

增广独立成分分析用于果汁饮料中防腐剂的快速测定

刘应凡¹, 刘云¹, 李腾飞¹, 王素方², 刘胜男³, 王国庆¹

(1. 郑州轻工业学院材料与化学工程学院, 郑州 450001; 2. 河南出入境检验检疫局检验检疫技术中心, 郑州 450003; 3. 三门峡出入境检验检疫局, 河南 三门峡 472000)

摘要:采用正交设计法配制 16 组包含苯甲酸钠、山梨酸钾、对羟基苯甲酸甲酯钠 3 种防腐剂水性混合样品, 分别测其紫外-可见(UV)光谱。果汁样品通过离心, 取上清溶液, 稀释一定的倍数测定其 UV 光谱。将果汁样品紫外光谱数据与模拟水样光谱融合得到增广光谱矩阵, 采用独立成分分析(ICA)提取增广光谱矩阵中独立组分(IC)的浓度轮廓, 将实际样品中 3 种防腐剂以外的其他成分作为背景加以扣除, 以模拟标准样品 3 种防腐剂对应的浓度轮廓回归分析得到 3 种防腐剂测定的独立成分回归(ICR)模型, 实际样品中防腐剂的 IC 值代入 ICR 模型预测得到相应防腐剂含量。将浓度 IC 轮廓进行最小二乘回归分析得到与其对应的光谱轮廓, 可用作防腐剂与作为其他成分的背景信号的定性分析。方法用于市售某柠檬饮料中防腐剂测试分析, ICR 模型的线性相关系数(R)均在 0.99 以上, 测定结果与采用高效液相色谱法相当。

关键词:独立成分分析; 独立成分回归; 果汁饮料; 紫外可见光谱; 防腐剂

中图分类号:O657.3; TS207.3

文献标志码:A

食品防腐剂是能防止微生物引起的腐败变质的添加剂。适量的防腐剂能抑菌杀菌, 延长食品保质期, 在食品储存和运输方面起到很大的作用。虽然防腐剂在食品工业中受到人们青睐, 但长期过量摄入会影响人体新陈代谢的平衡。目前我国市场应用的大多数是化学防腐剂, 常用的主要有苯甲酸及其钠盐, 山梨酸及其钾盐, 对羟基苯甲酸甲酯钠, 对羟基苯甲酸乙酯, 对羟基苯甲酸丙酯, 脱氢乙酸等。传统防腐剂检测方法有高效液相色谱(HPLC)法^[1], 高效液相色谱-质谱联用(HPLC-MS)法^[2], 毛细管电泳(CE)法^[3], 气相色谱-质谱联用(GC-MS)法^[4]等。这些方法样品前处理复杂, 费用较高。紫外-可见分光光度法具有仪器设备造价低、测试费用低、分析快速简便等特点, 但当多种防腐剂共存于某些食品、饮料等介质时, 由于不同防腐剂的吸收峰严重重叠和背景干扰, 难以通过多元线性回归分析的方法对特定基质中不同防腐剂样品同时定量分析。近年来研究人员采用光谱分析法与化学计量学方法应用相结合, 测定碳酸性饮料中色素^[5-6]、防腐剂和甜味剂^[7]含量, 表明利用紫外可见光谱结合化学计量学在预测食品添加剂具有一定的可行性。

ICA^[5]是一种统计信号处理技术, 其功能是在信息损失最小的情况下, 将重叠多变量信号分解为一组统计上独立的成分(源信号), 主要包括 FastICA^[8], InfoMaxICA^[9], Mean-fieldICA^[10], JADE^[11], NonnegativeICA^[12]等及其不同形式的改进算法。一般情况下, 利用 ICA 算法进行盲源信号分离, 首先是提取混合样品中源信号的光谱轮廓, 再计算其相对浓度大小, 但由于实际样品存在噪音、背景干扰及其源信号光谱严重重叠, 直接提取得到的光谱轮廓与实际源信号可能会存在一定的差距。

本文将 3 种防腐剂的模拟水样的 UV 数据与果汁样品的 UV 数据组合一起构成增广光谱数据矩阵, 然

收稿日期:2016-02-28; 修回日期:2016-06-05.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(21171150); 国家质量监督检验检疫总局科技计划项目(2015IK114).

第 1 作者简介:刘应凡(1968—), 男, 河南襄县人, 郑州轻工业学院副教授, 博士, 主要研究方向为纳米材料与光谱分析, E-mail: yfliu@zzuli.edu.cn.

通信作者:王国庆(1965—), 男, 河南汤阴人, 郑州轻工业学院教授, 博士, 主要研究方向为化学计量学, E-mail: gqwang@zzuli.edu.cn.

后对其进行 ICA 解析得到混合体系中各成分的浓度轮廓,利用模拟水样中标准样品含量信息进行独立成分回归(ICR)建立各添加剂的预测模型,同时也可以计算得到与添加剂定性信息相关的光谱轮廓,在扣除背景信号后预测果汁中防腐剂含量,建立基于 ICA 浓度轮廓提取的果汁中防腐剂含量预测的新方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

仪器: TU-1901 双光束紫外可见分光光度计,北京普析通用公司产. Waters e2695 高效液相色谱仪, PDA detector, 美国 Waters 公司产.

试剂: 苯甲酸钠、山梨酸钾、对羟基苯甲酸甲酯钠、含量大于 99%, 均由阿拉丁试剂提供; 高纯水, 自制.

饮料样品: 娃哈哈 C 驱动柠檬汁碳酸饮料, 杭州娃哈哈集团有限公司生产.

1.2 防腐剂标准溶液配制与光谱测定

准确称取一定量的苯甲酸钠, 山梨酸钾, 对羟基苯甲酸甲酯钠, 用高纯水溶解, 制成 $0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的标准工作液. 准确移取适量标准工作液于 50 mL 容量瓶中, 蒸馏水稀释定容至 50 mL, 按照正交设计表配制 6 水平、3 因素、16 次试验用的模拟样品系列. 使用 1.0 cm 比色皿测定其紫外-可见光谱, 波长扫描范围为 200.0~400.0 nm, 扫描间隔为 1.0 nm, 得到光谱矩阵 $X(201 \times 16)$.

1.3 果汁样品的光谱测定

取适量稀释一定浓度的果汁样品于烧杯中, 超声除去 CO_2 气体, 对于悬浮物较多的果汁样品离心后在进行超声. 以 1.2 所述方法测定其 UV 光谱, 以高纯水做参比测定得到实际样品饮料中的 UV 光谱数据, 得到实际样品光谱矩阵 $Y(201 \times 1)$.

1.4 果汁中防腐剂的 ICR 测定

ICA 模型可用下式表示: $X = AS$.

式中, $X(n \times m)$ 是原始光谱信号矩阵, 其中 n 是紫外波长数, m 是模拟水样及增广的实际样品的数; $A(d \times d)$ 是混合矩阵; $S(d \times m)$ 是 IC 系数矩阵, 在本应用中是与浓度相关的浓度轮廓, 包含了混合物的浓度信息.

用 ICA 处理光谱轮廓得到的 4 个浓度 IC 轮廓图与 3 个防腐剂的紫外光谱图相对比, 扣除由其他物质构成的背景信号, 得到的 ICR 模型可用下面公式表示: $C = B_0 + BS_2$.

$C(1 \times (d-1))$ 是防腐剂的浓度, $B_0(1 \times (d-1))$ 是 ICR 模型的截距, $B((d-1) \times (d-1))$ 是 ICR 系数, $S_2(1 \times (d-1))$ 是扣除背景之后的 IC 信号.

源信号的光谱信号 $S_{\text{ext}}(n \times d)$ 可通过下式得到: $S_{\text{ext}} = X/S$.

2 结果与讨论

2.1 混合样品中浓度轮廓提取与各组分光谱信息

将矩阵 Y 融合至矩阵 X 中, 得到一个新的增广矩阵 $A_{\text{aug}}(211 \times 17)$. 设定 IC 数为 4, 用 ICA 处理 A_{aug} 得到 4 个与防腐剂和除防腐剂以外作为样品背景的各组分的浓度轮廓(IC), 如图 1 所示.

从图 1 可以看出, IC4 对应的浓度轮廓在模拟水样中总体上为 0, 其在实际样品中与模拟水样中的差别较大, 因此可以推测 IC4 对应为实际样品中除 3 种防腐剂之外的其他样品信息(在此可视为背景信号). 基于提取得到的浓度轮廓, 采用最小二乘法计算得到其对应的光谱信息, 如图 2 所示.

将图 2 中 4 种 IC 浓度轮廓曲线与 3 种防腐剂标准品的紫外光谱图对比, IC1 与苯甲酸钠相似($R=0.8870$), IC2 与对羟基苯甲酸甲酯钠相似($R=0.9881$), IC3 与山梨酸钾相似($R=0.8837$), IC4 是由其他非防腐剂成分构成的背景信号. 在使用 ICR 模型进行数据预测时, 将 IC4 作为背景扣除.

2.2 直接提取光谱轮廓与基于浓度轮廓 ICA 预测比较

由增广的光谱矩阵采用 ICA 直接提取得到的 4 个光谱轮廓如图 3 所示.

对比图 2 和图 3 可以看出, 基于浓度轮廓计算得到的光谱曲线比 ICA 直接提取得到的光谱轮廓更平

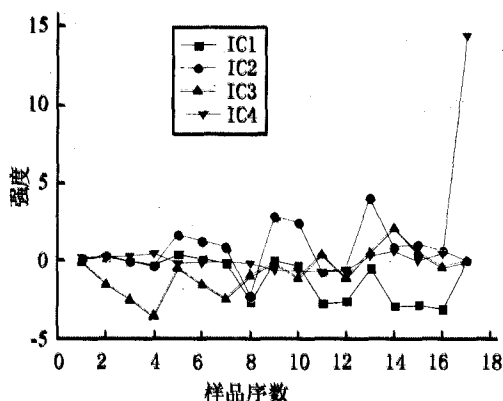


图1 增产ICA提取的4个独立成分浓度轮廓

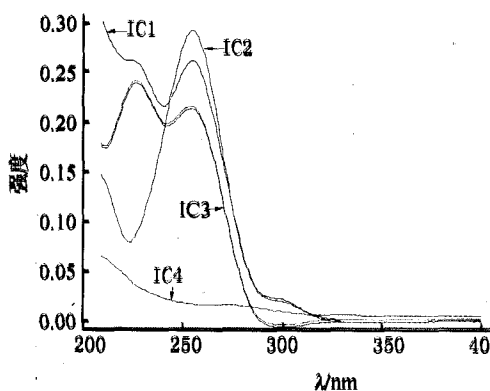


图2 基于浓度轮廓计算得到的光谱信息

滑,相对于纯样品,ICA—浓度的 IC 轮廓曲线与 3 种防腐剂的相似度更高,而且 ICA—光谱的背景信号相对于 ICA—浓度更复杂. 这是因为在光谱测量中不是定波长测量,而是在 211 个波长下进行全扫描,而 3 种防腐剂的紫外吸收峰重叠严重,在测量光谱过程中,由于噪音和背景的干扰,会造成所测得的光谱信号不断波动,而 ICA—浓度程序,增产的 16 个浓度梯度,在光谱测量中是不变的,由其作为 ICA 输入变量得到源信号光谱矩阵,对源信号光谱矩阵利用最小二乘法预测防腐剂的含量,所得到的结果也相对来说比较准确.

2.3 ICR 模型预测果汁样品中防腐剂

当图 2 所示浓度轮廓为负时,需要根据实际情况将其进行翻转,此种情况下预测得到的浓度轮廓相当于实际情况下的镜像. 浓度轮廓的大小仅具有相对意义,不同成分的浓度轮廓不具有可比性,利用不同组分的浓度轮廓预测样品中防腐剂的含量,需要采用模拟样品中各组分实际含量进行校准. 为此,由 IC 系数矩阵的前 16 列数据,结合 MLR 算法建立 ICR 模型,将 IC 系数的第 17 列数据,代入 ICR 模型,扣除背景信号,预测柠檬饮料中防腐剂的含量,结果如表 1.

当图 2 所示浓度轮廓为负时,需要根据实际情况将其进行翻转,此种情况下预测得到的浓度轮廓相当于实际情况下的镜像. 浓度轮廓的大小仅具有相对意义,不同成分的浓度轮廓不具有可比性,利用不同组分的浓度轮廓预测样品中防腐剂的含量,需要采用模拟样品中各组分实际含量进行校准. 为此,由 IC 系数矩阵的前 16 列数据,结合 MLR 算法建立 ICR 模型,将 IC 系数的第 17 列数据,代入 ICR 模型,扣除背景信号,预测柠檬饮料中防腐剂的含量,结果如表 1.

表 1 增产 ICA 预测某品牌果汁饮料中防腐剂含量及 HPLC 测定结果

(mg · L⁻¹)

组分	ICR 方程	R	pre	HPLC
苯甲酸钠	$y=0.16-0.11S_1-3.01S_2-3.41S_3$	0.9998	0.2	NA
山梨酸钾	$y=-0.13+1.11S_1-1.25S_2-0.60S_3$	0.9967	11.8	11.6
对羟基苯甲酸甲酯钠	$y=0.24+1.72S_1-0.01S_2-2.24S_3$	0.9946	0.5	NA

注:y 表示计算得到的防腐剂含量;S₁,S₂,S₃ 分别代表 IC1,IC2,IC3 大小;NA 表示未检出.

从表 1 可以看出,ICR 模型的线性相关系数都达到 0.99 以上,具有较好的准确性,预测结果与采用 HPLC 预测结果相当. 采用标准加入法计算样品测定的回收率^[5]为 80%~160%,线性范围为 0.5~14.0 mg · L⁻¹,实际测定时不同品牌(种类)果汁饮料样品由于基质不同回收率有不同程度的变化. 采用本法预测样品中部分防腐剂有响应值但采用 HPLC 法时未检出,可能是本法中混合物样品添加剂吸收波长严重重叠而导致的“假阳性”检出,但由于预测值不大于 0.5 mg · L⁻¹且远低于食品安全标准中相应添加上限的要求,应本法的计算误差而将相应测定结果视作未检出.

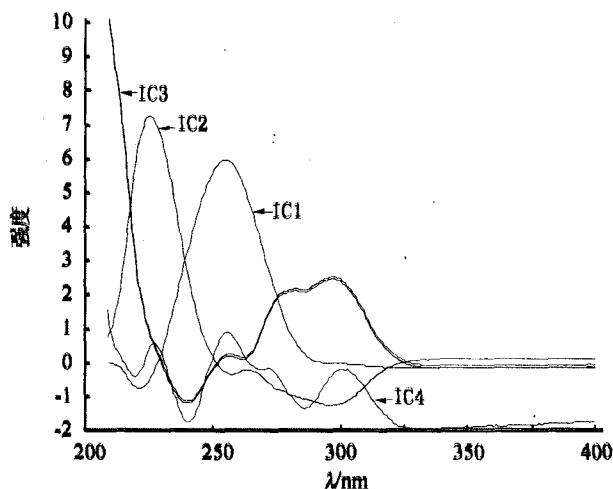


图3 增产ICA直接提取的4个独立成分光谱轮廓

3 结 论

采用增广 ICA 法先提取混合样品体系中各源信号的浓度轮廓,利用模拟标准样品水样数据建立 ICR 模型,进一步扣除实际样品中防腐剂测定时其他成分造成的背景的干扰,预测得到实际样品中防腐剂含量,为果汁饮料中防腐剂测定提供了新途径。

参 考 文 献

- [1] 武 婷,王 超,王 星,等.反相高效液相色谱法测定化妆品中的 24 种防腐剂[J].分析化学,2007,35(10):1439-1443.
- [2] 凌 云,储晓刚,张 峰,等.超高效液相色谱串联质谱法同时测定调味料中的 17 种防腐剂和抗氧化剂[J].色谱,2011,29(8):723-730.
- [3] 张礼春,曾 凯,高 炯,等.高效毛细管电泳法同时测定饮料中七种防腐剂[J].分析试验室,2015,34(1):77-80.
- [4] 鞠福龙,李春娟,李东刚.气相色谱质谱联用法同时检测调味品中 7 种防腐剂[J].中国调味品,2009,34(10):79-82.
- [5] 王国庆,弓丽华,王素方,等.基于改进标准加入法的碳酸饮料中多种色素含量的同时测定[J].河南师范大学学报(自然科学版),2014,42(1):67-71.
- [6] 王国庆,弓丽华,王素方,等.运用模拟 UV 数据的 KICA-SVR 模型同时测定饮料中多种色素的含量[J].郑州轻工业学院学报:自然科学版,2014,29(2):11-14.
- [7] 王素方,刘 云,弓丽华,等.基于改进标准加入法的碳酸饮料中防腐剂和甜味剂高通量筛查分析[J].光谱学与光谱分析,2016,36(2):482-486.
- [8] Wang G Q, Sun Y A, Ding Q Z, et al. Estimation of source spectra profiles and simultaneous determination of polycapnent in mixtures from ultraviolet spectra data using kernel independent component analysis and support vector regression [J]. Analytica Chimica Acta, 2007, 594(1): 101-106.
- [9] Ge R, Yao L, Zhang H, et al. A two-step super-Gaussian independent component analysis approach for fMRI data[J]. Neuro Image, 2015, 118(3): 44-58.
- [10] Shao X G, Liu Z C, Cai W S. Resolving multi-component overlapping GC-MS signals by immune algorithms [J]. TrACTrends in Analytical Chemistry, 2009, 28(11): 1312-1321.
- [11] McNeill S I, Zimmerman D C. A framework for blind modal identification using joint approximate diagonalization [J]. Mechanical Systems & Signal Processing, 2008, 22(7): 1526-48.
- [12] Wang G Q, Dong C H, Shang Y K, et al. Characterization of radix rehmanniae processing procedure using FT-IR spectroscopy through nonnegative independent component analysis[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2009, 394: 827-833.

Augmented Independent Component Analysis Used for Determination of Multiple Food Preservatives in Fruit Juice Beverage

LIU Yingfan¹, LIU Yun¹, LI Tengfei¹, WANG Sufang², LIU Shengnan³, WANG Guoqing¹

(1. School of Materials and Chemical Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450000, China;

2. Inspection & Quarantine Technology Centre, Henan Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Zhengzhou 450003,

China; 3. Sanmenxia Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Sanmenxia 472000, China)

Abstract: Synthetic samples of 16 mixed sample solutions containing three preservatives, sodium benzoate, potassium sorbate, and sodium methylparaben were prepared with orthogonal design method. The UV-Vis spectra (UV) of these prepared samples were measured in the range of 200–400 nm, and the spectra of fruit-vegetable beverage were measured after centrifuge. The measured spectra of the synthetic samples are augmented with that of the beverage sample, then processed by ICA procedure. The concentration profiles, i. e. Independent components (ICs) were first estimated by ICA, and the source spectral profiles can be estimated with the ICs based on least square method. The quantitative models were established by independent component regression (ICR) using the ICs background components removed, and the correlation coefficient of higher are higher than 0.99. As a practical application, three preservatives in lemon juice were determined with the results compared to that of HPLC method.

Keywords: Independent component analysis; independent component regress; fruit juice beverage; ultraviolet-visible spectrometry; food preservative