

利用非线性化学指纹图谱技术 鉴别啤酒生产中的大麦品种

王艳娜¹,钟俊辉²,骆学雷²,付廷发²,张泰铭¹,郭沙沙¹,张娟¹,鲁利利¹,王二丹¹
(1.中南大学化学化工学院,湖南长沙410083;2.华润雪花啤酒(中国)有限公司,北京100005)

摘要: 利用非线性化学指纹图谱技术对两个不同品种大麦的快速准确鉴别评价进行研究。结果表明,利用非线性化学指纹图谱的直观信息、可量化信息以及系统相似度计算结果,均能很好地将不同大麦品种鉴别出来。非线性化学指纹图谱技术对啤酒行业的大麦品种鉴别提供了一种很好的方法。

关键词: 大麦品种; 鉴别; 非线性化学指纹图谱技术

中图分类号:TS262.5;TS261.4;TS261.2;S512.31 文献标识码:A 文章编号:1001-9286(2013)03-0061-04

Identification of Barley Varieties for Beer Production by Using Nonlinear Chemical Fingerprint Technology

WANG Yanna¹, ZHONG Junhui², LUO Xuelei², FU Tingfa², ZHANG Taiming¹,
GUO Shasha¹, ZHANG Juan¹, LU Lili¹ and WANG Erdan¹

(1.College of Chemistry and Chemical Engineering, Central South University, Changsha, Hunan 410083;
2. Huarun Snow Brewery (China) Co.Ltd., Beijing 100005, China)

Abstract: Nonlinear chemical fingerprint technology was applied to identify and evaluate two different varieties of barley quickly and accurately, and the results suggested that, the use of intuitive information, quantitative information as well as system similarity calculation results of nonlinear chemical fingerprint could well identify different varieties of barley. Nonlinear chemical fingerprint technology is a good method for the identification of barley varieties in beer-making industry.

Key words: barley varieties; identification; nonlinear chemical fingerprint technology

大麦属于禾本科植物,共有30多个品种,可供食用、饲料用和酿造啤酒。在啤酒生产中是先将大麦制成麦芽,再用来酿造啤酒。大麦是啤酒生产的主要原料之一,其成分与质量直接影响啤酒的质量。不同的大麦品种不仅影响麦芽制造和啤酒酿造工艺,而且对啤酒质量如口味和胶体稳定性有着重要的影响。我国是啤酒生产和消费大国,近年来,随着城乡人民生活水平的提高和消费习惯的改变,啤酒的需求量猛增,因而对啤酒大麦的需求量急剧增长。国产大麦普遍存在蛋白质含量高,玻璃质粒多、皮厚,色泽较深等缺陷,为了生产出高质量的啤酒,所以啤酒酿造原料大麦主要依赖进口,但进口大麦品种的鉴别成了啤酒行业的一大难题。进口大麦在质量上也存在一定差异,从大麦的外观和形态学特征来鉴别大麦品种的

方法存在较大的局限性,对于形态相似的近亲品种,很难区分出来。目前大麦品种的鉴别方法主要有基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱法^[1]、蛋白质电泳法^[2-4]、基因组分析法^[5]等方法,虽然上述方法能有效区分和鉴别不同的大麦品种,但却都存在着前处理繁琐,无法对样品进行整体和综合分析等缺陷。化学振荡和化学湍流等作为非线性化学反应中一些常见现象,国内外学者对其反应机理以及在单个成分分析检测中的应用等进行了广泛深入的研究,近些年基于非线性化学反应的指纹图谱技术被用来检测和鉴别组成复杂的物质。

2007年以来,张泰铭^[5-10]等提出和深入研究了非线性化学指纹图谱技术,并利用该技术成功地鉴别和评价了一些中药、食品和农产品,使这些产品的真伪鉴别和

收稿日期:2012-10-11

作者简介:王艳娜(1987-),女,在读硕士。

通讯作者:张泰铭,E-mail:taimingzhang@163.com。

优先数字出版时间:2012-12-26;地址:http://www.cnki.net/kcms/detail/52.1051.TS.20121226.1441.004.html。

质量控制的研究取得了很大的进展。该方法具有简单、快速和进行整体成分特征分析等优点,本实验主要进行了通过非线性化学指纹图谱技术来鉴别不同品种的进口大麦。

1 材料与方法

1.1 材料、仪器及试剂

样品:所有大麦样品均由华润雪花啤酒(中国)有限公司提供。

试剂:1.000 mol/L 硫酸;0.500 mol/L 丙酮;0.8000 mol/L 溴酸钠;0.01000 mol/L 硫酸锰。试剂均为分析纯,水为二次蒸馏水。测定前将上述试剂置于 45.0 °C 恒温槽中待用。

仪器:非线性化学指纹图谱智能分析仪(MZ-1 型,中南大学研制,湖南尚泰测控科技有限公司生产)。

1.2 实验方法

1.2.1 样品制备

将大麦在 60 °C 下干燥 10 h,粉碎 100 s,过 200 目筛将麦粉分出,然后将大麦剩余部分继续粉碎 60 s,过 200 目筛直至其中麦粉全部与麦皮分开,最后将麦皮过 50 目筛的部分作为检测样品。

1.2.2 实验过程

准确加入适量干燥至恒重的样品、25.00 mL H_2SO_4 溶液、10.00 mL 丙酮溶液、12.00 mL 硫酸锰溶液、10.00 mL 蒸馏水于反应器中,盖好带注射孔和电极的反应器盖。开启恒温系统调节反应器内温度为 45.0 °C,于 850 r/min 恒速搅拌,点击菜单采集数据,5.0 min 后用注射器迅速加入 5.00 mL 溴酸钠溶液。记录 E-t 曲线至电位 E 不再随时间 t 变化为止。

1.2.3 方法学考察

稳定性实验:取澳大利亚大麦(特质)(简称澳麦(特质))样品为供试品,分别在 0、12 h、24 h 检测其指纹图谱,以 3 次测定的指纹图谱的参数平均值为参照,计算出每个图谱的系统相似度分别为 0.9987、0.9990 和 0.9992。这表明样品在 24 h 内稳定。

重复性实验:取澳麦(特质)样品 3 份为供试品,平行测定 3 次,检测指纹图谱,考察该方法的重复性,以 3 次测定的指纹图谱参数的平均值为参照,每个图谱的整体相似度值分别为 0.9999、0.9995 和 0.9997,结果表明,该方法具有良好的重复性,符合复杂样本指纹图谱的要求。

2 结果与讨论

2.1 非线性化学指纹图谱基本特征信息

非线性化学指纹图谱除含有诱导曲线、波动曲线、停波曲线和波形等直观信息外,还含有丰富的可量化

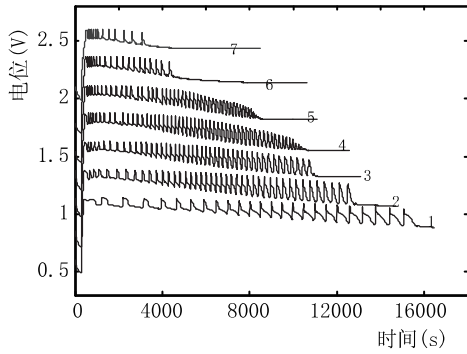
的信息^[9],如峰谷电位($E_{\text{峰谷}}$)、峰谷时间($t_{\text{峰谷}}$)、峰顶电位($E_{\text{峰顶}}$)、峰顶时间($t_{\text{峰顶}}$)、诱导时间($t_{\text{诱导}}$)、起振电位($E_{\text{起振}}$)、停振电位($E_{\text{停振}}$)、停振时间($t_{\text{停振}}$)、平衡电位($E_{\text{平衡}}$)、平衡时间($t_{\text{平衡}}$)、波动幅度(ΔE)、最大波幅(ΔE_{max})、波动寿命($t_{\text{波动}}$)、波动周期($t_{\text{周期}}$)和波数($n_{\text{波}}$)等。这对指纹图谱的系统相似度评价非常有用。

2.2 检测用量对非线性化学指纹图谱的影响

测定指纹图谱时,不同检测用量会使相应非线性化学反应体系中同种样品成分的浓度发生变化。因非线性化学指纹图谱的动力学性质,当样品成分的浓度变化较大时,不仅影响反应速度,也因成分参与的基元反应可能不同,会导致非线性化学反应机理的变化,表现为不仅指纹图谱定量信息发生变化,也可能出现指纹图谱特征的明显改变^[8-9]。本实验测定了不同检测用量条件下两种大麦样品指纹图谱的变化,以澳麦(特质)样品为例(见图 1)。从图 1 可以看出,澳麦(特质)的非线性化学指纹图谱在一定检测用量范围内呈规律性变化,在 0.6~3.5 g 用量范围内,其波动寿命、波动周期和停波时间与检测用量呈线性关系(图 2),图 2 表明,两种样品指纹图谱波动寿命与检测用量的线性关系。因这种关系间接显示了指纹图谱定量信息与样品成分整体含量的关系,故非常有利于对样品中活性成分进行整体定量评价^[8-9]。实验还表明,当检测用量小于 0.6000 g 时,由于来自样品的作为非线性化学反应底物的活性成分太少,不足以引起非线性化学反应;当用量大于 3.000 g 时,由于同样来自样品的对非线性化学反应有干扰抑制作用的共存成分浓度太大,会完全抑制非线性化学反应。因此,在这两种情况下都无法测定指纹图谱。此外,不同检测用量测得指纹图谱的可量化信息不同,这也有利于选择优化测定条件,如用 2.000 g 澳麦(特质)样品测定时,使测定在 1 h 内完成,可大大加快分析测定速度。

2.3 利用非线性化学指纹图谱鉴别大麦品种

非线性化学指纹图谱有很好的重现性,在相同条件下同种样品重复测定会得到重现性很好的指纹图谱(见图 3),而且非线性化学指纹图谱还有其很强的特征性,不同品种的样品都有各自不同的图谱,就像每个人的指纹图谱都不同一样。本研究中按照“实验方法”测得检测用量为 2.000 g 的两种大麦样品的指纹图谱(见图 3)。由图 3 可见,在完全相同条件下测得的两种大麦样品的非线性化学指纹图谱的特征性很强,即特征差异很大,虽然同是澳大利亚大麦,其指纹图谱的诱导曲线和波形的变化趋势相似,但其诱导时间、波动寿命、波动幅度、波动周期和波动数目等可量化参数方面有较大的差别,导致指纹图谱的基本轮廓有很大差异,故只须利用这些指纹图



1-0.8000 g, 2-1.0000 g, 3-1.2000 g, 4-1.4000 g, 5-1.6000 g, 6-1.8000 g, 7-2.0000 g

图1 检测用量对澳麦(特质)非线性化学指纹图谱的影响

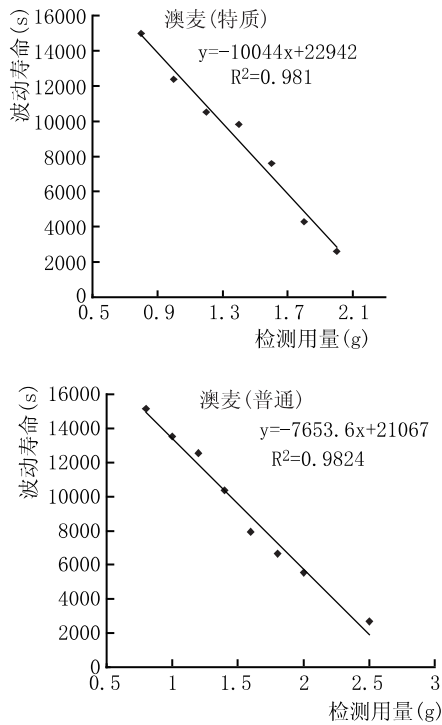
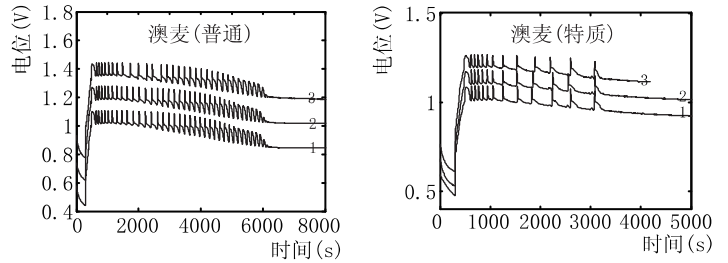


图2 检测用量对大麦品种非线性化学指纹图谱波动寿命的影响

谱直观特征差异,就可简便快速地将两种大麦准确区分开来。由于两种大麦样品的非线性化学指纹图谱中包含大量的可量化信息-特征参数(见表1),通过用这些参数计算的系统相似度^[9],可将两种大麦指纹图谱的特征差异程度量化。这种通过计算机辅助计算出的系统相似度,在大麦品种鉴别方面具有很强的优越性。

2.4 大麦样品非线性化学指纹图谱的相似度评价

文献指出^[9],因非线性化学指纹图技术采集的信号、变量函数关系等的特殊性,无论其指纹图谱共有模式、相似度计算方法等均与色谱及波谱指纹图谱有所不同。如相关系数和夹角余弦等对非线性化学指纹图谱参数的差异不敏感,不宜用来计算非线性化学指纹图谱的相似度;欧氏距离能较好体现不同样品非线性化学指纹图谱间的



检测用量:2.000 g;每种大麦均平行测定3个样品

图3 两种大麦品种非线性化学指纹图谱特征

表1 大麦两种样品非线性化学指纹图谱的参数特征值

特征值	样品	
	澳麦(普通)	澳麦(特质)
t _{峰谷} (s)	299	297
E _{峰谷} (V)	0.445	0.448
t _{峰顶} (s)	1025	641
E _{峰顶} (V)	1.11	1.088
E _{平衡} (V)	0.857	0.947
t _{平衡} (s)	6257	3476
t _{诱导} (s)	629.727	613.061
E _{振荡} (V)	1.014	1.008
t _{振荡} (s)	6233	3226
E _{振荡} (V)	0.861	0.956
t _{波动} (s)	5603	2613
ΔE _{max} (V)	0.136	0.103
n _波	38	13

* 限于篇幅, t_{周期}和 ΔE 因其特征值较多,从略;各种样品均平行测定3次,取其参数特征值的平均值。

直观差异,但有时不能正确反映样本指纹图谱之间特征差异的程度;而系统相似度与非线性化学指纹图谱的直观差异高度吻合,能正确体现指纹图谱之间的相似程度。

指纹图谱相似度计算可利用两种不同类型的数据^[9]。一种是指纹图谱的参数信息,如色谱流出曲线中色谱峰的面积、高度和保留时间等,以及非线性化学指纹图谱中的诱导时间、波动周期、波动幅度、波动寿命、峰顶和峰谷电位等;另一种是指纹图谱的相对强度信息,如各数据采集点的色谱和非线性化学指纹图谱中的相对电信号。利用前者计算的相似度叫参数型相似度,利用后者计算的相似度称非参数型相似度。用相关系数 r、夹角余弦 cosα 和欧氏距离 d(x,y)均可计算这两种类型的相似度,其计算式分别见式(1)、(2)和(3):

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n [(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}} \quad (1)$$

$$\cos\alpha = \frac{\sum_{i=1}^n x_i y_i}{\sqrt{\sum_{i=1}^n x_i^2 \sum_{i=1}^n y_i^2}} \quad (2)$$

$$d(x, y) = \sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - y_i)^2} \quad (3)$$

当计算参数型存在相似度时, 这些公式中 n 表示 2 个指纹图谱中可比参数的数目, 如色谱指纹图谱之间可比较的色谱峰面积的个数或非线性化学指纹图谱之间可比较的诱导时间、峰顶电位、峰谷电位、波动周期、最大波幅、波动寿命等参数的种类数, 而 x_i 和 y_i 则分别表示 2 个指纹图谱之间可比较的第 i 对参数的特征值。当计算非参数型相似度时, 式中 n 表示 2 个指纹图谱中数据采集点的数目, 而 x_i 和 y_i 则分别表示 2 个指纹图谱中第 i 个数据采集点各自信号的相对强度, 如色谱和非线性化学指纹图谱中的相对电信号的值。非线性化学指纹图谱的系统相似度是一种参数型相似度^[9], 其计算式为:

$$Q_{\text{积}} = \frac{1}{K+L-n} \sum_{i=1}^n \frac{1}{1+m_i-o_i} \sum_{j=1}^{o_i} d_{ij} \cdot \frac{S_{ij}}{B_{ij}} \quad (4)$$

式中 K 、 L 分别表示 2 个比较的图谱 A 和 B 中可量化信息参数的种类数, 如指纹图谱 A 或 B 中峰谷电位、峰谷时间、峰顶电位、峰顶时间、诱导时间、起波电位、停波电位、停波时间、平衡电位、平衡时间、波动幅度、最大波幅、波动寿命、波动周期、波数等信息参数的种类数; 信息参数可作为指纹图谱的组成要素或相似要素, 其值可看作特征值; n 表示图谱 A 和 B 之间因是同一种参数而可进行比较的信息参数种类数; S_{ij} 和 B_{ij} 分别表示 2 个指纹图谱之间或指纹图谱与共有模式之间第 i 个相似元的第 j 对可比特征值, 即 a_{ij} 和 b_{ij} 中的较小值和较大值; d_{ij} 为特征权数, 均可取 1。不同种类的组成要素或相似要素可能具有不同个数的特征值。本研究按文献^[9]方法, 利用表 1 中列出的两种大麦样品的参数特征值, 以澳麦(普通)非线性化学指纹图谱的参数值作参照, 计算了该样品与澳麦(特质)的欧氏距离、相关系数、夹角余弦和系统相似度(见表 2)。在模式识别系数中, 距离系数越小或相似系数越大, 则表示 2 个指纹图谱的相似度越高。

表 2 以澳麦(普通)的参数特征值的平均值为参照计算的两种大麦样品的相似度

项目	样品	
	澳麦(特质)	澳麦(普通)
欧式距离	5086.3	0.0004
相关系数	0.9966	0.9997
夹角余弦	0.9972	0.9999
系统相似度	0.5326	0.9995

从表 2 中数据可见, 相关系数和夹角余弦对指纹图谱特征差异很不敏感, 不可用来对样品指纹图谱进行模式识别; 欧式距离和系统相似度均能体现两种样品指纹

图谱之间的差异, 如表 2 中同种大麦指纹图谱的欧氏距离和系统相似度分别为 0.0004 和 0.9995, 而不同大麦之间的欧氏距离和系统相似度分别为 5086.3 和 0.5326。但前期研究结果^[9]表明, 在样品品种较多的情况下, 欧式距离有时不能正确反映样品指纹图谱之间特征差异的相对程度, 而系统相似度系数的大小与指纹图谱特征差异的程度高度一致。故在大麦品种较多时, 如使用系统相似度模式识别方法可准确鉴别不同的大麦。

3 结论

大麦的非线性化学指纹图谱是一种基于大麦成分参与的整个非线性化学反应的动力学指纹图谱, 与大麦成分的种类及其含量密切相关, 具有很好的特征性和重现性。由于其直观特征差异明显, 可直接用于快速鉴别大麦品种。与相关系数、夹角余弦和欧氏距离比较, 系统相似度能最真实反映非线性化学指纹图谱特征之间的差异程度, 可作为鉴别不同大麦的最好模式识别方法。非线性化学指纹图谱技术对大麦品种的鉴别与评价有较高实用价值, 对保证啤酒企业产品质量具有重要作用。

参考文献:

- [1] Salplachta J, Bobalova J. MALDI-TOF mass spectrometry of hordeins: rapid approach for identification of malting barley varieties [J]. J Mass Spectrometry, 2009, (44) (9): 1287-1292.
- [2] Bradova J, Sykorova S, Sasek A, Cerny J. Identification of common barley varieties by parallel electrophoresis of hordeins and esterases [J]. Rostlinna Vyroba, 2001, (47) (4): 167-173.
- [3] 郑飞云, 张俊炎, 陆健, 等. 酿造大麦品种及纯度的鉴定 [J]. 啤酒科技, 2002(6): 5-6.
- [4] 冯伯文, 刘再新. 大麦品种鉴定及其应用 [J]. 广州食品工业科技, 1998, 14(4): 67-69.
- [5] 张泰铭, 梁逸曾, 袁斌, 等. 中药电化学指纹图谱的检测方法和条件因素 [J]. 科学通报, 2007, 52 (9): 1012-1120.
- [6] 张泰铭, 梁逸曾, 袁斌, 等. 中药电化学指纹图谱的原理、特点和用途 [J]. 科学通报, 2007, 52 (13): 1513-1522.
- [7] 方宣启, 张泰铭, 赵哲, 等. 非线性化学指纹图谱技术在鉴别和评价甘草及其临床应用中的作用 [J]. 科学通报, 2010, 55(17): 1661-1669.
- [8] 张泰铭, 赵哲, 方宣启, 等. 利用样本耗散成分的非线性化学指纹图谱的检测方法和条件因素 [J]. 中国科学-化学, 2011, 41(9): 1521-1539.
- [9] 张泰铭, 赵哲, 方宣启, 等. 利用样本成分耗散物的非线性化学指纹图谱原理及相似度计算与评价 [J]. 中国科学-化学, 2011, 41 (10): 1604-1621.
- [10] 张泰铭, 毛鹏飞, 阳小燕, 等. MZ-1A 型非线性化学指纹图谱智能分析仪 [J]. 中国仪器仪表, 2010(6): 60-62.