

馥郁香型白酒等级鉴别的研究

穆 蕾, 钱承敬, 李少晖, 杨悠悠, 杨永坛*

(中粮营养健康研究院, 营养健康与食品安全北京市重点实验室, 北京 102209)

摘要: 目的 建立超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法和主成分分析法对馥郁香型白酒等级鉴别的方法。**方法** 白酒样品过 0.22 μm 滤膜后上机测试, 利用超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法检测。高分辨质谱采用 FullMS-ddMS2 模式对酒样中物质进行定性检测。基于 mzCloud 谱图库建立含有 158 种风味物质的数据库, 直接鉴定酒样物质, 并采用主成分分析法(principal component analysis, PCA) 对其进行分析。**结果** 本实验通过数据库比对可直接鉴定出 52°馥郁香型白酒中 73 个白酒中的微量成分, 且馥郁香型白酒原样 A1 级和 A2、A3 级可以实现很好的区分。**结论** 该方法简单、快速, 为馥郁香型白酒质量分级提供了一种新的途径。

关键词: 超高效液相色谱法; 四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法; 质量等级鉴别; 主成分分析法

Study on quality grade discrimination of fuyu flavor liquor

MU Lei, QIAN Cheng-Jing, LI Shao-Hui, YANG You-You, YANG Yong-Tan*

(COFCO Nutrition and Health Research Institute, Beijing Key Laboratory of Nutrition & Health and Food Safety, Beijing 102209, China)

ABSTRACT: Objective To establish a quality distinction method of fuyu flavor liquor by ultra performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high-resolution mass spectrometry coupled with principal component analysis (PCA) statistical method. **Methods** Liquor samples were detected by ultra performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high-resolution mass spectrometry after filtrated by 0.22 μm filter. The substances in liquor were analyzed by high resolution mass spectrometry in FullMS-ddMS2 mode. The results were directly identified by a database (including 158 flavor compounds) established through mzCloud spectrum library and the data were analyzed by PCA. **Results** Seventy-three kinds of components in 52° fuyu liquor could be directly identified by database comparison, and a good distinction could be observed between A1 and A2, A3 of fuyu flavor liquor. **Conclusion** The method is simple and rapid, which provides a new way for the quality grade discrimination of fuyu flavor liquor.

KEY WORDS: ultra performance liquid chromatography; uadrupole/electrostatic field orbitrap high-resolution mass spectrometry; quality grade discrimination; principal component analysis

基金项目: 国家重点研发计划(2017YFC1600404)

Fund: Supported by National Key R&D Program of China (2017YFC1600404)

*通讯作者: 杨永坛, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: yangyongtan@cofco.com

*Corresponding author: YANG Yong-Tan, Ph.D, Professor, Food Quality & Safety Center, COFCO Nutrition & Health Research Institute, No.4 Rode, Future Science and Technology Park South, Beiqijia, Changping District, Beijing 102209, China. E-mail: yangyongtan@cofco.com

1 引言

白酒基酒的等级鉴别对其质量控制非常重要,是白酒分级储存和勾兑的重要依据。白酒的质量等级鉴别主要通过人工感官审评,但评价结果易受到品评人员身体状况或环境因素的影响,主观性较强,且培养感官品评人员的周期较长,费时费力,难以快速检测^[1,2]。因此,建立一种快速鉴别白酒基酒等级的方法具有非常重要的意义。

目前,白酒研究主要采用色谱技术^[3-5]、光谱技术^[6-8]以及近年来逐渐被使用的顶空固相微萃取质谱技术(head space-solid phase microextraction-mass spectrum, HS-SPME-MS)^[9]。程平言等^[10,11]采用 HS-SPME-MS 技术对浓香型和清香型白酒进行等级鉴定。孙宗宝等^[12]采用红外光谱结合化学计量学方法对浓香型白酒基酒进行等级判别。然而应用高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法对馥郁香型白酒基酒等级鉴定的研究鲜有报道,馥郁香型不同等级的基酒源自于生产时不同的工艺参数控制,建立快速、客观的等级鉴别方法非常重要。而 Q-Exactive 高分辨质谱具备基于数据库的多种物质筛查功能^[13-15],可快速定性检测复杂酒样中的多种物质。

目前白酒风味物质研究中色谱方法主要采用气相色谱,本研究采用高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法分析不同等级馥郁香型白酒基酒的物质组成,采用 Q-Exactive 的 FullMSddMS2 模式对酒样中物质进行定性检测,建立白酒风味物质数据库,直接鉴定酒样中风味物质,并采用主成分分析法对其等级进行分析,为馥郁香型白酒等级的快速、客观鉴别提供新思路。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

Q-Exactive 高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱仪(美国 Thermo Fisher 公司)。

白酒样品:馥郁香型基酒 3 个等级共 8 个,其中 A1 级酒样 3 个,编号分别为:1#, 7#, 8#; A2 级酒样 3 个,编号分别为:2#, 4#, 6#; A3 级酒样 2 个,编号分别为:3#, 5#, 52°馥郁香型酒样 1 个(市场上某品牌馥郁香型白酒)。另有酱香型、浓香型、清香型、兼香型、米香型品评标准酒样各 1 个(中国食品发酵工业研究院)

甲醇、甲酸、甲酸铵(色谱纯,美国 Fisher 公司); 0.22 μm 聚四氟乙烯(PTFE)滤膜(北京迪马公司);实验室用水为 Milli-Q 超纯水。

2.2 实验方法

2.2.1 样品前处理

所有样品使用 0.22 μm 滤膜过滤后上机测试。

2.2.2 液相色谱-串联质谱条件

(1)液相色谱条件

赛默飞 Accucore C₁₈(100 mm×2.1 mm, 2.6 μm); 流动相: 5 mmol/L 甲酸铵-0.1%甲酸水溶液(A); 5 mmol/L 甲酸铵-0.1%甲酸甲醇溶液(B); 流速: 0.5 mL/min; 进样体积: 10 μL ; 梯度洗脱程序: 0~1 min, 100%A; 1~10 min, 100%A~85%A; 10~15 min, 85%A~55%A; 15~20 min, 55%A~0%A; 20~25 min, 0%A; 25~30 min, 100%A。

(2)质谱条件

喷雾电压: 2.8 kV(ESI±); 辅助气加热温度: 350 °C; 离子传输管温度: 320 °C; 鞘气流速: 50 arb; 辅助气流速: 20 arb。扫描方式: FullMS-ddMS2(Top3); 扫描范围: 70-700 m/z ; 一级全扫描分辨率: 70000 (FWHM); 自动增益进入轨道阱中的离子数为(AGC target): 3e6; 最大注入时间: 100 ms; 数据依赖二级扫描分辨率: 17500 (FWHM); 归一化碰撞能: 20 eV; AGC target: 1e5; 最大注入时间: 50 ms; 动态排除: 10 ms。

3 结果与分析

3.1 质谱条件优化

离子源采用 HESI 源,对比了 3.5、3.0、2.8 kV 的喷雾电压对待测物质电离程度的影响。结果表明,喷雾电压为 2.8 kV 时,待测物质较易电离,在较低的喷雾电压条件下有很好的离子化效率。

3.2 未知成分的鉴定

在 FullMS/ddMS2 模式下进行一级质谱全扫描和数据依赖的二级质谱扫描,通过高分辨率消除样品中的基质干扰,提高定性准确性,馥郁香型酒样 3 个等级的 TIC 图如图 1。基于文献检索以及 Q-Exactive 高分辨质谱专用的 mzCloud 谱图库,筛选并建立具有母离子和二级子离子信息的白酒中 158 种风味物质的数据库,实现白酒所含物质的快速鉴定。通过对 14 个样品采集并进行白酒风味物质数据库比对,以 52°馥郁香型白酒为例,定性匹配到 73 种风味物质,本文列出其中匹配程度较高、积分面积较大的前 40 种(如表 1)。

3.3 酒样中物质主成分分析

白酒组成成分复杂,风味物质种类繁多,为挖掘所获质谱数据中的潜在信息,运用主成分分析法对其进行降维处理和分析,提取主成分特征,一定程度上压缩了数据,且保留了足够的原始信息,便于数据的处理。其中前 3 个主成分即可解释酒样中物质成分总信息量的 83%。

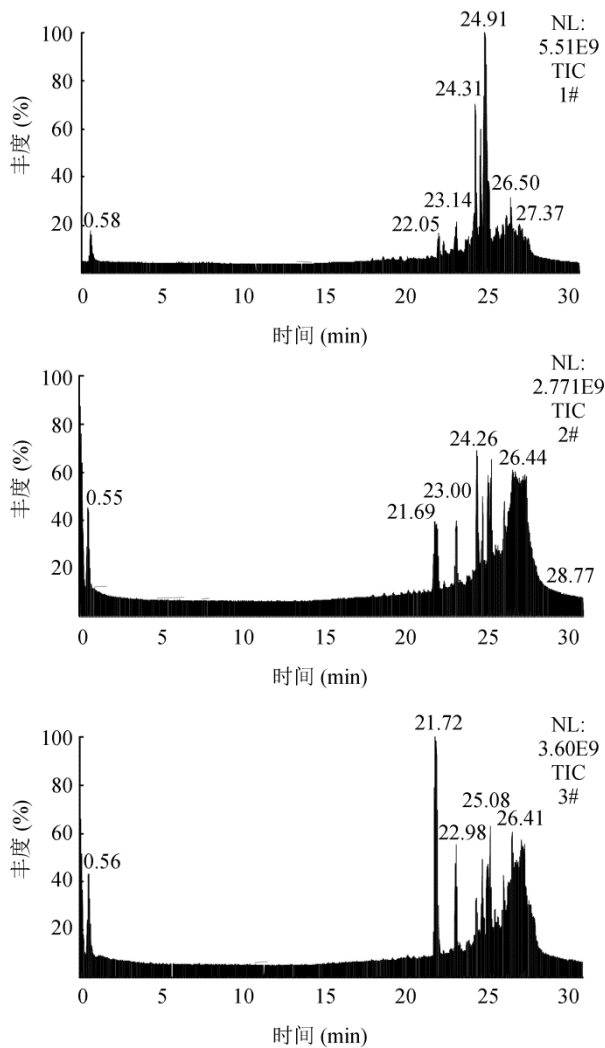


图1 馥郁香型白酒的TIC图
Fig. 1 TIC of fuyu flavor liquor

表1 52°馥郁香型白酒的定性筛查结果

Table 1 Qualitative screening results of 52° fuyu flavor liquor

化合物名称	保留时间	分子式	理论质量数 m/z	实际质量数 m/z
己酸乙酯	24.97	C ₈ H ₁₆ O ₂	145.1223	145.1223
正己酸	24.98	C ₆ H ₁₂ O ₂	117.0910	117.0912
戊酸乙酯	24.97	C ₇ H ₁₄ O ₂	131.1067	131.1067
丁二酸二乙酯	21.90	C ₈ H ₁₄ O ₄	175.0965	175.0964
苯乙酮	23.09	C ₈ H ₈ O	121.0648	121.0649
苯丙酸乙酯	24.65	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	179.1067	179.1065
7-羟基香豆素	24.63	C ₉ H ₆ O ₃	163.0390	163.0389
乳酸乙酯	1.75	C ₅ H ₁₀ O ₃	119.0703	119.0705
庚二酸二乙酯	25.11	C ₁₁ H ₂₀ O ₄	217.1434	217.1432
苯乙酸乙酯	23.86	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	165.0910	165.0909

续表1

化合物名称	保留时间	分子式	理论质量数 m/z	实际质量数 m/z
壬二酸二乙酯	25.43	C ₁₃ H ₂₄ O ₄	245.1747	245.1745
Gamma-辛内酯	21.21	C ₈ H ₁₄ O ₂	143.1067	143.1066
丙酸乙酯	22.77	C ₅ H ₁₀ O ₂	103.0754	103.0758
愈创木酚	18.64	C ₇ H ₈ O ₂	125.0597	125.0599
辛酸乙酯	26.19	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	173.1536	173.1535
辛二酸二乙酯	25.42	C ₁₂ H ₂₂ O ₄	231.1591	231.1588
庚酸乙酯	25.67	C ₉ H ₁₈ O ₂	159.1380	159.1378
山梨酸	20.36	C ₆ H ₈ O ₂	113.0597	113.0600
反式-3-己烯酸	21.23	C ₆ H ₁₀ O ₂	115.0754	115.0756
花生四烯酸	26.80	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	305.2475	305.2470
2,3,5-三甲基吡嗪	18.36	C ₇ H ₁₀ N ₂	123.0917	123.0918
4-乙基愈创木酚	23.09	C ₉ H ₁₂ O ₂	153.0910	153.0909
糠酸	21.37	C ₅ H ₄ O ₃	113.0233	113.0236
2,3,5,6-四甲基吡嗪	20.80	C ₈ H ₁₂ N ₂	137.1073	137.1073
4-甲基苯酚	23.09	C ₇ H ₈ O	109.0648	109.0651
4-异丙基苯甲醛	24.93	C ₁₀ H ₁₂ O	149.0961	149.0960
异烟酸甲酯	22.85	C ₇ H ₇ NO ₂	138.0550	138.0550
4-乙基愈创木酚	23.09	C ₉ H ₁₂ O ₂	153.0910	153.0909
丙位癸内酯	25.42	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	171.1380	171.1377
2-氨基-1,3,4-十八烷三醇	25.16	C ₁₈ H ₃₉ NO ₃	318.3003	318.2998
苯甲醛	23.09	C ₇ H ₆ O	107.0491	107.0495
乙酸乙酯	0.48	C ₄ H ₈ O ₂	106.0863	106.0866
香兰素	22.86	C ₈ H ₈ O ₃	153.0546	153.0546
糠醛	1.00	C ₅ H ₄ O ₂	97.0284	97.0288
4-乙烯基愈创木酚	21.82	C ₉ H ₁₀ O ₂	168.1019	168.1018
己醛	25.20	C ₆ H ₁₂ O	101.0961	101.0965
萘	26.27	C ₁₀ H ₈	129.0699	129.0700
1-辛烯-3-醇	27.08	C ₈ H ₁₆ O	129.1274	129.1273
2-苯乙醇	25.58	C ₈ H ₁₀ O	123.0804	123.0805
辛酸	24.97	C ₈ H ₁₆ O ₂	167.1043	167.1039

图2为5种不同香型白酒和不同等级馥郁香型白酒的主成分分析图。结果表明,香型差异显著的酱香型、浓香型、清香型彼此分开,馥郁香型和其他香型白酒也可以实现很好的区分,即所检测到白酒中的风味物质很好地表达了馥郁香型白酒和其他香型白酒的区别。此外,品质较好的A1级酒样能和缺少香气物质的A2级以及含有异杂物质的A3级酒样实现很好的区分,聚类趋势明显。

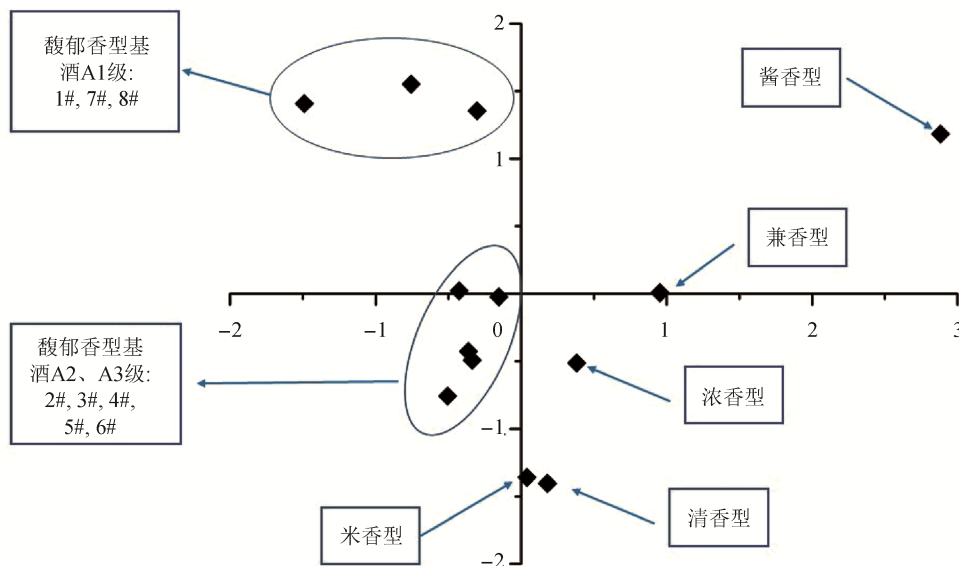


图 2 13 个白酒酒样的主成分分析图

Fig. 2 Principal component analysis of 13 original liquor samples

4 结 论

采用高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法分析 6 种香型共 14 个白酒酒样, 基于 mzCloud 谱图库建立的白酒中风味物质数据库可直接鉴定出 52°馥郁香型白酒中 73 个微量成分。应用主成分分析研究馥郁香型不同等级间以及馥郁香型和其他香型白酒间的差异。结果表明, 馥郁香型可以和其他香型白酒分开, 且馥郁香型中 A1 级酒样能和 A2、A3 级实现很好的区分, 聚类趋势明显。这种基于 Q-Exactive 高分辨质谱和主成分分析的方法使馥郁香型白酒质量等级鉴别更加客观化、系统化, 为其质量分级提供了新的思路和方法。

参考文献

- [1] 沈怡方. 中国白酒感官品质及品评技术历史与发展[J]. 酿酒, 2006, 33(4): 3-4.
Shen YF. History and development of Chinese liquor sensory quality and wine evaluation technical [J]. Liquor Making, 2006, 33(4): 3-4.
- [2] 邓少平. 中国白酒评酒方法的科学化问题[J]. 酿酒, 1997, (2): 1-4.
Deng SP. The scientific issue of Chinese liquor appraisal method [J]. Liquor Making, 1997(2): 1-4.
- [3] 祝成, 张宿义, 赵金松. 不同感官等级白酒基酒的聚类分析[J]. 酿酒科技, 2011, (9): 47-50.
Zhu C, Zhang SY, Zhao JS. Cluster analysis of base liquor of different sensory grade [J]. Liq-Mak Sci Technol, 2011, (9): 47-50.
- [4] 范文来, 徐岩. 应用 GC-FID 和聚类分析比较四川地区白酒原酒与江淮流域白酒原酒[J]. 酿酒科技, 2007, (11): 75-78.
Fan WL, Xu Y. Discuss on comparison between Sichuan brut liquor and Jianghuai brut liquor by GC-FID and cluster analysis [J]. Liq-Mak Sci Technol, 2007, (11): 75-78.

- [5] 温永柱, 范文来, 徐岩, 等. 白酒中 5 种生物胺的 HPLC 定量分析[J]. 食品工业科技, 2013, 34(7): 305-308.
Wen YZ, Fan WL, Xu Y, *et al.* Quantification for 5 selected biogenic amines in Chinese liquor by HPLC [J]. Sci Technol Food Ind, 2013, 34(7): 305-308.
- [6] 张明霞, 赵旭娜, 杨天佑, 等. 顶空固相微萃取分析白酒香气物质的条件优化[J]. 食品科学, 2011, (12): 49-53
Zhang MX, Zhao XN, Yang TY, *et al.* Optimization of headspace solid phase microextraction conditions for GC-MS analysis of aromatic constituents in white liquor [J]. Food Sci Technol, 2011, (12): 49-53.
- [7] Fan W, Qian MC. Headspace solid phase microextraction (HS-SPME) and gas chromatography-olfactometry dilution analysis of young and aged Chinese "Yanghe Daqu" liquors [J]. J Agric Food Chem, 2005, 53: 7931-7938.
- [8] Yang GQ, Zhang SJ, Zhang HH. Study on discrimination of brands of Chinese distilled spirit using near infrared transmission and reflectance spectra [C]. World Automation Congress, Kobe, 2010.
- [9] Jelen HH, Ziolkowska A, Kaczmarek A. Identification of the botanical origin of raw spirits produced from rye, potato, and corn based on volatile compounds analysis using a SPME-MS method [J]. J Agric Food Chem, 2010, 58(24): 12585-12591.
- [10] 程平言, 范文来, 徐岩. 基于质谱与化学计量学的浓香型白酒等级鉴别[J]. 食品与发酵工业, 2013, 39(6): 94-98.
Cheng PY, Fan WL, Xu Y. Quality grade discrimination of strong aroma type liquor based on mass spectrometry and chemometrics [J]. Food Ferment Ind, 2013, 39(6): 94-98.
- [11] 程平言, 范文来, 徐岩. 基于质谱与支持向量机的清香型白酒等级判别[J]. 食品工业科技, 2014, 35(8): 49-53.
Cheng PY, Fan WL, Xu Y. Quality grade discrimination of light aroma type liquor based on mass spectrometry and support vector machine [J]. Sci Technol Food Ind, 2014, 35(8): 49-53.
- [12] 孙宗保, 辛新, 邹小波, 等. 傅里叶变换红外光谱结合化学计量学方法

- 对白酒基酒快速定性和定量分析[J]. 光谱学与光谱分析, 2017, 37(9): 2756-2762.
- Sun ZB, Xin X, Zou XB. *et al.* Rapid qualitative and quantitative analysis of base liquor using FTIR Combined with chemometrics [J]. Spectrosc Spect Anal, 2017, 37(9): 2756-2762.
- [13] 程明川, 姜川, 杨宇, 等. 基于高分辨质谱和代谢组学分析方法的白酒成分分析和香型鉴别[J]. 环境化学, 2016, 35(12): 2618-2621.
- Cheng MC, Jiang C, Yang Y, *et al.* Metabolomics approach applied to the components analysis and flavor types discrimination of Chinese liquors based on high resolution mass spectrometry [J]. Environ Chem, 2016, 35(12): 2618-2621.
- [14] 柳菡, 张亚莲, 丁涛, 等. 高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱用于葡萄酒中 111 种农药残留的定性筛查与定量分析[J]. 分析测试学报, 2014, 33(5): 489-498.
- Liu H, Zhang YL, Ding T, *et al.* Screening and quantification of 111 pesticide residues in wines by high performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbitrap high-resolution mass spectrometry [J]. J Instrum Anal, 2014, 33(5): 489-498.
- [15] 陈达炜, 吕冰, 邹建宏, 等. 四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱在青椒中农药多残留快速筛查的应用[J]. 分析测试学报, 2014, 33(12):

1327-1333.

Chen DW, Lv B, Zou JH, *et al.* Rapid screening of multi-residue pesticides in green pepper by high-resolution benchtop q-exactive mass spectrometry [J]. J Instrum Anal, 2014, 33(12): 1327-1333.

(责任编辑: 武英华)

作者简介



穆 蕾, 硕士, 主要研究方向为食品质量与安全。

E-mail: mulei1@cofco.com



杨永坛, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品质量与安全。

E-mail: yangyongtan@cofco.com