

蓝莓可溶性固形物、总酸近红外无损检测模型的建立

刘小路¹, 薛璐^{*1}, 鲁晓翔¹, 张鹏², 陈绍慧², 李江阔²

(1. 天津商业大学 生物技术与食品科学学院/天津市食品生物技术重点实验室, 天津 300134; 2. 国家农产品保鲜工程技术研究中心 / 天津市农产品采后生理与贮藏保鲜重点实验室, 天津 300384)

摘要: 建立了近红外漫反射光谱技术检测蓝莓可溶性固形物、总酸的数学模型, 并对其进行评价。实验比较了在近红外全波长范围 400~2 500 nm 内, 不同的光谱预处理方法对模型的影响。结果表明利用偏最小二乘法(PLS)、一阶导数(D1Log(1/R))和加权多元离散校正处理(WMSC)建立的可溶性固形物含量(SSC)定标模型预测结果相对较好。其预测相关系数 R_p^2 为 0.8518, 预测标准误差(SEP)为 0.351, 相对分析误差(RPD)为 2.05。总酸的最佳模型处理条件为改进偏最小二乘法(MPLS)、二阶导数(D2Log(1/R))和 WMSC, 其 R_p^2 为 0.8776, SEP 为 0.042, RPD 为 2.10。由此确定近红外漫反射技术可用于蓝莓可溶性固形物、总酸含量的快速无损检测。

关键词: 蓝莓; 近红外漫反射光谱; 可溶性固形物; 总酸; 无损检测

中图分类号: TS 207.3 文献标志码: A 文章编号: 1673—1689(2016)07—0752—05

Non-Destructive Testing of Soluble Solids and Total Acidity in Blueberry by Near-Infrared Diffuse Reflectance Spectroscopy

LIU Xiaolu¹, XUE Lu^{*1}, LU Xiaoxiang¹, ZHANG Peng², CHEN Shaohui², LI Jiangkuo²

(1. College of Biotechnology and Food Science / Tianjin Key Laboratory of Food Biotechnology, Tianjin University of Commerce, Tianjin 300134, China; 2. National Engineering and Technology Research Center for Preservation of Agricultural Products / Tianjin Key Laboratory of Postharvest Physiology and Storage of Agricultural Products, Tianjin 300384, China)

Abstract: The purpose of this research is to establish mathematical model between near infrared diffuse reflection (NIR) spectroscopy and soluble solids and total acidity in blueberry, and to evaluate its application value. The influence of different spectral preprocessing methods on the model was compared in the spectral region between 400~2500 nm. The results showed that the calibration model with the partial least squares (PLS), the first derivative D1lg (1/R) and weighted multiple scatter correction (WMSC) could provide better prediction performance for SSC, with the correlation coefficient of prediction (R_p^2) of 0.8518 and the root mean square error of prediction (SEP) of 0.351 and relative percent deviation of prediction (RPD) of 2.05. The best model of total acidity is the modified partial least squares (MPLS) model, the second derivative D2lg(1/R) and WMSC, with the correlation coefficient of prediction (R_p^2) of 0.8776 and the root mean square error of prediction

收稿日期: 2015-01-13

基金项目: 国家“十二五”科技支撑计划项目(2012BAD38B01); 天津市创新团队项目(TD12-5049)。

* 通信作者: 薛璐(1976—), 女, 天津人, 工学博士, 副教授, 硕士研究生导师, 主要从事农产品加工与贮藏研究。E-mail: xuelu@tjcu.edu.cn

(SEP) of 0.042 and relative percent deviation of prediction (RPD) of 2.10. So the near-infrared diffuse reflectance spectroscopy can be used for fast nondestructive measurement of soluble solids and total acidity in blueberry.

Keywords: blueberry, near infrared reflection spectroscopy, soluble solid content (SSC), total acidity, non-destructive testing

蓝莓 (Blueberry) 学名为越桔 (*Vaccinium* spp.), 蓝莓除含有糖、酸外, 还富含多种维生素 (VC、VE、VA、VB 等)、SOD、熊果苷、花色苷、黄酮类、抗菌成分和丰富的食用纤维, 具有抗氧化、改善记忆、提高免疫力及明目等保健功能。由此可见, 蓝莓是一种功能性保健食品, 堪称“世界水果之王”。

可溶性固形物含量 (soluble solids content, SSC) 和总酸含量 (total acid, TA) 对蓝莓口感有很大影响, 是评价蓝莓品质的重要指标。传统化学方法检测蓝莓指标不仅破坏果实, 而且耗时长, 因此有必要找到一种简单、快速、高效的无损检测技术^[1]。近红外光谱技术作为一种快速、无损、高效的检测方法, 几乎可以用在所有与含氢基团相关的样品的物理、化学性质方面的分析。不同物质在近红外光谱区域有着丰富的吸收光谱, 通过化学计量学将这些吸收光谱的数据信息建立模型, 可以快速实现特定成分的定性或定量分析^[2], 因此近红外光谱技术在水果品质无损检测方面得到了广泛的应用^[3-9]。虽然近几年近红外光谱技术应用广泛, 但是在鲜食蓝莓品质方面的研究还比较少。作者研究近红外光谱技术建立 0℃ 贮藏条件下可鲜食蓝莓 SSC、TA 含量的数学模型, 通过对模型的校正、验证, 获得准确性较高的模型, 为以后鲜食蓝莓品质的无损检测提供理论依据及方法。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

蓝莓品种: 伯克利。蓝莓于 2014 年 7 月采自大连金州基地, 采摘当天将果实运回国家农产品保鲜工程技术研究中心实验室进行处理。

NIRS DS2500 近红外漫反射光谱仪: 丹麦 FOSS 公司产品; 糖-酸测定仪 (BRIX-ACIDITY METER (GMK-706R)) 产品; 数字手持折光仪 (PAL-1): 日本 A tago 公司产品。

1.2 试验方法

1.2.1 样品处理 将蓝莓用 PE 膜 (厚度为 0.05 mm) 包装, 封口, 在 0℃ 库中贮藏。实验前, 蓝莓置于常温环境下 1.5 h, 恢复至室温, 每次实验取 25 组, 每组 4 个果实。每组蓝莓同时进行光谱扫描, 然后将扫描后的蓝莓果实进行化学指标的测定。样品从采摘当天开始测定, 到低温贮藏 64 d 蓝莓变软、腐烂率达到 50% 停止测定, 其间每 8 d 进行测定, 共测 8 次。将 200 组数据随机分为定标集和预测集, SSC、TA 样品数分别为 160 个和 40 个。

1.2.2 光谱的采集 使用近红外漫反射光谱仪, 波长范围为 400~2500 nm, 扫描方式为快速扫描, 单波长扫描 32 次, 采用全息光栅分光系统, 硅 (400~1100 nm) 和硫化铅 (1100~2500 nm) 检测器采集信号。仪器用 Nova 软件采集果实光谱信息, 而 WinISI4 定标软件用来处理光谱数据, 实验测量时要避开表面凹陷、伤疤及污点等地方, 因蓝莓果实较小, 测定 SSC 和 TA 时采用四果同时扫描, 尽量将透光孔遮住, 在 Slurry Cup 上蓝莓果实均竖放, 避开果蒂进行光谱扫描。

1.2.3 SSC 测定方法 将标记的 25 组蓝莓先进行近红外光谱扫描, 然后分别用双层纱布挤汁到 100 mL 小烧杯中, 摇匀, 用手持折光仪测定蓝莓 SSC, 每组重复测定 3 次, 取平均值作为实测值。每次实验共 25 组, 整个实验做 8 次, 共 200 组实验数据。

1.2.4 TA 测定方法 取上述汁液 0.3 mL, 用 30 mL 的蒸馏水稀释, 摇匀, 用糖-酸测定仪进行电化学测定, 每组重复 3 次, 取平均值作为实测值。

1.3 光谱数据处理与分析

为了提高所建模型的准确性, 使用 WinISI4 定标软件, 对蓝莓原始光谱进行滤波和平滑处理, 以消除无关信息及噪声, 提取有效信息。作者采用偏最小二乘法 (PLS)、改进偏最小二乘法 (MPLS) 结合蓝莓光谱的一阶导数和二阶导数光谱处理方法建立蓝莓 SSC、TA 的模型, 并分析不同的平滑处理对

蓝莓 SSC、TA 定标模型的影响。然后再用未参与定标的未知样品对最优定标模型进行验证,评价模型的可行性。实验所建定标模型以交互验证相关系数(R_{cv}^2)和交互验证误差(SECV)作为评价指标。预测模型则通过预测相关系数(R_p^2)、预测标准误差(SEP)以及相对分析误差(RPD)评价所建模型的精确性。

2 结果与讨论

2.1 蓝莓 SSC、TA 标准实测值

蓝莓在贮藏期间,随贮藏时间的延长,蓝莓中

的化学成分在相关酶的作用下发生变化,导致果实中含氢官能团变化,而近红外光谱测量的主要是含氢基团 X-H(X=C、N、O、S 等)振动的倍频及合频吸收,因此,可用近红外光谱技术检测蓝莓果实的品质。

表 1 是蓝莓 SSC、TA 定标集和预测集的实测结果。定标集用来建立数学模型,应具有代表性,其组成要包含待测样品所包含的所有化学组分,其变化范围应大于待测样品的变化范围。由表可知,样品预测集的含量范围都在定标集范围内,作者所测样品可以用于建立蓝莓 SSC、TA 的近红外模型。

表 1 蓝莓 SSC、TA 实测结果

Table 1 SSC and TA of blueberry

分组	样品数	可溶性固形物			总酸		
		范围/%	平均值/%	标准差	范围/%	平均值/%	标准差
定标集	160	9.000~12.133	10.532	1.563	0.343~0.74	0.482	0.071
预测集	40	9.067~12.033	10.498	0.719	0.353~0.72	0.492	0.088

2.2 蓝莓近红外原始光谱

图 1 为低温贮藏期间蓝莓近红外扫描原始吸收光谱图。从图中可知,在波长 680、975、1 186、1 448、1 916 nm 处有显著的吸收峰。通过 WinISI4 定标软件分析可知,975 nm 和 1 186 nm 处的吸收峰主要是因为水分含量的差异引起的,这说明水分含量的多少对蓝莓的近红外光谱影响很大;第一个吸收峰 680 nm 处主要是由于叶绿素对光的吸收造成的;而吸收峰 1 448 nm 附近主要是 C-H、-CH₂ 键发生变化导致的。水果成分的基本化学基团 C-H 和 O-H 的倍频吸收谱带就在这个吸收峰附近。所以,不同时间贮藏的蓝莓能提供丰富的光谱信息,通过化学计量学提取有效的光谱信息,因此,应用近红外建立蓝莓可溶性固形物和总酸的定量分析模型具有可行性。

2.3 SSC、TA 最佳光谱预处理方法的确定

NIRS 采集蓝莓 SSC 和 TA 原始光谱时会受到与样品本身结构组成无关信息的干扰,还可能受到外界温度、环境条件、仪器状态等因素的影响,而且样品中不同成分间的相互干扰也有可能会导致光谱重叠。光谱预处理^[15]的目的是通过对光谱的适当处理或变换,减弱甚至是消除这些非目标因素的影响,尽可能去除无关信息变量,提高其分辨率和灵敏度,从而提高校正模型的预测能力和稳定性。

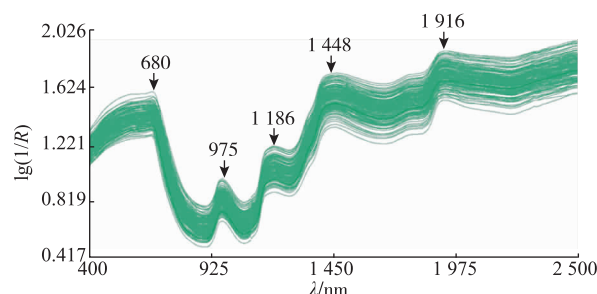


图 1 蓝莓果实近红外扫描原始光谱图

Fig. 1 Original spectrum of blueberries by NIRS

2.3.1 SSC 最佳光谱预处理方法的确定 SSC 采用 PLS 法结合不同的光谱预处理,通过比较找到最优模型。在全波长范围内比较了一阶导数($D1 \lg(1/R)$)、二阶导数($D2 \lg(1/R)$)和标准正常化处理(SNV)、去散射处理(Detrend)、标准正常化与去散射结合处理(SNV and Detrend)、标准多元离散校正(SMSC)和加权多元离散校正(WMSC)相结合的处理方法对 SSC 模型的影响。不同光谱预处理方法建模结果如表 2。

光谱的一阶导数($D1 \lg(1/R)$)和二阶导数($D2 \lg(1/R)$)是近红外光谱分析中最常用的基线校正和光谱分辨预处理方法。由表可知,SECV 差异不明显,但一阶导数的 R_{cv}^2 略大于二阶导数的 R_{cv}^2 ,主要是因为光谱采集时存在基线漂移,一阶导数不仅能更好的消除仪器背景的干扰和基线漂移,还能去除

样品不同组分之间相互干扰造成的光谱重叠现象,使光谱中的有用信息更加清晰的显示出来,具有更清晰的光谱轮廓变化和分辨率。因此,采用 PLS + D1 lg(1/R) + WMSC 的光谱预处理方法建立的 SSC 定标模型效果最好,其 SECV 为 0.271, R_{cv}^2 为 0.864。

表 2 SSC 法不同预处理的定标结果

Table 2 Calibration results of models constructed by different pretreatment(SSC)

预处理方法	可溶性固形物	
	SECV	R_{cv}^2
PLS + 一阶导数 + SNV	0.283	0.826
PLS + 一阶导数 + Detrend	0.289	0.810
PLS + 一阶导数 + SNV and Detrend	0.283	0.824
PLS + 一阶导数 + SMSC	0.282	0.827
PLS + 一阶导数 + WMSC	0.271	0.864
PLS + 二阶导数 + SNV	0.270	0.840
PLS + 二阶导数 + Detrend	0.287	0.798
PLS + 二阶导数 + SNV and Detrend	0.270	0.840
PLS + 二阶导数 + SMSC	0.282	0.815
PLS + 二阶导数 + WMSC	0.282	0.810

2.3.2 TA 最佳光谱预处理方法的确定 TA 采用 MPLS 法,表 3 是 TA 采用 9 种不同的预处理方法所建模型的结果,通过比较交互验证相关系数(R_{cv}^2)和交互验证误差(SECV)确定最优模型。

表 3 TA 法不同预处理的定标结果

Table 3 Calibration results of models constructed by different pretreatment(TA)

预处理方法	总酸	
	SECV	R_{cv}^2
MPLS + 原始光谱 + WMSC	0.035	0.824
MPLS + 一阶导数 + WMSC	0.036	0.860
MPLS + 二阶导数 + WMSC	0.034	0.882
MPLS + 二阶导数 + SNV	0.034	0.863
MPLS + 二阶导数 + Detrend	0.036	0.834
MPLS + 二阶导数 + SNV and Detrend	0.035	0.862
MPLS + 二阶导数 + SMSC	0.036	0.864

二阶导数虽然能有效地消除其它背景和基线的干扰,提高分辨率和灵敏度,但是它同时可能引入了噪声,使信噪比降低。在使用预处理时,光谱差分宽度的选择非常重要,如选择的差分宽度太小,噪声就会很大,影响所建定标模型的质量;反之,如果选择的差分宽度太大,再结合过度平滑,就可能使大量的细节信息流失。因此,基线校正要与光谱平滑紧密配合才能提高所建模型的准确性。由表 3 可知,TA 最优的光谱预处理方法是 MPLS + 二阶导数 + WMSC,其 SECV 为 0.034, R_{cv}^2 为 0.882。

在 TSS 和 TA 最优光谱预处理的条件下,讨论了波长对模型的影响。其中在波长 408~1 092.8 nm 范围内,TSS 和 TA 的 SECV 分别为 0.360 和 0.035, R_{cv}^2 分别为 0.704 和 0.733;在波长 1 108~2 492.8 nm 范围内,TSS 和 TA 的 SECV 分别为 0.522 和 0.058, R_{cv}^2 分别为 0.373 和 0.267,通过比较,结果表明 TSS 和 TA 在全波长 400~2 500 nm 范围内建模效果最好。

2.4 定标模型的验证

预测模型通过预测样本误差(SEP)、相关系数 R_p^2 以及相对分析误差(RPD)评价与对比所建模型的精确性。SEP 越小, R_p^2 值越大,表明模型的预测能力越强。当 RPD 在 2.0~2.5 之间,可进行粗略的定量分析,大于 2.5 或 3.0 以上具有较好或很好的预测效果。

为了验证模型的可靠性和稳定性,用未知的 40 个样品对模型进行验证。结果如图 2、图 3。预测结果表明,SSC 的 R_p^2 为 0.851 8,SEP 为 0.351,RPD 为 2.05;TA 的 R_p^2 为 0.8776,SEP 为 0.042,RPD 为 2.10。

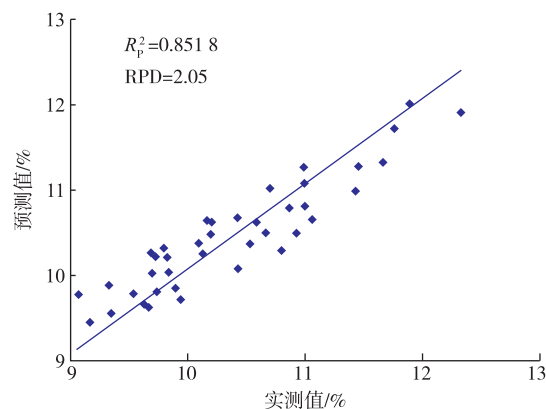


图 2 蓝莓 SSC 实测值与预测值的相关性

Fig. 2 Correlation between predicted values of optimized model and actual values of blueberry SSC

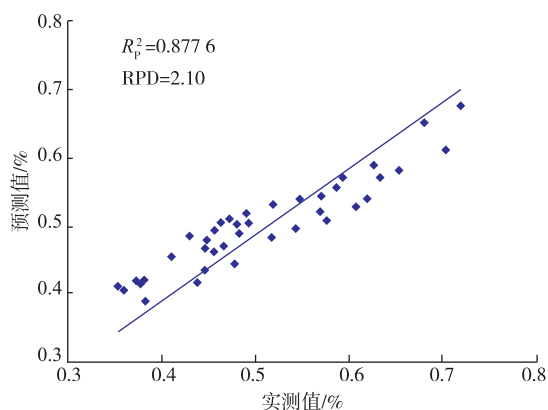


图3 蓝莓TA实测值与预测值的相关性

Fig. 3 Correlation between predicted values of optimized model and actual values of blueberry TA

由于蓝莓果实较小,4果扫描取平均光谱,其果实间的差异可能会导致光谱偏差较大;化学测量值作为基础数据,其准确性是影响近红外光谱分析结果的一个重要因素,基础数据越准确,所建模型的

精度就越高,其对未知样品的预测结果也越准确。实验用常规方法测定蓝莓SSC和TA时,虽然重复测定提高了准确性,但是仍然存在误差,从而导致近红外通过基础数据建立的模型其预测相关系数较低。

3 结 语

果实在贮藏期间,SSC和TA是反映果实成熟度的重要指标。作者在400~2500 nm全波长范围内对蓝莓可溶性固形物和总酸质量分数建立了近红外无损检测模型。结果表明,蓝莓SSC和TA定标模型的相关系数 R_{cv}^2 分别为0.8640和0.8818,定标标准误差(SEC)分别为0.269和0.031,预测相关系数 R_p^2 分别为0.8518和0.8776,预测标准误差(SEP)分别为0.351和0.042,RPD分别为2.05和2.10。因此,作者所建的模型仅能进行粗略的定量分析,今后应进一步研究和完善蓝莓可溶性固形物和总酸含量的近红外快速无损检测模型。

参考文献:

- [1] 李颖. 我国蓝莓物流流程研究[D]. 长春:吉林农业大学,2008.
- [2] 马广,傅霞萍,周莹,等. 大白桃糖度的近红外漫反射光谱无损检测试验研究[J]. 光谱学与光谱分析,2007,27(5):907-910.
MA Guang,FU Xiaping,ZHOU Ying,et al. Nondestructive sugar content determination of peaches by using near infrared spectroscopy technique[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*,2007,27(5):907-910. (in Chinese)
- [3] TEERACHAICHAYUT S,TERDWONGWORAKUL A,Thanapase W,et al. Non-destructive prediction of hardening pericarp disorder in intact mangosteen by near infrared transmittance spectroscopy [J]. *Journal of Food Engineering*,2011,106(3):206-211.
- [4] LOUW E D,KAREN I. Robust prediction models for quality parameters in Japanese plums (*Prunus salicina* L.) using NIR spectroscopy[J]. *Postharvest Biology and Technology*,2010,58:176-184.
- [5] 张鹏,李江阔,陈绍慧,等. 磨盘柿褐变指标的可见/近红外漫反射无损预测研究[J]. 食品与生物技术学报,2012,31(11):1673-1689.
ZHANG Peng,LI Jiangkuo,CHEN Shaohui,et al. Research on nondestructive measurement of browning indexes of mopan persimmon using visible and near infrared diffuse reflection spectroscopy [J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*,2012,31(11):1673-1689.
- [6] MOGHIMI A,AGHKHANI M H,SAZGARNIA A. Vis/NIR spectroscopy and chemometrics for the prediction of soluble solids content and acidity(pH) of kiwifruit[J]. *Biosystems Engineering*,2010,106:295-302.
- [7] 孙炳新,匡立学,徐方旭,等. 苹果有效酸度的近红外无损检测研究[J]. 食品工业科技,2013,15:298-301.
SUN Bingxin,KUANG Lixue,XU Fangxu,et al. Nondestructive measurement of pH in apples using near infrared spectroscopy [J]. *Science and Technology of Food Industry*,2013,15:298-301. (in Chinese)
- [8] SON J R,LEE K J,KANG S W,et al. Development of prediction model for sugar content of strawberry using NIR spectroscopy [J]. *Food Engineering Progress*,2009,13(4):297-301.
- [9] 唐长波,方立刚. 黄桃可溶性固形物的近红外漫反射光谱检测[J]. 江苏农业科学,2013,41(11):331-333.
TANG Changbo,FANG Ligang. Detection of soluble solids of Yellow peach by near-infrared diffuse reflection [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*,2013,41(11):331-333. (in Chinese)