

在线质谱法快速检测酒中5种常见乙酯

张艳¹, 高伟^{2,3,*}, 谭国斌¹, 麦泽彬^{1,2}

(1.广州禾信仪器股份有限公司, 广东 广州 510530; 2.暨南大学质谱仪器与大气环境研究所, 广东 广州 510632;

3.广东省大气污染在线源解析系统工程技术研究中心, 广东 广州 510632)

摘要: 采用在线质谱法, 在无需样品预处理的条件下, 建立快速检测酒中乙酸乙酯、丁酸乙酯、乳酸乙酯、戊酸乙酯、己酸乙酯5种常见乙酯的方法。5种乙酯在0.5~20 mg/L内线性关系良好 ($R^2 > 0.99$), 2个加标水平(0.5、5 mg/L)的回收率为81.1%~99.7%, 相对标准偏差为4.7%~9.4%, 检出限为24~312 $\mu\text{g/L}$ 。对市场上消费的蒸馏酒(中国白酒、白兰地、金酒及威士忌)进行检测分析, 同种类蒸馏酒检出的主要成分及其比例基本一致, 中国白酒、威士忌和白兰地均不同程度地检出乙酯。同时, 结合主成分分析可对不同品种的蒸馏酒进行较好的区分。

关键词: 在线质谱法; 飞行时间质谱仪; 酒; 蒸馏酒; 乙酯; 主成分分析

Rapid Detection of Five Common Ethyl Esters in Liquor Using On-line Mass Spectrometry

ZHANG Yan¹, GAO Wei^{2,3,*}, TAN Guobin¹, MAI Zebin^{1,2}

(1. Guangzhou Hexin Instrument Co. Ltd., Guangzhou 510530, China;

2. Institute of Mass Spectrometer and Atmospheric Environment, Jinan University, Guangzhou 510632, China; 3. Guangdong Provincial Engineering Research Center for On-line Source Apportionment System of Air Pollution, Guangzhou 510632, China)

Abstract: A rapid method was developed for the determination of 5 common ethyl esters, ethyl acetate, ethyl butyrate, ethyl lactate, ethyl valerate and ethyl caproate, in liquor without any sample pretreatment using on-line mass spectrometry. Reasonable linearity was achieved for all the analytes over the range of 0.5–20 mg/L with correlation coefficients (R^2) greater than 0.99. The recoveries for five ethyl esters at two spiked levels were in the range from 81.1% to 99.7% with relative standard deviations (RSDs) of 4.7%–9.4%. The limits of detection (LODs) of the method ranged from 24 to 312 $\mu\text{g/L}$. Under optimized conditions, four kinds of distilled spirits marketed in China were analyzed, such as Chinese liquor, brandy, Dry Gin and whiskies. The main ester components and their contents in the same kind of distilled spirit were basically the same while ethyl esters were determined at different levels in Chinese liquor, brandy and whiskies. Meanwhile, the four kinds of distilled spirits could be distinguished accurately using principal component analysis.

Key words: on-line mass spectrometry; time-of-flight mass spectrometry; liquor; distilled spirits; ethyl ester; principle component analysis

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201624028

中图分类号: TS262

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2016)24-0180-05

引文格式:

张艳, 高伟, 谭国斌, 等. 在线质谱法快速检测酒中5种常见乙酯[J]. 食品科学, 2016, 37(24): 180-184. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201624028. <http://www.spkx.net.cn>

ZHANG Yan, GAO Wei, TAN Guobin, et al. Rapid detection of five common ethyl esters in liquor using on-line mass spectrometry[J]. Food Science, 2016, 37(24): 180-184. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201624028. <http://www.spkx.net.cn>

酯类化合物是酒中种类较多含量较高的挥发性香成分^[1-2], 能赋予酒果香, 使人产生愉悦感, 其中乙酯所占比例最高, 主要有乙酸乙酯、乳酸乙酯及己酸乙酯, 还有少量的丁酸乙酯、戊酸乙酯等。酒的典型香气特征由

所含的香气成分——乙酯及其他微量成分的种类及含量决定^[3-4]。因此建立快速、准确地检测酒中5种乙酯含量的方法, 有利于酒的质量控制、品质检测、伪劣产品的辨别等。

收稿日期: 2016-06-01

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863计划)项目(2014AA06A501); 广东省联合基金项目(U1201232);

2016年国家重点研发计划试点专项(2016YFC0201002)

作者简介: 张艳(1982—), 女, 工程师, 硕士, 研究方向为飞行时间质谱仪的应用开发。E-mail: 744612424@qq.com

*通信作者: 高伟(1982—), 男, 副研究员, 博士, 研究方向为质谱技术及应用。E-mail: w.gao@hxmass.com

酒中乙酯的常见检测方法主要有高效液相色谱法、气相色谱-质谱联用法、顶空-气相色谱-质谱联用法、电感耦合等离子体发射光谱法以及化学电子鼻等^[5-9]。目前,最为常用的实验室方法是具有定性和定量能力的气相色谱-质谱联用技术,但操作繁琐、耗时长、不便移动。

本研究采用在线质谱法,基于膜富集技术、单光子电离与飞行时间质谱联用技术的原理,具有无需样品预处理、挥发性有机物相对富集、谱图简单、分析速度快、无需有机溶剂、可移动便携、绿色环保等特点,成为在线检测挥发性有机物的最有效的技术之一^[10-12]。在无需样品预处理的条件下,本研究建立快速检测酒中5种常见乙酯的方法,为酒中5种重要乙酯的快速分析以及在线质谱法的推广提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

市场上常见的蒸馏酒饮料(中国白酒、威士忌、白兰地及金酒),每一种类型的蒸馏酒选取2~4瓶,具体信息及对应编号见表1。

表1 蒸馏酒样品编号及信息

Table 1 Information about distilled spirit samples tested in this study

编号	酒名	酒精 体积分数/%	品种	酿造原料	发酵方式
1	红星二锅头	56	清香 型	高粱、小麦、 玉米、大麦等 粮谷	以酵母、细 菌、霉菌等 多菌种自然 固态发酵
2	北京二锅头	56			
3	牛栏山二锅头	56			
4	稻花香	42			
5	茅台醇	45			
6	开口笑	52			
7	百年糊涂	33			
8	杰克丹尼威士忌	40	威士 忌	大麦、黑麦、 玉米等谷物	以纯菌或几 种酵母液态 控制发酵
9	格兰冠苏格兰威士忌	40			
10	芝华士12年苏格兰威士忌	40			
11	拿破仑V.S.O-P干邑白兰地	40	白兰 地	葡萄	
12	张裕金奖白兰地	40			
13	哥顿金酒	37.5	金酒	酒精及杜松子 等多种香料	
14	孟买宝石蓝金酒	47			

表2 5种乙酯的物化性质

Table 2 Chemical and physical properties of 5 ethyl esters

乙酯	分子式	结构式	摩尔质量/(g/mol)	沸点/°C
乙酸乙酯	C ₄ H ₈ O ₂		88.06	77
丁酸乙酯	C ₆ H ₁₂ O ₂		116.08	121
乳酸乙酯	C ₅ H ₁₀ O ₃		118.07	154
戊酸乙酯	C ₇ H ₁₄ O ₂		130.10	144
己酸乙酯	C ₈ H ₁₆ O ₂		144.12	167

乙酸乙酯、丁酸乙酯、乳酸乙酯、戊酸乙酯、己酸乙酯、无水乙醇(分析纯)阿拉丁试剂(上海)有限公司;实验用水为纯净水。5种乙酯的物化性质见表2。

1.2 仪器与设备

SPIMS-1000在线挥发性气体质谱仪 广州禾信分析仪器有限公司。

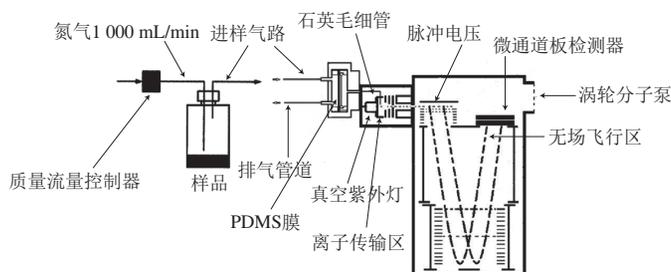


图1 进样装置和SPIMS-1000在线挥发性气体质谱仪结构示意图

Fig. 1 Schematic diagram of sampling device and SPIMS-1000 online VOCs mass spectrometer

如图1所示,SPIMS-1000在线挥发性气体质谱仪主要由膜进样装置、光电离子源系统、飞行时间质量分析器系统、真空系统以及数据采集分析系统5部分组成。仪器利用硅氧烷薄膜对样品的选择透过性将挥发性有机物相对富集,采用光子能量10.6 eV的真空紫外灯作为电离源,将电离能小于10.6 eV的样品软电离,离子经传输区的聚焦后垂直引入反射式飞行时间分析器,具有相同能量的离子因质荷比不同而先后到达微通道板检测器,由数据采集卡记录,从而得到质谱图^[13-14]。仪器的质量扫描范围为 m/z 15~300,分辨率优于600^[15]。

1.3 方法

1.3.1 进样方法

准确称量0.050 g标准品至100 mL容量瓶中,以水定容,得到500 mg/L储存液。使用时,用水逐级稀释储存液,得到相应质量浓度工作溶液。

将50 mL稀释100倍的蒸馏酒样置于100 mL的样品瓶中,高纯氮以1 000 mL/min的流速经PTFE管通入样品瓶中,出气口与SPIMS-1000在线挥发性气体质谱仪进样气路相连,使样品中挥发性组分有效的透过PDMS膜进入SPIMS-1000在线挥发性气体质谱仪电离区。每种蒸馏酒样进样5次,每次进样时间约2 min达到稳定。

1.3.2 实验条件

实验温度20 °C,空气相对湿度40%,真空度 2.21×10^{-3} Pa。推斥脉冲频率10 kHz,每张质谱图的信号累积时间为10 s,质量扫描范围为 m/z 50~150。

2 结果与分析

2.1 乙酯质谱分析

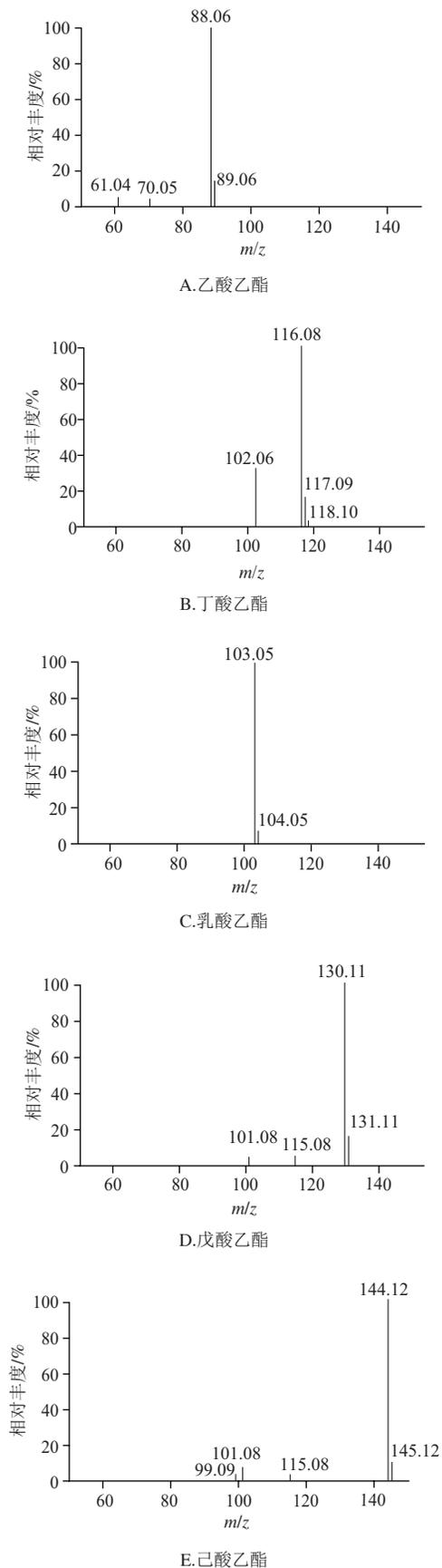


图2 5种乙酯质谱图

Fig. 2 Mass spectra of 5 ethyl esters obtained with SPIMS

对5 mg/L的5种乙酯进行采样分析,如图2所示。乙酸乙酯、丁酸乙酯、戊酸乙酯、己酸乙酯主要产生分子离子M,仅有少数的碎片离子。乳酸乙酯则主要产生[M-15.02] ($m/z=103.05$)的碎片离子,结合一般裂解规律,推测其通过电离得到的分子离子M因碎片离子[M-15.02]电离能低于10.6 eV,其甲基易发生裂解,脱去 CH_3 得到主要碎片离子[M-15.02] ($m/z=103.05$)。乙酸乙酯、丁酸乙酯、戊酸乙酯、己酸乙酯和乳酸乙酯以分子离子或主要碎片离子作为特征信号峰,各分子离子、主要碎片离子或背景离子均互不干扰。因此,可采用乙酯的特征谱图信息,对其进行快速区分和鉴别。

2.2 方法评价

表3 酒中5种乙酯的方法评价的结果

Table 3 Evaluation of the method for the determination of 5 ethyl esters in liquor

乙酯	线性方程	线性相关系数 (R^2)	LOD/ ($\mu\text{g/L}$)	加标量/ (mg/L)	回收率/%	RSD/%
乙酸乙酯	$Y=40x-6679$	0.9946	24	0.5 5	94.8 99.7	8.1 6.4
丁酸乙酯	$Y=8.7x-264$	0.9997	108	0.5 5	89.7 93.4	9.4 7.8
乳酸乙酯	$Y=2.9x+23$	0.9992	312	0.5 5	81.1 88.9	9.4 6.9
戊酸乙酯	$Y=4.2x-10$	0.9992	216	0.5 5	85.6 91.7	6.4 4.7
己酸乙酯	$Y=4.1x+272$	0.9990	216	0.5 5	84.9 91.8	6.7 4.9

配制0.1、0.5、1、2、5、20 mg/L和100 mg/L混合标准溶液,在优化的实验条件下,进行检测,以峰高(Y)对质量浓度(x, $\mu\text{g/L}$)进行线性回归,得到线性回归方程。向体积分数0.4%酒精溶液中添加混合标准溶液,设置2个添加水平,每个水平重复测定5次,并计算加标回收率和精密度。以 R_{SN} 为3计算得到分析方法的检出限(limit of detection, LOD)。由表3可知,检测方法可满足实际样品测定的需要,5种乙酯在0.5~20 mg/L内线性关系良好($R^2>0.99$),2个加标水平(0.5、5 mg/L)的回收率为81.1%~99.7%,相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为4.7%~9.4%,LOD为24~312 $\mu\text{g/L}$ 。传统检测方法如气相色谱-质谱、顶空-气相色谱-质谱联用法等,与在线质谱法的LOD相当,但传统检测方法稳定性较差RSD约为10%~15%左右,样品分析时间较长约为60 min以上,使用有机溶剂或耗材等^[5-9]。因此,在线质谱法具有准确定性、高分析速度、低成本、绿色环保等优势,在酒的质量控制、品质检测、伪劣产品的辨别中具有巨大的潜力和广阔的前景。

2.3 实际样品分析

表4 蒸馏酒中5种乙酯含量的检测结果
Table 4 Results for the determination of 5 ethyl esters in distilled spirits

样品	乙酸乙酯	丁酸乙酯	乳酸乙酯	戊酸乙酯	己酸乙酯
1	325±26	ND	189±19	ND	ND
4	871±19	357±19	1 040±54	98±1.5	1 009±73
5	4 346±182	500±2.9	869±65	215±8.5	7 010±550
8	87±4.5	ND	514±35	ND	ND
9	51±3.9	ND	118±14	ND	ND
11	75±5.9	31±3.1	1 273±107	ND	ND
12	25±1.5	ND	241±23	ND	ND
13	ND	ND	ND	ND	ND
14	ND	ND	ND	ND	ND

注: ND.未检出; 数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示。

在优化条件下对表1中市场上常见的9个蒸馏酒饮料样品进行检测, 如表4、图3所示。在相同实验条件下, 同种类蒸馏酒检出的主要成分及其比例基本一致, 不同品种蒸馏酒成分差异主要与其酿造原料及发酵工艺有关^[16-20]。中国白酒、威士忌和白兰地均检出较高含量的乙酯, 中国白酒检出的乙酯种类多含量高, 金酒则检出较高含量的单萜化合物, 如蒎烯 ($m/z=136.13$)。

浓香型白酒(如4号和5号), 以己酸乙酯含量最高, 其次是乙酸乙酯、乳酸乙酯, 最后为丁酸乙酯、戊酸乙酯; 清香型白酒(1号), 主要是乙酸乙酯为主, 其次是乳酸乙酯, 结论基本与文献^[21-23]一致。2种白兰地(11号和12号), 11号检出的乙酯量为12号的5倍以上, 可见乙酯含量高的白兰地, 等级较高, 酒质较好。

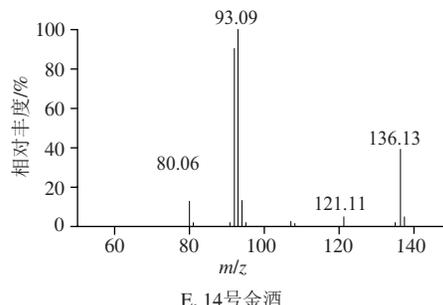
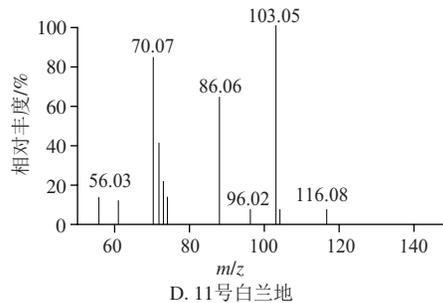
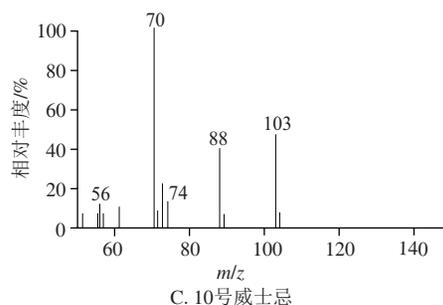
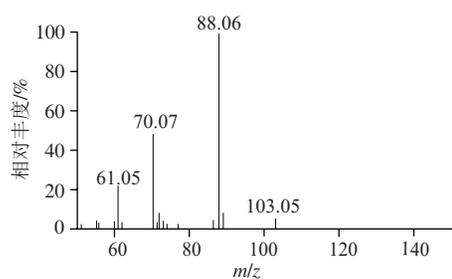


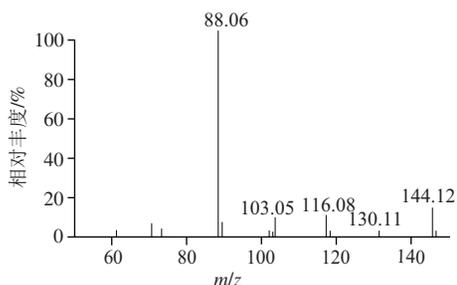
图3 蒸馏酒典型质谱图

Fig. 3 Typical mass spectra of common distilled spirits

2.4 主成分分析



A. 1号中国白酒



B. 4号中国白酒

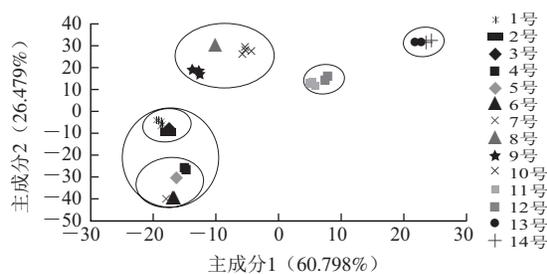


图4 蒸馏酒样品主成分分析图

Fig. 4 Principal component analysis of distilled spirits

通过主成分分析对14个蒸馏酒样品的质谱图相对数据进行分析, 见图4。每一个点代表一个样品, 点与点之间的距离代表样品间差异性的大小。主成分1、主成分2的贡献值分别为60.798%、26.479%, 累计二者贡献率为87.277%, 能够反映出样品大部分的信息量。不同样品的分辨指数大于15, 能够较好地地区分不同样品。主成分分析可对不同品种的蒸馏酒进行较好地区分。同一大类的样品间距较接近, 如1~3号的清香型白酒, 4~7号的

浓香型白酒, 8~10号的威士忌, 11~12号的白兰地, 13~14号的金酒。这是由于同种类的蒸馏酒采用的原料及酿造工艺差异较小, 故其主要成分差异较小, 而不同种类的蒸馏酒原料及酿造工艺差异大, 故其主要成分差异较大^[16-20]。威士忌、白兰地主成分物质基本一致, 主要由于二者都是采用纯种或者几种人工酵母液体发酵, 但原料不同, 威士忌采用大麦、黑麦、玉米等谷物为原料, 白兰地则采用葡萄为原料, 因此主成分含量比例不一致。中国白酒、威士忌虽然都以谷物为原料, 但发酵方式不同, 中国白酒采用以酵母、细菌、霉菌等多菌种自然固态发酵, 故中国白酒主成分较为复杂, 威士忌主成分相对单一。金酒则采用食用酒精和杜松子等香料共同蒸馏完成, 故其主成分与其他蒸馏酒不大相同。1~7号, 虽然都属于中国白酒, 都以高粱为主要原料, 但所选用的糖化发酵剂不同, 清香型白酒主要选用豌豆等制成的中温大曲为发酵剂, 而浓香型白酒则一般采用小麦制成的中温大曲或高温大曲为发酵剂。此外, 酿造工艺也不同, 清香型白酒采用清蒸清糟、清蒸流酒、一清到底等酿造工艺酿造, 浓香型白酒则采用混蒸续甑、酒糟配料、老窖发酵、缓火蒸馏、贮存、勾兑等酿造工艺酿造, 故二者主成分差异较大^[24-25]。

3 结论

采用在线质谱法, 在无需样品预处理的条件下, 建立快速检测酒中乙酸乙酯、丁酸乙酯、乳酸乙酯、戊酸乙酯、己酸乙酯5种常见乙酯的方法。本方法能在2 min内实现液体样品的有效检测, 5种乙酯在0.5~20 mg/L内线性关系良好 ($R^2 > 0.99$), 2个加标水平(0.5、5 mg/L)的回收率为81.1%~99.7%, RSD为4.7%~9.4%, LOD为24~312 $\mu\text{g/L}$, 实现了准确定性、快速、低成本的目标。对市场上消费的蒸馏酒(中国白酒、白兰地、金酒及威士忌)进行检测分析, 同种类蒸馏酒检出的主要成分及其比例基本一致, 同时, 结合主成分分析可对不同品种的蒸馏酒进行较好的区分。结果表明, SPIMS-1000在线挥发性气体质谱仪可用于快速酒品检测, 大大缩短传统方法的检测周期, 具有广泛的应用推广意义。

参考文献:

- ZHAO Yuping, ZHENG Xingping, SONG Pu, et al. Characterization of volatiles in the six most well-known distilled spirits[J]. Journal of the American Society of Brewing Chemists, 2013, 71(3): 161-169. DOI:10.1094/ASBCJ-2013-0625-01.
- 沈怡方. 白酒中四大乙酯在酿造发酵中形成的探讨[J]. 酿酒科技, 2003(5): 28-31. DOI:10.3969/j.issn.1001-9286.2003.05.006.
- 郑向平. 世界六大蒸馏酒挥发性成分比较[D]. 烟台: 烟台大学, 2013.
- LEDAUPHIN J, SAINT-CLAIR J F, LABLANQUIE O, et al. Identification of trace volatile compounds in freshly distilled calvados and cognac using preparative separations coupled with gas chromatography-mass spectrometry[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(16): 5124-5134. DOI:10.1021/jf040052y.
- ANGELA P, JONATHAN C, CARLOS P, et al. Preliminary evaluation of biogenic amines content in Chilean young varietal wines by HPLC[J]. Food Control, 2012, 23(1): 251-257. DOI:10.1016/j.foodcont.2011.07.025.
- FEDRIZZI B, MAGNO F, MOSER S, et al. Concurrent quantification of light and heavy sulphur volatiles in wine by headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography/mass spectrometry[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2007, 21(5): 707-714. DOI:10.1002/rcm.2893.
- 杨路, 张毅, 杨玲, 等. 几种现代分析方法在白酒检测中的应用现状[J]. 食品与发酵科技, 2014, 50(4): 9-13. DOI:10.3969/j.issn.1674-506X.2014.04-003.
- 万益群, 潘风琴, 柳英霞, 等. 电感耦合等离子体原子发射光谱法测定白酒中23种微量元素[J]. 光谱学与光谱分析, 2009, 29(2): 499-503. DOI:10.3964/j.issn.1000-0593(2009)02-0499-05.
- WISNIEWSKA P, SLIWINSKA M, DYMERSKI T, et al. The analysis of raw spirits—a review of methodology[J]. Journal of the Institute of Brewing, 2016, 122(1): 5-10. DOI:10.1002/jib.288.
- HOU K Y, WANG J D, LI H Y. A new membrane inlet interface of a vacuum ultraviolet lamp ionization miniature mass spectrometer for on-line rapid measurement of volatile organic compounds in air[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2007, 21(22): 3554-3560. DOI:10.1002/rcm.3250.
- NICHOLAS G D, ERIK T K, CHRIS G G. Membrane-introduction mass spectrometry(MIMS)[J]. Trends in Analytical Chemistry, 2011, 30(9): 1477-1485. DOI:10.1016/j.trac.2011.05.003.
- 李操, 周亚飞, 谭国斌, 等. 单光子电离质谱法用于不同品牌真假酒的快速鉴别[J]. 分析化学, 2013, 41(9): 1359-1365. DOI:10.3724/sp.j.1096.2013.30072.
- GAO Wei, HUANG Zhenxu, ZHOU Zhen, et al. A novel gas analysis system for metallurgical materials based on time-of-flight mass spectrometry[J]. International Journal of Mass Spectrometry, 2010, 294(2): 77-82. DOI:10.1016/j.ijms.2010.05.004.
- 谢园园, 花磊, 侯可勇, 等. 单光子电离质谱法在线分析牙膏中的香精物质[J]. 分析化学, 2012, 40(12): 1883-1889. DOI:10.3724/sp.j.1096.2012.20542.
- 谭国斌, 高伟, 黄正旭, 等. 真空紫外灯单光子电离源飞行时间质谱仪的研制[J]. 分析化学, 2011, 39(10): 1470-1475. DOI:10.3724/sp.j.1096.2011.01470.
- 赖登, 林东. 世界著名六大蒸馏酒工艺特点、香味特征的研究[J]. 酿酒, 2007, 34(3): 106-110. DOI:10.3969/j.issn.1002-8110.2007.03.044.
- 刘静, 侯英, 杨蕾, 等. HS-SPME-GC-MS联用测定孟买蓝宝石金酒中的香气成分[J]. 香料香精化妆品, 2009, 6(2): 33-35. DOI:10.3969/j.issn.1000-4475.2009.02.008.
- ZHU Shukui, LÜ Xin, JI Keliang, et al. Characterization of flavor compounds in Chinese liquor Moutai by comprehensive two-dimensional gas chromatography/time-of-flight mass spectrometry[J]. Analytica Chimica Acta, 2007, 597(2): 340-348. DOI:10.1016/j.aca.2007.07.007.
- 王旭亮, 陈耀, 李红, 等. 多种微生物共存下的空间位阻效应: 固态法白酒风味丰富性及其与液态法白酒风味差异的原因分析[J]. 酿酒科技, 2016(1): 1-9. DOI:10.13746/j.njkj.2015401.
- LEDAUPHIN J, LE M C, BARILLIER D, et al. Differences in the volatile compositions of french labeled brandies (Armagnac, Calvados, Cognac, and Mirabelle) using GC-MS and PLS-DA[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(13): 7782-7793. DOI:10.1021/jf9045667.
- 许柏球, 崔淑芬, 王金林, 等. 四种香型名酒挥发性香味成分HS-SPME/GC-MS法分析[J]. 深圳职业技术学院学报, 2016, 15(3): 53-58. DOI:10.13899/j.cnki.szptxb.2016.03.011.
- 吕海棠, 任彦蓉, 李春花. 红外光谱技术对浓香型和清香型白酒的品质分析[J]. 中国酿造, 2010, 223(10): 175-177. DOI:10.3969/j.issn.0254-5071.2010.10.055.
- 王勇, 徐岩, 范文来, 等. 应用GC-O技术分析牛栏山二锅头白酒中的香气化合物[J]. 酿酒科技, 2011, 200(2): 74-79. DOI:10.13746/j.njkj.2011.02.016.
- 李大和, 李国红. 民族传统工艺白酒特点与发展的思考[J]. 酿酒科技, 2005(9): 109-113. DOI:10.13746/j.njkj.2005.09.029.
- 蒲春, 胡沂淮, 贾亚伟, 等. 产酯酵母的筛选及其发酵特性研究[J]. 酿酒科技, 2013(3): 47-53. DOI:10.13746/j.njkj.2013.03.030.