

基于 NIRS 的苹果酒特征香气生成动力学模型*

彭帮柱 岳田利 袁亚宏 高振鹏 郭耀东

(西北农林科技大学食品科学与工程学院, 陕西杨凌 712100)

摘要: 在前期探明苹果酒特征香气种类的基础上,对苹果酒发酵过程中特征香气的近红外光谱检测模型进行了研究,结果表明选择波数为 9 747.1 ~ 7 498.3 cm^{-1} 和 6 102.0 ~ 5 446.3 cm^{-1} 两段谱区,采用一阶导数和多元散射校正处理光谱后,利用偏最小二乘法建模效果较好,其中校正集 R^2 为 0.920 5,交叉验证均方根差为 4.87 mg/L;验证集预测值与实测值的 R^2 为 0.938 8,预测均方根差为 3.76 mg/L,表明利用近红外光谱法建立的模型达到了良好的预测效果。研究了苹果酒发酵过程中特征香气的产生特性,基于 Luedeking - Piret 方程,建立了描述苹果酒特征香气生成的动力学模型(R^2 为 0.993 0),经检验表明该模型能够很好地拟合苹果酒发酵过程特征香气的生成状况。

关键词: 苹果酒 近红外光谱 特征香气 偏最小二乘法

中图分类号: O657.33; TS262.7 文献标识码: A 文章编号: 1000-1298(2013)04-0179-05

Kinetics of Character Aroma Production during Cider Fermentation by NIRS

Peng Bangzhu Yue Tianli Yuan Yahong Gao Zhenpeng Guo Yaodong

(College of Food Science and Engineering, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: In order to measure and monitor character aroma content accurately and rapidly, calibration models were established during cider fermentation based on near infrared spectroscopy. The results indicated that the calibration models developed with partial least square (PLS) by the spectral pretreatment of first derivative (FD) and multiplicative scatter correction (MSC) in the characteristic absorption spectra ranges of 9 747.1 ~ 7 498.3 cm^{-1} and 6 102.0 ~ 5 446.3 cm^{-1} were the best. The correlation coefficients (R^2) and the root mean square errors of cross validation of the model in calibration set were 0.920 5 and 4.87 mg/L, respectively. The R^2 of the test set and the root mean square error of prediction were 0.938 8 and 3.76 mg/L, respectively. These demonstrated that the model was very well and can be applied to quick determination and monitoring of character aroma content during cider-making. Based on the NIRS model, kinetic model of character aroma production was constructed with a R^2 of 0.993 0 by Luedeking - Piret equation. The results showed that the fitted values by the model were in an agreement with the observed values.

Key words: Cider Near infrared spectroscopy Character aroma Partial least square

引言

苹果酒是一种发酵产品,其香气主要由酯类、高级醇类、低级脂肪酸类、醛酮类和萜烯类等构成^[1-2]。由于苹果酒香气是评价苹果酒品质的一个重要指标,也是苹果酒典型风味的重要组成部分,

因此在苹果酒发酵过程中,需要对香气成分的生成状况进行监测,以便及时优化和控制发酵过程,使发酵向预期目标进行^[3]。苹果酒香气种类繁多,含量微少,常规检测方法繁琐、费时、费力,且在发酵过程中很难实现对多种香气成分同时检测和监测,近红外光谱技术为突破这一瓶颈提供了有力的支

收稿日期: 2012-04-16 修回日期: 2012-06-27

* 国家自然科学基金资助项目(20806062)和西北农林科技大学基本科研业务费专项资助项目(QN2009076)

作者简介: 彭帮柱,副教授,主要从事食品发酵工程技术研究,E-mail: pengbangzhu@163.com

通讯作者: 岳田利,教授,主要从事食品工程新技术和食品安全研究,E-mail: ytl6503@163.com

撑。鉴于此,本文在前期探明苹果酒特征香气组分的基础上,利用近红外光谱技术(NIRS)建立了苹果酒发酵过程中特征香气的快速检测模型^[4],然后以此近红外光谱模型作为分析工具,将其应用到苹果酒发酵过程特征香气生成动力学研究范畴,期望改善传统发酵动力学研究中数据采集、检测和监测费时、费力,难以实现在线检测、监测等问题。

1 材料与方法

1.1 试验材料

苹果酒发酵过程中,取不同批次、不同发酵时间的代表性样本共计 55 个,全部样本按主要特征香气成分含量大小排序后,选取具有代表性的 15 份样品作为验证集,其余的 40 个样品用于建立定标模型。

1.2 试验仪器与设备

MPA 傅里叶变换(FT)近红外光谱仪,德国布鲁克光学仪器公司;Thermo Trace-DSQ 型气相色谱质谱联用仪,美国 Finigon 公司;SPX-380 型培养箱,宁波市科技园区新江南仪器有限公司;JA2003 型电子天平,上海精科天平公司;BCN-1360B 型生物洁净工作台,哈尔滨东联电子技术开发公司。

1.3 试验方法

1.3.1 苹果酒特征香气含量测定

近红外光谱法建立检测模型时,参照文献[5~6]用 GC-MS 结合内标法测定。色谱条件为:采用 HP-5MS 色谱柱(30 m×0.25 mm×0.17 μm),进样口温度 250℃,柱温采用程序升温,起始温度 50℃,保留 2.5 min,以 8℃/min 升至 230℃,保留 5 min,载气 He;体积流量为 1 mL/min。质谱条件为:EI 电离源,电子能量为 70 eV,灯丝电流为 0.20 mA。检测器电压为 350 V。扫描范围为 33~450 AMU,离子源温度 200℃。

1.3.2 近红外光谱采集

利用 MPA 傅里叶变换(FT)近红外光谱仪采集光谱。InGaAs 检测器,选用光程 2 mm 液体光纤探头,以空气为参比,扫描波数为 12 000~4 000 cm⁻¹,分辨率 8 cm⁻¹,重复扫描次数 20 次,取平均光谱^[7~8]。样品脱气后在室温下扫描光谱,每个样品扫描 3 张光谱,建模时取其平均光谱。

1.3.3 光谱数据预处理

光谱中心化后,利用一阶导数(First derivative, FD)、矢量归一化(Vector normalization, VN)、多元散射校正(Multiplicative signal correction, MSC)等方法进行预处理(平滑处理均采用 17 点),用于过滤噪声、提高信噪比,消除基线漂移的干扰^[9~10]。

1.3.4 模型质量判断

定标模型质量的衡量指标为模型的决定系数(R^2)和交叉验证均方根差(RMSECV), R^2 越大, RMSECV 越小,模型质量越好^[11]。模型预测性能用预测集均方根差(RMSEP)来表示,预测标准偏差越小,模型预测能力越好。

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (y_{Ti} - y_{Pi})^2}{\sum_{i=1}^n (y_{Ti} - y_a)^2} \tag{1}$$

$$E_{\text{RMSECV}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_{Ti} - y_{Pi})^2}{n - 1}} \tag{2}$$

$$E_{\text{RMSEP}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_{Ti} - y_{Pi})^2}{m}} \tag{3}$$

式中 E_{RMSECV} ——交叉验证均方根差

E_{RMSEP} ——预测集均方根差

n ——定标集样本个数

m ——验证集样本个数

y_{Ti} ——样本化学实测值

y_{Pi} ——样本预测值

y_a ——样本化学实测值平均值

1.3.5 苹果酒特征香气生成动力学模型的建立

微生物产物形成过程涉及复杂的生理生化过程,至今仍没有形成统一的模型来描述代谢产物生成动力学。Gaden 从产物形成与能量代谢内在联系出发,将产物形成分为 3 个类型:I 类为产物形成与菌体生长偶联型,只有在菌体生长阶段才有产物的形成;II 类为产物形成与菌体生长部分偶联型,在菌体生长阶段有部分产物形成,而绝大部分产物是在菌体处于生长稳定期形成;III 类为产物形成与菌体生长非偶联型^[12]。苹果酒发酵过程中酵母的产物生成与自身生长并非同步,而是有一定的滞后性,符合第 II 类,可以选择 Luedeking-Piret 方程进行描述^[13]。

2 结果与分析

2.1 样品特征香气含量实测值分析

样品特征香气实测值分析如表 1 所示。由表可见,样品特征香气变化范围很宽,具有很强的代表性,这有利于建立稳定可靠的预测模型,并把模型应用于苹果酒发酵过程的优化与控制。

2.2 苹果酒近红外光谱图分析

图 1 为部分酒样的近红外透射全波扫描光谱图。由图可以看出,不同水分子对称和反对称—OH 伸缩振动的一级组合频谱带以及乙醇分子单聚体、

表 1 苹果酒特征香气实测值分析

Tab.1 Analysis for true values of character aromas in samples

参数	校正集	检验集
样品数	40	15
质量浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	34.23 ~ 245.00	45.09 ~ 243.49
平均值/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	115.82	125.98
标准偏差	63.46	66.20
变异系数	0.504	0.526

二聚体和多聚体—OH 伸缩振动的一级倍频谱带都出现在波数 7 300 ~ 6 200 cm^{-1} , 因此建模时应避开此强吸收区。由于谱图两端通常噪声较大, 为了避免这些噪声的干扰, 在选择定标谱区时也应尽量避开^[14]。

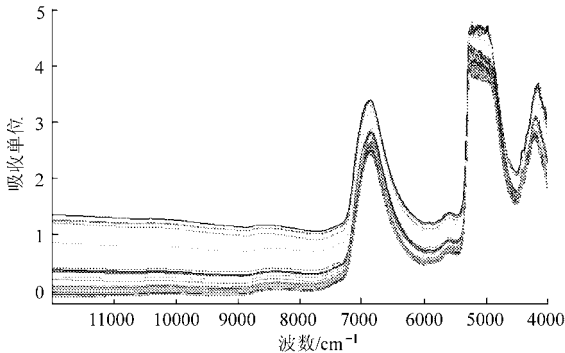


图 1 苹果酒样品原始透射光谱图

Fig.1 Original transmission spectrum of cider samples

2.3 模型建立与优化

(1) 光谱预处理及波长选择

应用 OPUS QUANT2 定量分析软件中的自动优化功能初步选择最佳建模条件, 结果如表 2 所示。由表 2 可知, 选取波数 9 747.1 ~ 7 498.3 cm^{-1} 和 6 102.0 ~ 5 446.3 cm^{-1} 的两段谱区, 采用一阶导数 (FD) 和多元散射校正 (MSC) 处理光谱后, 利用偏最小二乘法 (PLS) 建模较好。图 2 为经过一阶导数和多元散射校正处理前、后的光谱图。由图 2 可以看出, 处理后的光谱明显可以消除基线漂移带来的误差, 且谱区特征性加强。

表 2 建模条件优化

Tab.2 Optimal conditions for establishing calibration model

预处理方式	交叉验证均方根差 / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	维数	波数范围/ cm^{-1}
一阶导数和多元 散射校正	5.07	5	9 747.1 ~ 7 498.3 6 102.0 ~ 5 446.3
最大最小归一化	6.76	5	5 450.2 ~ 4 246.7
多元散射校正	7.72	5	6 102.0 ~ 5 446.3

(2) 定标模型的建立

模型建立的过程就是将通过适当预处理后的近

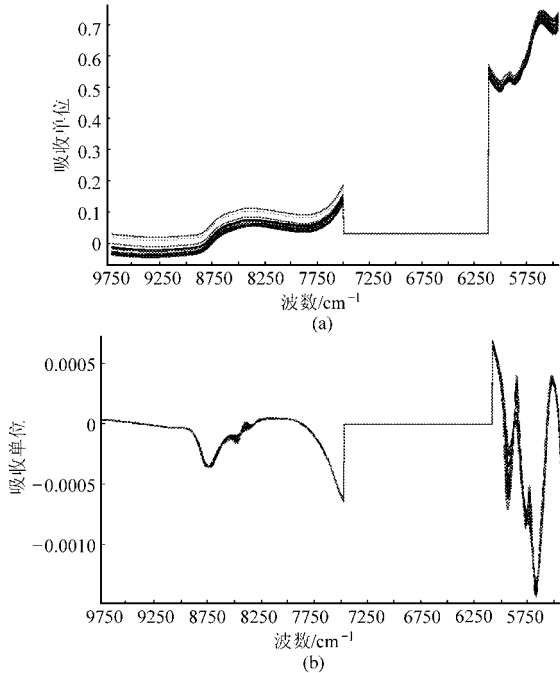


图 2 建模时选取的光谱图

Fig.2 Interception of spectra

(a) 未处理 (b) 经过 FD 和 MSC 处理

红外光谱特征与含量进行关联, 找出相关关系的过程。使用 PLS 建立定量模型时, 主成分数的选择直接关系到模型的实际预测能力。主成分数过少, 就不能充分反映未知样品被测组分产生的光谱信息, 其模型预测准确度就会降低; 主成分数过多, 一些噪声也掺入建模, 导致过拟合, 也会降低模型的预测能力。由于样品化学值测定和近红外光谱采集过程中都存在误差, 因此在建模时设置检验异常阈值为 0.99, 经 F 检验, 剔除显著大于平均误差的异常样品, 然后采用 PLS 建立特征香气簇的定标模型。采用一阶导数和多元散射校正预处理光谱, 主成分为 5, 波数范围选 9 747.1 ~ 7 498.3 cm^{-1} 和 6 102.0 ~ 5 446.3 cm^{-1} 时, 模型的 RMSECV 最小 (表 2)。然后进一步利用通过“剔一”交叉验证法手工优化模型, 剔除 3 个异常值样品后, 建模共利用酒样 37 个, 建立的定标模型的预测值和实测值的关系如图 3 所示, 其中, R^2 为 0.920 5, RMSECV 为 4.87 mg/L , 主成分数为 5, 预测值和实测值达到极显著相关水平, 说明模型建立可靠、可行。

2.4 模型验证与评价

利用建立的近红外定标模型对验证集的 15 个酒样的特征香气含量进行预测, 将预测结果和实测值进行相关分析, 结果如图 4 所示。由图 4 可以看出, 近红外光谱预测值与实测值基本一致, 模型验证集的 R^2 为 0.938 8, RMSEP 为 3.76 mg/L 。说明模型的预测效果很好, 能满足生产中苹果酒特征香气成分在线检测、监测的精度要求。

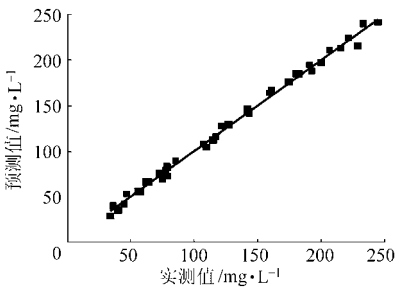


图3 校正集模型预测值与实测值相关关系

Fig.3 Predicted and measured values in calibration set

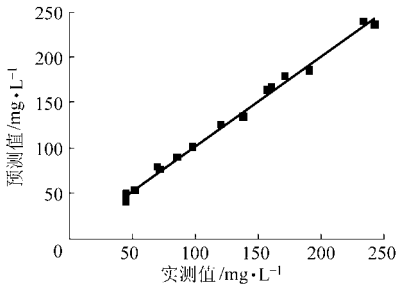


图4 验证集模型预测值与实测值相关关系

Fig.4 Predicted and measured values in test set

2.5 基于 NIRS 的特征香气生成动力学模型的建立

Luedeking - Piret 方程可表示为

$$\frac{dP}{dt} = \alpha \frac{dx}{dt} + \beta x \tag{1}$$

式中 $\frac{dP}{dt}$ ——产物合成速率

x ——菌体浓度

P ——产物形成量

α ——与菌体生长相关的产物生成参数

β ——与菌体生长非相关的产物生成参数

$\frac{dx}{dt}$ ——与菌体生长相关的产物形成速率

对式(1)两边同时积分,变形整理后可得

$$P = \alpha \chi_0 \frac{e^{\mu_m t}}{1 - \frac{\chi_0(1 - e^{\mu_m t})}{\chi_m}} + \beta \frac{\chi_m \ln \left(1 - \frac{\chi_0(1 - e^{\mu_m t})}{\chi_m} \right)}{\mu_m} \tag{2}$$

式中 χ_0 ——初始菌体浓度,个/mL

χ_m ——最大菌体浓度,个/mL

μ_m ——最大比生长速率, h^{-1}

t ——发酵时间,h

苹果酒发酵过程中,由酵母细胞生长观测数据得到 $\chi_m = 3.722\ 3 \times 10^7$ 个/mL、 $\mu_m = 0.046\ 5\ \text{h}^{-1}$ 和 $\chi_0 = 2.34 \times 10^6$ 个/mL;再根据特征香气组分生成的试验观测数据,利用 DPS 7.55 数据处理软件,采用 Marquardt 法进行参数估计,参数估计如表 3 所示。由表 3 可知 $\alpha = 20.315\ 8$ 、 $\beta = 0.281\ 2$,代入式(2)可得到特征香气生成的动力学模型为

$$P = \frac{4.753\ 9e^{0.046\ 5t}}{0.937\ 1 + 0.062\ 86e^{0.046\ 5t}} + 22.509\ 9\ln(0.937\ 1 + 0.062\ 86e^{0.046\ 5t})$$

回归模型的方差分析如表 4 所示。由表 4 可知,回归模型的 R^2 为 0.993 0, $p < 0.001$ 。特征香气生成量观察值和模型拟合值的关系如图 5 所示。由图 5 可知,此模型能够很好地预测酵母细胞在发酵过程中特征香气的生成情况。

表 3 参数估计和置信区间

Tab.3 Parameter estimation and confidence interval

参数	估计值	标准差	t	p	95% 置信界限
α	20.315 8	1.07	18.955 2	0.000 1	17.956 9 ~ 22.674 8
β	0.281 2	0.01	23.073 8	0.000 1	0.254 4 ~ 0.308 1

表 4 回归模型的方差分析

Tab.4 ANOVA result of regression model

变异源	平方和	自由度	均方	F	p	R^2
回归	38 253.45	1	38 253.45	1 805.73	0.000 1	0.993 0
剩余	233.029 2	11	21.184 5			
总和	38 486.47	12	3 207.206			

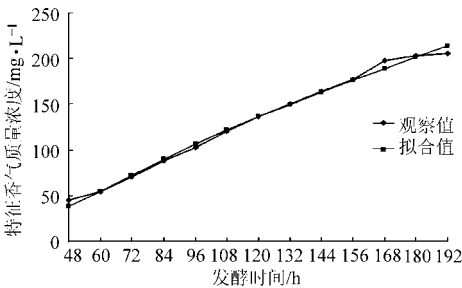


图5 特征香气生成动力学模型拟合值与观察值
相关关系

Fig.5 Relation between observed and fitted values
of character aromas

3 结论

(1) 利用傅里叶变换近红外光谱技术 (FT - NIRS) 建立了苹果酒特征香气定量分析模型,结果表明定标集 R^2 为 0.920 5, RMSECV 为 4.87 mg/L,主成分数为 5,说明建立的模型对目标成分的预测效果较好。进一步对模型进行验证和评价,验证集的 R^2 为 0.938 8, RMSEP 为 3.76 mg/L,说明模型的预测效果很好,能满足生产中苹果酒特征香气成分在线检测、监测的精度要求。

(2) 对苹果酒发酵过程中特征香气生成动力学进行了相关研究,建立了基于近红外光谱技术特征香气生成动力学模型。经分析评价,该模型 R^2 为 0.993 0, $p < 0.001$,结果表明该模型是准确、有效的,能够真实反映和预测苹果酒发酵过程中特征香气生成状况。

参 考 文 献

- 汪立平,徐岩,王栋,等. 苹果酒香气成分研究进展[J]. 食品与发酵工业,2002,28(7):59~65.
Wang Liping, Xu Yan, Wang Dong, et al. Research progress on aroma components of cider[J]. Food and Fermentation Industries,2002,28(7):59~65. (in Chinese)
- Lea A G H. Fermented beverage product[M]. London: Academic and Professional Press, 1995.
- 彭帮柱,岳田利,袁亚宏. 苹果酒发酵过程中糖度近红外光谱检测模型的建立[J]. 光谱学与光谱分析, 2009,29(3):652~655.
Peng Bangzhu, Yue Tianli, Yuan Yahong. Modeling of sugar content based on NIRS during cider-making fermentation[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2009,29(3):652~655. (in Chinese)
- Peng Bangzhu, Yue Tianli, Yuan Yahong. Analysis of key aroma components in cider from Shaanxi (China) fuji apple[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2009,44(3):144~152.
- Wang L P, Xu Y, Zhao G A, et al. Rapid analysis of flavor volatile in apple wine using headspace solid-phase microextraction[J]. Journal of the Institute of Brewing, 2004,110(1):57~65.
- Peng Bangzhu, Yue Tianli, Yuan Yahong. A fuzzy comprehensive evaluation for selecting yeast for cider making[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2008,43(4):140~144.
- 李代禧,吴智勇,徐端钧,等. 啤酒主要成分的近红外光谱法测定[J]. 分析化学,2004,32(8):1070~1073.
Li Daixi, Wu Zhiyong, Xu Duanjun, et al. Measurement of the principal components in beer by means of near infrared spectroscopy[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2004,32(8):1070~1073. (in Chinese)
- 彭帮柱,龙明华,袁亚宏,等. 傅立叶变换近红外光谱法检测白酒总酸和总酯的研究[J]. 农业工程学报, 2006,22(12):216~219.
Peng Bangzhu, Long Minghua, Yuan Yahong, et al. Determination of TA and TE concentration in liquor based on FT-NIRS[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2006,22(12):216~219. (in Chinese)
- Tamburini E, Vaccari G, Tosi S. Near-infrared spectroscopy: a tool for monitoring submerged fermentation processes using an immersion optical-fiber probe[J]. Applied Spectroscopy,2003,57(2):132~138.
- Barton I I, Franklin E. Theory and principles of near infrared spectroscopy [J]. Spectroscopy of Europe,2002,14(1):12~22.
- 陆婉珍,袁洪福,徐广通,等. 现代近红外光谱分析技术[M]. 北京:中国石化出版社,2000.
- Gaden E L. Fermentation kinetics and productivity[J]. Journal of Biochemical and Microbiological Technology and Engineering, 1959,1(4):413~418.
- Luedeking R, Piret E L. A kinetic study of the lactic acid fermentation batch process at controlled pH[J]. Journal of Biochemical and Microbiological Technology and Engineering, 1959,1(4):393~412.
- 陈斌. 液态食品品质的近红外光谱分析技术[D]. 镇江:江苏大学,2001.
Chen Bin. Quality inspection of liquid food by near infrared spectroscopy analysis technology[D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2001. (in Chinese)
- 张树明,杨阳,梁学军,等. 葡萄酒发酵过程主要参数近红外光谱分析[J]. 农业机械学报,2013,44(1):152~156.
Zhang Shuming, Yang Yang, Liang Xuejun, et al. NIR spectroscopy analysis of main parameters in red wine fermentation[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2013,44(1):152~156. (in Chinese)

(上接第130页)

- 苏德仁,周肇秋,谢建军,等. 生物质流化床富氧-水蒸气气化制备合成气研究[J]. 农业机械学报, 2011,42(3):100~104.
Su Deren, Zhou Zhaoqiu, Xie Jianjun, et al. Biomass oxygen enriched - steam gasification in an atmospheric fluidized bed for syngas production[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2011,42(3):100~104. (in Chinese)
- Papadakis K, Gu S, Bridgwater A V, et al. Application of CFD to model fast pyrolysis of biomass [J]. Fuel Processing Technology, 2009,90(4):504~512.
- Xue Q, Heindel T J, Fox R O. A CFD model for biomass fast pyrolysis in fluidized-bed reactors [J]. Chemical Engineering Science, 2011,66(11):2440~2452.
- Wai-Chun R Chan, Marcia Kelbon, Krieger B B. Modeling and experimental verification of physical and chemical processes during pyrolysis of a large biomass particle[J]. Fuel, 1985,64(11):1505~1513.
- Zhou H, Jensen A D, Glarborg P, et al. Numerical modeling of straw combustion in a fixed bed[J]. Fuel, 2005,84(4):389~403.
- Donghoon Shina, Sangmin Choi. The combustion of simulated waste particles in a fixed bed[J]. Combustion and Flame,2000,121(1~2):167~180.
- Kim Y J, Leel J M, Kim S D. Modeling of coalgasification in an internally circulating fluidized bed reactor with draught tube[J]. Fuel,2000,79(1):69~77.
- Jones W P, Lindstedt R P. Global reaction schemes for hydrocarbon combustion[J]. Combustion and Flame, 1988,73(3):233~249.
- Wang Y, Kinoshita C M. Kinetic model of biomass gasification[J]. Solar Energy, 1993,51(1):19~25.
- Li X, Grace J R, Watkinson A P, et al. Equilibrium modeling of gasification: a free energy minimization approach and its application to a circulating fluidized bed coal gasifier[J]. Fuel, 2001,80(2):195~207.
- 孟庆敏,陈晓平,刘道银. 单个球形木材颗粒热解过程数值模拟[J]. 中国电机工程学报,2012,32(2):61~66.
Meng Qingmin, Chen Xiaoping, Liu Daoyin. Numerical simulation of pyrolysis of a wood particle[J]. Proceedings of the CSEE, 2012,32(2):61~66. (in Chinese)