

基于光谱技术的褐壳血斑蛋鉴别方法研究*

徐惠荣 徐文豪 陈华瑞 姚洋 张安红

(浙江大学生物系统工程与食品科学学院, 杭州 310058)

摘要: 血斑蛋是一种带有血丝的异常蛋。通过自制的鸡蛋内部品质光谱检测系统,采集40个正常蛋和60个人工注射血样的血斑蛋的可见/近红外光谱,研究比较了3种不同的血斑蛋判别方法:传统的血值判别法、偏最小二乘判别法(DPLS)以及融合光谱信息与蛋壳颜色信息的最小二乘支持向量机(LS-SVM)判别法,结果表明基于颜色信息融合的最小二乘支持向量机的判别结果明显优于传统的血值判别法,正常蛋的判别正确率为90%,血斑蛋的判别正确率为91.7%,证明了此方法可用于褐色蛋的血斑检测。

关键词: 褐壳蛋 血斑 可见/近红外光谱 最小二乘支持向量机 判别分析

中图分类号: S123;TP391.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2014)02-0194-05

引言

血斑是鸡蛋内部一种常见的缺陷,多为红色斑点或条纹,常见于蛋黄与蛋白中^[1],通常由于维生素缺乏、疾病或遗传等因素造成^[2]。血斑的存在会影响消费者的观感以及购买欲,对禽蛋的销售价格及出口至关重要。美国农业部对禽蛋的分级标准中明确规定AA级和A级蛋内血液聚合的直径不能超过1/8英寸(约3.2 mm)^[3]。

利用光学方法检测鸡蛋内血斑最初由美国的Norris等提出,研究发现血液在可见光415、541、575 nm附近的3个吸收波长,并利用透射光谱研究检出白壳鸡蛋中大于3.2 mm的血斑^[4]。Gielen等^[5]提出了基于波长577 nm与598 nm处吸收峰比值法(血值)的白壳正常蛋与血斑蛋的判别。Usui等^[6]对100个白壳正常蛋和94个白壳血斑蛋进行可见/近红外光谱检测,在503~598 nm波长范围内进行偏最小二乘(PLS)判别分析,正常蛋检出率为100%,血斑蛋检出率为96.8%。白井善彦等^[7]利用PLS算法在500~600 nm波段范围内对白壳血斑蛋和正常蛋进行了判别分析,其中正常蛋的检出率为100%,血斑蛋的检出率为96.8%。以上研究结果都是针对白壳蛋,由于褐壳蛋中蛋壳色素原卟啉的光谱吸收峰与血液吸收峰相近^[8],用传统的血值判别方法检测比较困难,血斑蛋检出率只有85%左右^[9]。白井善彦等^[9]利用波长569、582和631 nm

处的二次微分吸收光谱值建立广义马氏距离判别模型,对60个褐壳血斑蛋和60个褐壳正常蛋进行检测区分,血斑蛋的检出率为93.3%,得到了明显的提高。而国内相关研究还未见报道。

本文拟研究建立一种可用于鸡蛋内部品质检测的实验装置,并研究以融合蛋壳颜色信息来提高褐色蛋中血斑蛋的正确检出率。

1 材料与方法

1.1 样品

实验材料为超市购买的湖北神丹牌保洁新鲜蛋100个,其中40个正常蛋,60个人工注射血斑蛋,血液注射量0.05 mL(血液聚合直径约4.6 mm),标号后置于实验室室温环境下放置24 h。

1.2 光谱采集

鸡蛋的光谱测定采用自制鸡蛋内部品质检测实验装置(图1),装有滚子输送机构,采用透射式检测方式^[10],光源置于鸡蛋上方,经聚光后以一定光斑照射到鸡蛋上,透过鸡蛋后的光经准直镜(74-UV型,美国海洋光学公司)输入微型光纤光谱仪(美国海洋光学公司),波长范围200~1100 nm,采集软件为光谱仪自带的SpectraSuite光谱采集软件,光源采用飞利浦12 V/50 W卤钨灯。主要采集参数:积分时间30 ms,平均扫描次数3,平滑点数10。检测时,采用人工将蛋放到输送机构上,每个鸡蛋在赤道部位间隔均匀采集3次光谱,取其平均值作为样品的

收稿日期:2012-12-19 修回日期:2013-01-11

*“十二五”国家科技支撑计划资助项目(2011BAD20B12)、高等学校基本科研业务费专项资金资助项目(2012FZA6006)和杭州市农业科研攻关专项资助项目(20120232B55)

作者简介:徐惠荣,副教授,博士,主要从事农产品品质无损检测技术与装备研究,E-mail:hrxu@zju.edu.cn

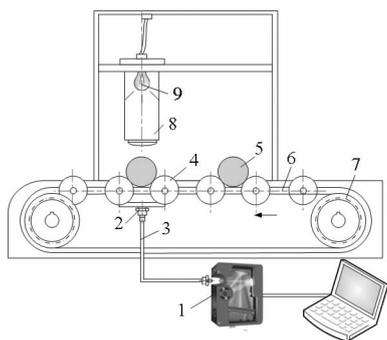


图1 鸡蛋内部品质检测实验装置

Fig. 1 Detection device for eggs internal quality inspection

1. 光谱仪 2. 准直镜 3. 光纤 4. 滚子 5. 鸡蛋样品 6. 链条 7. 链轮 8. 透镜 9. 光源

原始光谱。

1.3 蛋壳颜色

颜色测量采用 CIE (国际照明委员会) 推荐的 L^* 、 a^* 、 b^* 表色系, 测量时为室温, 用白板进行校准。每个鸡蛋在赤道部位光谱采集处同样测量 3 次, 取其平均值作为特征颜色信息。具体测量结果如表 1 所示。

表 1 蛋壳颜色信息

Tab. 1 Measured values of eggshell color

颜色信息	L^*	a^*	b^*
最小值	79.13	-0.53	5.37
最大值	91.57	5.75	23.51
标准差	3.05	1.57	3.79

在 CIE 1976 (L^* , a^* , b^*) 3 个基本坐标中, L^* 表示颜色的亮度 ($L^* = 0$ 代表黑色, $L^* = 100$ 代表白色), a^* 表示红色/品红和绿色之间的位置 (负值代表绿色, 正值代表红色/品红), b^* 表示黄色和蓝色之间的位置 (负值代表蓝色, 正值代表黄色)。从表 1 中可以看出, b^* 均为正值, 表示鸡蛋蛋壳颜色偏褐色, 为褐壳蛋, 且数值跨度较大, 说明鸡蛋蛋壳颜色较复杂。

1.4 判别分析

在本文的血斑蛋鉴别实验中, 比较了 3 种常见的判别方法: 传统的血值判别 (线性判别)、偏最小二乘判别 (DPLS) 和最小二乘支持向量机判别。

线性判别有多种方法, 本文采用马氏距离判别法。首先给出一个样品到某个类别距离的定义, 然后根据样品到某个类别距离的远近再判别该样品的类别^[11]。

偏最小二乘判别法是将每一类样品赋予一个参考值, 再通过偏最小二乘回归分析得到的计算值与所设的参考值进行比较, 若计算值在参考值的两侧, 阈值为 ± 0.5 , 则认为分类正确。

最小二乘支持向量机 (LS-SVM) 是基于传统的支持向量机 (SVM) 的一种改进算法^[12]。它的训练过程遵循结构风险最小化原则, 将不等式约束改为等式约束, 将经验风险由偏差的一次方改为二次方, 将求解二次规划问题转换为求解线性方程组, 避免了不敏感损失函数, 大大降低了计算复杂度, 且运算速度高于一般的支持向量机^[13]。与传统 SVM 方法相比, LS-SVM 求解速度快, 占用内存小, 在诸多领域中都得到了广泛的应用^[14-17]。

2 结果与分析

2.1 线性判别

正常蛋与血斑蛋在 500 ~ 700 nm 波长范围内的平均光谱如图 2 所示。正常蛋与血斑蛋的平均光谱之差在波长 543.09 nm 与 575.13 nm 处差别最大 (图 3), 为色素的吸收峰^[6], 而波长 645.50 nm 处正常蛋与血斑蛋两者平均光谱之差最小, 表示两者吸光度接近相等, 作为参比波长, 可以减少蛋壳厚度、鸡蛋大小等的影响^[18]。

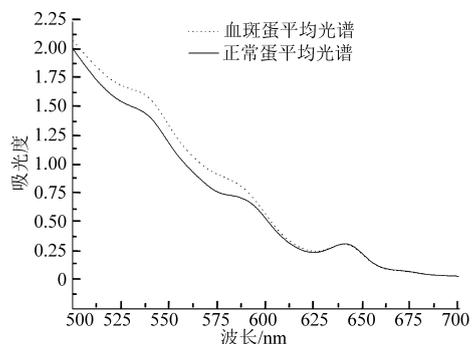


图 2 正常蛋与血斑蛋的平均光谱分布特性

Fig. 2 Average spectra of normal eggs and eggs with blood spots

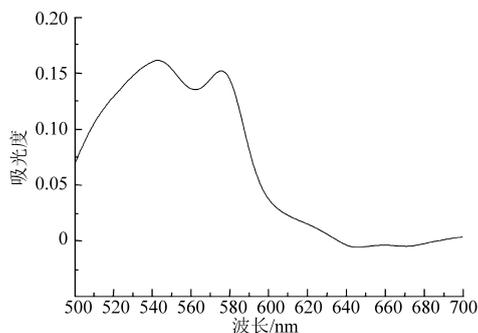


图 3 正常蛋与血斑蛋的平均光谱之差

Fig. 3 Difference of average spectra between normal eggs and eggs with blood spots

选用波长 543.09 nm、575.13 nm 的吸光度与 645.50 nm 处的吸光度之比 (又称血值) 作为线性判别的输入值, 其结果如表 2 所示。结果表明用波长 543.09 nm 与 575.13 nm 处的血值进行判别分析, 判别正确率仅为 56% 和 60%, 两者相差不大, 而同时

使用两个血值进行判别的正确率为 82%，优于单一血值的判别结果。但总体而言采用血值进行判别分析结果不理想，可能受蛋壳颜色的影响。

表 2 血值判别分析结果

Tab. 2 Results of discriminant analysis using blood value

吸光度比值	正常蛋判别	血斑蛋判别	正确率/%
$A_{543.09\text{ nm}}/A_{645.50\text{ nm}}$	28/40*	28/60	56
$A_{575.13\text{ nm}}/A_{645.50\text{ nm}}$	29/40	31/60	60
$A_{543.09\text{ nm}}/A_{645.50\text{ nm}}$, $A_{575.13\text{ nm}}/A_{645.50\text{ nm}}$	39/40	43/60	82

注：* a/b , a 表示判别正确个数, b 表示总个数。

2.2 偏最小二乘判别

考虑到前述文献中提到 DPLS 可用于白壳蛋中的血斑检测,应用 PLS 判别分析对波长 500 ~ 700 nm 范围内的光谱数据进行处理。将正常蛋参考值设为 1, 血斑蛋设为 0, 阈值为 ± 0.5 , 如果预测集中正常蛋样品的预测值低于 0.5 或高于 1.5, 则正常蛋样本判别错误; 血斑蛋样本的预测值低于 -0.5 或高于 0.5, 则血斑蛋样本判别错误。最终结果显示正常蛋判错 3 个, 血斑蛋判错 11 个, 总体判别正确率为 86%, 优于血值判别结果。

2.3 最小二乘支持向量机

为了更好地解决蛋壳颜色的影响, 需寻找一种更优的判别方法, 本文尝试使用最小二乘支持向量机方法进行判别分析。首先对全部 100 个样品进行训练集与预测集的划分。在光谱分析中, 常用 Kennard/Stone 算法 (K/S 算法) 选择样品集。K/S 算法是根据样品间光谱的欧氏距离来计算样品差异, 以寻求样品间差异的最佳表达式^[19]。经 K/S 算法计算后分别将正常蛋与血斑蛋的 2/3 用于训练集, 另 1/3 用于预测集, 即 66 个鸡蛋样本 (26 个正常蛋与 40 个血斑蛋) 用于训练集, 另 34 个鸡蛋样本 (14 个正常蛋与 20 个血斑蛋) 用于预测集。

可见/近红外光谱数据点较多, 数据量大, 为了提高建模运算速度, 减少运算量, 通过主成分分析 (Principle component analysis, PCA) 先对其原始光谱输入变量进行降维处理。从光谱的主成分得分来看, 前 3 个主成分贡献率已达到 98.8%, 因此选取前 3 个主成分 (PC1、PC2、PC3) 作为优化后的新变量进行 LS-SVM 判别分析, 判别模型称为 LS-SVM1。同时考虑到蛋壳颜色对血斑蛋检测的影响, 将蛋壳颜色参数 L^* 、 a^* 、 b^* 也作为 LS-SVM 的输入变量, 与 3 个主成分 (PC1、PC2、PC3) 融合进行 LS-SVM 建模分析, 判别模型称为 LS-SVM2。

在 LS-SVM 建模过程中, 核函数及其参数选择是关键, 直接影响 SVM 分类器的性能^[20]。选取

向基函数 (RBF) 作为核函数, 其中参数 γ 和 σ^2 的选择采用了基于留一交互验证的二次网格搜索法。此方法的原理是在两参数 γ 和 σ^2 张成的平面内进行搜索, 以每组 γ 和 σ^2 的组合所得到的训练集交互验证均方根误差 (Root mean square error of cross-validation, RMSECV) 最小值为指标, 从而寻求最优的参数组合。寻优过程由粗选和精选两个步骤组成: 粗选格点数 10×10 , 如图 4 中“.”所示, 搜索步长较大, 采用误差等高线确立最优参数范围; 精选格点数仍为 10×10 , 如图 4 中“×”所示, 在粗选基础上, 以较小步长更加细致地搜索, 确定最优模型参数^[21]。为了在参数选择过程中有适当的增量, γ 的选择范围为 $10 \sim 2^{10}$, σ^2 的选择范围为 $0.01 \sim 2^{10}$ 。对 γ 和 σ^2 作对数处理, 寻优过程与结果如图 4 所示。用于 LS-SVM2 判别模型的最优 γ 和 σ^2 分别为 837.656 和 67.75433。

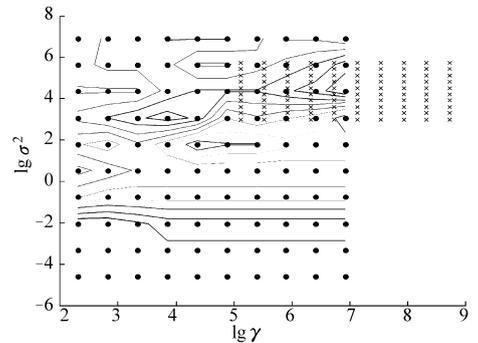


图 4 LS-SVM2 中的 γ 和 σ^2 网格搜索过程

Fig. 4 Grid search of γ and σ^2 for LS-SVM2

判别结果如表 3 所示, 从表中可以看出最小二乘支持向量机方法的判别结果较优。其中融入蛋壳颜色参数的判别模型 LS-SVM2 判别结果显示正常蛋共判错 4 个, 检出率为 90.0%, 血斑蛋共判错 5 个, 检出率为 91.7%, 总体判别正确率达到 91%, 判别正确率高于只选取前 3 个主成分 (PC1、PC2、PC3) 作为输入变量的 LS-SVM1 模型的判别结果, 可以看出蛋壳颜色对血斑检测影响显著, 且光谱信息融入蛋壳颜色信息后可以提高正确检出率。而受试者工作特征曲线 (ROC) 面积能很好的评价二分类模型的性能, 其值越接近于 1, 模型的性能越好^[22]。本文中的 ROC 曲线面积为 0.98365,

表 3 LS-SVM 判别分析结果

Tab. 3 Results of discriminant analysis using LS-SVM

判别模型	样品分类	训练集	预测集	正确率/%
LS-SVM1	正常蛋	19/26	11/14	75.0
	血斑蛋	35/40	18/20	88.3
LS-SVM2	正常蛋	24/26	12/14	90.0
	血斑蛋	38/40	17/20	91.7

说明此模型的分类效果较好。

3 结论

(1)从实验结果来看,传统的基于血值的血斑蛋鉴别方法对于褐色蛋的血斑检测结果不够理想,这可能主要受鸡蛋表面蛋壳颜色的影响,因为与白壳蛋不同,褐壳蛋中蛋壳色素原卟啉的吸收峰与血液吸收峰相近,造成褐壳血斑蛋与正常蛋光谱在血值所在波长下差异不明显,从而难以区分。而偏最小二乘判别分析以及最小二乘支持向量机判别法由于使用了一定波长范围内的光谱信息,比血值判别

法采用了更多的光谱信息,从而判别结果较理想。

(2)融合鸡蛋光谱数据与蛋壳颜色信息后的最小二乘支持向量机判别方法由于考虑了蛋壳颜色的补偿,在一定程度上降低了蛋壳颜色对吸收光谱的影响,判别结果得到了明显改善,正常蛋检出率为 90.0%,血斑蛋检出率为 91.7%,结果表明该方法可用于血斑蛋的无损检测。

(3)本文所用材料为人工注射血斑蛋,所建模型对于真正的血斑蛋检测效果如何还需进一步验证。

参 考 文 献

- 1 陈子召. 蛋的血斑和肉斑内含物[J]. 养禽与禽病防治,1986(1):43.
- 2 Juliet R R. Factors affecting egg internal quality and egg shell quality in laying hens[J]. The Journal of Poultry Science, 2004, 41(3):161-177.
- 3 AMS 56. Grades, and weight classes for shell eggs[S]. USDA, 2000.
- 4 Brant A W, Norris K H, Chin G. A spectrophotometric method for detecting blood in white-shell eggs[J]. Poultry Science, 1953, 32(2):357-363.
- 5 Gielen R M A M, Jong L P D, Kerkvliet H M M. Electrooptical blood-spot detection in intact eggs[J]. IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement, 1979, 28(3):177-183.
- 6 Usui Y, Nakano K, Motonaga Y. A study of the development of non-destructive detection system for abnormal eggs[C]//EFITA 2003 Conference, 2003:625-631.
- 7 白井善彦,中野和弘,水谷纯. 異常鶏卵の非破壊検出法に関する研究(第2報)——可視分光分析による白色卵の血卵検出[J]. 農業施設, 2005, 36(6):11-16.
- 8 Bamelis F R, Ketelaere B D, Kemps B J, et al. Noninvasive methods for egg quality evaluation[C]//EPC 2006-12th European Poultry Conference, 2006.
- 9 白井善彦,中野和弘,齋藤麻奈. 異常鶏卵の非破壊検出法に関する研究(第3報)——可視分光分析による褐色卵の血卵検出[J]. 農業施設, 2006, 36(3):209-214.
- 10 徐惠荣,应义斌,饶秀勤,等. 基于多信息融合的禽蛋新鲜度在线检测方法及装置:中国,200910155018.8[P]. 2011-12-21.
- 11 Fu Xiaping, Zhou Ying, Ying Yibin, et al. Discrimination of pear varieties using three classification methods based on near-infrared spectroscopy[J]. Transactions of the ASABE, 2007, 50(4):1355-1361.
- 12 Suykens J A K, Vandewalle J. Least squares support vector machine classifiers[J]. Neural Processing Letters, 1999, 9(3):293-300.
- 13 李先锋,朱伟兴,纪滨,等. 基于特征优化和 LS-SVM 的棉田杂草识别[J]. 农业机械学报, 2010, 41(11):168-172. Li Xianfeng, Zhu Weixing, Ji Bin, et al. Weed identification based on features optimization and LS-SVM in the cotton field [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2010, 41(11):168-172. (in Chinese)
- 14 Ferrao M F, Godoy S C, Gerbase A E, et al. Non-destructive method for determination of hydroxyl value of soybean polyol by LS-SVM using HATR/FT-IR[J]. Analytica Chimica Acta, 2007, 595(1-2):114-119.
- 15 Chauchard F, Cogdill R, Roussel S, et al. Application of LS-SVM to non-linear phenomena in NIR spectroscopy: development of a robust and portable sensor for acidity prediction in grapes[J]. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 2004, 71(2):141-150.
- 16 权龙哲,祝荣欣,雷博,等. 基于 K-L 变换与 LS-SVM 的玉米品种识别方法[J]. 农业机械学报, 2010, 41(4):168-172. Quan Longzhe, Zhu Rongxin, Lei Pu, et al. Method of maize cultivars based on K-L transform and LS-SVM[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2010, 41(4):168-172. (in Chinese)
- 17 Alessandra B, Marco F F, Cesar M, et al. LS-SVM and near infrared spectroscopy for quantification of common adulterants in powdered milk[J]. Analytica Chimica Acta, 2006, 579:25-32.
- 18 Ketelaere B D, Bamelis F R, Kemps B J, et al. Non-destructive measurements of the egg quality[J]. World's Poultry Science Journal, 2004, 60(3):289-302.
- 19 李华,王菊香,邢志娜,等. 改进的 K/S 算法对近红外光谱模型传递影响的研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2011, 31(2):362-365. Li Hua, Wang Juxiang, Xing Zhina, et al. Influence of improved Kennard/Stone algorithm on the calibration transfer in near-infrared spectroscopy[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2011, 31(2):362-365. (in Chinese)
- 20 付元元,任东. 支持向量机中核函数及其参数选择研究[J]. 科技创新导报, 2010(9):6-7.

- 21 朱向荣,单杨,李高阳,等. 基于最小二乘支持向量机的国公酒中橙皮苷含量测定[J]. 光谱学与光谱分析,2009,29(9): 2 471 - 2 474.
Zhu Xiangrong, Shan Yang, Li Gaoyang, et al. Determination of hesperidin content in Guogongjiu medicinal wine based on NIR spectrometry and least squares support vector machines[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2009,29(9):2471 - 2474. (in Chinese)
- 22 虞科,程翼宇. 一种基于最小二乘支持向量机算法的近红外光谱判别分析方法[J]. 分析化学,2006,34(4):561 - 564.
Yu Ke, Cheng Yiyu. Discriminating the genuineness of Chinese medicines with least squares support vector machines[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2006,34(4):561 - 564. (in Chinese)

Detection of Blood Spots in Brown Eggs Based on Spectroscopic Techniques

Xu Huirong Xu Wenhao Chen Huarui Yao Yang Zhang Anhong

(College of Biosystems Engineering and Food Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract: The abnormal egg, blood-egg, has the internal optically active anomalies blood spots. A detection system based on Vis/NIR spectroscopy was designed for eggs' internal quality inspection. Then, spectra data of 40 brown normal eggs and 60 artificial abnormal eggs obtained by injecting a small amount of blood ingredient were collected. Three analytical methods: the traditional discrimination method using blood value, discriminant partial least squares analysis (DPLS) and least squares support vector machine (LS - SVM) combined with spectral information and eggshell color information were compared for discrimination analysis. The final results showed that the discrimination rate based on LS - SVM method was 90.0% for normal eggs and that was 91.7% for blood-spot eggs, better than the results using traditional discrimination analysis methods. The results suggested that LS - SVM was an effective analytical tool in detecting blood-spot eggs with brown eggshell.

Key words: Brown eggs Blood spots Vis/NIR spectroscopy Least squares-support vector machine
Discrimination analysis