

葡萄酒的低场核磁共振弛豫谱*

李彦^{1,2}, 刘青², 蹇华丽¹, 杨幼慧¹

(1. 华南农业大学食品学院, 广东 广州 510642;
2. 广东检验检疫技术中心食品实验室, 广东 广州 510623)

摘要: 低场 ^1H -核磁共振弛豫可以有效地测量食品中水分、油脂和酒精等组分, 葡萄酒中水 O-H 基和乙醇 C-H 基是产生共振弛豫谱的物理基础。采用 CPMG 方法和反转-恢复技术分别得到葡萄酒核磁共振横向弛豫和纵向弛豫曲线, 并使用连续谱迭代方法与离散谱拟合分析获得核磁共振弛豫谱。通过添加去离子水或 95% 食用酒精配制不同酒精含量样品, 由谱峰面积占比变化确定弛豫谱峰的归属。研究发现, T_2 谱中弛豫时间较长的谱峰反映了酒精的含量, 且其峰面积占比随酒精体积浓度变化呈线性递增关系。随机抽样的实验结果表明, ^1H -核磁共振弛豫谱具有普适性, 从而可建立基于 T_2 谱的葡萄酒酒精度测量技术。

关键词: 核磁共振; 弛豫谱; 葡萄酒; 酒精度

中图分类号: O571.23 文献标志码: A 文章编号: 0529-6579(2012)05-0045-05

Low-Field NMR Relaxation Spectrum of Wine

LI Yan^{1,2}, LIU Qing², JIAN Huali¹, YANG Youhui¹

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

2. Food Testing Laboratory, Guangdong Inspection and Quarantine Technology Center, Guangzhou 510623, China)

Abstract: As low field ^1H -NMR relaxation can effectively measure water, fat and alcohol content in foods, O-H in water and C-H in alcohol are the physical basic for resonance relaxation spectrum of wine. CPMG and inversion-recovery technique were applied to respectively obtain the transverse relaxation and longitudinal relaxation of the wine samples, and then the resonance relaxation spectrum was acquired by the continuous spectrum iteration as well as discrete spectrum fitting analysis. The samples were treated into certain proportions by adding deionized water or 95% edible alcohol. According to the variation of peak area ratio, the assignments of two relaxation peaks were determined. The study found that in transverse relaxation spectrum, the peak with a longer relaxation time reflected the alcohol content, and its area proportion had a positive linear correlation with alcohol concentration. In addition, random samples verified the universality of resonance relaxation spectrum and therefore, based on T_2 spectrum, a new measuring technique for wine alcohol content can be built up.

Key words: Nuclear magnetic resonance; relaxation spectrum; wine; alcohol content

核磁共振是指在外磁场中物质原子核自旋磁矩与磁场相互作用产生原子能级精细结构, (射频)光子在满足选择定则(能量守恒和角动量守恒)

的条件下可被共振吸收。物质中不同原子所处的内部局域场存在差异, 处在同一外磁场中不同类型原子核产生共振吸收所需的光子能量(频率)也不

* 收稿日期: 2012-04-25

基金项目: 广东省自然科学基金资助项目(C010515); 广东省特色专业—生物工程(粤教高函[2010]96号)

作者简介: 李彦(1989年生), 女, 研究助理; 通讯作者: 杨幼慧; E-mail: yhyang@scau.edu.cn

相同,从而形成核磁共振波谱(频域谱),它反映了物质原子的化学位移。事实上,发生磁共振吸收之后,由于物质内部的相互作用而致使被激发至激发态的核子经过一定时间之后将回到原来的基态,即它们处在激发态具有寿命,或称之为核磁共振弛豫时间。原理上又可分为纵向弛豫时间 T_1 和横向弛豫时间 T_2 ,前者描述核子自旋—晶格相互作用,后者则反映核子自旋—自旋之间的作用。物质中不同类型原子核的相互作用不同,它们处在激发态的寿命也不相等,由此可获得物质的核磁共振弛豫谱(时域谱)。共振弛豫时间是物质本征参数,与外磁场强度无关。

低场核磁共振弛豫(包括磁共振成像)技术是当前食品研究的热门课题^[1-11]。特别是,利用 ^1H -核磁共振可以有效地测量食品中水分^[12-14]、油脂和酒精等组分的技术优势^[15-17],可以实现无损、无侵入式实时监测食品加工、运输、贮藏和货架期。本文以葡萄酒为研究对象,探讨核磁共振弛豫技术的食品(主要)组分检测分析方法。虽然葡萄酒成分复杂,但其主要组分是水和酒精,水中 O-H 基和乙醇中 C-H 基是产生 ^1H -核磁共振吸收的物理基础,由于各自的内部相互作用不同,它们所产生的共振吸收频率及对应的弛豫时间(寿命)都不相同。本文仅研究葡萄酒中水和酒精的核磁共振时域谱,并通过改变两者体积浓度配比确定弛豫谱的归属问题,为后续葡萄酒质量检测分析提供理论依据。

1 原理与方法

图 1 说明了核磁共振波谱(频域谱)方法与核磁共振弛豫谱(时域谱)分析的原理差异。假设材料中有两种不同原子,由于内部局域场差异在同一(较强)外磁场中产生可观测的不等精细能级间隔,从而获得两个不同频率的共振吸收波谱,如图 1(a)所示。图中,为方便选择,两种原子基态为同一参考点 E_0 ,而 E_1 和 E_2 分别代表各自的激发态能级。当外磁场较弱时, E_1 和 E_2 的差异缩小而无法分辨(用 E 标示),但是由原子本征性质所决定的寿命差异依然可测,由此可得两个不同弛豫时间的时域谱,如图 1(b)所示。对于多组分,可用离散谱通式

$$A = \sum_i A_i \exp(t/\tau_i) \quad (1)$$

式中, i 标示物质中组分, A_i 代表核磁共振信号强度且与该组分所含共振吸收的粒子数成正比; τ_i 为

对应组分的弛豫时间。通常,核磁共振纵向弛豫时间和横向弛豫时间分别用 T_1 和 T_2 表示。利用 CPMG (Carr-Purcell-Meiboom-Gill) 方法和反转—恢复技术测量横向弛豫和纵向弛豫过程时,弛豫信号可分别表示为

$$A = \sum_i A_i \exp(t/T_{2i})$$

$$A = \sum_i A_i [1 - 2\exp(t/T_{1i})] \quad (2)$$

事实上,当存在多于两个或三个指数成分,或者是当任意两种组分很相似时,这种方法就不准确了。此时用连续谱描述更合适,且采用迭代法进行解谱^[18]。

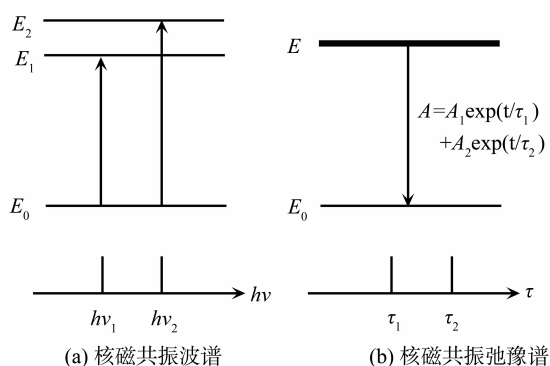


图 1 核磁共振波谱与核磁共振弛豫谱差异

Fig. 1 Differences between NMR spectroscopy and its relaxation spectrum

本实验采用上海纽迈科技有限公司生产的型号 MicroMR-18 核磁共振成像仪测量样品的核磁共振弛豫谱。实验主磁场约 0.51 T, 样品室温度 $(32.00 \pm 0.01)^\circ\text{C}$ 。采用 CPMG 方法测量横向弛豫, 实验参数: 采样率 50 kHz, 重复采样次数 6, 脉冲间隔 1 000 μs , 回波个数 4 000, 重复采样时间间隔 5 s。采用反转—恢复技术测量纵向弛豫, 实验参数: 采样率 50 kHz, 重复采样次数 4, 最长恢复时间 20 s, 恢复时间按指数递增实施重复测量次数 50。每次重复采样都通过设备自动测量自由感应衰减信号 (FID) 以调节样品的共振中心频率, 从而消除磁场强度漂移所引起实验系统误差。选用核磁共振成像仪配套的反演软件进行连续谱迭代分析, 横向弛豫和纵向弛豫采用相同的迭代次数 1 000 000。同时, 也使用 Origin 进行离散谱拟合分析。

随机选择市售的长城干红葡萄酒 ($\varphi = 12\%$ 和 $\varphi = 12.5\%$)、锦绣庄园干红葡萄酒 ($\varphi = 12\%$)、嘉伯纳干红葡萄酒 ($\varphi = 12\%$)、宝龙赤霞珠干红

葡萄酒 ($\varphi = 11.5\%$) 等 5 个样品, 使用去离子水和 95% 食用酒精配制不同酒精含量的实验样品各 100 mL。倒入 250 mL 三角瓶, 经振荡器混合约 15 s。每种样品取 6 份, 每份约 2.5 mL 注入外径 15 mm 平底玻璃试管。其中, 5 份用于横向弛豫测量, 并将实验结果平均获得最终横向弛豫曲线, 从而消除取样和测量偏差; 另 1 份用于纵向弛豫测量。上述样品的配制操作都在湿度约 50% 和室温 25 °C 环境中进行。

2 结果及分析

图 2 为长城干红葡萄酒 ($\varphi = 12\%$) 的平均横向弛豫和纵向弛豫曲线。图 3、图 4 为图 2 数据通过反演软件进行连续谱迭代分析所得的共振弛豫谱, 它们分别为葡萄酒横向弛豫时间 T_2 谱和纵向弛豫时间 T_1 谱, 图中横坐标为弛豫时间而纵坐标为核磁共振信号强度, T_2 谱或 T_1 谱峰面积代表了对应组分共振吸收信号的总强度。

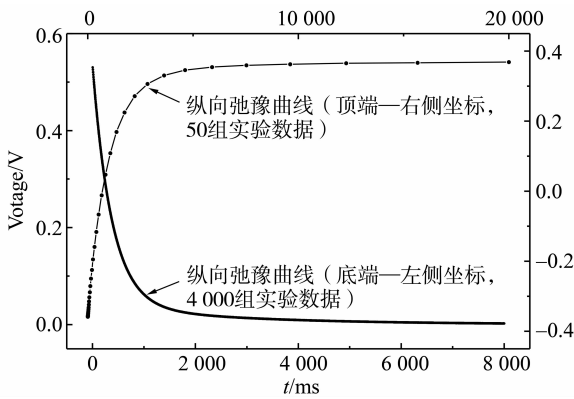


图 2 长城干红葡萄酒 ($\varphi = 12\%$) 的弛豫曲线
Fig. 2 The relaxation curves of Great Wall Red Wine ($\varphi = 12\%$)

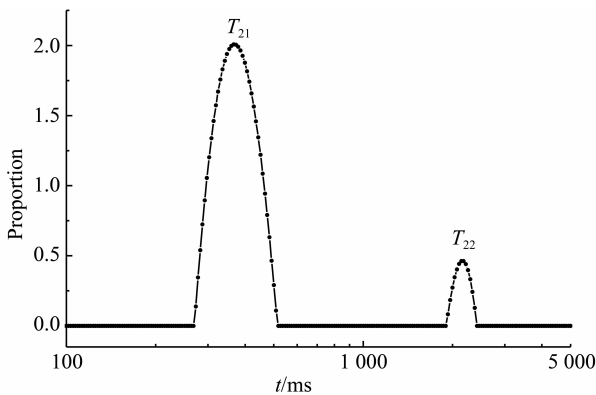


图 3 长城干红葡萄酒 ($\varphi = 12\%$) 的 T_2 谱
Fig. 3 The T_2 spectrum of Great Wall Red Wine ($\varphi = 12\%$)

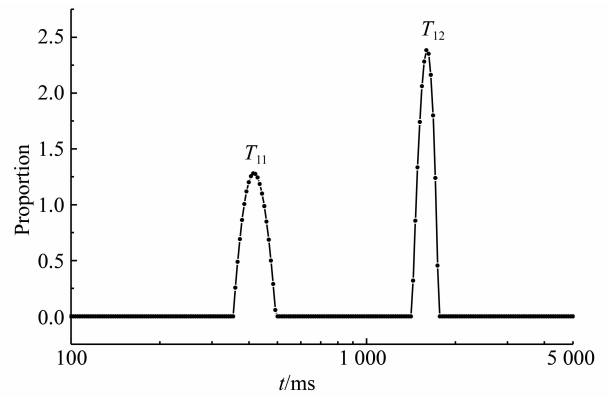


图 4 长城干红葡萄酒 ($\varphi = 12\%$) 的 T_1 谱
Fig. 4 The T_1 spectrum of Great Wall Red Wine ($\varphi = 12\%$)

由图 3、图 4 可见, 长城干红葡萄酒 ($\varphi = 12\%$) 的谱和谱都有 2 个弛豫峰, 它们的弛豫时间差异明显。由于 ^1H -核磁共振信号由物质中的 H (质子) 产生, 显然这 2 个信号来源于葡萄酒中含有 -H 分子的贡献。尽管葡萄酒中多种物质都含有 H, 但是其主要组分是水和酒精, 而且水中 O-H 基和乙醇中 C-H 基都具备产生 ^1H -核磁共振吸收信号的物理基础。

通过添加 95% 食用酒精或去离子水改变葡萄酒的酒精体积浓度, 并采用相同的实验测量参数和数据处理方法对所有实验结果进行分析, 结果表明, 当添加 95% 食用酒精提高葡萄酒的酒精体积浓度时, 第二峰 (图 3 中用 T_{22} 标示) 面积随之增加; 而添加去离子水降低葡萄酒的酒精体积浓度时, 第一峰 (图 3 中用 T_{21} 标示) 面积随之增大。采用离散谱拟合方法和连续谱迭代方法对 T_2 谱分析结果存在微小差异, 但是两者都得到相似结果: T_2 谱包含两种组分; 弛豫时间较短的分量随酒精体积浓度线性递减, 而弛豫时间较长的分量则反之。图 5 显示了采用连续迭代方法对不同配比的实验数据分析所得谱峰面积随酒精体积浓度变化关系, 表明 T_{22} 谱峰面积与酒精体积浓度呈线性递增。图 6 显示 T_{21} 谱峰面积随葡萄酒中水含量增加而增加, 表明 T_{21} 谱峰面积与酒精体积浓度呈线性递减。由此可见, T_{21} 和 T_{22} 谱峰分别对应葡萄酒中水中 O-H 基和乙醇中 C-H 基所产生 ^1H -核磁共振吸收的横向弛豫信号。

尽管图 4 显示由连续谱迭代方法所获得的葡萄酒谱也存在 2 个峰 T_{11} 和 T_{12} , 但是 Origin 离散谱拟合结果却只有一个指数衰减分量。产生这一矛盾结果的主要原因是: ①反转—恢复技术难于准确测量短弛豫时间的信号幅值; ②单次实验需时 15 ~

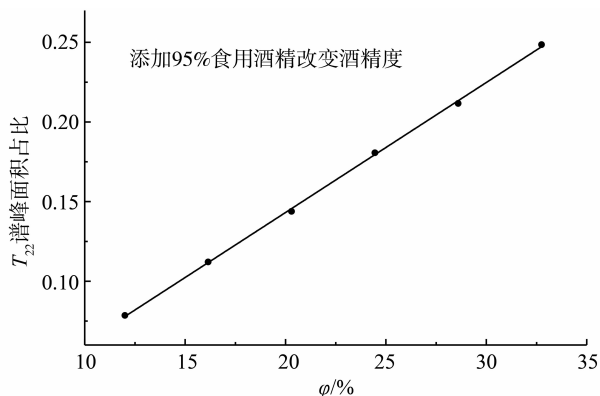


图 5 酒精度与谱第 2 峰面积占比关系

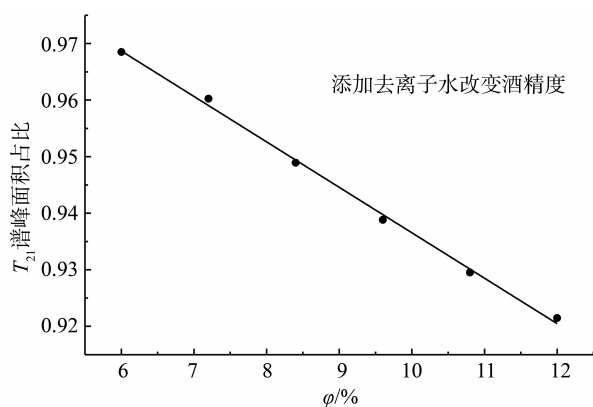
Fig. 5 The proportional relationship between the alcohol content and the second peak area in T_2 spectrum

图 6 酒精度与谱第 1 峰面积占比关系

Fig. 6 The proportional relationship between the alcohol content and the first peak area in T_2 spectrum

20 min, 测量时间较长导致部分酒精挥发影响测量的准确性; ③实验数据较少, 不能完整记录多组物质核磁共振弛豫的真实过程。由于 T_1 谱峰面积与葡萄酒的酒精体积浓度不存在显式关系, 从而可以认为核磁共振弛豫 T_1 谱不适用于检测葡萄酒中水和酒精含量。

上述分析中使用了样品的标示酒精度, 并以此为酒精体积浓度的计算依据。理论分析可知, 即使样品的实际酒精度与标示值可能不一致, 但是图 5 和 6 中实验结果的线性关系依然存在, 从而说明上述 T_{21} 和 T_{22} 谱峰的归属是正确且具有普适性。其它 4 个样品的实验结果相似。

3 结论

强磁场核磁共振波谱方法可以更丰富地获得物质中分子信息^[19-21], 但是低场核磁共振弛豫谱却可以有选择地关注主要组分的物理性质。葡萄酒中

水 O-H 基和乙醇 C-H 基是产生 ^1H -核磁共振吸收的物理基础, 而原子相互作用差异导致两者的共振吸收弛豫时间 (寿命) 不同, 实验采用 CPMG 方法和反转-恢复技术分别得到葡萄酒核磁共振横向弛豫谱和纵向弛豫谱 (即, T_2 谱和 T_1 谱)。通过添加去离子水或 95% 食用酒精配制不同酒精含量的一系列样品, 由谱峰面积占比随酒精体积浓度变化关系确定弛豫谱峰的归属: 谱中弛豫时间较短的谱峰来源于葡萄酒中水的贡献, 而另一谱峰则反映了酒精的含量。由于连续谱迭代方法与离散谱拟合分析结果不吻合, T_1 谱不适用于检测葡萄酒中水和酒精含量。由于随机抽样的实验结果相似, 说明核磁共振 T_2 谱技术对葡萄酒组分分析具有普适性。利用 T_{22} 谱峰面积占比与酒精体积浓度的线性关系, 可建立基于 T_2 谱的葡萄酒酒精度测量技术, 同时实现无损、无侵入式实时监测葡萄酒运输和贮藏过程的品质变化并预测货架期。

参考文献:

- [1] 范崇东, 范明辉, 盛剑俊. NMR 对水分的研究及其在食品科学中的应用[J]. 食品工业科技, 2003, 24: 98 - 100.
- [2] 周凝, 刘宝林, 王欣. 核磁共振技术在食品分析检测中的应用[J]. 食品工业科技, 2011, 32: 325 - 329.
- [3] 吴焯, 许柯, 徐幸莲, 等. 低场核磁共振研究 pH 值对兔肌球蛋白热凝胶特性的影响[J]. 食品科学, 2010, 31: 6 - 11.
- [4] 李然, 李振川, 陈珊珊, 等. 应用低场核磁共振研究绿豆浸泡过程[J]. 食品科学, 2009, 30: 137 - 141.
- [5] 顾小红, 任璐, 陈尚卫, 等. 核磁共振技术在食品研究中的应用[J]. 食品工业科技, 2005, 26: 189 - 194.
- [6] 韩敏义, 费英, 徐幸莲, 等. 低场 NMR 研究 pH 对肌原纤维蛋白热诱导凝胶的影响[J]. 中国农业科学, 2009, 42: 2098 - 2104.
- [7] HAN Minyi, ZHANG Yingjun, FEI Ying, et al. Effect of microbial transglutaminase on NMR relaxometry and microstructure of pork myofibrillar protein gel [J]. Eur. Food Res. Technol. 2009, 228: 665 - 670.
- [8] SUN Jian, LI Xue, XU Xinglian, et al. Influence of various levels of flaxseed gum addition on the water-holding capacities of heat-induced porcine myofibrillar protein [J]. Journal of Food Science, 2011, 76: C472 - 478.
- [9] 姚晶, 孟祥晨. 大豆水溶性多糖对酸性乳饮料稳定作用的研究[J]. 中国乳品工业, 2009, 37: 54 - 56, 61.
- [10] 钱菲, 张锦胜, 金志强, 等. 核磁共振技术对食品玻璃化及玻璃化转变温度的研究[J]. 食品科学, 2008, 29: 666 - 669.

- [11] 林向阳,阮榕生,何承云,等. 快速测量食品玻璃化转变温度新方法的研究[J]. 食品科学, 2005, 26: 269 - 271.
- [12] 姜晓文,韩剑众. 生鲜猪肉持水性的核磁共振研究[J]. 食品工业科技,2009,30: 128 - 133.
- [13] 李资玲,刘成梅,万婕,等. 核磁共振研究膳食纤维面包制作过程中的水分迁移行为[J]. 食品科学, 2007, 28: 127 - 130.
- [14] 陈卫江,林向阳,阮榕生,等. 核磁共振技术无损快速评价食品水分的研究[J]. 食品研究与开发, 2006, 27: 125 - 127.
- [15] MAZZANTI G, MUDGE E M, ANOM E Y. In situ Rheo-NMR measurements of solid fat content [J]. J Am Oil Chem Soc, 2008, 85: 405 - 412.
- [16] RUDI T, GUTHAUSEN G, BURK W, et al. Simultaneous determination of fat and water content in caramel using time domain NMR [J]. Food Chemistry, 2008, 106: 1375 - 1378.
- [17] SANTANA A, FERNANDEZ X, LARRAYOZ M A, et al. Vegetable fat hydrogenation in supercritical - fluid solvents: Melting behavior analysis by DSC and NMR [J]. Journal of Supercritical Fluid, 2008, 46: 322 - 328.
- [18] 阮榕生. 核磁共振技术在食品和生物体系中的应用[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2009.
- [19] 张倩芝,陈晓红,陈建. 有机波谱法在 - 二甲基苯基酚聚氧乙烯醚的结构确证中的应用[J]. 中山大学学报:自然科学版, 2011, 50(3): 141 - 143.
- [20] 赵小菁,张丽影,刘宝全,等. 氨基酸希夫碱及其金属锌配合物的合成及表征[J]. 中山大学学报:自然科学版, 2011, 50(4): 70 - 73.
- [21] 钱浩,祝亚非,许家瑞. 聚乙烯 - 醋酸乙烯酯接枝聚乙二醇共聚物的合成及结构表征[J]. 中山大学学报:自然科学版, 2003, 42(2): 30 - 34.

(上接第44页)

参考文献:

- [1] 韩绍坤,赵跃进,刘明奇. 电子稳像技术及其发展[J]. 光学技术,2001,1(1): 71 - 73.
- [2] 赵红颖,金宏,熊经武. 电子稳像技术概述[J]. 光学与精密工程,2001,8(4): 353 - 359.
- [3] 石佼,李晋惠. 电子稳像技术算法研究[J]. 方法与理论,2007,3(3): 18 - 24.
- [4] 张德丰,张葡青. 基于小波的图像边缘检测算法研究[J]. 中山大学学报:自然科学版,2007,46(3): 39 - 42.
- [5] POURREZA H R, RAHMATT M, BEHAZIN F. An electronic digital image stabilizer based on stationary wavelet transforms (SWT)[J]. ICIP,2003,2: 383 - 386.
- [6] ERTURK S, DENNIS T J. Image sequence stabilization based on DFT filtering[J]. IEEE Proc on Image Vision and Signal Processing,2000,127: 95 - 102.
- [7] CHANG Jyhyeong, HU Wenfeng, CHENG Muhuo, et al. Digital image translational and rotational motion stabilization using optical flow technique[J]. IEEE Transactions on Consumer Electronics, 2002, 48(1): 108 - 115.
- [8] 余博,郭雷,赵天云. 基于对数极坐标变换的灰度投影稳像算法[J]. 计算机应用, 2008, 28(12): 3127 - 3128.
- [9] 张国栋,王明泉,郭栋. 基于灰度投影算法的实时电子稳像研究[J]. 微电子学与计算机, 2010, 27(10): 53 - 56.
- [10] 张朝阳,潘保昌,郑胜林. 基于帧差的灰度投影的快速运动物体检测[J]. 广东工业大学学报, 2008, 9(3): 76 - 80.
- [11] 赵有婷,李熙莹,罗东华. 基于视频车辆轨迹模型的交通事件自动检测方法研究[J]. 中山大学学报:自然科学版, 2011, 50(4): 56 - 60.
- [12] 肖敬文,余志,聂佩林,等. 基于几何与颜色特征的公交车辆视频检测算法[J]. 中山大学学报:自然科学版, 2005, 44(2): 152 - 155.