

基于傅里叶变换红外光谱技术对木耳中镰刀菌的识别检测

刘晨¹, 岳田利^{1,2}, 袁亚宏^{1*}, 时嘉骏¹

(1. 西北农林科技大学食品科学与工程学院, 陕西杨凌 712100)

(2. 西北大学食品科学与工程学院, 陕西西安 710069)

摘要: 该研究建立了一种基于傅里叶变换红外光谱的木耳中镰刀菌的定性定量检测方法: 对经高压灭菌的木耳样品分别接种木耳中常见的五种镰刀菌(层出镰刀菌 189975、串珠镰刀菌 340687、尖孢镰刀菌 120618、木贼镰刀菌 124121、茄病镰刀菌 121547), 并于 28 °C, 相对湿度 80% 的条件下进行储存培养, 同时采集不同储存阶段的木耳样品在 1 800~900 cm⁻¹ 的红外光谱信息。分别运用主成分分析(PCA)、线性判别分析(LDA)以及偏最小二乘回归分析(PLSR)建立木耳中镰刀菌的快速识别检测模型。结果表明: LDA 模型对受不同镰刀菌侵染的木耳样品的平均判别正确率达到 87.50%, 对受单一镰刀菌侵染的木耳样品霉变状态的平均判别正确率达到 82.50%; PLSR 模型对木耳样品中菌落总数的预测实现了较好的定量结果($R_p^2=0.8428$, RMSEP=0.292 log CFU/g, RPD=2.81); 通过实际样品验证分析表明傅里叶变换红外光谱方法可以实现木耳中镰刀菌的快速识别检测。

关键词: 傅里叶变换红外光谱; 木耳; 镰刀菌; 快速识别检测

文章编号: 1673-9078(2023)03-298-305

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.3.0484

Identification and Detection of *Fusarium* in Black Fungus Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy

LIU Chen¹, YUE Tianli^{1,2}, YUAN Yahong^{1*}, SHI Jiajun¹

(1.College of Food Science and Engineering, Northwest A & F University, Yangling 712100, China)

(2.College of Food Science and Technology, Northwest University, Xi'an 710069, China)

Abstract: A qualitative and quantitative detection method for *Fusarium* in black fungus based on Fourier transform infrared spectroscopy was established. Autoclaved black fungus samples were inoculated with five common *Fusarium* species (*F. proliferatum* 189975, *F. moniliforme* 340687, *F. oxysporum* 120618, *F. equiseti* 124121, *F. solani* 121547) at 28 °C and 80% relative humidity. The infrared spectra of the samples at different storage periods were obtained at 1 800~900 cm⁻¹. The rapid identification and detection model of *Fusarium* in black fungus was established using principal component analysis (PCA), linear discriminant analysis (LDA), and partial least squares regression analysis (PLSR). The results showed that the LDA model correctly identified 87.50% of the black fungus samples infected with different *Fusarium* species and 82.50% of the black fungus samples infected with a single *Fusarium* species. The PLSR model achieved good quantitative results in predicting the total number of colonies in the samples ($R_p^2=0.8428$, RMSEP=0.292 log CFU/g, RPD=2.81). Validation analysis of the actual samples showed that Fourier transform infrared spectroscopy could achieve rapid identification and detection of *Fusarium* in black fungus.

Key words: Fourier transform infrared spectroscopy; black fungus; *Fusarium*; rapid identification and detection

引文格式:

刘晨,岳田利,袁亚宏,等.基于傅里叶变换红外光谱技术对木耳中镰刀菌的识别检测[J].现代食品科技,2023,39(3):298-305.

LIU Chen, YUE Tianli, YUAN Yahong, et al. Identification and detection of *Fusarium* in black fungus using fourier transform infrared spectroscopy [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(3): 298-305.

收稿日期: 2022-04-19

基金项目: 国家重点研发计划项目(2019YFC1606701; 2019YFC1606703)

作者简介: 刘晨(1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品功能化加工工程技术, E-mail: 1003576616@qq.com

通讯作者: 袁亚宏(1971-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 营养健康食品个性制造与安全控制, E-mail: yyh324@nwafu.edu.cn

木耳,又名黑木耳、光木耳,是一种享有“素中之荤”、“中餐中的黑色瑰宝”等美誉的药食同源真菌。黑木耳中富含碳水化合物、蛋白质、矿物质等营养素,具有润肺清肠、安神补血和美容养颜等功效,目前在人们的日常生活中已成为不可或缺的营养食品与保健食品^[1]。然而,木耳在栽培生产过程中极易受到多种霉菌侵染,镰刀菌是木耳在栽培和生产过程中的常见霉菌,可在一定条件下导致木耳子实体发生病害^[2],造成其品质降低、产量下跌,当病害严重发生时甚至会导致绝产,严重威胁到木耳产业的良性发展。因此,对木耳中的镰刀菌建立一种快速识别检测方法成为产业急需。

针对镰刀菌的检测技术,传统的形态学分析^[3]、免疫学分析^[4,5]与分子生物学^[6,7]等技术都可以实现,但这些方法都存在不同程度的缺点,形态学分析其样品预处理过程繁琐、时效性差、鉴定时间长,免疫学分析与分子生物学技术易发生交叉反应,造成较高的假阳性和假阴性率^[8]。光谱分析技术因其具有快速、准确、安全、高效、无损检测等优点,成为新型的在线检测技术^[9]。根据不同致病菌的分子组成与含量的差异,将光谱技术与层次聚类分析、主成分分析或神经网络等化学计量学分析方法^[10]进行结合,通过寻找不同致病菌之间的差异和规律,可实现对致病菌的快速测定与鉴别。其中,红外吸收光谱是一种用于研究物质分子官能团中化学键振动的技术^[11],可根据红外吸收光谱的谱峰位置来鉴定官能团及各种有机物,依据光谱吸光度可对试样中各种化学成分的相对分布进行定量计算^[12]。红外光谱法因具有制样简单、成本低、光通量高、无损检测等优点^[13],现已发展为一种高效的微生物识别与鉴定技术。2017年,Wang等^[14]使用同步加速器显微红外光谱仪采集了单核增生性李斯特菌等六种常见的食源性致病菌的红外光谱,结果显示,3 000~2 800 cm^{-1} , 1 800~1 500 cm^{-1} 和 1 200~900 cm^{-1} 波段分别代表脂质、蛋白质和多糖,这三个波数范围内存在的差异可实现对细菌的鉴别。Dixit等^[15]利用傅里叶红外光谱技术采集了青霉、赭曲霉、黑曲霉、光滑假丝酵母四种家庭中常见真菌孢子的中红外光谱,并基于主成分分析、变量标准化分析与线性判别分析建立了相应的数据处理平台,最终鉴定成功率达 100%。Zarnowicz等^[16]利用傅里叶变换红外光谱技术进行食品中不同细菌的分类鉴定,成功率达到了 94%; Wang等^[17]通过傅里叶变换红外光谱对嫩菠菜提取物中的大肠杆菌 K-12 进行了鉴定与定量分析,检测限低至 100 CFU/mL,这为新鲜蔬菜中致病菌的分析鉴定提供了可能性。Figoli等^[18]应用傅里叶变换

红外光谱技术和简单的多元分析,对从阿根廷小麦中分离的 34 株禾谷镰刀菌的表型特征进行深入研究,并建立了小麦中脂质含量与真菌侵染性之间的直接关系。

目前利用红外光谱技术对致病菌的检测大多集中于定性区分,对于侵染程度和定量预测的研究仍十分有限。本研究拟以受不同种类镰刀菌侵染的木耳为研究对象,采集木耳样品在不同储存阶段(0、3、6、9 d)的衰减全反射傅里叶变换红外光谱(ATR-FTIR)特征信息,结合化学计量学分析建立木耳受不同镰刀菌侵染以及霉变程度的快速识别鉴定方法,并使用 PLSR 定量预测木耳中的菌落总数含量,以实现木耳中镰刀菌侵染的定性与定量分析,进而为保障木耳等食用菌的质量安全提供一定的参考价值。

1 材料与方法

1.1 材料制备

以长白山干木耳为研究对象,经高压灭菌后于 4 °C 条件下冷藏储存备用。

五种木耳中常见的镰刀菌标准菌株:层出镰刀菌 189975、串珠镰刀菌 340687、尖孢镰刀菌 120618、木贼镰刀菌 124121、茄病镰刀菌 121547,均来自北纳创联生物科技有限公司。将以上五种镰刀菌分别接种于马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)上,在温度 28 °C,相对湿度为 80%的菌种恒温培养箱内进行培养。当镰刀菌生长至第 7 天后,产生大量的孢子,使用无菌水将培养基表面冲洗数遍,然后用无菌接种环轻轻摩擦菌落,将孢子菌悬液进行收集。利用平板计数法^[19]测定五种镰刀菌孢子菌悬液的浓度,并使用无菌水调节菌悬液浓度至 10⁵ CFU/mL,于 4 °C 冰箱中冷藏备用。

1.2 镰刀菌接种木耳样品

称取灭菌木耳样品共 120 份,每份质量约为 20 g。随机将样品分成 6 组,每组 20 份,用无菌袋分装。于室温条件下,分别吸取 5 种镰刀菌的孢子菌悬液 200 μL 接种于木耳样品上,并使用玻璃棒充分搅拌均匀。每种镰刀菌接种 20 份样品,五种镰刀菌共接种 100 份样品;将剩余的 20 份样品作为空白对照组,每份加入 200 μL 的无菌水并搅拌均匀。接种结束后,将 120 份样品置于温度 28 °C,相对湿度 80%的菌种恒温培养箱中培养。从接种菌液起,每隔 3 天(0、3、6、9 d)从接种 5 种镰刀菌的木耳样品和对照样品中各随机抽取 5 份,每次共抽取 30 份样品。为使木耳中镰刀菌及其代谢产物分配得更加均匀,使用研钵将木耳磨成大小均匀的木耳渣,对样品分析前置于 4 °C 冰箱中冷藏待用。

1.3 FT-IR 红外光谱采集

采集红外光谱前将冷藏的木耳样品取出, 在室温下放置 2 h 直到恢复至室温。利用 VERTEX 70 型傅里叶变换红外光谱仪 (Bruker 公司, 德国) 及 ATR 附件采集霉变木耳样品的光谱信息, 样品测定时, 将表面平整的木耳样品放置于晶体的凹槽中, 即可进行红外光谱采集。扫描波数范围设置为 $4\ 000\sim 600\text{ cm}^{-1}$, 分辨率设置为 4 cm^{-1} , 扫描次数为 64 次, 对每份样品进行 3 次重复扫描, 将平均值作为光谱数据。

光谱采集结束后, 使用平板计数法测定木耳中的菌落总数含量。由于菌落总数具有较大的数量级, 将所得结果取对数以便于后续的模式分析。

1.4 数据分析

首先, 为了解决光散射、基线漂移与样本不均匀产生的光谱噪声等问题, 对采集到的光谱进行 Savitzky-Golay 平滑、乘性散射校正 (MSC) 和二阶求导处理。其次, 利用 PCA 提取样品的主成分得分, 依据镰刀菌对木耳的侵染程度进行相应的聚类趋势分析; 再通过 LDA 定性区分受不同镰刀菌种侵染的木耳样品及在不同储存阶段木耳的霉变程度。最后, 使用 PLSR 定量预测样品中的菌落总数含量。进行 PLSR 定量分析时, 将霉变木耳的红外光谱数据作为自变量, 菌落总数作为因变量构建模型。使用决定系数 (R^2)、建模集均方根误差 (RMSEC)、预测集均方根误差 (RMSEP)、交互验证集均方根误差 (RMSECV) 以及剩余预测偏差 (RPD) 等统计量对 PLSR 的模型性能进行评价。以上对光谱数据的处理与建模均使用 TQ Analyst 8.0 软件完成。

2 结果与讨论

2.1 木耳样品中菌落总数的变化

图 1 显示了接种 5 种不同镰刀菌的木耳样品和对照样品的菌落总数变化。从中可以看出, 木耳的霉变程度随着储存时间的延长而不断加深。在 0~3 d 时除茄病镰刀菌 121547 外, 其余 4 种镰刀菌由于需要适应新环境, 生长处于适应期, 此时生长较为缓慢。在 3~9 d 时, 木耳中的镰刀菌生长处于对数期, 菌落总数随着储存时间的延长呈现较快的增长趋势, 到生长后期木耳样品已发生霉变, 总体上 5 种镰刀菌的生长速度差异不明显。而对照组菌落数显著低于同期的接种组。综上, 尽管木耳中的菌落总数生长趋势快慢有所不同, 但整体菌落生长呈上升趋势, 这与刘鹏^[20]对不同储存

时期花生中菌落总数的测定结果相似。这种生长趋势表明了随着储存时间的延长, 镰刀菌的生长代谢活动逐渐加强, 其产生的代谢产物造成木耳的物理结构与化学成分不断发生变化, 从而为利用红外光谱信息进行霉菌分析提供了相关依据。

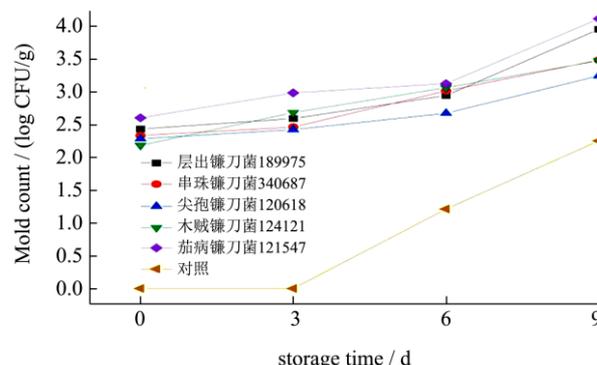


图 1 不同储存时期木耳样品的菌落总数变化趋势

Fig.1 Trends in the total number of colonies of black fungus samples at different storage periods

2.2 光谱特征区域选择与分析

运用 ATR-FTIR 采集霉变木耳的光谱信息, 在储存过程中, 木耳中的营养成分会随着菌落总数的增加和代谢产物的排出发生变化, 导致木耳光谱中分子键发生改变, 从而呈现出光谱差异。通过图 2a 可以看到, 不同种类的镰刀菌在 $4\ 000\sim 1\ 800\text{ cm}^{-1}$ 波数区域内光谱差异不明显, 这与蒋雪松^[21]采集到的 5 种霉变花生的 ATR-FTIR 原始平均光谱所呈现的结果类似。5 种镰刀菌在 $3\ 750\sim 3\ 000\text{ cm}^{-1}$ 波数区域都有显著的吸收峰, 这是 O-H 和 N-H 的伸缩振动区; $3\ 000\sim 2\ 700\text{ cm}^{-1}$ 区域内的吸收峰为蛋白质、核酸、脂类中 C-H 的伸缩振动区; $1\ 800\sim 1\ 500\text{ cm}^{-1}$ 区域内的吸收峰主要来源于镰刀菌蛋白质分子中的酰胺 I 带和酰胺 II 带; $1\ 500\sim 1\ 200\text{ cm}^{-1}$ 区域为蛋白质、脂肪酸、磷酸化合物的指纹区, 其谱峰来自 P=O 的对称伸缩振动与非对称伸缩振动; $1\ 200\sim 900\text{ cm}^{-1}$ 中的谱峰来自分子中 C-O-C 和 C-O-P 的伸缩振动, 为多糖的指纹区; $900\sim 600\text{ cm}^{-1}$ 中的谱峰来自环上直立或平伏的 C-H 弯曲振动, 主要是碳水化合物中糖环的伸缩振动, 它反映了芳香环结构的特征吸收光谱带^[22-25]。通过观察可知, $1\ 800\sim 900\text{ cm}^{-1}$ 区域内存在着显著的差异, 是镰刀菌所含蛋白质、多肽的酰胺 I 带与酰胺 II 带、多糖、脂肪酸与磷酸化合物等物质的指纹区, 即特征指纹图谱区域, 因此选取 $1\ 800\sim 900\text{ cm}^{-1}$ 区域的红外光谱数据进行后续的 PCA 分析。鉴于不同镰刀菌侵染木耳样品的红外光谱图差异不够明显, 对其进行二阶求导, 以提高光谱分辨率^[26]。由图 b 可以看出, 不同镰刀菌侵染的木

耳样品经二阶求导处理后,在 1 800~900 cm^{-1} 范围内的微小光谱差异都有所扩大,但仍不能明显地区分不同镰刀菌,因此需要与化学计量学分析方法进行结合以进行后续的光谱数据分析。

图 2c 和 2d 显示了不同储存阶段被茄病镰刀菌 121547 侵染的木耳样品的平均原始和二阶导数红外

光谱。其他镰刀菌株侵染的木耳样品的光谱趋势与其相似。由图 c 可以看出,样品的吸光度随储存时间的延长而降低。二阶导数光谱还表明,在 1 800~900 cm^{-1} 处储存后期的吸收值高于储存前期。总体而言,这些结果表明,利用 FT-IR 光谱可以反映和鉴别木耳受不同镰刀菌侵染以及侵染程度的差异。

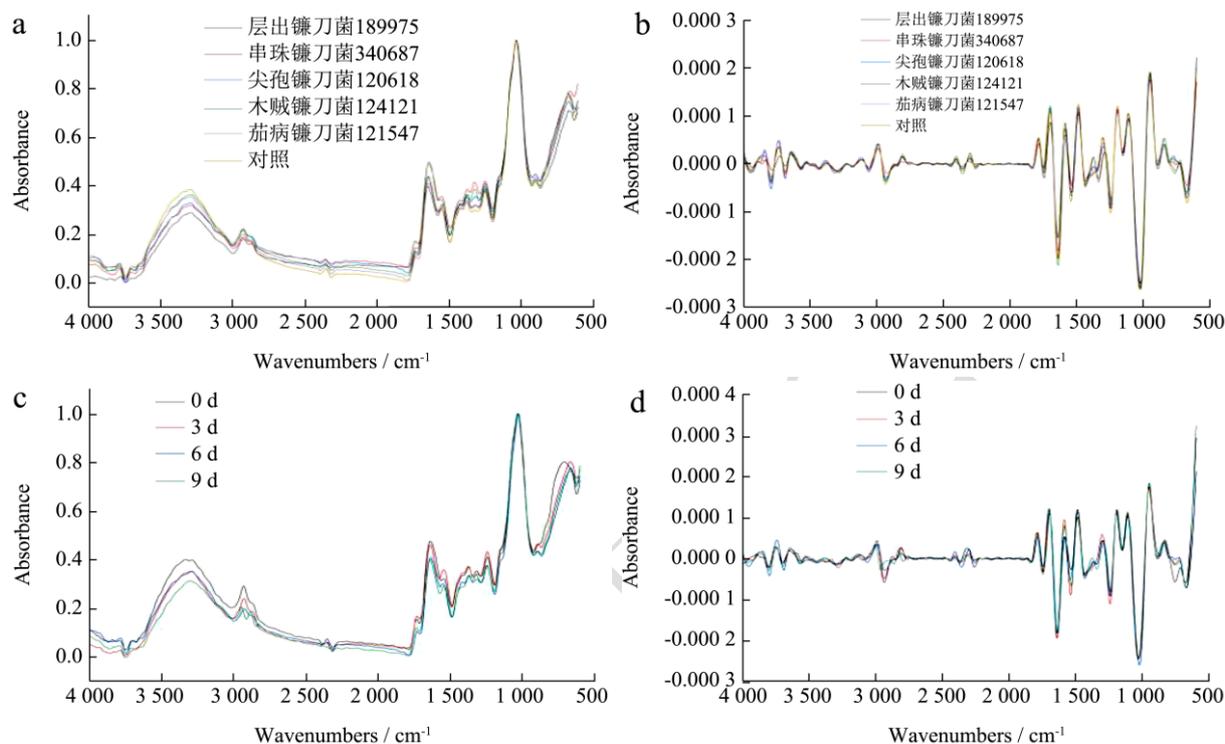


图 2 储存 6 d 后镰刀菌侵染和未接种的对照木耳样品的平均原始 (a) 和二阶导数 (b) 红外光谱; 木耳样品在不同储存阶段被茄病镰刀菌 121547 侵染的平均原始 (c) 和二阶导数 (d) 光谱

Fig.2 Mean raw (a) and second-order derivative (b) IR spectra of *Fusarium*-infected and uninoculated control black fungus samples after 6 days of storagespectra; mean raw (c) and second-order derivative (d) spectra of *F. solani* 121547 infected samples at different storage stages

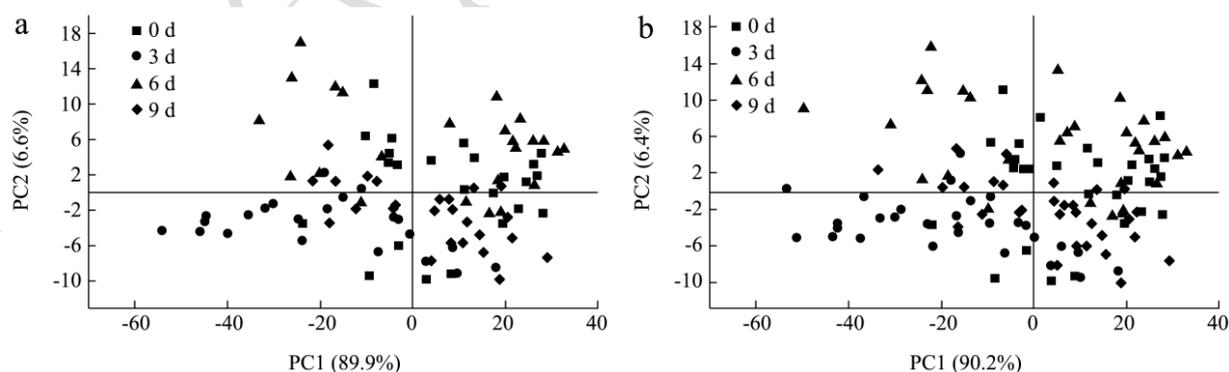


图 3 木耳中多种镰刀菌 (a) 和镰刀菌+对照 (b) 的光谱数据主成分分析结果

Fig.3 Principal component analysis results of spectral data of various *Fusarium* species (a) and *Fusarium* + control (b) in black fungus

注: (a) 多种镰刀菌; (b) 多种镰刀菌+对照。

2.3 PCA 分析

PCA 是一种多变量分析技术,主要利用降维思想,将多个指标转换为少数的综合指标,同时保持数

据中对方差贡献最大的光谱特征,从而达到简化数据的目的^[27,28]。选取镰刀菌的特征指纹图谱区域 1 800~900 cm^{-1} 进行 PCA 分析,由图 3a 和 3b 分别显示的主成分贡献之和为 96.5%和 96.6%,说明 PC1 和 PC2 代

表示了样品中绝大部分的信息,取前2个主成分构建的聚类分析模型是具有代表性的。可以看到,当所有受镰刀菌侵染的木耳样品和对照样品整合在一起时,PCA图呈现出总体的分离趋势。虽然有部分样品重叠,但仍可以通过多数样品依据侵染程度进行区分。这可能是由于木耳中营养物质的分解以及各种代谢物的产生,促使了样品的分离。总而言之,从PCA获得的主成分分析图证明了依据侵染镰刀菌的种类和侵染程度来区分样品的可能性。

2.4 LDA分析

从PCA中提取前10个主成分得分构建受不同镰刀菌侵染的木耳样品的LDA模型,结果如表1所示。结果表明,在第6天时,木耳受镰刀菌侵染的判别正确率最高:建模正确率达到100%,验证正确率达到90%。总体来看,建模平均正确率达到95.83%,验证

平均正确率达到87.50%。这表明不同镰刀菌种产生的代谢产物具有差异,利用傅里叶变换红外光谱可有效区分受不同镰刀菌侵染的木耳样品。

如表2所示,运用前10个主成分得分构建木耳样品在不同储存阶段的LDA模型。结果表明,对受不同镰刀菌侵染的木耳样品的建模判别正确率均达到100%,说明样品的霉变程度与光谱信息具有高度的相关性。所有组的验证正确率均在80%以上,串珠镰刀菌340687组,茄病镰刀菌121547组以及对照组的验证准确率均达到100%。当将所有受镰刀菌侵染的100个木耳样品和20个对照样品整合在一起时,由于样品的多样性,模型的准确性略有下降,建模集与验证集的正确率分别为91.67%和82.50%。总而言之,利用傅里叶变换红外光谱可有效区分处于不同储存阶段的木耳样品,进而对样品的霉变程度进行实时判别。

表1 木耳样品受不同镰刀菌侵染的LDA模型判别结果

Table 1 Results of LDA model discrimination of black fungus samples infected with different *Fusarium*

时间/d	建模集				留一交互验证集			
	总样本/个	正确/个	错误/个	正确率/%	总样本/个	正确/个	错误/个	正确率/%
0	30	28	2	93.33	30	25	5	83.33
3	30	29	1	96.67	30	28	2	93.33
6	30	30	0	100	30	27	3	90
9	30	28	2	93.33	30	25	5	83.33
合计	120	115	5	95.83	120	105	15	87.50

表2 木耳样品在不同储存阶段的LDA模型判别结果

Table 2 Results of LDA model discrimination of black fungus samples at different storage stages

镰刀菌种类	建模集				留一交互验证集			
	总样本/个	正确/个	错误/个	正确率/%	总样本/个	正确/个	错误/个	正确率/%
层出镰刀菌 189975	20	20	0	100	20	18	2	90
串珠镰刀菌 340687	20	20	0	100	20	20	0	100
尖孢镰刀菌 120618	20	20	0	100	20	16	4	80
木贼镰刀菌 124121	20	20	0	100	20	18	2	90
茄病镰刀菌 121547	20	20	0	100	20	20	0	100
对照	20	20	0	100	20	20	0	100
多菌种	100	97	3	97	100	87	13	87
多菌种+对照	120	110	10	91.67	120	99	21	82.50

2.5 PLSR分析

PLSR适用于存在维数问题、强共线性和噪声的光谱数据集^[29],其预测性能很强,可通过从一系列的自变量中将潜在变量提取出来进而对因变量进行预测。将FT-IR光谱数据作为自变量,木耳样品中菌落总数的对数值作为因变量,PLSR定量分析结果如表3所示。 R_c^2 和 R_p^2 值越大、RMSEP值越小、RPD值越大,

代表模型的性能越好^[30]。结果显示,对受单一镰刀菌侵染的木耳样品进行建模时,建模集的 R_c^2 为0.874 1~0.942 8, RMSEC为0.130~0.279 log CFU/g。其中,对层出镰刀菌189975组和茄病镰刀菌121547组建立的模型相对较优, R_c^2 分别为0.935 7和0.942 8, RMSEC分别为0.145 log CFU/g和0.130 log CFU/g。对单一镰刀菌侵染的木耳样品的菌落总数进行预测时,同样得到了较好的预测结果:验证集的 R_p^2 为0.822 5~0.924 9,

RMSEP 为 0.173~0.324 log CFU/g。除了木贼镰刀菌 124121 组的 RMSEP 较大, 为 0.324 log CFU/g, 斜率为 0.842 9, 截距为 0.435 2, 其线性相关性较差以外, 其余组的结果都较好; 特别是层出镰刀菌 189975 组和茄病镰刀菌 121547 组, 模型相关性好, 精度高, 稳健性强。RPD 通常被用来衡量模型的稳定性与预测能力^[31]。当 $RPD \geq 3$ 时, 表明模型的稳健性强, 预测精度高, 适用于实际分析; 当 $2 \leq RPD < 3$ 时, 表明模型

具备一定定量分析的能力, 稳健性有待进一步提高; 当 $1.5 \leq RPD < 2$ 时, 表明模型仅能用于快速的定性筛选^[32]。通过观察可知, 除了木贼镰刀菌 124121 组的 RPD 值为 2.53, 其余各处理组的 RPD 值均大于 3, 表明构建的模型具有良好的预测效果, 可供实际检测使用。而木贼镰刀菌 124121 组的 RPD 值偏低的原因可能是木耳中的菌悬液未充分混匀。

表 3 基于 FT-IR 的木耳样品的菌落总数 PLSR 模型预测分析结果

Table 3 Results of FT-IR based PLSR model prediction analysis of fungal colonization of black fungus samples

镰刀菌种类	建模集		验证集				Factors	RMSECV/ (log CFU/g)	RPD
	R_c^2	RMSEC/ (log CFU/g)	R_p^2	RMSEP/ (log CFU/g)	斜率	截距			
层出镰刀菌 189975	0.935 7	0.145	0.905 6	0.173	0.991 4	-0.146 3	5	0.541	3.14
串珠镰刀菌 340687	0.884 8	0.171	0.843 0	0.290	0.857 6	0.297 6	5	0.563	3.28
尖孢镰刀菌 120618	0.874 1	0.279	0.858 8	0.286	1.138 5	0.310 7	5	0.535	3.19
木贼镰刀菌 124121	0.881 2	0.201	0.822 5	0.324	0.842 9	0.435 2	4	0.568	2.53
茄病镰刀菌 121547	0.942 8	0.130	0.924 9	0.187	0.964 0	-0.139 1	9	0.639	3.52
多种菌株	0.897 2	0.167	0.875 9	0.253	0.882 3	0.367 5	10	0.421	3.47
多种菌株+对照	0.872 5	0.284	0.842 8	0.292	0.864 7	0.392 3	8	0.636	2.81

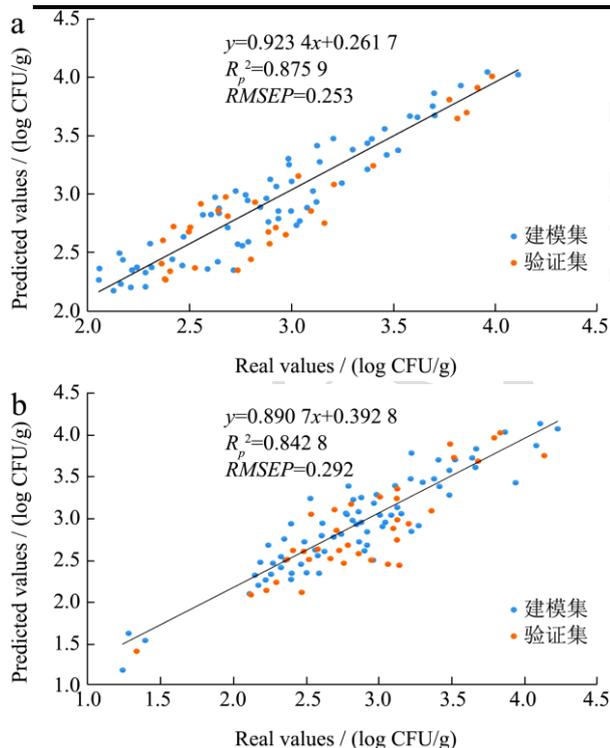


图 4 木耳样品中实测菌落计数与 FT-IR 预测的相关性

Fig.4 Correlation between measured colony counts and FT-IR predictions in blackfungus samples

注: (a) 接种镰刀菌的样品; (b) 接种镰刀菌的样品+对照样品。

对受 5 种镰刀菌侵染的木耳样品的红外光谱数据构建 PLSR 分析预测模型, 共有 100 个样本用于 PLSR

建模, 选取 70 个样本作为建模集, 30 个样本作为预测集。结果显示, 验证集的 R_p^2 为 0.875 9, RMSEP 为 0.253 log CFU/g, RPD 值为 3.47, 模型预测精度较优。对所有 100 个镰刀菌侵染样本和 9 个菌落总数大于 0 的对照样本建立 PLSR 预测分析模型。共有 109 个样本被整合在一起, 由于异常检测, 1 个样本被从样本集中剔除。得到的模型中, 验证集的 R_p^2 为 0.842 8, RMSEP 为 0.292 log CFU/g, RPD 值为 2.81, 可以发现模型的预测精度有所降低, 但仍具有定量分析的潜力。如果加入更多具备更大参考值范围的样本, RPD 值和模型的性能可能会进一步提高。PLSR 模型中实际菌落数和 FT-IR 预测菌落数的结果如图 4 所示。大多数的样本均匀分布于中心线两侧, 这表明利用 PLSR 预测木耳样品中的菌落总数, 进而对木耳的霉变状态进行鉴别具有可行性。

3 结论

建立的基于 FT-IR 技术的木耳中镰刀菌的定性与定量分析方法不仅可以快速识别木耳中不同的镰刀菌菌株, 还可对木耳的不同镰刀菌侵染程度实现有效区分, 总体判别正确率均在 82.50% 以上。

运用 FT-IR 光谱可实现对木耳中菌落总数的定量分析, 建立的 PLSR 模型中 R_p^2 达到 0.842 8, RMSEP 值为 0.292 log CFU/g, RPD 值为 2.81, 模型预测精度较优。结果表明, FT-IR 技术可作为一种快速、准确、

无损的方法实现木耳霉变的早期检测。

本研究对木耳中的镰刀菌进行了初步筛选,且研究的镰刀菌属的菌种菌株数量有限,为了提高模型的稳定性与可靠性,后续研究还需扩大来自不同来源的各种菌株污染的样本规模。

参考文献

- [1] 蔡玉红,武巍,杨建,等.北方黑木耳代料高效栽培及常见病虫害防治技术[J].黑龙江农业科学,2015,3:167-168.
- [2] 张静,姜坤.地摆黑木耳病害及防治[J].蔬菜,2014,4:55-57.
- [3] 沈瑞清,张萍,郭成瑾,等.宁夏镰刀菌属(*Fusarium* Link)真菌的研究[J].安徽农业科学,2012,40(16):8869-8870.
- [4] Mkhize P, Mangena P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) based detection of *Fusarium circinatum* for alleviation of pine seedlings wilt [J]. Journal of Biotech Research, 2021, 12: 83-92.
- [5] Han Y A N, Ruixiu Y, Xiaotong G A I, et al. Establishment of ELISA for *Fusarium oxysporum* F. sp. melonis [J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2018, 30(12): 2081.
- [6] Ayob F W, Simarani K. Endophytic filamentous fungi from a *Catharanthus roseus*: Identification and its hydrolytic enzymes [J]. Saudi Pharmaceutical Journal, 2016, 24(3): 273-278.
- [7] Abe C A L, Faria C B, De Castro F F, et al. Fungi isolated from maize (*Zea mays* L.) grains and production of associated enzyme activities [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2015, 16(7): 15328-15346.
- [8] 黄跃才.几种镰刀菌的活性检测研究[D].贵阳:贵州大学, 2008.
- [9] 高兴,马莉,郑峰屹,等.食品安全快速检测技术研究进展[J].食品工程,2020,154(1):18-23.
- [10] Rodriguez S B, Thornton M A, Thornton R J. Raman spectroscopy and chemometrics for identification and strain discrimination of the wine spoilage yeasts *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces bailii*, and *Brettanomyces bruxellensis* [J]. Appl Environ Microbiol, 2013, 79(20): 6264-6270.
- [11] Lee J, Ahn M S, Lee Y J, et al. Rapid tool for identification of bacterial strains using Fourier transform infrared spectroscopy on genomic DNA [J]. Journal of Applied Microbiology, 2019, 126(3): 864-871.
- [12] 吴瑾光.近代傅里叶变换红外光谱技术及应用[M].北京:科学技术文献出版社,1994.
- [13] Xie J, Yang F, Shi H, et al. Protein FT-IR amide bands are beneficial to bacterial typing [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 207: 358-364.
- [14] Wang Y D, Li X L, Liu Z X, et al. Discrimination of foodborne pathogenic bacteria using synchrotron FTIR microspectroscopy [J]. Nuclear Science and Techniques, 2017, 28(4): 38-43.
- [15] Dixit V, Cho B K, Obendorf K, et al. Identifications of household's spores using mid infrared spectroscopy [J]. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc, 2014, 123: 490-496.
- [16] Zarnowicz P, Lechowicz L, Czerwonka G, et al. Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) as a tool for the identification and differentiation of pathogenic bacteria [J]. Current Medicinal Chemistry, 2015, 22(14): 1710-1718.
- [17] Wang J, Kim K H, Kim S, et al. Simple quantitative analysis of *Escherichia coli* K-12 internalized in baby spinach using Fourier transform infrared spectroscopy [J]. International Journal of Food Microbiology, 2010, 144(1): 147-151.
- [18] Figoli C B, Rojo R, Gasoni L A, et al. Characterization of *Fusarium graminearum* isolates recovered from wheat samples from Argentina by Fourier transform infrared spectroscopy: Phenotypic diversity and detection of specific markers of aggressiveness [J]. International Journal of Food Microbiology, 2016, 244: 36.
- [19] GB/T 4789.15-2016,食品安全国家标准食品微生物学检验霉菌和酵母计数[S].
- [20] 刘鹏,蒋雪松,沈飞,等.近红外光谱技术的花生产毒霉菌侵染快速检测[J].光谱学与光谱分析,2017,37(5):1397-1402.
- [21] 蒋雪松,刘鹏,沈飞,等.衰减全反射-傅里叶变换红外光谱法对花生仁霉变的分析[J].食品科学,2017,38(12):315-320.
- [22] Kaya-Celiker H, Mallikarjunan P K, Iii D S, et al. Discrimination of moldy peanuts with reference to aflatoxin using FTIR-ATR system [J]. Food Control, 2014, 44: 64-71.
- [23] 聂明,罗江兰,包衍,等.镰刀菌的傅里叶变换红外光谱鉴别[J].光谱学与光谱分析,2007,27(8):1519-1522.
- [24] 柴阿丽,李金萍,石延霞,等.基于傅里叶变换红外光谱和聚类分析的真菌鉴别[J].光谱学与光谱分析,2010,30(11): 2941-2944.
- [25] Salman A, Tsrar L, Pomerantz A, et al. FTIR spectroscopy for detection and identification of fungal phytopathogenes [J]. Spectroscopy, 2010, 24(3-4): 61-69.
- [26] Choong Y K, Sun S Q, Zhou Q, et al. Verification of *Ganoderma (Lingzhi)* commercial products by Fourier transform infrared spectroscopy and two-dimensional IR correlation spectroscopy [J]. Journal of Molecular Structure, 2014, 1069: 60-72.

- [27] 高惠璇.应用多元统计分析[M].北京:北京大学出版社, 2005.
- [28] 王萍,张占林,乔勇升.傅立叶变换红外光谱技术对铜绿假单胞菌及其干扰菌的分类鉴定[J].食品科技,2017,42(4): 302-305.
- [29] Mehmood T, Liland K H, Snipen L, et al. A review of variable selection methods in partial least squares regression [J]. Chemometrics & Intelligent Laboratory Systems, 2012, 118: 62-69.
- [30] 尚静,孟庆龙,黄人帅,等.光纤光谱技术对猕猴桃品质及成熟度的无损检测[J].光学精密工程,2021,29(5):1190-1198.
- [31] 褚小立.化学计量学方法与分子光谱分析技术[M].北京:化学工业出版社,2011.
- [32] Herrmann S, Mayer J, Michel K, et al. Predictive capacity of visible-near infrared spectroscopy for quality parameter assessment of compost [J]. Journal of Near Infrared Spectroscopy, 2009, 17(5): 289-301.

现代食品科技