

以可見光／近紅外線光譜鑑別國產 冷藏與進口冷凍再解凍雞腿

周震煌¹，周瑞仁²，蕭介宗³

1. 國立台灣大學生物產業機電工程學研究所博士候選人
2. 國立台灣大學生物產業機電工程學研究所教授
3. 國立台灣大學生物產業機電工程學研究所教授，本文通訊作者

摘 要

以 FOSS NIRSystem 6500 近紅外線光譜儀的外接光纖探針，擷取波長從 400 到 2200 nm 之 45 支國產冷藏與進口冷凍再解凍雞腿距離骨柄 5cm 處的光譜值，用 Unscrambler 軟體的部份最小平方迴歸(PLSR)法，配合虛擬迴歸技術(Dummy regression techniques)，在不同波段與分類規範，以各種變數數量建立 9 種校正模式，鑑別國產冷藏與進口冷凍再解凍雞腿之平均鑑別率從 76.7 % 到 93.3 %，最好驗證率是以 Matlab 的“stepwisefit”功能所選出的 17 個變數（波長對應的吸光值），可以 100% 驗證出進口冷凍再解凍雞腿，而國產冷藏雞腿的鑑別率則為 86.7%，最好的平均鑑別率為 93.3%。

關鍵詞：近紅外線光譜、雞腿、鑑別率、冷凍再解凍

DISCRIMINATION OF THE DOMESTIC CHILLED STORAGE AND THE IMPORTED FROZEN-THAWED CHICKEN THIGHS USING VISIBLE/NEAR-INFRARED SPECTROSCOPY

Chen-Huang Chou¹, Jui-Jen Chou², Jai-Tsung Shaw³

1. *Ph.D. Candidate, Bio-Industrial Mechatronics Engineering, National Taiwan University.*
2. *Professor, Bio-Industrial Mechatronics Engineering, National Taiwan University.*
3. *Professor, Bio-Industrial Mechatronics Engineering, National Taiwan University, Corresponding Author.*

ABSTRACT

From 400 to 2200 nm with 2 nm interval, an extension fiber optic probe of FOSS NIRSystem 6500 was used to measure the absorbance of chicken thighs at 5 cm from the end of Tibia bone. Partial least square regression of Unscrambler software with dummy regression was applied to establish 9 calibration models under different

wavelength ranges and criteria with different variables. Using the established models, the average discrimination rate varies from 76.7 % to 93.3 %. Using 17 variables (absorbance corresponding to the wavelength) selected by the "stepwise fit" function of Matlab 7.0, discrimination rates are 100% for the imported frozen-thawed chicken thighs and 86.7% for the domestic chilled storage chicken thighs. The best average overall discrimination rate is 93.3%.

Keywords: Near infrared spectroscopy, Chicken thigh, Discrimination rate, Frozen-thawed

一、前言

台灣地區每人每年雞肉消費量為31.75公斤，僅次於豬肉的40.16公斤(台灣養豬手冊，2002)。在超市的光線下，如果沒有清楚的標示，一般消費者很難區分進口的冷凍再解凍雞腿與國產冷藏雞腿。為防止不肖廠商將低價的進口冷凍再解凍雞腿充當高價的國產冷藏雞腿出售，及維護消費者權益和市場秩序，有必要建立一套快速、非破壞性、客觀且無化學污染的檢測方法。

雞肉之化學成分及組織結構會受到雞隻的生長環境與餵食條件的影響，以及屠體宰殺後若非溫體直接供應到市場，常需低溫急速冷凍到零下18~20°C以保持其新鮮度(林，2002)，但高含水率肉品因冷凍所產生的冰晶生成，會間接導致肉品生化與物理性質的改變。針對新鮮與冷凍再解凍雞肉的鑑別，可藉量測酵素的反應強度(Elberbroek et al., 1995)、酵素結合免疫吸附法(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)(Salfi and Portanti, 1998)，以及中波紅外線光譜分析法(Al-Jowder et al., 1997)。而使用近紅外光反射光譜分析儀(Near-infrared reflectance spectroscopy; NIRS)檢測，有樣品準備簡單快速的優點而被廣泛應用在農產品的非破壞性檢測，如果汁糖度的檢測(陳等人，1998)，稻米的成分與食味檢測(李，1998)，水稻品種的鑑別(張等人，2000)，飼料夾雜物鑑別(王，2001)，中藥鑑定(楊，2001)，豬肉新鮮度指標的建立(蕭等人，2004)，肉品成分的檢測(Lanza, 1983; Sasaki and Ozawa, 1989)，新鮮與冷凍後解凍之牛肉的分類(Downey and Beauchene, 1997)，肉雞和土雞的分類(Ding et al., 1999)，雞隻屠體之線上分類(Chen et al., 1996)，

及用絞碎豬肉的蒸餾水萃取液來分類(蕭等人，2005)。

本研究結合可見光/近紅外線光譜分析儀，直接擷取雞腿表面的光譜值，以及利用CCD攝影機擷取雞腿表面的紅色光度值(R)、綠色光度值(G)和藍色光度值(B)，再利用光譜及影像分析軟體的協助，在不同波段與分類規範，以各種變數建立9種校正模式，鑑別國產冷藏與進口冷凍再解凍雞腿之可行性。

二、材料與方法

(一)雞腿的來源與前處理

國產49支雞腿分批購自基隆與台北市的松青和頂好超市，包裝盒上明顯標示“國產棒棒腿”，均在3天有效保存期限內，進口47支雞腿則分批購自台北市遠東愛買和家樂福超市，包裝盒上明顯標示“美國棒棒腿”，也在3天之有效保存期限內。雞腿放在24~26°C實驗室約30分鐘，並用紙巾擦去雞腿表面的水份，供光譜分析儀擷取雞腿表面的光譜值及CCD攝影機擷取RGB值之用。

(二)酸鹼度 pH 值的量測

在測量前先進行 pH meter (Suntex TS-1 手提式酸鹼度計)的校正，再以玻璃電極直接接觸雞腿距離骨柄5 cm處的表皮位置，讀取 pH 值。

(三) RGB 值之擷取

影像處理係將雞腿外側如圖1之Pt1點處以利刀含皮切出，並置入內徑44 mm、深9 mm的

黑色樣品杯後置於自行組裝的暗室中，以可輸出 RGB 訊號或 NTSC (National television standards committee, USA) 複合彩色視訊的 Watec CCD (Charge-coupled device) 攝影機取像，感光元件的解析度為 NTSC-512×512 像素點，影像擷取卡 PXC200 之解析度為 NTSC-640×480 像素點。以 Matlab 6.1 軟體及自行撰寫影像處理程式進行分析，每一灰階光度值介於 1 到 256 之間，1 代表全黑，256 代表全白，而針對每一樣本均任意旋轉三個不同的角度取像，取得雞腿樣本表面之平均紅色光度值(R)、平均綠色光度值(G)及平均藍色光度值(B)，再分別輸出 RGB 三個光度值，取三次光度值的平均供統計分析使用。

四 光譜值的擷取、處理與資料分析

雞腿光譜值之擷取係採用 FOSS NIRSystem 6500 光譜分析儀(NIRSystems, Inc., Silver Spring, MD, USA)之外接光纖探針，為避免外來光源影響實驗的結果，在探針的前端設計加裝一直徑 4.5 公分、高 3.0 公分的黑色塑膠套筒，不但消除外來光源的影響，同時確保探針觸放在雞腿量測點上能有較均勻的壓力。光譜分析儀的有效波長範圍從 400 nm 到 2500 nm，涵蓋可見光(400~750 nm)與中波紅外光(Mid-infrared, 750~1100 nm)到近紅

外光(Near infrared, 1100~2600 nm)，但波長超過 2200 nm 以上有非常明顯的雜訊(Noise)，本研究只取 400~2200 nm 的波長範圍，且每隔 2 nm 輸出一個吸光值(Absorbance)作為分析。每支雞腿擷取 3 個標定位置的光譜值，如圖 1 的 Pt1 點帶皮，Pt2 點帶皮與 Pt3 點不帶皮 (Pt2 之去皮肌肉)，並將所取得的吸光值以文字格式輸出供進一步分析之用。

將自 FOSS NIRSystem 6500 光譜分析儀所取得的吸光值文字資料，以 Microsoft Excel 讀取，並作初步的統計分析，包括國產冷藏(Domestic, D)與進口冷凍再解凍(Imported, I)雞腿上每一量測點之吸光值的平均值(Mean)與標準差(Standard deviation, SD)，並將吸光值超過 3 個標準差的樣品視為離群值(Outlier)而加以去除，進而計算國產冷藏與進口冷凍再解凍雞腿在不同量測點的馬氏距離(Mahalanobis distance)，以及就國產冷藏與進口冷凍再解凍雞腿的 pH 值、RGB 光度值和光譜吸光值進行變異數分析(Analysis of variance, ANOVA)。

將去除離群值後的樣本光譜值隨機取三分之二 (Irudayaraj and Sivakesava, 2001)，共含國產與進口雞腿各 30 組樣本光譜值當訓練組；其餘三分之一，包括國產冷藏與進口冷凍再解凍雞腿各 15

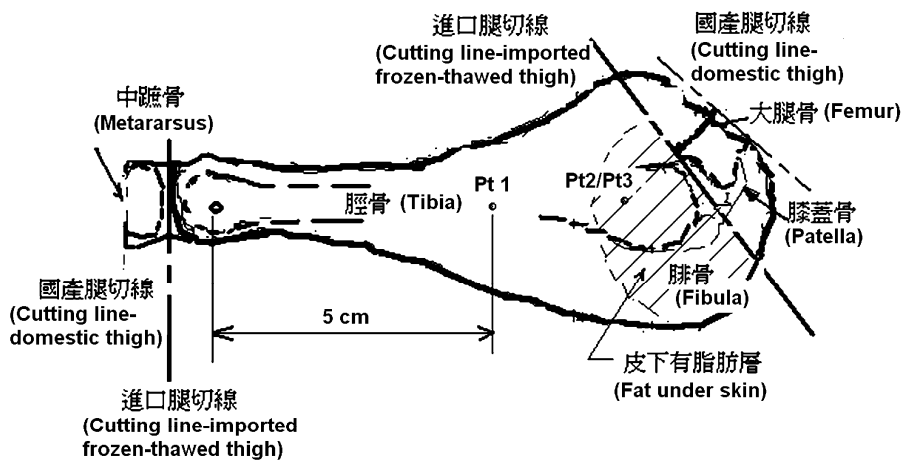


圖 1 國產與進口雞腿在分切位置及光譜值量測位置 Pt1 和 Pt2/Pt3

Fig.1 Cutting and measuring positions (Pt1 and Pt2/Pt3) of domestic chilled storage and imported frozen-thawed chicken thighs

組光譜值當驗證組，以 Unscrambler @ (7.6 版，CAMO, A/S) 進行分析。首先利用 SIMCA (Soft independent modeling of class analogy) 的分類功能，將國產冷藏與進口冷凍再解凍雞腿光譜值之訓練組以主成分分析法(Principal component analysis, PCA)分別作成國產冷藏雞腿模式(Model D)與進口冷凍再解凍雞腿模式(Model I)，然後將驗證組的 30 組光譜值匯入 Model D 和 Model I 中，計算所匯入的驗證組光譜值是歸屬國產、進口、同屬國產與進口或無法歸屬等四種可能之一。

其次，應用虛擬迴歸技術(Dummy regression techniques, DRT) (Ding et al., 1999; Downey and Beauchene, 1997; Osborne, et al. 1993)，指定訓練組中國產冷藏雞腿的因變數為 1，而進口冷凍再解凍雞腿的因變數為 2，以部份最小平方法迴歸(Partial least square regression, PLSR)來校正混合有國產冷藏與進口冷凍再解凍雞腿各二分之一的 60 條訓練組光譜值，再將所取得的校正模式對驗證組的 30 條光譜值作驗證，如果迴歸的因變數小於 1.5 即將該組光譜值判為“國產冷藏雞腿”，相對的若迴歸的因變數大於 1.5 則判為“進口冷凍再解凍雞腿”。

為比較不同波段吸光值對分類的影響，將光譜值分成全範圍光譜值(900 個變數)、可見光光譜值(175 個變數)、中波紅外光光譜值(175 個變數)、近紅外光光譜值(550 個變數)、由馬氏距離大於 3 之所有變數所組成的光譜值(208 個變數)、鑑別權數(Discrimination power)大於 2.7 的 10 個光譜值(變數)、以及應用 Matlab7.0 版中逐步排除(Stepwisefit)功能所挑選的 17 個光譜值變數(劉等人, 2005)，和一次差分所選出的 9 個波長光譜值分別來驗證，但 PCA 的主成分數，或 PLSR 的因子(Factors)的選定，以總樣本數的三分之一為上限(Evan et al., 1993)。

三、結果與討論

如圖 1 所示，從屠體分切所造成的外觀差異性來看，國產雞腿保留一小段的大腿骨，皮肉包裹緊密，自切斷的大腿骨可以看到鮮紅的骨髓，肌肉組織也緊密包覆著，又部份國產腿也留有一

小塊中骨(雞腳骨)，容易看出有鮮紅的血跡；而進口雞腿係自膝蓋骨切開，切斷面不含大腿骨，從切斷面看皮肉分離嚴重，皮不緊繃，肌肉外露，顏色暗紅，可能因氧化所造成的黑骨髓，靠中骨一端有明顯的外白內黑現象(Mancini and Hunt, 2005)。

(-) pH 值與 RGB 光度值之差異

去除離群值後，國產冷藏與進口冷凍再解凍雞腿各有 45 個有效樣本，國產冷藏雞腿的平均 pH 值 6.39，其標準差 0.20，而進口冷凍再解凍雞腿的平均 pH 值 6.28，其標準差 0.17，以國產和進口各 45 支的樣本 pH 值做變異數分析，兩者無顯著差異 ($p=0.423$)。pH 值常作為新鮮度指標，意謂國產冷藏與進口冷凍再解凍雞腿之新鮮度在統計學上無顯著差異。

圖 2 是國產冷藏與進口冷凍再解凍雞腿在不同量測位置的 RGB 光度值，而表 1 則是對各 45 支國產和進口樣本所做的變異數分析，在比較均質且脂肪層較少的 Pt1 量測點，兩組間只有藍色光度值有差異存在，而 Pt2 點包括皮下脂肪層的

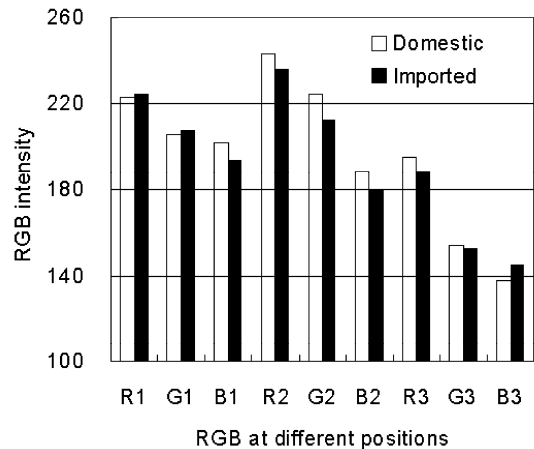


圖 2 國產冷藏雞腿(圖中“□”)與進口冷凍再解凍雞腿(圖中“■”)在 3 個量測點(Pt1, Pt2, Pt3)的 RGB 光度值(R1,R2,R3;G1,G2,G3;B1, B2,B3)。

Fig.2 RGB intensities (R1,R2,R3;G1,G2,G3;B1, B2,B3) of domestic chilled storage (“□”) and imported frozen-thawed (“■”) chicken thighs at 3 measuring positions (Pt1, Pt2 and Pt3)

表 1 國產冷藏及進口冷凍再解凍雞腿在 3 個不同偵測位置之 RGB 光度值的變異數分析

Table 1 Analyses of variance (ANOVA) on RGB intensities for the domestic chilled storage and the imported frozen-thawed chicken thighs at three different detecting positions

位置 Positions	紅色光度值(R) Red intensity		綠色光度值(G) Green intensity		藍色光度值(B) Blue intensity	
	^a F-檢測 F-value	^b p-值 p-Value	F-檢測 F-value	p-值 p-Value	F-檢測 F-value	p-值 p-Value
Pt1	0.264	0.608	0.389	0.534	4.024	0.048
Pt2	17.685	6.25E-05	24.083	4.20E-06	5.401	0.022
Pt3	10.859	0.001	0.770	0.383	12.776	0.001

^aF-檢測：完全隨機試驗中處理均方與誤差均方之比值。

F-Test：Ratio of mean square for treatment(MST) to mean square for error(MSE) at completely random experiment, $F = MST / MSE$.

^bp 值(p-Value)：F-檢測的機率值(Probability of F-test)。

部位，因冷凍後再解凍所產生的退色(De-coloration)現象而顯得慘白，而國產冷藏雞腿是黃色有光澤，具有專業訓練的檢測員在充足的日光燈照明下可以用肉眼來辨別，與兩者的 RGB 光度值的變異數分析有顯著和極顯著的差異相符合。而掀開表皮所看到的雞腿肉(Pt3 點)，除綠色光度值外，紅色和藍色光度值也存在極顯著的差異($p=0.001$)，顯示冷凍再解凍對雞腿脂肪與肌肉顏色會有影響 (James and James, 2002)。

(二) 光譜值分析結果

圖 3 是國產冷藏與進口冷凍再解凍雞腿在波長 400 到 2200 nm 的平均吸光值之原始光譜值，由圖中可以清楚看到波長大於 468 nm (藍色光譜值) 的光譜值，國產冷藏雞腿的平均吸光值均明顯的高於進口冷凍再解凍雞腿的吸光值，由於雞肉組織因冷凍處理造成蛋白質和脂肪之變性 (denaturation) 或降解 (degradation)、以及部份肌肉纖維被冰晶擠壓而斷裂，和冷凍脫水等現象 (林，2002)，而減少對光能量的吸收，光譜在過了可見光 (750 nm) 之範圍後差異有明顯的加大，尤其在 1936 nm 和 1456 nm 兩波段有明顯屬於蛋白質降解的 C-NH₂ 鍵之一次與二次泛音 (overtone) 出現 (Williams and Norris, 2001)。在 1936 nm 處的差

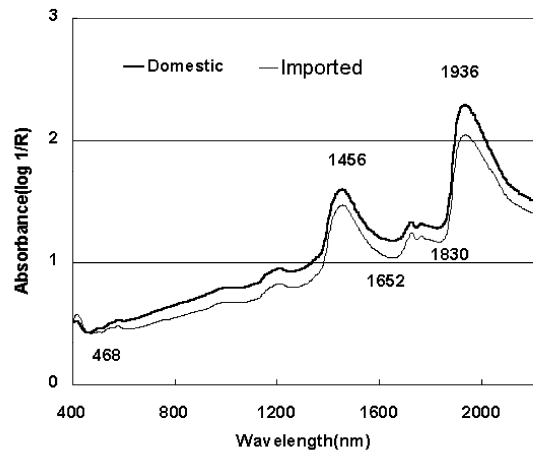


圖 3 國產冷藏與進口冷凍再解凍雞腿各 45 支在 400 到 2200nm 間的平均吸光值與波長的關係圖

Fig. 3 Average absorbance of 45 domestic chilled storage and 45 imported frozen-thawed chicken thighs at wavelength between 400 to 2200 nm

異達到最大，可能是同時受到水解及蛋白質變性的影響，因為水的波峰也落在 1940 nm。

若對國產冷藏與進口冷凍再解凍雞腿各 45 組光譜值作變異數分析，Pt1 點為雞腿外側皮下沒有脂肪且非常容易檢測的位置，組間的 F-檢測值

等於 23.32，顯示進口雞腿經冷凍與再解凍後與國產冷藏雞腿的吸光值有極顯著的差異($p < 1.5 \times 10^{-6}$)。而 Pt2 點為皮下含有脂肪的部位，雖然以肉眼觀察皮下脂肪的色澤時，國產冷藏與進口冷凍再解凍雞腿兩者間有明顯的差異，可能因非均質的關係，或光纖探針的量測範圍較小，兩者光譜值的變異數分析結果並無差異存在($p < 0.54763$)；而 Pt3 點是 Pt2 點掀開表皮的量測點，只量測雞腿肌肉的吸光值，組間的 F-檢測值等於 11.88，顯示進口雞腿經冷凍與再解凍後與國產冷藏雞腿的肌肉吸光值也有極顯著的差異($p < 0.0006$)。

圖 4 係將圖 3 中國產冷藏與進口冷凍再解凍雞腿的原始光譜值加以處理，a：為國產與進口雞腿平均吸光值差的光譜，如前所述，在波長大於可見光的光譜範圍，其兩者的差異加大，尤其

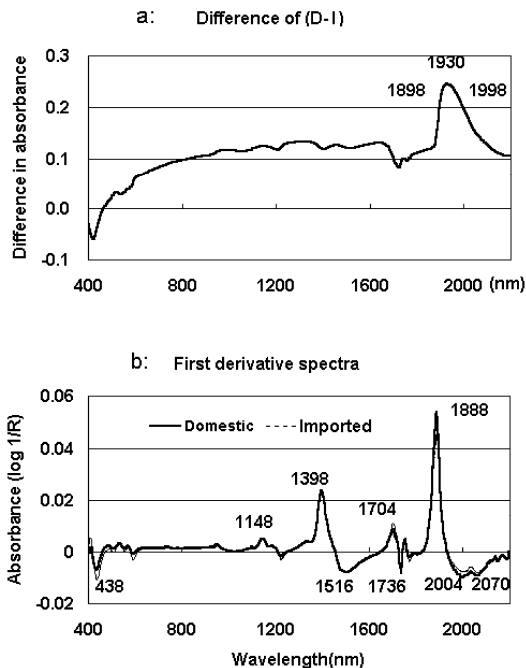


圖 4 a：國產冷藏(D)與進口冷凍再解凍(I)雞腿在 400~2200 nm 波長範圍內吸光值的差(D-I)和 b：國產與進口兩組平均吸光值的一階差分

Fig.4 a: The difference (D-I) in absorbance of domestic chilled storage (D) and imported frozen-thawed (I) chicken thighs at wavelength range of 400~2200 nm, and b: the first difference spectra of average absorbance for both domestic and imported chicken thighs

在 1898 nm 到 1998 nm 的範圍，屬於蛋白質、油脂和水分鍵結區域(William and Norris, 2001)的吸光值有很大的差異，可得到進一步的驗證。b：為國產與進口雞腿原始光譜值的一階差分光譜值，除在藍色光範圍的差異外，其他標示的光譜值如 1178 nm, 1398 nm, 1516 nm, 1706 nm, 1736 nm, 1756 nm, 1888 nm, 2004 nm 及 2070 nm 是 C-NH₂, C-NH, C-OH, H₂O 等屬於蛋白質、油、水等個別或共同影響的鍵結。

圖 5 是國產冷藏與進口冷凍再解凍雞腿的三個量測點 (Pt1、Pt2 和 Pt3) 在 400~2200 nm 光譜值範圍內的馬氏距離，只有在 Pt1 點的馬氏距離有大於 3，顯示在 Pt1 點的光譜值有較大的機會可以分辨出國產冷藏與進口冷凍再解凍雞腿兩者間的差異，而 Pt2 點只有在可見光的範圍內有較大的差異，在屬藍色光(B)的 450 nm 波長有 2.6 個單位的馬氏距離，屬綠色光(G)的 540 nm 波長有 2.1 個單位的馬氏距離，在屬紅色光(B)的 650 nm 波長有 1.9 個單位的馬氏距離，在此之後，光譜值間的馬氏距離均低於 1.9，進一步驗證 Pt2 點可用肉眼分辨國產冷藏與進口冷凍再解凍雞腿間的

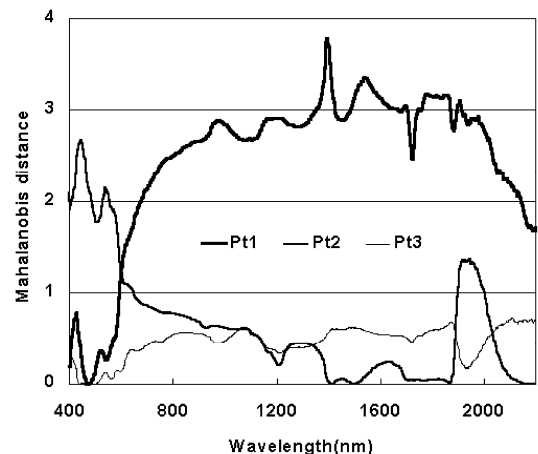


圖 5 國產冷藏與進口冷凍再解凍雞腿的三個量測點 (Pt1, Pt2 和 Pt3) 在 400~2200 nm 光譜值範圍內的馬氏距離

Fig.5 Mahalanobis distance of domestic chilled storage and imported frozen-thawed chicken thighs at three different measuring positions (Pt1, Pt2 and Pt3) from 400 to 2200 nm wavelength

表 2 SIMCA 對國產冷藏與進口冷凍再解凍的鑑別率
Table 2 Discrimination rate of SIMCA classifying on the domestic chilled storage and the imported frozen-thawed chicken thighs

	判為國產 Classified as domestic one (D)	判為進口 Classified as import one (I)	同時判為 國產進口 Classified as D & I	未判定 Unknown	總樣本數 Total sample No.	鑑別率 Discrimination rate (%)
國產樣本 Domestic sample	3	1	10	1	15	20
進口樣本 Imported sample	0	9	6	0	15	60

差異。Pt3 點在 400 到 2200 nm 的全光譜值內的馬氏距離均低於 1.0，用該點的光譜值在分類處理上可能有困難，因此以下的分析均以 Pt1 點的吸收光譜值為基礎。

執行 Unscrambler 的 SIMCA 分類指令 "Classify"，以 30 支國產冷藏雞腿和 30 支進口冷凍再解凍雞腿用 PCA 分別作成的校正模式，對含有國產與進口各 15 個樣本的驗證組作分類，結果如表 2 所示。因 SIMCA 會將預測的樣本，分類到屬於「國產冷藏雞腿」、「進口冷凍再解凍雞腿」、「同屬於國產冷藏雞腿與進口冷凍再解凍雞腿」或「無法分類」等四種結果，對進口樣本的分類最高驗證率只有 60%，而國產 15 支雞腿中有 10 支及進口 15 支雞腿中也有 6 支，被同時判定為「同屬於國產冷藏雞腿與進口冷凍再解凍雞腿」，表示分類方法必須進一步改進。SIMCA 中所定義的鑑別權數(Discrimination power)係描述一變數對於兩模式間的鑑別能力，也就是某變數自一模式投影在另一模式(Data from a model projected onto another)的距離，如同模式距離(Model distance)一般，鑑別權數要越大於 3，越能顯出該變數的重要性(Unscrambler 使用手冊)。如果國產與進口兩個 PCA 模式的模式距離或鑑別權數不大於 3，以 SIMCA 的分類結果就差，同樣地，Downey and Beauchene (1997)以 SIMCA 所得到的分類結果亦較差。

針對國產冷藏與進口冷凍再解凍兩組雞腿共 90 個樣本的主成分分析，以總樣本數的三分之一

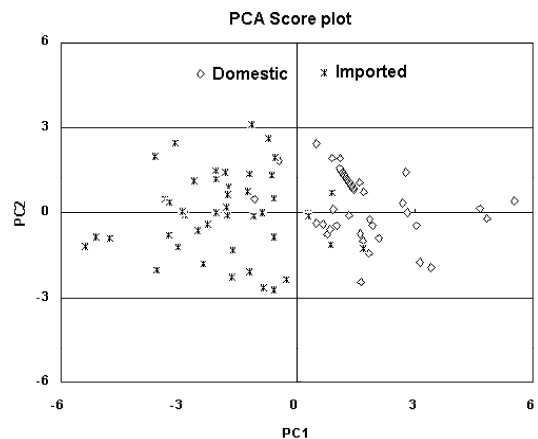


圖 6 國產冷藏與進口冷凍再解凍雞腿作 PCA 分析時在 PC1 和 PC2 兩主成分軸的投影

Fig.6 PCA score plot of domestic chilled storage and imported frozen-thawed chicken thighs model using two principal components (PC1 and PC2)

來作交叉驗證，圖 6 顯示所得到的分數圖(Score plot)。從圖中可以看出國產冷藏與進口冷凍再解凍兩組雞腿的樣本在 PC1 和 PC2 兩個主成分軸上的投影明顯分成兩大族群，有 2 個國產樣本落在 PC1 軸左側屬於進口樣本的區域，及有 4 個進口樣本落在 PC1 軸右側屬於國產樣本的區域內，即 90 個樣本中的 6 個（等於 6.7%）在 PC1 和 PC2 兩個主成分軸上有些微重疊的情況，其他 93.3% 明顯歸屬在國產或進口的獨立族群。又在可解釋變異(Explained variance)與主成分關係的分析中，只

要 3 個主成分就能涵蓋 96.7% 的資料量，或 6 個主成分就能涵蓋 99.7% 的資料量，更說明了國產冷藏與進口冷凍再解凍雞腿的成分確實有所不同。

接著引用虛擬迴歸技術(DRT)，以PLSR對隨機選出的國產與進口各 30 個樣本的混合模式的光譜值來計算不同波長(變數)的迴歸係數，依Evan (1993)的建議因迴歸的總樣本數只有 60 個，因此將各波段的PLSR迴歸的因素先設為 20 或所選擇波長少於 20 的則設為與變數相同，且採用完全交叉驗證(Full cross-validation)來迴歸，而結果所顯示的PLSR因子則為Unscrambler分析軟體所建議的。隨後以此迴歸係數來預測驗證組 30 個樣本，以預測值大於 1.5 或小於 1.5 來判斷驗證組樣本之歸屬，相同的DRT技術已應用在新鮮牛肉與多次冷凍再解凍牛肉之鑑別(Downey and Beauchene, 1997)，在判定牛肉是否經過冷凍具有 96% 的鑑別率。

表 3 為不同波段的 PLSR 迴歸預測結果，均以 20 個因素(Factors)來迴歸，並以Unscrambler電腦軟體所建議的主成分量(PCs)來驗證，結果在全光譜值、可見光譜值、中波紅外線光譜值、及近紅外線光譜值的鑑別率分別是 83.3%、76.7%、93.3%和 83.3%；其中以中波紅外線光譜值的鑑別率 93.3% 最高，不但與PCA的主成分分析結果相符，且可以 100% 鑑別出 15 支雞腿均為進口冷凍再解凍，與Al-Jowder et al. (1997)的結果類似。

為節省電腦運算的時間及避免過度的訓練，接著以RGB光度值 3 個變數(CCD吸光值)來迴歸與驗證，結果平均鑑別率只有 56.7%；而以馬氏距離大於 3 的 208 個變數(波長)重新迴歸和預測，有 80% 的平均鑑別率；若使用SIMCA中的鑑別權數(Discrimination power)大於 2.7 的 10 個波長重新迴歸和預測，平均鑑別率達 86.7%；又使用Matlab 7.0 中的Stepwisefit功能，逐步排除影響力較小的變數，而在 5% 顯著水準下挑選出 17 個變數，重新迴歸和預測的結果，平均鑑別率達 93.3%，且對進口的 15 個預測樣本均可百分之百正確地分類，結果同列於表 5 中。在 Stepwisefit 的過程中，即使將RGB三個變數也同時載入作逐步計算排除，結果與沒有 RGB 變數的相同鑑別率；又將 RGB 三個變數加上這 17 個變數，以 20

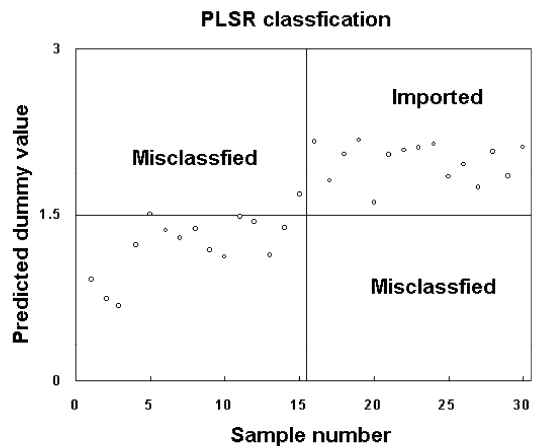


圖 7 以 17 個光譜值變數 PLSR 模式鑑別國產冷藏與進口冷凍再解凍各 15 個雞腿樣本，國產雞腿有 2 個被誤判，鑑別率 86.7%，進口雞腿鑑別率 100%，總平均鑑別率達 93.3%

Fig.7 Discriminating 15 domestic chilled storage and 15 imported frozen-thawed chicken thighs by PLSR model using 17 variables. Discrimination rate of domestic chicken thighs is 86.7% (two of 15 were misclassified), and the one of imported chicken thighs is 100%. The overall discrimination rate is 93.3%

個變數來迴歸與預測，平均鑑別率也是 93.3%，顯示 RGB 的影響度不及其他 17 個光譜值。而最後以一階差分光譜值所找出的 9 個波長吸光值來迴歸，鑑別能力亦達 83.3%。

圖 7 是以 Stepwisefit 選出的 17 個變數(波長的吸光值)的鑑別結果，有 2 個國產冷藏樣本的虛擬迴歸值大於 1.5 而被誤判為進口冷凍再解凍雞腿，而 15 個進口樣本則百分之百被正確的鑑別出來，顯示結合可見光與近紅外線光譜值，以及 Matlab7.0 的 Stepwisefit 功能，以 PLSR 作虛擬迴歸，可以 100% 鑑別出進口冷凍再解凍雞腿。這 17 個波長包括 400、402、404、542、548、566、724、726、1772、1916、1918、1926、2122、2128、2136、2192 和 2196 nm，其中 400、402、404、542、548 和 566 nm 分別屬於可見光區域的藍色光、綠色光和紅色光影響的範圍，724 和 726 nm 是近紅外光的範圍，一般肉眼可以區分雞肉表皮是否經冷凍的蒼白色還是冷藏的鮮紅色澤

表 3 各 15 支國產冷藏與進口冷凍再解凍雞腿，在不同波段與分類規範下，各種變數量的 PLSR 與鑑別率的關係

Table 3 Discrimination rates of PLSR at different wavelength segments and criteria with varied variables for 15 domestic chilled storage and 15 imported frozen-thawed chicken thighs

波段和分類規範 Spectra segments and criteria	波長 Wavelength (nm)	變數量 Variable numbers	主成分 數 ^f Pcs=	判為國產 Classified as domestic	判為進口 Classified as imported	平均鑑別率 Average discrimination rate(%)
全光譜值 Full spectra	400-2200	900	1	12	13	83.3
可見光 Visible spectra	400-750	175	11	8	15	76.7
中波近紅外光 Mid-Near infrared	750-1100	175	8	13	15	93.3
近紅外光 Near infrared	1100-2200	550	8	13	12	83.3
^a 紅綠藍平均光度值 RGB intensities		3	3	12	5	56.7
^b 馬氏距離 Mahalanobis distance		208	4	12	12	80.0
^c 鑑別權數 Discrimination power		10	9	12	14	86.7
^d Matlab 逐步排除法 Matlab stepwisefit		17	10	13	15	93.3
^e 一階差分 First difference		9	5	11	14	83.3

^a紅綠藍平均光度值：以紅、綠、藍 3 個光度值當變數迴歸驗證的結果。(RGB intensity: Regression with Red, Green and Blue intensity, 3 variables in total)

^b馬氏距離：以馬氏距離大於 3 的光譜值當變數，共 208 個。(Mahalanobis Distance: Regression with Mahalanobis distance greater than 3, 208 variables in total)

^c鑑別權數：取鑑別權數大於 2.7 的光譜值共 9 個變數。(Discrimination power: Regression with discrimination power greater than 2.7, 9 variables in total)

^dMatlab 逐步排除法：逐步排除法選出 5%顯著水準的光譜值共 17 個變數。(Matlab stepwisefit: Regression with the Matlab function of “stepwisefit” with default 5% of significant level, 17 variables in total)

^e一階差分：一階差分選出差異最大的光譜值共 9 個變數。(First difference: Regression with selected wavelength from the first difference spectra, 9 variables in total)

^fPcs：Unscrambler 所建議的主成分數。(Pcs: Number of principal component suggested by Unscrambler)

(Mancini and Hunt, 2005)；1772 nm 是屬-CH、-CH₂和-CH₃的鍵結，1916、1918、1926、2122、2128、2136、2192 和 2196 nm 則分別屬於-OH、C-NH₂、C-NH、C-OH 等鍵結，是水、氨基酸、蛋白質和油等各別或共同影響的結果(Williams and Norris, 2001)，顯示雞肉冷凍再解凍後，肌肉纖維的保水能力(Water holding capacity)會降低而要用吸水棉吸取滲出液，氨基酸、蛋白質和油也會改變或降解，而使肉質芳香度與甜度降低(Downey and Beauchêne, 1997；林，2002)。

在試驗的過程中，於生鮮超市隨機採樣均在3天的保鮮期內，國產樣本的來源較多且雜，無法確定上架的時間，且雞腿的長度參差不齊，飼養條件，宰殺條件和雞齡等都比進口雞腿可能有較大的變異(Variations)，可能是導致鑑別率無法達到100%的原因，而國產冷藏與進口冷凍再解凍雞腿的訓練組與驗證組的樣本數各只有30和15個，也可能是鑑別率不高的主要因素。

四、結 論

國產冷藏與進口冷凍再解凍雞腿，pH 值分別是6.39和6.28，兩者沒有顯著差異。而在雞腿外側Pt2點皮下含脂肪處的RGB有顯著的差異。以FOSS Microsystems 6500近紅外線光譜分析儀的外接模組探針量測45支雞腿距離骨柄5cm處的吸光值，針對400~2200nm範圍之光譜值，用Unscrambler分析軟體的PLSR法配合虛擬迴歸技術，在不同波段與分類規範，以各種變數量建立9種校正模式，利用Matlab 7.0版的逐步排除(Stepwisefit)功能所選的17個波長之吸光值(變數)，可以100%鑑別進口冷凍再解凍雞腿，86.7%鑑別國產冷藏雞腿，整體平均鑑別率為93.3%，和中波紅外光波長(750~1100nm)的175個變數有相同的鑑別率，高於鑑別權數大於2.7之10個變數的86.7%鑑別率、全波光譜值(400~2200nm)900個變數的83.3%鑑別率、一次差分光譜值所選之9個變數的83.3%鑑別率、馬氏距離大於3之208個變數的80%鑑別率、可見光譜值(400~750nm)之175個變數的76.7%鑑別率、和RGB光度值3個變數的56.7%鑑別率。

五、誌 謝

本計劃承蒙行政院農業委員會計劃編號94農科-12.1.4-牧-U1之經費支持，僅此誌謝。

六、參考文獻

1. 王文政。2001。近紅外光技術在水產飼料鑑別之應用。出自“近紅外光技術應用於農產品品質檢測之訓練班及研討會專輯”，O1-O8。台北：財團法人農業機械化研究發展中心。
2. 台灣養豬手冊。2002。表3。歷年台灣地區每人肉類消費量，p10。台北：中央畜產會。
3. 李汪盛。1998。以近紅外線分光光度計偵測稻米之成分及食味。博士論文。台北：國立台灣大學農業機械工程學研究所。
4. 林慶文。2002。肉品加工學。四版，11-69。台北：華香園出版社。
5. 陳世銘、張文宏、謝廣文。1998。果汁糖度檢測模式之研究。農業機械學刊7(3): 41-60。
6. 張鴻文、蕭介宗、李盛銘、洪梅珠。2000。以近紅外線及影像技術鑑別水稻品種。農業機械學刊9(4): 1-16。
7. 楊翕雯。2001。中藥之近紅外光鑑定。出自“近紅外光技術應用於農產品品質檢測之訓練班及研討會專輯”，II-I10。台北：財團法人農業機械化研究發展中心。
8. 蕭介宗、駱秋英、陳力騏、劉昌群、洪淑玲、蘇淑禎。2004。豬肉鮮度指標與近紅外線光譜值相關性之探討。農業機械學刊13(4): 27-36。
9. 蕭介宗、周震煌、劉昌群。2005。以機器視覺與可見光/近紅外光應用於畜肉之分類。出自“農牧漁業生產及加工作業之品質偵測技術國際研討會”，II1~II9。台北：財團法人農業機械化研究發展中心。
10. 劉昌群、蕭介宗、彭敬益、洪梅珠、沈明來。2005。近紅外線光譜值的波長選擇對水稻品種鑑別的影響。農業機械學刊14(2): 27-38。
11. Al-Jowder, O., E. K. Kemsley, and R. H. Wilson. 1997. Mid-infrared spectroscopy and authenticity problems in selected meats: a feasibility study.

- Food Chemistry 59 (2): 195-201.
12. Chen, Y. R., R. W. Huffman, B. Park and M. Nguyen. 1996. Transportable spectrophotometer system for on-line classification of poultry carcasses. *Applied Spectroscopy* 50: 910-916.
 13. Ding, H., R. J. Xu and D. K. Chan. 1999. Identification of broiler chicken meat using a visible/near-infrared spectroscopic technique. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 79: 1382-1388.
 14. Downey, G. and D. Beauchene. 1997. Discrimination between fresh and frozen-then-thawed beef m. longissimus dorsi by combined visible-near infrared reflectance spectroscopy: A feasibility study. *Meat Science* 45 (3): 353-363.
 15. Downey, G. and D. Beauchène. 1997. Authentication of fresh vs. frozen-then-thawed beef by near infrared reflectance spectroscopy of dried drip juice. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie* 30 (7): 721-726.
 16. Ellerbroek, L. I., G. Lichtenberg, and E. Weise. 1995. Differentiation between fresh and thawed meat by an enzyme profile test. *Meat science* 40 (2): 203-209.
 17. Evan, D. G., A. Legrand, K. Jewell, and C. N. G. Scotter. 1993. Use of high order principal components in NIR spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 1: 209-219.
 18. Irudayaraj, J. and S. Sivakesava. 2001. Detection of adulteration in honey by discriminant analysis using FTIR spectroscopy. *Transactions of the ASAE* 44 (3): 643-650.
 19. James, S. J. and C. James. 2002. Meat refrigeration. In "Colour changes in chilling, freezing and storage of meat". England: Woodhead Publishing Co. Ltd.
 20. Lanza, E. 1983. Determination of moisture protein fat and calories in raw pork and beef by near-infrared spectroscopy. *Journal of Food Science*. Vol. 48: 471-474.
 21. Mancini, R. A. and M. C. Hunt. 2005. Current research in meat color. *Meat Science* 71(1): 100-121.
 22. Osborne, B. G., T. Fearn, and P. H. Hindle. 1993. *Practical spectroscopy with application in food and beverage analysis*. UK: Longman, Harlow.
 23. Salfi, V. and O. Portanti. 1998. A reporter protein for meat integrity. *Meat Science* 49 (3): 347-356.
 24. Sasaki, M. and S. Ozawa. 1989. Determination of the ingredients of meat and meat products by near infrared spectroscopy. In the Proceeding of the 2nd International NIRS Conference, 388-392. M. Iwamoto and S. Kawano, eds. Japan: Korin Publishing Co. Ltd.
 25. Williams, P., and K. Norris. 2001. *Near-Infrared technology in the agricultural and food industries*. 2nd ed. Chapter 2: "Chemical Principles of Near-Infrared Technology", ed. C. E. Miller, 19-37. Minnesota: American Association of Cereal Chemists, Inc.

收稿日期：2005年11月25日

修改日期：2008年4月21日

接受日期：2008年5月9日

