



DOI:10.13364/j.issn.1672-6510.20160415

数字出版日期: 2018-04-11; 数字出版网址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/12.1355.N.20180411.1436.002.html>

## 基于生物胺和氨基酸的黄酒产地判别

李妍<sup>1</sup>, 李敏<sup>2</sup>, 朱晓娟<sup>3</sup>, 陈浩宇<sup>3</sup>, 吕晓玲<sup>1</sup>, 张颖<sup>1</sup>, 张健<sup>3</sup>

(1. 食品营养与安全教育部重点实验室, 天津科技大学食品工程与生物技术学院, 天津 300457;

2. 天津科技大学化工与材料学院, 天津 300457; 3. 天津科技大学生物工程学院, 天津 300457)

**摘要:** 采用高效液相色谱法测定不同产地黄酒中的生物胺和氨基酸含量, 并结合多元统计分析方法对黄酒产地进行区分判别。单因素方差分析(ANOVA)结果显示, 除甘氨酸、 $\beta$ -苯乙胺和尸胺外, 不同产地的黄酒样品中其他生物胺和氨基酸均存在显著差异。相关性分析(CA)结果显示, 腐胺、组胺和酪胺与大多数氨基酸之间密切正相关, 而亚精胺与氨基酸之间呈负相关。最后采用判别分析(DA)和人工神经网络分析(ANN), 分别建立了基于生物胺和氨基酸的黄酒产地的判别模型。本研究建立的模型可以很好地区分不同产地的黄酒, 为黄酒的鉴别和原产地保护提供了一种参考方法。

**关键词:** 黄酒; 生物胺; 氨基酸; 多元统计分析

中图分类号: TS262.4

文献标志码: A

文章编号: 1672-6510(2018)04-0026-07

## Identification of Rice Wine Origins Based on Amino Acids and Biogenic Amines

LI Yan<sup>1</sup>, LI Min<sup>2</sup>, ZHU Xiaojuan<sup>3</sup>, CHEN Haoyu<sup>3</sup>, LÜ Xiaoling<sup>1</sup>, ZHANG Ying<sup>1</sup>, ZHANG Jian<sup>3</sup>

(1. Key Laboratory of Food Nutrition and Safety, Ministry of Education, College of Food Engineering and Biotechnology,

Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China; 2. College of Chemical Engineering and Materials

Science, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China; 3. College of Biotechnology,

Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

**Abstract:** The content of amino acids and biogenic amines in rice wines from different producing areas was determined with high performance liquid chromatography. Multivariate statistical analysis was used to discriminate rice wine of different producing areas. One-way analysis of variance (ANOVA) analysis showed that there were significant differences in biogenic amines and amino acids in rice wines from different areas, except glycine,  $\beta$ -phenylethylamine and cadaverine. A positive correlation between putrescine, histamine, tyramine and amino acids and a negative correlation between spermidine and amino acids were found by correlation analysis (CA). Finally, a producing-area discriminative model of rice wine based on biogenic amines and amino acids was established through discriminating analysis (DA) and artificial neural network analysis (ANN). The model can be used to distinguish rice wine from different producing areas, and also provide a reference method for identifying and protecting the authentic rice wine.

**Key words:** rice wine; biogenic amines; amino acids; multivariate statistical analysis

黄酒是我国特有的传统酒种, 与葡萄酒和啤酒并称为世界三大古酒。黄酒是以谷物为原料, 应用霉菌、酵母和细菌等多种微生物共同作用酿造而成, 富含低聚糖、有机酸、氨基酸、维生素、微量芳香成分和矿物质等成分。黄酒营养丰富, 在我国长江以南地区

十分流行, 深受消费者喜爱<sup>[1-2]</sup>。

黄酒产品的风格特点具有鲜明的地域性, 比如: 鲁派黄酒以黍米为原料, 酒液清亮透明, 深棕红色, 酒香浓郁, 口味醇厚, 微苦而余香不绝; 海派黄酒通过创新传统黄酒的酿制工艺、配方, 如添加枸杞、蜂

收稿日期: 2016-12-21; 修回日期: 2017-05-31

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31471725)

作者简介: 李妍(1991—), 女, 天津人, 硕士研究生; 通信作者: 张健, 副研究员, zj96sk@tust.edu.cn

蜜、姜汁,起到改变口感和增加营养双重目的;闽派黄酒采用红曲、糯米,配以山泉精酿而成,具有清爽、低糖、原味、本色、营养、绿色等特色;绍派黄酒以糯米为原料,采用鉴湖之水,按传统工艺酿造,酒液橙黄清亮、醇厚甘甜、馥郁芬芳<sup>[3]</sup>。绍派黄酒是历史最悠久、最有代表性的黄酒产品。2008年,绍兴黄酒(绍兴酒)成为我国第一个地理标志(原产地)保护的黄酒产品。按照标准 GB/T 17946—2008《地理标志产品·绍兴酒(绍兴黄酒)》<sup>[4]</sup>规定,只有使用绍兴的鉴湖水系并严格按照绍兴酒质量和工艺标准生产的黄酒,才能称为“绍兴黄酒”或“绍兴酒”。随着“地理标志”概念的推广与普及,相信在不久的将来会有更多的特色黄酒产品受到原产地保护。

为了使标准能够贯彻实施,黄酒的“地理标志”身份检测至关重要。目前类似的检测方法在葡萄酒、蜂蜜和中药材中均有大量报道,但是对于黄酒产品,仅有寥寥几篇采用电子舌、电子鼻或可见/近红外光谱对黄酒进行风格、产地及酒龄的判别<sup>[5-7]</sup>。黄酒富含氨基酸,而氨基酸的种类和含量与原料和工艺息息相关。生物胺是由氨基酸脱羧而成,是黄酒中潜在的危害物质。氨基酸和生物胺基本代表了黄酒中主要的含氮物质,对这些成分的分析有可能找到不同产地黄酒中氮素的区别,从而对不同产地的黄酒进行判别区分<sup>[8]</sup>。

为此,本实验以我国4个主要产地的黄酒为实验样本,通过高效液相色谱(HPLC)技术对其中的游离氨基酸和生物胺进行定性和定量分析。采用单因素方差分析4个产区黄酒中的游离氨基酸和生物胺的差异,采用相关分析研究游离氨基酸和生物胺的相关性,最后采用多元统计方法分别建立基于游离氨基酸和生物胺水平的线性和非线性的产地判别模型,旨在为黄酒保真和原产地保护提供参考方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验原料

48个市售黄酒样品来源于4个产地(产地影响力较大,地域特征较强),见表1。

### 1.2 试剂与仪器

衍生化试剂丹磺酰氯、2,4-二硝基氟苯、色胺、 $\beta$ -苯乙胺、腐胺、尸胺、组胺、酪胺、亚精胺,色谱纯,北京鼎国昌盛生物技术有限公司;氨基酸标准品(AAS18)、鸟氨酸、色氨酸,色谱纯, Sigma 公司;乙腈、甲酸,色谱纯,上海安谱实验科技股份有限公司;

甲醇、丙酮、盐酸(37%)、氨水(27%)、氢氧化钠、碳酸氢钠,磷酸二氢钾、乙酸钠,分析纯,天津市江天化工技术有限责任公司。

表1 黄酒样品的产地和数量

Tab. 1 The origin and amount of rice wine samples

产地	数量
浙江(地理标志绍兴酒)	13
浙江(非地理标志绍兴产其他黄酒和省内其他黄酒)	3
上海	11
山东	12
湖北	9

LC-20A 型高效液相色谱仪,日本岛津科技有限公司; ODS-C18 色谱柱,天津博纳艾杰尔科技有限公司; 高速冷冻离心机,德国 Thermo 有限公司; 涡旋振荡仪,德国 Wiggins 公司; 超纯水机,密理博中国有限公司; 水浴锅,天津欧诺仪器仪表有限公司; CNW MCX 固相萃取柱,上海安谱实验科技股份有限公司。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 生物胺的测定方法

衍生化处理:吸取 1 mL 生物胺混合标准溶液、1 mL 衍生剂(丹磺酰氯溶液)、1 mL 饱和碳酸氢钠溶液于 10 mL 离心管中,轻轻振荡混匀,置于 60 °C 恒温水浴锅中反应 30 min; 衍生完成后取出冷却,向离心管中加入 100  $\mu$ L 氨水,再次置于 60 °C 水浴锅中反应 15 min, 样液备用。将 CNW MCX 固相萃取柱与 Visiprep 型固相萃取装置相连,用甲醇和超纯水洗柱后,将样液与 5% 的甲酸混合后上柱,流速为 1~2 滴/秒; 待超纯水淋洗萃取柱后,用含 5% 氨水的甲醇洗脱,收集洗脱后经 0.22  $\mu$ m 有机膜过滤,待进样。

色谱条件:色谱柱为 Phenomenon ODS-C18 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu$ m) 配以 C18 保护柱(4.0 mm $\times$ 3.0 mm, 5  $\mu$ m), 采用二元梯度分析,流动相 A 为超纯水,流动相 B 为 100% 乙腈,柱温 30 °C,进样量 20  $\mu$ L, 流量 1 mL/min, 检测波长为 254 nm。

#### 1.3.2 氨基酸测定方法

衍生化处理:取 100  $\mu$ L 衍生缓冲溶液(碳酸氢钠溶液)于 10 mL EP 管中,加入 10  $\mu$ L 标准品或待测样品和 50  $\mu$ L 衍生剂,最后加入 740  $\mu$ L 缓冲溶液(磷酸二氢钾溶液),避光 65 °C 水浴 1 h。经 0.22  $\mu$ m 有机膜过滤后,待进样。

色谱条件:色谱柱为 Phenomenon ODS-C18 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu$ m) 配以 C18 保护柱(4.0 mm $\times$ 3.0 mm, 5  $\mu$ m), 采用二元梯度分析,流动相 A 为乙

酸钠溶液,流动相 B 为乙腈/超纯水(体积比为 1 : 1),柱温 33 °C,进样量 20 μL,流量 1 mL/min,检测波长为 360 nm.

### 1.4 统计分析方法

实验数据的单因素方差分析(ANOVA)、相关性分析(CA)、主成分分析(PCA)、判别分析(DA)研究由 SPSS 17.0 实现(SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA);由 MATLAB 7.14(Release 2012a, Mathworks, USA)进行人工神经网络(ANN)分析.\*表示  $P < 0.05$  为显著性差异,\*\*表示  $P < 0.01$  为极显著性差异,均有统计学意义.

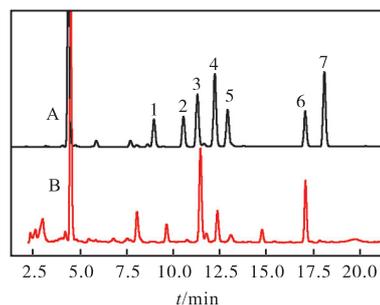
## 2 结果与分析

### 2.1 生物胺含量分析

#### 2.1.1 生物胺混合标准品及样品的液相色谱分析

标准品及样品高效液相色谱图如图 1 所示.从图 1 可以看出,各色谱峰间分离度良好,峰形尖锐,

无拖尾现象,可以满足常规的定性与定量分析.



A 为 7 种生物胺混合标准品,B 为黄酒样品. 1. 色胺;2. β-苯乙胺; 3. 腐胺;4. 尸胺;5. 组胺;6. 酪胺;7. 亚精胺

图 1 生物胺混合标准品及样品高效液相色谱图

Fig.1 HPLC of the biogenic amine standards and the samples

#### 2.1.2 生物胺含量概况

48 个黄酒样品中检测出了 6 种生物胺,色胺在所有样品中均未检出.浙江产地的黄酒中生物胺含量最高,其次为上海(表 2).

表 2 生物胺的方差分析结果

Tab.2 ANOVA results of biogenic amines

变量	浙江	上海	山东	湖北	显著性
β-苯乙胺	4.58 ± 1.83	3.80 ± 1.77	3.71 ± 1.88	2.96 ± 2.54	
腐胺	44.48 ± 17.41	28.66 ± 10.25	15.80 ± 10.44	15.18 ± 24.65	**
尸胺	8.00 ± 8.76	5.61 ± 2.63	5.59 ± 5.24	2.56 ± 2.68	
组胺	6.65 ± 4.74	5.05 ± 2.44	0.20 ± 0.42	1.65 ± 2.27	**
酪胺	59.25 ± 28.72	23.49 ± 11.28	16.55 ± 13.26	5.15 ± 6.81	**
亚精胺	1.99 ± 1.14	2.17 ± 0.35	2.85 ± 0.50	2.45 ± 0.86	*

### 2.2 氨基酸含量分析

#### 2.2.1 氨基酸混合标准品及样品的液相色谱分析

氨基酸标准品与样品高效液相色谱图见图 2.由图 2 可以看出,各色谱峰间分离度良好,峰形尖锐,可以满足常规的定性与定量分析.

#### 2.2.2 游离氨基酸含量概况

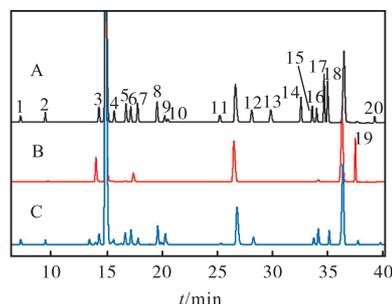
48 个黄酒样品中检测出了 18 种氨基酸,氯化铵和色氨酸在所有样品中均未检出.浙江黄酒中氨基酸含量最高,其次为上海(表 3).

### 2.3 多元统计分析

#### 2.3.1 单因素方差分析

浙江、上海、山东和湖北产地的 48 个黄酒样品中,可检出游离氨基酸及生物胺含量的单因素方差分析结果见表 2 和表 3.结果表明,在 95% 的显著水平上,黄酒样品中除甘氨酸、β-苯乙胺和尸胺外,其他 21 个变量在产地间均存在显著差异.这可能与不同产区黄酒所用的原、辅料和工艺不同有关,呈现出很强的地域差别.总体而言,浙江产地黄酒中游离氨基

酸(除甘氨酸)含量要明显高于其他 3 个产地.相应的,浙江产地黄酒中生物胺(除亚精胺)含量也明显高于其他 3 个产地.



A 为 19 种氨基酸混合标准品,B 为鸟氨酸标准品,C 为黄酒样品. 1. 天冬氨酸;2. 谷氨酸;3. 丝氨酸;4. 赖氨酸;5. 精氨酸;6. 甘氨酸; 7. 苏氨酸;8. 脯氨酸;9. 丙氨酸;10. 氯化铵;11. 苯丙氨酸; 12. 缬氨酸;13. 酪氨酸;14. 胱氨酸;15. 异亮氨酸;16. 亮氨酸; 17. 色氨酸;18. 组氨酸;19. 鸟氨酸;20. 蛋氨酸

图 2 氨基酸标准品与样品高效液相色谱图

Fig.2 HPLC of the amino acids standards and the samples

表3 游离氨基酸的方差分析结果  
Tab.3 ANOVA results of free amino acids

变量	浙江	上海	山东	湖北	显著性
天冬氨酸	3.01 ± 0.41	2.93 ± 0.36	0.68 ± 0.62	0.81 ± 0.77	**
谷氨酸	3.04 ± 0.78	2.41 ± 0.51	2.75 ± 2.37	1.37 ± 1.16	*
丝氨酸	3.12 ± 0.35	2.52 ± 0.19	0.64 ± 0.35	0.83 ± 0.95	**
赖氨酸	1.64 ± 0.30	1.52 ± 0.15	0.27 ± 0.31	0.30 ± 0.36	**
精氨酸	3.61 ± 0.39	3.04 ± 0.52	0.33 ± 0.36	0.65 ± 0.91	**
甘氨酸	5.20 ± 1.25	3.36 ± 0.19	2.48 ± 5.28	8.39 ± 12.96	
苏氨酸	1.40 ± 0.16	1.17 ± 0.08	0.23 ± 0.22	0.41 ± 0.36	**
酪氨酸	4.31 ± 0.48	3.75 ± 0.48	0.92 ± 0.74	0.85 ± 0.59	**
丙氨酸	10.09 ± 1.42	3.88 ± 4.36	1.02 ± 1.76	0.34 ± 0.67	**
苯丙氨酸	1.46 ± 0.18	0.91 ± 0.10	0.32 ± 0.23	0.44 ± 0.32	**
缬氨酸	2.83 ± 0.32	2.23 ± 1.74	0.28 ± 0.35	0.82 ± 0.78	**
酪氨酸	0.12 ± 0.12	0.03 ± 0.02	0.04 ± 0.02	0.09 ± 0.13	*
胱氨酸	0.18 ± 0.08	0.15 ± 0.04	0.01 ± 0.04	0.04 ± 0.04	**
异亮氨酸	1.90 ± 0.22	1.47 ± 0.13	0.13 ± 0.24	0.44 ± 0.48	**
亮氨酸	5.37 ± 0.64	4.69 ± 0.68	0.58 ± 0.76	1.76 ± 1.19	**
组氨酸	1.55 ± 0.13	1.05 ± 0.12	0.14 ± 0.21	0.40 ± 0.39	**
鸟氨酸	2.71 ± 0.99	1.71 ± 0.28	0.25 ± 0.29	0.37 ± 0.27	**
蛋氨酸	0.02 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.01	**

### 2.3.2 相关性分析

使用 Pearson's 积差相关度对用于产地鉴别的原始数据进行相关分析,表4列出了显著相关的60对变量,其中47对变量极显著相关.由此表可以看出,腐胺、组胺、酪胺与大多数氨基酸之间密切正相关,而亚精胺与氨基酸之间呈负相关.由表2—表4可

知:氨基酸含量越高,则生物胺含量也越高,浙江产区黄酒样品中氨基酸含量丰富,所以生物胺含量也相对较高,上海次之;对于亚精胺而言,氨基酸含量越高,亚精胺含量越低,结果显示浙江产区黄酒中亚精胺含量较其他3个产地的更低.

表4 变量间的 Pearson's 显著相关

Tab.4 Significant Pearson's correlations between variables

变量	R	P值	变量	R	P值	变量	R	P值
苯乙胺-甘氨酸	-0.395	<0.01	组胺-赖氨酸	0.581	<0.01	酪胺-丙氨酸	0.745	<0.01
苯乙胺-丙氨酸	0.423	<0.01	组胺-精氨酸	0.586	<0.01	酪胺-苯丙氨酸	0.632	<0.01
腐胺-天冬氨酸	0.414	<0.01	组胺-苏氨酸	0.587	<0.01	酪胺-缬氨酸	0.565	<0.01
腐胺-丝氨酸	0.465	<0.01	组胺-脯氨酸	0.523	<0.01	酪胺-胱氨酸	0.479	<0.01
腐胺-赖氨酸	0.558	<0.01	组胺-丙氨酸	0.632	<0.01	酪胺-异亮氨酸	0.582	<0.01
腐胺-精氨酸	0.527	<0.01	组胺-苯丙氨酸	0.535	<0.01	酪胺-亮氨酸	0.546	<0.01
腐胺-苏氨酸	0.522	<0.01	组胺-缬氨酸	0.578	<0.01	酪胺-组氨酸	0.617	<0.01
腐胺-脯氨酸	0.530	<0.01	组胺-酪氨酸	0.347	<0.05	酪胺-鸟氨酸	0.518	<0.01
腐胺-丙氨酸	0.690	<0.01	组胺-胱氨酸	0.622	<0.01	酪胺-蛋氨酸	0.514	<0.01
腐胺-苯丙氨酸	0.540	<0.01	组胺-异亮氨酸	0.599	<0.01	亚精胺-天冬氨酸	-0.349	<0.05
腐胺-缬氨酸	0.523	<0.01	组胺-亮氨酸	0.580	<0.01	亚精胺-丝氨酸	-0.334	<0.05
腐胺-胱氨酸	0.533	<0.01	组胺-组氨酸	0.580	<0.01	亚精胺-赖氨酸	-0.301	<0.05
腐胺-异亮氨酸	0.538	<0.01	组胺-鸟氨酸	0.514	<0.01	亚精胺-精氨酸	-0.366	<0.05
腐胺-亮氨酸	0.493	<0.01	组胺-蛋氨酸	0.549	<0.01	亚精胺-脯氨酸	-0.345	<0.05
腐胺-组氨酸	0.534	<0.01	酪胺-天冬氨酸	0.466	<0.01	亚精胺-丙氨酸	-0.334	<0.05
腐胺-鸟氨酸	0.500	<0.01	酪胺-丝氨酸	0.570	<0.01	亚精胺-苯丙氨酸	-0.387	<0.01
腐胺-蛋氨酸	0.352	<0.05	酪胺-赖氨酸	0.542	<0.01	亚精胺-缬氨酸	-0.359	<0.05
尸胺-丙氨酸	0.347	<0.05	酪胺-精氨酸	0.567	<0.01	亚精胺-异亮氨酸	-0.339	<0.05
组胺-天冬氨酸	0.523	<0.01	酪胺-苏氨酸	0.567	<0.01	亚精胺-亮氨酸	-0.318	<0.05
组胺-丝氨酸	0.535	<0.01	酪胺-脯氨酸	0.589	<0.01	亚精胺-组氨酸	-0.343	<0.05

### 2.3.3 逐步判别分析

判别分析中指标较多时,一些不重要变量的引入

会产生干扰而影响判别效果,甚至一些变量的引入可能引起计算上的困难.因此,变量的选择是判别分析

中重要的问题, 逐步判别分析就是解决合理选择变量进行判别分析的一种方法. 采用逐步判别的方法, 从具有显著差别的 21 个变量中选出了 9 个具有较强判别能力的变量: 丝氨酸、赖氨酸、酪氨酸、丙氨酸、缬氨酸、酪氨酸、胱氨酸、组氨酸和组胺, 进行 Fisher 判别分析(典则判别分析). 得到 3 个典则判别方程(函数 1、函数 2 和函数 3), 各变量的系数见表 5.

表 5 产地鉴别典则判别方程系数

Tab. 5 Canonical discrimination function coefficients of origin identification

变量	函数 1	函数 2	函数 3
丝氨酸	0.938	-5.124	3.772
赖氨酸	-1.041	-6.341	-0.299
脯氨酸	1.691	-1.310	1.409
丙氨酸	0.054	0.359	0.140
缬氨酸	-2.541	6.780	3.201
酪氨酸	2.233	0.995	-6.117
胱氨酸	-8.203	8.522	7.993
组氨酸	-0.335	3.375	-0.893
组胺	0.258	-0.194	0.006

本研究所用的逐步判别方法为 Milks Lambra. 其判据是: 进入模型的  $F$  值为 3.84; 从模型中剔除变量的  $F$  值为 2.71. 生物胺变量中只有组胺进入了模型, 可见在黄酒产地判别中, 氨基酸更为重要. 图 3 是 3 个典则判别方程的三维得分图, 在图中可清楚地看到 48 个样品分布到 4 个区域中, 明显可以分开. 但是, 对浙江产区内的地理标志绍兴酒和绍兴产其他黄酒及省内其他黄酒样品, 三维得分图却无法分开.

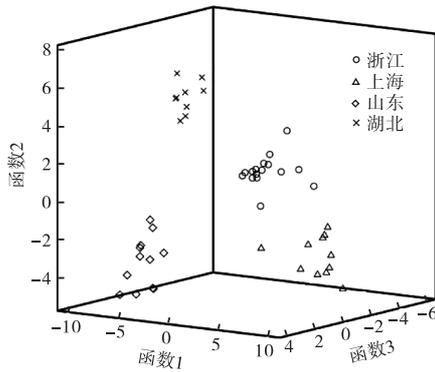


图 3 黄酒样本的判别方程三维得分图  
Fig. 3 3D scores of rice wine samples

用所建立的模型进行回代检验和交叉验证(随机从一组测定数据中抽取一部分数据来建立模型, 用其余的数据检验此模型的验证方法), 最终的 Bayes 判别结果见表 6. 回代检验结果表明, 整体的判别正确

率为 100%. 交叉验证中有 2 个样品的产地被判错, 整体判别正确率为 96%, 误判率较低. 浙江产区中有 1 个样品被误判为上海的产品, 但该样品却是地理标志绍兴酒, 可见采用逐步判别方法选择氨基酸和生物胺对黄酒产地进行判别是可行的; 但该方法无法对同属浙江省的地理标志绍兴酒和绍兴产其他黄酒及省内其他黄酒样品的进行判别.

表 6 产地鉴别的 Bayes 判别结果

Tab. 6 Bayes discrimination results of origin identification

方法	产地	浙江	上海	山东	湖北	
回代 检验	数量	浙江	16	0	0	0
		上海	0	11	0	0
		山东	0	0	12	0
		湖北	0	0	0	9
	百分比/%	浙江	100.0	0.0	0.0	0.0
		上海	0.0	100.0	0.0	0.0
		山东	0.0	0.0	100.0	0.0
		湖北	0.0	0.0	0.0	100.0
交叉 检验	数量	浙江	15	1	0	0
		上海	0	11	0	0
		山东	0	1	11	0
		湖北	0	0	0	9
	百分比/%	浙江	93.8	6.3	0.0	0.0
		上海	0.0	100.0	0.0	0.0
		山东	0.0	8.3	91.7	0.0
		湖北	0.0	0.0	0.0	100.0

地理标志绍兴酒的认证必须具备 3 个条件: 一是企业所属地域必须在绍兴鉴湖水系特定的地域范围内; 二是必须采用优质糯米、小麦、鉴湖水作为酿酒原料, 经独特工艺发酵酿造而成, 产品质量必须符合国家标准 GB/T 17946—2008<sup>[4]</sup>; 三是企业必须具有一定的人文历史. 由此可见, 难于判别地理标志绍兴酒和绍兴产其他黄酒及浙江省内其他黄酒样品是很正常和容易理解的.

黄酒中的氨基酸和生物胺受到原辅料、微生物、水质和酿造工艺等多种因素的影响, 其差异间接反映了这些因素的不同. 上海、山东、湖北产区的酿造用水均非鉴湖水, 湖北产区的很多黄酒采用小曲糖化发酵, 山东产区的很多黄酒采用黍米酿造. 另外, 酿造工艺上各产区也有自身的特点, 有用传统摊饭发酵, 也有喂饭发酵; 有大缸发酵人工开耙, 也有大罐发酵自动开耙. 总之, 这些因素差别越大, 以氨基酸和生物胺为参数分类酒样就越容易.

### 2.3.4 人工神经网络

人工神经网络是一种模仿动物神经网络行为特

征,进行分布式并行信息处理的算法数学模型.这种网络依靠系统的复杂程度,通过调整内部大量节点之间相互连接的关系,从而达到处理信息的目的,并具有自学习和自适应的能力<sup>[9]</sup>.BP网络(back propagation)是目前应用最广泛的神经网络模型之一.BP网络能学习和存贮大量输入-输出模式的映射关系,它具有实现任何复杂非线性映射的功能,能以任意精度逼近任何非线性连续函数.在建模过程中的许多问题正是具有高度的非线性,这使得它特别适合于求解内部机制复杂的问题<sup>[10]</sup>.

#### (1) 隐含层神经元数的确定

隐含层神经元个数对BP神经网络影响较大,若隐含层神经元的个数较少,则不能充分描述输出和输入变量之间的关系;相反,若隐含层神经元个数较多,则会导致网络学习时间变长,甚至会出现过拟合的问题.一般根据参考公式 $n = \sqrt{a+b} + c$ ,其中 $n$ 代表隐含层神经元数, $a$ 代表输入向量维数, $b$ 代表输出向量维数, $c$ 代表1~10的正整数,可推出隐含层单元数的选取范围.根据上述公式可得出最佳隐含层神经元数在5~15之间,依次从最小神经元数至最大神经元数训练网络(此时学习率为0.01),结果见表7.由表7可知神经元数为7时决定系数 $R^2$ 相对较小.

表7 BP神经网络中神经元个数的选取

Tab.7 Selection of neuron number in BP artificial neural network

隐含层神经元/个	决定系数 $R^2$	隐含层神经元/个	决定系数 $R^2$
5	6.247 3	11	6.246 0
6	6.045 0	12	6.314 2
7	5.988 2	13	6.379 6
8	5.993 1	14	6.383 5
9	5.999 7	15	6.398 4
10	6.232 1		

#### (2) 学习率的确定

学习率的确定大多根据经验值进行多次尝试,本实验分别取0.01、0.03、0.05,对网络进行训练和测试.推测在隐含层神经元数取7时,网络性能得到极大地改善.由表8可知,学习率越大,网络训练次数越少,实际误差变化较小.本实验中拟选学习率为0.05.

BP神经网络预测值与真实值对比如图4所示.从图4中可以清晰地看到,BP神经网络能较好地实现产地的预测,模型拟合度良好,结果正确率100%,相对误差低于0.2%.人工神经网络具有自学习功能和联想存储功能,在寻找一个复杂问题的优化

解时,往往需要很大的计算量,利用一个针对某问题而设计的反馈型人工神经网络,发挥计算机的高速运算能力,能很快找到优化解.相比逐步判别分析,人工神经网络建模预测更准确;但显然,该方法也无法对同属浙江省的地理标志绍兴酒和绍兴产其他黄酒及省内其他黄酒样品进行预测.

表8 BP神经网络学习率的选择

Tab.8 Selection of learning rate in BP artificial neural network

学习率	平均训练次数	实际误差
0.01	205	0.009 995 02
0.03	187	0.009 996 19
0.05	161	0.009 996 04

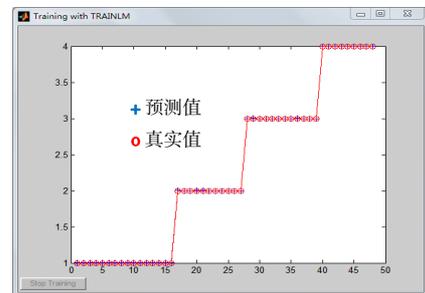


图4 预测值与真实值对比

Fig.4 Contrast of predicted and real values

### 3 结论

所有黄酒样品中均未检出色胺、氯化铵和色氨酸.不同产地的黄酒中,除甘氨酸、 $\beta$ -苯乙胺和尸胺外,其他6种生物胺和15种氨基酸均存在显著差异.腐胺、组胺、酪胺与大多数氨基酸之间呈正相关,而亚精胺与氨基酸之间呈负相关.基于氨基酸和生物胺的含量的逐步判别方程和人工神经网络模型均能实现黄酒产地的判别与预测,但是这两种方法均无法对同属浙江省的地理标志绍兴酒和绍兴产其他黄酒及省内其他黄酒样品进行判别.

建立地理标志绍兴酒的检测方法对原产地保护具有重要意义,但难度很大,尤其是对于浙江省内采用鉴湖水系的酿造黄酒的地域,因为这些地域内很多酒厂的工艺相似、风土相近,地理标志绍兴酒与非地理标志酒的区别也许并非黄酒本身,而在于是否认证.以不同产区(省)为单位来分类判别黄酒可能更为实际,这也是黄酒原产地保护的趋势.

#### 参考文献:

[1] 陈金娥,高虹.不同品种黄酒中多酚含量及抗氧化性研

- 究[J]. 酿酒科技, 2008, 166(4): 37-38.
- [2] 谢广发. 黄酒的功能性成分与保健功能[J]. 酿酒, 2008, 35(5): 14-16.
- [3] 汪建国, 奕水明. 我国名优黄酒的产生、特征、改革和发展[J]. 中国酿造, 2008, 187(10): 16-20.
- [4] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 17946—2008 地理标志产品·绍兴酒(绍兴黄酒)[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [5] Shen F, Yang D, Ying Y, et al. Discrimination between Shaoxing Wines and other Chinese rice wines by near-infrared spectroscopy and chemometrics[J]. Food and Bioprocess Technology, 2012, 5(2): 786-795.
- [6] 曾金红, 江涛, 郑云峰, 等. 基于仿生嗅觉特征的黄酒产地判别研究[J]. 酿酒科技, 2012, 212(2): 23-26.
- [7] 胡健, 池国红, 吴苗叶, 等. 利用风味物质鉴别黄酒产地[J]. 酿酒科技, 2009, 180(6): 17-19.
- [8] Lu Y, Lu X, Chen X, et al. A survey of biogenic amines in Chinese rice wines[J]. Food Chemistry, 2007, 105(4): 1530-1535.
- [9] Johnson R A, Wichern D W. 实用多元统计分析[M]. 陆璇, 叶俊, 译. 4版. 北京: 清华大学出版社, 2008.
- [10] 王洪元, 史国栋. 人工神经网络技术及其应用[M]. 北京: 中国石化出版社, 2002.

责任编辑: 郎婧

(上接第25页)

- [9] Xiong Z, Kapral F A. Carotenoid pigment levels in *Staphylococcus aureus* and sensitivity to oleic acid[J]. Journal of Medical Microbiology, 1992, 37(3): 192-194.
- [10] Rasko D A, Sperandio V. Anti-virulence strategies to combat bacteria-mediated disease[J]. Nature Reviews Drug Discovery, 2010, 9(2): 117-128.
- [11] Oldfield E, Feng X. Resistance-resistant antibiotics[J]. Trends in Pharmacological Sciences, 2014, 35(12): 664-674.
- [12] Pelz A, Wieland K P, Putzbach K, et al. Structure and biosynthesis of staphyloxanthin from *Staphylococcus aureus*[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2005, 280(37): 32493-32498.
- [13] Liu C I, Liu G Y, Song Y, et al. A cholesterol biosynthesis inhibitor blocks *Staphylococcus aureus* virulence[J]. Science, 2008, 319(5868): 1391-1394.
- [14] Wieland B, Feil C, Gloria-Maercker E, et al. Genetic and biochemical analyses of the biosynthesis of the yellow carotenoid 4,4'-diaponeurosporene of *Staphylococcus aureus*[J]. Journal of Bacteriology, 1994, 176(24): 7719-7726.
- [15] Wang Y, Chen F, Di H, et al. Discovery of potent benzofuran-derived diapophytoene desaturase (CrtN) inhibitors with enhanced oral bioavailability for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2016, 59(7): 3215-3230.
- [16] Shehi E, Serina S, Fumagalli G, et al. The Sso7d DNA-binding protein from *Sulfolobus solfataricus* has ribonuclease activity[J]. FEBS Letters, 2001, 497(2/3): 131-136.
- [17] Su S, Gao Y G, Robinson H, et al. Crystal structures of the chromosomal proteins Sso7d/Sac7d bound to DNA containing TG mismatched base-pairs[J]. Journal of Molecular Biology, 2000, 303(3): 395-403.
- [18] Zhang L, Chen C C, Ko T P, et al. Moenomycin biosynthesis: Structure and mechanism of action of the prenyltransferase MoeN5[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2016, 55(15): 4716-4720.

责任编辑: 郎婧