

GC-MS/MS 结合香味数据库分析不同红酒中挥发性风味物质差异

GCMSMS-357

摘要： 本文采用岛津三重四极杆气质联用仪 GCMS-TQ8050 NX，结合全自动多功能进样器 AOC-6000 的 SPME Arrow 进样方式，使用 Smart Aroma Database 香味数据库建立了红酒中 500 多种气味成分的分析方法。对 1 种进口红酒和 3 种中国制红酒进行检测，共筛查出 112 种挥发性风味物质。并对检测结果进行维恩图、主成分和正交偏最小二乘法判别分析，维恩图得到了每种红酒特有的气味物质；PCA 结果显示进口红酒样品 1 和中国制红酒样品 2 之间挥发性风味物质存在较大相似性，而与中国制红酒样品 3 和 4 的差异较为显著；正交偏最小二乘法判别分析筛查出该进口红酒和其他中国红酒间差异较大的气味物质，找到了不同产区红酒间挥发性风味物质的差异根源，可为红酒酿造工艺改进或者质量提升提供参考。

关键词： 三重四极杆气相色谱质谱联用仪 香味物质数据库 红酒 挥发性风味物质

技术特点：

- ❖ 使用 Smart Aroma Database，能够快速筛查近 500 多种气味成分。
- ❖ 使用 OPLS-DA 模型分析可用于确认不同红酒间差异较大的挥发性风味物质。

香气是影响葡萄酒质量的主要因素之一，在葡萄酒品鉴过程中发挥重要作用。葡萄酒的香气成分复杂多样，受到多方面因素影响，包括葡萄品种、产地的土壤及气候、酿造工艺等。因此即便对于同一品种的葡萄，在不同地区的表现也大不相同。红酒作为葡萄酒的重要类别，其魅力源于独特的酿造工艺和丰富的文化内涵，适量饮用红酒可能有益心血管，在日常生活中备受欢迎。

进口红酒凭借其悠久的酿造历史和成熟的酿造工艺，在国际市场上占据重要地位；而中国红酒近年来也发展迅速，逐步形成了具有本土特色的酿造

风格。风味物质作为决定葡萄酒品质和口感的关键因素，对其深入剖析，能使消费者更清晰地辨别不同产地红酒的独特魅力，为市场推广提供有力依据。同时，也有助于中国红酒行业借鉴国外经验，优化自身酿造工艺，提升产品竞争力。因此，开展进口红酒和中国制红酒风味物质差异化分析具有重要的现实意义和研究必要性。

本文使用 GCMS-TQ8050 NX 结合 Smart Aroma Database 建立了 500 多种气味物质的分析方法，对某进口红酒和多种中国红酒的挥发性风味物质进行了检测和差异化分析。

■ 实验部分

1.1 仪器

GCMS-TQ8050 NX 气相色谱 - 三重四极杆质谱联用仪
AOC-6000 自动进样器

1.2 标准品

保留时间校正用标品：正构烷烃 (C₉-C₃₀) 混合标准品

1.3 分析条件

SPME Arrow 参数：

S P M E : DVB/C-WR/PDMS 1.10 mm/20 mm 平衡时间 : 15 min
 老化温度 : 250°C 萃取时间 : 30 min
 老化时间 : 3 min (萃取前) 解吸时间 : 3 min
 平衡温度 : 50°C (萃取后) 老化时间 : 3 min

GC-MS/MS 参数:

色 谱 柱 : SH-Polar Wax, 60 m × 0.25 mm ID × 0.25 μm
 柱 温 程 序 : 40°C (5 min)_3°C /min_250°C (15 min)
 载 气 控 制 : 恒线速度, 25.5 cm/s 离子源温度 : 200°C
 进样口温度 : 250°C 接口温度 : 250°C
 进 样 方 式 : 分流进样 检测器电压 : 调谐电压 +0.3 kV
 分 流 比 : 5:1 采集方式 : Fasst (Scan & MRM)

1.4 样品前处理

准确量取 5.0 mL 红酒样品于 20 mL 顶空瓶中, 密封后按 1.3 条件上机分析。

表 1 红酒样品信息

样品编号	产地	类别
Sample 1	意大利	进口红酒
Sample 2	宁夏贺兰山	中国制红酒
Sample 3	山西晋中	中国制红酒
Sample 4	宁夏青铜峡 & 山西太古	中国制红酒

■ 结果与讨论

2.1 气味系统方法建立流程

岛津香味数据库包含一系列的分析方法、质谱库等文件。使用 Aroma_TQ_IC-Wax_AART 方法采集浓度为 10 μg/mL C₉-C₃₀ 正构烷烃标准溶液, 利用各正构烷烃保留时间对香味数据库中化合物保留时间进行自动校正。正构烷烃样品色谱图见图 1。

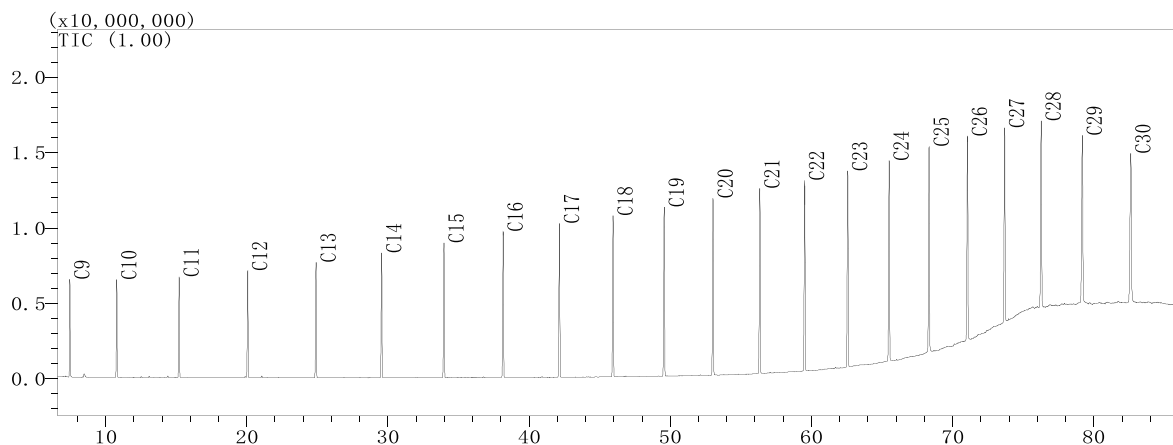


图 1 正构烷烃色谱图

岛津香味数据库注册有 500 种以上的香味组分，可快速实现定性筛查找到关键的香味化合物，创建高灵敏度分析方法。利用所得正构烷烃数据以及香味数据库，创建了 MRM 和 Scan 同时采集方法，对样品进行分析。图 2 为香味数据库的创建方法界面和方法创建完成界面。

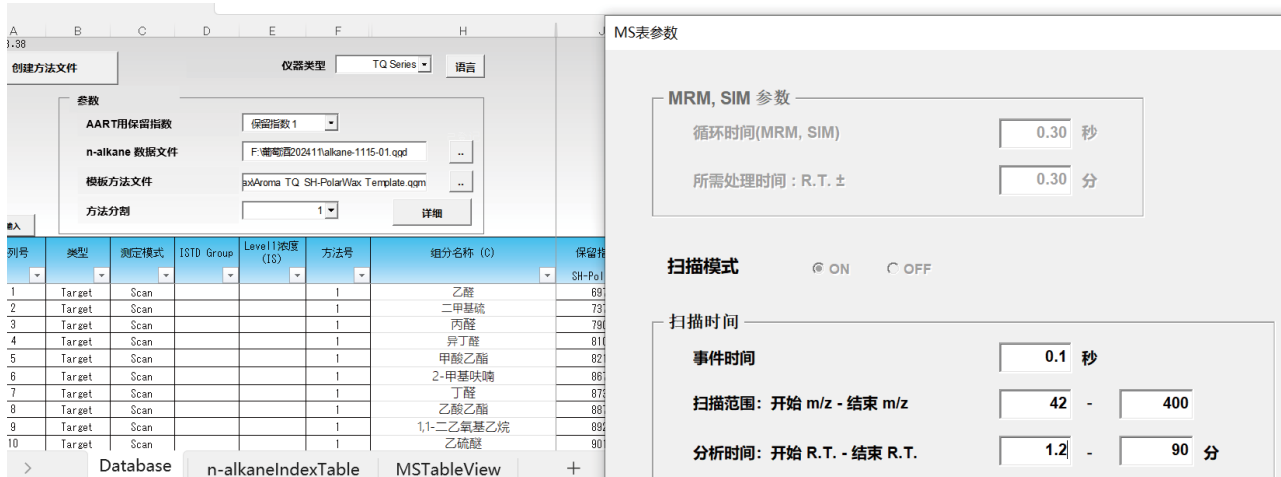


图 2 香味数据库创建方法界面

2.2 红酒样品挥发性风味物质筛查结果

本文检测了 4 种红酒样品，每份样品平行测定 3 针。4 种样品及空白样品 TIC 数据比较图见图 3，主峰为乙醇，响应比较高的峰为乙酸乙酯、异戊醇、正己酸乙酯、辛酸乙酯、丁二酸二乙酯等。通过香味数据库筛查出 99 种气味物质，通过 NIST 谱库检索出 13 种其他挥发性成分，共检测到 112 种物质，详细如表 2 所示。

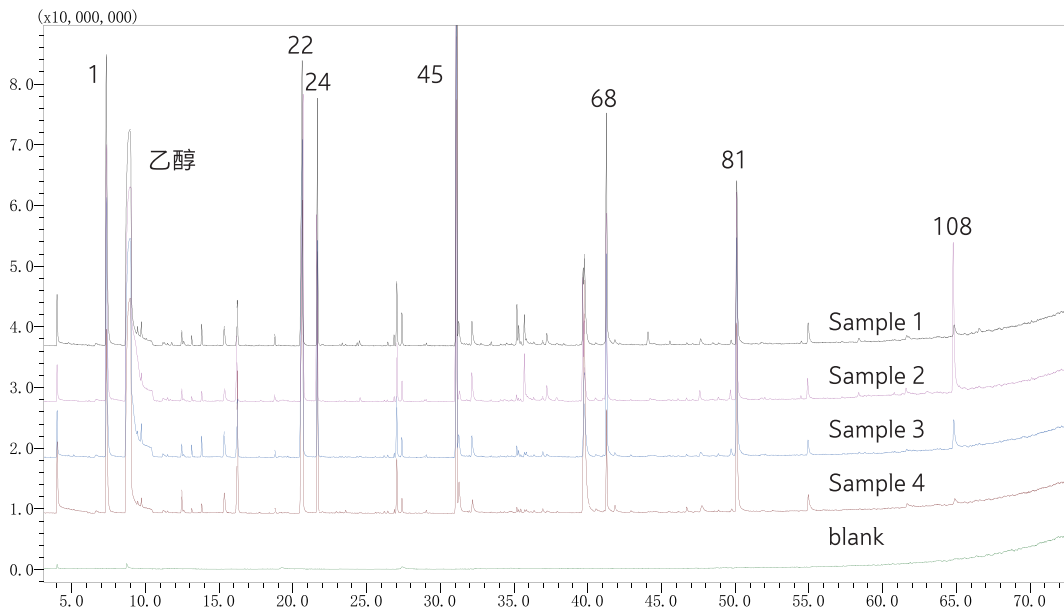


图 3 4 种红酒 TIC 数据比较图（主峰为乙醇，其他标识数字的色谱峰峰面积较大，详见表 2）

表 2 红酒样品中气味组分筛查结果

序号	名称	英文名称	CAS 号	气味描述	平均峰面积 (n=3)			
					样品 1	样品 2	样品 3	样品 4
1	乙酸乙酯	Ethyl acetate	141-78-6	菠萝香味	50443031	38083271	43500056	23245200
2	丙酸乙酯	Ethyl propanoate	105-37-3	水果味	210954.7	100518.3	128781.7	90014.67
3	异丁酸乙酯	Ethyl isobutyrate	97-62-1	甜味, 橡胶味	432088.7	232767	550199.3	193615
4	乙酸丙酯	Propyl acetate	109-60-4	甜味, 芳香味	70271.33	26122.33	27763	27469.67
5	乙酸异丁酯	Isobutyl acetate	110-19-0	水果, 苹果, 香蕉味	23659	42800.67	28293.67	9955.667
6	正丙醇	Propanol	71-23-8	酒精味, 刺激气味	584965.7	263890.3	308872.3	332978.7
7	丁酸乙酯	Ethyl butanoate	105-54-4	苹果味	2389614	1599327	2127231	2718677
8	2-甲基丁酸乙酯	Ethyl 2-methylbutyrate	7452-79-1	苹果味	1081927	421370.3	1354959	400627.7
9	异戊酸乙酯	Ethyl 3-methylbutanoate	108-64-5	水果味	1224437	497117.3	1258939	421234.3
10	二甲基二硫	Dimethyl disulfide	624-92-0	洋葱味, 卷心菜味, 腐烂味	42759.33	54358	30621	7148.333
11	乙酸异戊酯	Isoamyl acetate	123-92-2	香蕉味	5414063	6571059	7632888	14208743
12	对二甲苯	p-Xylene	106-42-3	甜味	51207	22616.33	5146.667	2658.333
13	戊酸乙酯	Ethyl valerate	539-82-2	酵母味, 水果味	70069	27785	23565.33	18180.67
14	间二甲苯	m-Xylene	108-38-3	塑料味	133932	50096.67	11774.67	5356.333
15	正丁醇	1-Butanol	71-36-3	药味, 水果味	213575.3	266700.3	245481.7	278363.7
16	水芹烯	alpha-Phellandrene	99-83-2	松节油味, 薄荷味, 香料味	---	---	15669	---
17	1,4-桉叶素	1,4-Cineole	470-67-7	香料味	13897	---	---	---
18	α-松油烯	alpha-Terpinene	99-86-5	柠檬味, 树脂味	21827.33	5017.667	9899.667	4572
19	邻二甲苯	o-Xylene	95-47-6	天竺葵味	50297.67	43170.67	9444.667	3169.333
20	己酸甲酯	Methyl hexanoate	106-70-7	水果味, 清新的, 甜味	59659.67	45898.67	55901.67	43883.67
21	双戊烯	Limonene	138-86-3	柠檬味, 橙子味	7292.667	4198.667	---	5390.667
22	异戊醇	Isoamyl alcohol	123-51-3	威士忌, 麦芽, 焦味	60050897	68060195	83760681	74779985
23	2-己烯醛	trans-2-Hexenal	6728-26-3	苹果味, 绿植味	1523064	---	---	---
24	正己酸乙酯	Ethyl hexanoate	123-66-0	苹果皮, 水果味	19649860	12091734	17142959	17065449
25	γ-松油烯	gamma-Terpinene	99-85-4	汽油味, 松节油味	29403	13818.33	14788.33	---

26	苯乙烯	Styrene	100-42-5	香脂的, 汽油味	11315.67	39578.67	25112.33	229237.3
27	丁酸异戊酯	Isoamyl butyrate	106-27-4	水果味	58495.67	47434.33	87770.67	108113.7
28	4- 异丙基甲苯	p-Cymene	99-87-6	溶剂味, 汽油味, 柑橘味	387454.7	54836	106018.3	78291
29	乙酸己酯	Hexyl acetate	142-92-7	水果味, 草本味	15584	8706.667	6509	24236.67
30	1,2,4- 三甲基苯	1,2,4-Trimethylbenzene	95-63-6	塑料味	59103.33	12797.33	---	---
31	δ- 萜品油烯	delta-Terpinene	586-62-9	松木味, 塑料味	9114	6973	5800.667	5262.667
32	3- 羟基 -2- 丁酮	Acetoin	513-86-0	奶油味	210488.3	109752	43650.33	13308.67
33	己酸丙酯	Propyl hexanoate	626-77-7	水果味	14800.33	---	---	---
34	庚酸乙酯	Ethyl heptanoate	106-30-9	水果味	216226.3	78239.67	139228	107813.3
35	乳酸乙酯	Ethyl lactate	97-64-3	水果	1353529	773214.7	1187261	1019284
36	正己醇	1-Hexanol	111-27-3	树脂, 花, 绿植	4053994	1473049	2605826	1687580
37	2,6- 二甲基 -5- 庚烯醛	2,6-Dimethyl-5-heptenal	106-72-9	水果, 绿植, 甜瓜味	31007	787789.7	21319.33	11850.67
38	叶醇	cis-3-Hexen-1-ol	928-96-1	青草味	36841.33	15795	---	25640.67
39	二甲基三硫	Dimethyl trisulfide	3658-80-8	硫磺味, 鱼腥味, 卷心菜味	24203	13007.33	---	---
40	辛酸甲酯	Methyl octanoate	111-11-5	橙子味	152227.7	112121.7	144005.3	146413
41	2- 壬酮	2-Nonanone	821-55-6	热牛奶, 肥皂味, 绿植味	7878.333	2365	---	---
42	3- 辛醇	3-Octanol	589-98-0	苔藓, 坚果, 蘑菇味	12018	8222.667	---	4569.333
43	(Z)-2- 己烯 -1- 醇	(Z)-hex-2-en-1-ol	928-94-9	叶子, 绿植, 酒, 水果	4546.333	4496	---	---
44	仲辛醇	2-Octanol	123-96-6	蘑菇味, 脂肪味	---	---	2128	---
45	辛酸乙酯	Ethyl octanoate	106-32-1	水果味, 脂肪味	49434961	36123406	45144633	52808806
46	1- 辛烯 -3- 醇	1-Octen-3-ol	3391-86-4	蘑菇味	26864	17430.67	---	13450.67
47	正庚醇	1-Heptanol	111-70-6	化学品味, 绿植味	---	---	---	142510.3
48	醋酸	Acetic acid	64-19-7	酸味	2112803	2094024	1656626	2170030
49	己酸异戊酯	Isopentyl hexanoate	2198-61-0	脂肪酸, 果香味的	33412	115636	192097.7	186238.3
50	糠醛	Furfural	98-01-1	面包, 杏仁, 甜味	98614.33	37195.67	40464.33	28309
51	2- 乙基己醇	2-Ethylhexanol	104-76-7	玫瑰, 绿植	117695	39173.33	27281	24362

52	2-壬基醇	2-Nonanol	628-99-9	黄瓜味	55878.33	16206.67	---	22753.33
53	壬酸乙酯	Ethyl nonanoate	123-29-5	水果味, 玫瑰, 坚果味的	161777	90269.67	---	214020.3
54	2,3-丁二醇异构体-1	2,3-Butanediol isomer-1	513-85-9	水果味, 洋葱味	2955705	1856686	315228.7	1660473
55	DL-2-羟基-4-甲基戊酸乙酯	Ethyl DL-Leucate	10348-47-7	清新, 黑莓气味	---	---	226474.7	126786.7
56	芳樟醇	Linalool	78-70-6	花香, 薰衣草味	---	39364.67	---	36141.67
57	辛醇	1-Octanol	111-87-5	试剂味, 金属 味, 焦味	110940.7	85104.33	90820.33	94515.67
58	3-甲硫基丙酸乙酯	Ethyl 3-(methylthio) propionate	13327-56-5	含硫, 洋葱, 大蒜, 菠萝,	---	8201.333	23162	---
59	异丁酸	Isobutyric acid	79-31-2	哈喇味, 黄油 芝士味	---	---	---	38552
60	2,3-丁二醇异构体-1	2,3-Butanediol isomer-2	513-85-9	水果味, 洋葱味	355246.7	737740.3	---	608601.7
61	丙二酸二乙酯	Diethyl malonate	105-53-3	苹果味	18021.33	10440.67	13174	---
62	癸酸甲酯	Methyl decanoate	110-42-9	酒味	47401.67	41388.33	37272	76050.67
63	4-萜烯醇	Terpinen-4-ol	562-74-3	松脂油, 肉豆 蔻, 霉味	29282	---	2068.333	---
64	癸酸乙酯	Ethyl decanoate	110-38-3	葡萄	10754815	6500721	6779160	16552988
65	辛酸异戊酯	Isoamyl octanoate	2035-99-6	果味, 橙子, 梨子, 甜瓜	---	---	---	483355.3
66	苯甲酸乙酯	Ethyl benzoate	93-89-0	甘菊, 花, 芹菜, 水果味	318950	59660.33	66758.33	---
67	异戊酸	Isovaleric acid	503-74-2	汗味, 酸味, 哈喇味	---	122930.7	163300.3	---
68	丁二酸二乙酯	Diethyl succinate	123-25-1	酒, 水果	44211998	32216826	39148747	13806089
69	α -松油醇	alpha-Terpineol	98-55-5	石油, 茴芹, 薄荷	41631.67	12293	14175.67	11827.33
70	3-甲硫基丙醇	Methionol	505-10-2	甜味, 土豆	55180	56179.33	107355	104853.3
71	水杨酸甲酯	Methyl salicylate	119-36-8	胡椒薄荷	170672	240089.7	231391.7	237542
72	苯乙酸乙酯	Ethyl phenylacetate	101-97-3	水果, 甜味	700285	90539.33	200411.3	82776
73	乙酸苯乙酯	2-Phenylethyl acetate	103-45-7	玫瑰, 蜂蜜, 烟草	417989.3	385194.7	498371.3	1025294
74	β -大马酮	beta-Damascenone	23696-85-7	炖苹果, 蜂蜜 的, 草莓	20474.67	20112	30344.67	74392.33
75	月桂酸乙酯	Ethyl laurate	106-33-2	叶子	161236.3	356040.3	167637.3	422322.7
76	己酸	Capronic acid	142-62-1	汗味	643617.3	396251	483385.7	693329

77	愈创木酚	Guaiacol	90-05-1	烟味, 甜味, 药味	57944.33	15887.67	11516	10464
78	苯甲醇	Benzyl alcohol	100-51-6	甜味, 花香	330811	399713.3	434043	291586
79	(E)- 威士忌内酯	(E)-Whiskey lactone	80041-01-6	花香, 内脂味	59122.33	127772	187856	---
80	抗氧化剂 264	Butylated hydroxytoluene	128-37-0	霉味	---	---	1199710	---
81	苯乙醇	2-Phenylethanol	60-12-8	蜂蜜, 香料, 玫瑰, 丁香	30689941	36084479	45754933	37513668
82	(Z)- 威士忌内酯	(Z)-whiskey lactone	80041-00-5	椰子	96349	160444	---	---
83	苯酚	Phenol	108-95-2	酚	11245	7051.333	---	6225
84	4- 乙基 -2- 甲氧基苯酚	4-Ethyl-2-methoxyphenol	2785-89-9	香料, 丁香	58803	---	62872.33	---
85	丙位壬内酯	gamma-Nonalactone	104-61-0	椰子, 桃子	19580	---	---	---
86	(E)- 橙花叔醇	(E)-Nerolidol	40716-66-3	木头, 花香, 蜡脂	---	7750.333	---	---
87	DL- 苹果酸二乙酯	Diethyl malate	755-12-3	焦糖, 甜味	458252.7	200804	132859.7	45231.33
88	辛酸	Caprylic acid	124-07-2	汗味, 芝士	312309.7	196649.3	221449.7	320202.7
89	2- 甲氧基 -4- 丙基 - 苯酚	4-Propylguaiacol	2785-87-7	酚	5638	---	---	---
90	壬酸	Nonanoic acid	112-05-0	绿植, 脂肪	60001.67	18356.33	14459	19064.33
91	丁香酚	Eugenol	97-53-0	丁香, 蜂蜜	12056.33	19630.67	---	---
92	3- 乙基苯酚	3-Ethylphenol	620-17-7	霉味	165302.3	35254.33	239139.3	10521
93	正癸酸	Capric acid	334-48-5	脂肪	387903	214309.3	143676.3	462002
94	酒石酸二乙酯	Diethyl L-tartrate	87-91-2	土味, 霉味	---	---	16640.67	---
95	苯甲酸	Benzoic acid	65-85-0	尿味	977967.7	399459	563672.3	597966.3
96	月桂酸	Lauric acid	143-07-7	金属味	46821.67	27813	---	---
97	香草酸乙酯	Ethyl vanillate	617-05-0	花香, 水果, 甜的, 香草	57045	26377.67	---	---
98	香草乙酮	Acetovanillone	498-02-2	香草	28372.67	8815	---	---
99	对羟基苯乙醇	Tyrosol	501-94-0	苦味, 试剂味	80582	129798.3	150900.7	165059.7
100	乙醇	alcohol	64-17-5		7.55E+08	8.89E+08	8.84E+08	9.92E+08
101	三氯甲烷	Trichloromethane	67-66-3		2405193	---	---	---
102	异丁醇	Isobutanol	78-83-1	酒味, 溶剂味, 苦味	19140759	18756795	30205009	13604326
103	二糠基醚	Furfuryl ethyl ether	4437-22-3		1781543	---	---	---
104	3- 去甲 -4- 广藿香烯	3-Nor-4-patchoulene	193695-14-6		44769901	---	7693131	---

105	乳酸异戊酯	Isoamyl lactate	19329-89-6	2513686	---	5484971	---
106	1,1,6-三甲 基-1,2-二氢萘	TDN	30364-38-6	16883362	---	---	---
107	乙基异戊基琥珀 酸酯	ethyl isopentyl succinate	28024-16-0	4494047	7741491	9845762	2595019
108	琥珀酸单乙酯	Ethyl hydrogen succinate	1070-34-4	---	1.17E+08	73298808	16764105
109	氯代异戊烷	Chloroisopentane	107-84-6	---	---	978033.7	---
110	3-甲基-1-戊醇	3-methylpentanol	589-35-5	---	---	1497128	814807
111	三甲基六氢萘酮	2-keto-1,1,10- trimethyl- Δ 8- octalin	4668-61-5	---	---	4195328	2244929
112	9-癸烯酸	9-Decenoic acid	14436-32-9	---	---	---	5560384

注：--- 代表未检出，加粗斜体为响应比较高的组分。

2.3 红酒样品挥发性风味物质差异分析

2.3.1 维恩图

4种红酒样品分别检测到95种、88种、81种和79种气味物质。同时对检测到的气味物质进行维恩图分析，见图4。4种红酒样品中含有62种共有气味物质，样品1检测到8种特有气味物质：1,4-桉叶素、2-己烯醛、己酸丙酯、丙位壬内酯、二糠基醚等；样品2检测到1种特有气味物质：(E)-橙花叔醇；样品3检测到5种特有气味物质：水芹烯、仲辛醇、抗氧化剂264、酒石酸二乙酯和氯代异戊烷；样品4检测到4种特有气味物质：正庚醇、异丁酸、辛酸异戊酯和9-癸烯酸。

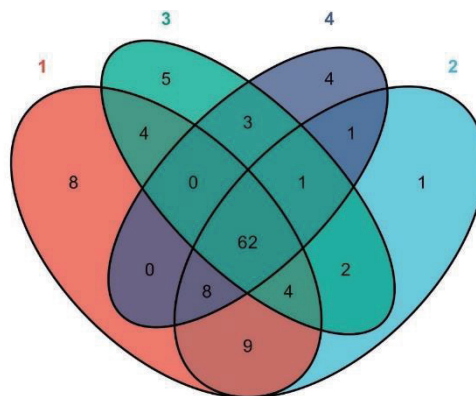


图4 4种红酒气味组分维恩图

2.3.2 主成分分析

主成分分析 (Principal Component Analysis, PCA), 将多个变量通过线性变换以选出较少个数重要变量的无监督分析方法, 是一种多变量统计分析方法。可以初步了解各组样本之间的总体化合物差异和组内样本之间的变异度大小。

4种红酒主成分分析得分图见图5, 结果显示各酒样的3针平行样本聚集度较高, 显示出良好的数据重复性。该进口红酒样品与中国制红酒相比, 进口红酒样品1和中国制红酒样品2之间的挥发性风味物质在第二主成分上存在较大相似性, 而与中国制红酒样品3和4的差异较为显著。

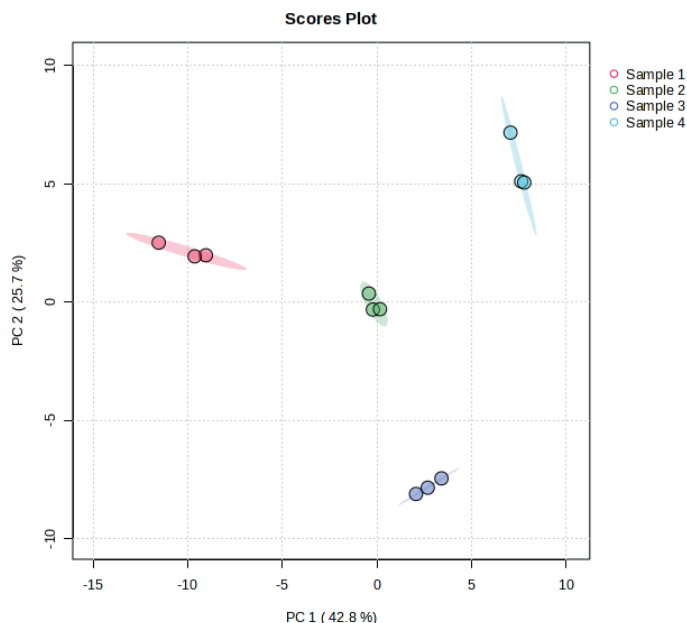


图 5 4 种红酒样品 PCA 得分图

2.3.3 正交偏最小二乘法判别分析

正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA) 是一种有监督的判别分析方法, 使组内差异弱化, 组间差异最大化凸显, 且更适用于两组样本间的分离。

为了进一步研究该进口红酒和中国制红酒间差异, 将 4 种样品分成进口红酒和中国制红酒两类进行 OPLS-DA 分析。3 种中国制红酒聚类良好, 进口红酒和国产红酒显著分离, 说明该进口红酒和中国制红酒存在较大差异, 见图 6 (左)。VIP 值大于 1 的为差异比较大的物质, 图 6 (右) 为差异比较大的前 15 种物质, 包括乙酸丙酯, 1,4- 桉叶素, 己酸丙酯等。这 15 种物质均表现出在该进口红酒中含量较高。

此外, 模型验证结果和置换检验结果见图 7, R^2Y 和 Q^2 分别代表所建模型的解释率和预测能力, 它们的值越接近于 1 表明模型的拟合度越好, 可信度越高, $R^2Y=0.931$, $Q^2=0.908$, 表明模型稳健可靠。对模型进行置换检验, 通过观察打乱前的原始模型在 100 次随机打乱样本的随机置换检验, P 值小于 0.01, 说明模型没有过拟合。

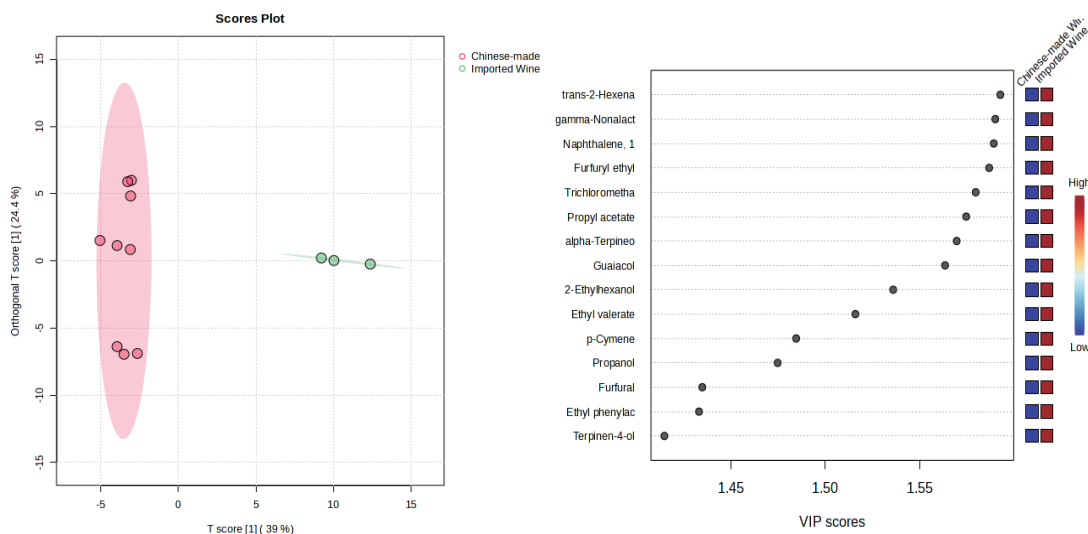


图 6 进口红酒和中国制红酒 OPLS-DA 得分图 (左) 和 VIP 值图 (右)

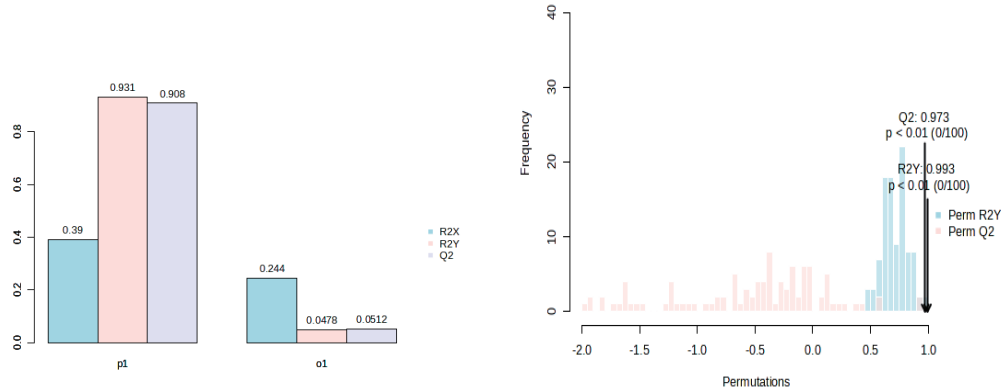


图7 模型验证（左）和100次置换检验结果（右）

■ 结论

本文采用岛津三重四极杆气质联用仪 GCMS-TQ8050 NX，结合全自动多功能进样器 AOC-6000 的 SPME Arrow 进样方式，使用 Smart Aroma Database 香味数据库建立了红酒中 500 多种气味成分的分析方法，对 1 种进口红酒和 3 种中国制红酒进行检测，共筛查出 112 种挥发性风味物质。并对检测结果进行维恩图、主成分和正交偏最小二乘法判别分析，维恩图得到了每种红酒特有的气味物质；PCA 结果显示进口红酒样品 1 和中国制红酒样品 2 之间挥发性风味物质存在较大相似性，而与中国制红酒样品 3 和 4 的差异较为显著；正交偏最小二乘法判别分析筛查出该进口红酒和其他中国制红酒间差异较大的气味物质，找到了不同产区红酒间挥发性风味物质的差异根源，可为红酒酿造工艺改进或者质量提升提供参考。此类研究有助于中国红酒行业借鉴国外经验，优化自身酿造工艺，提升产品竞争力。

岛津应用云

