

中红外光谱模型用于烤肉中苯并[a]芘的快速检测和评估

Rapid detection and evaluation of benzo[a]pyrene in barbecue by mid-infrared spectroscopy model

邵淑娟^{1,2} 李丽³ 温磊³ 宋欢⁴ 阳生琼⁵

SHAO Shu-juan^{1,2} LI Li³ WEN Lei³ SONG Huan⁴ YANG Sheng-qiong⁵

(1. 菏泽市行政审批服务局, 山东 菏泽 274000; 2. 菏泽市食品药品检验检测研究院,

山东 菏泽 274000; 3. 四川轻化工大学生物工程学院, 四川 宜宾 644000;

4. 四川戎测质检技术服务有限公司, 四川 宜宾 644000; 5. 宜宾中山医院, 四川 宜宾 644000)

(1. Heze Administrative Examination and Approval Service Bureau, Heze, Shandong 274000, China;

2. Heze Institute of Food and Drug Inspection and Testing, Heze, Shandong 274000, China; 3. College

of Bioengineering, Sichuan University of Science and Engineering, Yibin, Sichuan 644000, China;

4. Sichuan Rongce Quality Inspection Technology Service Co., Ltd., Yibin, Sichuan 644000, China;

5. Yibin Zhongshan Hospital, Yibin, Sichuan 644000, China)

摘要:目的: 实现烤肉制品中苯并[a]芘含量的快速检测。

方法:提出一种基于中红外光谱模型的苯并[a]芘含量检测方法, 利用中红外光谱采集了 120 个烤肉样品的原始光谱, 采用标准正态变量转换法、多元散射校正、一阶导数、二阶导数对原始光谱进行预处理, 并通过主成分分析评价了光谱的预处理效果, 以 8:2 的比例将原始光谱数据分为训练集和验证集建立了烤肉制品评价模型。**结果:**基于中红外光谱数据建立的模型的训练集决定系数、验证集决定系数、训练集均方根误差以及验证集均方根误差分别为 0.995 1、0.995 7、0.164 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 0.116 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 训练集样本经过建模后, 其残差较小, 最大值为 0.406, 总残差和趋于零。**结论:**该模型的预测能力强, 准确度高, 能够较好反映实际的烤肉中苯并[a]芘的含量, 可以实现烤肉制品的无损快速检测, 在烤肉制品行业中有实际应用价值。

关键词: 烤肉; 苯并[a]芘; 中红外光谱; 无损检测

Abstract: Objective: In order to realize the rapid detection of benzo[a]pyrene content in barbecue products, a method of

基金项目: 烹饪科学四川省高等学校重点实验室开放基金项目 (编号: PRKX2017Z05)

作者简介: 邵淑娟, 女, 菏泽市行政审批服务局、菏泽市食品药品检验检测研究院高级工程师, 硕士。

通信作者: 李丽 (1982—), 女, 四川轻化工大学副教授, 博士。

E-mail: kokonice@139.com

收稿日期: 2022-08-09 **改回日期:** 2023-01-10

detection based on mid-infrared spectrum model was proposed.

Methods: The original spectra of 120 barbecue samples were collected by mid-infrared spectroscopy. The original spectra were pretreated by standard normal variable transformation, multivariate scattering correction, first derivative and second derivative. The pretreatment effect of the spectra was evaluated by principal component analysis. The original spectral data were divided into training set and verification set at a ratio of 8:2 to establish the evaluation model of barbecue products. **Results:** The R^2_c , R^2_v , RMSEC, and RMSEP of the model based on mid-infrared spectrum data were 0.995 1, 0.995 7 and 0.164 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$, and 0.116 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectively. The residual error of training set samples was small after modeling. The maximum value was 0.406, and the total residual sum tended to zero. **Conclusion:** This model has strong prediction ability and high accuracy, and can better reflect the content of benzo[a]pyrene in actual barbecue. Thus, this can help to realize the non-destructive and rapid detection of barbecue products and has practical application value in the industry of barbecue products.

Keywords: barbecue; benzo[a]pyrene; mid-infrared spectroscopy; non-destructive testing

苯并[a]芘是一种多环芳烃, 是一类持久性有机污染物, 主要产生于化石燃料的不完全燃烧, 毒性强且难以降解, 在 2012 年被国际癌症研究机构列为 I 级致癌物^[1]。

苯并[a]芘可以通过污染空气、土壤、水源等对人体造成伤害^[2],同时食物的摄入也是苯并[a]芘进入到人体的主要途径之一^[3],蔬果肉类等原料在养殖、灌溉过程中可能被苯并[a]芘污染,食品加工、包装、运输、储存等过程也可能发生污染。另外,食物烹调方式也会使得苯并[a]芘骤增^[4],熏烤制得的食物由于烹调时的高温,使得食材中含有的脂肪、蛋白质、碳水化合物等发生环化、裂解、热聚合等反应,从而产生苯并[a]芘^[5],同时木炭燃烧所产生的苯并[a]芘也会转移到食物中。因此,为了控制食品中苯并[a]芘含量从而保障食品安全,需要建立更加便捷更加高效的检测方法。

目前常用的苯并[a]芘检测方法主要有荧光分光光度法、气相色谱—质谱联用法、高效液相色谱—荧光检测法等^[6]。荧光分光光度法的精密度和准确度良好,且检测成本低检测速度快,但是荧光法受背景干扰严重,光谱容易发生重叠现象,故该方法难以应用在复杂基质中。气相色谱—质谱联用法准确度和精确度高,可以对复杂样品进行检测,然而其检测速度以及检测成本差强人意。高效液相色谱—荧光检测灵敏度高,但是其设备昂贵且无法做到快速检测^[7]。另外,由于现有的苯并[a]芘检测方法均需要前处理,这更加限制了苯并[a]芘的检测效率^[8]。因此,建立一种快速方便且灵敏度好的苯并[a]芘检测方法对保障食品安全至关重要。

红外光谱分析是指利用红外光谱对物质分子进行分析和鉴定,可用于研究分子的结构和化学键,也可以作为表征和鉴别化学物种的方法^[9]。红外光谱技术目前已被广泛应用于生物、医药、食品在内的诸多领域^[10]。红外光谱技术与化学计量学相结合可对样品进行定性、定量分析,具有快速、无损、高效的优势,可以实现对苯并[a]芘的高效检测。研究拟利用红外光谱技术,结合化学计量学,对烤肉中的苯并[a]芘进行检测,以期创建一种检测速度快、灵敏度好的苯并[a]芘检测方法。

1 材料与方 法

1.1 材 料

猪肉(五花)、机制炭:市售;

苯并[a]芘标准品、甲苯、乙腈、正己烷:色谱纯;上海阿拉丁生化科技股份有限公司;

中性氧化铝柱:青岛鸿谱生物科技有限公司。

1.2 仪 器 与 设 备

傅立叶红外光谱仪: Spectrum Two 型, 珀金埃尔默企业管理(上海)有限公司;

液相色谱仪: 1260 型, 沃特世科技(上海)有限公司。

1.3 样 品 制 备 流 程

将新鲜猪肉切成边长 1 cm 左右的立方体,用竹签穿成串,置于烤肉架通过炭烤烤熟。为了获得焦糊程度不

且具有覆盖性的样品,所有样品随机烤制 5~30 min,烤制成熟后冷却至室温。将烤肉碾碎后准确称重,按照 GB 5009.27—2016《食品安全国家标准 食品中苯并[a]芘的测定》中的方法检测烤肉的苯并[a]芘含量。

1.4 光 谱 采 集

将样品放在 ATR 附件上,设定红外光谱参数为,波数范围 1 868~1 000 cm^{-1} ,分辨率 2 cm^{-1} ,扫描次数为 32 次,每个样品测定 3 个位置,取平均值作为该样品的光谱。

1.5 光 谱 预 处 理 及 建 模

对处理好的样本分别进行光谱扫描,然后按照 8:2 的比例分成训练集和验证集。将原始光谱分别进行标准正态变量转换法(standard normal variate, SNV)、多元散射校正(multiplication Scatter Correction, MSC)、一阶导数(first derivative, 1st Der)、二阶导数(second derivative, 2nd Der)等预处理,以提高其预测精度^[11],然后以化学分析苯并[a]芘含量为参考值,采用偏最小二乘法(partial least square analysis, PLS)对原始光谱和不同预处理后的光谱建立模型,以训练集决定系数(R_c^2)、验证集决定系数(R_p^2)、训练集均方根误差(root mean square error of calibration, RMSEC)以及验证集均方根误差(root mean square error of prediction, RMSEP)作为指标对模型进行评价^[12],其中 R_c^2 和 R_p^2 越接近 1 效果越好, RMSEC 和 RMSEP 越接近 0 效果越好,表明模型的预测能力越高^[13]。

1.6 统 计 分 析

利用 MATLAB 软件导入数据并进行预处理、模型构建和验证。

2 结 果 与 分 析

2.1 样 品 的 苯 并 [a] 芘 含 量

图 1 为 120 个样品的苯并[a]芘含量分布情况。120 个样本均含有苯并[a]芘,且苯并[a]芘含量主要分布在 4~5 (27 个样本),6~7(29 个样本),8~9(21 个样本) $\mu\text{g}/\text{kg}$ 3 个区间。GB 2762—2017《食品安全国家标准 食品中污染物限量》中规定,肉及肉制品(熏、烤肉)中苯并[a]芘含量限量为 5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$,制备的 120 个样品中,苯并[a]芘含量符合国家食品安全标准的有 42 个,其余 78 个均不符合。长时间的熏烤以及油脂受热裂解产生苯并[a]芘,而不同样品中不同的油脂含量以及烤制时的温度等原因,使得 120 个样品的苯并[a]芘含量有所差异(0~11 $\mu\text{g}/\text{kg}$)^[14],说明制备的 120 个样品具有一定的代表性和覆盖性。

2.2 样 品 的 光 谱 采 集

将冷却至室温的样品碾碎后,放在 ATR 附件上,设定检测波束为 1 868~1 005 cm^{-1} 。120 个样品的中红外光谱结果如图 2 所示。

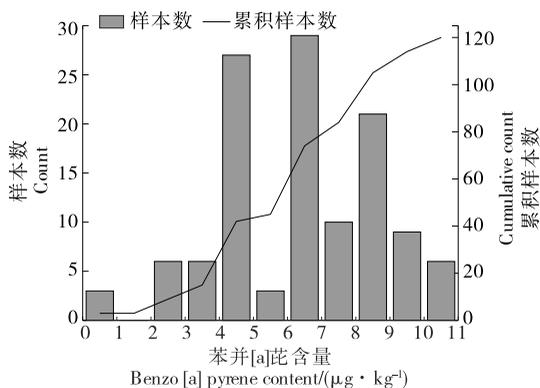


图 1 样本中苯并[a]芘含量分布

Figure 1 Distribution of benzo[a]pyrene content in samples

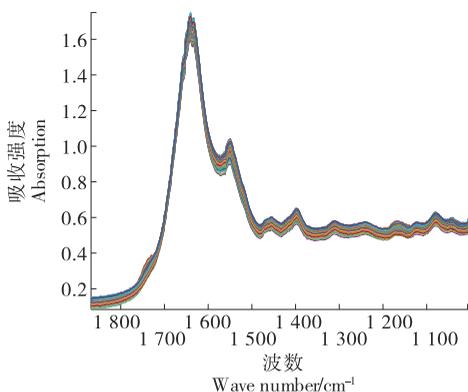


图 2 样品红外光谱

Figure 2 Infrared spectra of samples

烤肉样品在该波段有很好的光谱响应,120 个样品的中红外光谱波形及曲线变化趋势基本一致,但又不完全重合,其波峰强度具有一定的差异,说明样本之间存在差异,以及 120 个样本群体具有连续性和相似性。由图 2 可以看出,在 1 650,1 550,1 400 cm^{-1} 附近有明显的波峰。在 1 400 cm^{-1} 附近的特征峰归属为 C—C、C=H 的伸缩振动,在 1 550 cm^{-1} 以及 1 650 cm^{-1} 左右的特征峰主要归属为苯并[a]芘环上 H 的偏转以及 C—C 链的振动^[15-17]。

2.3 样品光谱处理及建模

从图 2 可以看出,光谱强度随着偏移值不断改变,然而光谱偏移强度的高度差异会导致强度小的数据无法与强度大的数据在同维度间比较,因此将光谱数据归一化。主成分分析可以根据特征值与特征向量将原始光谱数据分解为主成分分量的线性组合^[18]。对 120 个样本进行主成分分析,提取了主成分分析中前 4 个主成分,其贡献率如图 3 所示,第一主成分贡献最大,接近 84%,前 4 个主成分的累计贡献率接近 99%,前 4 个主成分的贡献率已经很高,说明主成分分析法对光谱数据的降维效果显著,同时光谱都存在光谱共线性问题。

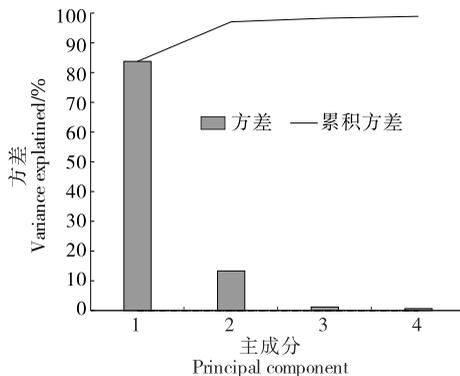


图 3 部分主成分的贡献率

Figure 3 The contribution of principal components

以 96 个样本为校正集,24 个样本为验证集,第一主成分和第二主成分计算数据的得分结果如图 4 所示。随着苯并[a]芘含量增加第一主成分得分增加、第二主成分得分也在增加,同时第一主成分的得分变化明显大于第二主成分的,说明第一主成分代表了烤肉样品的绝大部分信息。在图 4 分界线左下侧为符合 GB 2762—2016 规定的苯并[a]芘含量的烤肉样品,右上侧为苯并[a]芘含量超出国家标准的烤肉样品,且苯并[a]芘含量接近的样本相对聚集,苯并[a]芘含量差异大的样本相对分散,说明了烤肉中不同的苯并[a]芘含量使得样本的光谱数据有明显差异。主成分分析结果发现,通过分析未经过数据处理的原始光谱数据能够根据烤肉样品中的苯并[a]芘含量将烤肉制品分为合格与不合格两类,两类样本有各自的聚集区域,且两类样本基本没有重叠交叉,说明通过苯并[a]芘含量对烤肉进行分类是可行的^[19]。

以红外光谱数据为自变量,色谱分析结果为因变量,在数据集中选取 80% 作为训练集,剩余 20% 作为验证集,采用 PLS 方法建立预测模型。验证集样品是用于预测模型的检验,考察预测模型实际预测的准确度和精度。用构建的模型将训练集和验证集数据进行计算,以实测

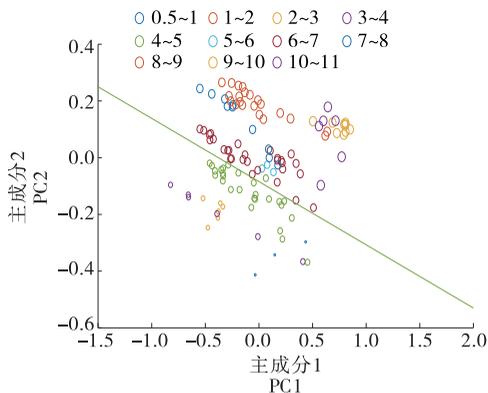


图 4 样品原始光谱主成分分析

Figure 4 Principal component analysis of sample raw spectra

值为横坐标, 预测值为纵坐标绘制散点图, 并进行线性拟合, 验证集样品的实际值与预测值的线性关系如图 5 所示。预测结果与实测值均重合, 训练集和验证集样本散点图均分布在拟合直线附近, 说明苯并[a]芘含量的预测误差小, 预测模型的准确度高, 对未知样品的泛化检测效果好, 预测能力强。模型验证集的 R^2 为 0.995 1, R_p^2 为 0.995 7, RMSEC 为 0.164 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$, RMSEP 为 0.116 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 其中 R^2 表明了训练集样品建立的模型预测值与实际值的线性关系, R^2 接近于 1, 说明该模型建模效果较好^[20], 可以快速有效地检测烤肉中的苯并[a]芘含量。

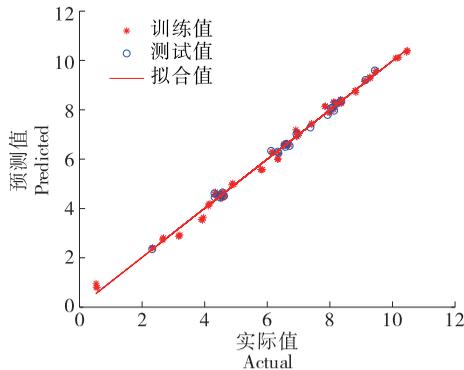


图 5 样本实测值与预测值对比

Figure 5 Comparison of measured and predicted value of samples

残差是预测值与实际值的差值, 可以反映预测值与实际值在方向和数值上的偏离概况, 图 6 是验证集样品的残差分布图。训练集样本经过建模后, 其残差较小, 最大值为 0.406, 且残差分布较均匀, 总残差和趋于零, 进一步说明该模型的预测能力强, 准确度高, 能够较好反映实际的烤肉中苯并[a]芘的含量。

3 结论

以不同烤制时间的碳烤猪肉为试验样品, 采用红外光谱技术, 结合 PCA 和 PLS, 对烤肉样品中苯并[a]芘含量进行了定性和定量建模分析, 建立了烤肉苯并[a]芘含

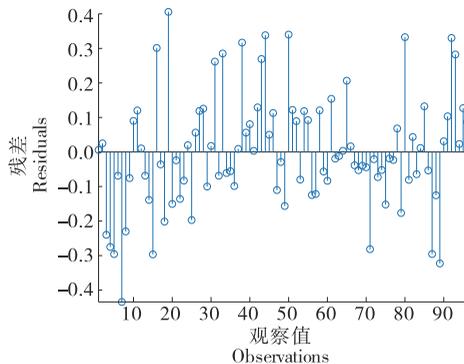


图 6 验证集样本残差图

Figure 6 Sample residuals of testing set

量测定模型。结果表明, 通过 PCA 分析基本能够将不同苯并[a]芘含量样本进行区分, 能够较好地符合国家标准限量要求的样本与超标样本区分开。通过 PLS 方法构建模型能够很好预测样品中苯并[a]芘含量, 模型的训练集决定系数、验证集决定系数、训练集均方根误差以及验证集均方根误差分别为 0.995 1、0.995 7、0.164 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 0.116 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 说明该模型对样品中苯并[a]芘含量检测的准确度高。因此, 采用红外光谱技术可以简便且准确地对烤肉样品中苯并[a]芘含量进行鉴别和预测。

参考文献

- [1] ZASTROW L, JUDAS M, SPEER K, et al. Barbecue conditions affect contents of oxygenated and non-oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons in meat and non-meat patties [J]. Food Chemistry: X, 2022, 14: 100351.
- [2] DAS D N, BHUTIA S K. Inevitable dietary exposure of benzo[a]pyrene: Carcinogenic risk assessment an emerging issues and concerns[J]. Current Opinion in Food Science, 2018, 24: 16-25.
- [3] SHOUKAT S. Potential anti-carcinogenic effect of probiotic and lactic acid bacteria in detoxification of benzo[a]pyrene: A review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2020, 99: 450-459.
- [4] DARWISH W S, CHIBA H, EL-GHAREEB W R, et al. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbon content in heat-treated meat retailed in Egypt: Health risk assessment, benzo[a]pyrene induced mutagenicity and oxidative stress in human colon (CaCo-2) cells and protection using rosmarinic and ascorbic acids [J]. Food Chemistry, 2019, 290: 114-124.
- [5] WOO H, LEE J, PARK D, et al. Protective effect of mulberry (Morus alba L.) extract against benzo[a]pyrene induced skin damage through inhibition of aryl hydrocarbon receptor signaling [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65 (50): 10 925-10 932.
- [6] LI R, SUN H, WANG S, et al. Retention of CdS/ZnS quantum dots (QDs) on the root epidermis of woody plant and its implications by benzo [a] pyrene: Evidence from the in situ synchronous nanosecond time-resolved fluorescence spectra method[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(4): 814-821.
- [7] 高玮, 邓智辉. 检测食品中苯并芘的方法研究[J]. 粮食科技与经济, 2018, 43(8): 69-73.
GAO W, DENG Z H. Study on test method of benzopyrene in food [J]. Food Science and Technology and Economy, 2018, 43 (8): 69-73.
- [8] DING J, NING B F, GONG W F, et al. Cyclin D1 induction by benzo[a]pyrene-7,8-diol-9,10-epoxide via the phosphatidylinositol 3-kinase / Akt / MAPK- and p70s6k-dependent pathway promotes cell transformation and tumorigenesis [J]. Journal of Biological Chemistry, 2009, 284(48): 33 311-33 319.
- [9] FREDES C, VALERO C, DIEZMA B, et al. A model based on clusters of similar color and nir to estimate oil content of single olives[J]. Foods, 2021, 10(3): 609.

(下转第 102 页)

- [6] MALLAIAH S, DANTI A, NARASIMHAMURTHY S K. Classification of diseased arecanut based on texture features[J]. International Journal of Computer Applications, 2014, 1(1): 1-6.
- [7] BHARADWAJ N K, DINESH R. Classification and grading of areca nut using texture based block-wise local binary patterns[J]. Turkish Journal of Computer and Mathematics Education, 2021, 12(11): 575-586.
- [8] 许月明, 蔡健荣, 龚莹辉. 基于计算机视觉的槟榔分级研究[J]. 食品与机械, 2016, 32(8): 91-94, 102.
XU Y M, CAI J R, GONG Y H. Betel nut grading study based on computer vision[J]. Food & Machinery, 2016, 32(8): 91-94, 102.
- [9] 舒军, 何俊成, 李振亚. 基于 Mask R-CNN 的槟榔片分割算法研究[J]. 湖北工业大学学报, 2022, 37(1): 46-53.
SHU J, HE J C, LI Z Y. Research on grading algorithm of betel nut slices based on Mask R-CNN[J]. Hubei University of Technology, 2022, 37(1): 46-53.
- [10] CHRISTIAN S, SERGEY I, VINCENT V. Inception-v4, inception-ResNet and the impact of residual connections on learning [C]// Proceedings of the 31st AAAI Conference on Artificial Intelligence. San Francisco: AAAI, 2017: 4 278-4 284.
- [11] CHOLLET F. Xception: Deep learning with depthwise separable convolutions[C]// Proceedings of the 2017 IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition. Honolulu: IEEE, 2017: 1 800-1 807.
- [12] HU J, SHEN L, ALBANIE S, et al. Squeeze-and-excitation networks[J]. IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence, 2020, 42(8): 2 011-2 023.
- [13] 陈朝一, 许波, 吴英, 等. 医学图像处理中的注意力机制研究综述[J]. 计算机工程与应用, 2022, 58(5): 23-33.
CHEN C Y, XU B, WU Y, et al. Overview of research on attention mechanism in medical image processing[J]. Computer Engineering and Applications, 2022, 58(5): 23-33.
- [14] 宋建锋, 韦玥, 苗启广, 等. 压缩激励机制驱动的尿液细胞图像分类算法[J]. 西安电子科技大学学报, 2020, 47(2): 39-45.
SONG J F, WEI Y, MIAO Q G, et al. Urine cell image classification algorithm based on the squeeze and excitation mechanism[J]. Journal of Xidian University, 2020, 47(2): 39-45.
- [15] CLEVERT D A, UNTERTHINER T, HOCHREITER S. Fast and accurate deep network learning by exponential linear units (ELUs) [J]. Computer Science, 2015, 5(6): 43-51.
- [16] 王宪保, 肖本督, 姚明海. 一种结合类激活映射的半监督图像分类方法[J]. 小型微型计算机系统, 2022, 43(6): 1 204-1 209.
WANG X H, XIAO B D, YAO M H. Semi-supervised image classification method combined with class activation mapping[J]. Journal of Chinese Computer Systems, 2022, 43(6): 1 204-1 209.
- [17] 司念文, 张文林, 屈丹, 等. 卷积神经网络表征可视化研究综述[J]. 自动化学报, 2022, 48(8): 1 890-1 920.
SI N W, ZHANG W L, QU D, et al. Representation visualization of convolutional neural networks: A survey [J]. Acta Automatica Sinica, 2022, 48(8): 1 890-1 920.
- [18] RAMPRASAATH R, MICHAEL C, ABHISHEK D, et al. Grad-CAM: Visual explanations from deep networks via gradient-based localization[J]. International Journal of Computer Vision, 2020, 128(2): 336-359.
-
- (上接第 37 页)
- [10] JIA J M, ZHOU X F, LI Y, et al. Establishment of a rapid detection model for the sensory quality and components of Yuezhou Longjing tea using near-infrared spectroscopy [J]. LWT-Food Science and Technology, 2022, 164: 113625.
- [11] LIU Y, PENG Q W, YU J C, et al. Identification of tea based on CARS-SWR variable optimization of visible/near-infrared spectrum[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2020, 100(1): 371-375.
- [12] SOYEURT H, GRELET C, MCPARLAND S, et al. A comparison of 4 different machine learning algorithms to predict lactoferrin content in bovine milk from mid-infrared spectra[J]. Journal of Dairy Science, 2020, 103(12): 11 585-11 596.
- [13] WU X, LI G L, HE F Y. Nondestructive analysis of internal quality in pears with a self-made near-infrared spectrum detector combined with multivariate data processing[J]. Foods, 2021, 10(6): 1 315.
- [14] WANG S J, GUAN R F, HUANG H Z, et al. Effects of different smoking materials and methods on the quality of Chinese traditional bacon (larou) [J]. Journal of Food Protection, 2021, 84(3): 359-367.
- [15] MORAIS C L M, SHORE R F, PEREIRA M G, et al. Assessing binary mixture effects from genotoxic and endocrine disrupting environmental contaminants using infrared spectroscopy[J]. ACS Omega, 2018, 3(10): 13 399-13 412.
- [16] 韩佳柳, 林华, 刘玉柱, 等. 苯并[a]芘分子构型和特征光谱的研究[J]. 科技创新与应用, 2016(17): 72.
HAN J L, LIN H, LIU Y Z, et al. Study on molecular configuration and characteristic spectra of benzo[a]pyrene [J]. Technology Innovation and Application, 2016, 17: 72.
- [17] 韩颖, 郭明, 魏艳玲, 等. 苯并[a]芘的拉曼光谱计算及分析[J]. 吉林化工学院学报, 2012, 29(7): 9-12.
HAN Y, GUO M, WEI Y L, et al. Calculation and analysis for raman spectroscopy of benzo[a]pyrene[J]. Journal of Jilin Institute of Chemical Technology, 2012, 29(7): 9-12.
- [18] FU X S, HONG X Z, LIAO J Y, et al. Fingerprint approaches coupled with chemometrics to discriminate geographic origin of imported salmon in China's consumer market[J]. Foods, 2021, 10(12): 2 986.
- [19] SIVAKUMAR C, CHAUDHRY M M A, PALIWAL J. Classification of pulse flours using near-infrared hyperspectral imaging[J]. LWT-Food Science and Technology, 2022, 154: 112799.
- [20] ZHAO M, PENG Y K, LI L. A robot system for the auto detection and classification of apple internal quality attributes[J]. Postharvest Biology and Technology, 2021, 180: 111615.