

检测分析

红外光谱快速测定油茶籽油中主要功能活性成分含量的模型建立与评价

吴雪辉^{1,2}, 王泽富¹

(1. 华南农业大学 食品学院, 广州 510642; 2. 广东省油茶工程技术研究中心, 广州 510642)

摘要:以从企业采集的 50 个油茶籽油样品为试验材料, 通过扫描获取红外光谱并筛选特征波段, 利用偏最小二乘法 (PLS) 建立油茶籽油中甾醇、维生素 E 和类胡萝卜素含量的预测模型, 并通过系列参数对模型进行评价。结果表明: 在 $400 \sim 1\,850\text{ cm}^{-1}$ 波数范围内, 甾醇、维生素 E 和类胡萝卜素校正集相关系数 (R_c) 分别为 0.978 9、0.980 1 和 0.949 9, 交叉验证均方根误差 ($RMSECV$) 分别为 42.38、25.64、0.84 mg/kg, 经对模型进行验证, 上述 3 种成分预测集相关系数 (R_p) 分别为 0.993 4、0.997 4 和 0.959 0, 预测均方根误差 ($RMSEP$) 分别为 13.31、6.24、0.18 mg/kg, RPD 分别为 7.742、12.696 和 2.889。可见, 模型的预测效果较好, 说明红外光谱法可应用于油茶籽油中甾醇、维生素 E 和类胡萝卜素等功能活性成分含量的快速检测。

关键词:油茶籽油; 红外光谱; 活性成分; 偏最小二乘法; 模型; 评价

中图分类号: TS225.1; TQ646 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2018)10-0140-04

Establishment and evaluation of models for rapid detection of functional active ingredients in oil – tea camellia seed oil by infrared spectroscopy

WU Xuehui^{1,2}, WANG Zefu¹

(1. College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

2. Guangdong Engineering Research Center for Oil – Tea Camellia, Guangzhou 510642, China)

Abstract: 50 Oil – tea camellia seed oil samples collected from enterprise were analyzed by infrared spectroscopy, and the characteristic bands were screened to establish a quantitative model for the contents of sterols, vitamin E and carotenoids in oil – tea camellia seed oil using partial least squares method (PLS), and then the model was evaluated by series parameters. The results showed that the correlation coefficients of the calibration set (R_c) of sterol, vitamin E and carotenoid were 0.978 9, 0.980 1 and 0.949 9 respectively in the characteristic bands with wavenumber $400 \sim 1\,850\text{ cm}^{-1}$, and the root mean square errors of cross validation ($RMSECV$) were 42.38, 25.64 mg/kg and 0.84 mg/kg, respectively. The models were validated, and the correlation coefficients of the prediction set (R_p) of the three components were 0.993 4, 0.997 4 and 0.959 0 respectively, the root mean square errors of the prediction set ($RMSEP$) were 13.31, 6.24 mg/kg and 0.18 mg/kg, respectively, and the relative analysis errors (RPD) were 7.742, 12.696 and 2.889, respectively. So the model had better prediction effect and could be used as a fast and accurate method for the determination of sterols, vitamin E and carotenoid in oil – tea camellia seed oil.

Key words: oil – tea camellia seed oil; infrared spectroscopy; active ingredient; partial least squares method; model; evaluation

收稿日期: 2018-01-23

基金项目: 林业公益性行业科研专项经费项目 (201504703);

广东省林业科技创新项目 (2017KJ CX005)

作者简介: 吴雪辉 (1965), 女, 教授, 博士, 研究方向为粮油食品加工 (E-mail) xuehuw@scau.edu.cn。

油茶籽油是我国特有的木本油脂, 其脂肪酸组成与橄榄油相似, 有“东方橄榄油”之称。此外, 油

茶籽油中还含有多种功能活性成分,如植物甾醇、维生素 E、多酚、角鲨烯和类胡萝卜素等^[1]。甾醇可以抑制人体对胆固醇的吸收,促进其降解代谢和生化合成,具有增强免疫力、抗炎、抗衰老、预防糖尿病的功能^[2]。维生素 E 是机体重要的脂溶性维生素,具有抗氧化、维持生育和调节免疫系统等功能^[3]。类胡萝卜素可以降低癌症、代谢综合征、肥胖、白内障以及黄斑变性等疾病的发病率^[4]。因此,长期食用油茶籽油,可达到预防动脉硬化、降血压、降血脂,和防癌抗癌的功效^[5]。

目前,油茶籽油中功能活性成分甾醇、维生素 E 和类胡萝卜素等的检测主要采用气相色谱法、液相色谱和分光光度法^[6-8]。而气相色谱法和液相色谱法的前处理过程烦琐,耗时长,不能满足快速分析的需要^[9];分光光度法则需要使用较多的有毒有害试剂,不利于操作者的健康和环境保护。红外光谱分析技术能通过信息丰富的光谱,借助于化学计量学方法,直接分析不经过预处理的样品,具有高效、快速、无污染的优点。因此,本研究通过采集油茶籽油的红外光谱,结合偏最小二乘法,建立油茶籽油中甾醇、维生素 E 和类胡萝卜素含量测定的预测模型,并采用多参数进行评价,为油茶籽油中功能活性成分的定量分析提供一种准确、快速的检测方法。

1 材料与方法

1.1 试验材料

油茶籽油:采集于广东省油茶籽油生产企业。

无水乙醇、氯化铁、1,10-菲罗啉、磷酸、三氯甲烷、乙酸酐、硫酸、石油醚、溴化钾,均为分析纯。维生素 E、 β -谷甾醇:标准品,购自 Sigma 公司。

Nicoletis 10 傅里叶变换红外光谱仪(美国赛默飞世尔科技有限公司),CPA225D 分析天平(德国赛多利斯集团),UV-5200 紫外可见分光光度计。

1.2 试验方法

1.2.1 红外光谱扫描

参照颜辉^[10]的方法,红外光谱采集范围 4 000 ~ 400 cm^{-1} ,分辨率 4 cm^{-1} ,每个样品平行采集 3 次,以平均光谱作为样品光谱。

1.2.2 功能活性成分的测定

甾醇测定:磷硫铁比色法^[11];维生素 E 测定:分光光度法^[12];类胡萝卜素测定:分光光度法^[13]。

1.2.3 光谱数据处理

光谱数据采用 MATLAB 9.1.0 (mathworks US) 化学计量学软件进行处理,先用 Savitzky - Golay 平滑方法对红外光谱图进行平滑消噪处理,再根据官能团特征吸收和主成分分析(PCA)载重来选择相应的波段。

1.2.4 模型建立及评价

采用 MATLAB 9.1.0 (mathworks US) 化学计量学软件编程,建立偏最小二乘法回归模型。为了评价模型的预测能力及实用性,引入如下参数:校正集相关系数 R_c 、校正集交叉验证相关系数 R_{cv} 和均方根误差 $RMSECV$;预测集相关系数 R_p 、预测集均方根误差 $RMSEP$ 和验证集相对分析误差 RPD 。

模型评价标准: R_{cv} 和 R_p 值越大, $RMSECV$ 和 $RMSEP$ 值越小,模型的预测效果越好,当 RPD 值大于 3 时表示该模型有很好的预测能力^[14]。

2 结果与讨论

2.1 功能活性成分含量的测定及样本分配

将从油茶籽油生产企业采集的 50 个油茶籽油样品进行随机分配,其中 40 个作为校正集,10 个作为验证集,并采用分光光度法对 50 个样品中的甾醇、维生素 E 和类胡萝卜素含量进行测定,结果如表 1 所示。

由表 1 可知,各指标的变化范围较大,样品信息丰富,具有很好的代表性。

表 1 油茶籽油甾醇、维生素 E 和类胡萝卜素含量实测值及样本分配

| 项目 | 参数 | mg/kg | | |
|----------|------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | | 总体 | 校正集 | 验证集 |
| 甾醇含量 | 极值范围 | 378.56 ~ 904.31 | 378.56 ~ 904.31 | 378.57 ~ 702.03 |
| | 均值 | 645.72 | 658.37 | 595.15 |
| | 标准差 | 105.96 | 102.86 | 103.04 |
| 维生素 E 含量 | 极值范围 | 4.15 ~ 263.25 | 4.15 ~ 263.25 | 13.18 ~ 240.61 |
| | 均值 | 105.62 | 106.71 | 101.26 |
| | 标准差 | 70.20 | 67.71 | 79.22 |
| 类胡萝卜素含量 | 极值范围 | 0.90 ~ 8.85 | 0.90 ~ 8.85 | 0.99 ~ 2.77 |
| | 均值 | 2.74 | 2.94 | 1.91 |
| | 标准差 | 1.49 | 1.58 | 0.52 |

2.2 油茶籽油红外光谱分析及有效波长的确定

50 个样品的红外光谱如图 1 所示。从图 1 可以看出,50 个油茶籽油样品的红外光谱图很相似,难以根据某个具体的峰位、峰强或者峰形来确立特定的目标成分。因此,需要通过特征吸收和化学计量的方法提取有效光谱信息,除去大量的无用信息,建立校正模型,提高预测效果。

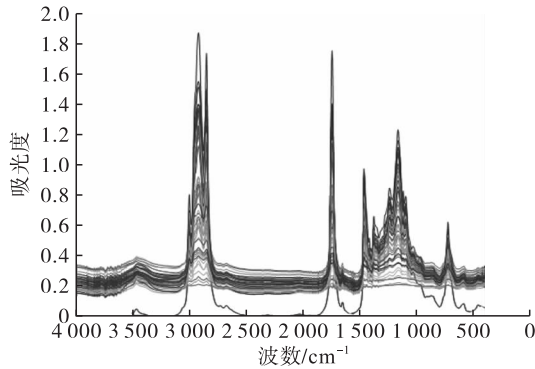


图 1 50 个油茶籽油样品红外光谱图

油茶籽油中功能活性成分的特征吸收为:甾醇的饱和碳氢键弯曲振动 δ_{-CH} 在 1 464、1 444、1 381、1 367 cm^{-1} 处有吸收峰, C—O—C 在 1 050 cm^{-1} 处有吸收峰, 三取代烯烃的 $\delta_{=CH}$ 在 840 cm^{-1} 处有吸收峰^[15]; 维生素 E 中的苯环在 1 600、1 578.25 cm^{-1} 和 1 461.10 cm^{-1} 有吸收峰, 甲基在 1 377.45 cm^{-1} 处有吸收峰, C—O 的伸缩振动在 1 334.94 ~ 1 109.55 cm^{-1} 处有多个较强的吸收峰^[16]; 类胡萝卜素的反式共轭烯烃 CH=CH 面外弯曲振动在 966 cm^{-1} 处有吸收, 烯烃 C—H 基团对称和反对称的弯曲振动的吸收峰位于 1 362、1 445 cm^{-1} , 芳香环骨架振动峰位于 1 556 cm^{-1} 位置^[17]。

化学计量法可采用主成分分析来提取有效信息, 特别是主成分载重图适合于光谱数据, 能很好地预测对模型有用的光谱波段^[18]。先提取红外光谱数据的前 3 个主成分, 然后选择主成分的 Overview 载重图, 得到不同主成分条件下, 每个光谱点对应的载重值如图 2 所示。

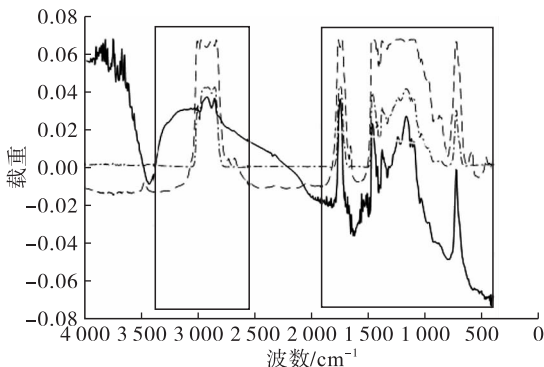


图 2 载重法选择有效波数

从图 2 可以看出, 在 400 ~ 1 850 cm^{-1} 和 2 550 ~ 3 400 cm^{-1} 范围内载重值较大且波峰较多, 而油茶

籽油中 3 种功能活性成分的特征吸收峰主要分布在 840 ~ 1 600 cm^{-1} 。因此, 选择 400 ~ 1 850 cm^{-1} 作为建模的特征波段。

2.3 功能活性成分红外光谱偏最小二乘定量模型的建立与验证

对 40 个校正集样品在 400 ~ 1 850 cm^{-1} 范围的红外光谱数据, 采用留一法交叉验证 (LOOCV) 建立油茶籽油中甾醇、维生素 E 和类胡萝卜素的 PLS 模型, 预测出 3 个指标的理论值, 并与采用 1.2.2 方法测定的实测值进行比较, 结果如图 3 ~ 图 5 所示。

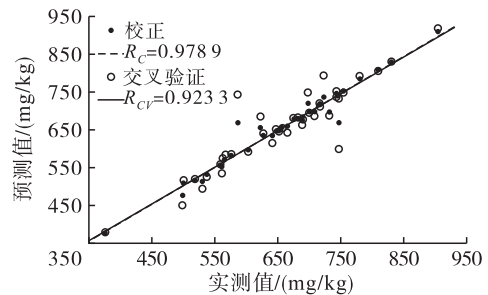


图 3 油茶籽油甾醇含量实测值和模型预测值分布

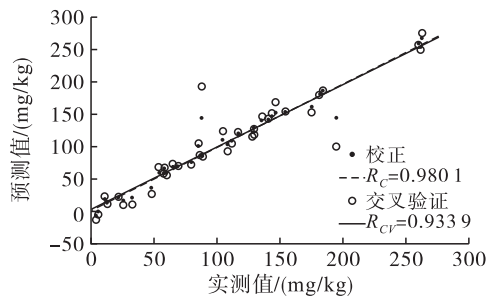


图 4 油茶籽油维生素 E 含量实测值和模型预测值分布

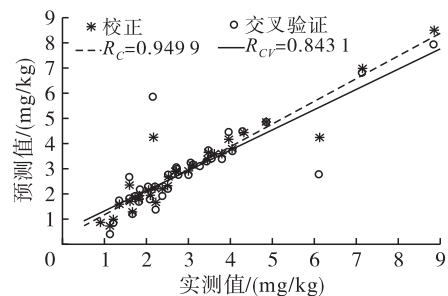


图 5 油茶籽油类胡萝卜素含量实测值和模型预测值分布

由 40 个校正集样品中 3 种功能活性成分含量的实测值与预测值, 可分别得到甾醇、维生素 E 和类胡萝卜素含量的 R_c 、 R_{cv} 、 $RMSECV$ 分别为 0.978 9、0.923 3 和 42.38 mg/kg, 0.980 1、0.933 9、25.64 mg/kg 和 0.949 9、0.843 1 和 0.84 mg/kg, 3 个指标的 R_c 和 R_{cv} 都在 0.9 以上, 说明建立的红外光谱 PLS 模型较为可靠。

进一步用 10 个验证集样品的数据对模型进行验证, 甾醇、维生素 E 和类胡萝卜素含量的实测值与预测值散点图分别如图 6、图 7 和图 8 所示, 3 个指标的 R_p 、 $RMSEP$ 、 RPD 结果见表 2。

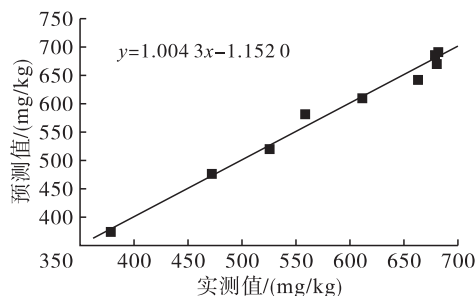


图6 预测集油茶籽甾醇含量实测值和预测值散点图

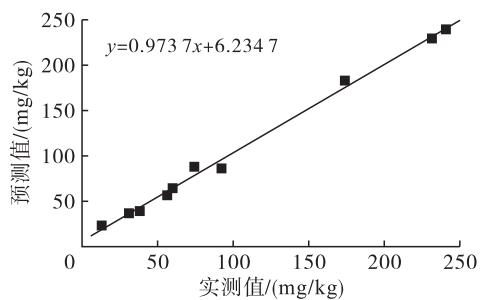


图7 预测集油茶籽油维生素E含量实测值和预测值散点图

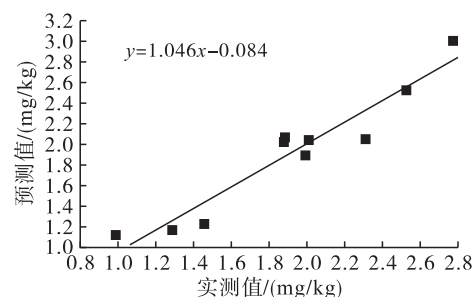


图8 预测集油茶籽油类胡萝卜素含量实测值和预测值散点图

由图6~图8可知,3个指标的验证集样本基本均匀分布在回归线的两侧,相关方程的斜率接近于1,预测值与实测值比较接近,表明所建立的PLS模型拟合度较好。

表2 油茶籽油甾醇、维生素E和类胡萝卜素含量的PLS模型预测结果

| 成分 | 预测集样本数 | R_p | RMSEP/(mg/kg) | RPD |
|-------|--------|---------|---------------|--------|
| 甾醇 | 10 | 0.993 4 | 13.31 | 7.742 |
| 维生素E | 10 | 0.997 4 | 6.24 | 12.696 |
| 类胡萝卜素 | 10 | 0.959 0 | 0.18 | 2.889 |

由表2可知,3个指标的 R_p 均大于0.95;只有类胡萝卜素的RPD为2.867,小于3外,甾醇和维生素E的RPD都超过7,明显大于3。说明,红外光谱结合PLS方法建立的模型用于检测油茶籽油中甾醇、维生素E和类胡萝卜素含量是完全可行的。

3 结论

通过采集50个油茶籽油样品的红外光谱,利用主成分(PCA)载重法和油茶籽油中主要功能活性成分的特征吸收,确定400~1850 cm^{-1} 为有效光谱波段,结合偏最小二乘法PLS建立了甾醇、维生素E

和类胡萝卜素含量测定的预测模型。并用分光光度法测定的实测值对模型进行验证,3个指标所建立的模型 R_p 均大于0.95,预测效果好,应用红外光谱结合偏最小二乘法快速、准确预测油茶籽油中甾醇、维生素E和类胡萝卜素等成分含量是可行的。

参考文献:

- [1] 薛莉,黄晓荣,汪雪芳,等.食用植物油营养成分及检测技术的研究进展[J].食品安全质量检测学报,2017,8(2):446-451.
- [2] 张蕾,陈庆森,阎亚丽,等.植物甾醇对心血管疾病作用的研究现状[J].食品科学,2013,34(23):344-350.
- [3] 李可胜,王芙蓉,谢中国,等.维生素E在水产动物中的应用及研究进展[J].中国饲料,2016(24):26-29.
- [4] 郑樱,杨月欣,马爱国.叶黄素摄入量与慢性疾病关系的研究进展[J].卫生研究,2012,41(1):144-148.
- [5] 吴雪辉,黄永芳,谢治芳.茶油的保健功能作用及开发前景[J].食品科技,2005(8):94-96.
- [6] 魏佳丽,马传国,柴小超,等.米糠油中去甲基甾醇检测方法的对比研究[J].中国油脂,2014,39(1):61-64.
- [7] 宋志峰,王丽,纪锋,等.正相高效液相色谱法测定维生素E保留时间稳定性的提高[J].化学分析计量,2006,15(1):63-64.
- [8] 戴荣继,黄春,佟斌,等.藻类叶绿素及其降解产物的测定方法[J].中央民族大学学报(自然科学版),2004,13(1):75-80.
- [9] 杜习光.农药残留光电快速检测系统研究[D].重庆:西南大学,2010.
- [10] 颜辉.植物油的亚油酸、亚麻酸红外光谱融合和模型优化方法的研究[D].江苏镇江:江苏大学,2010.
- [11] 张蕊,薛雅琳,朱琳,等.橄榄油中甾醇组成及总量测定方法的探讨[J].中国油脂,2011,36(8):77-80.
- [12] 崔恩惠,方亮,李维林,等.响应面法优化分光光度法测定天然维生素E[J].食品工业科技,2010(2):324-328.
- [13] 李媛媛,吴雪辉,段卓.微波处理对亚麻籽油品质的影响[J].中国油脂,2015,40(1):55-58.
- [14] MALLEY D F, MCCLURE C, MARTIN P D, et al. Compositional analysis of cattle manure during composting using a field-portable near-infrared spectrometer[J]. Commun Soil Sci Plant Anal, 2005,36(4/5/6):455-475.
- [15] 钱俊红,许文林.混合甾醇中 β -谷甾醇和豆甾醇的红外光谱法分析测定[J].光谱学与光谱分析,2003,23(4):692-694.
- [16] 李军生,程海涛,李萍,等. α -生育酚油酸酯的合成及结构表征[J].中国油脂,2009,34(2):49-51.
- [17] 卢明倩,黄桂媛,王巧贞,等.温度对 β -胡萝卜素二维相关红外光谱的影响[J].广西科学,2016,23(3):266-271.
- [18] 许生陆,高媛,胡国梁,等.基于有效波长选择的近红外光谱枸杞总糖含量快速检测[J].食品科学,2016,37(12):105-109.