

基于近红外光谱特征的冷冻小龙虾鲜度快速检测方法

占可¹, 陈季旺^{1,2,3,*}, 徐言¹, 倪杨帆⁴, 刘言^{1,2,3}, 邹圣碧³

(1.武汉轻工大学食品科学与工程学院, 湖北 武汉 430023; 2.农产品加工与转化湖北省重点实验室(武汉轻工大学), 湖北 武汉 430023; 3.国家小龙虾加工技术研发分中心(潜江), 湖北 潜江 433100; 4.武汉农业检测中心, 湖北 武汉 430016)

摘要: 为建立快速检测冷冻小龙虾鲜度的近红外光谱模型, 采集解冻的小龙虾虾尾、虾仁及虾糜的近红外光谱, 分别利用一阶导数、多元散射校正、小波变换(wavelet transform, WT)和标准正态变换进行预处理, 并利用偏最小二乘(partial least squares, PLS)与卷积神经网络(convolutional neural network, CNN)算法将预处理前后的光谱数据分别与总挥发性盐基氮(total volatile basic nitrogen, TVB-N)含量关联, 构建定量预测模型并比较建模效果, 选取较佳模型, 探究模型预测准确度和适用性。结果显示, 预处理方法明显影响了建立模型的精度, 光谱经预处理建立的CNN模型与PLS模型相比, 具备更好地预测小龙虾TVB-N含量的能力。其中, 虾仁光谱经WT预处理建立的CNN模型对验证集的预测准确度最高, 校正集与验证集的相关系数分别为0.97、0.96, 校正集与验证集的均方根误差分别为1.26、0.93 mg/100 g。近红外光谱的准确度、精密度和灵敏度均在合理范围内, 方法学验证结果良好。综合考虑实际应用中快速、准确、低损伤等需求, 确定WT-CNN-虾仁模型为预测冷冻小龙虾中TVB-N含量的最优模型。这些结果表明, WT-CNN-虾仁模型在预测冷冻小龙虾TVB-N含量、快速评价新鲜度方面具有巨大潜力。

关键词: 近红外光谱; 小龙虾; 总挥发性盐基氮; 快速检测; 卷积神经网络; 小波变换

A Rapid Detection Method for Freshness of Frozen Crayfish Based on Near-Infrared Spectroscopy

ZHAN Ke¹, CHEN Jiwang^{1,2,3,*}, XU Yan¹, NI Yangfan⁴, LIU Yan^{1,2,3}, ZOU Shengbi³

(1. College of Food Science and Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China;
2. Hubei Key Laboratory for Processing and Transformation of Agricultural Products (Wuhan Polytechnic University), Wuhan 430023, China;
3. National Research & Development Branch Center for Crayfish Processing (Qianjiang), Qianjiang 433100, China;
4. Wuhan Agricultural Inspection Center, Wuhan 430016, China)

Abstract: To establish a model based on near-infrared (NIR) spectra for quickly detecting the freshness of frozen crayfish, NIR spectra of thawed crayfish (tail, meat, and mince) were collected, and data were pretreated by first derivative, multiple scattering correction, wavelet transform (WT), or standard normal transform. The original and pretreated spectral data were correlated to total volatile basic nitrogen (TVB-N) contents using partial least squares (PLS) or convolutional neural network (CNN), and different quantitative prediction models were established and compared. The best model was selected to investigate its accuracy and applicability. The results showed that pretreatment methods had a significant influence on the accuracy of the model, and the CNN model established after spectral preprocessing had a better ability to predict the TVB-N content of crayfish compared with the PLS model. The CNN model based on the WT pretreated spectra of crayfish meat had the highest prediction accuracy for the validation set with correlation coefficients of 0.97 and 0.96, and root mean square errors of 1.26 and 0.93 mg/100 g for the calibration set and validation set, respectively. Moreover, the accuracy, precision, and sensitivity of the NIR method were within reasonable limits, and it had good figures of merit. According to the requirements of fast operation, accurate results, and low damage in practice, the WT-CNN-crayfish meat model was

收稿日期: 2023-04-18

基金项目: “十三五”国家重点研发计划“食品安全关键技术研发”重点专项(2019YFC1606001)

第一作者简介: 占可(1997—)(ORCID: 0000-0003-2034-3097), 女, 硕士研究生, 研究方向为水产品加工及贮藏工程。

E-mail: 1374561321@qq.com

*通信作者简介: 陈季旺(1970—)(ORCID: 0000-0003-4522-4262), 男, 教授, 博士, 研究方向为水产品加工及贮藏工程。

E-mail: jiwangchen@whpu.edu.cn

determined as the optimal model for predicting the TVB-N content in frozen crayfish. These results suggested that the WT-CNN-crayfish meat model have a great potential for predicting the TVB-N content and rapidly evaluating the freshness of frozen crayfish.

Keywords: near-infrared spectroscopy; crayfish; total volatile basic nitrogen; rapid detection; convolutional neural network; wavelet transform

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230418-177

中图分类号: TS254.7

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2024) 02-0299-09

引文格式:

占可, 陈季旺, 徐言, 等. 基于近红外光谱特征的冷冻小龙虾鲜度快速检测方法[J]. 食品科学, 2024, 45(2): 299-307.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230418-177. <http://www.spkx.net.cn>

ZHAN Ke, CHEN Jiwang, XU Yan, et al. A rapid detection method for freshness of frozen crayfish based on near-infrared spectroscopy[J]. Food Science, 2024, 45(2): 299-307. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230418-177. <http://www.spkx.net.cn>

小龙虾不仅味道独特鲜美, 而且富含优质蛋白质, 深受消费者喜爱^[1]。但是, 小龙虾供给季短、区域性明显, 难以保证全年、全地区鲜活虾供应。为保证各地区加工生产及餐饮中的长期消费需求, 大量整肢虾、虾尾及虾仁等相关产品需要冷冻贮藏。在冷冻贮藏与冷链物流过程中小龙虾容易发生腐败, 导致品质劣化甚至产生有毒物质, 危害消费者的健康^[2]。常见的小龙虾鲜度检测方法主要有感官鉴定、物理鉴定、化学鉴定、微生物鉴定等^[3]。这些传统检测方法存在不足, 例如感官鉴定的结果客观性较差; 理化鉴定和微生物鉴定方法均需要具备一定专业素质的人员完成, 且操作繁琐、时间长、费用高。我国小龙虾产业庞大, 传统检测技术不能满足大批量生产加工中的需要, 亟需能实现冷冻小龙虾鲜度快速检测的方法。

近红外光谱技术 (near-infrared spectroscopy, NIRS) 提供了一种快速、方便、经济的分析方法, 被证明有可能取代破坏性强和耗时的传统方法^[4], 已经在食品成分检测、真伪品筛选等领域使用^[5-6]。近红外光谱来源于被检测物中含氢基团伸缩振动的倍频与合频信息, 蕴含分子结构、组成状态等信息, 利用这些信息可以分析待测物中与含氢基团相关的成分以及物理、化学性质等。化学计量学算法与计算机技术的发展为这些弱强度有用信息的分析提供了条件, 许多研究建立了近红外鲜度评价模型, 证实了基于近红外光谱特征分析食品鲜度的可行性^[7-8]。目前使用的建模方法大多为常规的偏最小二乘 (partial least squares, PLS) 算法与支持向量机 (support vector machine, SVM) 算法等, 但是这些算法存在一定局限性, 例如, PLS等线性回归算法在处理成分变化很大的非均匀样品集时, 可能导致模型精度较低; SVM等非线性算法虽然可以使用核函数解决非线性的分类, 但是难以训练大规模样品集, 并且需要先验知识降低权重, 否则模型会面临过拟合的风险。

较少研究将卷积神经网络 (convolutional neural network, CNN) 等深度学习算法应用于近红外光谱分析。实际上, 虽然CNN作为一种处理能力强大的深度学习算法被广泛应用于二维图像的处理, 自主提取输入的原图特征信息, 但其本身的用处并不限于图像处理, 还可被引入一维光谱分析中, 用于提取光谱数据的局部抽象特征, 建立目标参数预测模型, 克服由于光谱数据和待测变量之间的非线性关系导致线性模型精度降低的问题, 并且可以在没有人类工程和先验知识的情况下从原始数据中提取隐藏特征的数据^[9]。2017年, Acquarelli等^[10]开发了一个卷积层的CNN模型, 定性分析10种振动光谱数据。结果显示, 开发的CNN模型对光谱数据分类达到96%的平均准确率, 并且对数据预处理的依赖性小。自此, 基于深度学习的近红外光谱分析的研究不断增加, 但是将其应用于建立鲜度预测模型的研究仍鲜有报道。

对于不同的食品原料, 找到合适、准确、快速的鲜度检测方法是保证食品消费安全的重要手段。总挥发性盐基氮 (total volatile basic nitrogen, TVB-N) 含量是GB 2733—2015《鲜、冻动物性水产品卫生标准》^[11]中规定的淡水小龙虾的理化限量指标, 是检测新鲜度的常用指标^[12]。本研究以TVB-N含量作为冷冻小龙虾鲜度评价指标, 针对冷冻小龙虾的TVB-N含量, 利用CNN算法结合近红外光谱检测技术, 建立小龙虾的TVB-N定量预测模型, 同时利用PLS算法建模并对比, 提供一种新的快速检测冷冻小龙虾鲜度的方法, 以期为小龙虾产业的安全健康发展提供技术支撑。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

鲜活小龙虾 (30 g/只) 武汉武商量贩连锁有限公司。

氧化镁(分析纯) 山东西亚化学工业有限公司; 甲基红指示剂、溴甲酚绿指示剂、三氯乙酸等 国药集团化学试剂有限公司; 盐酸标准滴定溶液(0.010 mol/L) 深圳市柏林达科技有限公司。

1.2 仪器与设备

Frontier型近红外光谱仪(近红外波数范围4 000~10 000 cm⁻¹, 扫描分辨率4 cm⁻¹, 扫描次数32次) 美国Perkin Elmer公司; Milli-Q Integral 5超纯水仪 美国Millipore公司; 半微量定氮装置由武汉轻工大学畜禽水产制品加工与质量控制科技创新团队自组装。

1.3 方法

1.3.1 实验操作流程

实验操作流程如图1所示。

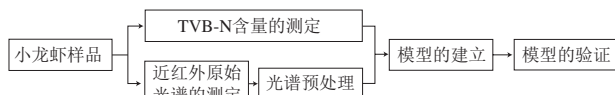


图1 实验操作流程图

Fig. 1 Flow chart of experimental operation

1.3.2 小龙虾样品前处理

将鲜活小龙虾置于超声清洗机中清洗30 min, -50 °C冰柜中放置2 h致死。每6只小龙虾为一组放入自封袋内分装, 置于-18 °C冰柜中冻藏。实验第1天将16组小龙虾样品置于4 °C的冷藏冰柜内解冻并贮藏。从小龙虾完全解冻时开始检测, 每24 h随机抽取2组小龙虾样品检测, 连续检测8 d。实验重复10次, 共检测160组小龙虾样品。

1.3.3 TVB-N含量测定

参考GB 5009.228—2016《食品中挥发性盐基氮的测定》^[13], 采用半微量定氮法测定, 按照式(1)计算:

$$X = \frac{(V_1 - V_2) \times c \times 14}{m \times \frac{V}{V_0}} \times 100 \quad (1)$$

式中: X 为小龙虾试样中TVB-N含量/(mg/100 g); V_1 为滤液消耗盐酸标准滴定溶液的体积/mL; V_2 为试剂空白消耗盐酸标准滴定溶液的体积/mL; c 为盐酸标准滴定溶液的浓度/(mol/L); 14为滴定1.0 mL盐酸($c(\text{HCl}) = 1.000 \text{ mol/L}$)标准滴定溶液相当的氮的摩尔质量/(g/mol); m 为小龙虾试样质量/g; V 为准确吸取的滤液体积(本方法中 $V = 10$) /mL; V_0 为样液的总体积(本方法中 $V_0 = 25$) /mL; 100为计算结果换算为mg/100 g的换算系数。

1.3.4 近红外光谱测定

采用近红外漫反射方式采集光谱。开机后于室温下稳定30 min, 测量前使用BaSO₄白板进行背景扫描。近

红外波数范围设为4 000~10 000 cm⁻¹, 扫描分辨率设为4 cm⁻¹, 扫描次数设为32次。实验室温度20 °C, 整个实验过程采用冰袋与冰盒制造低温环境。

如图2所示, 将一组小龙虾样品去除虾头, 得到带壳虾尾, 擦干表面水分, 置于石英培养皿上, 盖上遮光盖, 分别采集6只虾尾(第3节最宽部位)的近红外光谱; 然后, 去掉虾线、虾壳, 取虾仁, 置于石英培养皿上, 盖上遮光盖, 分别采集6只虾仁(第3节最宽部位)的近红外光谱; 最后, 将6只虾仁放入搅拌机中搅打成肉糜, 取能遮盖住近红外光路的适量肉糜, 置于石英培养皿上, 盖上遮光盖, 采集6次近红外光谱。6次扫描的光谱数据求平均值, 光谱数据以ASCII码格式导出处理。

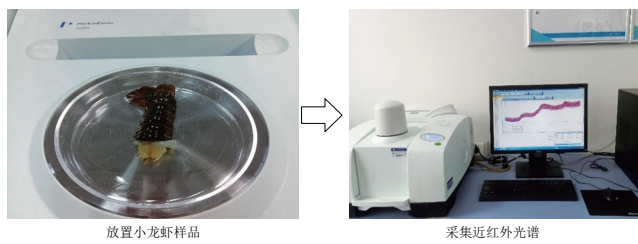


图2 小龙虾近红外光谱采集示意图

Fig. 2 Schematic diagram of the NIR spectral acquisition of crayfish

1.3.5 近红外光谱预处理

预处理小龙虾近红外原始光谱能更有效挖掘目标信息, 建立精确、稳定的数学模型; 确定提高光谱解释性和模型适用性的预处理方法^[14]。

本研究分别采用一阶导数(first derivative, 1st)、多元散射校正(multiplicative scatter correction, MSC)、小波变换(wavelet transform, WT)和标准正态变换(standard normalized variate, SNV)4种方法处理近红外光谱数据, 分析预处理方法对建模结果的影响。

1.3.6 模型建立与评价

小龙虾样品集划分为校正集和验证集。校正集也称为建模集, 用来建立可靠稳定的校正模型; 验证集也称为预测集, 用来验证模型的效果。

本研究采用一维的CNN算法建模。如图3所示, 一维CNN模型包括一层一维卷积池化层、一层二维卷积池化层和一层全连接层。一维卷积池化层将输入的一维向量转化成二维矩阵。一维卷积池化层包括一维卷积、激活与池化操作, 神经元被组织到各个特征面中, 每个神经元通过一组权值被连接到上一层特征面的局部区域, 即卷积层中的神经元与输入层中的特征面进行局部连接。将经过一维卷积池化层得到的二维矩阵输入至二维卷积池化层, 并经过二维卷积、激活与二维池化操作, 转化成多个二维矩阵, 输入至全连接层, 对卷积层和池化层提取的特征整合, 输出一维高阶向量^[15]。

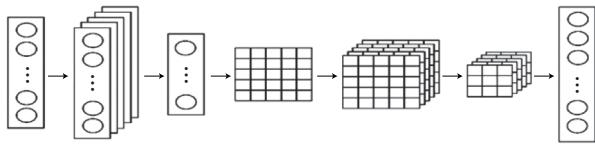


图3 CNN基本结构示意图

Fig. 3 Schematic diagram of the basic structure of CNN

损失值与均方根误差的确定是CNN模型建立的关键步骤，直接影响CNN模型的预测准确性，分别根据smooth损失函数（式（2））与均方误差（mean squared error, MSE）函数（式（3））计算^[16]：

$$\text{LOSS} = \begin{cases} 0.5 (t_i - y_i)^2 & \text{if } |t_i - y_i| < 1 \\ |t_i - y_i| - 0.5 & \text{otherwise} \end{cases} \quad (2)$$

$$\text{MSE} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (t_i - y_i)^2 \quad (3)$$

式中： n 为小龙虾样品数； t_i 为第*i*个小龙虾样品的参考值； y_i 为第*i*个小龙虾样品的预测值。

在建模过程中，以校正集的校正相关系数 r_c 和校正均方根误差（root mean square error of calibration, RMSEC）作为评估校正模型的拟合效果的指标^[17]， r_c 越接近1，RMSEC越接近0，则模型拟合效果越好。RMSEC按照式（4）计算：

$$\text{RMSEC} = \sqrt{\frac{1}{n_c} \sum_{i=1}^{n_c} (D_{i,c})^2} \quad (4)$$

式中： n_c 为校正集小龙虾样品数； $D_{i,c}$ 为第*i*个校正集小龙虾样品近红外光谱测定值与该样品参考值之差。

为评估CNN模型的性能，建立PLS模型进行比较。PLS在主成分回归基础上发展而来，根据特征向量的相关性分解组分含量矩阵与吸光度矩阵建立回归模型。

1.3.7 模型检验

模型检验是指利用验证集小龙虾样品检验所建模型的性能。以预测相关系数 r_p 和预测均方根误差（root mean square error of prediction, RMSEP）作为模型的主要评价标准， r_p 越接近1，RMSEP越接近0，则模型的预测性能越好，准确度越高^[18]。RMSEP按照式（5）计算：

$$\text{RMSEP} = \sqrt{\frac{1}{n_p} \sum_{j=1}^{n_p} (D_{j,p})^2} \quad (5)$$

式中： n_p 为验证集小龙虾样品数； $D_{j,p}$ 为第*j*个验证集小龙虾样品近红外光谱测定值与该样品参考值之差。

1.3.8 方法验证

由于近红外光谱检测属于间接分析检测技术，准确度、精密度与灵敏度有待考量。采集新一批潜江地区的小龙虾样品，应用建立的近红外光谱方法检测3种新鲜度（完全解冻第0、3、7天分别记为T0、T3、T7）的小龙虾的TVB-N含量，考察近红外光谱方法的准确度、精密度与灵敏度。

计算近红外光谱及国家标准方法检测结果的差值与相对误差，验证近红外光谱检测方法的准确度^[19]；定量检测方法的精密度通过测定重复性来衡量。参照徐言^[20]的方法稍作修改，计算检测结果的相对标准差（relative standard deviation, RSD）。RSD越小，离散度越低，表明精密度越高^[21]；灵敏度通过检出限（limit of detection, LOD）与定量限（limit of quantification, LOQ）体现，值越小，灵敏度越高。LOD与LOQ的确定方法包括空白标准差法、校准方程外推法、信噪比法^[19]，本实验采用空白标准差法确定。挑选解冻尽可能新鲜的小龙虾样品平行测定10次，计算标准差。

1.4 数据处理

数据统计和图表绘制使用Excel 2016软件和Origin 9.0软件，近红外光谱预处理、PLS与CNN建模等数据处理和计算等使用Matlab R2018a软件。

2 结果与分析

2.1 TVB-N含量

小龙虾的标准化学分析可能存在误差，并且会随着模型的建立作为变量被引入模型，需要对其进行筛选，最终，用于建模的小龙虾样品共150组，TVB-N含量范围为10.8~28.8 mg/100 g。完全解冻（中心温度达4℃）第0天小龙虾的TVB-N含量为10.8 mg/100 g，可能是冻藏过程中形成冰晶，损伤肌肉细胞，导致解冻时蛋白质变性和汁液流失，小龙虾新鲜度降低。并且研究表明，随着冻藏时间的延长，冷冻小龙虾虾肉的机械损伤加剧^[22]。对于淡水鱼虾，TVB-N含量超过20 mg/100 g即变质^[11]，本研究中小龙虾样品涵盖了从新鲜到腐败的过程，对于研究小龙虾的新鲜度变化是可行的。将150组小龙虾样品数据按照2:1的比例随机划分为校正集和验证集，如表1所示，校正集小龙虾样品的TVB-N含量范围包含验证集并且分布均匀，保证了所建模型的适用性和可靠性^[23]。

表1 小龙虾肉中TVB-N含量（ $n=3$ ）
Table 1 TVB-N content of crayfish meat ($n=3$)

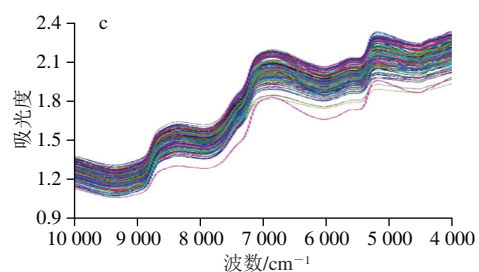
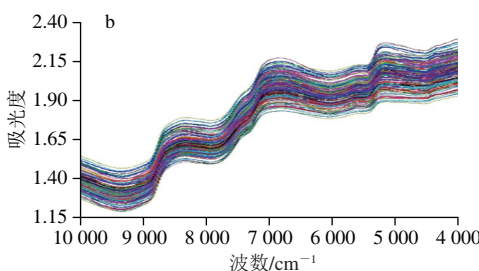
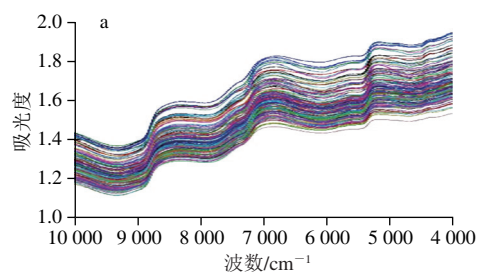
指标	数据集	样品容量/ 组	最大值/ (mg/100 g)	最小值/ (mg/100 g)	平均值/ (mg/100 g)	标准差/ (mg/100 g)
TVB-N 含量	校正集	100	28.8	10.8	19.2	3.89
	验证集	50	24.6	12.5	19.4	2.85

2.2 近红外光谱测定

2.2.1 近红外光谱特征分析

冷冻小龙虾的完整近红外原始光谱如图4所示，3种形态下采集的不同新鲜度的小龙虾的近红外光谱谱线整体轮廓相似但不完全重合，主要在强度上存在差别。近红外光谱不同波段代表的信息不同，在5 200 cm^{-1} 附近出现较强的吸收峰，是水分子O—H的合频吸收峰，小

龙虾虾肉中水分含量高达79%以上,因此O—H的吸收峰明显;6 800 cm^{-1} 附近的吸收峰与N—H伸缩振动的二倍频等信息相关;8 000~8 800 cm^{-1} 之间的吸收峰则与C—H伸缩振动的二倍频相关。这些光谱区是指示小龙虾水分、蛋白质、脂肪等相关成分信息的典型谱区^[24],而水分、蛋白质和脂肪等成分的改变是小龙虾新鲜度变化的直接体现^[25],因此,这些吸收峰的变化对预测结果的准确性尤其重要。



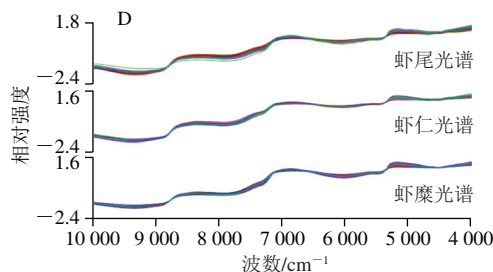
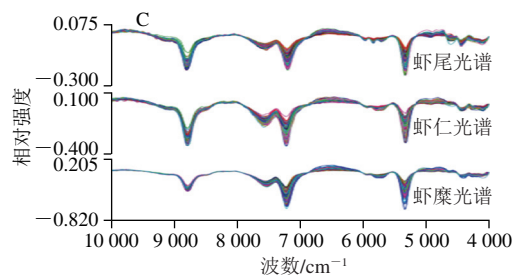
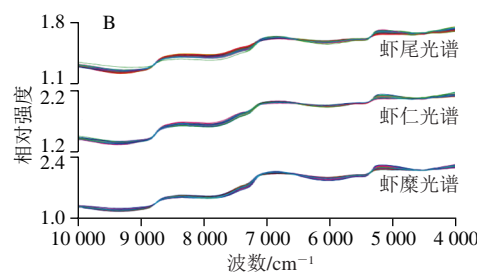
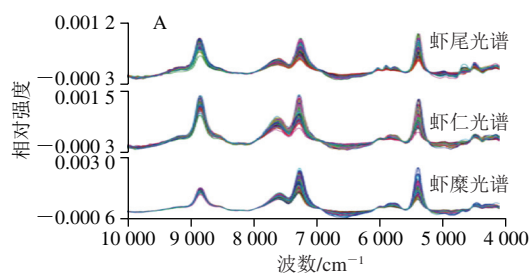
a.虾尾; b.虾仁; c.虾糜。图6、7同。

图4 原始光谱

Fig. 4 Original spectra

2.2.2 近红外光谱预处理

采用1st、MSC、WT和SNV分别对采集的虾尾、虾仁及虾糜的近红外光谱预处理,得到的校正光谱如图5所示。光谱基线得到校正,噪音被过滤,集中度变高,有效消除了背景干扰,提高了光谱分辨率,削弱了散射影响^[26]。小龙虾近红外光谱经预处理后,5 200、6 800、8 000~8 800 cm^{-1} 处的吸收峰信号相对强度差异更明显,但光谱曲线趋势基本相同,难以直观地从图上区分不同的新鲜度,必须通过进一步分析和建模来检测小龙虾的TVB-N含量。



A. 1st; B. MSC; C. WT; D. SNV。

图5 校正光谱

Fig. 5 Corrected spectra

2.2.3 模型建立与评价

损失函数通过反向传播训练网络权重得到最小化,通过损失值LOSS和RMSE的变化分别监控虾尾、虾仁、虾糜的原始光谱及预处理后模型的训练进程,如果损失较小,优化度一般较高。在校正集上的LOSS和RMSE变化分别如图6、7所示。基于虾尾、虾仁、虾糜光谱的所有CNN模型均在训练初始时刻开始收敛,随着迭代次数的增加,模型的损失不断下降并趋于稳定, RMSE逐渐减小,分别于60、50、50次迭代后,损失值达到较低水平和较高优化度。

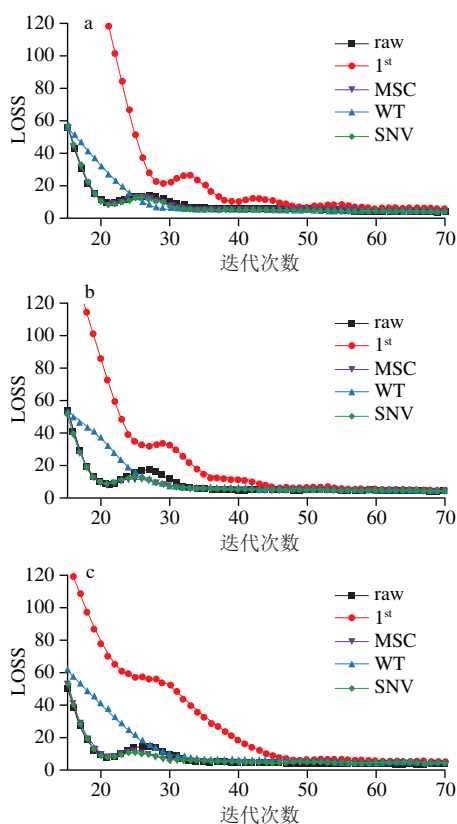


图6 训练过程的损失值LOSS图

Fig. 6 LOSS function for the training process

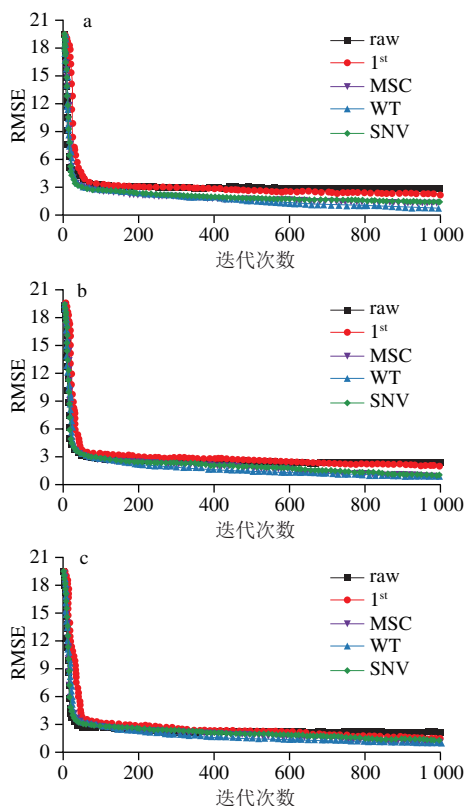


图7 训练过程的RMSE图

Fig. 7 RMSE for the training process

因为近红外光谱数据包含了波长吸收强度中的细微信息, 这些信息并不像个别峰那样可见^[14], 确定迭代次数后, 选择全波数区域构建TVB-N定量模型。

基于小龙虾的3种光谱建立的CNN-TVb-N定量模型、PLS-TVb-N定量模型参数如表2、3所示。基于虾尾、虾仁、虾糜原始光谱建立CNN模型的 r_c 分别为0.69、0.79、0.80, PLS模型的 r_c 分别为0.70、0.80、0.91。基于虾糜原始光谱建立的TVB-N定量模型较其他2种形态的原始光谱拟合度更高, 与陈伟华等^[27]得到的结果类似。一方面可能是虾尾带有虾壳, 新鲜度的改变主要体现于肉质变化, 虾壳在一定程度上影响了分析光与小龙虾样品的相互作用; 另一方面可能是采集整只小龙虾的光谱时, 表面平整度较差, 且漫反射光扫描的具体部位存在偏差, 不同部位新鲜度差异导致光谱信息存在偏差, 而虾糜较平整且均匀, 光谱承载的特征信息干扰性小, 因此建模效果相对较好。

基于校正光谱建立的CNN模型拟合效果均有明显改善, 其中, 经WT预处理建立的CNN模型校正集参数更优。石吉勇等^[7]曾报道使用SNV处理光谱建立的三文鱼鲜度模型最优, 可能是对于不同的模型, 最佳的算法组合存在差异, 这与张朱珊等^[26]的研究结论一致, 合适的预处理方法使小龙虾TVB-N定量模型的预测结果更加准确。另外, WT-CNN-虾仁/虾糜模型的RMSEC均小于PLS最优模型, WT-CNN-虾尾/虾仁/虾糜模型的 r_c 比PLS最优模型更接近于1, 表明基于各种形态的小龙虾建立的CNN最优模型的拟合效果均优于PLS最优模型。

表2 小龙虾中TVB-N的CNN定量模型相关参数

Table 2 Parameters of the CNN quantitative model for TVB-N content in crayfish

小龙虾样品形态	预处理方法	迭代次数	校正集		验证集	
			RMSEC/ (mg/100 g)	r_c	RMSEP/ (mg/100 g)	r_p
虾尾	raw	60	2.86	0.69	2.85	0.32
	1 st	60	5.58	0.82	5.55	0.69
	MSC	60	2.32	0.85	1.82	0.80
	WT	60	1.85	0.95	1.72	0.92
	SNV	60	1.95	0.90	1.52	0.86
虾仁	raw	50	2.40	0.79	1.90	0.64
	1 st	50	4.57	0.93	4.41	0.89
	MSC	50	2.78	0.88	2.69	0.79
	WT	50	1.26	0.97	0.93	0.96
	SNV	50	1.82	0.90	1.71	0.83
虾糜	raw	50	2.67	0.80	2.05	0.69
	1 st	50	2.90	0.95	2.67	0.89
	MSC	50	1.83	0.91	1.33	0.90
	WT	50	1.21	0.97	1.04	0.94
	SNV	50	1.33	0.96	1.13	0.93

表3 小龙虾中TVB-N的PLS定量模型相关参数
Table 3 Parameters of the PLS quantitative model for TVB-N content in crayfish

小龙虾样品形态	预处理方法	因子数	校正集		验证集	
			RMSEC/(mg/100 g)	r_c	RMSEP/(mg/100 g)	r_p
虾尾	raw	14	2.77	0.70	3.16	0.35
	1 st	10	1.89	0.87	1.96	0.80
	MSC	14	2.95	0.65	2.52	0.54
	WT	10	1.85	0.88	2.01	0.79
虾仁	SNV	13	2.94	0.65	2.52	0.54
	raw	13	2.36	0.80	2.53	0.55
	1 st	8	1.80	0.89	1.55	0.86
	MSC	13	2.66	0.73	2.68	0.41
虾糜	WT	8	1.82	0.88	1.62	0.82
	SNV	12	2.66	0.73	2.68	0.41
	raw	13	1.58	0.91	1.93	0.76
	1 st	8	1.65	0.91	1.74	0.84
虾糜	MSC	10	1.63	0.91	1.91	0.78
	WT	8	1.72	0.90	1.76	0.82
	SNV	10	1.70	0.90	1.95	0.77

2.2.4 模型检验

采用校正集小龙虾样品建立模型后，还需分别使用验证集检验所建虾尾/虾仁/虾糜TVB-N定量模型的预测能力。CNN模型验证集的RMSEP、 r_p 结果如表2所示，虾尾/虾仁/虾糜光谱经WT预处理建立的模型预测集参数最优，可能是在本研究中，WT较其他预处理方法可以较好地消除噪声，保留小龙虾样品特征相关的原始属性，提高信噪比，从而更细致地反映光谱特征，提高CNN模型预测能力，与Abasi等^[28]得出的结论类似。3个WT-CNN模型中，虾仁光谱经WT预处理建立CNN模型的RMSEP最小， r_p 最接近于1，且 r_c 与 r_p 接近，表明WT-CNN-虾仁TVB-N定量模型的预测准确度及稳定性更高，且没有过拟合^[29]，因此，WT-CNN-虾仁模型的性能更好，优于Yu Haidong等^[4]建立的预测罗非鱼片TVB-N含量的PLS模型及卢文超等^[30]建立的小龙虾TVB-N含量预测模型。

为更直观地显示模型的预测准确度，将验证集小龙虾样品TVB-N预测含量与参考含量线性拟合，如图8所示，红虚线是与理想预测结果对应的理想回归线，黑实线为实际拟合回归线，拟合回归的斜率和截距分别为0.96和0.91，与理想回归线 $Y=X$ 重合度较高，表明模型对TVB-N含量的预测精度高。WT-CNN-虾仁TVB-N定量模型验证集的样品点聚集于理想回归线，进一步表明虾仁模型的预测准确度较高。因此，基于小龙虾虾仁光谱建立的WT-CNN-虾仁TVB-N定量模型能够保证良好的预测效果，更适合应用于实际生产中进行快速检测。

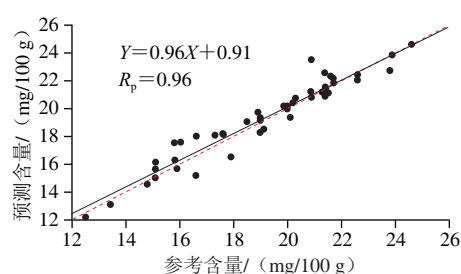


图8 验证集小龙虾TVB-N含量的参考值和预测值的拟合图
Fig. 8 Good agreement between reference and predicted values of crayfish TVB-N content in the validation set

2.2.5 方法验证

2.2.5.1 准确度

应用建立的WT-CNN-虾仁TVB-N定量模型检测新一批小龙虾中的TVB-N含量，近红外光谱检测值与国家标准GB 5009.228—2016中的半微量定氮法测得的参考值及其差值与相对误差结果如表4所示，对完全解冻第3天与第7天小龙虾的10次抽样验证实验的相对误差均小于5%，对完全解冻第0天的小龙虾的5次抽样验证存在1次相对误差大于10%的情况。而对于近红外光谱这种间接检测技术，绝对误差通常是一定的。如表4所示，每次检测的绝对误差在0.77 mg/100 g以内，检测值越小，相对误差值越大。因此，尽管部分小龙虾样品相对误差稍大，但从整体情况来看，绝对误差的变化不大，处于稳定和可以接受的水平。总体而言，近红外光谱方法的整体检测准确度较高。

表4 小龙虾中TVB-N含量的近红外光谱检测值与参考值及其差值与相对误差 (n=3)

Table 4 Absolute and relative errors between NIR predicted values and reference values of TVB-N content in crayfish (n = 3)

小龙虾样品	TVB-N含量/(mg/100 g)		绝对误差/(mg/100 g)	相对误差/%
	近红外检测值	参考值		
T0-1	7.73	7.13	0.60	8.42
T0-2	11.3	10.9	0.43	3.95
T0-3	8.33	8.46	0.13	1.54
T0-4	7.37	6.66	0.71	10.6
T0-5	8.61	8.49	0.12	1.41
T3-1	16.6	15.9	0.77	4.85
T3-2	17.2	16.6	0.63	3.80
T3-3	17.5	17.6	0.06	0.34
T3-4	19.8	19.2	0.56	2.91
T3-5	15.6	15.3	0.23	1.50
T7-1	27.3	27.7	0.39	1.41
T7-2	31.3	30.9	0.42	1.36
T7-3	28.9	29.4	0.51	1.73
T7-4	28.7	28.8	0.15	0.52
T7-5	26.3	25.8	0.48	1.86

2.2.5.2 精密度

近红外光谱法与半微量定氮法对3种新鲜度小龙虾中TVB-N定量检测的精密度如表5所示。近红外光谱

法检测结果的RSD分别为5.27%、4.19%和3.49%，定氮法检测结果的RSD分别为4.36%、3.05%、2.28%。根据GB/T 27404—2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》^[31]，被测组分含量为100 mg/kg的样品，实验室内的RSD应控制在5.3%以内，表明近红外光谱法与定氮法相比，尽管精密性相对较低，但均小于5.3%，在误差允许范围内，仍具有良好精密性。

表5 近红外方法与标准方法对小龙虾的鲜度检测精密度的比较
Table 5 Comparison of precision between the NIR method and the standard method for crayfish freshness detection

小龙虾样品	T0/ (mg/100 g)		T3/ (mg/100 g)		T7/ (mg/100 g)	
	近红外光谱检测值	定氮法测定值	近红外光谱检测值	定氮法测定值	近红外光谱检测值	定氮法测定值
1	8.10	7.19	18.8	18.4	29.1	28.7
2	8.47	6.72	19.3	18.0	28.1	28.9
3	8.00	6.85	19.7	18.7	26.7	27.4
4	7.63	6.62	21.2	19.4	26.4	28.8
5	7.41	7.43	20.8	19.6	28.0	28.7
6	8.00	7.31	19.4	19.2	28.4	28.7
7	7.32	6.96	19.9	19.1	27.6	29.5
平均值	7.85	7.01	19.9	18.9	27.7	28.7
标准差	0.41	0.31	0.83	0.58	0.97	0.65
RSD/%	5.27	4.36	4.19	3.05	3.49	2.28

2.2.5.3 灵敏度

近红外光谱法与半微量定氮法的灵敏度测定结果如表6所示。按式(6)、(7)计算，得 $LOD=1.53\text{ mg}/100\text{ g}$ ， $LOQ=5.12\text{ mg}/100\text{ g}$ ；半微量定氮法的 $LOD=0.63\text{ mg}/100\text{ g}$ ， $LOQ=2.13\text{ mg}/100\text{ g}$ 。近红外光谱方法的检出限与定量限高于半微量定氮法，表明近红外光谱方法的灵敏度与半微量定氮法相比更低，与Pasquini^[32]所述情况相吻合，但与Wang Wenxiu等^[33]建立的猪肉TVB-N含量预测模型相比灵敏度更高。

$$LOD=3s \quad (6)$$

$$LOQ=10s \quad (7)$$

式中： LOD 为检出限/ $(\text{mg}/100\text{ g})$ ； LOQ 为定量限/ $(\text{mg}/100\text{ g})$ ； s 为标准差/ $(\text{mg}/100\text{ g})$ 。

表6 近红外光谱方法与标准方法对小龙虾的鲜度检测的灵敏度比较
Table 6 Comparison of sensitivity between the NIR method and the standard method for crayfish freshness detection

小龙虾样品	TVB-N含量/ ($\text{mg}/100\text{ g}$)	
	近红外光谱检测值	定氮法测定值
T0-1	5.26	5.23
T0-2	5.59	5.27
T0-3	5.30	5.10
T0-4	4.67	4.74
T0-5	5.41	4.91
T0-6	6.04	4.87
T0-7	6.32	5.01
T0-8	4.92	4.60
T0-9	6.03	5.01
T0-10	5.52	5.15
平均值	5.51	4.99
标准差	0.51	0.21
LOD	1.53	0.63
LOQ	5.12	2.13

3 讨论与结论

小龙虾形态对模型的建立存在一定影响，基于虾糜的原始光谱建立的TVB-N定量模型较其他2种形态的原始光谱拟合度更高，绞碎后提高了小龙虾的均一性与平整度，有利于预测模型的建立，但增加了前处理过程。

近红外光谱经预处理建立的CNN模型与PLS模型相比，具备更好的预测小龙虾TVB-N含量的能力，最终确定WT-CNN-虾仁TVB-N定量模型为测定小龙虾鲜度的更优模型，检测过程简便快捷、无污染，检测结果精确，能够为快速、批量评价冷冻小龙虾新鲜度提供一种可行的办法。

利用近红外光谱方法对新一批小龙虾样品中TVB-N含量的15次抽样验证，仅1次相对误差大于10%，绝对误差均小于 $0.77\text{ mg}/100\text{ g}$ ；对3种新鲜度小龙虾样品的重复实验RSD分别为5.27%、4.19%和3.49%，均小于5.3%；检出限、定量限分别为1.53、5.12 $\text{mg}/100\text{ g}$ 。这些结果表明，近红外光谱方法的整体检测准确度、精密性、灵敏度均在合理范围内，检测效果良好。

本研究建立的WT-CNN-虾尾TVB-N定量模型精度虽然稍差于最佳模型，但其模型参数良好，显示基于小龙虾虾尾建立近红外模型预测小龙虾鲜度具有可行性，若采用便携式近红外光谱仪，可不去除虾头，直接检测小龙虾尾部，从而实现无损检测。后续可根据企业实际应用需求，利用便携式近红外光谱仪采集光谱建立鲜度预测模型。另外，不同仪器、不同使用条件进行光谱采集存在差异，在不同仪器之间模型传递的可行性有待进一步研究，从而为小龙虾产业的安全发展提供更好的技术支持。

参考文献:

- [1] BAI S Y, QIN D L, CHEN Z X, et al. Geographic origin discrimination of red swamp crayfish *Procambarus clarkii* from different Chinese regions using mineral element analysis assisted by machine learning techniques[J]. Food Control, 2022, 138: 109047. DOI:10.1016/J.FOODCONT.2022.109047.
- [2] WU L L, PU H B, SUN D W. Novel techniques for evaluating freshness quality attributes of fish: a review of recent developments[J]. Trends in Food Science and Technology, 2019, 83: 259-273. DOI:10.1016/j.tifs.2018.12.002.
- [3] CHENG J H, SUN D W, ZENG X A, et al. Recent advances in methods and techniques for freshness quality determination and evaluation of fish and fish fillets: a review[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2015, 55(7): 1012-1225. DOI:10.1080/10408398.2013.769934.
- [4] YU H D, ZUO S M, XIA G H, et al. Rapid and nondestructive freshness determination of tilapia fillets by a portable near-infrared spectrometer combined with chemometrics methods[J]. Food Analytical Methods, 2020, 13(10): 1918-1928. DOI:10.1007/s12161-020-01816-1.

- [5] 彭丹, 刘亚丽, 李林青, 等. 正交试验设计优化近红外检测牛乳中蛋白质的建模条件[J]. 食品科学, 2020, 41(4): 256-261. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190313-160.
- [6] SUN F, CHEN Y, WANG K Y, et al. Identification of genuine and adulterated *Pinellia ternata* by mid-infrared (MIR) and near-infrared (NIR) spectroscopy with partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA)[J]. Analytical Letters, 2020, 53(6): 937-959. DOI:10.1080/00032719.2019.1687507.
- [7] 石吉勇, 李文亭, 邹小波, 等. 基于近红外光谱特征的三文鱼品质多指标快速检测[J]. 光谱学与光谱分析, 2019, 39(7): 2244-2249. DOI:10.3964/j.issn.1000-0593(2019)07-2244-06.
- [8] LENG T, LI F, CHEN Y, et al. Fast quantification of total volatile basic nitrogen (TVB-N) content in beef and pork by near-infrared spectroscopy: comparison of SVR and PLS model[J]. Meat Science, 2021, 180: 108559. DOI:10.1016/j.meatsci.2021.108559.
- [9] ZHANG X L, YANG J, LIN T, et al. Food and agro-product quality evaluation based on spectroscopy and deep learning: a review[J]. Trends in Food Science and Technology. 2021, 112: 431-441. DOI:10.1016/j.tifs.2021.04.008.
- [10] ACQUARELLI J, LAARHOVEN T, GERRETZEN J, et al. Convolutional neural networks for vibrational spectroscopic data analysis[J]. Analytica Chimica Acta, 2017, 954: 22-31. DOI:10.1016/j.aca.2016.12.010.
- [11] 国家卫生和计划生育委员会. 鲜、冻动物性水产品卫生标准: GB 2733—2015[S]. 北京: 中国标准出版社, 2015: 1-2.
- [12] TANG C H, XU Y S, YU D W, et al. Label-free quantification proteomics reveals potential proteins associated with the freshness status of crayfish (*Procambarus clarkii*) as affected by cooking[J]. Food Research International, 2022, 160: 111717. DOI:10.1016/j.foodres.2022.111717.
- [13] 国家卫生和计划生育委员会. 食品中挥发性盐基氮的测定: GB 5009.228—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016: 1-8.
- [14] ADEDIPE O E, JOHANNINGSMEIER S D, TRUONG V, et al. Development and validation of a near-infrared spectroscopy method for the prediction of acrylamide content in french-fried potato[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(8): 1850-1860. DOI:10.1021/acs.jafc.5b04733.
- [15] 陈承武, 王天舒, 胡孔法, 等. 基于卷积神经网络与投票机制的蒲黄炮制品近红外判别方法[J]. 光谱学与光谱分析, 2022, 42(11): 3361-3367. DOI:10.3964/j.issn.1000-0593(2022)11-3361-07.
- [16] 崔庭源, 杨其长, 张义, 等. 基于迁移学习和卷积神经网络的生菜鲜重估测[J]. 中国农业大学学报, 2022, 27(11): 197-206. DOI:10.11841/j.issn.1007-4333.2022.11.17.
- [17] 成军虎. 基于高光谱成像鱼肉新鲜度无损快速检测方法研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2016.
- [18] 王胜鹏, 龚自明, 郑鹏程, 等. 青砖茶品质近红外特征光谱筛选及预测模型建立[J]. 食品科学, 2020, 41(18): 283-287. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190906-089.
- [19] 国家质量监督检验检疫总局. 合格评定 化学分析方法确认和验证指南: GB/T 27417—2017[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017: 1-16.
- [20] 徐言. 基于近红外光谱的小龙虾重金属检测模型的构建及应用[D]. 武汉: 武汉轻工大学, 2022.
- [21] 李云燕, 胡传荣. 试验设计与数据处理[M]. 北京: 化学工业出版社, 2017.
- [22] SUN Y N, ZHANG M, BHANDARI B, et al. Ultrasound treatment of frozen crayfish with chitosan nano-composite water-retaining agent: influence on cryopreservation and storage qualities[J]. Food Research International, 2019, 126: 108670. DOI:10.1016/j.foodres.2019.108670.
- [23] 王娅, 张存存, 付玉叶, 等. 融合图谱特征信息的明虾挥发性盐基氮含量无损检测[J]. 食品科学, 2021, 42(2): 283-290. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20200103-027.
- [24] DING R, HUANG X Y, HAN F K, et al. Rapid and nondestructive evaluation of fish freshness by near infrared reflectance spectroscopy combined with chemometrics analysis[J]. Analytical Methods, 2014, 6(24): 9675-9683. DOI:10.1039/c4ay01839g.
- [25] VESELA A, BARROS A S, SYNYTSYA A, et al. Infrared spectroscopy and outer product analysis for quantification of fat, nitrogen, and moisture of cocoa powder[J]. Analytica Chimica Acta, 2007, 601(1): 77-86. DOI:10.1016/j.aca.2007.08.039.
- [26] 张朱珊莹, 顾瀚文, 谢凯文, 等. 基于近红外光谱的预处理及组合方法[J]. 激光与光电子学进展, 2021, 58(16): 472-479. DOI:10.3788/LOP202158.1617001.
- [27] 陈伟华, 许长华, 樊玉霞, 等. 近红外光谱技术快速无损评价罗非鱼片新鲜度[J]. 食品科学, 2014, 35(24): 164-168. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201424031.
- [28] ABASI S, MINAEI M, JAMSHIDI B, et al. Rapid measurement of apple quality parameters using wavelet de-noising transform with Vis/NIR analysis[J]. Scientia Horticulturae, 2019, 252: 7-13. DOI:10.1016/j.scienta.2019.02.085.
- [29] CHEN Q S, ZHAO J W, CHAITEP S, et al. Simultaneous analysis of main catechins contents in green tea (*Camellia sinensis* (L.) by Fourier transform near infrared reflectance (FT-NIR) spectroscopy[J]. Food Chemistry, 2009, 113(4): 1272-1277. DOI:10.1016/j.foodchem.2008.08.042.
- [30] 卢文超, 邱亮, 熊光权, 等. 近红外光谱技术快速检测小龙虾新鲜度[J]. 肉类研究, 2022, 36(6): 36-41. DOI:10.7506/rlyj1001-8123-20220311-017.
- [31] 国家质量监督检验检疫总局, 国家标准化委员会. 实验室质量控制规范 食品理化检测: GB/T 27404—2008[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008: 1-28.
- [32] PASQUINI C. Near infrared spectroscopy: a mature analytical technique with new perspectives: a review[J]. Analytica Chimica Acta, 2018, 102(6): 8-36. DOI:10.1016/j.aca.2018.04.004.
- [33] WANG W X, ZHANG C C, ZHANG F, et al. Real-time and online inspection of multiple pork quality parameters using dual-band visible/near-infrared spectroscopy[J]. Food Analytical Methods, 2020, 13: 1764-1773. DOI:10.1007/s12161-020-01801-8.