

营养代谢组学 使用三重四极杆质谱仪 LCMS™-8060NX 分析葡萄酒（之 2）

代谢组学是可以全面分析细胞活动产生的氨基酸、有机酸等低分子量代谢产物，并寻找代谢物与生理病理变化的相对关系的一门学科，是系统生物学的组成部分。在食品领域，该技术被应用于探索食品质量和营养价值（食品代谢组学）。

近年来，以啤酒为代表的无酒精饮料受到了广泛关注。为了获得与真正的啤酒更加接近的口感和风味，在改进制造方法的同时，对香气成分、呈味成分等进行成分分析的重要性与日俱增。在葡萄酒行业，人们对接近真葡萄酒的无酒精葡萄酒的关注度也不断提高，但同时假冒葡萄酒也被当成热点问题来看待。假冒葡萄酒是指在高档葡萄酒中掺杂廉价葡萄酒，或者只更换标签进行销售的葡萄酒。

在上一篇应用研究 No.C226 中介绍了通过食品代谢组学来分析不同产地和不同葡萄品种的葡萄酒，用于评估葡萄酒的发酵过程以及和口感相关性的案例。本报告介绍使用高效液相色谱质谱联用仪 (LC/MS/MS)，通过食品代谢组学来鉴别无酒精葡萄酒与葡萄酒的差异、高档葡萄酒 (分级) 与佐餐葡萄酒间差异的案例。

T. Hattori, Y. Yamada

■ 样品·预处理

样品采用无酒精葡萄酒、高档葡萄酒、佐餐葡萄酒、高档葡萄酒与佐餐葡萄酒按 50:50 比例混合的葡萄酒。

预处理方法是，使用滤膜过滤葡萄酒后，用超纯水稀释 100 倍。稀释时，添加了 2- 巯基乙烷磺酸作为内标物质，浓度为 1.0 μmol/L。

■ 分析条件

利用 LC/MS/MS 初级代谢产物方法包 (ver.2) 中包含的 MRM 离子对建立 LC/MS/MS 方法进行分析。在本分析方法中，可以对氨基酸、有机酸、核苷、核苷酸等的亲水性代谢产物共 97 种成分进行同时分析。表 1 所示为其液相及质谱分析条件。质谱仪使用的是 LCMS-8060NX。LCMS-8060NX 的 IonFocus™ 设备 (图 1) 通过运送离子用的聚焦电极，可高效高选择性地将离子载入质谱系统，而同时可有效去除多余的中性粒子。因此，即使是禽畜类、或是食品等基基本底较为复杂的样品，也可兼顾分析的高灵敏和稳定性。详见应用研究 No. C226、C233。

表 1 分析条件

[HPLC 的条件] (Nexera™ X3)	
色谱柱	: 反相柱
流动相	: A) 0.1% 甲酸水溶液 B) 0.1% 甲酸乙腈溶液
模式	: 梯度洗脱
流速	: 0.25 mL/min
进样量	: 3 μL
[MS 的条件] (LCMS-8060NX)	
离子源	: ESI (±)
探头位置	: +3 mm
模式	: MRM
离子聚焦电压	: ±2 kV
雾化气流量	: 3.0 L/min
干燥气流量	: 10.0 L/min
加热气流量	: 10.0 L/min
DL 温度	: 250 °C
加热模块温度	: 400 °C
接口温度	: 300 °C

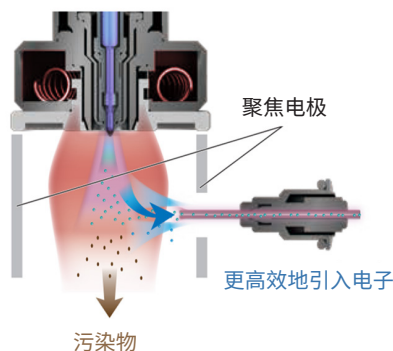


图 1 LCMS-8060NX 及 IonFocus 设备示意图

代谢组学分析

通过 LC/MS/MS 分析, 成功检测出以氨基酸、有机酸、核酸类代谢产物为代表的 67 种成分。根据各成分相对于内标物质的峰面积比, 通过 Traverse MS™ 软件进行主成分分析。图 2 所示为得分图和载荷图。通过第 1 主成分轴可以区分无酒精葡萄酒和葡萄酒。无酒精葡萄酒中含有大量的精氨酸、脯氨酸、4-羟脯氨酸等的氨基酸和柠檬酸。据说葡萄酒中的脯氨酸呈现苦味和甜味。葡萄酒中含有大量的乳酸和琥珀酸。通过第 2 主成分轴可以区分高档葡萄酒和佐餐葡萄酒。混合了高档葡萄酒和佐餐葡萄酒的样品位于两种葡萄酒的载荷图的中间位置。

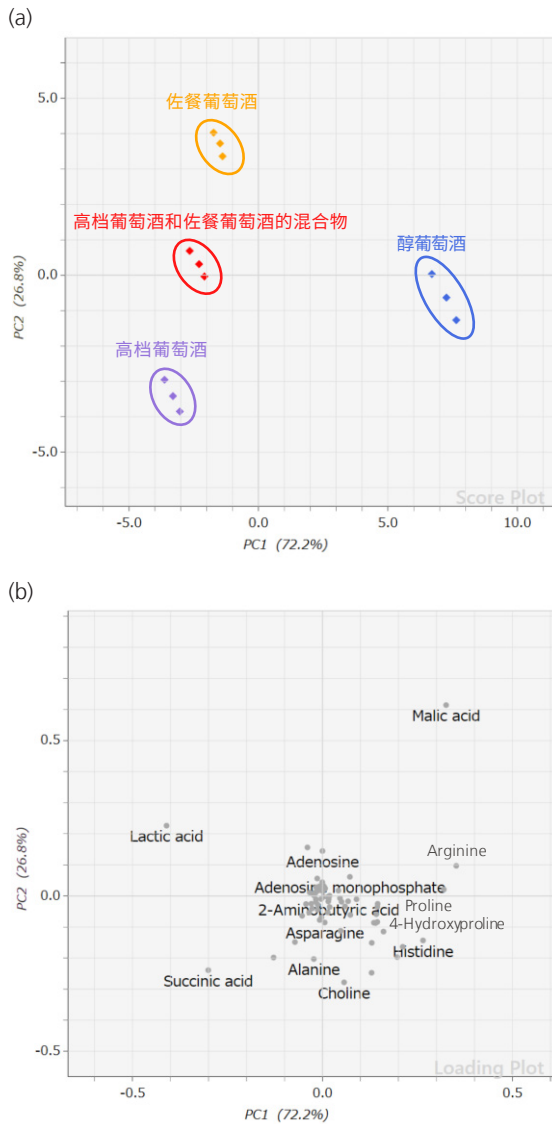


图 2 主成分分析结果
(a)得分图、(b)载荷图

图 3 所示为各葡萄酒中的乳酸和苹果酸的峰面积比。通常, 在葡萄酒的发酵过程中, 酒精发酵后会引发苹果酸乳酸发酵, 通过乳酸菌的作用, 果汁和葡萄酒中的苹果酸被分解为乳酸和二氧化碳。据说经苹果酸-乳酸发酵, 葡萄酒的酸味会变得醇和。高档葡萄酒的乳酸比例大于苹果酸, 表明得到了充分的苹果酸-乳酸发酵。另一方面, 无酒精葡萄酒和佐餐葡萄酒的苹果酸比例大于乳酸, 表明未进行充分的苹果酸-乳酸发酵。

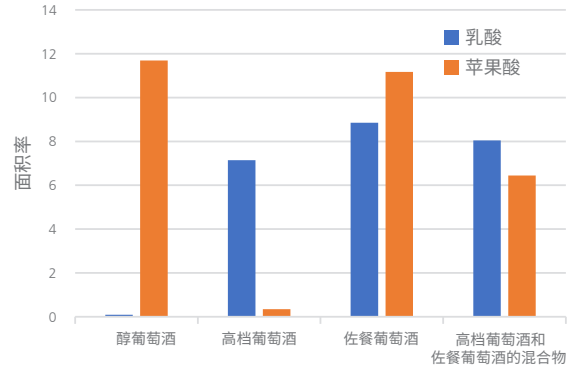


图 3 乳酸和苹果酸的峰面积比

结论

综上所述, 通过同时分析葡萄酒中的亲水性代谢产物, 可以鉴别无酒精葡萄酒与葡萄酒的差异、高档葡萄酒与佐餐葡萄酒的差异。本分析方法对改进无酒精葡萄酒和区分假冒葡萄酒也是有效的。

LCMS、Nexera、IonFocus 是岛津制作所株式会社在日本及其他国家的商标。
Traverse MS 是 Life Fix 株式会社的商标。

岛津应用云



岛津企业管理(中国)有限公司
岛津(香港)有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话: 800-810-0439
400-650-0439

免责声明:

* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售;
* 本资料中的所有信息仅供参考, 不予任何保证。
如有变动, 恕不另行通知。

第一版发行日: 2020 年 11 月