

实验技术与方法

低场核磁共振技术快速鉴别注水注胶肉的化学计量学研究

徐瑞平, 季美泉, 丁涛, 刘芸, 费晓庆
(南京海关动植物中心, 江苏南京 210019)

摘要: **目的** 利用化学计量学方法结合低场核磁共振对注水或注胶猪肉的快速鉴别进行研究。**方法** 首先利用低场核磁共振测定获得的17个变量进行提取主成分,并对获得的4个主成分进行判别研究模型。利用低场核磁共振技术的17个原始变量作为输入,原料肉与注水注胶肉的种类作为输出,采用不同建模参数,通过多次计算,建立了一个结构为17-6-3的三层MLP神经网络识别模型。**结果** 判别研究模型中对照组、注水组和注胶组交叉验证判别正确率分别为60/60、91/95、359/384,总的正确判别率达到94.6%;神经网络识别模型对检验集179个样本总的正确识别率达到97.8%。**结论** 利用低场核磁共振技术结合判别研究模型和神经网络识别模型可以有效分辨注水注胶肉,该方法具有简单、快速的优点,可以用于注水注胶肉快速检测。

关键词: 注水肉; 注胶肉; 低场核磁共振; 主成分分析法; 判别研究; 多层感知器神经网络; 快速检测

中图分类号: R155 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-8456(2022)04-0724-06

DOI: 10.13590/j.cjfh.2022.04.014

Rapid identification of water-injected pork and gum-injected pork by the combination of low field nuclear magnetic resonance and chemometrics analysis

XU Ruiping, JI Meiquan, DING Tao, LIU Yun, FEI Xiaoqing

(Testing Center of Animal, Plant and Food, Nanjing Customs, Jiangsu Nanjing 210019, China)

Abstract: Objective To apply rapid identification of water-injected and gum-injected pork by chemometrics analysis combined with low field nuclear magnetic resonance. **Methods** 17 variables obtained by low field nuclear magnetic resonance were used to extract principal components by principal component analysis, and 4 principal components were identified by discriminate analysis. A three-layer MLP neural network model with a structure of 17-6-3 was established through constrained optimization modeling using 17 original variables as input, and the types of water-injected pork and gum-injected pork as output. **Results** In the discriminate analysis model, the discriminant accuracy of cross-validation in the control group, water-injected group and gum-injected group was 60/60, 91/95 and 359/384, and the total correct discriminant rate was 94.6%. In the neural network model, the total correct discriminant rate of 179 samples in the testing set was 97.8%. **Conclusion** Low-field nuclear magnetic resonance combined with discriminate analysis model and neural network model can effectively distinguish water-injected and gum-injected pork. The method is simple and can be used for rapid detection.

Key words: Water-injected pork; gum-injected pork; low-field nuclear magnetic resonance; principal component analysis; discriminate analysis; multi-layer perceptron neural network; rapid detection

猪肉作为一种高蛋白、高营养的肉类食品,在我国居民的肉类消费结构中一直占据主导地位。然而,注水猪肉事件频发使得人们对于猪肉的质量和安

全愈发担心。传统用于检测注水肉的方法相对成熟,例如感官检验法、镜检法、熟食率法、试纸法和干燥法等。但对于注胶肉,由于食品胶的主要成分为易形成多糖凝胶的半乳糖和脱水半乳糖,含有大量的氢键,吸水率高,能很好地保持食品体系中的水分,普通检测方法很难鉴别“注胶肉”。近年来,利用近红外光谱技术、荧光光谱技术和低场核磁共振技术对注胶肉进行检测分析并结合统计学方法建立定性判别模型的研究^[1-3]也取得了一些进展。尤其是低场核磁共振技术,具有设备造价低、非破坏性、小体积和快速检测等优点,在肉品的持水性和品质控制等

收稿日期:2022-02-18

基金项目:海关总署科研项目(2021HK193);国家重点研发计划(2018YFC1603501)

作者简介:徐瑞平 男 副主任技师 研究方向为食品卫生及其风险评估 E-mail: njciq@foxmail.com

通信作者:丁涛 男 研究员 研究方向为食品分析与食品掺假鉴别 E-mail: nanoding@sina.com

方面已有一定的研究与应用^[4-7]。

化学计量学是化学、分析化学、数学、统计学及计算机学科之间的接口^[8],把化学计量学的方法应用于食品分析,一方面能够从大量的复杂数据中提取有用信息,另一方面也扩大了化学计量学的应用范围^[9]。本研究采用低场核磁共振技术结合化学计量学方法,建立原料肉与注水注胶肉的低场核磁共振判别分析模型以及原料肉与注水注胶肉的低场核磁共振分类判别模型。利用低场核磁共振(Low-field nuclear magnetic resonance, LF-NMR)弛豫特性对肉糜注水注胶程度进行研究,通过主成分分析法(Principal component analysis, PCA)选择最佳变量,在保留原始变量主要信息的前提下,将多变量的信息进行数据转换和降维;通过判别分析法(Discriminate analysis, DA)对主成分分析法获得的4个主成分进行有效利用并建立一定的判别函数对样品进行分类判断,为探索简便、易操作、成本低廉的注水注胶肉快速检测方法提供依据。本文还探讨了利用多层感知器神经网络建立分类模型并有效识别注水注胶肉的可行性。

1 材料与方 法

1.1 主要仪器与试剂

PQ001-20-025V型低场核磁共振仪(苏州纽迈分析仪器股份公司),奥克斯牌HX-J330型绞肉机(佛山市海迅电器有限公司)。

猪梅条肉,购于当地农贸市场,去除表面的脂肪和结缔组织。食品胶(黄原胶、卡拉胶、明胶、琼脂),纯净水。

1.2 方法

1.2.1 注水肉制备

取冰鲜猪梅条肉500g左右,用绞肉机处理成肉糜。称取4.00g肉糜样品于样品瓶中,共计60份样品。取12份样品作为空白测试样。另各取12份样品用1mL注射器分别注水0.2、0.4、0.6、0.8mL,搅拌混匀后静置于4℃冰箱,24h内测定完毕。

1.2.2 注胶肉制备(卡拉胶、明胶、琼脂、黄原胶)

取冰鲜猪梅条肉500g左右,用绞肉机处理成肉糜。称取4.00g肉糜样品于样品瓶中,共计60份样品。取12份样品作为空白测试样。分别称取0.2、0.5、1.0、1.5g卡拉胶/明胶/琼脂,用水溶解并定容至20mL(室温无法溶解时可水浴加热促进溶解)。各取12份样品用1mL注射器分别注入上述溶液0.4mL,24h内测定完毕。黄原胶由于增稠效果较好,改为称取0.1、0.15、0.2、0.25g,其余处理相同。

1.2.3 低场核磁共振检测

检测试样在放入仪器的样品管前均作32℃(仪器工作温度)水浴15min处理。每组12个样品。

CPMG序列(Carr-purcell-meiboom-gill sequence)检测参数:射频延时(RFD)=0.08ms,前放档位(PRG)=1,模拟增益(RG)=20.0db,数字增益(DRG)=3,主频(SF)=21MHz,采样频率(SW)=100kHz,采样点数(TD)=1000062,等待时间(TW)=20000ms,回波时间(TE)=0.5ms,回波个数(NECH)=10000,累加次数(NS)=4。

1.3 统计学分析

采用仪器自带的数据处理功能对测量数据进行多组分反演和单组分反演,得到每个肉样品的横向弛豫谱及相对应的弛豫谱参数的值。

反演参数:选用联合迭代重建技术(Simultaneous iterative reconstruction technique, SIRT)反演方法,弛豫时间点数量=1000,弛豫时间最小值=0.01ms,弛豫时间最大值=10000ms,选择数据数量=200,迭代次数=100000。

应用软件IBM SPSS Statistics(Version 26, IBM)对数据进行统计分析,用判别分析法(结合主成分分析)和多层感知器神经网络分别建立检测注水注胶肉的模型。

2 结果

2.1 样品选择及其影响

在样品的收集过程中,涉及到很多不可控因素,如猪的品种、猪肉的部位以及存在状态等。在预实验中,分别考察了品种(黑猪肉、白猪肉)、部位(后腿肉、梅条肉)、形态(肉块、肉糜)、存储时间(4、24h)等影响因素。利用PCA得分模型,发现黑猪梅条肉和黑猪后腿肉在得分图中的分布差异较大,因此选用组间差异小的白猪肉作为下一步研究的对象;样品放置4和24h,没有明显差异,因此,样品在24h内采集完信息,可以确保结果的准确性和可靠性。

在预实验中,发现猪后腿肉和猪梅条肉的检测结果具有明显差异,这种差异超出了品种差异(黑猪肉与普通白猪肉)。另外,脂肪含量也对检测结果影响较大。在预实验中,分别对块状猪肉和猪肉糜做了注水实验,结果发现在块状猪肉中注水很难留存,且不同部位的差异很大,甚至出现猪后腿肉注水后重量反而减轻的现象(用纸吸收表面渗水后称重),原因可能是注水后肌肉细胞溶胀破裂,一些组织液随着注入的水一起流出。为去除猪肉品种和部位的差异以及在块状猪肉中注水注胶后的均

匀性和一致性对检测结果的影响,本次实验仅使用白猪梅条肉糜(锁水性较好)且剔除可见脂肪组织和结缔组织。需要注意的是,因为本次实验结果不涉及块状猪肉,且除梅条肉之外也未涉及其他部位猪肉,可能影响判别函数的适用范围。能否建立一个适用于所有猪肉形态及部位的统一的判别函数还有待进一步研究。

2.2 异常出峰数据的处理

绝大多数样品均出三个峰,理论上分别对应结合水、不易流动水和自由水。但本实验中,在高浓度琼脂注胶组(第五组)中,在常规第一个出峰位置前多出了一个弛豫时间在 0.21~0.36 ms 的小峰(峰面积占比 0.01%~2.16%)。而在注水组中,部分第三组和第四组的样品在常规第三个峰之后又多出了一个弛豫时间在 356~388 ms 的小峰(峰面积占比 3.5%~4.9%)。上述峰由于无法与其他样品做比较,所以未能用于主成分分析和判别研究。由于 LF-NMR 所获得的弛豫信息与样品内部氢质子的存在状态及所处物理化学环境有关,琼脂组在左侧多出的峰可能是琼脂糖中氢质子的信号,而注水组只有中等强度的部分注水样品中在右侧接近自由水的位置多出了一个峰,具体原因不清楚,可能与某些样品特异的组织结构状态有关。

2.3 低场核磁共振数据的主成分提取

本实验反演数据的特征变量共有 17 个,包括多组分反演数据中的总峰面积,3 个峰的峰起始时间、峰顶点时间、峰结束时间、峰面积和峰面积百分比,以及单组分反演得到的总弛豫时间。典型样品分析图谱及结果比较见图 1、图 2。主成分分析的计算结果中,新变量所代表的方差(即其对应的特征值)贡献率和由原变量变换为新变量的线性变换系数是分析的重点。一般认为,在主成分分析中,如果前几个新变量的累积方差贡献率达到 85%,则表明这些主成分包含了全部测量指标所具有的主要信息^[10]。本次研究中,前 4 个主成分积累的方差贡献率已经达到 89.4%(表 1),因此选取前 4 个主成分来代表全部变量,其中前三个主成分的得分图如下(图 3)。

2.4 基于前 4 个主成分建立注水注胶肉的判别模型

判别分析的特点是根据已掌握的每个类别的若干样本的数据信息,总结出客观事物分类的规律性,建立判别公式和判别准则,当遇到新的样本时,根据总结出来的判别公式和判别准则,就能判别该样本所属的类别。使用判别分析的关键点有 2 点,第一是测量样品的各种属性在各类别之间是否存

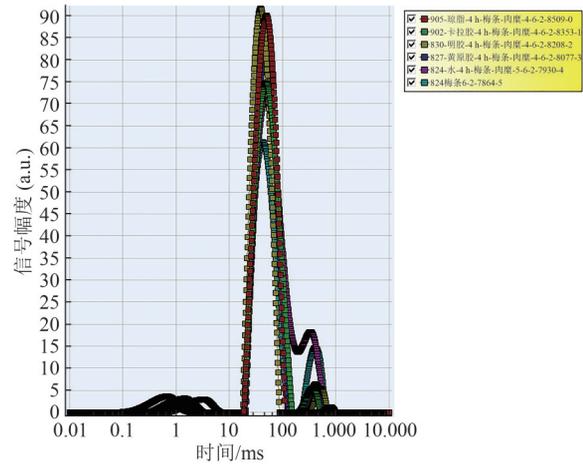


图 1 猪肉样品低场核磁共振数据对比图

Figure 1 Comparison of low field NMR data of pork samples

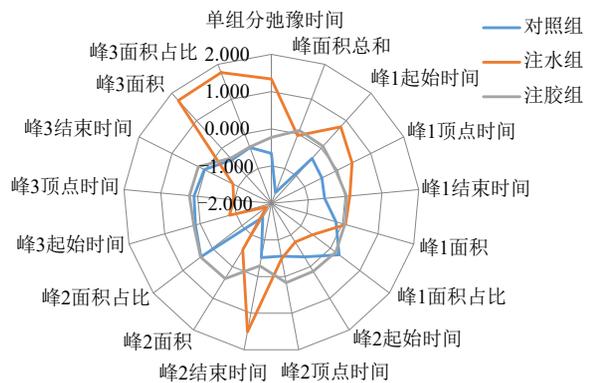


图 2 猪肉样品 17 个 LF-NMR 检测参数标准化后的均值对比折线图

Figure 2 The standardized mean comparison plot of 17 LF-NMR parameters

表 1 主成解释的总方差

Table 1 Total variance of principal component interpretation

成分	初始特征值		
	总计	方差百分比/%	累积/%
1	7.609	44.759	44.759
2	3.799	22.350	67.109
3	2.389	14.054	81.163
4	1.394	8.203	89.365

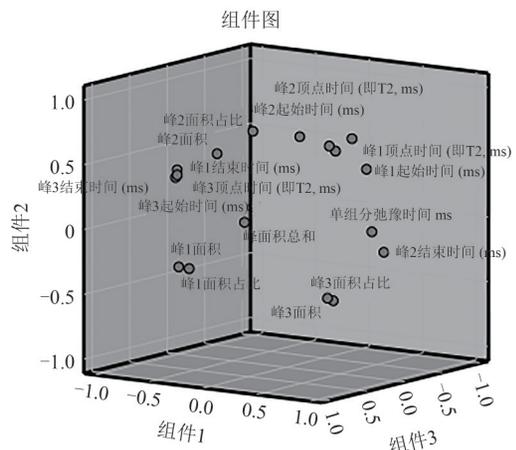


图 3 前三个主成分得分图

Figure 3 Scores of the first three principal components

在显著差异;第二是哪些属性适合用来判别分类。试验将肉样品按对照、注水和注胶分为6个类别,1为对照组(60例),2为注水组(95例),3为注胶组(明胶,96例),4为注胶组(琼脂,96例),5为注胶组(卡拉胶,96例),6为注胶组(黄原胶,96例)。利用判别函数对检测样本进行分类判断并交叉验证,其交叉验证正确率分别为88.3%、100.0%、89.6%、100.0%、87.5%、95.8%,总体交叉验证正确率为93.9%。

考虑到本研究用于快速检测的预期,理想的错判率应低于10%甚至低于5%。上述分类结果仍有改进空间。又因为实际工作中需要分辨注胶肉使用了哪种增稠剂的情况比较少见,本研究将4种注胶肉合并为一组,即将样品分组改为3个类别,1为对照组,2为注水组,3为注胶组,并将之前提取出的前4个主成分作为建模集样本的主变量。在SPSS平台上建立注水注胶肉的判别模型。组质心处的函数值、典则判别函数合并图以及最终的分类结果分别见表2、图4和表3。

从表2可以看出,各组间的质心相距较远,说明组间的差异相对较大。将由判别函数计算所得的各样品的判别得分绘制成二维图,可清晰辨别各组别间的差异情况,如图4所示。

从表3可以看出,上述判别模型对原始个案总的判别正确率达95.2%,尤其对于对照组,没有一

表2 组质心处的函数

Table 2 Functions at the center of group

标签	函数	
	1	2
1	-1.359	-1.423
2	3.186	-0.187
3	-0.576	0.269

注:按组平均值进行求值的未标准化典则判别函数

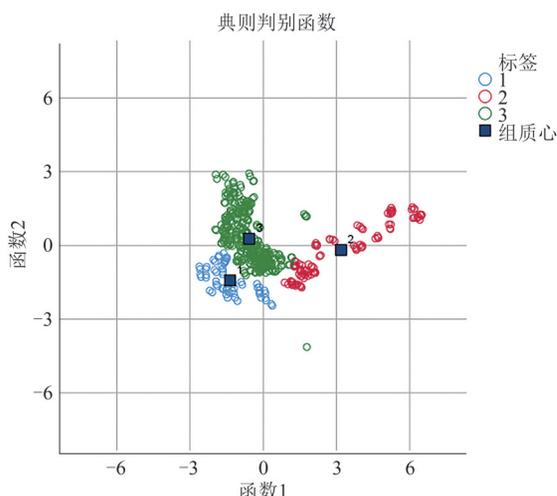


图4 典则判别函数合并图

Figure 4 Merge graphs of canonical discriminant function

表3 判别研究分类结果^{a,c}

Table 3 Classification results of discriminant analysis

标签		预测组成员信息			总计	
		1	2	3		
原始	1	60	0	0	60	
	计数/n	2	2	93	0	95
	3	20	4	360	384	
	1	100.0	0.0	0.0	100.0	
	百分比/%	2	2.1	97.9	0.0	100.0
	3	5.2	1.0	93.8	100.0	
交叉验证 ^b	1	60	0	0	60	
	计数/n	2	2	91	2	95
	3	20	5	359	384	
	1	100.0	0.0	0.0	100.0	
	百分比/%	2	2.1	95.8	2.1	100.0
	3	5.2	1.3	93.5	100.0	

注:^a:正确地对95.2%个原始已分组个案进行了分类;^b:仅针对分析中的个案进行交叉验证。在交叉验证中,每个个案都由那些从该个案以外的所有个案派生的函数进行分类;^c:正确地对94.6%个进行了交叉验证的已分组个案进行了分类

例错判。与原始个案相比,交叉验证个案对照组依然维持了100%的正确率,注胶组的正确率也基本持平,而注水组的预测正确率则下降了2个百分点,但总的正确判别率依然达94.6%。说明利用低场核磁共振技术结合判别研究对注水注胶肉进行分类是可行的,可以满足实际检测的需求。

2.5 多层感知器(Multi-layer perceptron, MLP)神经网络模型的建立

2.5.1 神经网络模型参数确定

本实验采用MLP建立一个三层的MLP神经网络结构。包括输入层、隐藏层、输出层。将539样本随机划分为训练集(70%)和检验集(30%),其中360个样品为训练集样本,179个样品为预测集样本。最终建立了一个结构为17-6-3的三层MLP神经网络模型,即输入层为17个原始变量;隐藏层单元数为6,激活函数为双曲正切;输出层为对照、注水、注胶等3个因变量,激活函数为Softmax。

2.5.2 MLP神经网络模型分类效果评价

经过软件多次学习计算,建立了对照组与注水及注胶肉MLP神经网络识别模型,模型对训练集与检验集的识别结果见表4,各变量的重要性排名见图5。

从表4可以看出,该模型对训练集3大类共计360个样品的判别结果正确率100%,无一例误判。该模型对检验集3大类共计179个样品的判别结果,其中19个对照组样品中有一例被判为注胶组;129个注胶组中有2例被错判为对照组,一例被判为注水组掺水肉;注水组无一例误判。最终的总体正确识别率为97.8%,判别效果良好,说明所建立的判别模型是可靠的。

表 4 MLP神经网络模型分类结果

Table 4 Classification results of MLP neural network model

样本	预测			正确百分比/%
	1	2	3	
训练	1	41	0	100.0
	2	0	64	100.0
	3	0	0	255
	总体百分比/%	11.4	17.8	70.8
检验	1	18	0	94.7
	2	0	31	100.0
	3	2	1	126
	总体百分比/%	11.2	17.9	70.9

不同弛豫时间处的特征峰与肉中存在的不同状态水是对应的,即 T21、T22 和 T23(由左至右依次对应的峰)分别表征样品中的结合水、不易流动水和自由水的核磁响应信号^[11]。从图 5 中各变量的

重要性排名来看,峰 2 面积及其所占总面积百分比重要性排名最高的两个变量。峰 2 在理论界一般认为是样品中的不易流动水(束缚水),是存在于肌原纤维、纤丝中的水分。在注水或注胶过程中,猪肉中的肌原纤维所处的内环境发生不同程度改变,结构变得松散,从而导致不易流动水不稳定性增大。由于靠大分子静电引力而存在的自由水移动性大,受外部影响大,与不易流动水之间存在滴出与转化的关系。自由度最大的自由水首先滴出,部分活跃的不易流动水再转化成为自由水,两个过程交替进行,达到一个动态平衡,最终导致了峰 2 面积及其所占总面积百分比的减小。上述两个变量的重要性排名也与庞之列等^[12]、LI 等^[13]在应用低场核磁共振技术检测肉制品品质变化时的研究一致。

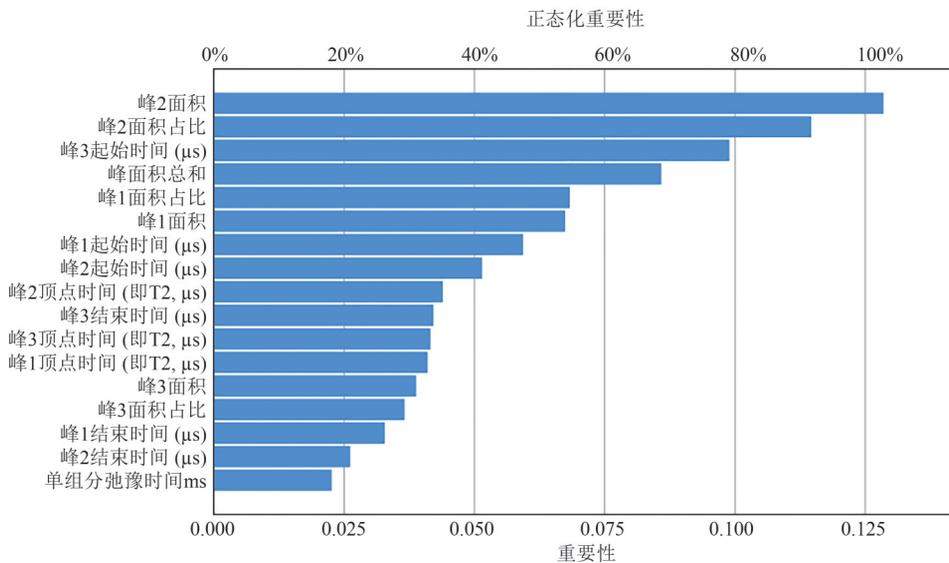


图 5 各变量的重要性排名

Figure 5 Importance ranking of variables

3 结论

本研究采用低场核磁共振技术结合化学计量学方法,建立了原料肉与注水注胶肉的低场核磁共振判别分析模型以及原料肉与注水注胶肉的低场核磁共振分类判别模型。首先利用低场核磁共振结合主成分判别,根据 Fisher 判别函数,交叉验证样品集中的对照组、注水组、注胶组样本判别正确率分别为 60/60、91/95、359/384,总的正确判别率达到 94.6%。然后,利用低场核磁共振技术与 MLP 神经网络建立原料肉和注水注胶肉的识别模型,以 17 个低场核磁共振检测参数代表样本的低场核磁共振检测信息,并作为 MLP 神经网络的输入,原料肉与注水注胶肉的种类作为输出,采用不同建模参数,通过多次计算,最终建立了一个结构为 17-6-3 的三层 MLP 神经网络识别模型,该模型对检验集

179 个样本总的正确识别率达到 97.8%。相对判别分析模型,神经网络模型具有高速寻找优化解的能力,但神经网络模型没能力来解释自己的推理过程和推理依据且需要的数据量较大的缺点也限制了其使用。如果结合上述判别模型和神经网络识别模型进行联合分析,可以进一步降低错判率。上述结果表明,低场核磁共振技术结合主成分分析、判别研究和 MLP 神经网络识别原料肉与注水注胶肉是可行的,为注水注胶肉快速检测提供了新的思路,也对提高我国原料肉质量控制水平具有重要意义。

参考文献

[1] 孟一, 张玉华, 许丽丹, 等. 近红外光谱技术对猪肉注水、注胶的快速检测[J]. 食品科学, 2014, 35(8): 299-303.
MENG Y, ZHANG Y H, XU L D, et al. Rapid detection of

- meat injected with water or gum by near infrared spectroscopy [J]. *Food Science*, 2014, 35(8): 299-303.
- [2] 黄奇峰,高淑梅,陈国庆,等.卡拉胶的荧光光谱特性及其质量浓度预测[J].*江南大学学报:自然科学版*,2012,11(5):592-596.
- HUANG Q F, GAO S M, CHEN G Q, et al. Study on the fluorescence spectra of carrageenan and prediction of its concentration[J]. *Journal of Jiangnan University: Natural Science Edition*, 2012, 11(5): 592-596.
- [3] 吴艺影,章倩汝,韩剑众,等.基于低场核磁共振技术的注胶肉快速检测[J].*肉类研究*,2013,27(3):26-29.
- WU Y Y, ZHANG Q R, HAN J Z, et al. Rapid detection of gum-injected meat by low-field nuclear magnetic resonance[J]. *Meat Research*, 2013, 27(3): 26-29
- [4] LI X, MA L Z, TAO Y, et al. Low field-NMR in measuring water mobility and distribution in beef granules during drying process [J]. *Advanced Materials Research*, 2012, 550-553: 3406-3410.
- [5] 李春,张录达,任发政,等.利用低场核磁共振研究冷却条件对猪肉保水性的影响[J].*农业工程学报*,2012,28(23):243-249.
- LI C, ZHANG L D, REN F Z, et al. Study on different chilling factors influencing water-holding capacity of pork based on low-field nuclear magnetic resonance (LF-NMR) [J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2012, 28(23): 243-249.
- [6] 陈琳莉,李侠,张春晖,等.低场核磁共振法测定五种肉类中不同状态水分含量[J].*分析科学学报*,2015,31(1):90-94.
- CHEN L L, LI X, ZHANG C H, et al. Determination of different state moisture content in five kinds of meat using low-field NMR [J]. *Journal of Analytical Science*, 2015, 31(1): 90-94
- [7] HAN M Y, WANG P, XU X L, et al. Low-field NMR study of heat-induced gelation of pork myofibrillar proteins and its relationship with microstructural characteristics [J]. *Food Research International*, 2014, 62: 1175-1182.
- [8] 俞汝勤.化学计量学导论[M].长沙:湖南教育出版社,1991.
- YU R Q. Introduction to chemometrics [M]. Changsha: Hunan Education Publishing House, 1991.
- [9] 张国文,倪永年,朱志怀.化学计量学-光度法在食品多组份分析中的应用评述[J].*食品科学*,2003,24(11):156-160.
- ZHANG G W, NI Y N, ZHU Z H. Review of application chemometrics in simultaneous spectrophotometric analysis of food multicomponents [J]. *Food Science*, 2003, 24(11): 156-160.
- [10] 张文彤,董伟.SPSS统计分析高级教程[M].3版.北京:高等教育出版社,2018:241.
- ZHANG W T, DONG W. SPSS Advanced Statistical Analysis [M]. 3rd edition. Beijing: Higher Education Press, 2018: 241.
- [11] 盖圣美,游佳伟,张中会,等.低场核磁共振技术在肉类品质安全分析检测中的应用[J].*食品安全质量检测学报*,2018,9(20):5294-5300.
- GAI S M, YOU J W, ZHANG Z H, et al. Application of low field nuclear magnetic resonance technology in the quality and safety analysis and detection of meat [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2018, 9(20): 5294-5300.
- [12] 庞之列,何栩晓,李春保.一种基于LF-NMR技术的不同含水量猪肉检测方法研究[J].*食品科学*,2014,35(4):142-145.
- PANG Z L, HE X X, LI C B. A method for detection of water content in pork using low-field nuclear magnetic resonance (LF-NMR) [J]. *Food Science*, 2014, 35(4): 142-145..