滩羊肉冷藏期间 TBARS 含量的高光谱检测

樊奈昀,刘贵珊*,张晶晶,袁瑞瑞,孙有瑞,李 月

宁夏大学食品与葡萄酒学院,宁夏银川 750021

摘 要 硫代巴比妥酸反应物(TBARS)是表征肉品脂肪氧化程度的主要化学信息。为探究二维相关光谱技 术(2DCOS)筛选羊肉中 TBARS 含量的特征变量的可行性,利用高光谱成像技术结合 2DCOS 分析建立 TBARS 含量的快速无损检测方法。采集样本在 400~1 000 nm 的光谱反射图像, 通过 ENVI 4.8 软件在光 谱图像上手动设置感兴趣区域提取原始光谱数据:采用偏最小二乘回归(PLSR)算法将光谱数据与 TBARS 浓度值进行关联,解释二者之间的相关程度;Kennard-Stone(KS)算法划分样本集对模型进行外部验证;为 消除原始光谱中的干扰信息,使用卷积平滑(SG),去趋势(de-trending)和 SG+de-trending 三种预处理方法 校正原始光谱;将 TBARS 化学值视为微扰量,采用 2DCOS 研究光谱信号的动态变化,分析二维相关光谱 及其切割光谱,确定与微扰相关的特征变量;变量组合集群分析(VCPA)、竞争性自适应加权算法(CARS) 和连续投影算法(SPA)用于全光谱变量和 2DCOS 特征变量的选择和优化;利用线性建模方法 PLSR 建立代 表性特征变量下 TBARS 含量的高光谱定量分析模型。结果显示, de-trending 预处理后建立的预测模型稳健 性较好,其 R_c²=0.874, RMSEC=0.106 mg • kg⁻¹, R_P²=0.853, RMSEP=0.139 mg • kg⁻¹; 进行 2DCOS 分析发现 579, 699, 756 和 867 nm 处存在与 TBARS 含量密切相关的自相关峰, 579~867 nm 范围内的特征 变量是 TBARS 含量检测的相关区域; VCPA, CARS 和 SPA 从全光谱数据和 2DCOS 分析中分别提取了 7, 16, 20, 8, 24 和 14 个具有代表性的特征变量;由所获得模型的准确性和可靠性可知利用 CARS 在 2DCOS 分析中优选代表性波长建立的检测模型可以准确无损地评估羊肉中 TBARS 含量,定量分析模型为: $13.91\lambda_{646} - 11.3\lambda_{655} + 12.64\lambda_{675} - 8.51\lambda_{684} - 7.81\lambda_{689} + 1.08\lambda_{703} - 2.54\lambda_{713} + 5.47\lambda_{727} + 6.62\lambda_{742} + 5.69\lambda_{751} + 5.69\lambda_{751} + 5.69\lambda_{751} + 5.69\lambda_{752} + 5.69\lambda_{751} + 5.69\lambda_{752} + 5.69\lambda_{753} + 5.60\lambda_{753} + 5.60\lambda_{753}$ 2. $48\lambda_{775} - 1.93\lambda_{780} - 6.95\lambda_{790} + 7.09\lambda_{799} - 3.56\lambda_{809} + 1.82\lambda_{819}$, $\ddagger R_c^2 = 0.857$, RMSEC = 0.113 mg \cdot kg⁻¹. 2DCOS 方法为光谱分析中变量的筛选提供了一种新思路,高光谱技术结合 2DCOS 分析无损检测羊肉中 TBARS 含量是可行的。

关键词 滩羊肉; TBARS; 高光谱成像; 广义二维相关光谱; 偏最小二乘回归 中图分类号: O433.4 文献标识码: A DOI: 10.3964/j.issn.1000-0593(2022)03-0713-06

引 言

脂肪氧化是羊肉品质劣化和新鲜度下降的重要影响机制,仅次于微生物引起的变化^[1]。硫代巴比妥酸反应物(thiobarbituric acid reactive substances, TBARS)被广泛用于评估肉品中脂肪氧化程度,是反映脂肪氧化程度的重要氧化参数^[2]。因此,实时检测滩羊肉中 TBARS 含量对保障肉品安全可食具有重要意义。分光光度法是测定 TBARS 含量的常规方法,具有破坏性、操作繁琐、一定的危害性和污染性

等缺点。

高光谱成像是一种先进的光学检测技术,能同时捕获待 测样本内部成分的光谱数据和外部属性的图像信息,通过分 析频谱波形和强度信息可实现肉品品质的定性或定量检 测^[3-4]。然而,肉的近红外光谱通常复杂且重叠,不仅包含有 用的光学、物理、化学信息,还包含被测样品内部因素产生 的其他光谱响应^[5]。因此,更好地了解光谱信息和更准确的 波段分配有助于开发稳健的校正模型^[6]。二维相关光谱技术 (two-dimensional correlation spectra, 2DCOS)将光谱信号扩 展到第二维上,在研究体系中添加一定的外扰诱发光谱信号

收稿日期: 2021-02-22,修订日期: 2021-06-06

基金项目:国家自然科学基金项目(31760435)资助

作者简介: 樊奈昀, 1996 年生, 宁夏大学农学院硕士研究生 e-mail: fny0606@163. com * 通讯作者 e-mail: liugs2018@163. com

发生动态变化,通过解析二维相关光谱谱图特征寻找与微扰 相关的敏感变量^[7]。目前,高光谱技术结合 2DCOS 分析无 损检测羊肉中 TBARS 含量的研究鲜有报道。

以滩羊肉中 TBARS 含量为外界扰动,分析随外部扰动 变化的光谱特征信息,确定与 TBARS 含量相关的特征变量, 探究高光谱技术结合 2DCOS 无损检测滩羊肉中 TBARS 含 量的可行性并建立分析模型,为实时快速检测 TBARS 含量 提供参考。

1 实验部分

1.1 材料与试剂

新鲜羊肉背最长肌购买于宁夏盐池县鑫海食品有限公司,将样本存储于 0~4 ℃的便携式冷藏培养箱中,2 h 内运输到实验室。使用无菌刀具除去肉样表面的脂肪和结缔组织,整形切块,尺寸约为 40 mm×40 mm×10 mm(长×宽×厚),共获得羊肉样本 180 个。所有样本均单独真空包装,随机分为 10 组(*n*=18),4 ℃贮藏,分别在贮藏期为 1,3,5,7,9,11,14,16,18 和 20 d 时进行测试。

1.2 仪器

可见/近红外高光谱成像系统(美国 Headwall Photonics 公司)和 UV1902PC 型紫外-可见分光光度计(上海棱光技术 有限公司)。推扫式高光谱成像系统主要由 6 部分组成:光谱 范围为 400~1 000 nm 的线扫描成像光谱仪,卤素灯光源, G4-232 增强型 EMCCD 相机,VT-80 精密电控位移平台,计 算机和数据采集软件。光谱成像仪共有 125 个波段,光谱分 辨率为 2.8 nm,狭缝宽度为 25 μm,光源为卤素灯双线 光源。

1.3 TBARS 含量测定^[2]

准确称取5g切碎肉样,将25mL20%的三氯乙酸溶液和20mL预冷去离子水添加到肉样中均匀混合,使用均质器均质,室温下静置20min。提取液在8000g条件下离心10min后过滤,然后使用去离子水将上清液稀释至50mL。最后,取5mL稀释后的上清液与0.02mol·L⁻¹的2-硫代巴比妥酸水溶液(5mL)混合,沸水浴反应30min。将反应溶液通过流动水冷却至室温后,以去离子水为空白,在532mm下读取反应液的吸光度值。按下式计算得到的TBARS值:

$$TBARS = A_{532} \times 7.8$$

其中,A₅₃₂是反应液在 532 nm 处的吸光度值。

2 结果与讨论

2.1 样本集划分

常规化学分析方法测定的 TBARS 含量统计结果如表 1 所示, TBARS 值具有较大的变化范围(0.16~1.47 mg・ kg⁻¹),有利于开发相对稳健的校正模型。采用 Kennard-Stone(KS)算法按 3:1 的比例选取 135 个样本作为校正集建 立模型,其余 45 个样本为预测集用于校正模型性能的验证。 KS 算法划分样本集时首先选择具有最长欧氏距离的两个矢 量进入训练库,在接下来的迭代过程中,选择拥有最大最小 距离的待选样本进入训练库,以此类推得到所需的样本 数量^[8]。

表 1 滩羊肉 TBARS 含量统计 Table 1 Statistics of measured TBARS contents in Tan mutton

		TBARS contents/(mg • kg^{-1})					
Data set	Samples	Max	Min	Mean	Standard deviation		
Calibration set	135	1.47	0.16	0.67	0.30		
Prediction set	45	1.37	0.17	0.61	0.35		

2.2 预处理方法优选

为了评估高光谱数据对滩羊肉中 TBARS 含量的实际预测能力,使用偏最小二乘回归(partial least squares regression, PLSR)模型将光谱数据与 TBARS 值进行关联。如表 2 所示,原始光谱数据(Raw)建立的校正模型产生了良好的预测效果,其 R_P^2 =0.821,RMSEP=0.157 mg·kg⁻¹。为进一步提升模型预测性能,采用卷积平滑(savitzky-golay,SG),去趋势(de-trending)和 SG+de-trending 三种预处理算法校 正原始光谱,消除不良散射效应。经对比分析,de-trending 预处理后建立的 PLSR 模型相比原始光谱模型的鲁棒性较好,其 R_C^2 =0.874,RMSEC=0.106 mg·kg⁻¹, R_P^2 =0.853,RMSEP=0.139 mg·kg⁻¹。TBARS 含量实测值与预测值的 线性拟合图如图 1 所示,以图形的形式展现各校正模型的预测性能,数据点大多与 45°参考线相邻,表明 TBARS 含量的测量值与预测值之间具有良好的线性回归关系。

	表 2	不同预处理方法下 TBARS 含量的 PLSR 模型
Table 2	PLSR modeli	ing results of TBARS content with different pretreatment methods

Pretreatment No.			Calibration set		Cross-validation		Prediction set	
method	LV	$R_{ m C}^2$	$RMSEC/(mg \cdot kg^{-1})$	$R_{ m CV}^2$	$RMSECV/(mg \cdot kg^{-1})$	$R_{ m P}^2$	$RMSEP/(mg \cdot kg^{-1})$	
Raw	17	0.830	0.123	0.722	0.159	0.821	0.157	
SG	20	0.829	0.123	0.706	0.164	0.805	0.189	
de-trending	20	0.874	0.106	0.770	0.144	0.853	0.139	
SG+de-trending	20	0.850	0.115	0.749	0.150	0.827	0.243	



(a): Raw-PLSR; (b): SG-PLSR; (c): De-trending-PLSR; (d): SG+De-trending-PLSR

2.3 2DCOS 分析

化合物的含氢基团分子键(O—H,C—H和N—H)在受 到光照射时,会造成分子键振动能的改变。通过解析波形和 频谱强度信息可以实现滩羊肉中 TBARS含量的定量检测。 图 2 为以 TBARS含量为微扰量,由滩羊肉的可见近红外光 谱进行 2DCOS分析产生的二维相关光谱及其切割光谱。如 图 2(b)所示;在同步二维相关光谱的对角线位置出现了4个 主要的自相关峰,分别为 579,699,756 和 867 nm。这些自 相关峰的出现表明随着 TBARS含量的增大,自相关峰所在 波段的光谱吸收强度很容易发生变化,该处的光谱信号对外 扰较敏感,是与 TBARS 值相关的敏感变量。与自相关峰对 应的主要交叉峰位于同步二维相关光谱的非对角线位置[图 2(a)],表 2 总结了各交叉峰的正负性。正峰表明 v₁ 和 v₂ 处 的信号强度沿相同方向变化,即一起增加或减少,负峰表明 v₁ 和 v₂ 处的信号强度沿相反方向变化。结合 2DCOS 分析, 选择 579~867 nm 光谱范围内的特征变量用作为滩羊肉中 TBARS 含量的检测。



(successive projections algorithm, SPA)^[13]从全光谱数据

(FS)和 2DCOS 分析中提取具有最多相关信息的特征波长, 建立简化模型并进行比较。由图 3(a)可知,当采样次数为 36

时, RMSECV 下降到 0.136 5, VCPA 从 FS 中选择了 7 个特 征波长,占到总波长的 5.6%。CARS 算法根据达尔文进化 论中"适者生存"的原则淘汰变量,在重复循环采样后提取代 表性波长。使用 CARS 算法从 FS 中选择了 16 个特征变量, 占到总波长的 12.8%。SPA 通过 RMSECV 值评估波长的候 选子集,然后使用消除程序除去不相关的波长。当 RMSECV 最小值为 0.141 时, SPA 从 FS 中选择了 20 个特征变量,占

总波长数的 16%。采用 VCPA, CARS 和 SPA 算法对

2DCOS分析所确定的研究区域进行二次筛选,分别优选出

了 8,24 和 14 个特征波长,具体特征波长提取结果见表 3。

表 2	二维相关分析产生的交叉峰符号
Table 2	Signs of cross-peaks generated from

two-dimensional correlation analysis

Wavelength/nm	579	699	756	867
Synchronous				
579	+	—	—	+
699		+	+	—
756			+	—
867				+

2.4 特征波长优选

采用变量组合集群分析(variable combination population analysis, VCPA)^[11]、竞争性自适应加权算法(competitive adaptive reweighted sampling, CARS)^[12]和连续投影算法



图 3 变量选择算法提取特征波长



Fig. 3 Characteristic wavelength extracted by variable selection algorithm

(a): VCPA algorithm; (b): SPA algorithm

表 3 特征波长提取结果

Table 5 The results of extracting characteristic wavelength	Table 3	The results of	extracting	characteristic	wavelength
---	---------	----------------	------------	----------------	------------

Wavelength extraction method	Variable number	Characteristic wavelength/nm
FS+VCPA	7	636, 641, 646, 660, 675, 694, 915
FS+CARS	16	415, 713, 727, 732, 751, 756, 785, 862, 895, 915, 924, 939, 958, 972, 977, 982
FS+SPA	20	401, 449, 458, 468, 492, 516, 559, 593, 603, 631, 675, 723, 795, 819, 843, 852, 943, 953, 972, 987
2DCOS+VCPA	8	631, 641, 646, 651, 660, 675, 689, 761
2DCOS+CARS	24	588, 593, 598, 603, 612, 622, 631, 636, 646, 655, 675, 684, 689, 703, 713, 727, 742, 751, 775, 780, 790, 799, 809, 819
2DCOS+SPA	14	593, 598, 603, 612, 622, 631, 641, 651, 660, 675, 689, 785, 809, 823

2.5 特征波长预测性能分析

模型性能统计结果如表 4 所示,与全光谱模型相比, VCPA和 SPA算法选择的特征波长建立的校正模型效果较差。VCPA-PLSR,SPA-PLSR和 2DCOS+VCPA-PLSR模型的 R²c 均小于 0.8,这可能是因为 VCPA和 SPA 算法在选择特征波段的过程中丢失了一些与 TBARS 值相关的有用信息。2DCOS+CARS-PLSR 模型性能最优,其模型有较高的 决定系数和较低的均方根误差($R_c^2 = 0.857$, RMSEC=0.113 mg・kg⁻¹, $R_P^2 = 0.862$, RMSEP=0.132 mg・kg⁻¹),这表 明 2DCOS+CARS 方法选择的特征波段与 TBARS 值更为相 关,并且 2DCOS+CARS 方法可有效识别代表性波长并消除 冗余信息。基于所获得模型的准确性和可靠性,进一步说明 利用 CARS 在 2DCOS 分析中选择的有效波长建立的检测模 型可以准确无损地评估滩羊肉中 TBARS 含量。

表 4 不同波长选取方法所建立的 PLSR 模型效果对比 Table 4 Comparison of PLSR models based on different wavelength extraction methods

Extraction	No.		Calibration set		Cross-validation		Prediction set	
method LV	$R_{ m C}^2$	$RMSEC/(mg \cdot kg^{-1})$	$R_{ m CV}^2$	$RMSECV/(mg \cdot kg^{-1})$	$R_{ m P}^2$	$RMSEP/(mg \cdot kg^{-1})$		
FS	20	0.874	0.106	0.770	0.144	0.853	0.139	
FS+VCPA	7	0.794	0.135	0.770	0.143	0.858	0.139	
FS+CARS	15	0.821	0.126	0.771	0.143	0.806	0.148	
FS+SPA	19	0.792	0.136	0.717	0.159	0.842	0.140	
2DCOS	20	0.850	0.115	0.751	0.150	0.854	0.139	
2DCOS+VCPA	8	0.795	0.135	0.769	0.143	0.839	0.146	
2DCOS+CARS	19	0.857	0.113	0.790	0.137	0.862	0.132	
2DCOS+SPA	14	0.815	0.128	0.771	0.143	0.845	0.143	

2.6 定量分析模型的开发

基于 2DCOS+CARS 方法选取的关键性波长建立了光 谱数据与滩羊肉中 TBARS 参考值之间的定量分析模型,模 型函数为: $Y_{(TBARS)} = -0.15 + 2.99\lambda_{588} - 7.01\lambda_{593} + 7.45\lambda_{598}$ - 6.14 λ_{603} + 7.06 λ_{612} - 8.25 λ_{622} + 2.64 λ_{631} - 4.18 λ_{636} + 13.91 λ_{646} - 11.3 λ_{655} + 12.64 λ_{675} - 8.51 λ_{684} - 7.81 λ_{689} + 1.08 λ_{703} - 2.54 λ_{713} + 5.47 λ_{727} + 6.62 λ_{742} + 5.69 λ_{751} + 2.48 λ_{775} - 1.93 λ_{780} - 6.95 λ_{790} + 7.09 λ_{799} - 3.56 λ_{809} + 1.82 λ_{819} 。 λ 表示 特征波长所对应的光谱反射信息,本模型可为 TBARS 含量 实时在线检测研究提供理论参考。

3 结 论

利用高光谱成像技术结合 2DCOS 分析对滩羊肉中 TBARS 含量进行检测分析,主要结论如下:

(1)通过3种不同预处理算法对样本原始光谱信息进行

References

- [1] Cifuni G F, Conto M, Failla S. Journal of Food Engineering, 2016, 169: 85.
- [2] Cheng W, Sørensend K M, Engelsen S B, et al. Journal of Food Engineering, 2019, 263: 311.
- [3] Cheng L J, Liu G S, He J G, et al. Meat Science, 2020, 167: 107988.
- [4] Wang C X, Wang S L, He X G, et al. Meat Science, 2020, 169: 108194.
- [5] Yuan R, Liu G S, He J G, et al. Journal of Food Science, 2020, 85: 1403.
- [6] Cheng W, Sun D W, Pu H B, et al. Journal of Food Engineering, 2019, 246: 200.
- [7] Cheng W, Sun D W, Pu H B, et al. Food Chemistry, 2018, 248: 119.
- [8] CHENG Yi-yun, ZHAO Rui-ying, QI Tian-ci, et al(陈奕云,赵瑞瑛,齐天赐,等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2017, 37(7), 2133.
- [9] WANG Wen-xiu, PENG Yan-kun, SUN Hong-wei, et al(王文秀,彭彦昆,孙宏伟,等). Food Science(食品科学), 2018, 39(18): 273.
- [10] Cheng L J, Liu G S, He J G, et al. Food Chemistry, 2020, 314: 128351.
- [11] ZHAO Huan, HUAN Ke-wei, ZHENG Feng, et al(赵 环, 宦克为, 郑 峰, 等). Journal of Changchun University of Science and Technology(长春理工大学学报), 2016, 39: 51.
- [12] Xiong Z J, Sun D W, Pu H B, et al. Food Chemistry, 2015, 179: 175.
- [13] Li H D, Liang Y Z, Xu Q S, et al. Analytica Chimica Acta, 2009, 648: 77.

校正, 优选出 de-trending 为最佳预处理方法, 其模型 $R_c^2 = 0.874$, RMSEC=0.106 mg · kg⁻¹, $R_P^2 = 0.853$, RMSEP=0.139 mg · kg⁻¹;

(2)以滩羊肉 TBARS 浓度值为外扰,采用 2DCOS 解析 二维相关光谱及其自相关谱,选择 579~867 nm 范围内特征 变量作为 TBARS 含量检测的研究区域,2DCOS 技术为光谱 分析中变量的筛选提供了一种新思路;

(3)利用 CARS 在 2DCOS 分析中选择的代表性波长建 立的检测模型可以准确无损地评估 TBARS 含量,模型方程 为: $Y_{(TBARS)} = -0.15 + 2.99\lambda_{588} - 7.01\lambda_{593} + 7.45\lambda_{598} - 6.14\lambda_{603} + 7.06\lambda_{612} - 8.25\lambda_{622} + 2.64\lambda_{631} - 4.18\lambda_{636} + 13.91\lambda_{646} - 11.3\lambda_{655} + 12.64\lambda_{675} - 8.51\lambda_{684} - 7.81\lambda_{689} + 1.08\lambda_{703} - 2.54\lambda_{713} + 5.47\lambda_{727} + 6.62\lambda_{742} + 5.69\lambda_{751} + 2.48\lambda_{775} - 1.93\lambda_{780} - 6.95\lambda_{790} + 7.09\lambda_{799} - 3.56\lambda_{809} + 1.82\lambda_{819}, 其 <math>R_c^2$ = 0.857, RMSEC=0.113 mg·kg⁻¹。

Rapid Determination of TBARS Contents in Tan Mutton Using Hyperspectral Imaging

FAN Nai-yun, LIU Gui-shan^{*}, ZHANG Jing-jing, YUAN Rui-rui, SUN You-rui, LI Yue School of Food & Wine, Ningxia University, Yinchuan 750021, China

Abstract Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) is the main chemical information that can effectively characterize the lipid oxidation degree in meat. A combination of hyperspectral technology with 2DCOS was investigated to develop the quantitative analysis model for assessing TBARS contents. The hyperspectral images of Tan mutton were collected in the spectral range of $400 \sim 1000$ nm. The regions of interest were manually set on the hyperspectral image of the, sample and the raw spectra data were extracted by ENVI 4.8 software. Partial least squares regression (PLSR) was established to correlate the spectra data with measured TBARS values. The kennard-Stone (KS) method was used to divide the whole data set to validate the calibration model. Savitzky-Golay (SG), de-trending and SG+de-trending were used to correct raw data for eliminating the interference information. The TBARS contents were regarded as a perturbation. Two-dimensional correlation spectra and their slice spectra were analyzed to determine the key variables associated with perturbation. Variable combination population analysis (VCPA), competitive adaptive reweighted sampling (CARS) and successive projections algorithm (SPA) was used to select variables from full spectra and 2DCOS analysis. PLSR algorithm was used to establish the hyperspectral quantitative analysis model of TBARS contents based on key variables. The result showed the PLSR model established by de-trending pretreatment presented good performance ($R_c^2 = 0.874$, RMSEC = 0.106 mg \cdot kg⁻¹, $R_P^2 = 0.853$, RMSEP = 0.139 mg \cdot kg⁻¹). The autocorrelation peaks related to TBARS values were observed at 579, 699, 756 and 867 nm. The wavelengths in the spectra range of 579~867 nm were the research area for detecting of TBARS contents. VCPA, CARS and SPA extracted 7, 16, 20, 8, 24 and 14 key variables from full spectra and 2DCOS analysis, respectively. Based on the accuracy and reliability of the obtained model, the model developed based on effective wavelengths selected by CARS from 2DCOS analysis could assess TBARS contents in an accurate and non-destructive manner. The quantitative model was: $Y_{(TBARS)} = -0.15 + 2.99\lambda_{588} - 7.01\lambda_{593} + 7.45\lambda_{598} - 6.14\lambda_{603} + 1.0000 + 1.0000 + 1.0000 + 1.0000 + 1$ $+6.\ 62\lambda_{742}+5.\ 69\lambda_{751}+2.\ 48\lambda_{775}-1.\ 93\lambda_{780}-6.\ 95\lambda_{790}+7.\ 09\lambda_{789}-3.\ 56\lambda_{809}+1.\ 82\lambda_{819}\ (R_{\rm C}^2=0.\ 857,\ {\rm RMSEC}=0.\ 113\ {\rm mg}\cdot {\rm kg}^{-1}).$ The research demonstrates that 2DCOS provide new insights into variable selection in spectra analysis. The combination of hyperspectral technology and 2DCOS is feasible for non-destructive monitoring of TBARS contents in mutton.

Keywords Tan mutton; TBARS; Hyperspectral imaging; Two-dimensional correlation spectra; Partial least squares regression

(Received Feb. 22, 2021; accepted Jun. 6, 2021)

* Corresponding author