



论文

利用样本成分耗散物的非线性化学指纹图谱的检测方法、条件、特点和应用

张泰铭^{①*}, 赵哲^①, 方宣启^②, 乔君喜^①, 向凤琴^①, 朱蓉^①, 梁逸曾^①, 丁峰^①^① 中南大学化学化工学院, 长沙 410083^② 湖南省食品质量监督检测所, 长沙 410002

*通讯作者, E-mail: taimingzhang@163.com

收稿日期: 2010-12-30; 接受日期: 2011-04-25

doi: 10.1007/s11426-011-4384-x

摘要 分析了适用于测定样本非线性化学指纹图谱的热力学体系和动力学模型, 结果表明, 在远离平衡的封闭体系和无耗散物补充的敞开体系中, 阻尼非线性化学反应对样本化学成分的群集表征和整体含量分析具有重要作用. 以丙酮和葡萄糖等为耗散物的阻尼 B-Z 振荡非线性化学反应为例, 研究了反应物种及其浓度、电极类型、温度、搅拌速率、样本种类及用量等影响非线性化学指纹图谱的因素, 并对指纹图谱中样本化学成分的定量信息、指纹图谱的特点和应用等进行了研究. 成功提出了用于鉴别和评价样本的非线性化学指纹图谱的检测条件和方法.

关键词非线性化学指纹图谱
样本耗散成分
检测方法
条件
真伪鉴别
质量评价
样本

1 引言

复杂样本真伪鉴别与质量评价对食品和中药等的安全性具有十分重要的作用^[1~5]. 然而, 食品和中药这些样本的成分极其复杂, 仅凭其中若干成分分析指标来判定其真伪或评价其质量, 显然缺乏科学严谨性, 也往往为假冒伪劣产品进入市场提供可乘之机. 借助通过分离、提纯、波谱技术及其他分析方法逐个分析样本中所有成分的结果来鉴别和评价样本或许是一种可靠手段, 但因其分析成本高、操作周期长、工作量繁重和标准物匮乏等原因而不适用于绝大多数成分复杂样本的鉴别与评价. 因此, 建立快速鉴别和评价复杂样本的方法已成为人们亟待解决的问题. 用于食品和中药等复杂样本体系化学成分群集表征的指纹图谱技术已应运而生, 该技术在复杂样本鉴别和质量评价方面的作用也越来越引起人们重视. 作为当前研究的热点, 复杂样本指纹图谱已有

不少成果报道. 如有机质谱指纹图谱^[6~9]、无机元素指纹图谱^[10~13]、生物化学指纹图谱^[14~16]、高效液相色谱指纹图谱^[17, 18]、气相色谱指纹图谱^[18~20]、毛细管电泳指纹图谱^[21]、核磁共振指纹图谱^[7, 22]、紫外可见^[7, 23]和红外光谱^[23~29]指纹图谱等. 在这些指纹图谱技术中, 色谱指纹图谱因既可定性、又可定量和信息多维的特点, 其应用研究最为深入, 已被广泛用于溶液样本及样本挥发性成分的图谱研究. 但各种方法均有其自身的局限性, 故有必要从不同角度建立样本指纹图谱技术, 通过多种方法互补, 从多个方面获取样本指纹图谱信息, 从而实现对复杂样本的准确鉴别和质量评价.

众所周知, 非线性化学包括化学湍流、化学斑图、化学振荡和化学波等许多化学混沌现象. 人们已对这些现象的形成机理和应用进行了长期研究. 尤其是化学振荡作为非线性化学领域中一种常见现象, 国内外学者对其反应机理^[30~34]以及在单个成份

分析检测中的应用^[34~36]等已进行了较广泛而深入的研究, 但将非线性化学反应用于鉴别样本真伪和评价其质量的指纹图谱研究, 国外未见报道, 国内才刚刚起步^[37~39], 故非线性化学指纹图谱技术是一种根据非平衡化学原理建立的鉴别与评价样本的新技术. 本文在关于无需样本成分作为底物和耗散物的中药非线性化学指纹图谱系统研究工作的基础上^[37~39], 利用食品样本中某种或某些成分作为反应耗散物, 结合以丙酮和葡萄糖为耗散物的 B-Z 振荡化学反应实例, 就无须分离提纯等预处理技术, 能适用于各种样本化学成分群集表征的非线性化学指纹图谱及其热力学体系、动力学模型、影响因素、检测条件和方法, 以及有关样本整体成分定量信息等进行了研究和讨论.

2 实验部分

2.1 主要仪器、试剂和材料

主要仪器: MZ-1A 型非线性化学指纹图谱智能分析仪(中南大学研制, 湖南省湘潭市仪器仪表成套制造有限公司生产).

主要试剂和材料: 1.00 mol/L 硫酸; 0.0250 mol/L 丙酮(以 1.00 mol/L 硫酸溶液配制); 0.800 mol/L 溴酸钠; 0.0800 mol/L 硫酸锰(以 1.00 mol/L 硫酸溶液配制); 葡萄糖. 试剂均为分析纯, 水为二次蒸馏水. 将上述试剂置于 37.0 °C 恒温水浴中待用. 所用食品样本均购自湖南长沙沃尔玛超市, 小麦和丹参样本分别来自华润雪花啤酒(中国)有限公司和天津天士力制药股份有限公司.

2.2 实验方法

在反应器中加入适量固态或液态样本、25.00 mL H₂SO₄ 溶液、20.00 mL 丙酮溶液和 12.00 mL 硫酸锰溶液于反应器中, 盖好带温度计、注射孔和电极的反应器盖. 开启通过数据采集系统相连的计算机和毫伏计、磁力搅拌器(转速 850 r/min)以及超级恒温系统, 调节反应器内温度为 37.0 °C, 恒温并开始计时. 恒速搅拌 5.0 min 时, 通过注射器迅速加入 3.00 mL 溴酸钠溶液, 即刻点击菜单采集数据, 记录 *E-t* 曲线至电位 *E* 不再随时间 *t* 变化为止.

3 结果与讨论

3.1 适用于非线性化学指纹图谱研究的化学热力学体系和动力学模型

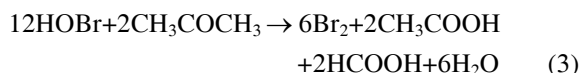
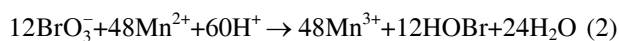
B-Z 振荡反应体系作为一种典型的非线性化学反应体系, 自发现以来, 许多学者用不同动力学模型来解释其反应机理, 其中最著名的是 Field 等^[30, 40]提出的 FKN 模型. FKN 模型较成功地解释了 B-Z 化学反应, 从而使非线性化学反应被人们普遍接受. 然而, 关于非线性化学反应的热力学研究却相对较少^[41]. 文献[37]从时空有序结构体系变化过程的热力学研究入手, 结合 FKN 动力学模型, 讨论了适合非线性化学指纹图谱研究的化学热力学和动力学条件. 其中讨论了化学体系的熵变率, 得出适用于任何热力学体系的熵变率表达式^[37]:

$$\frac{dS}{dt} = \sum_i \frac{\delta Q_i}{T_i} \cdot dt + \sum_i S_i \frac{dn_i}{dt} + \frac{d_i S}{dt} \quad (1)$$

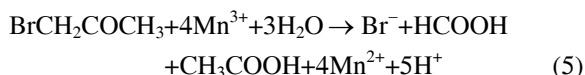
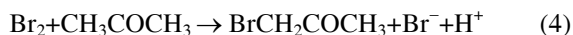
式(1)中 dS/dt 是 *S* 随时间 *t* 的变化速率; S_i 是物质 *i* 的偏摩尔熵; dn_i/dt 是物质 *i* 流入或流出体系的速率; $\delta Q_i/dt$ 是在温度 T_i 时热量流入或流出体系的速率; $d_i S/dt$ 是体系内部 *S* 随时间的变化速率. 根据式(1)及其各符号的物理意义, 得出平衡体系的 $dS/dt = 0$, 孤立体系的 $dS/dt \geq 0$, 既这些体系的熵永不减少, 难以出现时空有序结构, 不可能发生非线性化学反应; 封闭体系和敞开体系的 $dS/dt < 0$, 即体系的熵减少, 有可能变得时空有序化, 发生非线性化学反应. 但从环境持续传来耗散物的敞开体系会发生很长时间乃至无休止的非线性化学反应, 这样的非线性化学反应也难以用于指纹图谱的测定研究. 能用于非线性化学指纹图谱测定的体系, 其反应必须在有限而适当的时间内完成. 据此, 得出只有远离平衡的封闭体系和无耗散物补充的敞开体系才适用于非线性化学指纹图谱测定研究的结论.

关于适用于非线性化学指纹图谱研究的动力学模型, 可分为诱导过程动力学模型和振荡或湍流过程动力学模型两部分. 以 H⁺、BrO₃⁻、Mn²⁺、丙酮和葡萄糖等为反应底物的 B-Z 反应机理为例来进行讨论. 尽管该反应涉及几十个基元反应^[42], 但仍可归纳为诱导和振荡两大反应^[42, 43].

诱导反应分为 A、B 两个不可逆过程. 其中过程 A 反应为:

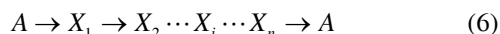


过程 B 反应为:

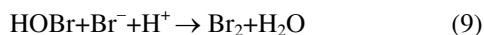


由式(4)和式(5)可见, 诱导过程产生 Br^- . 当 Br^- 浓度 $[\text{Br}^-]$ 超过其临界浓度 $[\text{Br}^-]_{\text{crit}}$ 时, 将引发振荡反应.

文献[37]认为发生非线性化学反应的振荡过程, 除必须满足相应的热力学条件之外, 还必须满足下式所示的反应物或中间体(A)的“消耗-再生”循环动力学模型:



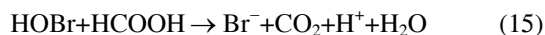
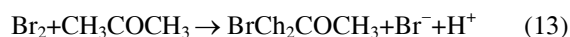
式(6)中 X_i 表示反应物或中间体的第 i 种过渡态物质. 现以丙酮和葡萄糖作为耗散物的 B-Z 振荡反应为例来说明反应物或中间体的“消耗-再生”循环. 该反应涉及数十个基元反应^[30, 40], 但反应中的每个周期振荡被认为由 C、D 和 E 三个主要过程组成^[30, 36]. 体系中 $[\text{Br}^-]$ 高于其临界浓度 $[\text{Br}^-]_{\text{crit}}$ 时, 则发生过程 C:



当体系中 $[\text{Br}^-]$ 低于临界浓度 $[\text{Br}^-]_{\text{crit}}$ 时, 则发生过程 D:



当反应体系中含有可将 Mn^{3+} 还原为 Mn^{2+} 的物质如葡萄糖时, 由于过程 C 和 D 分别积累了 Br_2 和 Mn^{3+} 、 HOBr , 将引发过程 E 使 Br^- 得到再生, 催化剂锰得以还原:



由上述反应可见, 该体系中只有 CH_3COCH_3 和葡萄糖 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 及其反应产物 $\text{BrCH}_2\text{COCH}_3$ 和葡萄糖酸 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_7$ 在反应过程中没有形成自催化“消耗-再生”循环, 而其他各种反应物或中间体都形成了不同程度的“消耗-再生”循环.

如果该 B-Z 体系是非平衡态的封闭体系, 体系

中耗散物葡萄糖和丙酮未及时补给, 这将使式(13)和式(14)表示的反应越来越慢, 从而直接或间接导致式(7)至式(15)所示各反应也越来越慢, 最终使反应体系达到平衡, 振荡终止, 即该非线性化学反应是在有限时间内终止的反应. 这有利于在适当时间内记录表现整个非线性化学反应过程特征的 $E-t$ 曲线. 当然, 不补给耗散物葡萄糖和丙酮等的 B-Z 敞开体系, 其非线性化学反应也是在有限时间内终止, 与 B-Z 封闭体系一样, 也可用于非线性化学指纹图谱测定研究, 而且在操作上更为方便.

3.2 非线性化学指纹图谱及其检测条件

(1) 非线性化学指纹图谱

从上述反应过程可见, $\text{H}^+ - \text{Mn}^{2+} - \text{BrO}_3^- - \text{CH}_3\text{COCH}_3$ 体系还不足以形成非线性化学反应, 该反应的发生还须在体系中存在能使 Mn^{3+} 还原成 Mn^{2+} 的还原剂, 如葡萄糖 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 等在体系中可起这种作用. 当样本中含有这类还原性物质时, 我们将其称作引起非线性化学反应的样本耗散成分或底物. 事实上, 在同样条件下有许多种还原剂都能使 Mn^{3+} 还原成 Mn^{2+} , 即都能使非线性化学反应得以发生, 但相应过程 C 的基元反应完全不同, 这使得相应非线性化学反应的特征曲线, 即 $E-t$ 曲线各不相同. 因食品、农副产品、中药等样本成分极其复杂, 且含有许多还原性物质, 不同样本可提供若干种不同的使 Mn^{3+} 还原成 Mn^{2+} 的还原剂, 导致不仅包括振荡反应也包括诱导反应的机理不同的非线性化学反应发生, 故可获得其诱导曲线和振荡曲线^[37-39]等形状不同的 $E-t$ 曲线. 此外, 一个复杂反应涉及的基元反应越多, 就越易受到体系中其他共存化学物质的影响. 非线性化学反应一般涉及多达数十个以上的基元反应, 因而其反应体系是一种对共存化学物质, 即化学环境十分敏感的体系. 食品、农副产品和中药等化学成分十分复杂, 其中任一成分对非线性化学过程中任一基元反应产生了影响, 就相当于对整个非线性化学反应过程产生了影响, 因而非线性化学体系对复杂样本成分十分敏感; 不同种类或不同质量的样本, 由于其化学成分或其成分含量不同, 对非线性化学反应产生的干扰或与反应体系中组分发生的作用不同, 引起诱导反应和振荡反应中各种特征信息的改变也不同, 这也会使 $E-t$ 曲线的形状或信息参数不同. 显然, 通过在适当化学体系中加入样本获得的 $E-t$ 曲线可看作样

本化学成分或有效活性物质的群集特征, 利用其信息可从整体上分析该样本的化学成分, 从而对样本进行鉴别或评价. 因此, 这种 $E-t$ 曲线, 可称为样本的非线性化学指纹图谱. 如葡萄味卡夫果珍的非线性化学指纹图谱见图 1(c). 由图 1(c)和图 1(a)的比较可见, 作为葡萄味卡夫果珍非线性化学指纹图谱的 $E-t$ 曲线

与 $\text{H}^+-\text{Mn}^{2+}-\text{BrO}_3^- - \text{CH}_3\text{COCH}_3$ 这一稳态体系的 $E-t$ 曲线形状完全不同. 由图 1 可见, 非线性化学指纹图谱中还含有丰富的可量化信息(如诱导时间($t_{\text{诱导}}$)、振荡寿命($t_{\text{振荡}}$)、振荡周期($\tau_{\text{振荡}}$)、最大振幅(ΔE_{max})、最高电位(E_{max})、最低电位(E_{min})、振荡波数($n_{\text{振荡}}$)等)和直观信息(如诱导曲线(e-f-g)、振荡曲线(g-h)和周期振荡

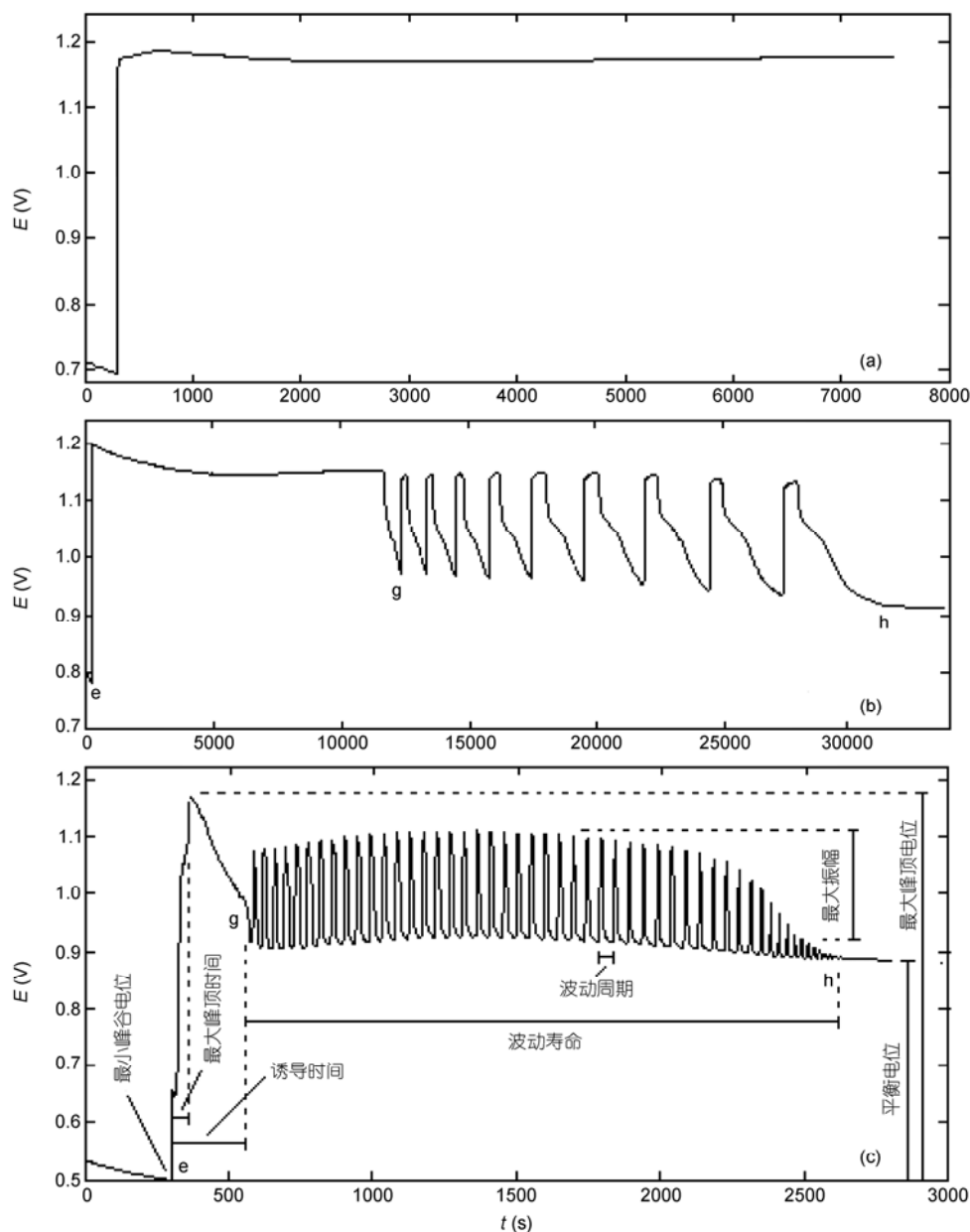
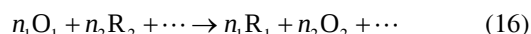


图 1 按“实验方法”测得的稳态体系“ $\text{H}^++\text{Mn}^{2+}+\text{BrO}_3^- + \text{丙酮}$ ”(a)、稳态体系+与葡萄味卡夫果珍中含量相同的葡萄糖(10%)(b)的 $E-t$ 曲线以及葡萄味卡夫果珍(c)的非线性化学指纹图谱. 葡萄糖用量: 0.1000 g; 检测用量: 1.0000 g; e~g: 诱导曲线; g~h: 振荡曲线; e: 非线性化学反应起始点; h: 非线性化学反应终点

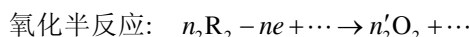
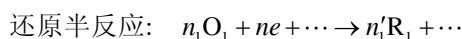
波形等). 由于 B-Z 非线性化学反应具有良好重现性, 其应用研究领域日趋广泛^[34-36, 43, 44]. 研究表明, 利用 B-Z 体系获得的非线性化学指纹图谱也具有很好的重现性. 底物或耗散物及其他成分不同的各种样本, 其指纹图谱的形成机理各不相同, 本文难以一一赘述, 仅以丙酮和葡萄糖等作为主要耗散物的 B-Z 非线性化学体系及有关样本来研究指纹图谱, 重点讨论非线性化学指纹图谱的检测条件.

(2) 反应体系各物种及其浓度的影响

利用非线性化学反应测定指纹图谱时, 若反应体系中各物种及其浓度一定, 其 $E-t$ 曲线也呈现一定形状; 当体系中组分种类或其浓度改变时, $E-t$ 曲线形状也随之改变(图 1). 由图 1(b)和图 1(c)比较也可知, 样本指纹图谱的形成并非只是由于某种或某些非线性化学反应底物的作用, 而是体系中所有共存物质不同程度作用的结果. 这些共存物质的作用包括对非线性化学反应体系产生的各种化学和物理性质的影响. 利用 Nernst 方程可对自发不可逆电极过程中电位和有关物质活度之间定量关系进行描述^[37]. 任何自发氧化还原反应可用通式表示为:



式中 n_i 为化学计量数, 设电子转移数 $n=n_1 n_2$, 当设计成原电池时, 该反应可分解为还原和氧化半反应:



其中 n_i ($i=1,2$) 不一定与 n_i' 相等. 响应还原和氧化半反应的电极电位 φ_R 和 φ_O 可分别表达为:

$$\varphi_R = \varphi_R^\circ + \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_{O_1}^{n_1} \cdots}{a_{R_1}^{n_1'} \cdots} \quad (17)$$

$$\varphi_O = \varphi_O^\circ + \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_{O_2}^{n_2'} \cdots}{a_{R_2}^{n_2} \cdots} \quad (18)$$

在非线性氧化还原反应的电极过程中, 反应物和生成物活度都是时间 t 的非线性函数, 可能出现随时间变化的活度的极值, 也可能导致电位极值, 因而电位也是时间的非线性函数. 当工作电极响应还原半反应时, 其电位与时间关系一般可表示为:

$$\varphi_R(t) = \varphi_R^\circ(t) + \frac{RT}{nF} \ln \frac{(a_{O_1}(t))^{n_1} \cdots}{(a_{R_1}(t))^{n_1'} \cdots} \quad (19)$$

从式(19)可见, 非线性氧化还原反应中物种及其活度的变化, 将引起相应时刻电极电位的变化. 这些变化将在 $E-t$ 曲线中表现为可量化信息和直观形状的改变. 如 $H^+-Mn^{2+}-BrO_3^--CH_3COCH_3$ 这一体系中各组分加入量对利用该体系测得的葡萄糖卡夫果珍非线性化学指纹图谱的振荡周期 $\tau_{\text{振荡}}$ 与诱导时间 $t_{\text{诱导}}$ 的影响见表 1. 由表 1 可见, $H^+-Mn^{2+}-BrO_3^--CH_3COCH_3$ 体系中各物种加入量对指纹图谱的形状参数均有不同程度的影响. 其中溴酸钠对振荡周期和诱导时间的影响较显著, 硫酸锰对诱导时间影响较显著, 丙酮对两者的影响均很明显. 由此可见, 体系中各物质对非线性化学指纹图谱的形状和特征参数均有不同程度的作用, 故 $H^+-Mn^{2+}-BrO_3^--CH_3COCH_3$ 体系中各物种加入量必须严格一致, 这是保证样本指纹图谱重现性的必要条件之一. 此外, 实验还表明体系中物种的变化也会影响指纹图谱的形状和特征参数, 如在体系中增加一个初始物种 Br^- 时, 不仅会影响产生诱发振荡反应所需的 Br^- 的诱导过程^[30-32]中电位随时间的变化关系, 而且还会影响诱导时间. 其原因将在 3.2 节第(4)部分“溴化钠的影响”中讨论. 除测定少数样本如部分食醋的指纹图谱须加入适量 Br^- 外, 一般无须在体系中加入 Br^- , 其他物种的加入量见 2.2 节“实验方法”.

(3) 检测仪器和电极的影响

理论和实验表明, 非线性化学指纹图谱是一种动力学指纹图谱, 其重现性完全决定于相应非线性

表 1 $H^+-Mn^{2+}-BrO_3^--CH_3COCH_3$ 体系中各组分加入量与葡萄糖卡夫果珍指纹图谱诱导时间及振荡周期的关系

体系编号	$V_{\text{硫酸}}$ (mL)	$V_{\text{丙酮}}$ (mL)	$V_{\text{硫酸锰}}$ (mL)	$V_{\text{溴酸钠}}$ (mL)	$\tau_{\text{振荡}}$ (s)	$t_{\text{诱导}}$ (s)
1	25.00	20.00	12.00	3.00	39.2	287.3
2	50.00	20.00	12.00	3.00	31.8	473.8
3	25.00	40.00	12.00	3.00	27.0	646.6
4	25.00	20.00	6.00	3.00	37.2	607.1
5	25.00	20.00	12.00	3.40	134.2	589.6

化学反应的重现性, 而非线性化学反应受许多条件因素的影响, 尤其是对温度或反应粒子碰撞速率十分敏感, 故以前测定非线性化学反应信息的任何仪器, 包括采用配以恒温水浴、反应器和记录仪或计算机的电化学工作站或 B-Z 振荡实验装置等, 都无法测得满足基本重现性要求的指纹图谱. 因高度重现性是作为指纹图谱数据的基本属性, 也是指纹图谱功能发挥的基本条件, 因此, 作者从 2002 年就开始研究非线性化学指纹图谱分析仪, 并获得了国家科技部的立项支持. 作为非线性化学指纹图谱技术的研究成果之一, MZ-1A 型非线性化学指纹图谱智能分析仪除检测原理外, 其关键设计理论和技术就是真正实现了非线性化学反应及其信号传感系统的精确恒温, 以及恒温条件下反应粒子碰撞速率的精确控制, 其热力学和动力学原因将另文发表. 基于长达 9 年的相关研究经历和成果, 我们认为, 目前除 MZ-1A 非线性化学指纹图谱分析仪外, 采用其他任何国内外仪器或实验装置都无法测定出样本具有高度重现性的非线性化学指纹图谱.

电极的变化也会非线性化学指纹图谱产生影响. 实验测定的电位实际上是工作电极相对于参比电极的电位, 而且电极种类不同, 则性能不同, 对环

境因素变化的敏感程度不同. 工作电极和参比电极的种类及规格的变化, 都将引起电位实时测定值不同程度的变化, 从而引起非线性化学指纹图谱中一些可量化参数和整个图谱形状的变化. 如以 213-01 型铂电极作为工作电极, 而参比电极分别用 217 型复合甘汞电极和自行研制的恒温结构双盐桥银-氯化银电极时, 测得葡萄味卡夫果珍的指纹图谱的区别见图 2. 由图可见, 用两种参比电极测得的指纹图谱中诱导曲线峰的尖锐程度、诱导时间的长短、峰顶电位、峰谷电位、平衡电位等均有明显的变化, 诱导曲线的形状也略有变化. 故检测指纹图谱时, 必须选用同一种类、规格的工作电极和参比电极. 这也是保证同一样本指纹图谱重现性的必要条件之一. 本研究采用 213-01 型铂电极作为工作电极, 217 型复合甘汞电极作为参比, 但室温变化难以精确控制时, 则采用自制的恒温结构双盐桥银-氯化银电极作参比, 其原因将另文发表.

(4) 溴化钠的影响

在 B-Z 非线性化学体系中增加 Br^- 将减少图 1 所示指纹图谱的诱导时间. Br^- 增加的量越大, $E-t$ 曲线中诱导时间就越短. 当添加的 $[\text{Br}^-] > [\text{Br}^-]_{\text{crit}}$ 时, B-Z 体系将无需诱导过程而直接发生振荡反应, 即体系的

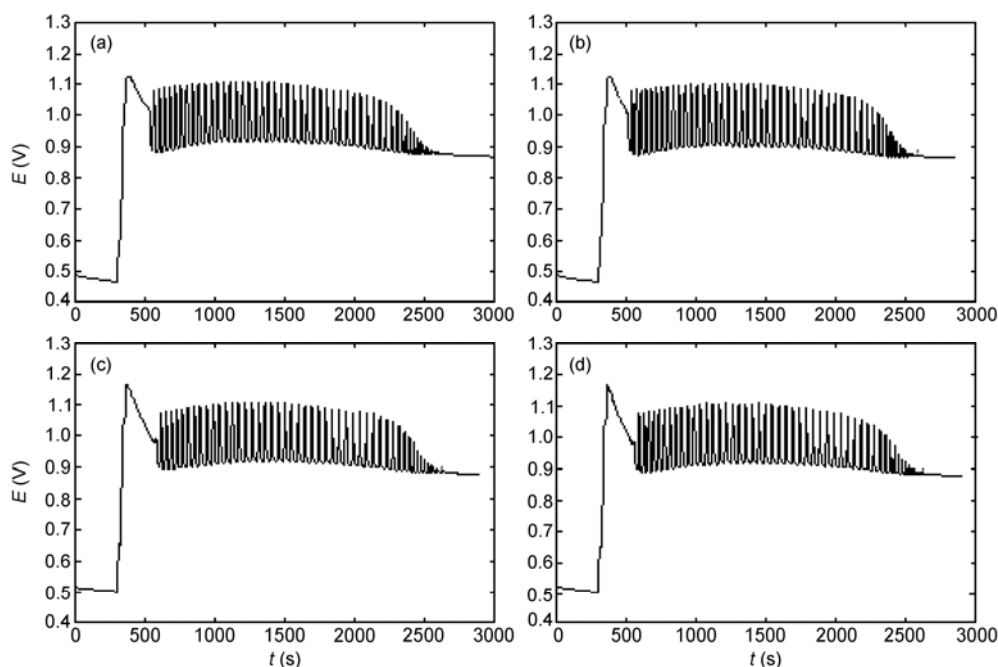


图 2 分别用恒温结构双盐桥银-氯化银电极(a, b)和 217 型复合甘汞电极(c, d)作参比测得的葡萄味卡夫果珍指纹图谱的区别. 检测用量: 1.0000 g; 各重复两次测定

$E-t$ 曲线中诱导时间趋于零. 此时, 指纹图谱的主要部分只剩下振荡曲线而无诱导曲线, 这使得作为非线性化学指纹图谱重要组成部分的诱导曲线无法测定. 然而, 诱导曲线对于样本的鉴别和评价特别重要, 没有诱导曲线的指纹图谱不仅使其特征性大打折扣, 而且也丢失了部分重要的定量信息^[37-39]. 值得注意的是, 不同样本所含底物及其他共存物质的种类和含量不同, 即化学环境不同, 能引发振荡等非线性化学反应所需的 $[\text{Br}^-]_{\text{crit}}$ 及诱导机理也不同, 故相应指纹图谱中诱导时间和诱导曲线不同; 有些样本因其所含底物的还原性太强, 将 BrO_3^- 还原成 Br^- 时, 几乎在一瞬间使 $[\text{Br}^-]$ 达到其相应的 $[\text{Br}^-]_{\text{crit}}$, 使指纹图谱的诱导时间很短(图 3(a)), 反之, 有些样本指纹图谱的诱导时间很长(图 3(b)); 有些因诱导时间太长(图 3(c)), 必须在体系中加入适量的 Br^- , 才能在适当时间内引起振荡产生指纹图谱(图 3(d)). 因此, 测定样本指纹图谱时, Br^- 添加与否及其添加量要视具体情况而定.

(5) 温度的影响

按 2.2 节“实验方法”, 加入 1.0000 g 葡萄味卡夫果珍, 将温度分别设为 27、30、35、37、40、45、47、50 和 55 °C 测其指纹图谱, 结果见图 4. 由图可见, 指纹图谱的形状及其定量信息对温度的变化十分敏感.

温度越高, 体系平均能量越高, 发生碰撞的频率越大, 有效碰撞率越高, 各基元反应速率越快. 诱导过程中各基元反应速度加快, 诱导过程产生 Br^- 的速度加快, $[\text{Br}^-]$ 将在更短时间内达到诱发振荡的临界浓度 $[\text{Br}^-]_{\text{crit}}$ ^[30], 使诱导过程提前结束而进入振荡过程(见过程 A、B、C 和 D); 温度升高同样使振荡过程各基元反应加快, 振荡循环速度加快, 振荡频率增大. 该影响表现为指纹图谱中诱导时间缩短, 振荡周期和振荡寿命缩小(图 4(b)、(c)和(d)). 数据处理结果表明, 在 27~55 °C 范围内, 诱导时间 $t_{\text{诱导}}$ 、振荡寿命 $t_{\text{振荡}}$ 和振荡周期 $\tau_{\text{振荡}}$ 与温度 T 的关系可分别用拟合函数 $t_{\text{诱导}} = -0.6844T^3 + 10.41T^2 - 531.95T + 9171$ 、 $t_{\text{振荡}} = -0.3109T^3 + 47.30T^2 - 2448T + 4355$ 和 $\tau_{\text{振荡}} = -0.02079T^3 + 2.930T^2 - 137.55T + 2166$ 来表示. 这些定量信息随温度的规律性变化也导致指纹图谱形状随温度的规律性变化(图 4(a)). 由式(19)可见, 温度的变化也将引起任一时刻电位值的变化. 另外, 样本中许多成分是强还原性物质, 在水溶液中易被溶解氧所氧化, 这种氧化速率也随温度变化而变化, 直接表现为对指纹图谱形状或可量化参数的影响. 因此, 检测非线性化学指纹图谱时, 温度要严格控制, 其波动范围必须 <0.1 °C. 这是保证指纹图谱重现性的又一必要条件. 本实验选择 37 °C

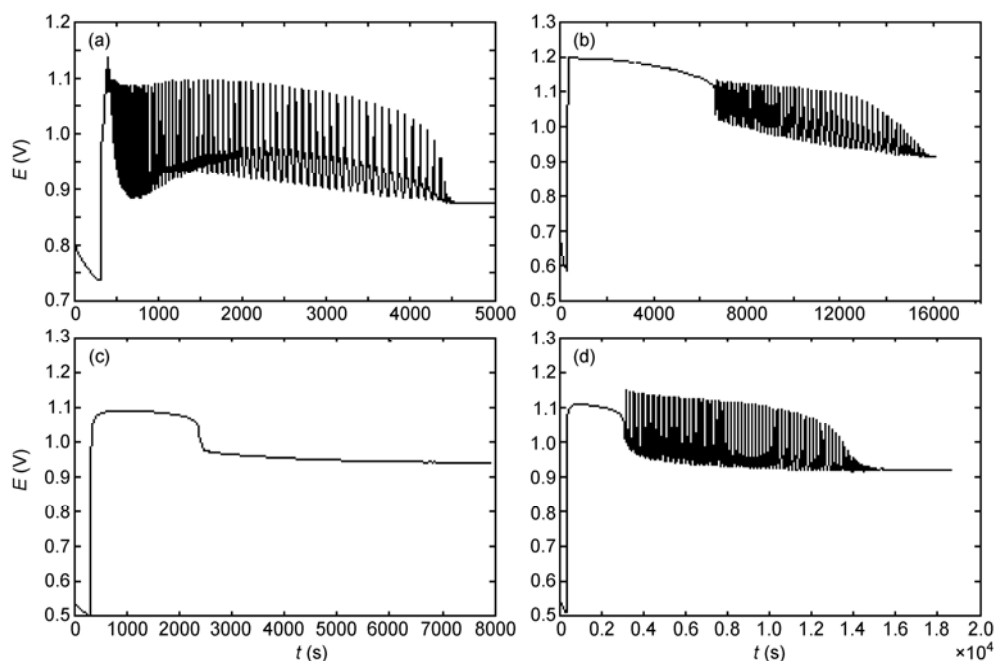


图 3 检测体系中不加入 Br^- (a、b、c)和加入 0.1000 g NaBr(d)测得的样本指纹图谱. (a) 惠宜酸奶(检测用量: 13.00 mL); (b) 雀巢米粉(检测用量: 1.0000 g); (c)和(d)存放三年的山西老陈醋(检测用量: 12.00 mL)

作为检测温度, 温度波动范围为 $0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$. 另外, 由图 4(a)可见, 适当提高检测温度, 可大大加快指纹图谱的测定速度.

(6) 搅拌速率的影响

搅拌有利于样本浸出成分扩散, 提高样本成分浸出速率; 此外, 在温度和样本成分活度一定时, 精确的搅拌速率对控制非线性化学反应的反应物或反应中间体粒子之间的碰撞速率起着重要作用. 搅拌速率越大, 粒子碰撞频率越大, 诱导或振荡过程中各基元反应的速率越大, 这直接影响诱导时间、振荡周

期、振荡寿命或振荡幅度等, 其结果引起同一样本指纹图谱形状的改变. 如按 2.2 节“实验方法”调节搅拌速率分别为 100、200、400、500、700 和 1000 r/min 时, 测得葡萄味卡夫果珍的指纹图谱见图 5(a), 由图 5(a)可见, 搅拌速率对该指纹图谱的诱导时间、振荡寿命和振荡幅度等均有明显的影响, 引起指纹图谱形状的变化. 搅拌速率 $v_{\text{搅拌}}$ 对诱导时间 $t_{\text{诱导}}$ 的影响见图 5(b), 数据拟合结果表明, 其定量关系还可表示为 $t_{\text{诱导}} = 2.499 \times 10^{-7} v_{\text{搅拌}}^3 - 0.0003805 v_{\text{搅拌}}^2 + 0.04908 v_{\text{搅拌}} + 316.8$. 搅拌速度也可能影响氧在反应液中溶解量, 溶解氧

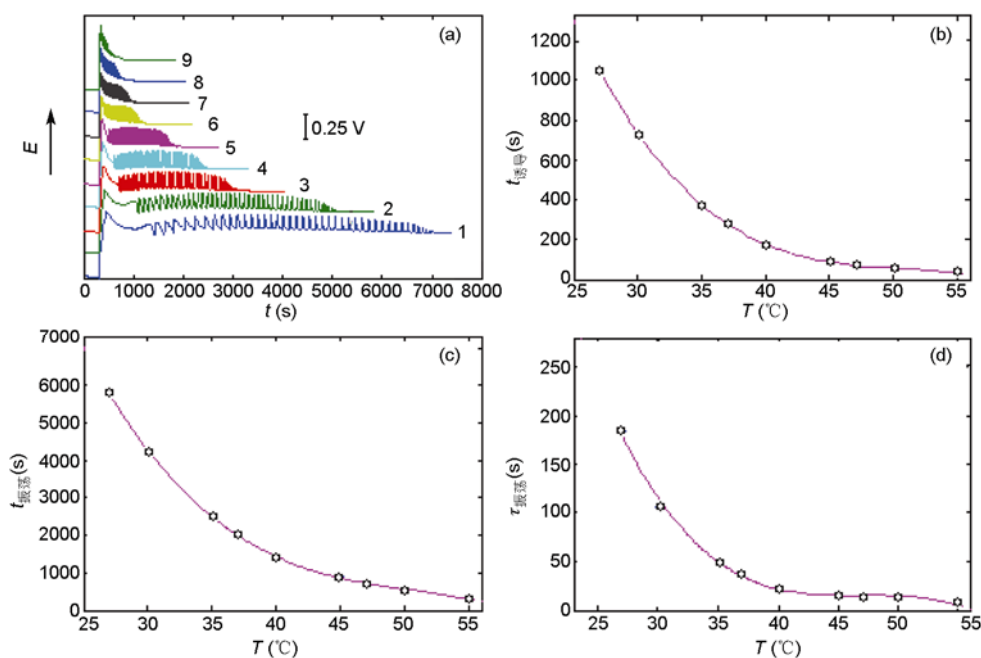


图 4 温度对葡萄味卡夫果珍非线性化学指纹图谱形状和定量信息的影响. (a) 对指纹图谱形状的影响; (b) 对诱导时间的影响; (c) 对振荡寿命的影响; (d) 对振荡周期的影响. 检测用量: 1.0000 g. 1~9 分别为 27, 30, 35, 37, 40, 45, 47, 50 和 55 $^{\circ}\text{C}$

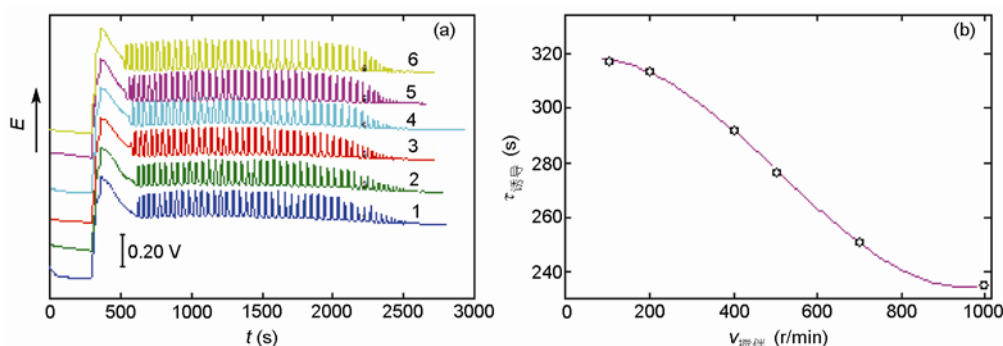


图 5 搅拌速率对葡萄味卡夫果珍非线性化学指纹图谱(a)及其诱导时间(b)的影响. 1~6 分别为 100, 200, 400, 500, 700 和 1000 r/min. 检测用量: 1.0000 g

作为体系中的一种物质有可能影响振荡反应, 导致指纹图谱信息变化. 因此, 精确控制搅拌速率也是保证指纹图谱重现性的必要条件之一. 采用磁力搅拌时, 除精确控制电机转速外, 搅拌子的形状、规格大小和制作材料等也必须严格一致. 本实验采用搅拌速度为 850 r/min.

(7) 样本检测用量的影响

溶液中物质的浓度越大, 其活度就越大, 但两者并非正比关系, 即浓度增大时, 决定反应速率的活度增长速度越来越小于浓度的增长速度. 样本检测用量, 直接影响溶液中相关物质的浓度.

在相同体积反应液中, 同一样本检测用量越大, 反应液中该样本溶出成分的浓度就越大. 另外, 在相同体积的反应液中, 加入相同检测用量的同种样本, 若该样本成分含量越高, 溶液中样本溶出成分的浓度就越大. 两者对同一非线性化学反应体系的作用规律是相似的, 即找出样本检测用量对指纹图谱及其定量信息的影响规律, 就相当找出了不同来源同种样本成分总含量对指纹图谱形状及定量信息的影响规律. 研究结果表明, 不同样本的检测用量或成分总含量对指纹图谱定量信息的影响规律各不相同, 且多为高次方函数或对数关系, 但在适当的检测用量范围内可近似看作线性关系. 如按 2.2 节“实验方

法”测得不同检测用量(m)的葡萄味卡夫果珍指纹图谱的可量化信息数据, 将这些数据和检测用量进行拟合的结果表明, 检测用量(1.0~6.0 g)与指纹图谱中可量化参数如振荡寿命、振荡周期、诱导时间及最大振幅 $\Delta E_{\max}$ 之间存在定量函数关系(图 6), 函数关系式可分别用 $t_{\text{振荡}} = -25.84m^3 + 345.8m^2 - 1637m + 3320$ 、 $\tau_{\text{振荡}} = -0.1055m^3 + 2.099m^2 - 13.97m + 51.24$ 、 $t_{\text{诱导}} = -9.576m^3 + 120.1m^2 - 474.7m + 636.7$ 和 $\Delta E_{\max} = -0.001177m^3 + 0.005262m^2 - 0.01119m + 0.1803$ 来表示. 可见, 研究样本检测用量对非线性化学指纹图谱的影响, 可揭示出许多对评价不同来源或不同生产批次的同种产品质量非常有用的样本成分总含量或总浓度的相对定量信息. 由图 6 可见, 葡萄味卡夫果珍指纹图谱的定量信息均随检测用量增加而递减, 但并非所有样本的指纹图谱都遵循这一规律. 由于不同样本中所含反应底物以及与之共存的其他化学物质的种类及其含量之间的差异, 即不同样本涉及的非线性化学反应的化学环境各不相同, 导致各样本指纹图谱中定量信息与检测用量的关系规律也不尽相同. 如龙牌特制酱油指纹图谱(图 7(a))中振荡周期和最大振幅随样本检测用量(或有效成分总含量)增大而变小, 诱导时间和振荡寿命则随检测用量增大而增大; 一年山西老陈醋指纹图谱(图 7(b))中振荡寿命、振荡周期和

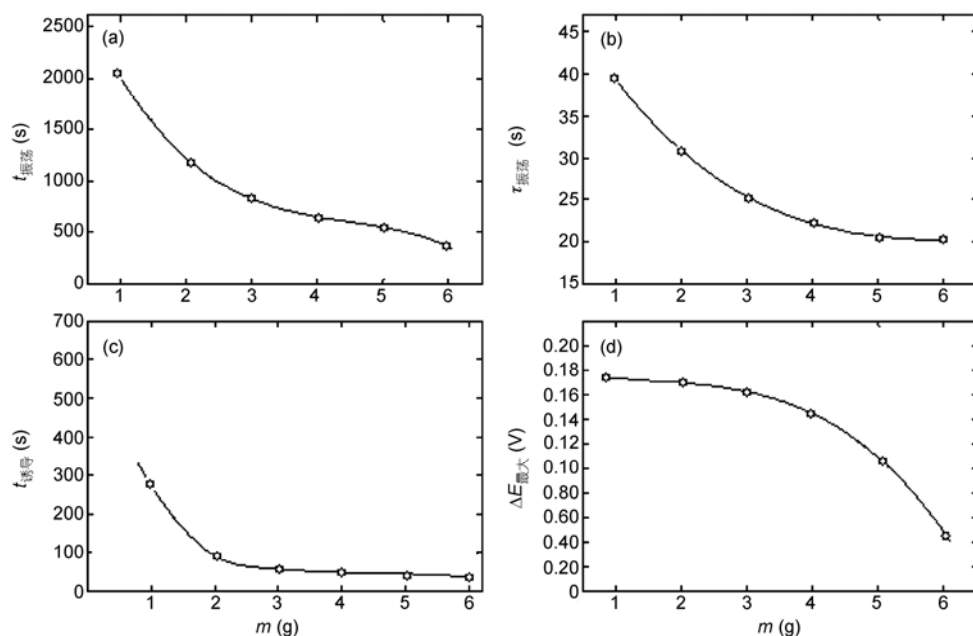


图 6 葡萄味卡夫果珍指纹图谱中振荡寿命($t_{\text{振荡}}$)、振荡周期($\tau_{\text{振荡}}$)、诱导时间($t_{\text{诱导}}$)及最大振幅($\Delta E_{\max}$)与检测用量(m)的关系

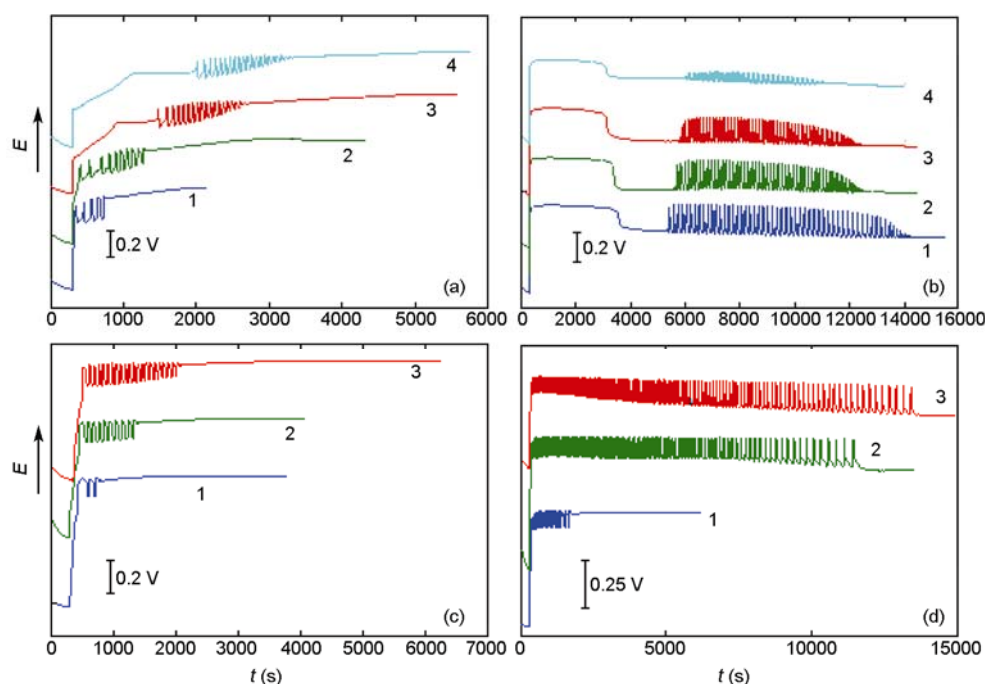


图7 检测用量(样本成分总含量)对一些食品样本指纹图谱的形状和定量信息的影响. (a) 龙牌特制酱油(1, 5.00 mL、2, 6.00 mL、3, 8.00 mL、4, 10.00 mL); (b) 一年山西老陈醋(1, 9.00 mL、2, 11.00 mL、3, 12.00 mL、4, 13.00 mL); (c) 李锦记金标生抽(1, 8.00 mL、2, 10.00 mL、3, 12.00 mL); (d) 李锦记薄盐生抽(1, 6.00 mL、2, 8.00 mL、3, 10.00 mL)

最大振幅均随样本检测用量增大而变小, 诱导时间则随检测用量增大而增大; 李锦记金标生抽指纹图谱(图 7(c))中诱导时间和振荡周期随检测用量增大而变小, 最大振幅没有明显的变化, 而振荡寿命则随检测用量增大而增大; 李锦记薄盐生抽指纹图谱(图 7(d))中振荡寿命随检测用量增大而增大, 而诱导时间则几乎不变, 均趋于零. 尽管这些变化规律有所不同, 但与葡萄味卡夫果珍指纹图谱定量信息和检测用量(或成分总含量)的关系类似, 通过对实验数据进行拟合可求得定量关系式. 这对不同来源或不同生产批次的同种产品的质量评价具有重要的作用.

从反应动力学的角度来看, 因同一溶液中样本的检测用量越大, 该溶液中样本成分被浸出的浓度越大, 有关反应粒子碰撞的频率越高, 反应速度就越快, 故振荡周期一般随样本检测用量增大而减小. 检测用量的增加, 对指纹图谱振荡寿命有两种完全不同的作用. 增加样本检测用量会增加溶液中由样本带来的引起非线性化学反应的底物的浓度, 这势必增长指纹图谱的振荡寿命(图 7(a)、(c)和(d)), 但另一方面, 增加检测用量也增加了对非线性化学反应有

干扰和抑制作用的物质的浓度, 这将使指纹图谱的振荡寿命缩短(图 7(b)). 因此, 指纹图谱振荡寿命随检测用量递增还是递减, 决定于这一矛盾的主导方面. 与此类似, 检测用量对诱导时间的影响也有两个方面. 一方面检测用量的增加既增大了对产生 $[\text{Br}^-]_{\text{crit}}$ 的诱导过程有干扰和抑制作用的物质的浓度, 会使整个诱导过程所需的时间增长(见图 7(a)和(b); 值得注意的是, 图 7(a)的指纹图谱 1 中左边第一个峰不是振荡峰, 而是诱导曲线峰, 因诱导时间太短, 使诱导曲线峰受挤压所致; 同理, 图 7(c)的指纹图谱 3 中左边第一个峰也不是振荡峰, 而是诱导曲线峰), 但另一方面, 增加检测用量也可能增加诱导反应中将高价溴还原成 Br^- 的还原性物质的浓度, 使整个诱导过程所需时间缩短(图 7(c)). 有些样本中含有将 BrO_3^- 还原成能引发振荡反应的 Br^- 的还原性物质的浓度或活性太大, 使得产生 Br^- 的诱导过程几乎在一瞬间完成, 表现出检测用量对诱导时间没有明显的影响(图 7(d)). 通过对图 7 的综合分析可见, 检测用量的递变将导致指纹图谱中定量信息的递变. 这种递变规律对评价产品质量十分有用.

值得强调的是, 非线性化学指纹图谱是基于实时跟踪反应过程而测得的动力学指纹图谱, 较不直接反映样本成分化学性质的传统指纹图谱的优势之一在于对样本差别的高度分辨能力. 原因是这种指纹图谱所依赖的非线性化学反应不仅对样本成分的变化十分敏感, 而且对相同成分的含量或浓度的变化也很敏感. 检测用量的变化, 会引起相同容积反应液中样本成分浓度的变化. 如果样本某些成分是非线性化学反应的底物, 样本成分总浓度越大, 则底物的浓度也越大; 样本成分总浓度越小, 则底物的浓度也越小. 底物浓度过小时, 不能引发非线性化学反应. 底物浓度过大时, 样本各成分的总浓度, 即整体浓度则更大, 此时体系中共存的某些影响成分通过沉淀、中和、配合、缔合、氧化还原或自由基反应等对非线性化学反应过程中某些基元反应发生作用, 可能使振荡反应完全被抑制, 故不能产生一个完整的包含丰富定性和定量信息的指纹图谱. 因此, 测定样本指纹图谱时, 一般涉及到适合该样本的检测用量范围. 另外, 同种底物在不同浓度范围时, 其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, 使相应 $E-t$ 曲线的特征形状发生较大改变, 而不仅仅是图谱中定量信息的变化. 如按 2.2 节“实验方法”加入不同检测用量的固体咖啡测得的指纹图谱见图 8. 由图可见, 检测用量 < 1.7502 g 时, 指纹图谱

中包含两段湍流曲线第一段湍流曲线见图 8(a)、(b)、(c)中箭头所示, 而且第一段湍流寿命和波数(电位起伏次数)随检测用量增大而减少; 检测用量 ≥ 1.7502 g 时, 指纹图谱中仅剩下一段湍流(即无固定周期的电位起伏变化). 可见, 在这两个检测用量范围内, 反应体系中由于样本底物的浓度不同, 导致非线性化学反应的机理发生变化, 使整个指纹图谱的特征发生了明显改变. 因此, 根据标准谱库中拟匹配数据的具体情况, 欲测得固体咖啡含两段湍流曲线的指纹图谱时, 其检测用量应小于 1.7502 g; 反之, 欲测得固体咖啡指纹图谱中只含一段湍流曲线时, 其检测用量应大于 1.7502 g. 由图还可看出, 可利用指纹图谱中诱导时间 $t_{\text{诱导}}$ 、振荡寿命 $t_{\text{振荡}}$ 、最大振幅 ΔE_{max} 等定量信息与检测用量 m (或成分整体相对含量)的定量关系来计算成分的含量. 如检测用量范围为 0.50~2.75 g 时, 可利用 $\Delta E_{\text{max}} = -0.06668m + 0.2329$ (相关系数 0.9980)和 $t_{\text{振荡}} = -2774m^3 + 1684m^2 - 3488m + 2670$ 来定量计算咖啡成分的整体相对含量; 同时, 也可从指纹图谱的直观特征来估计样本中咖啡成分的整体相对含量, 如包含两段湍流信息的指纹图谱表示其样本咖啡成分的相对含量低于只含一段湍流的指纹图谱的相对含量. 这也为样本的质量评价提供了方便.

对于振荡寿命随检测用量增加而增加的指纹图谱, 其检测用量在允许范围内应适当减小, 反之, 则

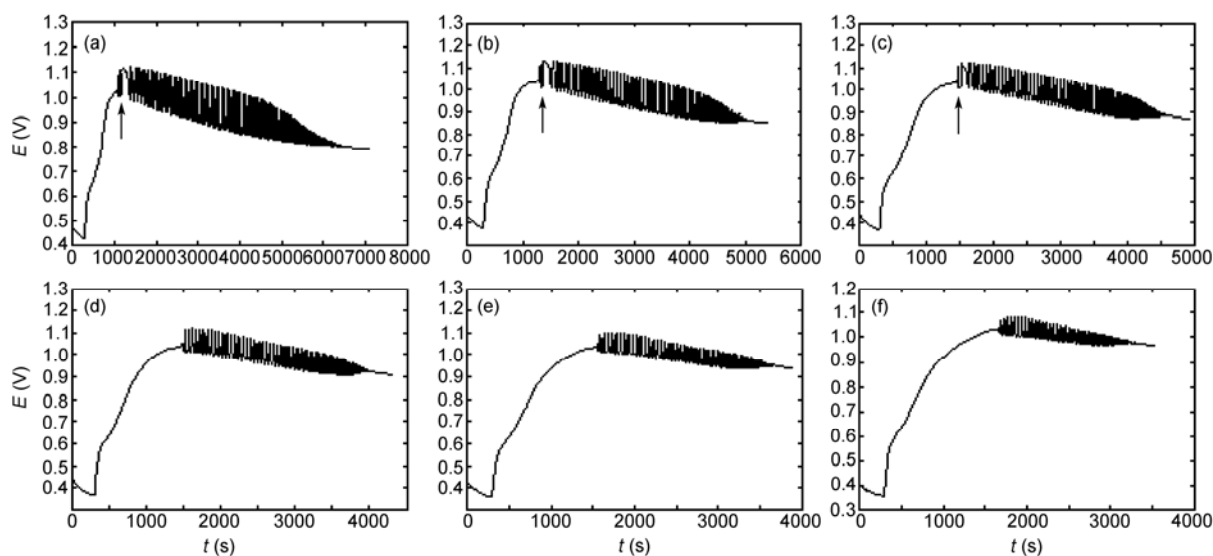


图 8 按“实验方法”测得某固体咖啡的非线性化学指纹图谱. (a)~(f)的检测用量分别为 1.0002、1.2500、1.5002、1.7502、2.0002 和 2.2501 g

应适当增大. 故测定指纹图谱时, 各种样本均有其合适的检测用量或用量范围, 而且检测用量或检测用量范围是测定样本指纹图谱的重要条件之一. 因此, 只有在适当检测用量范围内, 样本才会产生一定特征形状的指纹图谱, 同时又能保证样本成分总含量与指纹图谱定量信息之间具有一定的对评价样本质量有用的函数关系. 总之, 在鉴别不同种类的样本或同种样本的不同来源时, 样本检测用量须作为检测指纹图谱的重要条件来精确控制; 各种样本的最佳检测用量范围必须通过条件优化实验来确定.

不同样本指纹图谱所合适的检测用量或用量范围不同, 利用这一特点, 通过适当选择各种样本的检测用量, 可将种类繁多的样本非线性化学指纹图谱分成若干类, 使指纹图谱库中按检测用量测得的每一类指纹图谱所包含的样本种类或同种类但不同品牌名称的样本数目大大减少, 即在检测条件下, 当检测用量在某一值或某一范围时, 一般只有某些样本可产生非线性化学指纹图谱. 这样不仅可提高指纹图谱的相似度匹配检索速率, 更有利于提高通过非线性化学指纹图谱鉴别和评价样本的准确性.

(8) 样本粒度的影响

对于难溶性样本, 其样本的检测粒度对指纹图谱也有明显影响, 而且各种样本的粒度影响规律并不完全相同. 一定条件下, 检测用量固定时, 样本粒度越小, 其成分浸出速率越大, 在一定时间内溶液中对非线性化学反应产生作用或发生干扰或抑制的化学成分的浓度越大, 因而使 $E-t$ 曲线中一些信息发生某种规律性变化, 即样本粒度对溶液中样本成分浓度有很大的影响. 由上一节“样本检测用量的影响”讨论可知, 样本粒度对指纹图谱的形状和可量化参数的影响也会表现出多样性, 随着样本不同而有不同的规律. 因此, 欲获得一个重现性很好的难溶性样本的指纹图谱, 样本粒度也是须严格控制的重要检测条件之一, 而且还须同时考虑样本粒度和相应的检测用量. 值得一提的是, 若样本粒度均小于某一值, 在达到一定浸出时间时, 所有不同大小颗粒的样本成分均已基本浸出, 这可使样本指纹图谱具有很好的重现性. 故难溶性样本的颗粒直径均应小于适当的值. 该值应通过具体样本的条件实验来确定.

3.3 非线性化学指纹图谱的应用

在优化检测条件下, 用本文中非线性化学指纹

图谱分析仪进行测定, 对平行测定的同一样本, 其指纹图谱有很好的重现性, 对不同种类样本, 因化学成分及其含量不同, 相应指纹图谱中各种可量化信息指标、诱导曲线和振荡或湍流曲线形状, 以及振荡或湍流的波形等信息全部或部分不同, 即非线性化学指纹图谱可表现出不同样本内在化学成分及其含量的差别, 具有对样本定性及对其整体成分相对定量的功能^[38, 45]. 故可利用该指纹图谱中丰富的可量化的和直观的信息, 即非线性化学指纹图谱特征参数和形状来评价样本质量及鉴别其真伪.

(1) 不同种类产品鉴别

按 2.2 节“实验方法”, 分别加入新批次的潘高寿、康师傅铁观音茶、康师傅冰红茶、天喔冰红茶各 11.00 mL, 固体形态的优美乐奶茶、南仔奶粉、雀巢米粉、葡萄味卡夫果珍和雀巢奶茶各 1.000 g, 将溴酸钠溶液改成 5.00 mL 时, 加入雀巢咖啡 10.00 mL, 加入奈奇玉米汁、李子园玉米汁等各 13.00 mL, 测定其非线性化学指纹图谱. 结果表明, 各种样本均有其特征指纹图谱(图 9). 由图可见, 因不同样本参与的非线性化学反应有所不同, 导致其 $E-t$ 曲线的诱导时间、振荡或湍流的周期、寿命和幅度, 最大峰顶电位和最小峰谷电位等可量化信息和诱导曲线、振荡或湍流曲线、振荡或湍流的波形等直观信息等发生不同变化, 即各种样本均有相应的非线性化学指纹图谱. 利用其指纹图谱可方便地对各种样本进行区别和鉴定. 由图 9 还显然易见, 因各种样本指纹图谱间具有很好的特征差异, 可直接利用其直观信息来进行样本鉴定, 一般无须采用模式识别等数学处理方法.

(2) 同种不同源或不同品牌产品的鉴别

因非线性化学指纹图谱的动力学性质, 其形状特征不仅与样本成分种类有关, 也与样本成分的含量密切相关. 这给不同源或不同品牌的同种产品的鉴别带来了方便. 例如, 按 2.2 节“实验方法”, 在反应器中分别加入小于 150 目的甘肃、四川和河南产丹参各 0.8000 g, 加拿大、澳大利亚和中国产小麦各 2.500 g; 将溴酸钠溶液改成 5.00 mL 时, 分别加入雀巢咖啡、美式-雅哈咖啡和奶咖精选-雅哈咖啡各 10.00 mL, 李子园玉米汁、奈奇玉米汁、谷粒谷力玉米汁、洪大妈玉米汁、黄金元玉米汁和唐维纳玉米汁各 13.00 mL, 测得其指纹图谱见图 10. 由图可见, 丹参系列(a~c)、小麦系列(d~f)和咖啡饮料系列(g~i)产品指纹图谱的特征形状分别相似, 只是诱导时间、振荡或湍流的幅度和寿

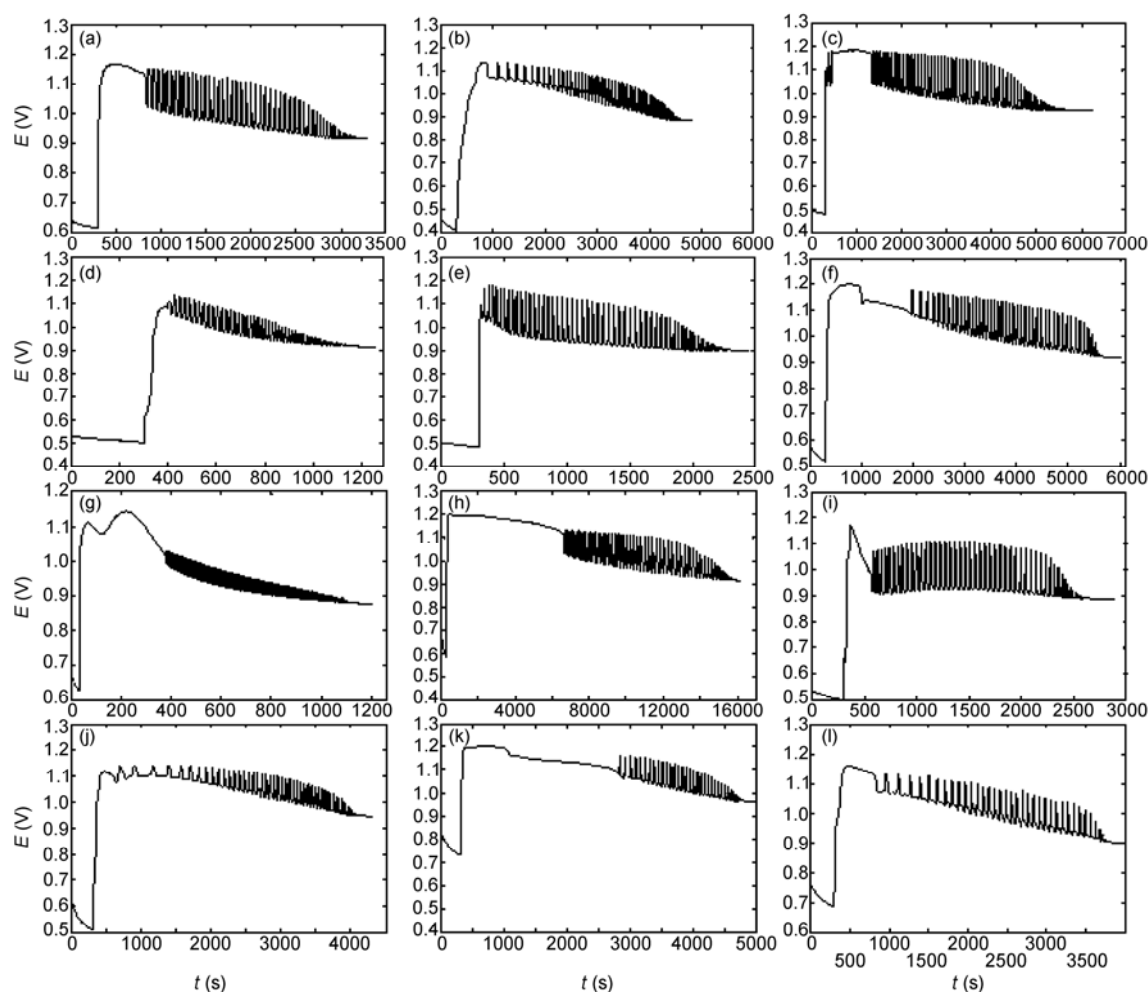


图 9 一些不同种类食品饮料的非线性化学指纹图谱. (a) 潘高寿; (b) 雀巢咖啡; (c) 康师傅铁观音茶; (d) 康师傅冰红茶; (e) 天喔冰红茶; (f) 固体优美乐奶茶; (g) 固体南仔奶粉; (h) 固体雀巢米粉; (i) 固体葡萄味卡夫果珍; (j) 固体雀巢奶茶; (k) 奈奇玉米汁; (l) 李子园玉米汁

命等定量信息存在差别, 说明这 3 个系列产品的化学成分种类分别相近, 只是其成分的整体含量有所不同; 玉米汁系列产品(j~o)因其配方不同, 不仅化学成分含量不同, 成分种类也不同, 故指纹图谱的特征差异相当明显. 无论是整体成分定量信息还是形状特征的差异, 都有利于直接用非线性化学指纹图来快速鉴定样本.

(3) 产品质量评价

利用非线性化学指纹图谱, 还可对同种不同源产品质量进行评价. 本文以不同厂家纯牛奶的指纹图谱来进行讨论. 按 2.2 节“实验方法”, 将溴酸钠溶液改成 10.00 mL, 加入不同量南山纯牛奶检测其指纹图谱, 结果见图 11. 在同一定容反应液中, 纯牛奶

检测用量对指纹图谱的影响, 就相当于固定检测用量时纯牛奶成份总浓度的影响. 由图 11 可见, 各指纹图谱诱导曲线的变化趋势相同, 湍流曲线的波动形状和幅度等相同, 这是不同浓度纯牛奶指纹图谱的共同特征, 但纯牛奶有效成份总浓度与定量信息呈现规律性的变化. 如湍流波动停止的时间 $t_{\text{停波}}$ 随检测用量 m (或成份总浓度) 的递增而单调下降, 拟合函数式为 $t_{\text{停波}} = -1554m^3 + 5.161 \times 10^4 m^2 - 5.736 \times 10^5 m + 2.145 \times 10^6$ (图 12); 纯牛奶检测用量或浓度越大, 湍流寿命越短, 湍流中波动的数目 $n_{\text{湍流}}$ 越少. 这是因为在所讨论的检测用量或浓度范围内, 纯牛奶浓度增大一方面增大了引起湍流反应的底物或耗散物的浓度, 有可能增大湍流寿命, 但同时也增大了对湍流反应

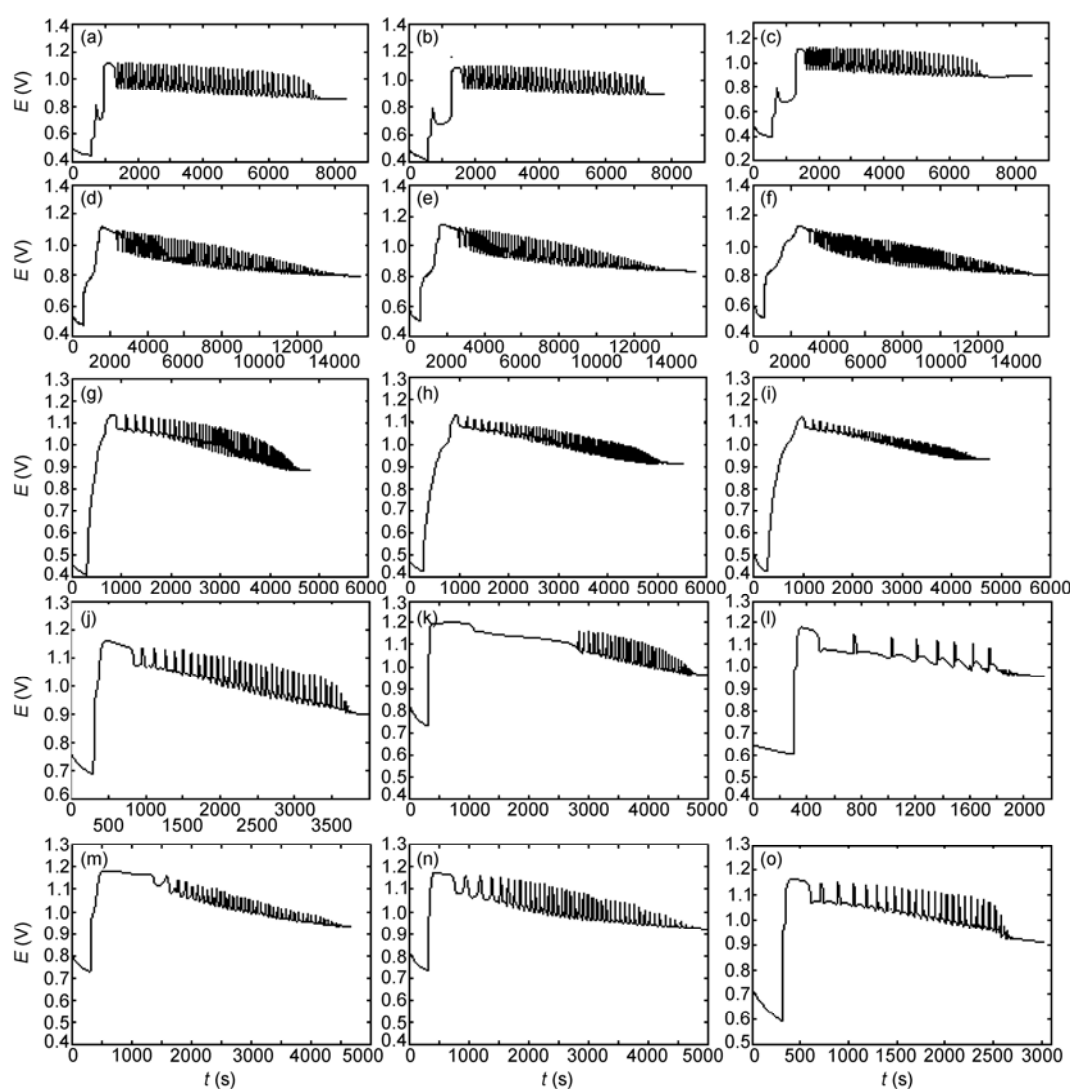


图 10 不同产地或品牌的丹参、小麦、咖啡饮料和玉米汁的非线性化学指纹图谱. (a) 肃丹参; (b) 川丹参; (c) 南丹参; (d) 加拿大小麦; (e) 澳大利亚小麦; (f) 中国小麦; (g) 雀巢咖啡; (h) 美式-雅哈咖啡; (i) 奶咖精选-雅哈咖啡饮料; (j) 李子园玉米汁; (k) 奈奇玉米汁; (l) 谷粒谷力玉米汁; (m) 洪大妈玉米汁; (n) 黄金元玉米汁; (o) 唐维纳玉米汁

起抑制作用的成分浓度, 而且在该浓度范围内, 这些成分对湍流反应的抑制作用在矛盾中起了主导作用. 利用这些定量信息随纯牛奶浓度变化的规律, 很容易鉴别作为商品的纯牛奶中是否加入了水及其加入的相对量. 由图 11 还可看到, 当检测用量达到 12.00 mL 时, 纯牛奶成份对湍流反应的抑制占了绝对优势, 非线性化学体系已无法产生湍流反应, 故 12.00 mL 是检测用量范围的上限. 将检测用量固定为 11.00 mL, 按上述方法, 检测生产日期相近的蒙牛、伊利和南山纯牛奶的指纹图谱, 结果见图 13. 根

据上述纯牛奶浓度与定量信息, 如湍流寿命、湍流波动数目和湍流停止的时间等的定量关系, 可方便地对各种纯牛奶的相对浓度进行计算; 由图 13 中直观信息也可看出, 各地纯牛奶指纹图谱的诱导曲线变化趋势相同, 形状相似, 这是各地纯牛奶指纹图谱的共同特征, 也因该共同特征而将纯牛奶与其它样本的指纹图谱明显区分开来(由图 13 与图 9、10 的比较可见). 因南山纯牛奶指纹图谱的湍流寿命和湍流停止的时间最短, 湍流的波动数最少, 显然, 南山纯牛奶浓度最大. 同理可见, 蒙牛纯牛奶的浓

度最小, 伊利纯牛奶居中。

3.4 非线性化学指纹图谱的特点

与传统的波谱和色谱指纹图谱技术比较, 非线性化学指纹图谱技术具有十分明显的优点, 主要表现为:

(1) 非线性化学指纹图谱是一种动力学指纹图谱, 具有优越的特征性. 波谱、色谱等指纹图谱都是非动力学指纹图谱, 所反映的样本信息, 一般不涉及化学反应, 或与化学反应不直接相关. 而非线性化学指纹图谱反映的是样本成分参与的整个非线性化学反应过程的动力学信息, 即与该化学反应的全过程直接相关, 因而该指纹图谱能更好地体现样本成分及其含量和化学性质的差别, 表现为指纹图谱的特

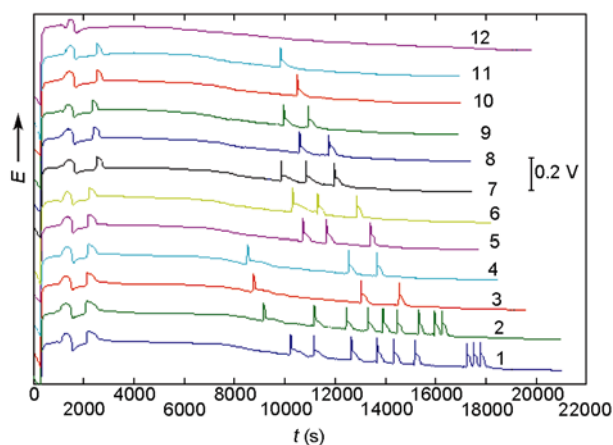


图 11 纯牛奶检测用量与指纹图谱定量信息之关系. 1~12 分别为 9.80, 10.00, 10.2, 10.40, 10.60, 10.80, 11.00, 11.20, 11.40, 11.60, 11.80 和 12.00 mL

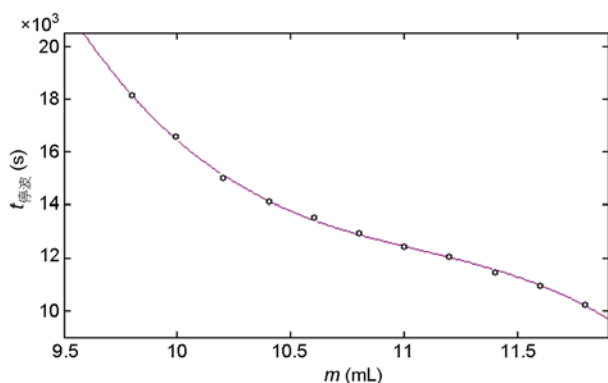


图 12 南山纯牛奶非线性化学指纹图谱停波时间($t_{\text{停波}}$)与检测用量(m)的关系

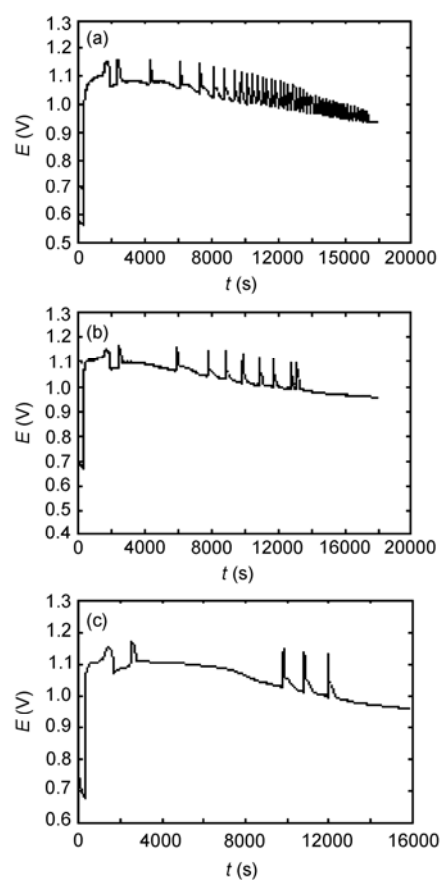


图 13 按“实验方法”将溴酸钠溶液改成 10.00 mL, 分别加入蒙牛纯牛奶(a)、伊利纯牛奶(b)和南山纯牛奶(c)各 11.00 mL 测得的非线性化学指纹图谱

征性很强, 直观明了(图 3、7~10 和图 13)。

(2) 非线性化学指纹图谱是含有丰富定性定量信息的全谱. 波谱或色谱指纹图谱往往须进行波长或保留值区域的选择和截留, 故这些指纹图谱实际上只是波谱或色谱中的部分信息. 与此不同, 非线性化学指纹图谱无须进行反应时间区域的选择, 记录了整个非线性化学反应过程的动力学信息, 是真正意义上的全谱(图 3、图 7~10、图 13), 具有丰富的定性和定量信息^[38, 45]。

(3) 非线性化学指纹图谱技术简便快速. 首先, 作为样本整体成分的群集表征, 因其含有丰富的定性与定量信息, 以及特征性强(图 9、10 和 13)和重现性好(见文献[45]中图 2 和 5)的特点, 可直接根据其形状和定性、定量参数来准确鉴定与评价样本, 一般无须平行测定大量样本及对测定的数据进行模式识别

等处理。其次, 样本一般无须像色谱等测定前那样的烦琐预处理, 各种相态(液、固、膏、汤等)、形状和配方的样本, 只要能定量移取, 均可直接用指纹图谱分析仪进行测定, 大大简化了样本预处理和指纹图谱测定分析的全过程。此外, 非线性化学指纹图谱因其信噪比高和信号稳定等特点, 在分析应用前无须对其进行曲线平滑和基线漂移校正等信号处理, 等等。这些都大大地节省了操作时间, 简便快速。

(4) 非线性化学指纹图谱具有很好的重现性。在相同测定条件下, 同种同源的样本, 化学组成及其含量相同, 不同操作人员均可测得相同的指纹图谱^[45]。指纹图谱形状或定性和定量信息改变则意味着产品成份及其含量或产品质量的改变, 因而可利用非线性化学指纹图对产品的生产过程和质量进行监控, 实现标准化生产和质量管理。

(5) 非线性化学指纹图谱测定是基于一种新的原理, 而且其研究与检测仪器的开发几乎同步进行。波谱和色谱指纹图谱技术是在其以成分分析为主的检测仪器问世几十年之后才提出的, 其检测原理上缺乏创新性。与此不同, 非线性化学指纹图谱不仅基于一种新的检测原理^[45], 而且与其检测仪器的研究几乎是同步进行的, 具有原创性, 该检测仪器研制成功, 标志着非线性化学分析仪器的问世, 对分析科学的发展具有重要意义。

4 结论

非线性化学指纹图谱技术是一种基于样本整体

成分参与的非线性化学反应中电位随时间的变化来鉴别和评价样本的技术。在优化和精确重现的条件下, 检测的非线性化学指纹图谱具有很好的特征性和重现性。非线性化学指纹图谱的测定必须借助远离平衡态的热力学封闭体系或无耗散物补充的敞开体系中非线性化学反应来进行。不同样本因其化学成分种类及其含量的差别, 均可测定其具有明显不同的直观特征的指纹图谱, 可用于鉴别样本。在适当检测用量范围内, 样本非线性化学指纹图谱中诱导时间、振荡或湍流周期、幅度和寿命等定量信息与样本成分总含量之间存在相应函数关系, 可用于定量评价样本的质量。某些情况下, 样本质量还可根据其指纹图谱特征变化来初步评估。非线性化学指纹图谱的重现性完全决定于检测条件及操作过程的优化和重现。因此, 当测定样本指纹图谱时, 所采用的非线性化学体系的物种及其浓度、检测仪器及其电极类型、温度、搅拌速率、检测用量、样本粒度和操作过程等必须严格优化和精确控制。与不直接涉及化学反应过程的波谱及色谱等传统指纹图谱不同, 非线性化学指纹图谱是一种动力学指纹图谱。因此, 在一定检测条件下, 其信息的差别完全决定于样本化学成分及其含量对相应非线性化学反应影响的差别。非线性化学指纹图谱不仅因其动力学性质而具有优越的特征性, 而且还是一种真正意义上的含有丰富定性信息与定量信息的全谱, 其操作简便快速, 应用范围广泛, 对食品、农产品和中药等复杂样本的鉴别和评价具有重要意义。

致谢 本工作得到国家科技部政策引导类计划(2009GJD20033)和国家科技部国际科技合作项目(2007DFA40680)资助, 特此一并致谢。

参考文献

- 1 陈颖, 葛毅强, 吴亚军, 黄文胜. 现代食品真伪检测鉴别技术. 食品与发酵工业, 2007, 33 (7): 102-106
- 2 Peres B, Barlet N, Loiseau G, Montet D. Review of the current methods of analytical traceability allowing determination of the origin of foodstuffs. *Food Cont*, 2007, 18: 228-235
- 3 Ballin NZ, Vogensen FK, Karlsson AH. Species determination—Can we detect and quantify meat adulteration, *Meat Sci*, 2009, 83: 165-174
- 4 Peris M, Escuder-Gilabert L. A 21st century technique for food control: Electronic noses. *Anal Chim Acta*, 2009, 638: 1-15
- 5 Pilgrim TS, Watling RJ, Grice K. Application of trace element and stable isotope signatures to determine the provenance of tea (*Camellia sinensis*) samples. *Food Chem*, 2010, 118: 921-926
- 6 Chambery A, Monaco GD, Maro AD, Parente A. Peptide fingerprint of high quality Campania white wines by MALDI-TOF mass

- spectrometry. *Food Chem*, 2009, 113: 1283–1289
- 7 Casale M, Casolino C, Oliveri P, Forina M. The potential of coupling information using three analytical techniques for identifying the geographical origin of Liguria extra virgin olive oil. *Food Chem*, 2010, 118: 163–170
 - 8 Cynkar W, Damberg R, Smith P, Cozzolino D. Classification of Tempranillo wines according to geographic origin: Combination of mass spectrometry based electronic nose and chemometrics. *Anal Chim Acta*, 2010, 660(1-2): 227–231
 - 9 Bern AZ, Trowell S, Clifford D, Cynkar W, Cozzolino D. Geographical origin of Sauvignon Blanc wines predicted by mass spectrometry and metal oxide based electronic nose. *Anal Chim Acta*, 2009, 648: 146–152
 - 10 Gonzalez A, Llorens A, Cervera ML, Armenta S, Guardia MD. Elemental fingerprint of wines from the protected designation of origin Valencia. *Food Chem*, 2009, 112: 26–34
 - 11 Galgano F, Favati F, Caruso M, Scarpa T, Palma A. Analysis of trace elements in southern Italian wines and their classification according to provenance. *LWT Food Sci Technol*, 2008, 41: 1808–1815
 - 12 Crittenden RG, Andrew AS, LeFournour M, Young MD, Middleton H, Stockmann R. Determining the geographic origin of milk in Australasia using multi-element stable isotope ratio analysis. *Int Dairy J*, 2007, 17: 421–428
 - 13 García-Ruiz S, Moldovan M, Fortunato G, Wunderli S, Alonso JIG. Evaluation of strontium isotope abundance ratios in combination with multi-elemental analysis as a possible tool to study the geographical origin of ciders. *Anal Chim Acta*, 2007, 590: 55–66
 - 14 Techaprasan J, Klinbunga S, Jenjittikul T. Genetic relationships and species authentication of Boesenbergia (Zingiberaceae) in Thailand based on AFLP and SSCP analyses. *Biochem System Ecol*, 2008, 36: 408–416
 - 15 Fajardo V, González I, López-Calleja I, Martín I, Rojas M, Hernández PE, García T, Martín R. Identification of meats from red deer (*Cervus elaphus*), fallow deer (*Dama dama*), and roe deer (*Capreolus capreolus*) using polymerase chain reaction targeting specific sequences from the mitochondrial 12S rRNA gene. *Meat Sci*, 2007, 76: 234–240
 - 16 Martín I, García T, Fajardo V, López-Calleja I, Rojas M, Hernández PE, González I, Martín R. Mitochondrial markers for the detection of four duck species and the specific identification of Muscovy duck in meat mixtures using the polymerase chain reaction. *Meat Sci*, 2007, 76: 721–729
 - 17 Kenjeric D, Mandic ML, Primorac L, Bubalo D, Perl A. Flavonoid profile of Robinia honeys produced in Croatia. *Food Chem*, 2007, 102: 683–690
 - 18 Tamborra P, Esti M. Authenticity markers in Aglianico, Uva di Troia, Negroamaro and Primitivo grapes. *Anal Chim Acta*, 2010, 660(1-2): 221–226
 - 19 Vaz-Freire LT, Gomes da Silva MDR, Costa Freitas AM. Comprehensive two-dimensional gas chromatography for fingerprint pattern recognition in olive oils produced by two different techniques in Portuguese olive varieties Galega Vulgar, Cobrancosa e Carrasquenha. *Anal Chim Acta*, 2009, 633: 263–270
 - 20 Bianchi F, Cantoni C, Careri M, Chiesa L, Musci M, Pinna A. Characterization of the aromatic profile for the authentication and differentiation of typical Italian dry-sausages. *Talanta*, 2007, 72: 1552–1563
 - 21 Serradilla MJ, Martín A, Aranda E, Hernández A, Benito MJ, Lopez-Corrales M, Córdoba MDG. Authentication of “Cereza del Jerte” sweet cherry varieties by free zone capillary electrophoresis (FZCE). *Food Chem*, 2008, 111: 457–461
 - 22 Boffo EF, Tavares LA, Ferreira MMC, Ferreira AG. Classification of Brazilian vinegars according to their ¹H NMR spectra by pattern recognition analysis. *LWT- Food Sci Technol*, 2009, 42: 1455–1460
 - 23 Dian PHM, Andueza D, Jestin M, Prado IN, Prache S. Comparison of visible and near infrared reflectance spectroscopy to discriminate between pasture-fed and concentrate-fed lamb carcasses. *Meat Sci*, 2008, 80: 1157–1164
 - 24 Sánchez MT, Pérez-Marín D, Flores-Rojas K, Guerrero JE, Garrido-Varo A. Use of near-infrared reflectance spectroscopy for shelf-life discrimination of green asparagus stored in a cool room under controlled atmosphere. *Talanta*, 2009, 78: 530–536
 - 25 Cozzolino D, Holdstock M, Damberg R, Cynkar W, Smith PA. Mid infrared spectroscopy and multivariate analysis: A tool to discriminate between organic and non-organic wines grown in Australia. *Food Chem*, 2009, 116: 761–765
 - 26 Shiroma C, Rodriguez-Saona L. Application of NIR and MIR spectroscopy in quality control of potato chips. *J Food Comp Anal*, 2009, 22: 596–605
 - 27 Gurdeniz G, Ozen B. Detection of adulteration of extra-virgin olive oil by chemometric analysis of mid-infrared spectral data. *Food Chem*, 2009, 116: 519–525
 - 28 Lerma-García MJ, Ramis-Ramos G, Herrero-Martínez JM, Simó-Alfonso EF. Authentication of extra virgin olive oils by Fourier-transform infrared spectroscopy. *Food Chem*, 2010, 118: 78–83
 - 29 Cen HY, He Y. Theory and application of near infrared reflectance spectroscopy in determination of food quality. *Trends Food Sci Technol*,

- 2007, 18: 72–83
- 30 Field RT, Körös E, Noyes RM. Oscillation in chemical system. II. Thorough analysis of temporal oscillation in the bromate-cerium-malonic acid system. *J Am Chem Soc*, 1972, 94(25): 8649–8664
- 31 Field RJ, Schneider FW. Oscillating chemical reaction and nonlinear dynamics. *J Chem Educ*, 1989, 66: 195–204
- 32 Taylor AF. Mechanism and phenomenology of an oscillating chemical reaction. *Chaos*, 2002, 27(4): 247–325
- 33 Prjman JA, Epstein IR, McManus TJ, Showalter K. Convective effects on chemical waves. 2. Simple convection in the Iodate-Arsenous acid system. *J Phys Chem*, 1991, 95: 1299–1306
- 34 张业中, 安从俊, 丁宗洲, 郑丹, 谢郢. 甲醛-乳酸-丙酮- Mn^{2+} - BrO_3^- - H_2SO_4 振荡反应动力学分析研究. *分析科学学报*, 2004, 20(5): 468–470
- 35 Gan NQ, Cai RX, Lin ZX. Determination of ascorbic acid based on a peroxidase oscillator reaction. *Anal Chim Acta*, 2002, 466(2): 257–260
- 36 Wang J, Yang ST, Cai RX, Lin ZX, Liu ZH. A new method for determination of uric acid by the lactic acid-acetone- BrO_3^- - Mn^{2+} - H_2SO_4 oscillating reaction using the analyte pulse perturbation technique. *Talanta*, 2005, 65(3): 799–805
- 37 张泰铭, 梁逸曾, 袁斌, 丁峰, 张亚朋, 魏满琼, 陈旭. 中药电化学指纹图谱的检测方法和条件因素. *科学通报*, 2007, 52(9): 1012–1120
- 38 张泰铭, 梁逸曾, 袁斌, 丁峰, 张亚朋, 陈文妍. 中药电化学指纹图谱的原理、特点和用途. *科学通报*, 2007, 52(13): 1513–1522
- 39 方宣启, 张泰铭, 赵哲, 向凤琴, 梁逸曾, 王玫, 朱蓉, 成庶, 丁峰, 乔君喜. 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. *科学通报*, 2010, (17): 1661–11669
- 40 Field RJ, Schneider FW. Oscillating chemical reaction and nonlinear dynamics. *J Chem Educ*, 1989, 66: 195–204
- 41 傅献彩, 沈文霞, 姚天扬. 物理化学(下册, 第四版). 北京: 高等教育出版社, 1990. 867–886
- 42 辛厚文. 非线性化学. 合肥: 中国科学技术大学出版社, 1999. 4–7
- 43 张业中, 安从俊, 丁宗洲, 郑丹, 谢郢. NO_2^- -三乙醇胺对 B-Z 振荡反应的影响. *化学研究与应用*, 2004, 16(3): 356–358
- 44 王俊, 蔡汝秀, 林智信. 生物酶振荡分析研究咖啡因抗氧化性能的新方法. *科学通报*, 2003, 48(8): 797–801
- 45 张泰铭, 方宣启, 赵哲, 乔君喜, 向凤琴, 朱蓉, 梁逸曾, 丁峰. 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. *中国科学:化学*, 2011, 41(10)

Determining method, conditional factors, traits and applications of nonlinear chemistry fingerprint by using dissipative components in samples

Zhang TaiMing¹, Zhao Zhe¹, Fang XuanQi², Qiao JunXi¹, Xiang FengQin¹, Zhu Rong¹,
Liang YiZeng¹ & Ding Feng¹

1 College of Chemistry and Chemical Engineering, Central South University, Changsha 410083, China

2 Hunan Research Institute for Supervising and Verifying Food Quality, Changsha 410002, China

Abstract: The thermodynamic systems and dynamic model suitable for determining the nonlinear chemistry fingerprints were analyzed. The results indicated that the nonlinear chemical reactions in close systems away from the equilibrium and open systems without the complementarity of the dissipative substances had important significance for the thorough characterization and total content analysis of the chemical components in samples. Various factors influencing on the nonlinear chemistry fingerprint, such as reactant species and their concentrations, electrode types, temperature, stir rate, the kind, dosage and granularity of samples, etc. were amply researched by a nonlinear chemistry reaction, namely, B-Z oscillation which used acetone and glucose as main dissipative substances. In addition, the quantitative information on the whole of chemical components in samples were investigated. The method and its important conditions for determining the nonlinear chemistry fingerprint used in distinguishing and evaluating complex samples were successfully put forward.

Keywords: nonlinear chemistry fingerprint, sample dissipation component, determination method, condition, authenticity identification, quality evaluation, sample