, Xu H Y, Zhang Q, Xu H, Aguilar Z P, Lai W H, Wei H, Xiong Y H. Development of an immunochromatographic assay for rapid and quantitative detection of clenbuterol in swine urine[J]. *Food Control*, 2013, 34(2): 725-732

责任编辑: 刘迎春



第一作者简介: 李朝阳, 硕士研究生, 2017年9月至今就读于中国农业大学。曾获硕士二等奖学金、中国农业大学三好学生等荣誉。获2021年中国农业机器人大赛二等奖、第十届北京市大学生机械创新设计大赛一等奖等。



通讯作者简介: 刘星星, 中国农业大学副教授、博士生导师, 国家葡萄产业技术体系机械化研究室团队成员。主持国家自然科学基金青年项目1项, 参与国家科技支撑、国家自然科学基金等多项课题, 发表SCI/EI等学术论文20余篇。长期从事智能农业装备及控制相关研究, 涉及机器人视觉算法、采摘机器人、果实自动在线分级、日光温室环境精准监测与控制、无线传感器网络、低功耗嵌入式移动边缘计算终端开发等。开发了基于深度卷积神经网络识别定位算法的智能水果采摘机器人, 基于机器视觉的葡萄干快速在线形、色双标准综合分级设备, 基于多光谱图像的作物养分状态检测, 基于低功耗 Arm 处理器的边缘计算系统。