维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2005)02-0260-03

偏最小二乘法—分光光度法同时测定多种食用合成色素

贾 燕[1], 张克荣[2], 郑 波[2]

(1.重庆医科大学预防医学系卫生检验教研室,重庆 400016;2.四川大学华西公共卫生学院卫生检验教研室,610041)

【摘 要】目的:探讨偏最小二乘法(PLS)分光光度法同时测定多种食用合成色素中的应用。方法:柠檬黄、日落黄、胭脂红、苋菜红的 λ_{max} 分别是 428±2nm、482±2nm、508±2nm、520±2nm,表明它们的吸收光谱严重重叠,用 PLS 法辅助分光光度法,不经分离,同时测定上述四组分混合体系中各组分的含量。结果:四组分混合体系中各组分的平均回收率和 RSD 分别为 100.6%、100.5%、99.5%、101.1%和 1.28%、1.11%、1.01%、1.96%。实测两种样品,均获得较好结果。结论:PLS 法为不经分离直接测定的多组分体系分光光度分析提供了一种新的途径。

【关键词】偏最小二乘法;分光光度法;食用合成色素

【中国图书分类法分类号】R155.5 【文献标识码】A 【收稿日期】2004-05-14

Simultaneous determination of synthetic food colors by method of partial least squares

JIA Yan, et al

(*Departament of Health Laboratory, Faculty of Preventive Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To study the application of partial least squares (PLS) in spectrophotometry, and to simultaneously determine four synthetic food colors with PLS. *Methods*: λ_{max} for Tartrazine, sunset yellow, ponocean 4R and amaranth were 428±2nm, 482±2nm, 508±2nm, 520±2nm respectively, which revealed significant overlapping of simultaneous determination of mixture of four synthetic food colors by spectrophotometry, whithout any preliminary chemical separation. *Results*: The mean recoveries and relative standard deviation(RSD) for each sample were 100.6%, 100.5%, 99.5%, 101.1% and 1.28%, 1.11%, 1.01%, 1.96%, respectively. The actual results of two kinds of samples were also satisfactory. *Conclusion*: The patial least squares may provide a new approach to determination of the content from multi-component spectroscpic data whithout any preliminary chemical separation.

【Key words】Partial least squares(PLS); Spectrophotometry; Synthetic food colors

随着计算机的普及和化学计量学的发展,不经分离同时测定混合体系中的多组分越来越受到人们的重视并显示出强大的生命力。目前,用于解析多组分光谱数据的方法很多[1],其中偏最小二乘法(PartialLeast Squares,PLS)以其优良的解析能力而独树一帜。PLS 法是由 Wold H. 提出,并于上世纪 80 年代开始在化学中应用的一种多元统计方法,近年来已在吸收光谱分析、荧光分析、色谱分析、核磁共振谱分析等领域中广泛应用[2~5]。

本文采用 PLS 法结合分光光度法直接测定食品中的多种合成色素,不需分离,简单、快速,结果令人满意。

作者介绍:贾 燕(1978-),女,助教,硕士,主要研究方向:营养与食品卫生。

1 材料和方法

1.1 仪器和试剂 UV-260 型紫外可见分光光度计(日本岛津公司);Duron 750 微型计算机;MATLAB 5.3 软件。

食用合成色素标准储备水溶液:柠檬黄、日落黄、胭脂红、苋菜红 4 种色素的标准水溶液(1.00mg/ml);所用水均为二次蒸馏水。

1.2 数学原理

设有 n 个标准混合溶液,由 m 个含量不同的组分构成,若已在 L 个波长处测得各样品的吸光度,则可得到吸光度矩阵[A]和浓度矩阵[C],偏最小二乘法同时将矩阵[A]和矩阵[C]分解为两个矩阵之乘积:

$$[A]_{n\times L}=[T]_{n\times f}[P]_{f\times L}+[E]_{n\times L} \quad (1)$$

$$[C]_{n\times m}=[U]_{n\times f}[Q]_{f\times m}+[F]_{n\times m} \quad (2)$$

其中[E]、[F]分别代表[A]和[C]的残差矩阵,[P]、[Q]分别为[A]和[C]的载荷矩阵,而 f 代表抽象因子数。假定数

维普资讯 http://www.cqvip.com

据符合 Lambert－Beer 定律，把吸光度矩阵[A]和浓度矩阵[C]所分解的潜变量矩阵[T]与矩阵[U]作线形回归，用对角矩阵[B]相关联，有：

$$[U]_{n,f}=[T]_{n\times f}[B]_{f\times f} \quad (3)$$

式(3)便是 PLS 法所建立的数学模型。用交互验证法(cross－validation)确定最佳抽象因子数，迭代过程是通过非线性迭代偏最小二乘算法(NIPALS)而完成的[6]。

若已知 n'个未知试样的吸光度矩阵$[A]_{n',L}$，则有：

$$[C]_{n',m}=[A]_{n',f}([U]_{n,f}^{t}[A]_{n,m})^{t}[B]_{f\times f}[B]_{f,f}[Q]_{f,m} \quad (4)$$

1.3 实验方法

吸取 4 种色素的标准储备溶液 10.00ml，分别置于 100ml 容量瓶中，加水稀释至刻度，此溶液每 ml 相当于 0.10mg 商品食用色素，所有的单组分溶液以及混合体系均由此标准溶液配制而成。以蒸馏水为参比，在 UV－260 型紫外可见分光光度计上，于 400nm～600nm 波长范围内扫描绘制各溶液吸收光谱，狭缝 2nm，速度为中速。记录数据并输入计算机，启用自编程序进行处理。各单组分及混合体系的吸收光谱见图 1。

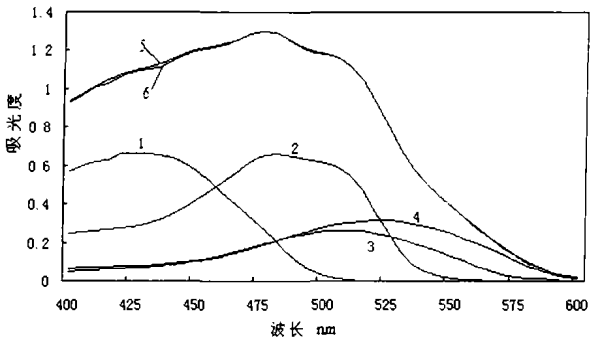


图 1 吸收光谱

1、2、3、4 分别为柠檬黄、日落黄、胭脂红、苋菜红单组分(20.00μg/ml)的吸收曲线；5 为 4 组分混合体系(各 20.00μg/ml)的吸收曲线；6 为 1、2、3、4 按线性加和计算所得的曲线

1.4 PLS 校准模型的建立

按正交设计法，以 $L_{16}(4^5)$ 表配制 16 组标准混合溶液(表 1)，构建校正浓度集，组成见表 1。将这 16 组标准混合溶液在 400nm～600nm 范围内进行扫描，每个样品记录 121 个波长处的吸光度值，用 PLS 法对量测数据进行处理和计算。确定各参数的最佳值，建立 PLS 校准模型。

表 1 按 $L_{16}(4^5)$ 正交设计的校正集浓度阵

N_O.	1	2	3	4	5	6	7	8
柠檬黄(μg/ml)	0	0	0	0	5.00	5.00	5.00	5.00
日落黄(μg/ml)	0	5.00	10.00	15.00	0	5.00	10.00	15.00
胭脂红(μg/ml)	0	10.00	20.00	30.00	10.00	0	30.00	20.00
苋菜红(μg/ml)	0	10.00	20.00	30.00	30.00	20.00	10.00	0
N_O.	9	10	11	12	13	14	15	16
柠檬黄(μg/ml)	10.00	10.00	10.00	10.00	15.00	15.00	15.00	15.00
日落黄(μg/ml)	0	5.00	10.00	15.00	0	5.00	10.00	15.00
胭脂红(μg/ml)	20.00	30.00	0	10.00	30.00	20.00	10.00	0
苋菜红(μg/ml)	10.00	0	30.00	20.00	20.00	30.00	0	10.00

表 2 模拟试样分析结果

编号	柠檬黄			日落黄			胭脂红			苋菜红		
	加入量(μg/ml)	测定值(μg/ml)	回收率(%)	加入量(μg/ml)	测定值(μg/ml)	回收率(%)	加入量(μg/ml)	测定值(μg/ml)	回收率(%)	加入量(μg/ml)	测定值(μg/ml)	回收率(%)
1	0	0.01	—	10.00	10.04	100.4	15.00	14.54	96.9	20.00	20.18	100.9
2	10.00	10.25	102.5	15.00	15.00	100.0	30.00	30.12	100.4	10.00	10.46	104.6
3	15.00	14.86	99.1	5.00	5.10	102.0	0	−0.15	—	30.00	29.83	99.4
4	5.00	5.03	100.6	10.00	9.98	99.8	15.00	15.19	101.3	20.00	19.86	99.3
5	30.00	29.76	99.2	0	−0.09	—	20.00	20.33	101.6	5.00	5.09	101.8
6	15.00	15.18	101.2	5.00	5.08	101.6	30.00	29.67	98.9	0	0.11	—
7	5.00	5.05	101.0	30.00	29.74	99.1	40.00	39.04	97.6	10.00	10.03	100.3
Mean(%)			100.6			100.5			99.5			101.1
RSD(%)			1.28			1.11			1.01			1.96

2 结 果

2.1 模拟试样分析

随机配制 7 组不同浓度配比的混合溶液，在相应波长处测定其吸光度值，用 PLS 法在其最佳计算条件下运算分析，结果见表 2。

2.2 实际样品分析

维普资讯 http://www.cqvip.com

2.2.1 样品处理 准确量取适量美年达橙味汽水、醒目西瓜味汽水,将它们微热脱气,用聚酰胺吸附提取色素后[7],再按上述实验方法测定相应波长处的吸光度值,并用 PLS 法分析计算,结果列于表 3。

表 3 样品测定结果($n=3$)

样品	美年达橙味汽水			醒目西瓜味汽水	
	柠檬黄	日落黄	胭脂红	柠檬黄	苋菜红
参考值(mg/L)	18.56	23.58	21.20	6.23	27.25
测定值(mg/L)	20.20	23.78	19.68	6.52	26.31
相对误差(%)	8.84	0.08	-7.17	4.65	-3.45

3 讨 论

图 1 为各单组分及混合体系的吸收光谱,柠檬黄、日落黄、胭脂红、苋菜红的 λ_{max} 分别是 428 ± 2nm、482 ± 2nm、508 ± 2nm、520 ± 2nm。四组分的吸收光谱重叠严重,而且混合时存在相互作用,光谱的加和性受到扰动,用经典光谱分析方法无法同时进行定量分析。目前对食品中合成色素的测定一般是将它们先分离,然后进行测定。现有的分离方法如薄层色谱法(TLC)、纸色谱法(CC)、高效液相色谱法(HPLC)等[7],样品处理过程均较繁琐分析操作难度也较大。因此本文考虑采用 PLS 法结合分光光度法,不需分离,直接测定食品中的多种合成色素。

本实验在配制校准试样时,采用正交设计安排各组分配比,既减少了试验次数,又使其具有代表性,也更加科学合理。

因 PLS 法属全波谱分析,测量波长数对其影响明显,本文以校正集的预测残差平方和(Prediction Error Sum of Square, PRESS)为指标,确定最佳波长数,其公式由式(5)给出:

$$PRESS=\sum(Y_{pre}-Y_{tru})^2 \qquad (5)$$

式中 Y_{pre} 为预测值,Y_{tru} 为真值。经计算得,在 400nm~600nm 范围内,波长数选取 31 时,计算误差最小。

PLS 法的抽象因子数 f 不仅与校准样品数目有关,而且与测定波长数有关,还与体系中被测物质间的交互作用、噪声和基体效应的强弱有关,所以不能经验地定为组分数或组分数加 1,必须通过实验来确定。本文采用剔除一个交互验证法(leaving-one-out cross-validation),计算按 $L_{16}(4^5)$ 正交设计的校正集的 PRESS,即在某一抽象因子,16 个校正集样品中的 15 个用于建立校准模型,对剩余的一个样品进行预测,此过程一直重复到校正集中所有样品都被预测过,计算相应的 PRESS。计算结果表明,在抽象因子数为 7~8 时,校正集的 PRESS 的变化趋于平缓,且数值也很小。本文选用 7 个抽象因子,多于组分数的因子表示组分间的交互作用及对比尔定律的非线性偏离等。

PLS 法是一种多元统计方法,对于多组分混合体系的光谱分析,无需任何分离处理,无求逆计算,能充分利用校准试样中的吸光度和浓度信息,抗误差能力较强。用计算机处理数据,在实验条件相同时可长期使用,在计算机日益普及的今天,此法具有一定的应用价值,可望成为食品中合成色素检验的有效选择方法。结论的进一步推广以及更复杂光谱和更多组分的 PLS 法的校正问题有待进一步探讨。

分析方法的常规品质因素包括:方法的检出限、灵敏度、选择性等,但偏最小二乘法属全光谱分析,给定义该方法的品质因素带来困难。目前,国内外还少有文献对此有深入的研究,提出适合此类校正方法的品质因素的定义将是进一步完善 PLS 法,使 PLS 法在实际运用中趋于成熟的重要的研究方面。

参 考 文 献

[1] 李志良,石乐明,李梦龙,等. 化学计量学在我国光度分析中的进展[J]. 分析化学,1990;18(6):588-595.

[2] 丁亚平,苏庆德,吴庆生. 导数荧光—偏最小二乘法同时测定注射液中色氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸[J]. 光谱学与光谱分析,2001;21(2):212-214.

[3] T. Galeano Diaz, A. Guiberteau, J. M. Ortiz Burguillos, et al. Comparison of chemometric methods: derivative ratio spectra and multivariate methods(CLS, PCR and PLS) for the resolution of ternary mixtures of the pesticides carbofuran carbaryl and phenamifos after their extraction into chloroform[J]. Analyst, 1997;122:513-517.

[4] 王镇浦,陈国松. 偏最小二乘法辅助分光光度法同时测定痕量锰、铁、铜和锌[J]. 分析化学,1996;24(1):61-64.

[5] 王镇浦,周国华,罗国安. 偏最小二乘法(PLS)及其在分析化学中的应用[J]. 分析化学,1989;17(7):662-669.

[6] 梁逸曾,主编. 分析化学手册·第十分册·化学计量学[M]. 第 2 版,北京:化学工业出版社,2000;212.

[7] 杨惠芬,主编. 食品卫生理化检验标准手册[M]. 北京:中国标准出版社,1997;391-396.