

# 近红外光谱法同时测定涪陵榨菜中果胶和总糖的含量

刘冰<sup>1</sup>, 杨琼<sup>2</sup>, 朱乾华<sup>2</sup>, 杨季冬<sup>1,2,\*</sup>

(1.西南大学化学化工学院, 重庆 400715; 2.长江师范学院化学化工学院, 重庆 408100)

**摘要:**应用傅里叶变换近红外光谱技术,以涪陵榨菜为材料建立与其品质有关的果胶和总糖的定量分析模型。测定50份涪陵榨菜的近红外光谱数据,得到原始光谱,通过光谱预处理方法消除噪声,最后通过偏最小二乘法(PLS)建立回归模型。最终得到涪陵榨菜中果胶和总糖含量的近红外光谱分析模型,其决定系数( $R^2$ )分别为98.31、98.35,交叉验证均方差(RMSECV)分别为0.513、0.0531。用该模型对18份未知涪陵榨菜样本进行外部验证,其果胶和总糖的外部验证决定系数( $R^2$ )分别为96.69、95.63,预测集标准偏差(RMSEP)分别为0.572、0.0671。内部交叉验证和外部验证均证明,近红外定量分析有较高的准确度,能满足生产中对涪陵榨菜果胶和总糖同时测定的精度要求。

**关键词:**近红外光谱;涪陵榨菜;果胶;总糖

Determination of Pectin and Total Sugar in Fuling Mustard Tuber Samples by Near Infrared Spectroscopy

LIU Bing<sup>1</sup>, YANG Qiong<sup>2</sup>, ZHU Qian-hua<sup>2</sup>, YANG Ji-dong<sup>1,2,\*</sup>

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Southwest University, Chongqing 400715, China;

2. School of Chemistry and Chemical Engineering, Yangtze Normal University, Chongqing 408100, China)

**Abstract:** The determination of pectin and total sugar in Fuling mustard tuber samples by Fourier transform near-infrared spectroscopy (FT-NIRS) was studied. The original spectra of 50 Fuling mustard tuber samples were obtained by using FT-NIRS machine. Through math analysis, spectrum noise was decreased. Finally, the regression method was used by partial least square. Regression models between product quality and pectin or total sugar were established. The determination coefficients ( $R^2$ ) of the established model were 98.31 and 98.35. Its root mean square errors of cross-validation (RMSECV) were 0.513 and 0.0531, respectively. While the  $R^2$  and root mean square errors of prediction set (RMSEP) were 96.69, 95.63, 0.572 and 0.0671 in test set validation, respectively. Internal and external cross-validation tests exhibited that near-infrared quantitative analysis had high accuracy and could meet the requirement for predicting pectin and total sugar contents in Fuling mustard tuber products.

**Key words:** near infrared spectroscopy; fuling mustard tuber; pectin; total sugar

中图分类号: O657.39

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)10-0186-04

涪陵榨菜系采用茎用芥菜(*Brassica juncea* var. *tumida*)俗称青菜头,经整理、脱水、3次加盐腌制后熟而成的一种蔬菜腌制品<sup>[1]</sup>。涪陵榨菜因采用风脱水而独具特色,以其鲜、香、嫩、脆,回味返甜,深受国内外广大消费者喜爱。2005年成为地理标志产品<sup>[2]</sup>。为了满足市场经济消费水平的提高,适应消费者的需求,需要不断提高涪陵榨菜的质量。在评价涪陵榨菜

的质量时,质地脆嫩是一个重要因素,而果胶物质是影响榨菜脆性的关键因素之一<sup>[3]</sup>。同时总糖的含量关系到榨菜的色、香、味和营养价值<sup>[4]</sup>。目前果胶的测定常采用重量法<sup>[5]</sup>和比色法<sup>[6-8]</sup>,总糖的测定常采用直接滴定法和比色法。目前采用的测定果胶和总糖的方法前处理繁琐,分析时间长,消耗大量试剂,且无法同时测定,难以满足大批量分析和即时控制的需求。

收稿日期: 2010-08-05

基金项目: 重庆市科委科技攻关项目(CSTC 2008EA5008)

作者简介: 刘冰(1986—),男,硕士研究生,研究方向为近红外光谱应用。E-mail: liubing701@126.com

\*通信作者: 杨季冬(1956—),男,教授,博士,研究方向为分子光谱分析。E-mail: flyjd6400@sina.com

近红外光谱(near infrared spectroscopy, NIR)是近年来迅速发展起来的一种有效简便的分析方法,其最大特点是快速、前处理简单、可同时测定<sup>[9]</sup>。近红外光谱指可见光谱区到中红外光谱区之间的电磁波,通常将近红外谱区的范围定义为780~2526nm(12820~3959cm<sup>-1</sup>),光谱信息来源于分子内部振动的倍频与合频,并且主要反映分子中C—H、N—H、O—H基团的倍频和合频振动吸收,其化学信息量相当丰富<sup>[10]</sup>。因此,适合近红外光谱测量的物质种类范围和场合十分广泛,可用于非破坏性测定、在线分析等。目前已在食品检测方面有广泛的应用<sup>[11-12]</sup>。

由于常规检测涪陵榨菜中果胶和总糖的含量,需要分别测试,非常繁琐,因此本实验拟用近红外光谱技术能够同时测定的优点,通过近红外光谱同时测定榨菜中的果胶和总糖的含量,目前尚未见报道,以期为在线研究果胶含量与脆性的关系以及总糖与榨菜风味的形成关系提供理论基础。

## 1 材料与试剂

### 1.1 材料、试剂与仪器

榨菜为重庆各大超市市售7个典型品牌25个批次共计68个样本,榨菜均出产于国家地理标志产品涪陵榨菜所划定的范围,其中50个作为校正集,18个作为预测集。在样品统一测定前24h从冰箱中取出,待样品温度平衡到室温后扫描其近红外光谱。

D-无水葡萄糖标准品(批号110833-200503) 中国药品生物制品检定所;浓硫酸、盐酸、醋酸、结晶氯化钙、苯酚、氢氧化钠均为分析纯。

Bruker VECTOR 22/N 傅里叶变换近红外光谱仪(PbS检测器、漫反射积分球附件、附带OPUS 5.0光谱软件)德国布鲁克仪器公司;U-3010紫外-可见分光光度计 日本日立公司;EL104分析天平 上海Mettler-Toledo公司;HH-2数显恒温水浴锅 江苏荣华仪器公司;FZ-102型微型植物粉碎机 天津泰斯特仪器公司;101A型恒温干燥箱 浙江沪南仪器公司。

### 1.2 方法

扫描光谱前,每个涪陵榨菜样本称取100g,然后经粉碎机充分粉碎使其均质化。

榨菜中果胶含量根据重量法测定,总糖的含量根据苯酚硫酸法比色法测定。其中要求在重复条件下获得的2次独立测定结果的绝对差值依次不得超过算术平均值的5%。以上测定均重复2次,测定过程中所得数据超过要求精度的均重新进行测定,有效分析结果作为建模数据。采集光谱时,将处理后的榨菜样本装入近红外光谱仪附带的10cm石英样品杯内,利用近红外光谱仪的旋转器使样品杯匀速转动,用积分球漫反射采样系统采集其

NIR光谱。以空气为参比,扫描范围12800~4000cm<sup>-1</sup>,扫描次数64次,分辨率4cm<sup>-1</sup>。每个样品扫描两次。

## 2 结果与分析

### 2.1 涪陵榨菜近红外吸收光谱及常规分析数据

图1为涪陵榨菜校正集样本近红外吸收光谱图,可以看出,校正集样本吸收光谱图重叠严重,含量不同的样本的近红外光谱十分接近,无法直接判定果胶和总糖的含量与个别波长点的吸光度之间的相关性,不可能从某一个波长点来确定其含量,而必须在一定的区间内建立数学模型来确定近红外光谱和含量间的关系。图1中12000~8000cm<sup>-1</sup>区间处于C—H等键的多级倍频区,信号弱,噪音干扰大。而8000~4000cm<sup>-1</sup>区间,则是C—H键和O—H键的一级倍频和组合频区,信号强,能反映出样品的性质和组成间有关联<sup>[13]</sup>。

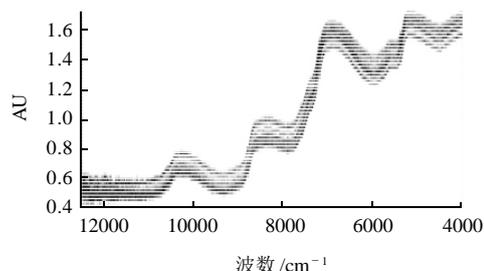


图1 50个校正集样本的近红外吸收光谱图  
Fig.1 Near infrared spectra of 50 calibration samples

表1为涪陵榨菜校正集和预测集样本中果胶和总糖的常规分析数据。所用的涪陵榨菜样本果胶含量分布在20.54~35.35mg/g、总糖含量分布在2.141~4.021mg/g,样本的各组分范围基本上覆盖了涪陵榨菜中可能出现的含量。校正集和预测集各组分均包含了较大的范围,这对建立模型的稳定性和代表性很有帮助。

表1 涪陵榨菜品质常规分析数据

Table 1 Routine quality analysis of Fuling mustard tube samples

	果胶		总糖	
	校正集	预测集	校正集	预测集
样本数	50	18	50	18
含量最大值/(mg/g)	35.35	31.20	4.021	3.68
含量最小值/(mg/g)	20.54	20.54	2.141	2.337
含量平均值/(mg/g)	27.581	26.23	2.837	2.901
标准偏差/(mg/g)	3.98	3.23	0.418	0.330

### 2.2 数据处理原理

仪器采集的原始光谱中除包含与样品组成有关的信息外,同时也包含来自各方面因素所产生的噪音信号。这些噪音信号会对谱图信息产生干扰,从而影响校正模

型的建立和对样品组成或性质的预测。因此,在进行光谱谱图数据和榨菜中的果胶和总糖含量的化学值关联之前,需通过对校正集近红外吸收光谱进行光谱预处理,以消除噪声和基线漂移的影响,然后将预处理后的光谱数据经偏最小二乘法建立模型,经内部交叉验证检验模型稳健性,通过衡量模型的主要参数如相关系数( $R^2$ )、交叉验证均方差(RMSECV)和预测集标准偏差(RMSEP)以评价模型质量,一个好的模型应该具有较高的 $R^2$ ,较低的RMSECV和RMSEP值,并且RMSECV和RMSEP值尽量接近<sup>[14]</sup>。 $R^2$ 、RMSECV和RMSEP的计算方法为:

$$R^2/\% = [1 - \frac{\sum_{i=1}^n (Y_{Ti} - Y_{Pi})^2}{\sum_{i=1}^n (Y_{Ti} - \bar{Y}_a)^2}] \times 100$$

$$RMSECV = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (Y_{Ti} - Y_{Pi})^2}{n-1}}$$

$$RMSEP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (Y_{Ti} - Y_{Pi})^2}{n}}$$

式中: $n$ 为样本个数; $Y_{Ti}$ 为实测值; $Y_{Pi}$ 为样本预测值; $\bar{Y}_a$ 为样本实测平均值。

### 2.3 光谱预处理方法对校正模型的影响

通过比较消除常量偏移、矢量归一化、多元散射校正以及一阶和二阶导数所建模型的决定系数( $R^2$ )以及RMSECV的值(表2),可以看出这五种光谱预处理方法对涪陵榨菜中果胶和总糖的校正模型处理效果不同,其中采用消除常量偏移处理所得模型的 $R^2$ 最大,而RMSECV的值最小。因此,本实验优先采用的是消除常量偏移。

### 2.4 以校正集样本建立数学模型

以Bruker傅里叶变换近红外光谱仪附带的OPUS软件对50个校正集样本光谱数据进行偏最小二乘回归,经内部交叉验证,建立数学模型。在采用PLS建模时,需要确定模型所需的主因子数。在校正集样本一定的情况下,因子数太低,会导致建模信息不全,模型预测能力低,出现“欠拟合”现象;反之,因子数过多,会导致模型过于复杂,从而出现“过拟合”的现象,同样导致预测能力降低<sup>[15]</sup>。因此,需要对使用的因子数进行合理选择。本研究通过交叉验证的方法,考察

因子数对RMSECV的影响。图2A、2B为果胶和总糖的RMSECV随Rank的变化图。得到的主因子数(图中箭头所示)应使模型的RMSECV最小。进而得到最优回归条件如表3所示。

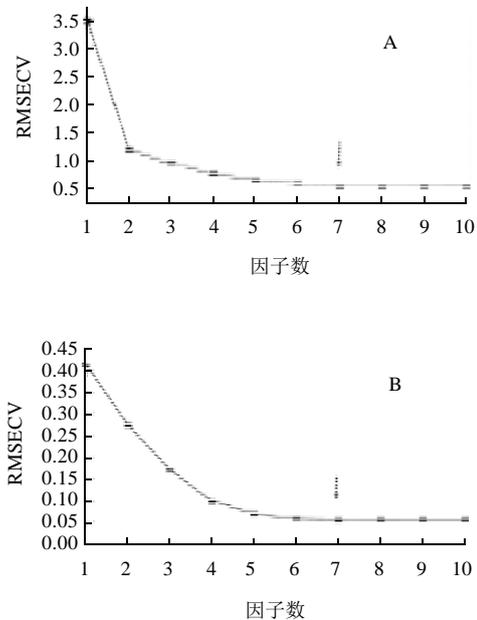


图2 榨菜中果胶(A)和总糖(B)模型的因子数与RMSECV关系图  
Fig.2 Correlation between RMSECV and Rank of pectin (A) and total sugar(B)

表3 以校正集样本光谱数据建立数学模型的最优条件

Table 3 Optimal parameters of the mathematical model established by calibration samples

	回归范围/cm <sup>-1</sup>	预处理方法	交叉验证均方差(RMSECV)	决定系数( $R^2$ )/%	主因子数
果胶	7501.7~5449.8	消除常量偏移	0.513	98.31	7
总糖	7501.7~4246.5	消除常量偏移	0.0531	98.35	7

通过OPUS软件对光谱进行各种不同的预处理,比较选择最优的光谱预处理方法,使得模型的决定系数尽可能大,交叉验证均方差尽可能小。本实验选择消除常量偏移法,所得模型的决定系数分别为98.31、98.35,内部交叉验证均方分别为0.513、0.0531。

### 2.5 以预测集样本对模型进行外部验证

表2 不同光谱预处理方法内部验证的 $R^2$ 、RMSECV

Table 2  $R^2$  and RMSECV of internal validation by different spectrum pre-process methods

	消除常量偏移		矢量归一化		多元散射校正		一阶导数		二阶导数	
	$R^2$ /%	RMSECV								
果胶	98.31	0.513	94.12	0.956	97.66	0.603	98.08	0.546	93.34	1.02
总糖	98.35	0.0531	89.26	0.136	93.04	0.109	97.85	0.0607	92.22	0.115

外部验证一般采用未参与建立模型,但性质与参与建模的校正集样本性质相知的样本,通过比较这些未参与建模的预测集样本的预测值与化学值的差异来判别模型的预测准确性。本实验以校正集建立的数学模型对18个预测集样本的果胶和总糖的含量进行预测。将果胶和总糖的预测值与按标准方法测定的分析值进行比较,并绘出对应关系图(图3)。果胶与总糖的近红外预测值与标准方法测定值的决定系数分别为96.69%、95.63%,RMSEP分别为0.572、0.0671。其决定系数基本都在95%以上,预测结果很好,可以满足对榨菜品质检测的精度要求。

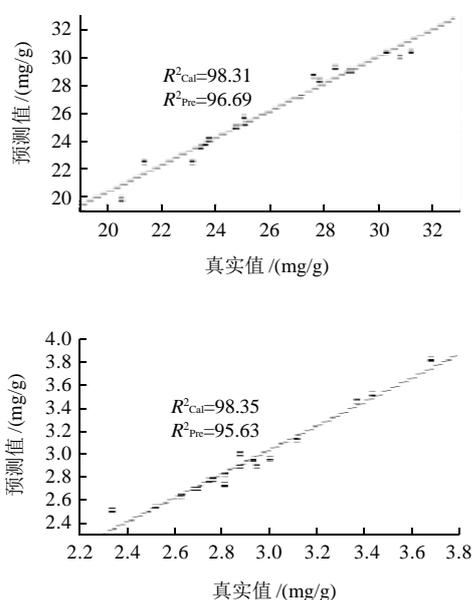


图3 验证集样本果胶(A)和总糖(B)含量的真实值与预测值的相关性

Fig.3 Correlation between predicted values of optimized model and true values of pectin(A) and total sugar(B)

## 2.6 预测结果分析

通过偏最小二乘-内部交叉验证法所得到的模型对预测集的18个涪陵榨菜样本的果胶和总糖的含量进行预测。通过对近红外模型的预测值与标准方法测得的化学值进行 $t$ 检验,以判定近红外分析方法和标准方法是否有显著性差异:给定显著水平 $\alpha=0.05$ ,查表的结果 $t(0.05, 18)$ 为2.110,涪陵榨菜中果胶和总糖的 $t$ 检验结果分别为0.0341、0.151均小于2.110,表明近红外光谱法与标准方法不存在显著差异,说明两种分析方法是一致的,进一步说明所建立的模型具有较好的预测的能

力,可以达到常规分析的精度要求<sup>[16]</sup>。

## 3 结论

常规检测涪陵榨菜中的果胶和总糖含量,不仅需要消耗大量的化学试剂,而且费时,不能现场快速得到检测结果。本实验利用傅里叶变换近红外光谱结合偏最小二乘法,建立了一种快速、同时测定的方法。通过对校正集样本的回归和预测集样本的验证,表明近红外光谱同时测定涪陵榨菜中果胶和总糖含量的方法是可行的,结果是准确的。而且,本方法具有快速、准确、分析对象多样且无须预处理的独特优点,加上光纤取样分析系统,建立数学模型,可以用作为涪陵榨菜生产过程即时分析和在线控制的手段。

## 参考文献:

- [1] 曾凡坤,王中凤,吴永娟,等.传统涪陵榨菜工业化生产工艺研究[J].中国食品学报,2004,4(1):24-25.
- [2] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局.GB/T 19858—2005地理标志产品:涪陵榨菜[S].北京:中国标准出版社,2005.
- [3] 刘玲,吴祖芳,翁佩芳.乳酸菌低盐腌制榨菜脆性与果胶含量的关系研究[J].中国食品学报,2009,9(4):137-140.
- [4] 刘璞,吴祖芳,翁佩芳.榨菜腌制品风味研究进展[J].食品研究与开发,2006,27(1):158-163.
- [5] 黄晓钰,刘邻涓.食品化学综合实验[M].北京:中国农业大学出版社,2002:257.
- [6] SIRISOMBOON P, TANAKA M, FUJITA S, et al. Evaluation of pectin constituents of Japanese pear by near infrared spectroscopy[J]. Journal of Food Engineering, 2007, 78(2): 701-707.
- [7] POLESSELLO A, GIANGIACOMO R, FORNI E, et al. The use of NIR spectrophotometry to estimate the pectic substances in fruit and fruit products[J]. Carbohydrate Polymers, 1990, 12(1): 27-38.
- [8] KURZ C, LEITENBERGER M, CARLE R, et al. Evaluation of fruit authenticity and determination of the fruit content of fruit products using FT-NIR spectroscopy of cell wall components[J]. Food Chemistry, 2010, 119(2): 806-812.
- [9] 杨南林,瞿海斌,程翼宇.近红外光谱法快速测定三七皂苷的方法研究[J].浙江大学学报:工学版,2002,36(4):463-465.
- [10] SIESLER H W, OZAKI Y, KAWATA S, et al. Near infrared spectroscopy [M]. New York: Wiley-VCH, 2004: 20.
- [11] 赵丽丽,张录达,宋忠祥,等.近红外光谱定量检测腌腊肉制品品质的研究[J].光谱学与光谱分析,2007,27(1):46-49.
- [12] 张建新,李慧.傅立叶变换近红外光谱法测定豆腐干中总酸、蛋白质和水分含量[J].食品与发酵工业,2008,34(1):124-128.
- [13] 陆婉珍.现代近红外光谱分析技术[M].2版.北京:中国石化出版社,2006:61.
- [14] 严衍祿,赵龙莲,韩东海.近红外光谱分析基础与应用[M].北京:中国轻工业出版社,2005:17-59.
- [15] 芦永军,陈华才,吕进,等.茶多酚中总儿茶素的近红外光谱分析[J].分析化学,2005,33(6):835-837.
- [16] 许祿.化学计量学方法[M].北京:科学出版社,2004:9:14-15.