可见/近红外光谱技术无损检测新鲜鸡蛋蛋白质含量的研究

吴建虎，黄钧

（山西师范大学食品科学学院，山西临汾 041000）

摘要：鸡蛋是一种重要的食品，蛋白质是鸡蛋的主要营养成分。本研究利用可见近红外反射光谱技术无损检测新鲜鸡蛋的蛋白质含量。使用光谱仪获取新鲜鸡蛋在 400~1100 nm 波段范围内的漫反射光谱；分别使用多元散射校正(MSC)法和一阶导数法(1-D)对反射光谱进行预处理；对反射光谱、MSC 处理光谱和 1-D 光谱，使用逐步回归法判别法选择最优波长组合，建立多元线性回归模型，使用全交叉验证法验证模型。结果表明，可见/近红外反射光谱经过多元散射校正后，确定的 10 个最优波长（400、403.16、407.9、714.6、715、715.58、970.4、970.75、973 和 974.45 nm）组合建立模型的校正和验证结果最好：选定模型的校正结果为 R=0.92，SEC=0.42%；验证结果为 Rcv=0.89，SECV=0.47%。研究表明可见/近红外反射光谱技术可以较好的预测新鲜鸡蛋的蛋白质含量，本研究可为可见近红外光谱技术在鸡蛋营养成分的快速检测提供一定的理论基础。

关键词：鸡蛋；蛋白质；反射光谱；逐步回归分析

文章篇号：1673-9078(2015)5-285-290 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.5.045

Non-destructive Detection of Protein Content in Fresh Eggs by Visible/near-infrared Reflectance Spectroscopy

WU Jian-hu, HUANG Jun

(Institute of Food Science, Shanxi Normal University, Linfen 041000, China)

Abstract: Eggs are considered an important food item, containing protein as the main nutrient. The aim of this study was to non-destructively detect protein content in eggs by visible (VIS)/near-infrared (NIR) reflectance spectroscopy. VIS/NIR raw reflectance spectra of fresh egg samples were acquired in the wavelength range of 400 to 1000 nm. The raw spectrum was pretreated with multiplicative scatter correction (MSC) and first-derivative (1-D) methods and step-wise regression discrimination method was used to select the optimal wavelength combination to establish multi-linear regression (MLR) models. Full cross-validation was used to validate the model. The results showed that after MSC treatment of VIS/NIR reflectance spectra, the MLR model, based on ten optimal wavelengths (400, 403.16, 407.9, 714.6, 715, 715.58, 970.4, 970.75, 973, and 974.45 nm) produced optimum calibration and validation results. For the calibration result, the correlation coefficient (R) was 0.92 and the standard error of calibration (SEC) was 0.47%. The model provided good prediction values for egg protein content with the correlation coefficient of cross validation (Rcv) at 0.89 and standard error of cross validation (SECV) at 0.47%. This study demonstrated that the VIS/NIR reflectance spectral technique provides a good prediction of the protein content in fresh eggs, and the VIS/NIR technique has potential applications in rapid detection of egg nutrients.

Key words: egg; protein; visible/near-infrared reflectance spectrum; step-wise regression analysis

我国是世界禽业大国，家禽业是我国农业主要支柱产业之一，自 1985 年以来我国的鸡蛋产量一直稳居世界第一，2008 年我国鸡蛋产量为 2702.2 万 t，占世界鸡蛋产量的 40%[1]，我国鸡蛋资源丰富，鸡蛋产品的检测、分级、深加工及出口均具有极为广阔的发展空间。

随着人们生活水平的提高，鸡蛋品质倍受关注，对鸡蛋的品质有效的检测和分级备受关注。目前主要以蛋重量、蛋白高度、蛋白质量、蛋壳强度、哈弗单位（新鲜度）、蛋型指数、蛋壳颜色、气室高度和蛋比重等作为分级的主要依据。鸡蛋富含有人体所需的各种营养成分，是为人类提供营养的重要食品来源之一。不同品种、饲养方式以及个体的家禽所产蛋的营养成

收稿日期：2014-08-22

基金项目：山西省高等学校科技创新项目资助；国家自然科学基金资助项目（31101359）

作者简介：吴建虎（1978-），男，博士，副教授，研究方向：食品无损检测技术与装备

分含量有较大的差异，若在能够依据其营养成分对鸡蛋做出有效的检测、分级，则不仅能提高生产者的效益，而且能丰富市场，满足不同消费人群的需求。传统的鸡蛋营养成分如蛋白质检测主要使用凯氏定氮法和考马斯亮蓝法等化学方法[2~3]，这些方法检测过程复杂，检测速度慢，对检测人员要求高，无法满足现代在线快速准确检测的需求。

近红外光谱(NIR)技术具有分析速度快、效率高、易于实现无损在线分析等特点，已较多地应用于肉类[4]、果蔬[5,17]等农产品的品质测定研究。在鸡蛋的品质检测方面，我国方如明最早在1993年就开展了相关研究[6]，此后，近红外光谱技术在鸡蛋品质研究方面得到较多的应用，国内外学者，利用近红外光谱技术无损检测鸡蛋的新鲜度指标（气室高度、蛋黄指数和哈弗值）[7~10]、pH值[10~11]、蛋壳裂纹[12]、、和污染[13~14]等方面的研究都取得了较好的结果，已经有相关的文献报道。

目前鲜见针对鸡蛋内部营养成分近红外检测研究报道。本研究以新鲜鸡蛋为研究对象，采集新鲜鸡蛋的可见/近红外反射光谱，测定鸡蛋的蛋白质含量，在此基础上进行数据处理和分析，以期建立有效的鸡蛋蛋白质含量预测模型，为光谱技术快速检测新鲜鸡蛋的营养成分提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料与仪器

在当地养殖场购买当日产普通褐皮，无裂纹、无污斑新鲜鸡蛋72枚。样本购买回实验室后，仔细清洁表面，晾干后编号，采集反射光谱，并测定其蛋白质含量。

光谱仪：USB4000，美国海洋光学公司，采集光谱波长范围380~1100 nm，光谱分辨率0.21 nm；光源：14.5 V卤素灯；反射光纤探头：QR600-7-VIS125BX；计算机；光谱仪数据采集控制软件：海洋光学SpectraSuite软件；

凯氏定氮仪，德国Gerhardt公司：由消化装置和全自动蒸馏装置（型号：Vapodest VAP10）两部分组成；其中消化装置由红外快速消化装置（型号：Turbotherm TTM）和涤气装置（型号：Turbosog TUR）组成，该设备一次可以测量12个样本。

1.2 试验方法

1.2.1 光谱采集

采用漫反射方式采集样品光谱，光谱仪设定曝光时间为60 ms，平滑度：15点；平均次数：3次；对每个样本，沿赤道圆周均匀取3个部位，每个部位扫描3次，一个样本共扫描9次，取均值为该样本的反射光谱。

1.2.2 样品蛋白质含量的测定

在采集完样本的反射光谱后，立即测定样本的蛋白质含量，测定方法参照GB 5009.5-2010中凯氏定氮法[15]。测定过程为：打开蛋壳，将蛋白与蛋黄分离，使用搅拌器充分搅拌蛋清液，取适量搅拌后的匀浆，置于消化瓶中，在消化装置中按照程序消化，消化完成后，定容，使用全自动蒸馏装置蒸馏，蒸馏过程结束后，以硫酸标准溶液定至灰色或蓝紫色为终点，按照国家标准中的公式计算样本的蛋白质含量，测定结果以百分比含量表示。

1.3 光谱数据预处理

扫描得到的光谱用ASCII码导出，转化成文本形式，使用MATLAB 7.0软件进行数据处理。

在收集光谱时，有高频随机噪声、基线漂移、信号本底、样品不均匀和光散射等的信息带到光谱中，分别采用多元散射校正法（multiple scattering correction，MSC）和一阶导数法(first derivative，1-D)对光谱预处理。

1.4 预测模型的建立与校正

1.4.1 逐步回归分析法

逐步回归分析是多元回归分析中最常用的方法之一，逐步回归分析的基本思想是：先确定包含若干个自变量（影响总体评价的项目 Xi，1≤i≤m）的初始集合；从集合外的自变量中引入一个对因变量(Y)影响最大的变量进入回归方程；对已选入回归方程中的变量逐个进行检验，当原引入的变量由于后面变量的引入而变得不再显著时，将其剔除。引入一个变量或剔除一个变量，都为逐步回归的一步，每一步都要进行F检验，以确保每次引入新变量之前回归方程中只包含对因变量影响显著的变量。反复这个过程，直到既无显著变量引入回归方程、也无不显著变量从回归方程中剔除为止[16]。按照入选自变量的方法可将逐步回归分成3种：向前逐步回归、向后逐步回归和有进有出的逐步回归。本文中使用的是有进有出的逐步回归法。算法的实现使用软件 Matlab 7.0 statistics toolbox 中的stepwise 工具。

1.4.2 蛋白质预测模型的建立与验证

在建立预测模型前，首先选择相应的最优波长，以原始反射光谱、原始+MSC光谱和原始+1-D光谱为

对象，分别使用逐步回归判别方法选择最优波长的组合，然后利用最优波长处的光谱建立多元线性回归模型(MLR)，模型的验证使用全交叉验证法（Leave-one-out cross validation，LOOCV）验证模型的检测效果；模型的校正结果用校正相关系数(R)和标准差(SEC)表示；模型的验证结果用验证相关系数(Rcv)和验证标准差(SECV)表示。

2 结果与分析

2.1 蛋白质含量测定结果

表 1 鸡蛋的蛋白质含量测定结果

Table 1 Protein content in eggs

数量	质量/g	最小值/%	均值/%	最大值/%	标准偏差
72	55.05~85.95	8.75	11.51	12.95	0.96

样本的品质指标测定结果如表 1 所示：样本的质量在 55.05~85.95 g 之间，测定的蛋白质含量最小值为 8.75%，均值 11.51%，最大值 12.95%，标准偏差为 0.96%，从结果看，即使出自同一养殖场，在相同的养殖条件下，样本之间的营养成分差异也是较显著的。

2.2 原始光谱及预处理

所采集的样本反射光谱波长在 400 nm~1000 nm 波段外信噪比较低，不具有分析价值，因此选择 400 nm~1000 nm 为有效波段。有效波段原始反射光谱如图 1.a 所示；经过 MSC 处理后的光谱如图 1.b 所示。经过 MSC 处理后光谱曲线消除了散射和偏移的影响，反射特征变得比较明显。从图 1.a 和图 1.b 可以看出，在 520 nm，580 nm 和 635 nm 波段附近有明显的吸收峰。一阶导数处理后光谱曲线如图 1.c 所示，在 635 nm 波段附近曲线的斜率变化最大，在 700~900 nm 波段范围内变化最小。

2.3 相关性分析

在使用逐步回归分析法确定优选波长组合之前，分别对 3 种处理光谱各个波段做蛋白质含量的简单相关分析，即分析每一波长处响应与蛋白质含量之间的相关性大小，结果如图 2 所示。从图中可以看出，在整个波段范围内，原始反射光谱与蛋白质的相关系数都最高（0.4 以上），在 400~420 nm、600 nm 和 635 nm 波段附近单个波长反射率的相关系数都在在 0.55 以上；经过 MSC 处理后的光谱，整个波段的相关系数比较低，只在在 450 nm、625 nm、775 nm、820 nm 和 970 nm 等多个波长附近有较高的相关系数；而一阶导数处理后的光谱，在整个波段范围内的有多个波段如 400 nm、425 nm、500 nm、540 nm、570 nm 和 850 nm 等处都有较高相关系数（0.5 以上），说明在这些波长处，光谱反射强度与鸡蛋蛋白质含量有较好的相关性。

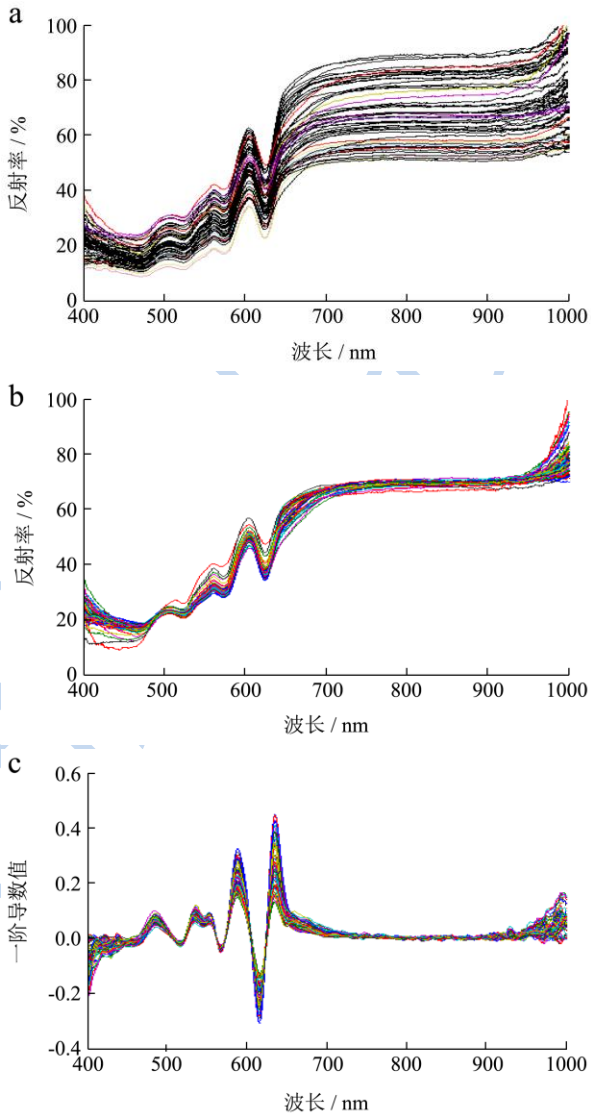


图 1 鸡蛋反射光谱曲线

Fig.1 Reflectance spectra of egg samples

注：(a) 原始反射光谱，(b) MSC 处理后的光谱，(c) 一阶导数处理后的光谱。

2.4 优选波长的确定

使用软件 MATLAB 7.0 的 step-wise 算法从光谱中选择优选波段的组合，不同处理光谱经过逐步回归分析后，最终选定的优选波长组合如表 2 所示，对于原始光谱，经过逐步回归方法，最终选定了 400、405.53、406.61、407.04、407.7 和 654.14 nm 等共 6 个波长的最优组合，经过 MSC 处理的光谱，选定了 400、403.16、407.9、714.6、715、715.58、970.4、970.75、973 和 974.45 nm 共 10 个波长为最优组合，一阶导数处理光

谱确定了 400、844.01、885.48 和 942.89 等 4 波长为最优组合。

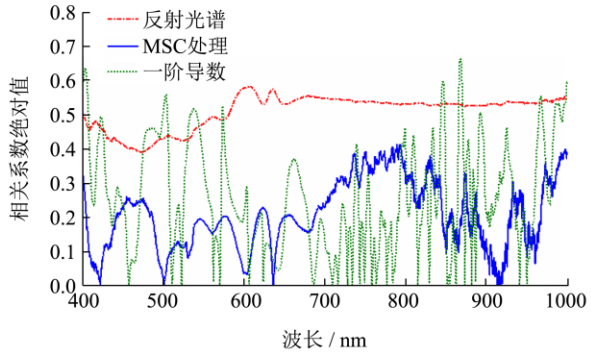


图 2 鸡蛋蛋白质含量与不同处理光谱的简单相关曲线

Fig.2 Simple regression curve of egg protein content and reflectance spectra using different treatments

表 2 逐步回归方法确定优选波长

Table 2 Combinations of optimal wavelengths as determined by step-wise regression

处理方法	优选波段数	波长/nm
原始光谱	6	400、405.53、406.61、407.04、407.7、654.14
MSC 处理	10	400、403.16、407.9、714.6、715、715.58、970.4、970.75、973、974.45
1-D 导数	4	400、844.01、885.48、942.89

2.5 模型的校正与验证

分别使用不同处所确定的优选波长处的光谱值建立 MLR 预测模型，并使用全交叉验证法验证模型的准确性。使用原始光谱提取优选波长建立的 MLR 模型的校正和全交叉验证效果如图 3 所示，其中图 3.a 为模型的校正结果，图 3.b 为模型的验证结果。校正结果为 R=0.88，SEC=0.50%；验证结果为 Rcv=0.84，SECV=0.54%。

使用 MSC 处理后光谱波段组合建立的 MLR 模型的校正和全交叉验证效果如图 4 所示，图 4.a 为模型的校正结果，图 4.b 为模型的验证结果，校正结果为 R=0.92，SEC=0.42%；验证结果为 R=0.89，SECV=0.47%。

使用 1-D 导数处理后波段组合建立的 MLR 模型的校正和全交叉验证效果如图 5 所示，图 5a 为模型的校正结果，图 5b 为模型的验证效果，校正结果为 R=0.89，SEC=0.48%；验证结果为 R=0.85，SECV=0.53%。

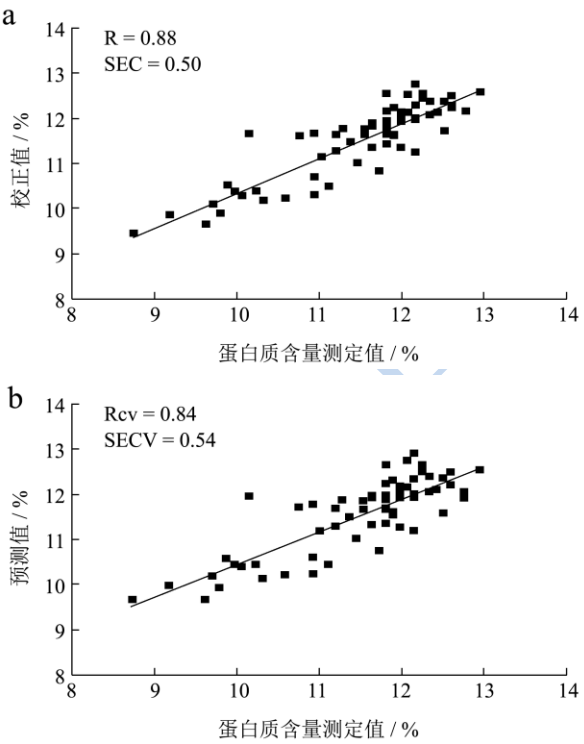


图 3 原始光谱优选波长 MLR 模型校正及验证结果

Fig.3 Calibration and validation results of multi-linear regression (MLR) model based on optimal wavelengths

注：(a)模型校正结果，(b)全交叉验证结果。

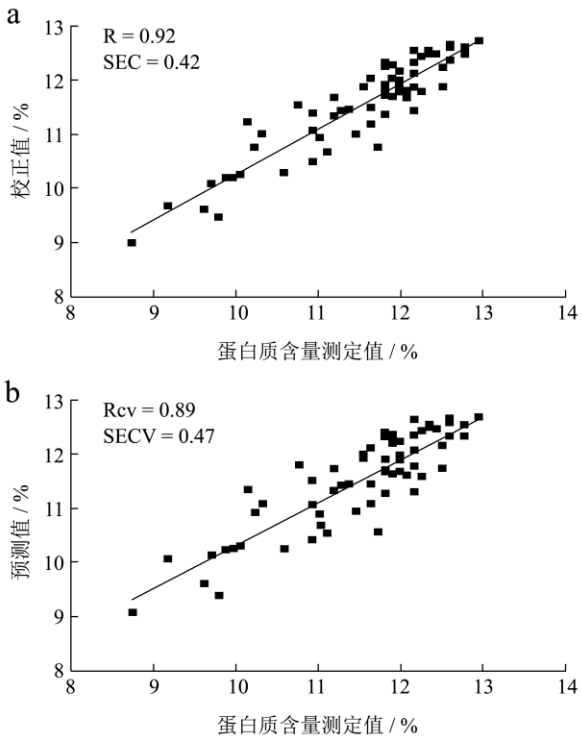


图 4 MSC 处理后优选波长 MLR 模型校正及验证结果

Fig.4 Calibration and validation results of MLR model based on optimal wavelengths after MSC treatment

注：(a) 模型校正结果，(b) 全交叉验证结果。

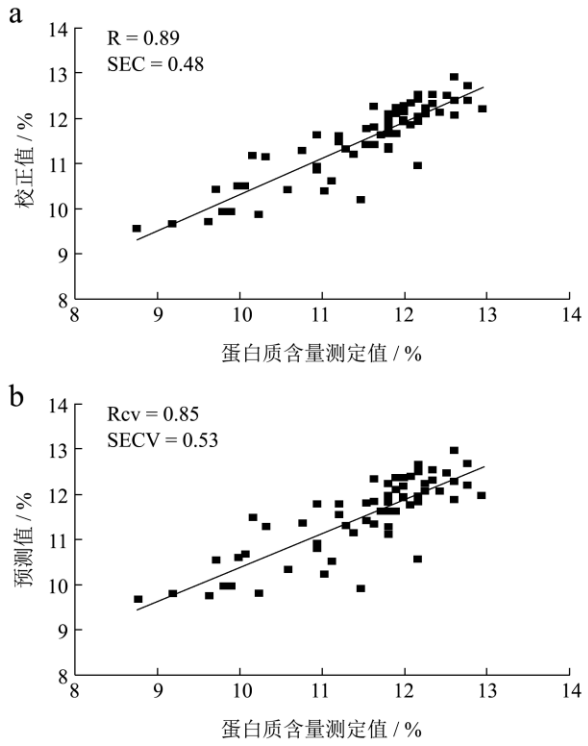


图 5 1-D 导数光谱优选波长 MLR 模型校正及验证结果

Fig 5 Calibration and validation results of MLR model based on optimal wavelengths after 1-D treatment

注：(a) 模型校正结果(b) 全交叉验证结果。

2.6 结果分析

通过比较三种处理光谱所选择波长建立的 MLR 预测模型的结果，可以看出，反射光谱经过 MSC 处理后，选取的优选波长组合建立的 MLR 模型对样本蛋白质含量预测结果最好，预测相关系数 Rcv=0.89，预测标准差 SECV=0.47%；其余两种方法建立的模型的预测结果接近，结果也是可以接受的。

3 结论

本研究获取新鲜鸡蛋的可见/近红外反射光谱信息，利用化学计量法测定新鲜鸡蛋的蛋白质含量，分别使用多元散射校正和一阶导数对反射光谱进行预处理，采用逐步回归分析方法选择最优波长组合，从原始反射光谱反射光谱、MSC 处理光谱和一阶导数光谱中分别确定了数量为 6 个（400、405.53、406.61、407.04、407.7 和 654.14 nm）、10 个（400、403.16、407.9、714.6、715、715.58、970.4、970.75、973 和 974.45 nm）和 4 个（400、844.01、885.48 和 942.894）的最优波长组合，利用最优波长的反射光谱建立多元线性回归预测模型，实现了对新鲜鸡蛋蛋白质含量的无损快速预测。结果表明，可见/近红外反射光谱经过多远散射校正处理后的预测结果较好，预测相关系数 Rcv=0.89，预测残差 SECV=0.47%，准确性是可接受的。试验研究表明可见/近红外光谱反射技术用于鸡蛋蛋白质的无损检测具有可行性，本研究可为可见近红外光谱技术在鸡蛋营养成分的快速检测提供一定的理论基础。

参考文献

[1] 成远.我国鸡蛋产业发展现状,问题及政策建议[J].农业技术与装备,2010,4:4-8
CHENG Yuan. Current development situation, problems and policy suggestions of Chinese egg industry [J]. Agricultural technology and equipment, 2010, 4: 4-8

[2] 李宁.几种蛋白质测定方法比较[J].山西农业大学学报,2006,26(2):132-133
LI Ning. The comparison on various methods for determing different proteins [J]. Journal of Shanxi agricultural university, 2006, 26(2): 132-133

[3] 路萍,于同泉,王淑英,等.蛋白质测定方法评价[J].北京农学院学报,2006,21(2):65-69
LU Ping, YU Tong-quan, WANG Shu-ying. A review on determination of protein [J]. Journal of Beijing agricultural college, 2006, 21(2): 65-69

[4] Prieto N, R Roehe, P Lavín, et al. Application of near infrared reflectance spectroscopy to predict meat and meat products quality: A review [J], Meat Science, 2009, 83(2): 175-186.

[5] Bart M Nicolaï, K Beullens, E Bobelyn, et al. Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy [J]: Postharvest Biology and Technology, 2007, 46(2): 99-118

[6] 方如明,向忠平,李国文.鸡蛋内部品质的光特性无损检测[J].农业工程学报,1993,9(3):102-107
FANG Ru-ming, XIANG Zhong-Ping, LI Guo-wen. Non destructive detection of chicken-egg Internal quality by optical properties [J]. Transaction of SCAE, 1993, 9(3): 102-107

[7] Alessandro G, B Annachiaria, R Liugi, et al. Non-destructive freshment assessment of shell eggs using FT-NIR spectroscopy [J]. Journal of food engineering, 2008, 89: 142-148

[8] YAO Lin-xing, ZHOU Wen, WANG Tong, et al. Quantification of egg yolk contamination in egg white using UV/Vis spectroscopy: Prediction model development and analysis [J]. Food Control, 2014, 43: 88-97

[9] Zhao J W, L Hao, Q S Chen, et al. Identification of egg's freshness using NIR and support vector data description [J]. Journal of food Engineering, 2010, 98: 408-414

[10] 刘燕德,周延睿,彭彦颖.基于近红外漫反射光谱检测鸡蛋品质[J].光学精密工程,2013,21(1):40-45

LIU Yan-de, ZHOU Yan-rui, PENG Yan-ying. Detection of egg quality by near infrared reflectance spectroscopy [J]. Optics and Precision Engineering, 21(1): 40-45

[11] 刘燕德,彭彦颖,孙旭东.鸡蛋蛋白pH可见/近红外光谱在线检测信息变量提取研究[J].江西农业大学学报,2010,32(5): 1075-1080

LIU Yan-de, PNEG Yan-ying, SUN Xu-dong. A study on variable selection of VIS-NIR spectral information for online detection albumen pH of eggs [J]. Acta Agricultural University Jiangxiensis, 2010, 32(5): 1075-1080

[12] Narushin V G. Comparing infrared spectroscopy and egg size measurements for predicting eggshell quality [J]. Biosystems engineering, 2004, 87(3): 367-373

[13] HAO Lin, ZHAO Jie-wen, SUN Li, et al. Freshness measurement of eggs using near infrared (NIR) spectroscopy and multivariate data analysis [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2011, 12: 182-186

[14] LIU Mu-hua, YAO Lin-xing, WANG Tong ,et al. Rapid determination of egg yolk contamination in egg white by VIS spectroscopy [J]. Journal of Food Engineering, 2014, 124: 117-121

[15] 中华人民共和国卫生部,2010. GB5009.5-2010食品安全国家标准食品中蛋白质的测定[S].北京:中国标准出版社

Ministry of Health of the People's Republic of China, 2010. GB5009.5-2010, National food safety standard determination of food protein in food [S]. Beijing: China standards Press

[16] 何晓群,刘文卿编.应用回归分析[M].北京:中国人民大学出版社,2001

HE Xiao-qun, LIU Wen-qing. Applied regression analysis [M]. Beijing: China Renmin University Press, 2001

[17] 王家云,王松磊,贺晓光,等.基于NIR高光谱成像技术的滩羊肉内部品质无损检测[J].现代食品科技,2014,6:257-262

现代食品科技