

南平烤烟 GC-MS 指纹图谱构建及模式识别

刘帅帅^{1,2}, 曹建敏¹, 邱 军¹, 王允白¹, 孙 鹏¹, 于卫松¹, 高欣欣^{1,2}, 丁 睿^{1,2}

(1. 农业部烟草类作物质量控制重点实验室, 中国农业科学院烟草研究所, 山东 青岛 266101; 2. 中国农业科学院研究生院, 北京 100081)

摘要: 为了利用 GC-MS 指纹图谱技术对烤烟品质和风格特色进行质量控制, 试验采用同时蒸馏萃取结合 GC-MS 方法构建了南平烤烟的致香物质标准指纹图谱, 并选取了南平、云南、湖北和贵州烤烟样品对该标准指纹图谱进行分析, 相似度计算结果表明, 南平烤烟样品与该标准指纹图谱的相似度极高, 判断的准确率在 80% 以上, 而云南、湖北和贵州与该标准指纹图谱的相似度较低。这表明, 南平烤烟与云南、湖北和贵州烟区烤烟的品质和风格特色具有明显差异。最后通过主成分投影图对南平、云南、湖北和贵州烟区烤烟的指纹图谱进行了模式识别, 结果显示, 南平烟区与其他烟区烤烟指纹图谱模式识别的差异明显, 与相似度计算结果一致。综上表明, 南平烤烟 GC-MS 指纹图谱具有较好可用性, 能够用于控制南平烟区烤烟质量和特色风格的稳定性。

关键词: 南平; 烤烟; 致香物质; 指纹图谱; 模式识别

中图分类号: TS41⁺1; S572.03 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2012)增刊-0018-06

The GC-MS Fingerprint Methods and Chemical Pattern Recognition of Nanping Flue-cured Tobacco

LIU Shuai-shuai^{1,2}, CAO Jian-min¹, QIU Jun¹, WANG Yun-bai¹, SUN Peng¹,
YU Wei-song¹, GAO Xin-xin^{1,2}, DING Rui^{1,2}

(1. Key Laboratory of Tobacco Quality Control, Ministry of Agriculture, Tobacco Research Institute of CAAS, Qingdao 266101, China; 2. Graduate School of CAAS, Beijing 100081, China)

Abstract: In order to test the quality and characteristics of flue-cured tobacco by the technology of GC-MS fingerprint, the method of SDE combined with GC-MS were used to construct a standard fingerprint about aroma constituent of the flue-cured tobacco from Nanping. Samples of leaves from 3 other areas (Nanping, Yunnan, Hubei and Guizhou) were used to study the standard fingerprint. Results of similarity calculation showed that flue-cured tobacco from Nanping had a much higher similarity with the standard fingerprint, the accuracy was more than 80%, while flue-cured tobacco from Yunnan, Hubei and Guizhou had a lower similarity. Compared with the ones from Yunnan, Hubei and Guizhou, flue-cured tobacco from Nanping showed marked difference in quality and characteristics. Pattern recognition on fingerprint was analyzed by PCA projection drawing of flue-cured tobacco from Nanping, Yunnan, Hubei and Guizhou. The result showed that flue-cured tobacco from Nanping had significant difference in pattern recognition on fingerprint comparing with the ones from other 3 tobacco-planting areas, which was accordant with the result of similarity calculation. In conclusion, GC-MS fingerprint is feasible and can be used for the quality control and characteristics control of flue-cured tobacco from Nanping.

Key words: Nanping; Flue-cured tobacco; Aroma component; Fingerprint; Pattern recognition

近年来, 随着分析测试水平的提高, 色谱指纹图谱技术取得了长足的发展, 特别是在中药领域^[1-3]研究较为深入。目前, 在烟草行业中, 色谱指纹图谱技术的研究处于起步阶段, 特别是在卷烟香精香料质量控制中指纹图谱^[4-7]的研究发展迅速, 另外在

卷烟^[8-9]质量控制中指纹图谱的研究也较多, 特别是在真假卷烟^[10-11]鉴别中的应用。然而, 目前对烤烟烟叶的质量评价和风格定位最直接的方法是采用感官评吸进行, 而感官评价结果易受评吸者主观因素的影响, 使评价结果存在误差, 因此, 寻找客观公

收稿日期: 2012-07-22

基金项目: 中国农业科学院科技经费项目(201118)

作者简介: 刘帅帅(1987-), 男, 山东潍坊人, 在读硕士, 主要从事烟草化学及品质研究。

通讯作者: 王允白(1964-), 男, 山东青岛人, 研究员, 硕士生导师, 主要从事农产品质量与食品安全研究。

正的烟叶评价方法就显得尤为重要。由于指纹图谱技术在产品质量控制方面具有“整体性”和“模糊性”^[12]的特点,可以利用色谱指纹图谱技术对烤烟质量和风格进行控制和鉴定,因此,研究南平烤烟致香物质 GC/MS 指纹图谱技术对南平特色烤烟质量控制和特色风格定位具有至关重要的意义。

1 材料和方法

1.1 材料和仪器

1.1.1 试验材料 试验所用烤烟样品均来自南平烟区,随机选取 80 个样品,癸醇内标来自美国 Sigma 公司,纯度 $\geq 99.0\%$ 。二氯甲烷为色谱纯,氯化钠、无水硫酸钠为分析纯。

1.1.2 试验仪器 气质联用仪: Agilent7890A-5975C (美国安捷伦公司);同时蒸馏萃取装置;旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);BS214S 分析天平(德国 Sartorius 公司);水浴锅;电热套。

1.2 试验方法

1.2.1 致香物质提取方法 称取样品 25 g(精确至 0.01 g)于 1 000 mL 圆底烧瓶中,随后加入 20 g NaCl 和 400 mL 去离子水,摇匀后接到 SDE 装置的一端,另一端接一装有 40 mL 二氯甲烷的平底小烧瓶,然后将小平底烧瓶端置于 60℃ 水浴中加热,大圆底烧瓶端放到电热套中加热,同时蒸馏萃取 3 h 后,将萃取液用无水硫酸钠干燥,然后加入 1 mL 癸醇内标,在旋转蒸发仪 40℃ 水浴中旋转浓缩至 1 mL,过 0.45 μm 滤膜于进样瓶中进行 GC/MS 分析。

1.2.2 GC/MS 条件 色谱柱: HP-5MS (Agilent 19091S-433: 30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm);进样口温度: 260℃;进样量和分流比: 1 μL 20:1;接口温度: 280℃;升温程序: 60℃ (2 min) 以 2℃/min 升至 260℃ (10 min) 再以 5℃/min 升至 280℃ (10 min);载气: 氦气;尾吹: 氮气;流速: 1.2 mL/min;离子源温度: 230℃;四级杆温度: 150℃;扫描范围: 30 ~ 550 aum;谱库: NIST08; Agilent 化学工作站。

1.2.3 相似度计算公式 采用相关系数、夹角余弦、欧氏距离和程度相似度计算指纹图谱的相似度^[13-15]。

1.2.4 数据处理 数据的统计分析主要运用 DPS V7.05 和 SPSS 18.0 软件进行。

2 结果与分析

2.1 南平烤烟致香物质标准指纹图谱的建立

选取具有代表性的 10 个南平烟区烤烟样品。按照致香物质的提取方法进行处理,通过 GC-MS 进

行致香物质的检测,对各样品的 GC-MS 结果进行分析,如表 1 所示,其中 10 个样品具有 99 个共有峰(除癸醇内标),其共有峰率达到 100%,对特征指纹峰进行保留时间校正及物质检索,以癸醇内标峰为参照峰求出样品中所有色谱峰的相对保留时间(a 值)和相对峰面积(S_r 值),其计算公式为: $a = t/t_s$ 。(其中 t 为待测峰的绝对保留时间, t_s 为内标峰的绝对保留时间); $S_r = S/S_s$ 。(其中 S 为待测峰的峰面积, S_s 为内标峰的峰面积),将这 99 个共有色谱峰作为特征指纹峰。因此就得到了 10 个样品的致香物质指纹图谱。

为了消除所检测样品致香物质中存在极值的影响,采用中位数法分别计算 10 个样品的致香物质相对峰面积,将得到的致香物质中位数作为南平烤烟致香物质的标准指纹图谱,用 M_r 表示。

2.2 南平烤烟指纹图谱相似度评价

对所构建的南平致香物质标准指纹图谱进行稳定性和可用性进行分析。将选取的 10 个烤烟样品分别看作以共有峰个数为维数,以相对峰面积为对应数值的空间向量,计算 10 个样品指纹图谱与标准指纹图谱的相似度,相似度主要包括: 相关系数、夹角余弦、欧式距离和程度相似度。结果如表 2 所示。从结果中可以看出,南平 10 个样品的相关系数在 0.993 0 ~ 0.999 8 之间,平均值为 0.996 7。夹角余弦在 0.994 7 ~ 0.999 8 之间,平均值为 0.996 8。欧氏距离在 13.17 ~ 51.74 之间,平均值为 33.61。程度相似度在 0.718 2 ~ 0.819 3 之间,平均值为 0.760 3。可以看出,各相似度值都很高,而且都处于相对比较集中的区间内。表明该南平烤烟的标准指纹图谱的可靠性较好,稳定性较高,能够进行应用。并且这四种相似度值的区间可以认为是南平特色烤烟所允许的相似度范围。

由于不同产区烤烟一般都具有不同的风格特色,烟叶质量及香型风格也不尽相同。为了验证该标准指纹图谱对其他烟区烤烟的可用性和准确性,从南平烟区随机选取 6 个烤烟样品,再从云南、湖北和贵州烟区随机分别选取了 6 个不同地点的烤烟样品,计算这些样品指纹图谱与南平烤烟指纹图谱的相似度。如表 3 所示,由于新植二稀的值较大,因此新植二稀对相关系数、夹角余弦和欧氏距离的计算结果影响较大^[16-17],计算误差也较大,因此选取程度相似度作为指纹图谱相似度的依据。可以看出,通过计算所选取的 6 个南平烤烟样品的指纹图谱相似度中,有 5 个样品的程度相似度在南平烟区的相似度范围内,表明判断的准确率在 80% 以上。

表 1 南平烤烟致香物质标准指纹图谱

Tab. 1 The aroma constituents standard fingerprint of flue-cured tobacco in Nanping area

名称 Name	a 值 a value	Sr 值 Sr value										Mr
		1#	2#	3#	4#	5#	6#	7#	8#	9#	10#	
戊醇 1-Pentanol	0.13	0.04	0.04	0.15	0.01	0.1	0.04	0.08	0.03	0.03	0.05	0.04
吡啶 Pyridine	0.14	0.04	0.05	0.05	0.04	0.07	0.04	0.06	0.1	0.11	0.14	0.06
己醛 Hexanal	0.17	0.01	0.01	0.03	0.02	0.02	0.02	0.01	0.03	0.02	0.04	0.02
3-四氢呋喃酮 3(2H)-Furanone μ hydro-2-methyl-	0.18	0.03	0.05	0.06	0.04	0.04	0.06	0.06	0.08	0.05	0.08	0.05
顺丁烯二酸酐 Maleic anhydride	0.20	0.06	0.04	0.06	0.07	0.05	0.05	0.04	0.06	0.04	0.07	0.06
糠醛 Furfural	0.20	1.48	1.07	2.74	2.09	2.23	2.91	2.24	2.37	2.39	2.83	2.30
糠醇 2-Furanmethanol	0.22	0.16	0.07	0.25	0.24	0.17	0.20	0.20	0.16	0.20	0.31	0.20
2-环戊烯-1,4-二酮 2-Cyclopentene-1,4-dione	0.25	0.26	0.27	0.35	0.31	0.34	0.30	0.29	0.44	0.34	0.54	0.33
2-乙酰呋喃 Ethanone, 1-(2-furyl)-	0.28	0.22	0.15	0.33	0.34	0.31	0.29	0.36	0.38	0.21	0.3	0.31
2-环己酮 2-Cyclohexen-1-one	0.31	0.03	0.02	0.03	0.02	0.03	0.04	0.02	0.05	0.04	0.07	0.03
3-甲基戊酸 Pentanoic acid β -methyl-	0.32	0.06	0.04	0.04	0.04	0.03	0.04	0.03	0.04	0.03	0.08	0.04
2-吡啶甲醛 2-Pyridinecarboxaldehyde	0.34	0.03	0.03	0.04	0.03	0.02	0.04	0.04	0.06	0.03	0.04	0.03
5-甲基-2-糠醇 2-Furanmethanol 5-methyl-	0.34	0.03	0.04	0.03	0.03	0.02	0.03	0.04	0.00	0.03	0.07	0.03
苯甲醛 Benzaldehyde	0.36	0.08	0.05	0.08	0.07	0.08	0.09	0.09	0.10	0.10	0.13	0.09
5-甲基-2-糠醛 2-Furancarboxaldehyde 5-methyl-	0.36	0.13	0.03	0.14	0.16	0.10	0.17	0.10	0.07	0.05	0.11	0.11
戊酸 Pentanoic acid	0.38	0.10	0.06	0.05	0.08	0.10	0.04	0.07	0.07	0.05	0.11	0.07
苯酚 Phenol	0.39	0.13	0.04	0.13	0.10	0.14	0.09	0.07	0.05	0.05	0.24	0.09
2,4-壬二酮 2,4-Nonanedione	0.40	0.09	0.04	0.06	0.02	0.01	0.05	0.01	0.02	0.02	0.08	0.03
6-甲基-5-庚烯-2-酮 5-Hepten-2-one β -methyl-	0.40	0.02	0.00	0.01	0.02	0.03	0.02	0.02	0.02	0.01	0.02	0.02
6-甲基-5-庚烯-2-醇 5-Hepten-2-ol β -methyl-	0.41	0.03	0.01	0.02	0.02	0.01	0.02	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02
2-戊基呋喃 Furan 2-pentyl-	0.41	0.02	0.06	0.14	0.07	0.10	0.05	0.05	0.18	0.04	0.01	0.05
2,4-庚二烯醛 2,4-Heptadienal (E,E)-	0.44	0.06	0.08	0.20	0.14	0.13	0.11	0.11	0.16	0.07	0.19	0.12
苯甲醇 Benzyl Alcohol	0.48	2.85	2.38	3.96	3.44	2.97	2.54	2.24	1.92	2.13	4.09	2.70
苯乙醛 Benzeneacetaldehyde	0.50	1.34	2.14	1.85	2.86	3.28	2.49	2.55	3.43	3.34	2.20	2.52
2-乙酰吡咯 Ethanone, 1-(1H-pyrrol-2-yl)-	0.53	0.83	0.74	0.55	0.93	0.77	0.51	0.83	0.90	0.62	0.82	0.79
4-羟基苯甲醇 Benzenemethanol 4-hydroxy-	0.57	0.20	0.10	0.19	0.20	0.17	0.15	0.06	0.07	0.09	0.20	0.16
四甲基吡嗪 Pyrazine μ tetramethyl-	0.59	0.06	0.02	0.05	0.04	0.05	0.06	0.03	0.04	0.04	0.06	0.04
邻甲氧基苯酚 Phenol 2-methoxy-	0.60	0.07	0.03	0.05	0.05	0.05	0.06	0.04	0.03	0.05	0.08	0.05
芳樟醇 Linalol	0.62	0.11	0.05	0.11	0.10	0.10	0.12	0.07	0.07	0.07	0.08	0.09
苯乙醇 Phenylethyl Alcohol	0.64	2.94	1.99	2.85	2.68	2.56	2.46	1.69	1.89	3.04	3.53	2.62
4-氧代异佛尔酮 4-Oxoisophorone	0.71	0.07	0.05	0.07	0.05	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.08	0.06
2,6-二壬烯醛 2,6-Nonadienal (E,E)-	0.73	0.06	0.09	0.10	0.05	0.09	0.10	0.11	0.16	0.07	0.11	0.10
α -松油醇 π Terpieol	0.82	0.05	0.02	0.04	0.04	0.04	0.05	0.02	0.03	0.03	0.04	0.04
藏红花醛 Safranal	0.84	0.05	0.04	0.04	0.05	0.05	0.00	0.04	0.03	0.06	0.05	0.05
紫罗烯 Ionene	0.86	0.06	0.02	0.07	0.08	0.09	0.08	0.03	0.02	0.05	0.02	0.05
2,3-二氢苯并呋喃 Coumaran	0.88	0.41	0.30	0.05	0.40	0.30	0.29	0.33	0.32	0.42	0.33	0.33
β -环柠檬醛 π Cyclocitral	0.88	0.03	0.01	0.01	0.03	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.03	0.02
壬酸 Nonanoic acid	0.99	0.04	0.03	0	0.02	0.01	0.03	0.02	0.03	0.03	0.03	0.03
癸醇 n-decanol	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
吲哚 Indole	1.04	0.58	0.62	0.65	0.74	0.73	0.57	0.58	0.64	1.15	0.71	0.64
4-二烯愈创木酚 2-Methoxy-4-vinylphenol	1.09	2.24	1.76	2.18	5.28	3.35	3.09	3.97	2.35	4.11	3.51	3.22
烟碱 Nicotine	1.16	0.11	0.42	0.37	0.01	0.18	0.47	0.09	0.09	0.08	0.49	0.15
大马酮 π Damascenone	1.20	0.07	0.07	0.24	0.09	0.11	0.09	0.01	0.15	0.13	0.22	0.10
茄酮 Solanone	1.21	11.50	4.01	5.47	2.79	1.84	6.46	1.22	1.75	4.07	5.64	4.04
六氢金合欢醇 Hexa-hydro-farnesol	1.24	0.17	0.07	0.06	0.09	0.11	0.25	0.09	0.12	0.39	0.16	0.11
β -大马酮 π Damascenone	1.25	5.10	5.28	7.65	6.97	6.83	6.94	6.30	7.75	9.37	5.71	6.88
氧化喇叭烯 trans-Z- π Bisabolene epoxide	1.26	0.39	0.24	0.06	0.38	0.32	0.32	0.22	0.32	0.50	0.20	0.32
维生素 A 醛 Vitamin-A-aldehyde	1.26	0.42	1.29	1.95	0.43	0.41	0.36	0.27	0.41	0.57	1.37	0.42
二氢乙位紫罗兰酮 Dihydro- β -ionone	1.26	3.21	2.20	3.43	4.51	4.13	3.71	2.67	2.46	4.27	2.20	3.32
依杜兰-2 Eedulan-2	1.33	0.09	0.07	0.13	0.18	0.16	0.16	0.07	0.04	0.16	0.07	0.11
依杜兰-1 Eedulan-1	1.34	0.05	0.07	0.06	0.11	0.10	0.09	0.07	0.03	0.16	0.04	0.07
香叶基丙酮 Dihydropseudoionone	1.40	0.56	0.39	0.67	0.89	0.97	0.6	0.45	0.63	0.79	0.56	0.62
未知 1 Unknow 1	1.45	0.38	0.30	0.38	0.31	0.25	0.41	0.22	0.34	0.58	0.36	0.35
β -紫罗兰酮 π Ionone	1.46	0.52	0.41	0.54	0.86	0.78	0.55	0.5	0.68	0.97	0.62	0.58
2,3-二甲基-2-(3-氧代丁基)环己酮 Cyclohexanone 2,3-dimethyl-2-(3-oxobutyl)-	1.47	0.68	0.29	0.26	0.20	0.10	0.19	0.11	0.29	0.27	0.40	0.26
2,5-二叔丁基苯酚 Phenol β ,5-bis(1,1-dimethylethyl)-	1.52	0.76	0.66	0.73	0.67	0.68	0.60	0.64	0.96	0.73	0.38	0.68

续表 1:

名称 Name	a 值 a value	Sr 值 Sr value										Mr
		1#	2#	3#	4#	5#	6#	7#	8#	9#	10#	
5-羟基-3-甲基茚酮 5-Hydroxy-3-methyl-1-indanone	1.53	1.36	1.28	1.45	2.45	1.79	1.14	1.89	3.21	2.25	2.10	1.84
二氢猕猴桃内酯 Dihydro actinidiolide	1.55	0.96	1.40	1.37	2.60	1.96	0.96	1.70	3.66	2.55	2.23	1.83
巨豆三烯酮-A Megastigmatrienone-1	1.62	0.30	0.30	0.26	0.39	0.40	0.38	0.28	0.49	0.73	0.41	0.38
柏油醇 Asphalt alcohol	1.63	0.06	0.20	0.23	0.33	0.29	0.20	0.22	0.20	0.30	0.22	0.22
巨豆三烯酮-B Formula	1.65	1.60	1.98	1.97	2.43	2.59	2.47	1.94	3.35	4.79	2.86	2.45
巨豆三烯酮-C Megastigmatrienone-3	1.72	0.20	0.29	0.04	0.29	0.27	0.30	0.23	0.32	0.64	0.34	0.29
3-羟基大马酮 3-Hydroxy- π damascone	1.72	0.42	0.60	0.40	0.62	0.42	0.22	0.53	1.11	0.55	0.64	0.54
巨豆三烯酮-D Megastigmatrienone-1	1.74	1.06	1.86	1.62	1.82	1.71	1.75	1.41	2.13	3.76	2.22	1.78
(+)-香柏酮 Nootkatone	1.87	0.14	0.09	0.19	0.3	0.21	0.19	0.10	0.02	0.18	0.11	0.16
2,3-二氢化茚 hydrindene	1.91	0.93	0.36	0.88	0.81	0.55	0.79	0.48	0.57	0.39	0.64	0.61
正十五醛 Tetradecanal	1.92	0.20	0.15	0.17	0.19	0.20	0.16	0.23	0.20	0.32	0.24	0.20
六氢法呢醇 1-Dodecanol 3,7,11-trimethyl-	1.95	0.21	0.16	0.30	0.16	0.18	0.19	0.13	0.16	0.14	0.15	0.16
二氢五甲基茚满酮 Dihydro pentamethylindanone	1.97	0.54	0.31	0.68	0.97	0.67	0.74	0.55	0.60	0.73	0.62	0.65
2,3,6-三甲基萘醌 1,2,3,6-Trimethylnaphthoquinone	1.99	0.14	0.12	0.04	0.24	0.20	0.20	0.15	0.06	0.11	0.37	0.14
蒽 Phenanthrene	2.01	0.28	0.34	0.49	0.38	0.48	0.58	0.52	1.23	0.81	1.12	0.51
莎草酮 Solavetivone	2.07	0.07	0.09	0.10	0.01	0.05	0.15	0.08	0.13	0.07	0.16	0.09
葵花叔醇乙酸酯 Eudesma-5,11(13)-dien-8,12-olide	2.12	0.22	0.25	0.08	0.39	0.27	0.25	0.26	0.37	0.42	0.43	0.27
木香烃内酯 Eudesma-5,11(13)-dien-...	2.12	0.92	0.95	0.42	1.46	0.96	0.85	0.95	1.34	1.66	1.82	0.96
新植二烯 Neophytadiene	2.15	201.10	185.10	267.70	247.50	256.70	223.80	209.50	273.20	222.30	275.40	235.70
六氢金和欢烯丙酮 Hexahydrofarnesyl acetone	2.15	0.58	0.90	1.85	1.45	1.04	1.61	1.01	1.77	2.04	2.03	1.53
叶绿醇 Phytol	2.19	0.23	0.17	0.36	0.32	0.31	0.30	0.32	0.46	0.40	0.38	0.32
邻苯二甲酸二异丁酯 Phthalic acid isobutyl 4-octyl ester	2.19	0.63	4.47	5.85	3.98	4.30	4.35	1.83	2.59	2.28	2.27	3.29
未知 2 Unknown2	2.21	0.15	0.23	0.23	0.29	0.19	0.13	0.07	0.08	0.31	0.28	0.21
金合欢烯丙酮 Farnesyl acetone	2.28	2.74	3.06	6.58	7.22	7.31	5.09	4.62	7.24	6.32	6.48	6.40
棕榈酸甲酯 Palmitic acid methyl ester	2.30	8.05	10.27	14.84	13.77	12.52	11.32	10.30	23.20	18.35	16.85	13.15
十六酸 n-Hexadecanoic acid	2.36	23.48	46.56	14.9	43.87	37.00	18.45	52.13	26.32	55.29	52.13	40.44
油酸 Oleic-Acid	2.37	5.49	9.36	2.25	2.55	7.17	3.59	2.38	10.24	9.44	2.38	4.54
西柏三烯二醇-1 4,8,13-Duvatriene-1,3-Diol	2.46	3.52	3.09	3.89	2.64	1.51	2.55	1.44	1.92	2.41	1.44	2.48
视黄醇-1 Retinol	2.50	1.74	1.57	1.75	1.14	0.69	1.10	0.70	0.70	1.11	0.70	1.11
去氢表雄酮 Prasterone	2.50	0.58	0.63	1.27	0.43	0.30	0.40	0.27	0.41	0.62	0.27	0.42
视黄醇-2 Retinol-2	2.52	4.22	4.75	1.95	3.35	1.81	2.70	1.19	2.61	3.30	1.19	2.66
异香橙烯环氧化物 isoaromadendrene-epoxide	2.54	0.52	1.40	1.34	0.93	0.53	0.82	0.73	0.88	1.06	0.82	0.85
西柏三烯二醇-2 4,8,13-Duvatriene-1,3-Diol	2.55	3.12	3.49	2.64	2.02	0.99	1.73	1.58	1.53	1.8	1.73	1.76
西柏三烯二醇-3 4,8,13-Duvatriene-1,3-Diol	2.56	8.68	9.60	9.44	5.39	2.83	5.61	3.43	3.78	5.64	5.61	5.61
亚油酸甲酯 Linoleic acid methyl ester	2.57	1.28	2.15	2.26	1.88	1.72	1.72	1.71	3.84	2.78	1.72	1.80
亚油酸 Linoleic acid	2.63	3.12	7.09	6.57	7.06	6.14	5.43	8.09	19.80	12.74	5.43	6.81
三十七醇 1-Heptatriacotanol	2.59	3.83	3.24	3.59	1.92	1.00	1.62	1.08	1.63	1.61	1.62	1.62
西柏三烯二醇-4 4,8,13-Duvatriene-1,3-Diol	2.60	0.72	0.89	1.18	1.05	1.14	0.99	0.89	1.83	1.56	1.05	1.05
西柏三烯二醇-5 4,8,13-Duvatriene-1,3-Diol	2.63	3.38	3.55	0.54	5.87	4.08	0.75	10.09	1.75	3.63	5.87	3.59
硬脂酸甲酯 Stearic-acid-methyl-ester	2.62	3.12	7.09	6.57	7.06	6.14	5.43	8.09	19.80	12.74	9.99	7.08
亚麻酸 Linolenic-acid	2.65	3.83	3.24	3.59	1.92	1.00	1.62	1.08	1.63	1.61	5.50	1.78
黑松醇 Thunbergol	2.71	0.76	1.09	0.58	0.43	0.17	0.28	0.35	0.60	0.52	0.43	0.47
二十五烷 Pentacosane	3.24	0.15	0.06	0.07	0.15	0.12	0.01	0.05	0.14	0.13	0.15	0.12
二十七烷 Heptacosane	3.38	0.82	0.55	0.17	0.40	0.11	0.30	0.39	0.94	0.58	0.68	0.47

注: 53 号和 79 号物质峰由于质谱库中与之相对应物质的匹配率较低, 因此用未知 1 和未知 2 表示。
Note: Because the matching rate between material peak of No. 53 and 79 and aspects materials in the Mass databases was low, the name was remarked by unknown 1 and unknown 2.

表 2 南平烤烟指纹图谱相似度评价指标

Tab. 2 The similarity degree of fingerprint about flue-cured tobacco in Nanping area											
相似度 Similarity	1#	2#	3#	4#	5#	6#	7#	8#	9#	10#	平均值 Mean
相关系数 Related coefficient	0.996 7	0.995 9	0.993 0	0.999 8	0.999 4	0.995 9	0.996 4	0.994 5	0.996 0	0.999 6	0.996 7
夹角余弦 Cosine	0.996 8	0.995 8	0.993 1	0.999 8	0.999 4	0.996 0	0.996 5	0.994 7	0.995 8	0.999 6	0.996 8
欧式距离 Euclidean distance	40.60	51.74	41.71	13.17	21.99	25.53	30.06	45.87	23.26	42.20	33.61
程度相似度 Extent similarity	0.721 1	0.718 9	0.720 5	0.818 9	0.810 5	0.819 3	0.765 2	0.728 8	0.767 3	0.732 3	0.760 3

表 3 不同产区烤烟样品致香物质指纹图谱相似度分析

Tab. 3 The similarity degree of fingerprint about flue-cured tobacco in different tobacco production areas

产区 Producing unit	样品 编号	相关系数 Related coefficient	夹角余弦 Cosine	欧式距离 Euclidean distance	程度相似度 Extent similarity
南平 Nanping area	1#	0.989 7	0.990 7	6.408	0.748 5
	2#	0.881 2	0.893 2	20.78	0.720 7
	3#	0.969 7	0.972 0	11.19	0.746 0
	4#	0.978 6	0.980 0	24.78	0.769 5
	5#	0.950 8	0.956 2	32.08	0.722 7
	6#	0.982 2	0.984 1	19.78	0.691 0
	平均值	0.958 7	0.962 7	19.17	0.731 4
云南 Yunnan area	1#	0.750 4	0.779 7	45.85	0.497 7
	2#	0.430 6	0.502 0	45.45	0.560 6
	3#	0.227 6	0.297 8	67.78	0.505 3
	4#	0.383 1	0.448 1	66.55	0.561 3
	5#	0.436 9	0.501 5	60.05	0.508 6
	6#	0.650 4	0.692 0	42.30	0.520 9
	平均值	0.479 8	0.536 9	54.66	0.525 8
湖北 Hubei area	1#	0.129 4	0.195 4	65.35	0.536 6
	2#	0.660 3	0.701 0	33.48	0.575 9
	3#	0.383 7	0.456 8	49.03	0.571 0
	4#	0.142 5	0.220 3	99.91	0.474 7
	5#	0.311 2	0.386 3	73.55	0.578 2
	6#	0.311 0	0.386 2	73.54	0.551 9
	平均值	0.323 0	0.391 0	65.81	0.548 0
贵州 Guizhou area	1#	0.650 4	0.692 0	42.30	0.520 9
	2#	0.823 6	0.841 2	24.97	0.552 1
	3#	0.198 5	0.259 6	78.45	0.512 3
	4#	0.737 2	0.769 7	29.48	0.621 6
	5#	0.918 3	0.926 9	34.94	0.561 0
	6#	0.824 8	0.845 4	29.40	0.546 2
	平均值	0.692 1	0.722 5	50.92	0.552 4

而云南、湖北和贵州烤烟各样品与南平烤烟标准指纹图谱的程度相似度较低,另外,相关系数、夹角余弦和欧氏距离的值也都不在南平烟区烤烟相似度的范围内,说明云南、湖北和贵州烟区烤烟与南平烟区烤烟的品质特色各异,香型风格也存在很大的差别。也更进一步表明,所构建的南平烤烟 GC-MS 指纹图谱能够对其他烟区烤烟进行判别,但仅限于判断其他烟区的烤烟是否归属于南平烟区,若要对其他烟区烤烟的风格特色进行质量控制,也必须构建其他烟区烤烟所特有的 GC-MS 指纹图谱。

2.3 南平烤烟指纹图谱模式识别

利用南平烟区烤烟和其他风格特色烟区烤烟的指纹图谱来进行模式识别,从向量的空间分布角度对不同烟区样品特色和质量进行空间模式识别。主成分分析法是一种有效的数据降维的分析方法,它可将原始复杂 n 维空间变量简化成一组新的变量,即一组主成分。仅用部分主成分就可表达原有变量的主要信息。利用这一特性,可实现色谱数据的降维投影显示,从而使人们能直观地从二维或三维图中观察到色谱图的主要特性和聚类情况,从而采用主成分投影图法对样品的特色和风格稳定性进行模

式识别^[18]。

通过主成分分析对各个产区样品的致香物质结果进行分析,其中前三个主成分的方差累计贡献率达到 56.83%,能解释样品大部分的信息量。其主成分投影图如图 1 所示,根据图 1 并结合表 3 中的相似度值,可以看出,构建南平标准指纹图谱的 10 个烤烟样品与随机选取的南平样品能很好的聚集到一起,湖北样品也相对集中,但有 2 个样品出现较大的偏离,这与样品选择有一定的关系,但仍在适宜的范围内。而云南和贵州样品虽然相对集中,但在二维图中稍有交叉,这主要是由于二维投影图的信息量不足造成的,由于三维投影图能反映出的信息量较大,从而从三维投影图可以看出,云南和贵州样品相对分离较好。综上所述,不同产区烤烟由于具有不同的风格特色,从而能够很好的聚合到一齐,界限也较为明显,与表 3 的相似度计算结果一致。该模式识别能够直观显示各个产区烤烟的空间分布,能对不同烟区烤烟进行空间识别。从模式识别中也进一步验证了利用 GC-MS 指纹图谱对样品进行风格特色定位和质量控制的可行性。

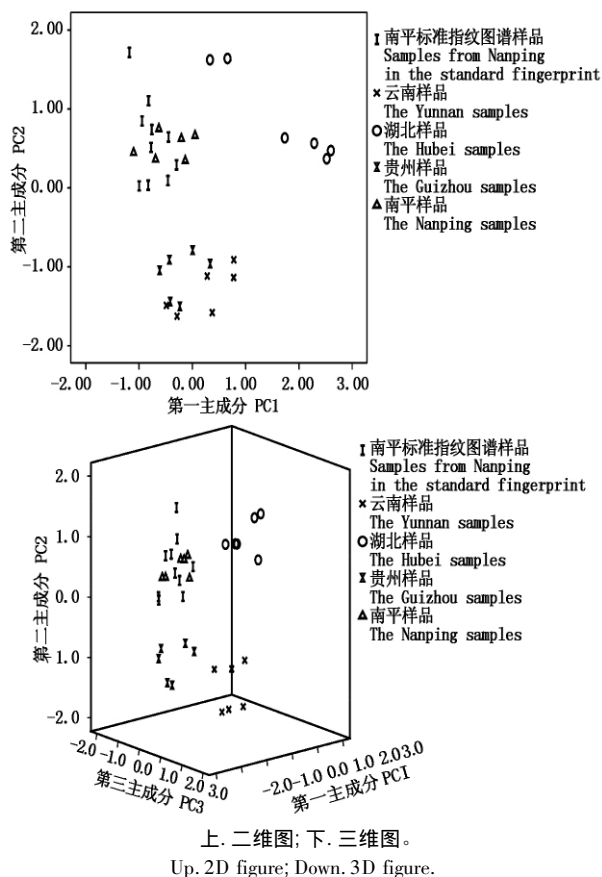


图1 不同产区烤烟样品指纹图谱的主成分投影图

Fig. 1 The principal component projection map of different tobacco production areas

3 结论

文章通过借鉴中药和烟用香精香料质量控制研究领域常用的指纹图谱技术,建立了南平烤烟致香物质 GC-MS 指纹图谱,并利用中位数法构建了标准指纹图谱。通过相似度公式分别计算了南平各个样品与标准指纹图谱的相似度,相似度计算结果值较大,表明样品相似程度较高。文中又选取南平、云南、湖北和贵州烤烟样品对南平标准指纹图谱进行验证,通过计算指纹图谱相似度,结果显示在选取的6个南平样品中,有5个样品的相似度值在南平烤烟指纹图谱相似度的范围内,表明该标准指纹图谱对南平样品判断的准确性较高。而其他3个烟区样品的相似度值较小,说明三个产区与南平烟区烤烟差异较大。最后,文章通过主成分分析对各产区样品进行了模式识别,模式识别的效果较好,并且与相似度计算结果一致。通过以上分析可以得出,所构建的南平烤烟致香物质指纹图谱具有较高的稳定性和准确性,并且具有较好的应用前景。

但是该指纹图谱仅对南平烟区烟叶的整体风格特色和质量进行分析,而不能对南平烟区烤烟进行更

深层次的质量控制。因此,需要我们在以后的工作中对南平烟区具体的内在质量指标建立标准指纹图谱,例如构建香型、质量档次、劲头等标准指纹图谱,只有这样才能对南平烟区烤烟做更深入的质量控制。

参考文献:

- [1] 孙磊, 乔善义, 赵毅民. 中药指纹图谱应用研究进展[J]. 国际药学研究杂志, 2009(03): 194-197, 203.
- [2] 韩晔华, 霍飞凤, 杨悠悠, 等. 中药指纹图谱研究的某些进展与展望[J]. 色谱, 2008(02): 142-152.
- [3] 郑颖, 吴凤镔. 中药指纹图谱的研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2003(01): 55-60.
- [4] 陈爱明, 梁逸曾, 张良晓, 等. 烟用香精香料指纹图谱质量控制系统的构建[J]. 计算机与应用化学, 2009(03): 373-378.
- [5] 王钧, 赵曰利. 色谱指纹图谱在香精香料质量控制中的应用[J]. 分析测试技术与仪器, 2005(03): 192-196.
- [6] 李蓉, 曹慧君, 李晓宁, 等. 烟用香精香料的气相色谱特征指纹图谱分类研究[J]. 化工时刊, 2007(08): 45-48.
- [7] 王平, 朱晓兰, 苏庆德, 等. 色谱指纹图谱分析在香精香料质量控制中的应用[J]. 化工新型材料, 2010(04): 114-116, 124.
- [8] 余苓, 张怡春, 周春平, 等. 烟丝硅烷化 GC 指纹图谱在卷烟质量判别中的应用[J]. 中国烟草学报, 2007(03): 18-20.
- [9] 余苓, 刘百战, 王美琳, 等. 指纹图谱异常指数法在烟气色谱数据处理中的应用[J]. 中国烟草学报, 2006(04): 15-19.
- [10] 廖堃, 胡纲. 气相色谱-质谱指纹图谱在甄别真假卷烟上的应用[J]. 分析测试学报, 2006(01): 22-26.
- [11] 李军, 朱苏闽, 林平固. 固相微萃取-气相色谱-质谱指纹图谱鉴别仿冒品牌卷烟[J]. 烟草科技, 2002(12): 26-28.
- [12] 谢培山. 中药质量控制的发展趋势[J]. 中医药现代化, 2003, 5(3): 56-59.
- [13] 李希强, 王笛, 陆舍铭, 等. 夹角余弦与欧式距离相结合建立烟用香精 HPLC 指纹图谱[J]. 香料香精化妆品, 2007(06): 26-30.
- [14] 程翼宇, 陈闽军, 吴永江. 化学指纹图谱的相似性测度及其评价方法[J]. 化学学报, 2002(11): 2017-2021, 1895.
- [15] 杨忠民, 李忠民, 赵曰利, 等. 指纹图谱相似度新算法的研究[J]. 中国测试技术, 2008(03): 141-144.
- [16] Torriani S, Zapparoli G, Dellaglio F. Use of PCR method for rapid differentiation of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Lactis* [J]. Appl Environ Microbiol, 1999, 65(10): 4351-4356.
- [17] Rull. A palynological record of a secondary succession after fire in the Gran Sabana, V [J]. Journal of Quaternary Science, 1999, 14(2): 137-152.
- [18] 钟科军, 魏万之, 郭方道, 等. GC-MS 及主成分分析法用于咖啡香精的指纹图谱分析和微差样品的识别[J]. 分析实验室, 2006(08): 119-122.