基于拉曼光谱的胡萝卜中 β-胡萝卜素的快速无损检测

杨 宇, 翟 晨, 彭彦昆, 郑晓春, 李 延, 李永玉*

(中国农业大学工学院, 国家农产品加工技术装备研发分中心, 北京 100083)

摘 要: 目的 利用实验室自行搭建的拉曼点扫描系统, 以市售新鲜胡萝卜为研究对象, 建立一种快速无损检测胡萝卜中的 β-胡萝卜素的预测模型。**方法** 在胡萝卜长度方向每隔 1 cm 进行点扫描, 样品点扫描拉曼光谱曲线均先采用 Savizky-Golay 5 点平滑法去噪后再用 Baseline 方法进行去除荧光背景预处理, 最后取平均值作为样品的拉曼光谱。胡萝卜中的 β-胡萝卜素标准理化值按照国家标准 GB/T 5009.83-2003 法进行测定, 理化值与 1521 cm^{-1} 和 1156 cm^{-1} 处 β-胡萝卜素的拉曼特征峰强建立了多元线性回归模型。**结果** 模型校正集的相关系数(R_C)和均方根误差(RMSEC)分别为 0.9249 和 12.04 mg/kg, 验证集的相关系数(R_P)和均方根误差(RMSEP)分别为 0.9155 和 11.47 mg/kg。**结论** 基于拉曼光谱完全可以实现新鲜胡萝卜中 β-胡萝卜素含量的检测, 为新鲜果蔬中 β-胡萝卜素含量的定量检测提供技术支撑。

关键词: 拉曼光谱; β-胡萝卜素; 胡萝卜; 多元线性回归

Rapid nondestructive detection of β-carotene in carrots based on Raman spectroscopy

YANG Yu, ZHAI Chen, PENG Yan-Kun, ZHENG Xiao-Chun, LI Yan, LI Yong-Yu*

(*College of Engineering*, *China Agricultural University*, *National Research and Development Center for Agro-processing Equipment*, *Beijing* 100083, *China*)

ABSTRACT: Objective To establish a rapid and nondestructive method for the prediction of β-carotene in carrots by a Raman point scanning system built by the laboratory with the fresh carrots as research objects. **Methods** Point scan was carried out at 1 cm in the length direction of each carrot. Noise was removed by Savizky-Golay 5 point smoothing method, and then the fluorescence background was removed by Baseline method before point scanning. Finally, the average of all the spectra of each sample was used to represent the sample.The physical and chemical values of β-carotene in carrots were determined by the national standard method GB/T 5009.83-2003. A multivariate linear regression model was established by using the physical and chemical values of the Raman characteristic peaks of 1521 cm^{-1} and 1156 cm^{-1}. **Results** The correlation coefficients (R_C) and root mean square error (RMSEC) of the model calibration set were 0.9249 mg/kg and 12.04 mg/kg respectively. The correlation coefficient (R_P) and root mean square error (RMSEP) of the validation set were 0.9155 mg/kg and 11.47 mg/kg respectively. **Conclusion** The detection of β-carotene content in fresh carrots can be realized by Raman spectroscopy, which provides technical

基金项目: 国家科技支撑项目(2014BAD04B05)

Fund: Supported by the National Science and Technology Support Program (2014BAD04B05)

*通讯作者: 李永玉, 副教授, 主要研究方向为农畜产品光学无损快速检测技术。E-mail: yyli@cau.edu.cn

***Corresponding author:** LI Yong-Yu, Associate Professor, China Agriculture University, No.17, Qinghua East Road, Haidian District, Beijing 100083, China. E-mail: yyli@cau.edu.cn

support for the quantitative detection of β-carotene content in fresh fruits and vegetables.

KEY WORDS: Raman spectroscopy; β-carotene; carrot; multiple linear regression

1　引　言

β-胡萝卜素(β-carotene)是类胡萝卜素的一种, 存在于许多果蔬中, 如甘薯、胡萝卜、西红柿、菠萝等[1]。β-胡萝卜素是果蔬中的一种普遍存在且稳定的天然色素, 作为食品添加剂安全可靠, 并且 β-胡萝卜素在进入人体后可以转化为维生素 A, 具有抗氧化的作用, 能够预防癌症、心脑血管疾病和白内障等疾病, 是人体不可缺少的营养元素, 合理摄入含 β-胡萝卜素丰富的果蔬对人体健康具有重要意义[2]。胡萝卜是常见果蔬中 β-胡萝卜素含量最高的蔬菜[3], 快速无损检测 β-胡萝卜素含量对胡萝卜的品质检测分级及 β-胡萝卜素的进一步提取加工均具有一定的实用价值。

目前, 测定食品中 β-胡萝卜素常用的方法有高效液相色谱法[4]、柱层析法[5]、纸层析法[6]等。这些方法都需要对样品进行复杂的前处理, 比如将样品进行皂化、萃取、浓缩等操作, 这些操作过程不仅会使样品中 β-胡萝卜素损失, 还会增加实验成本、耗费实验时间[7]。拉曼光谱技术是一种“分子指纹”技术, 利用物质之间分子结构不同, 其对激光照射后的拉曼散射不同, 从而具有特有的拉曼光谱[8]。目前拉曼光谱技术已经广泛应用于食品中营养物质的检测, 其中包括类胡萝卜素的拉曼光谱研究[9]。袁玉峰等[10]利用拉曼镊子技术定性分析红酵母胞内类胡萝卜素, 并结合紫外检测方法进行了定量分析。孙美娇等[11]比较了 0~0.6 GPa 压强下 β-胡萝卜素的水溶液和二硫化碳溶液拉曼光谱的拉曼频移和半高宽等特性。赵金涛等[12]采集树叶中 β-胡萝卜素的一级拉曼光谱和二级拉曼光谱, 对比发现了两者的倍频和和频关系。虽然前人已经对 β-胡萝卜素有了一些研究, 但是定量检测新鲜胡萝卜中 β-胡萝卜素的相关报道较少。

本研究基于实验室自行搭建的点扫描拉曼系统, 以市售胡萝卜为研究对象, 建立胡萝卜中 β-胡萝卜素的定量预测模型, 实现胡萝卜中 β-胡萝卜素的快速、无损定量预测, 为果蔬中 β-胡萝卜素含量的定量检测提供技术支撑。

2　材料与方法

2.1　试验材料

实验室自行搭建的拉曼光谱点扫描系统, 主要包括分辨率为 1024×256 像素的 16 位高性能光电荷耦合器件 CCD 相机(英国 Andor 公司)、双模态 785 nm 激光器(美国 IPS 公司)、光谱仪(美国 Headwall 公司)以及三维平移台等。

胡萝卜样品: 分别购于北京市各大超市, 全部是室温销售的新鲜整根胡萝卜, 样品包括市售普通胡萝卜 5 根、有机胡萝卜 8 根和水果胡萝卜 3 根, 其中有机胡萝卜和水果胡萝卜样品在销售过程中包裹在保鲜膜内。所有样品用去离子水洗净表面后晾干待用。

2.2　试验方法

光谱采集: 将胡萝卜样品用铁夹夹持在三维平移台上, 使胡萝卜样品表面与探头的距离保持 6 mm 不变, 设置激光功率为 450 mW, 相机曝光时间为 9s, 用实验室自行编写的点扫描拉曼光谱软件, 设置扫描路径使胡萝卜样品在长度方向上每隔 1 cm 进行点扫描, 获得的光谱以.asc 的格式保存在指定文件夹中, 每个样品的扫描时间约为 1 min。

β-胡萝卜素标准理化值测定: 采集光谱后的胡萝卜送检至 PONY 谱尼测试食品实验室(北京), 参照国家标准[13]中采用高效液相色谱法对每个样品进行 β-胡萝卜素的含量检测。

3　结果与分析

3.1　光谱预处理

拉曼光谱本身存在系统噪音, 噪音的大小主要受 CCD 相机的温度、激发光源光强的漂移、激光器的功率稳定性等因素的影响[14]。为尽量避免系统噪音带来的误差, 提高拉曼光谱信息的有效性, 首先需要去除噪音。Savizky-Golay 卷积平滑法是对移动窗口内数据应用多项式进行最小二乘拟合。本研究采用 S-G 5 点平滑法对采集的所有拉曼光谱进行去噪音处理。

图 1 为一个样品经过 S-G 5 点平滑前后的光谱图, 为更清晰直观地观察其平滑效果, 截取了拉曼位移在 1000~1250 cm^{-1} 这个波段范围。S-G 5 点平滑去除了大部分的系统噪音, 使得光谱曲线较为平滑, 并完整保存了胡萝卜样品的特征拉曼位移。

另外, 胡萝卜样品本身存在较强的荧光背景, 影响拉曼特征峰峰强等有效信息的提取, 因此将平滑之后的拉曼光谱再进行去除荧光背景的处理[15]。本研究选用 Baseline(Automatic Whittaker Filter)方法去除荧光背景, 它是基线校正荧光背景的一种方法。图 2 所示 Baseline(Automatic Whittaker Filter)方法能够完整保留样品原始拉曼光谱里胡萝卜样品的两个拉曼特征峰, 并且提高了拉曼峰的对比度和辨识度。

本研究中所有样品拉曼光谱曲线均先采用 Savizky-Golay 5 点平滑法去噪后再用 Baseline(Automatic Whittaker Filter)方法进行去除荧光背景预处理, 最后进行平均作为样品的拉曼光谱曲线。

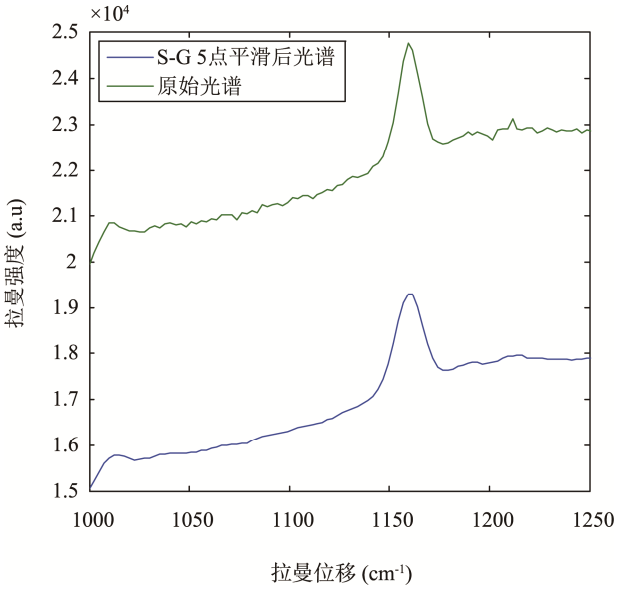

图 1 单根胡萝卜样品经过 S-G 5 点平滑前后的光谱图

Fig. 1 Spectrogram of a single carrot sample before and after theS-G 5 point smoothing

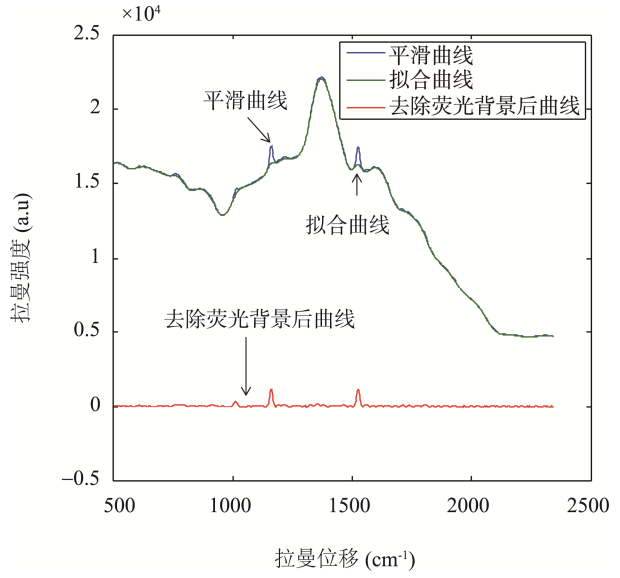

图 2 Baseline 去除荧光背景效果图

Fig. 2 The effect of removing the fluorescence background by Baseline method

3.2 β-胡萝卜素拉曼特征峰的确定

β-胡萝卜素是由 8 个异戊二稀基本单位构成的碳氧化合物的氧化衍生物，含有多个共轭双键，化学结构式如图 3 所示。

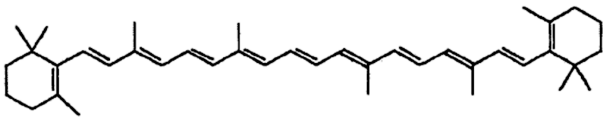

图 3 β-胡萝卜素化学结构式

Fig. 3 Chemical structure of beta carotene

一般活体植物中 β-胡萝卜素分子的拉曼信号较为明显，最强的 4 个拉曼特征峰为 1521、1156、1005、964 cm^{-1}[12,16]，其中 1521 cm^{-1} 与 β-胡萝卜素分子中多烯链的 C=C 键的伸缩振动有关，1156 cm^{-1} 则归因于共轭多烯链振动，1521 cm^{-1} 和 1156 cm^{-1} 处拉曼特征峰与 β-胡萝卜素分子的分子结构相关，而 1005 cm^{-1} 和 964 cm^{-1} 与 β-胡萝卜素分子的对称性和电子的分配有关，反映了-CH 基团的弯曲振动程度。基于实验室自行搭建的点扫描拉曼系统采集的所有胡萝卜样品的经过预处理的拉曼光谱如图 4 所示，其中 1521 cm^{-1}、1156 cm^{-1} 处出现了明显的 β-胡萝卜素拉曼特征峰。因此本研究以 1521 cm^{-1} 和 1156 cm^{-1} 处拉曼频移作为新鲜胡萝卜中 β-胡萝卜素分子的拉曼特征峰。

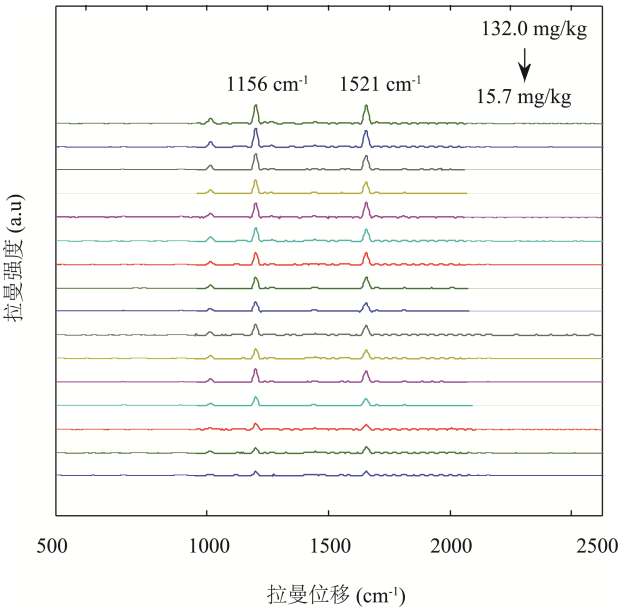

图 4 16 个胡萝卜样品经过预处理的拉曼光谱图

Fig.4 Pretreated Raman spectrograms of 16 carrot samples

3.2 β-胡萝卜素标准理化值的测定结果

按照国家标准 GB/T 5009.83-2003 中高效液相色谱法测定胡萝卜样品中的 β-胡萝卜素含量如表 1 所示，3 种胡萝

表 1 胡萝卜中 β-胡萝卜素含量的标准理化值测定结果

Table 1 Standard physical and chemical values of beta carotene content in carrots

种类	有机胡萝卜			普通胡萝卜			水果胡萝卜		
	最大值	最小值	平均值	最大值	最小值	平均值	最大值	最小值	平均值
β-胡萝卜素含量(mg/kg)	132.0	73.8	93.0	77.0	51.1	63.9	27.6	15.7	20.2

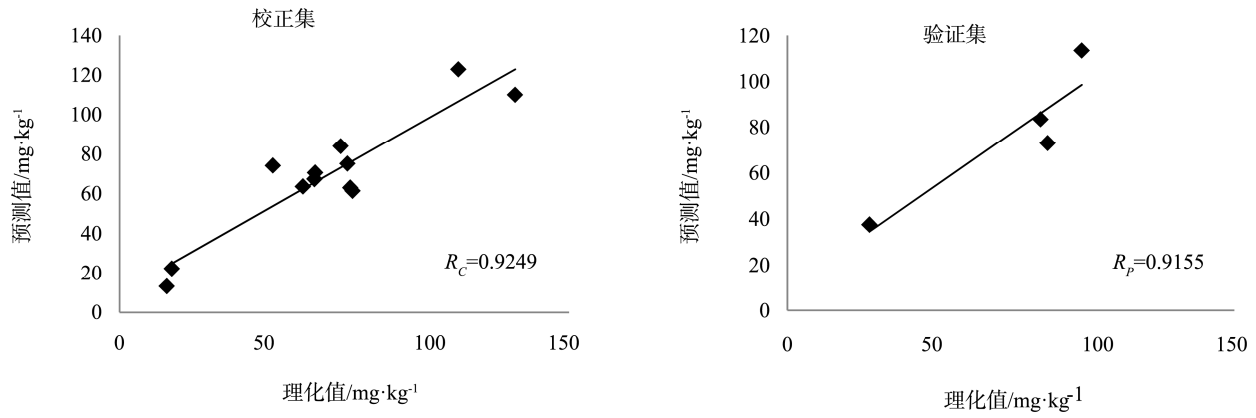

图 5　β-胡萝卜素多元线性回归模型预测结果

Fig. 5　Prediction results of multiple linear regression model of beta carotene

卜中, 市售有机胡萝卜的 β-胡萝卜素含量最多, 平均含有 93.0 mg/kg(鲜重, 下同), 水果胡萝卜中 β-胡萝卜素含量最少, 平均含有 20.2 mg/kg。所有胡萝卜样品中, β-胡萝卜素含量最大值和最小值分别为 132.0 mg/kg 和 15.7 mg/kg, 极差为 116.3 mg/kg, 样品之间离散程度和差异性大, 保证之后建立的 β-胡萝卜素含量预测模型的适应范围大。

3.3　胡萝卜中 β-胡萝卜素含量预测模型的建立

如图 4 所示, 胡萝卜样品的拉曼光谱中特征峰并不丰富, 只有明显的 β-胡萝卜素的两个拉曼特征峰, 其他拉曼位移处较为平缓, 在建立预测模型时除 1521 cm^{-1} 和 1156 cm^{-1} 处的两个拉曼特征峰, 其余拉曼位移信息没有较大意义。β-胡萝卜素在 1521 cm^{-1} 和 1156 cm^{-1} 处的两个拉曼特征峰强随着胡萝卜中 β-胡萝卜素含量的增多而增强, 呈现明显的正相关关系。由此可见, 多元线性回归(MLR)方法可以直接利用胡萝卜拉曼特征位移处有效信息, 尤其适用于新鲜胡萝卜中 β-胡萝卜素含量预测模型的建立。

将 16 个样品按 3:1 的比例随机划分为校正集和验证集, 在校正集 12 个样品中选取 β-胡萝卜素 1521 cm^{-1} 和 1156 cm^{-1} 两个特征峰强, 用多元线性回归方法建立了 β-胡萝卜素含量预测模型, β-胡萝卜素二元线性回归模型为 Y=-7.286+0.1283X_1-0.0805X_2, 其中 Y 为 β-胡萝卜素含量, X_1 和 X_2 分别为 β-胡萝卜素 1521 cm^{-1} 和 1156 cm^{-1} 处两个拉曼特征峰的峰强。验证集共 4 个样品用于验证模型的精确度和适用性, 校正集和预测集的预测结果如图 5 所示。模型校正集和验证集的相关系数 R_C、R_P 分别为 0.9249 和 0.9155, 校正集和验证集均方根误差分别为 12.04 mg/kg 和 11.47 mg/kg。结果表明基于拉曼光谱完全可以实现新鲜胡萝卜中 β-胡萝卜素含量的检测。

4　结　论

本研究基于实验室自行搭建的拉曼点扫描系统, 以市售新鲜胡萝卜为研究对象, 在胡萝卜长度方向每隔 1 cm 对胡萝卜进行了点扫描。样品点扫描拉曼光谱曲线均先采用 Savizky-Golay 5 点平滑法去噪后再用 Baseline 方法进行去除荧光背景预处理后, 进行平均作为样品的拉曼光谱。胡萝卜中的 β-胡萝卜素标准理化值按照国家标准高效液相色谱法进行测定, 并与 1521 cm^{-1} 和 1156 cm^{-1} 处 β-胡萝卜素的拉曼特征峰强建立了多元线性回归模型。模型校正集的相关系数(R_C)和均方根误差(RMSEC)分别为 0.9249 和 12.04 mg/kg, 验证集的相关系数(R_P)和均方根误差(RMSEP)分别为 0.9155 和 11.47 mg/kg。结果表明, 基于拉曼光谱完全可以实现新鲜胡萝卜中 β-胡萝卜素含量的检测, 为新鲜果蔬中 β-胡萝卜素含量的定量检测提供技术支撑。

参考文献

[1] 刘友序, 蔡国瑞, 杨秀丽, 等. 盐藻中提取天然 β-胡萝卜素的研究[J]. 盐业与化工, 2014, 12: 12–14.
Liu YX, Cai GR, Yang XL, *et al*. Study on extraction of natural beta carotene from salt algae [J]. J Salt Chem Ind, 2014, 12: 12–14.

[2] 夏薇, 陈新志. 烟叶中 β 胡萝卜素的分离纯化和测定[J]. 色谱, 2004, 1: 54–56.
Xia W, Chen XZ. Separation, purification and determination of beta carotene in tobacco leaves [J]. Chin J Chromatogr, 2004, 1: 54–56.

[3] 郑群雄, 杜美霞, 徐小强, 等. 高效液相色谱法测定 15 种蔬菜中的 β-胡萝卜素[J]. 食品科学, 2012, 14: 238–241.
Zheng QX, Du MX, Xu XQ, *et al*. Determination of β-carotene in 15 kinds of vegetables by high performance liquid chromatography [J]. Food Sci, 2012, 14: 238–241.

[4] 卢红梅, 梁逸曾. 高效液相色谱法测定食物中的类胡萝卜素[J]. 色谱, 2005, 23(1): 57–62.
Lu HM, Liang YZ. Determination of carotenoids in foods by high performance liquid chromatography [J]. Chin J Chromatogr, 2005, 23(1): 57–62.

[5] 王莉, 张燕. 胡萝卜素的柱层析法测定[J]. 食品研究与开发, 2000, (4): 38–39.
Wang L, Zhang Y. The determination of carotene by column

chromatography [J]. Food Res Dev, 2000, (4): 38–39.

[6] 王东晖, 田世龙, 朱友春, 等. 纸层析法测定植物样品胡萝卜素含量[J]. 甘肃农业科技, 2002, (4): 45–46.
Wang DH, Tian SL, Zhu YC, *et al*. Determination carotene content of plant sample by paper chromatography [J]. Gansu Agric Sci Technol, 2002, (4): 45–46.

[7] 朱秀灵, 车振明, 唐洁, 等. 几种 *β*-胡萝卜素测定方法比较研究[J]. 食品研究与开发, 2004, 25(5): 126–128.
Zhu XL, Che ZM, Tang J, *et al*. Study on several methods for determination of *β*-carotene [J]. Food Res Dev, 2004, 25(5): 126–128.

[8] Li-Chan ECY. The applications of Raman spectroscopy in food science [J]. Trend Food Sci Technol, 1996, 7: 361−370.

[9] 刘宸, 黄文倩, 王庆艳, 等. 拉曼光谱在食品无损检测中的应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, (8): 2981–2987.
Liu Ch, Huang WQ, Wang QY, *et al*. Application of Raman spectroscopy technique in food non-destructive determination [J]. J Food Saf Qual, 2015, (8): 2981–2987.

[10] 袁玉峰, 陶站华, 刘军贤, 等. 拉曼镊子分析红酵母合成类胡萝卜素[J]. 光谱学与光谱分析, 2011, 4: 1001–1005.
Yuan YF, Tao ZH, Liu JX, *et al*. Raman Tweezers-Based analysis of carotenoid synthesis in rhodotorulaglutinis [J]. Spectrosc Spect Anal, 2011, 4: 1001–1005.

[11] 孙美娇, 李硕, 刘天元, 等. 溶液中 *β* 胡萝卜素的共振拉曼光谱性质的研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2015, 7: 1904–1907.
Sun MJ, Li S, Liu TY, *et al*. Resonance Raman spectral properties studies of *β*-carotene in solution [J]. Spectrosc Spect Anal, 2015, 7: 1904–1907.

[12] 赵金涛, 张鹏翔, 徐存英. 活体植物中 *β*-胡萝卜素分子的二级拉曼散射谱[J]. 光谱学与光谱分析, 2002, 5: 790–792.
Zhao JT, Zhang PX, Xu CY. Secondary Raman spectrum of *β*-carotene molecule in living leaf of french phoenix tree [J]. Spectrosc Spect Anal, 2002, 5: 790–792.

[13] GB/T 5009.83-2003 食品中胡萝卜素的测定[S].
GB/T 5009.83-2003 Determination of carotene in foods [S].

[14] 姜承志. 拉曼光谱数据处理与定性分析技术研究[D]. 长春: 中国科学院大学, 2014.
Jiang CZ. Study on data processing and qualitative analysis of Raman spectroscopy [D]. Changchun: University of the Chinese Academy of Sciences, 2014.

[15] 陈珊, 李晓宁, 梁逸曾, 等. 拉曼光谱的荧光背景扣除及其用于药物聚类分析[J]. 光谱学与光谱分析, 2010, 30(8): 2157–2160.
Chen S, Li XN, Liang YZ, *et al*. Raman spectroscopy fluorescence background correction and its application in clustering analysis of medicines [J]. Spectrosc Spect Anal, 2010, 30(8): 2157–2160.

[16] 田艳杰. Beta-胡萝卜素的共振拉曼散射及其荧光增强受激拉曼散射研究[D]. 长春: 吉林大学, 2007.
Tian YJ. Study on the resonance Raman scattering of *β*-carotene and the enhancement on stimulated Raman scattering by its fluorescene [D]. Changchun: Jilin University, 2007.

(责任编辑: 白洪健)

作者简介

杨　宇, 硕士, 主要研究方向为拉曼无损检测技术。
E-mail: yangyu0227@126.com

李永玉, 副教授, 博士生导师, 主要研究方向为农畜产品光学无损快速检测技术。
E-mail: yyli@cau.edu.cn