

近红外漫反射光谱法快速检测胶原肽粉中 低聚肽含量

李宗朋, 郑 淼, 李子文, 蒋 峰, 田语堂, 张少博, 孟 镇, 王 健*

(中国食品发酵工业研究院有限公司, 北京 100016)

摘 要: **目的** 建立近红外漫反射光谱法(near infrared reflectance spectroscopy, NIRS)快速检测胶原肽粉核心功效成分低聚肽含量的分析方法。**方法** 基于径向基神经网络(radial basis function neural network, RBFNN)的方法, 分析比较了多元散射校正(multiple scatter calibration, MSC)、标准正态变换(standard normal variation, SNV)的光谱预处理方法, 分别结合了主成分分析(principal component analysis, PCA)、独立成分分析(independent component analysis, ICA)的方法提取特征信息, 优化输入变量、扩展系数等参数, 建立了低聚肽含量的检测模型, 同时为了比较方法优劣, 也建立了相应的偏最小二乘方法(partial least squares, PLS)模型。**结果** 非线性建模方法 RBFNN 比线性 PLS 方法模型效果更好, 与常用的 PCA-RBFNN 模型相比, 本研究采用的 ICA-RBFNN 模型结果更准确, 模型独立验证集的相关系数 R 是 0.87, 预测标准偏差(root mean square error of prediction, RMSEP)是 1.71%。**结论** 所建立的模型准确度高, 适用于胶原肽粉低聚肽含量的快速高效分析。**关键词:** 近红外漫反射光谱法; 低聚肽含量; 径向基神经网络; 主成分分析; 独立成分分析

Rapid determination of oligopeptides content in collagen peptide powder by near infrared reflectance spectroscopy

LI Zong-Peng, ZHENG Miao, LI Zi-Wen, JIANG Feng, TIAN Yu-Tang,
ZHANG Shao-Bo, MENG Zhen, WANG Jian*

(China National Research Institute of Food & Fermentation Industries Co., Ltd., Beijing 100016, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the rapid determination of the core functional components oligopeptides content of collagen peptide powder by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). **Methods** Radial basis function neural network (RBFNN) was adopted to establish the NIRS detection models, the spectral preprocessing methods were compared between multiple scatter calibration (MSC) and standard normal variate (SNV). Principal component analysis (PCA) and independent component analysis (ICA) were combined to extract feature information, optimize input variables, expansion coefficient and other parameters, and establish the detection model of oligopeptide content. At the same time, in order to compare the advantages and disadvantages of the method, the corresponding partial least squares (PLS) model was also established. **Results** The nonlinear RBFNN models were better than the essentially linear PLS model and the proposed ICA-RBFNN was more efficient than the

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFE0196600)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Program of China (2018YFE0196600)

*通信作者: 王健, 教授级高级工程师, 主要研究方向为食品快速无损检测、食品生产过程质量与安全控制。E-mail: 81214112@qq.com

*Corresponding author: WANG Jian, Professor, China National Research Institute of Food & Fermentation Industries Co., Ltd., No.24, Jiuxianqiao Middle Road, Chaoyang District, Beijing 100016, China. E-mail: 81214112@qq.com

conventional PCA-RBFNN. the correlation coefficient (R) and the root mean square error of prediction (RMSEP) of the model was 0.87 and 1.71%, respectively. **Conclusion** The established model is accurate and the NIRS method is promising for determination the oligopeptides of collagen peptide powder quickly and efficiently.

KEY WORDS: near infrared reflectance spectroscopy; oligopeptides content; radial basis function neural network; principal component analysis; independent component analysis

0 引言

胶原是一类具有独特三螺旋结构的功能蛋白,广泛存在于结缔组织中,一般是从猪、牛、驴等哺乳动物以及海洋水产品的皮、骨中提取^[1-2]。胶原肽是胶原蛋白降解的产物,分子量更小、易吸收,具有降脂降压、预防骨质疏松、延缓衰老、提高免疫力等作用^[3-4]。随着近年来营养健康产业的发展,胶原肽在食品、饮料、医药、美容等领域得到广泛应用,需求量在逐年上涨^[5]。然而目前市场上的胶原肽产品品种纷杂、制备工艺不同、水解程度不一,导致其核心功效成分低聚肽含量的差异较大^[6-7]。而传统的低聚肽含量检测方法需要氨基酸分析、凯氏定氮等方法结合^[8],操作过程复杂、测量周期较长,亟需一种快速、准确的方法。

近红外光谱技术具有分析速度快、检测效率高、操作简单、样品无需预处理等优点,已广泛应用于食品、农产品、医药、化工等行业中^[9-11]。偏最小二乘法(partial least square, PLS)是近红外定量分析中最常用的建模方法,但是固态样品的近红外漫反射光谱(near infrared reflectance spectroscopy, NIRS)和分析指标间通常会存在非线性关系,而 PLS 作为一种线性建模方法,数据中非线性关系的存在会干扰 PLS 模型的准确性^[12]。

人工神经网络(artificial neural network, ANN)是一种应用广泛的非线性建模方法,是模拟人类大脑的结构而提出的^[13]。其中,径向基神经网络(radial basis function neural network, RBFNN)由于其训练快速、结构简单、稳定性好等特点而备受关注^[14],而目前该方法在胶原肽粉检测中的应用研究未见报道。本研究将近红外漫反射光谱法和径向基神经网络相结合,采用主成分分析(principal component analysis, PCA)、独立成分分析(independent component analysis, ICA)等方法优化输入变量,建立低聚肽含量的测定模型,为胶原肽粉中低聚肽含量的快速检测提供方法参考和重要依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与设备

胶原肽粉样品:共收集样品 108 个,密封包装,采集自市场不同企业生产的产品。

QSY-II型凯氏定氮仪(北京强盛分析仪器制造中心);

835-50 型氨基酸分析仪(日本日立公司); GSY-II电热恒温水浴锅(北京市医疗设备厂); LG0-2.4A 型高速离心机(北京医用离心机厂); N500 傅里叶变换近红外光谱仪(瑞士 BUCHI 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 近红外漫反射光谱采集

采用 N500 傅里叶变换近红外光谱仪采集样品漫反射光谱,仪器光源为卤钨灯,检测器为钢镓砷,配有固体测量池和样品杯。

室温下,样品放入样品杯中,轻轻摇晃使其均匀分布。利用配套软件 NIRWare Operator 采集样品的漫反射谱图信息,采集范围为 4000~10000 cm^{-1} ,分辨率为 8 cm^{-1} ,扫描次数为 32 次,光谱以吸光度 $\log(1/R)$ 形式存储,为保证准确性,取 3 次测量的平均光谱作为样品的最终光谱。

1.2.2 低聚肽含量测定

样品中低聚肽含量测定的具体方法参考 GB/T 22729—2008《海洋鱼低聚肽粉》,计算方法如公式(1),

$$x(\%)=x_1(\%)-x_2(\%) \quad (1)$$

式中, x 是低聚肽含量,%; x_1 是酸溶蛋白水解物含量,%;蛋白质的测定采用凯氏定氮法; x_2 是游离氨基酸含量,%;采用氨基酸自动分析仪法测定。

1.2.3 主成分分析

主成分分析是一种常用的特征提取方法,通过线性变换,采用较少的重构潜变量,即主成分(principal component, PC)最大限度地表征原始光谱信息,避免光谱中信息冗余、重叠的问题^[15]。本研究中用 PCA 的方法对胶原肽粉光谱进行处理,以方差最大原则依次选择 PC,并将选中的 PC 作为后续算法的输入变量。

1.2.4 独立主成分分析

独立成分分析最早提出用于解决盲源信号分离问题,其目的是从混合信号中恢复源信号,即独立成分(independent component, IC),实现源信号的最佳估计,可以将其看作是 PCA 的拓展,ICA 不限制 IC 之间是否正交,而要求互相独立,在图像处理、信号分离、特征提取中广泛应用^[16]。ICA 的基本计算思想可描述为如式(2)的矩阵公式:

$$x=As \quad (2)$$

式中, x 是混合信号阵; A 是混合矩阵; s 代表独立成分 IC。

ICA 算法的目的就是求得分离矩阵 W ,满足公式(3):

$$\hat{s}=Wx \quad (3)$$

式中, \hat{s} 是 s 的估计值。本研究 ICA 的计算方法采用基于负熵最大化的快速 ICA 算法(FastICA)实现,具体计算步骤参

考文献[17]。

1.2.5 径向基神经网络

径向基神经网络由 BROOMHEAD 等^[18]根据大脑皮层神经元局部调节和交叠的感受区域特性, 将 RBF 函数引入神经网络而构建, 其前传、并行和分布式处理特性对解决很多问题尤为可行。RBFNN 是一种三层前向神经网络, 其网络结构如图 1 所示, 第一层为输入层, 由信号源组成, 是对外界不同输入的响应。第二层是隐含层, 将输入层中的变量进行非线性变换, 低维的输入数据变换到高维空间内, 低维空间中的非线性问题转变为高维空间的线性问题, 该层采用的变换函数为 RBF 函数。第三层为输出层, 是隐含层基函数的线性组合, 输出权重优化后的变量值。RBFNN 具有收敛速度快、鲁棒性强、结构简单的特点, 具有唯一最佳逼近特性及更强的非线性匹配和建模能力^[19-20]。

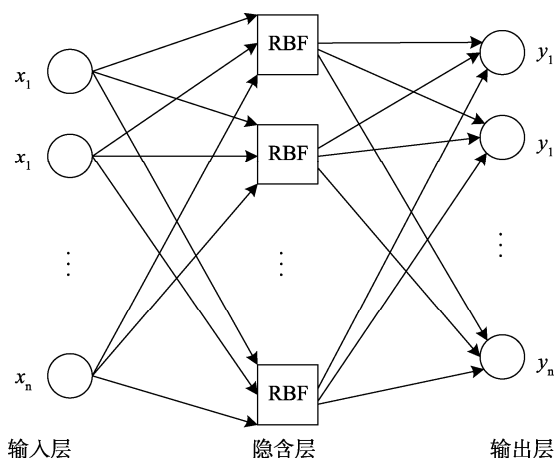


图 1 径向基神经网络的计算结构图

Fig.1 Calculation structure diagram of RBFNN

1.3 模型评价

模型参数的优化采用留一法交叉验证, 即每次留一个样品用于预测, 剩余样品用于建模, 依次循环, 直到所有的样品都被预测 1 次, 并统计交叉验证标准偏差 (root mean square error of cross validation, RMSECV) 作为参数选择依据。优化后的模型统计其相关系数 R 、预测标准偏差 (root mean square error of prediction, RMSEP) 以评估其模型性能。相关系数 R 越大越接近 1, 预测标准偏差 RMSEP 越小, 表示所建立模型的准确度越高, 模型越好。其中, RMSECV 和 RMSEP 的计算公式如公式(4)、(5):

$$\text{RMSECV} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_{pi} - y_{ri})^2}{n}} \quad (4)$$

$$\text{RMSEP} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^m (y_{pi} - y_{ri})^2}{m}} \quad (5)$$

式中, y_p 是样品的模型预测值; y_r 是样品的国家标准方法测定值; n 为校正集样品数; m 为验证集样品数。

1.4 数据处理

本研究中光谱的数据处理、建模分析均在 MATLAB (V7.11, 美国 Mathworks 公司) 平台下完成。

2 结果与分析

2.1 化学分析测定结果

胶原肽粉样品低聚肽含量的统计结果如表 1 所示。数据集是建立模型的基础, 合理地划分校正集和验证集, 可以提高模型的准确性, 扩大模型的适用范围, 本研究采用 SPXY (sample set partitioning based on joint x - y distances) 的方法^[21]以 2:1 的比例, 筛选 72 个样品作为校正集, 其余 36 个样品作为独立的验证集, 不参与模型训练, 用来测试模型效果。从表 1 中可见校正集含量变化范围包含验证集, 且平均值、标准差较为一致, 表明样品集的划分均匀、合理。

表 1 样品中的低聚肽含量

Table 1 Content of oligopeptides of collagen peptide powder

样品集类	最大值/%	最小值/%	平均值/%	标准偏差/%
全部样品 (108)	97.18	77.41	86.20	3.37
校正集样品 (72)	97.18	77.41	86.18	3.33
验证集样品 (36)	93.80	77.48	86.24	3.49

2.2 光谱预处理

采集得到的近红外原始谱图, 不仅包含被测样品的理化信息, 还包括来自仪器、环境等各方面因素产生的噪声信号。固态样品的漫反射光谱测量中常发生光散射现象, 由光散射引起的光谱变化可能掩盖样品本身的光谱信息^[22], 因此有必要对原始谱图进行预处理。多元散射校正 (multiple scatter calibration, MSC) 和标准正态变换 (standard normal variation, SNV) 是常用散射光的数学校正方法。而多元散射校正假定全波段内散射的影响是线性的, 实际情况往往不能满足^[23], 且经过比较分析, 最终选择 SNV 作为光谱预处理方法, 预处理效果如图 2 所示, 可见预处理后减小了谱图漂移, 谱图特征也更加明显。

2.3 径向基神经网络模型的建立

2.3.1 输入层变量的选择

获得的每个样品的光谱由 1501 个吸光度变量组成, 直接作为输入层变量, RBFNN 计算量会很大, 网络会很复杂, 不便于模型训练。为了简化模型结构, 分别采用 PCA 和 ICA 的方法, 将光谱数据的主要信息缩减为有限的主成分或独立成分变量, 提高模型训练效率的同时减少干扰信息的输入。本研究分别采用 PCA 和 ICA 的前 1~10 个成分变量, 分别构建 PCA-RBFNN 和 ICA-RBFNN 模型, 并统计计算 RMSECV 来确定最优变量数, 结果如图 3 所示。

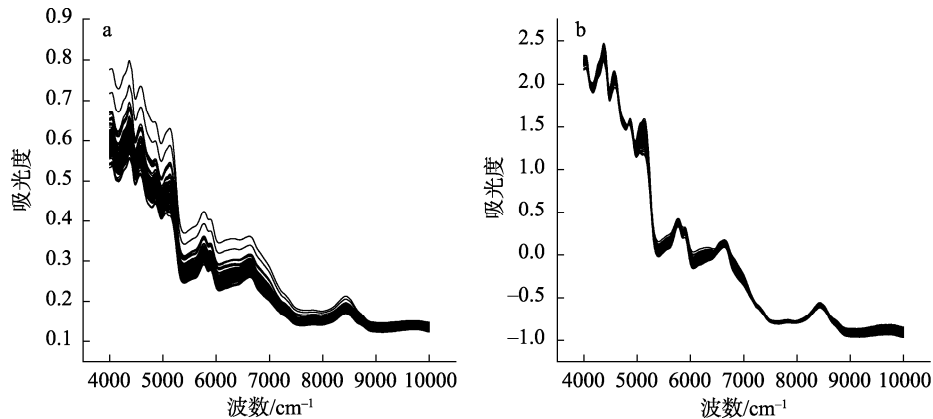


图 2 胶原肽粉近红外原始谱图(a)和 SNV 处理后的谱图(b)

Fig.2 Original spectrum of near infrared reflectance (a) and spectrum after SNV processing (b)

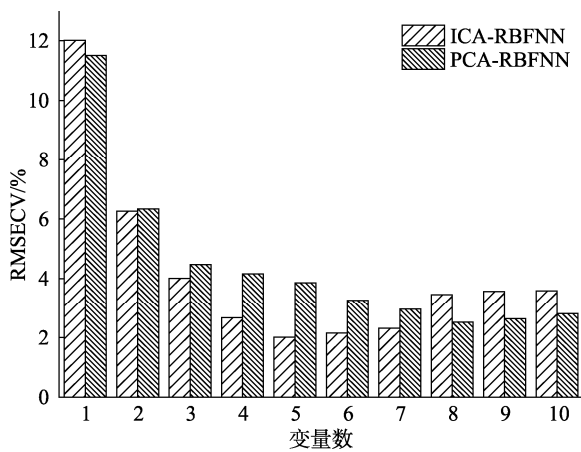


图 3 不同输入层变量数对模型误差的影响

Fig.3 Effects of variable numbers of different input layers on model errors

从图 3 中可以看到, 不论是 PCA 还是 ICA 方法, 变量数对模型误差的影响均是呈现先下降后上升的趋势。当输入变量数不足时, 样品信息提取不够, 模型预测性能较差; 当变量数过多时, 冗余信息增加, 又降低了模型效果。本研究选择 RMSECV 最低点所对应的变量数作为最优输入变量数, 从图 3 中可见, PCA-RBFNN 的输入变量数为 8, ICA-RBFNN 的输入变量数为 5。

2.3.2 扩展常数的选择

扩展常数 spread 的值也是 RBFNN 优化的一个重要参数。spread 的值应该足够大, 使得隐含层 RBF 函数能够对输入空间覆盖的区域都产生响应, 输出网络更平滑并能有更强的泛化能力, 但也不能过大, 导致隐含层不同神经元都产生相同的响应。本研究选取 spread 值在 0.1~2.0 范围内, 考察步长为 0.1 训练的 PCA-RBFNN、ICA-RBFNN 模型的 RMSECV 的变化, 结果如图 4 所示, 从图 4 中可以看出, PCA-RBF 模型 spread 值选择 1.4、ICA-RBFNN 模型选择 0.7 时, 对应的模型 RMSECV 值最小。

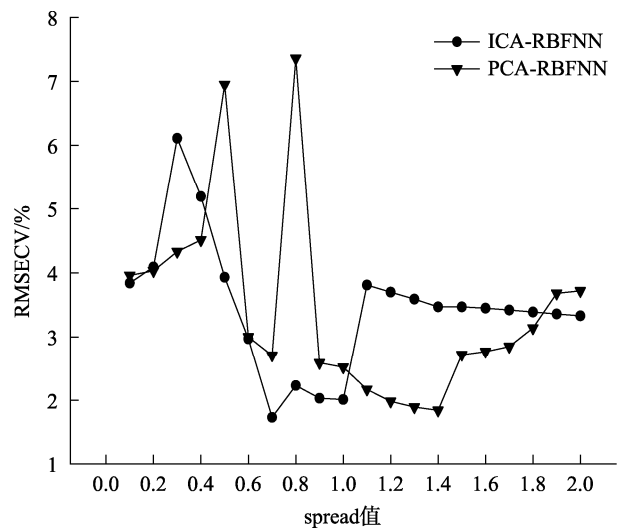


图 4 不同扩展常数 spread 值对模型的影响

Fig.4 Effects of different spread values on models with

2.3.3 模型性能的比较分析

通过参数优化, 得到了胶原肽粉中低聚肽含量 PCA-RBFNN 模型最优输入变量数为 8, spread 值是 1.4, ICA-RBFNN 模型最优输入变量数为 5, spread 值是 0.7, 采用最优参数基于校正集中 72 个样品建立模型, 并预测验证集中 36 个样品。同时为了与经典的线性建模方法比较, 建立了偏最小二乘 PLS 模型, 其最佳因子变量数同样基于 RMSECV 选择。表 2 列出了所建立的各模型的变量数、RMSECV、验证集相关系数(R)、RMSEP。

从表 2 中可以看到, RBFNN 模型与经典的 PLS 模型相比, R 更大, RMSEP 值更小, 表明对于胶原肽粉中低聚肽含量的近红外检测, 非线性模型 RBFNN 的效果好于线性模型 PLS。可能是由于胶原肽样品组分之间的互相干扰, 固体样品散射系数的变化以及测量条件等因素造成光谱信号和分析指标间的关系偏向于非线性, 因而具有更强的容错能力和非线性体系匹配能力的 RBFNN 取得了更好的建模效果。

表 2 胶原肽粉低聚肽含量模型验证的统计结果
Table 2 Statistical results of model validation of oligopeptides content in collagen peptide powder

模型	变量数	RMSECV/%	R	RMSEP/%
PCA-RBFNN	8	1.84	0.80	1.94
ICA-RBFNN	5	1.73	0.87	1.71
PLS	7	2.51	0.73	2.62

与 PCA-RBFNN 模型相比, ICA-RBFNN 模型的 R 是 0.87, RMSEP 是 1.71%, 模型效果更好。PCA 和 ICA 虽然都可以达到数据降维的目的, 但是 PCA 提取出的 PC 只是正交, 而 ICA 采用的 IC 则是要求尽可能的独立。实际光谱信息往往是由若干相对独立的信号源调制而成的, 因此 ICA 方法更符合实际情况^[16]。另外, 根据统计理论, ICA 是一种高阶统计量分析方法, PCA 是一种二阶统计量分析方法, ICA 能包含 PCA 中没有的大量有用的信息^[24]。因此 ICA-RBFNN 方法在处理复杂谱图信息时性能更好, 模型误差更小。应用该模型对校正集和验证集预测的效果如图 5 所示, 标准理化方法的实测值和近红外预测值相关性较好, 模型准确度较高, 且经过成对 t 检验($P=0.34>0.05$), 实测值和预测值无显著差异。

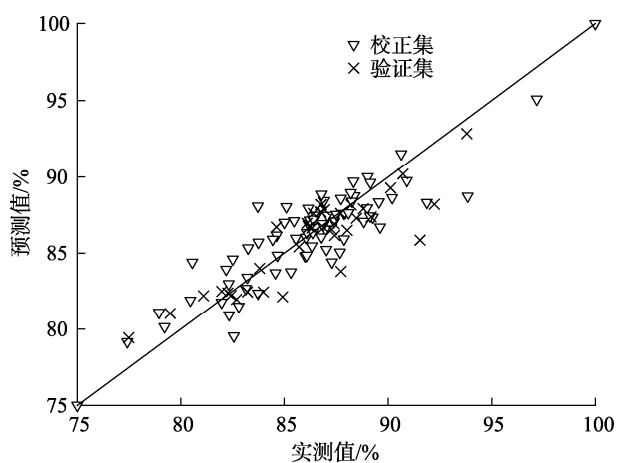


图 5 ICA-RBFNN 低聚肽含量模型的预测值和实测值

Fig.5 Predicted and measured values of ICA-RBFNN oligopeptide content model

3 结论

本研究建立了胶原肽粉中低聚肽含量的近红外漫反射快速检测方法, 比较分析了 PCA-RBFNN 模型、ICA-RBFNN 模型、PLS 模型的建模效果, 验证了该方法用于胶原肽品质控制的可能性, 并得到以下结论:

(1)RBFNN 模型与 PLS 模型相比, 对低聚肽含量的预测偏差更小, 表明在复杂的近红外漫反射光谱的定量分析中, 非线性的人工径向神经网络能比基本的线性模型更

准确地反映光谱和样品间的对应关系。

(2)ICA 与 PCA 相比, 特征信息提取能力更强, 对变量的压缩更有效, 本研究采用的 ICA-RBFNN 结合的方法更具有优势。

参考文献

- [1] 高玲玲, 侯成立, 高远, 等. 胶原蛋白热稳定性研究进展[J]. 中国食品学报, 2018, 18(5): 195–207.
GAO LL, HOU CL, GAO Y, *et al.* Research advances of thermal stability of collagen [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2018, 18(5): 195–207.
- [2] KHONG NMH, YUSOFF FM, JAMILAH B, *et al.* Improved collagen extraction from jellyfish (*Acromitus hardenbergi*) with increased physical-induced solubilization processes [J]. Food Chem, 2018, 251: 41–50.
- [3] COSGROVE MC, FRANCO OH, GRANGER SP, *et al.* Dietary nutrient intakes and skin-aging appearance among middle-aged American women [J]. Am J Clin Nutr, 2007, 86(4): 1225–1231.
- [4] 周婷, 杨恒, 王鑫, 等. 酶解技术提取动物组织中的胶原蛋白及其肽的研究进展[J]. 食品工业科技, 2020, 41(15): 332–338.
ZHOU T, YANG H, WANG X, *et al.* Advances in extraction of collagen and its peptides from animal tissues by enzymatic hydrolysis [J]. Sci Technol Food Ind, 2020, 41(15): 332–338.
- [5] 刘海英. 胶原肽及其产业发展[J]. 食品工业科技, 2016, 37(12): 391–394.
LIU HY. Progress in collagen peptide and its applications [J]. Sci Technol Food Ind, 2016, 37(12): 391–394.
- [6] 林峰, 马勇, 徐亚光, 等. 基于分子质量分布的食源性低聚肽品质评价[J]. 食品与发酵工业, 2008, 34(9): 128–131.
LIN F, MA Y, XU YG, *et al.* Study on the quality evaluation of food-derived oligopeptides based on the molecular weight distribution [J]. Food Ferment Ind, 2008, 34(9): 128–131.
- [7] 胡佳妮, 李勇. 生物活性低聚肽生理功能的研究进展[J]. 中国食物与营养, 2021, 27(6): 48–51.
HU JN, LI Y. Research progress on physiological function of bioactive oligopeptides [J]. Food Nutr China, 2021, 27(6): 48–51.
- [8] 成晓瑜, 张顺亮, 戚彪, 等. 胶原与胶原多肽的结构, 功能及其应用研究现状[J]. 肉类研究, 2011, 25(12): 33–39.
CHENG XY, ZHANG SL, QI B, *et al.* Current situation of research into the structures functions, and applications of collagen and collagen peptides [J]. Meat Res, 2011, 25(12): 33–39.
- [9] 郭志明, 郭闯, 王明明, 等. 果蔬品质安全近红外光谱无损检测研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(24): 8280–8288.
GUO ZM, GUO C, WANG MM, *et al.* Research advances in nondestructive detection of fruit and vegetable quality and safety by near infrared spectroscopy [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(24): 8280–8288.
- [10] PASQUINI C. Near infrared spectroscopy: A mature analytical technique with new perspectives—A review [J]. Anal Chim Acta, 2018, 1026: 8–36.
- [11] CHAPMAN J, ELBOURNE A, TRUONG VK, *et al.* Shining light into meat—A review on the recent advances in *in vivo* and carcass applications of near infrared spectroscopy [J]. Int J Food Sci Technol, 2020, 55(3): 935–941.
- [12] MALLEY DF, YESMIN L, WRAY D, *et al.* Application of near infrared spectroscopy in analysis of soil mineral nutrients [J]. Commun Soil Sci

- Plan, 2008, 30(7-8): 999-1012.
- [13] 褚小立. 化学计量学方法与分子光谱分析技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2011.
CHU XL. Molecular spectroscopy analytical technology combined with chemometrics and its applications [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2011.
- [14] LIU Y, LU C, MENG Q, *et al.* Near infrared spectroscopy coupled with radial basis function neural network for at-line monitoring of *Lactococcus lactis* subsp. fermentation [J]. Saudi J Biol Sci, 2016, 23(1): 106-112.
- [15] 陆婉珍. 现代近红外光谱分析技术(第二版)[M]. 北京: 中国石化出版社, 2007.
LU WZ. Modern near infrared spectroscopy analytical technology (second edition) [M]. Beijing: China Petrochemical Press, 2007.
- [16] 李卫军, 覃鸿, 于丽娜, 等. 近红外光谱定性分析原理、技术及应用[M]. 北京: 科学出版社, 2020.
LI WJ, QIN H, YU LN, *et al.* Qualitative analysis of near infrared spectroscopy: Principles, technologies and applications [M]. Beijing: Science Press, 2020.
- [17] HYVÄRINEN A, OJA E. A fast fixed-point algorithm for independent component analysis [J]. Neural Comput, 1997, 9(7): 1483-1492.
- [18] BROOMHEAD DS, LOWE D. Multivariable functional interpolation and adaptive networks [J]. Comp Syst, 1988, 2(3): 321-355.
- [19] TANG W, YAN W, HE G, *et al.* Dynamic spectrum nonlinear modeling of VIS & NIR band based on RBF neural network for noninvasive blood component analysis to consider the effects of scattering [J]. Infrared Phys Technol, 2019, 96: 77-83.
- [20] WAN C, HARRINGTON PDB. Chem inform abstract: Self-configuring radial basis function neural networks for chemical pattern recognition [J]. Cheminform, 1999, 39(6): 1049-1056.
- [21] GALVAO RKH, ARAUJO MCU, JOSÉ GE, *et al.* A method for calibration and validation subset partitioning [J]. Talanta, 2005, 67(4): 736-740.
- [22] LONG J, WANG K, YANG M, *et al.* Rapid crude oil analysis using near-infrared reflectance spectroscopy [J]. Petrol Sci Technol, 2019, 37(3): 354-360.
- [23] WAN X, LI G, ZHANG M, *et al.* A review on the strategies for reducing the non-linearity caused by scattering on spectrochemical quantitative analysis of complex solutions [J]. Appl Spectrosc Rev, 2020, 55(5): 351-377.
- [24] CAO LJ, CHUA KS, CHONG WK, *et al.* A comparison of PCA, KPCA and ICA for dimensionality reduction in support vector machine [J]. Neurocomputing, 2003, 55(1-2): 321-336.

(责任编辑: 于梦娇 郑 丽)

作者简介



李宗朋, 工程师, 主要研究方向为食品质量快速检测及控制技术。
Email: zgpglee@qq.com



王 健, 教授级高级工程师, 主要研究方向为食品快速无损检测、食品生产过程质量与安全控制。
Email: 81214112@qq.com