

应用光谱分析方法测定牛肝菌的产地和不同部位矿物质含量

陈凤霞¹, 杨天伟², 李杰庆¹, 刘鸿高³, 范茂攀^{1*}, 王元忠^{4*}

1. 云南农业大学资源与环境学院, 云南 昆明 650201
2. 云南省热带作物科学研究所, 云南 景洪 666100
3. 云南农业大学农学与生物技术学院, 云南 昆明 650201
4. 云南省农业科学院药用植物研究所, 云南 昆明 650200

摘要 我国是全球最大的牛肝菌出口国, 云南则是国内牛肝菌最大产区。美味牛肝菌香郁爽滑、营养丰富, 备受消费者青睐, 但因不同的地理气候和环境差异, 导致品质参差不齐。开展云南省不同产区美味牛肝菌产地鉴别, 有利于提高商品质量控制。本研究采集云南省 13 个产地美味牛肝菌样品 124 份, 使用傅里叶变换中红外光谱 (FTIR-MIR)、傅里叶变换近红外光谱 (FTIR-NIR)、紫外可见光谱 (UV-Vis) 和电感耦合等离子体原子发射光谱法测定光谱信息与不同部位矿质元素含量并进行分析, 对原始光谱进行平滑 (Savitzky-Golay, SG)、二阶导数 (SD)、标准正态变换 (SNV) 等预处理, 数据使用 Kennard-Stone 分类法分为训练集与预测集, 通过偏最小二乘判别分析 (PLS-DA) 和支持向量机 (SVM) 建立分类模型后进行对比分析, 寻找最佳的产地鉴别方法。结果显示: (1) 元素测定方法中茶叶标准物质回收率在 91.00%~106.00% 之间, 方法准确可靠; (2) 美味牛肝菌富含元素 K, P, Mg, Na 和 Ca 且不同部位相同产地, 不同产地相同部位元素之间存在差异性, 可能与美味牛肝菌不同部位的富集能力和不同产地地理环境差异相关; (3) 中级融合通过主成分分析 (PCA) 提取重要信息, 其中 FTIR-MIR 和 UV-Vis 光谱数据的累计贡献率分别达到 83.50% 和 66.70%, 代表重要信息变量; (4) 在 PLS-DA 与 SVM 模型中, 数据融合后的产地鉴别效果基本高于单一数据鉴别, 说明数据融合策略在美味牛肝菌产地鉴别中效果显著; (5) 采用 Hotelling T² 检测法对数据融合进行异常值检验, 结果表明模型未超过置信区间, 具有准确性与可信性; (6) PLS-DA 模型的初级融合和中级融合结果都高于 SVM, 说明 PLS-DA 模型中级融合可以作为产地鉴别的最佳方法。多种光谱结合不同部位矿质元素可准确鉴别不同产地美味牛肝菌, 为云南美味牛肝菌地域品质差异评价提供有效的分析方法。

关键词 美味牛肝菌; 多种光谱分析; 矿质元素; 产地鉴别

中图分类号: O433.4 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2020)12-3839-08

引言

云南省地形地貌复杂, 独特的立体气候条件使得云南野生菌种类丰富多样^[1]。野生食用菌备受消费者喜爱, 因具有较大的食用价值和经济价值而逐渐国际化^[2]。美味牛肝菌则是世界著名野生食用菌, 也被称为“王者牛肝菌”, 其肉质细腻、味道鲜美, 富含多种功能性物质, 兼具食药两用价值; 其菌在云南分布广、产量高, 但受地形气候的影响, 不同产地的美味牛肝菌品质差异明显, 营养物质和化学成分含量具有

差异性^[3-4]。传统的菇类鉴别方法鉴别野生食用菌, 主要以产地、子实体形状、菌体颜色、气味以及分泌物来进行区分, 但牛肝菌种类多, 种间形态较为相似, 仅凭传统方法鉴别难以达到预期效果^[5]。我国是野生菌生产和出口大国, 市面上销售的野生食用菌优掺劣、真掺假、中毒等安全问题突出, 相关部门难以管控。寻找一种准确快速的野生食用菌鉴别方法有重要性意义。

光谱技术具有低成本、易操作、稳定可靠等特点, 在食品分析中应用较为广泛。Giraud^[6]等根据光谱特征结合化学计量学成功对咖啡豆进行了产地鉴别; 有报道在牛肝菌产

收稿日期: 2019-10-02, 修订日期: 2020-02-15

基金项目: 国家自然科学基金项目(31660591), 云南省农业基础研究联合专项面上项目(2018FG001-033), 云南农业大学科技创新创业行动自然科学基金项目(2020ZKX106)资助

作者简介: 陈凤霞, 1994 年生, 云南农业大学资源与环境学院硕士研究生 e-mail: cfx0909@126.com

* 通讯联系人 e-mail: mpfan@126.com; boletus@126.com

地鉴别中使用了电感耦合等离子体原子发射光谱法与红外光谱法; Cebi^[7]等利用傅里叶变换衰减全反射红外光谱法对明胶橡皮糖进行分类的效果明显。数据融合是将多种数据信息整合、优化从而提高信息的采集能力与可信度^[8]。大多数单一光谱信息提取可能会因为环境、仪器等原因导致结果产生偏差,而数据融合结合光谱技术则可以解决单一光谱信息的片面性。Pizarro^[9]等使用光谱指纹图谱结合 PLS-DA 的数据融合成功对西班牙不同产地特级初榨橄榄油进行了分类。有研究采用 FTIR 与 UV-Vis 结合中级数据融合成功对牛肝菌进行了种类和产地鉴别。以上研究均采用光谱技术、数据融合等方式对食品进行分类分析并取得了较好的结果。

本研究采用 FTIR-MIR、FTIR-NIR、UV-Vis、元素等多元数据融合结合 PLS-DA 和 SVM 模型分类方法,对美味牛肝菌进行产地溯源研究,寻找最佳的产地鉴别方法。为美味牛肝菌质量管控与优质选择提供借鉴方法,保护消费者权益。

1 实验部分

1.1 材料

不同产地美味牛肝菌样品详细采集地点见表 1,样品经云南农业大学刘鸿高教授鉴定为成熟期美味牛肝菌。采集的样品用陶瓷刀刮去表面泥土、杂物并用自来水清洗干净,将样品的盖和柄分开切片后置于 50 °C 烘箱内烘干,粉碎后存放于聚乙烯自封袋备用。

1.2 数据信息采集

FTIR-MIR: 称取(1.50±0.20) mg 样品粉末与(100.00

±2.00) mg 溴化钾置于玛瑙研钵中混合研磨后用模具压成透明薄片。Frontier 型傅里叶变换红外光谱仪(Perkin Elmer 公司, USA)采集光谱范围为 4 000~400 cm⁻¹, 累计扫描 16 次, 仪器分辨率为 4 cm⁻¹。FTIR-NIR: 取(20.00±0.50) g 样品均匀混合, 置于玻璃器皿中压缩, Antaris II 型傅里叶变换近红外光谱仪(Thermo Fisher 公司, USA)在波数为 10 000~4 000 cm⁻¹ 范围扫描, 分辨率为 4 cm⁻¹, 信号累计扫描 64 次。UV-Vis: TU-1901 紫外-可见分光光度计预热 1 h, 加入甲醇的石英比色皿进行扫描扣除背景值。将(100.00±0.20) mg 样品粉末与 10 mL 甲醇置于试管中进行溶解并超声 40 min 采集并截取特征吸收峰光谱范围 200~400 cm⁻¹ 之间的变量。元素: 取美味牛肝菌盖、柄样品(200.00±0.10) mg 与 5 mL 硝酸和 2 mL 过氧化氢置于消解罐中加盖密封, 放入微波消解仪, 其中升温时间与保温时间为 5 min、功率为 1 500 kW、温度依次以 120, 150, 170 和 180 °C。消解结束后转入比色管用超纯水进行 25 mL 定容。利用相同的方法测茶叶标准物 GBW07605 与空白样品。所用数据每个样品一式三份, 取平均值。

1.3 数据处理

使用 OMNIC8.0 软件对光谱数据进行基线校正和吸光度转换, 将光谱数据用 SIMCA13.0 软件分别进行平滑(Savitzky-Golay)、二阶导数(second derivatives, SD)、标准正态变换(standard normal variables, SNV)等预处理。采用 Kennard-Stone 算法筛选 2/3(83)数据作为训练集 1/3(41)数据作为预测集。利用 SIMCA13.0 与 MATLABR2018a 分别建立 PLS-DA 与 SVM 模型。通过模型正确率来筛选最佳的产地鉴别结果。

表 1 美味牛肝菌产地来源信息

Table 1 The geographical origin information of *Boletus edulis*

序号	编号(样本数量)	产地	经纬度
1	1—26(26)	云南省玉溪市易门县铜厂乡	N 102.035 673, E 24.711 417
2	27—35(9)	云南省大理州弥渡县	N 100.490 991, E 25.343 804
3	36—42(7)	云南省大理州鹤庆县松桂镇	N 100.201 799, E 26.352 992
4	43—52(10)	云南省昆明安宁市八街镇温水村	N 102.393 251, E 24.577 04
5	53—62(10)	云南省昆明安宁市八街镇凤仪村	N 102.332 88, E 24.692 401
6	63—70(8)	云南省昆明安宁市八街镇六街村	N 102.359 501, E 24.663 574
7	71—80(10)	云南省昆明市石林彝族自治县长湖镇蓑衣山村	N 103.349 983, E 24.644 052
8	81—90(10)	云南省迪庆藏族自治州香格里拉市普达措国家公园	N 99.908 318, E 27.902 122
9	91—97(7)	云南省迪庆藏族自治州维西县	N 99.287 173, E 27.177 162
10	98—103(6)	云南省文山市东山乡	N 104.278 306, E 23.398 932
11	104—107(4)	云南省楚雄彝族自治州南华县沙桥镇	N 101.145 225, E 25.238 571
12	108—117(10)	云南省保山市隆阳区	N 99.165 607, E 25.121 154
13	118—124(7)	云南省曲靖市马龙县旧县	N 103.412 866, E 25.382 052

2 结果与讨论

2.1 元素测定方法

茶叶标准物质 GBW07605 元素测定结果如表 2, 其中回收率在 91%~106% 之间, 测定值与真实值结果接近。表明

此方法对美味牛肝菌元素含量的测定准确可靠。

2.2 美味牛肝菌矿质元素分析

13 个产地美味牛肝菌菌盖与菌柄矿质元素含量范围如表 3 所示分别是 Ba: 17.50~159.44, 15.72~181.98 mg · kg⁻¹; Ca: 104.74~467.72, 115.27~571.58 mg · kg⁻¹; Cr: 17.70~524.24, 10.09~354.27 mg · kg⁻¹; Cu: 24.03

表 2 茶叶标准物 GBW07605 的元素测定结果

Table 2 The element determination results of certified reference material GBW07605

元素	真实值/ (mg · kg ⁻¹ dw)	测定值/ (mg · kg ⁻¹ dw)	回收率 /%
Ba	58±6	56.5±7	97
Ca	4 300±400	4031±386	94
Cr	0.8±0.03	0.85±0.02	106
Cu	17.3±1.8	16.6±1.6	96
K	16 600±1 200	16 485±1061	99
Na	44±6	44.4±7.3	101
Ni	4.6±0.5	4.2±0.4	91
P	2 840±90	2 758.9±86.5	97
Sr	15.2±0.7	14.6±0.5	96
Zn	26.5±2	25.4±2	97
Mg	1 700±200	1 650.1±190	97
V	26.3±2	25.4±2	97

~ 53.15, 15.68 ~ 77.93 mg · kg⁻¹; K: 7 142.86 ~ 14 701.82, 5 636.27~14 279.42 mg · kg⁻¹; Mg: 421.44 ~

976.09, 246.24~924.63 mg · kg⁻¹; Na: 17.89~716.17, 18.84~887.34 mg · kg⁻¹; Ni: 9.66~60.32, 8.98~76.02 mg · kg⁻¹; P: 4 414.57~7 311.13, 2 198.33~2 423.69 mg · kg⁻¹; Sr: 2.10~143.60, 3.99~176.87 mg · kg⁻¹; V: 4.31~54.09, 5.28~60.31 mg · kg⁻¹; Zn: 86.24~165.06, 39.90~162.54 mg · kg⁻¹。美味牛肝菌中富含 K, P, Mg, Na 和 Ca 等矿质元素。大部分产地美味牛肝菌矿质元素含量菌盖大于菌柄, 除个别产地不同部位元素含量差异明显外, 菌盖和菌柄之间矿质元素含量差异幅度较小。K 在美味牛肝菌中含量最高, 其中云南省昆明安宁市八街镇凤仪村美味牛肝菌菌盖 K 元素已达到 14 701.82 mg · kg⁻¹; 其次是 P, 范围在 2 198.33~7 311.13 mg · kg⁻¹ 之间, 最大值与最小值之间相差 3.33 倍。不同产地 Cr 含量差距较大, 云南省楚雄彝族自治州南华县沙桥镇美味牛肝菌菌盖是云南省文山市东山乡美味牛肝菌菌盖的 29.62 倍; 不同产地 V 含量最大值与最小值也相差 13.99 倍。美味牛肝菌相同产地不同部位之间, 不同产地相同元素之间存在差异性。这有可能与美味牛肝菌不同部位富集差异及云南不同的环境、地形、土壤情况等因素有关。

表 3 美味牛肝菌不同部位矿质元素含量 (Mean±SD)

Table 3 Elements concentrations (Mean±SD) in Cap and Stipe of *Boletus edulis*

元素	部位	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Ba	Cap	72.94±46.93	17.50±11.22	18.32±1.99	26.52±4.63	117.11±48.40	159.44±7.55	41.83±27.94	29.08±10.35	35.16±1.51	21.23±2.86	70.89±46.69	45.22±30.96	43.20±23.75
	Stipe	47.61±31.86	15.72±12.31	62.63±38.25	33.44±20.86	59.00±45.77	181.98±9.49	74.78±63.08	87.00±45.27	154.95±12.58	61.69±8.66	43.53±15.99	69.58±24.87	23.54±5.83
Ca	Cap	206.23±69.30	159.94±27.09	126.27±13.43	104.74±37.02	427.77±130.68	467.72±45.75	433.34±89.99	282.34±145.70	118.39±7.13	105.57±11.23	407.33±345.44	305.87±110.75	159.62±31.34
	Stipe	255.29±207.77	125.34±27.41	229.70±76.36	115.27±49.59	266.06±106.31	459.33±66.62	571.58±108.16	276.88±136.16	259.94±13.42	420.98±228.30	425.59±226.92	278.98±29.12	125.33±18.16
Cr	Cap	119.46±271.28	18.67±4.14	22.70±2.32	114.95±156.02	445.89±320.47	97.61±7.42	88.10±88.93	18.23±5.31	109.97±4.40	17.70±2.38	524.24±207.58	73.94±117.57	70.20±44.05
	Stipe	72.89±90.48	10.09±3.45	149.99±194.99	43.03±44.80	108.86±91.39	20.82±0.90	202.14±210.97	36.53±21.19	20.17±3.48	188.72±127.86	354.27±165.68	203.05±187.81	18.49±7.23
Cu	Cap	34.35±19.35	43.86±15.05	27.08±4.97	52.15±23.71	53.15±14.81	24.60±1.86	52.81±13.24	47.39±16.82	24.03±1.04	37.74±0.86	29.05±8.46	33.54±5.27	45.85±18.32
	Stipe	43.91±48.34	27.07±12.13	29.81±19.77	43.02±29.79	77.93±34.02	15.83±1.34	30.21±8.10	38.46±12.36	25.16±1.32	20.12±1.70	15.68±4.64	24.87±5.28	49.98±7.00
K	Cap	13 056.13±1287.60	11 147.80±1847.87	12 568.72±250.57	12 344.97±1293.03	14 701.82±2439.61	9 738.93±339.73	12 716.9±1543.04	10 402.83±2139.03	11 187.07±86.41	9 930.76±270.12	7 142.86±612.67	12 738.90±2161.86	12 513.11±549.21
	Stipe	12 893.64±2 325.89	7 836.54±2 915.28	12 041.78±2 753.42	12 500.91±1 124.64	14 279.42±1 671.34	6 116.12±287.05	10 774.25±1 527.67	6 795.90±4 116.60	7 114.70±321.21	6 414.53±136.44	5 636.27±660.83	9 648.75±2 044.20	11 924.14±1 173.34
Mg	Cap	604.39±156.28	443.82±101.92	869.28±15.87	654.81±193.25	976.09±128.01	462.28±16.40	499.73±197.61	452.34±59.49	421.44±2.65	425.23±14.03	974.31±98.14	581.21±222.17	759.90±94.06
	Stipe	639.95±304.81	271.79±159.16	693.82±248.93	713.47±105.55	924.63±135.22	260.59±8.52	407.14±279.95	349.41±137.94	246.24±11.48	353.98±21.14	714.71±179.17	445.75±230.61	767.79±181.90

续表 3

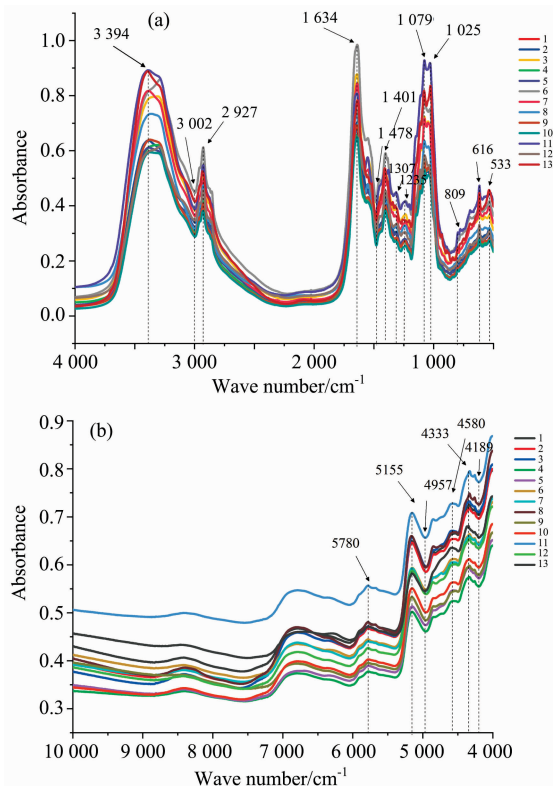
Na	Cap	503.95± 355.29	118.75± 214.91	239.15± 6.65	482.43± 166.49	466.75± 147.30	47.59± 33.27	198.52± 301.96	244.73± 122.31	60.18± 19.75	53.98± 13.42	17.89± 49.22	186.64± 210.06	716.17± 467.84
	Stipe	391.68± 256.37	112.82± 200.99	323.20± 165.60	623.17± 238.31	887.34± 249.15	18.84± 8.52	135.94± 189.22	200.98± 179.90	60.90± 22.40	52.74± 18.50	121.59± 113.49	170.00± 233.71	243.55± 18.51
Ni	Cap	22.37± 19.84	39.67± 13.03	9.66± 3.73	46.25± 49.44	37.62± 10.80	20.23± 0.84	27.58± 6.74	41.99± 15.88	15.96± 1.76	24.60± 2.40	60.32± 14.73	30.27± 3.47	11.11± 3.78
	Stipe	44.31± 68.79	33.12± 14.24	18.47± 5.90	29.59± 43.52	16.52± 17.58	22.61± 1.50	39.15± 9.81	76.02± 44.39	43.61± 5.88	37.94± 3.85	50.42± 17.09	34.18± 5.42	8.98± 4.65
P	Cap	4 414.57± 1 599.51	5 714.99± 883.53	7 311.13± 114.34	4 538.26± 1 437.37	5 883.04± 1 297.77	6 979.02± 270.41	5 650.06± 810.18	5 777.50± 1 867.40	5 958.11± 54.39	6 049.57± 217.61	6 018.86± 949.12	6 096.19± 651.11	5 020.82± 1 732.03
	Stipe	4 595.03± 1 748.71	2 423.69± 501.57	4 365.66± 1 576.56	4 538.67± 1 790.68	6 492.82± 1 289.92	2 886.56± 102.33	3 082.92± 758.40	2 525.58± 363.42	2 198.33± 107.30	2 639.33± 189.99	3 921.34± 1 291.84	3 697.69± 594.23	6 299.43± 2 082.44
Sr	Cap	15.04± 8.65	5.43± 0.94	2.10± 3.89	6.65± 3.57	18.18± 8.55	143.60± 14.58	11.58± 2.33	7.14± 4.91	11.71± 0.66	4.49± 0.58	12.16± 8.47	8.61± 2.00	5.28± 6.49
	Stipe	12.89± 6.45	4.83± 1.50	7.34± 4.84	6.79± 5.52	9.29± 6.49	176.87± 20.00	15.03± 3.28	18.31± 14.83	44.54± 4.76	16.06± 3.23	10.03± 1.98	12.75± 2.67	3.99± 3.70
V	Cap	26.21± 29.08	9.81± 3.88	13.89± 1.23	10.12± 333.57	54.09± 29.14	21.52± 1.88	32.23± 7.46	14.52± 12.52	4.31± 0.29	15.76± 0.95	29.21± 14.25	22.09± 10.170	18.65± 5.83
	Stipe	10.88± 8.75	5.28± 1.74	32.44± 8.89	9.07± 9.07	18.00± 13.84	19.83± 1.23	58.35± 16.59	60.31± 52.45	14.29± 1.93	47.64± 8.82	19.66± 9.37	32.92± 6.75	18.44± 5.20
Zn	Cap	89.06± 29.24	99.89± 19.59	111.16± 2.23	111.95± 9.07	165.06± 50.74	105.06± 2.85	119.34± 14.97	86.24± 22.82	95.03± 0.65	120.41± 5.14	93.26± 8.29	129.46± 19.53	104.74± 15.18
	Stipe	95.73± 43.69	47.52± 29.36	87.98± 62.54	109.14± 54.66	162.54± 43.54	44.79± 1.58	67.23± 27.02	51.58± 27.41	39.90± 1.23	49.53± 5.30	54.27± 23.83	74.40± 25.50	94.54± 35.72

2.3 光谱分析

FTIR-MIR: 图 1 中(a)为美味牛肝菌 13 个产地的 FT-IR-MIR 平均光谱。由图可知, 不同产地样品的原始光谱吸收峰基本相似。主要吸收峰强度在 3 500~3 000 和 1 700~550 cm^{-1} 之间存在明显差异。其中 3 394 cm^{-1} 附近的吸收峰为 O—H 伸缩振动与 N—H 伸缩振动, 主要表征蛋白质、多糖、纤维素; 3 002 cm^{-1} 附近为羟基、氨基伸缩振动; 2 927 cm^{-1} 附近为 $-\text{CH}_2$, $-\text{CH}_3$ 等基团伸缩振动, 主要表征蛋白质和多糖; 1 634 与 1 478 cm^{-1} 附近吸收峰表征蛋白质酰胺 I 带 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动与亚甲基弯曲振动; 1 401, 1 307 和 1 235 cm^{-1} 吸收峰为 $\text{C}-\text{O}-\text{H}$ 弯曲与 $-\text{CH}_2$ 变形振动, 表征糖类和蛋白质; 1 079 和 1 025 cm^{-1} 为多糖 $\text{C}-\text{O}$ 和 $\text{C}-\text{C}$ 键吸收伸缩振动。809~533 cm^{-1} 附近含多个弱吸收峰, 包括甘露聚糖、葡聚糖等糖类异构体的吸收峰。FTIR-NIR: 图 1 (b)为 13 个产地美味牛肝菌的 FTIR-NIR 平均光谱; 其中不同产地美味牛肝菌的 FTIR-NIR 光谱峰形比较相似, 但波数范围在 4 000~6 000 cm^{-1} 内的特征峰吸收强度明显, 表明不同产地美味牛肝菌中的化学物质具有差异。UV-Vis: 图 1(c)中 13 个产地美味牛肝菌的 UV-Vis 平均光谱图, 由图可知不同产地美味牛肝菌的 UV-Vis 吸收峰强度不同。图中主要吸收峰在 250~400 cm^{-1} 范围内; 其中, 350~400 cm^{-1} 范围内光谱大致相似, 可知样品化学成分大体相同。较强吸收峰在 273, 282 和 295 cm^{-1} 附近; 主要范围为 250~300 cm^{-1} 之间。表明不同产地美味牛肝菌存在指纹差异性, 可以为美味牛肝菌的产地鉴别提供依据。

2.4 主成分提取

主成分分析是从数据中提取重要的信息, 降低数据集维数的思想将多个相互关联的数值转化为少数几个综合指标来



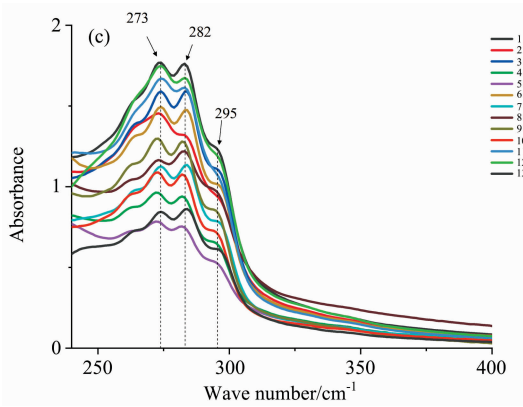


图 1 13 个产地美味牛肝菌的 FTIR-MIR, FTIR-NIR, UV-Vis 平均光谱图

(a): 13 个产地美味牛肝菌的 FTIR-MIR 平均光谱; (b) 13 个产地美味牛肝菌的 FTIR-NIR 平均光谱; (c): 13 个产地美味牛肝菌的 UV-Vis 平均光谱

Fig. 1 The average spectra of FTIR-MIR, FTIR-NIR and UV-Vis of *Boletus edulis* from 13 producing areas

(a): Average FTIR-MIR spectra of delicious porcini from 13 producing areas; (b): Average FTIR-NIR spectra of delicious porcini from 13 producing areas; (c): Average UV-Vis spectra of delicious porcini from 13 producing areas

进行分析^[10]。用 SIMCA13.0 软件分别对 FTIR-MIR、FTIR-NIR、UV-Vis、元素(盖)、元素(柄)提取特征值 >1 和 Q^2 最大时的主成分。由表 4 可知, 其中 FTIR-MIR 前 16 个主成分的平均特征值为 7.19, 累计贡献率达到了 0.835; UV-Vis 前 17 个主成分的平均特征值为 6.52, 累计贡献率为 0.667。提取五种数据的主成分并组合为一个新的数据矩阵, 为中级融合进行预备工作。

表 4 5 种数据主成分提取信息

Table 4 The 5 data principal components extract information

光谱类型	主成分/个	特征平均值	累计贡献率
FTIR-MIR	16	7.19	0.835
FTIR-NIR	36	2.30	0.102
UV-Vis	17	6.52	0.667
Element(Cap)	4	2.28	0.207
Element(Stipe)	4	2.43	0.430

2.5 PLS-DA

PLS-DA 是一种有师监督的多变量统计分析方法^[11]。模型中参数校正均方根误差(RMSEE)、交叉验证均方根误差(RMSECV)、预测均方根误差(RMSEP)参与校正模型评价, 其中 RMSEE、RMSECV、RMSEP 的值小于 1 且值越接近 0 代表模型效果越佳。在参数 RMSEP 小于 RMSECV 时, 可避免过拟合风险的出现。对 124 个美味牛肝菌样品的五种数据进行 PLS-DA 分析, 如表 5 所示, 经过数据融合后的产地鉴别效果比单一数据鉴别效果更佳。在单一数据 PLS-DA 分析中, FTIR-MIR 光谱的训练集与预测集分别为 97.44% 与 92.94%, 在 90.00% 以上, 高于其他单一数据。其次为 UV-Vis, 主成分个数为 12, 训练集与预测集为 94.12% 和 76.92%。FTIR-NIR 光谱与元素数据的预测集分别为 74.36% 和 58.97%。为提高模型的准确性, 增加数据量, 将单一的数据矩阵进行组合, 形成初级融合。在初级融合中, 训练集和预测集达到了 100.00% 和 94.87%, 显著性提高了产地鉴别的准确率。根据表 4 对五种数据提取具有代表性的主成分并进行中级融合, 在中级融合中, 训练集和预测集均可达到 100.00% 的正确率, RMSEE, RMSECV 和 RMSEP 的参数值均在 0.25 以下且 RMSEP < RMSECV, 无过拟合风险, 表明经过中级融合的 PLS-DA 模型分类效果好, 准确率高。

表 5 PLS-DA 模型参数结果

Table 5 The PLS-DA model results of Parameters

数据类型	主成分/个	RMSEE	RMSECV	RMSEP	训练集正确率/%	预测集正确率/%
FTIR-MIR	12	0.145 024	0.171 340	0.139 717	97.44	92.94
FTIR-NIR	10	0.135 533	0.204 858	0.182 668	91.76	74.36
UV-Vis	12	0.173 271	0.224 311	0.185 054	94.12	76.92
Element	7	0.217 580	0.239 423	0.208 616	67.06	58.97
Low-level	14	0.082 769	0.164 385	0.144 107	100.00	94.87
Mid-level	12	0.107 076	0.203 456	0.120 686	100.00	100.00

Hottelling T2 检测法为美国统计学大师哈罗德·霍特林所发明, 是一种常见的多变量检验法^[12]。为检验本数据融合模型的准确性, 采用多元统计分析 Hottelling T2 检测法对初级融合与中级融合进行异常值检验。图 2(a) 和 (c) 为初级融合和中级融合的 Hottelling T2 异常值检验结果, 其中 T2Crit(99.00%) 为 38.820 8 和 33.667, T2Crit(95.00%) 为 30.371 1 和 26.060 8。超出 T2Crit(99.00%) 置信区间的样品

则为异常样品, 图中所有样品的初级融合与中级融合都没有超过 T2Crit(99.00%) 置信区间, 表明在模型不存在异常值, 具有准确性与可信性。图 2(b) 和 (d) 为初级融合与中级融合得分图, 初级融合得分图中 13 个产地美味牛肝菌相同产地可大致聚在一起, 中级融合得分图的产地分类效果明显高于初级融合, 训练集和预测集均达到 100.00%。

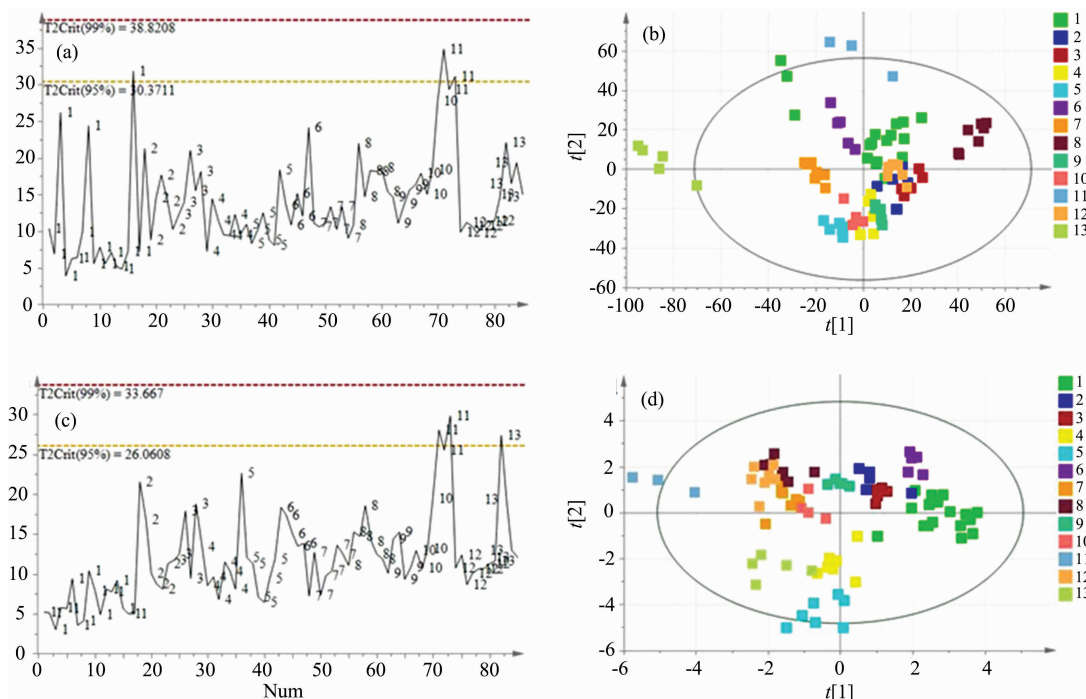


图 2 初级融合和中级融合的 Hotelling T2 置信图与得分图

(a): 初级融合 Hotelling T2 置信图; (b): 初级融合得分图;

(c): 中级融合 Hotelling T2 置信图; (d): 中级融合得分图

Fig. 2 Hotelling T2 confidence map and score map for primary and intermediate fusion

(a): Hotelling T2 confidence map with primary fusion; (b): Primary fusion score map;

(c): Intermediate fusion hotelling T2 confidence map; (d) Intermediate fusion score map

2.6 SVM

SVM 是数据中以分类或回归分析的监督式学习模型算法, 在世界上被广泛应用^[13]。对数据先进行 Kennard-Stone 分类, 分为 2/3 预测集和 1/3 训练集, 再采用 SVM 网格搜索最佳的 c 和 g 并对四种单一数据以及初级融合与中级融合数据进行分析, 结果表明: 数据错分类数从低到高排列中, 中级融合 = FTIR-MIR > 初级融合 > 元素 > FTIR-NIR > UV-Vis; 错分类数依次为 0, 0, 2, 5, 6 和 7。中级融合和 FTIR-MIR 全部分类正确, 效果优于初级融合、元素、FTIR-NIR 和 UV-Vis。说明在美味牛肝菌产地鉴别中, 光谱种类的选择和数据融合方法对鉴别效果具有重要意义。表 6 列出了四种单一模型与两种数据融合模型的惩罚系数、核函数半径、内部交叉验证正确率和种类预测正确率。其中 FTIR-NIR, UV-Vis 和元素的内部交叉验证正确率和种类预测正确率较低, 正确率均在 90.00% 以下。表明大多数单一数据的 SVM 模型效果不佳; 但 FTIR-MIR 模型与中级融合模型的内部交叉验证正确率和种类预测正确率都可达到 97.65% 与 100.00%。在数据融合中, 中级融合效果高于初级融合, 表明经过筛选后的数据避免了大部分无效信息干扰, 提高了分类模型正确率。通过表 5 和表 6 可知, 在 PLS-DA 分类模型和 SVM 分类模型中, 数据融合建立的分类模型效果显著优于单一数据模型。PLS-DA 分类模型效果优于 SVM 分类模型。PLS-DA 分类模型可以作为美味牛肝菌产地鉴别的最佳方法。

表 6 SVM 模型预测结果

Table 6 The results of SVM models

数据类型	惩罚系数	核函数半径	内部交叉验证正确率/%	种类预测正确率/%
FTIR-MIR	5.656 85	0.001 381 1	97.65	100.00
FTIR-NIR	22.627 40	0.000 122 1	71.77	84.62
UV-Vis	2.828 43	0.044 194 2	70.59	82.05
Element	5.656 85	0.125 000 0	67.06	87.18
Low-level	4.000 00	0.000 345 2	96.47	94.87
Mid-level	2.828 43	0.022 097 1	97.65	100.00

3 结论

采集美味牛肝菌样品的 FTIR-MIR, FTIR-NIR 和 UV-Vis 光谱信息和不同部位矿物质元素, 对光谱信息进行预处理, 使用 Kennard-Stone 算法把数据分为 2/3 的训练集合 1/3 的预测集后对单一数据和数据融合进行 PLS-DA 模型和 SVM 模型。结果表明, 美味牛肝菌不同部位和不同产地之间元素含量具有差异。原始光谱图中不同产地美味牛肝菌的光谱特征具有差异, 可进行产地区分。对优化后的数据建立 PLS-DA 和 SVM, 经过数据融合后的建模效果比单一数据建模更好。中级融合 PLS-DA 模型的训练集和预测集达到了

100.00%，可区分不同产地的美味牛肝菌。多光谱数据结合溯源研究。不同部位矿物质元素建立 PLS-DA 模型可用于野生食用菌产地

References

- [1] Feng B, Yang Z. *Plant Diversity*, 2018, 40(4): 165.
- [2] El Sheikha A F, Hu D. *Trends in Food Science & Technology*, 2018, 78: 292.
- [3] Qi L, Zhang J, Liu H, et al. *International Journal of Food Properties*, 2017, 20(sup1): S56.
- [4] Frankowska A, Ziolkowska J, Bielawski L, et al. *Food Additives and Contaminants: Part B*, 2010, 3(1): 1.
- [5] LI Shu-hong, ZHAO Yong-chang, YU Fu-qiang, et al(李树红, 赵永昌, 于富强, 等). *Edible Fungi of China(中国食用菌)*, 2011, 30(5): 34.
- [6] Giraud A, Grassi S, Savorani F, et al. *Food Control*, 2018, 99: 137.
- [7] Cebi N, Dogan C E, Mese A E, et al. *Food Chemistry*, 2019, 277: 373.
- [8] Jiang W, Xie C, Zhuang M, et al. *Sensors*, 2016, 16(9): 1509.
- [9] Pizarro C, Rodríguez-Tecedor S, Pérez-del-Notario N, et al. *Food Chemistry*, 2013, 138(2-3): 915.
- [10] Jolliffe I T, Cadima J. *Philosophical Transactions. Series A, Mathematical, Physical, and Engineering Sciences*, 2016, 374(2065): 20150202.
- [11] Ríos-Reina R, Elcoroaristizabal S, Ocaña-González J A, et al. *Food Chemistry*, 2017, 230: 108.
- [12] Park S H, Kim S B. *Journal of the Operational Research Society*, 2019, 70(6): 889.
- [13] Aljarah I, Al-Zoubi A M, Faris H, et al. *Cognitive Computation*, 2018, 10(3): 478.

Traceability of *Boletus Edulis* Origin by Multispectral Analysis Combined With Mineral Elements From Different Parts

CHEN Feng-xia¹, YANG Tian-wei², LI Jie-qing¹, LIU Hong-gao³, FAN Mao-pan^{1*}, WANG Yuan-zhong^{4*}

1. College of Resources and Environmental Sciences, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China
2. Yunnan Institute for Tropical Crop Research, Jinghong 666100, China
3. College of Agronomy and Biotechnology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China
4. Institute of Medicinal Plants, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650200, China

Abstract China is the world's largest exporter of *Boletus*, and Yunnan Province is the largest producer of *Boletus edulis* in China. The delicious *Boletus edulis* is fragrant and nutritious, and it is popular among consumers. However, due to different geographical climates and environmental differences, the quality is uneven. The production of *Boletus edulis* in different production areas in Yunnan Province was identified and the quality control was improved. In this study, 124 samples of delicious *Boletus edulis* from 13 producing areas around Yunnan were collected, using Fourier to transformed mid-infrared spectroscopy (FTIR-MIR), Fourier transform near-infrared spectroscopy (FTIR-NIR), and UV-visible spectroscopy (UV-Vis). Inductively coupled plasma atomic emission spectrometry was used to determine the spectral information and mineral content of different parts and analyze them. The original spectrum is smoothed (Savitzky-Golay SG), second derivative SD, standard normal variate (SNV) and other pre-processing. The data is divided into a training set and prediction set by Kennard-Stone classification. The classification model is established by partial least square discriminant analysis (PLS-DA) and support vector machine (SVM), and then the comparative analysis is carried out to find the best method of origin identification. The results show that: (1) The recovery rate of standard tea materials in the element determination method is between 91.00% and 106.00%, and the method is accurate and reliable. (2) *Boletus edulis* is rich in elements K, P, Mg, Na, Ca and the same place of origin in different parts. There are differences between the same parts in different places, which may be different from the enrichment ability of different parts of *Boletus edulis*. The geographical environment of the place of origin is related. (3) Intermediate fusion extracts important information through Principal component analysis (PCA). The cumulative contribution rate of FTIR-MIR and UV-Vis spectral data reaches 83.50% and 66.70%, which can represent important information variables. (4) In the PLS-DA and SVM models, the identification effect of the data after fusion is higher than that of the single data identification, indicating that the data fusion strategy is effective in the identification of delicious bovine liver. (5) Using the Hotelling T₂ to perform the outlier tests on data fusion. The results show that the model establishment does not exceed the confidence interval, and the model has accuracy

and credibility. (6) The primary fusion and intermediate fusion results of the PLS-DA model are higher than the SVM, indicating that the PLS-DA models intermediate fusion can be used as the best method for identification. Multi-spectral combined with mineral elements in different parts can accurately identify the delicious *Boletus edulis* from different habitats, and provide an effective analysis method for the regional quality difference evaluation of Yunnan *Boletus edulis*.

Keywords *Boletus edulis*; Multi-spectral analysis; Mineral; Identification of producing areas

(Received Oct. 2, 2019; accepted Feb. 15, 2020)

* Corresponding authors

本 刊 声 明

近期以来, 一些不法分子假冒《光谱学与光谱分析》期刊社名义, 以虚假网站等形式欺骗广大作者、读者。这些虚假网站公然假冒《光谱学与光谱分析》期刊名义进行大肆的征稿并骗取作者的审稿费和版面费。经部分作者及读者举报, 现有关部门已就此介入调查。本刊将通过法律途径向假冒者追究相应的责任, 维护本刊权利。

本刊官方网站已正式开通, 网址为

<http://www.gpxygpfx.com/>

在此郑重声明, 本网址为《光谱学与光谱分析》期刊唯一开通运行的官方网站。本刊从未授权任何单位或个人以任何形式(包括网上网下)代理本刊征稿、审稿等项业务。

希望广大读者和作者切实维护好自身的合法权益, 防止受骗上当。

《光谱学与光谱分析》期刊社

2019年3月15日