

GCMSMS 结合香味数据库分析清香型白酒中的气味成分

GCMSMS-258

摘要： 本文采用岛津三重四极杆气相色谱质谱联用仪 GCMS-TQ8050 NX，结合 AOC-6000 多功能自动进样器 SPME 进样模式和 Smart Aroma Database 香味数据库建立了 483 种气味成分的 MRM 分析方法。使用此方法检测了 4 份清香型白酒，共检出 57 种气味成分，其中酯类 34 种，醇类 8 种，酮类、醛类和硫化物各 2 种，萜类 3 种，芳香烃 1 种，酸类 1 种，其他化合物 4 种，4 份样品共有气味成分 40 种。使用数据统计方法得到了可以直观体现样品间差异的 PCA 图以及对样品间差异贡献最大的 10 种化合物。

关键词： 气相色谱 - 三重四极杆气质联用仪 香味数据库 清香型白酒

中国白酒历史悠久，白酒是多种香气成分的混合物，包括醇类、酯类、酸类、醛酮类化合物、呋喃化合物等。上述化合物中除乙醇外，其他组分含量都很低，但各种组分之间的量比关系却直接关系到白酒的品质及口感。

清香型白酒作为我国四大香型白酒之一，因独特的花果香味而受到消费者的广泛欢迎。清香型白酒亦称汾香型白酒，主体香为乙酸乙酯和乳酸乙酯。清香型白酒具有香气纯正、醇甜柔和、余味悠长的特点，这种独特的香气风格是由白酒中各类气味物质相互作用而构成的。香气是清香型白酒品质好坏的重要

参考之一，品质越好的清香型白酒，其香气更加协调。

Smart Aroma Database 香味数据库是预先收录有香气成分化合物信息的专用数据库，可以实现数百种香气成分的筛查，可极大减少数据分析的工作量并提高准确度，得到的大量检测信息也为进一步的数据统计分析提供了可能。

本文利用岛津 GCMS-TQ8050 NX 三重四极杆气质联用仪和 AOC-6000 多功能自动进样器，结合 Smart Aroma Database 香味数据库快速创建 483 种香味物质的 MRM 分析方法。使用此方法检测了 4 份清香型白酒，并对检测结果进行了数据统计分析。

■ 实验部分

1.1 仪器

GCMS-TQ8050 NX 三重四极杆气质联用仪

AOC-6000 自动进样器

1.2 分析条件

SPME 参数：

SPME 纤维：DVB/CWR/PDMS 80 μm

老化温度：260 $^{\circ}\text{C}$

老化时间：3 min

(萃取前)

萃取时间：15 min

平衡温度：50 $^{\circ}\text{C}$

平衡时间：5 min

老化时间：3 min

(萃取后)

解吸时间：2 min

GC-MS/MS 参数：

色谱柱：SH-Polar Wax, 60 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm

进样口温度：250 $^{\circ}\text{C}$

柱温程序：40 $^{\circ}\text{C}$ (5 min) $_3^{\circ}\text{C}/\text{min}_250^{\circ}\text{C}$ (15 min)

载气控制：恒线速度模式，25.5 cm/s

接口温度：250 $^{\circ}\text{C}$

进样方式：分流进样
分流比：5:1
离子源温度：200°C

检测器电压：调谐电压 +0.5 kV
采集方式：MRM

1.3 样品前处理

量取待测样品 1 mL 分别放入 20 mL 顶空瓶中，密封后按 1.3 条件上机分析，每份样品平行检测 3 次。

■ 结果与讨论

2.1 气味系统方法建立流程

岛津香味数据库 (Smart Aroma Database) 包括模板方法、质谱库等文件。首先使用 Aroma_TQ_SH-PolarWax_AART 方法文件测定正构烷烃标品，通过 AART 功能 (自动调整化合物的保留时间) 利用保留指数和正构烷烃的保留时间自动调整目标化合物的保留时间，正构烷烃样品色谱图见图 1。

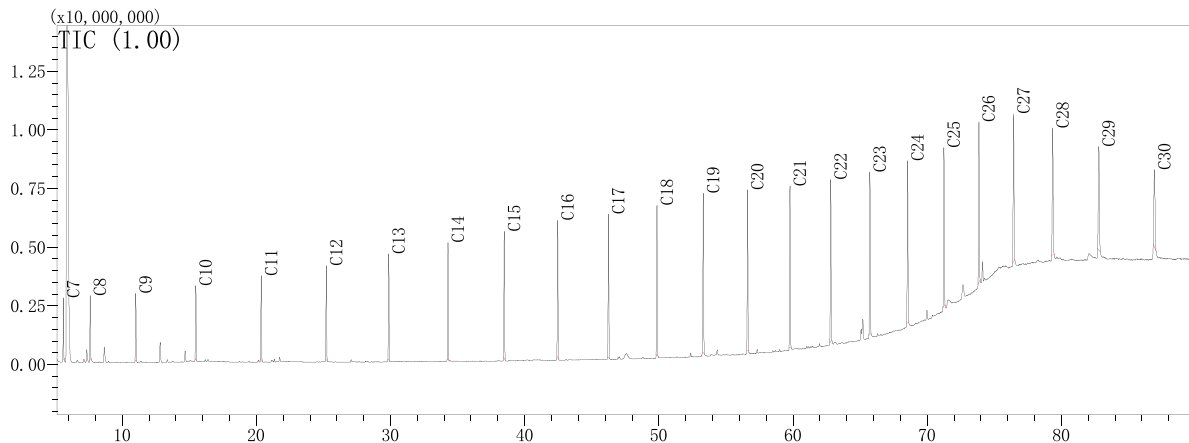


图 1 正构烷烃色谱图

利用采集得到的正构烷烃数据、Aroma_TQ_SH-PolarWax_Template 模板方法以及香味数据库建立 483 种气味成分的 MRM 模式采集方法，GCMS-TQ8050 NX 可利用该方法对样品中的气味成分进行筛查。图 2 为香味数据库的创建方法界面和方法创建完成界面。

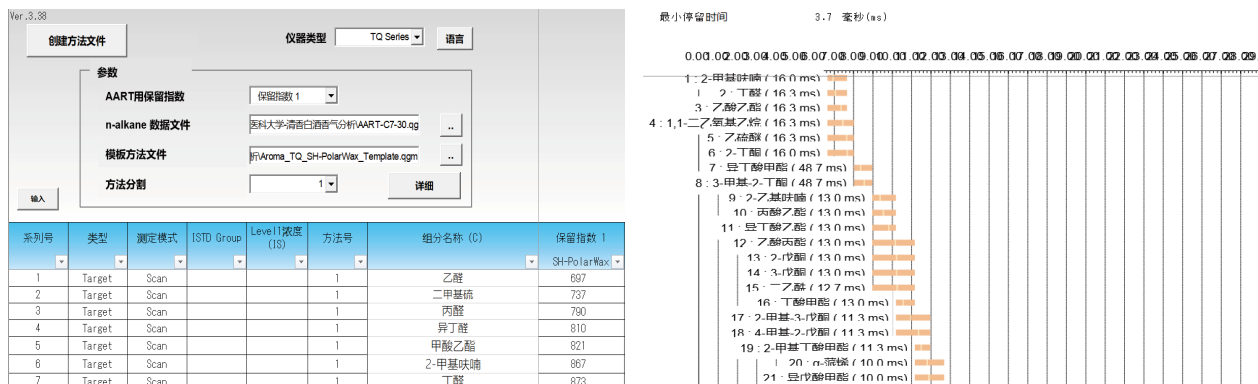


图 2 香味数据库界面

2.2 清香型白酒样品检测结果

韦恩图 (Venn Diagram) 是显示元素集合重叠区域的图示, 可用于统计不同比对组中所共有和独有的物质数目。对 4 份清香型白酒样品进行检测, 使用韦恩图对检测化合物种类进行统计, 共检测出 57 种组分, 其中 4 份清香型白酒共有组分为 40 种, 结果如图 3 所示。部分共有组分 MRM 色谱图如图 4 所示, 部分非共有组分 MRM 色谱图如图 5 与图 6 所示, 表 1 列出了 4 份清香型白酒中检测到的气味物质, 其中酯类 34 种, 醇类 8 种, 酮类、醛类和硫化物各 2 种, 萜类 3 种, 芳香烃 1 种, 酸类 1 种, 其他化合物 4 种。

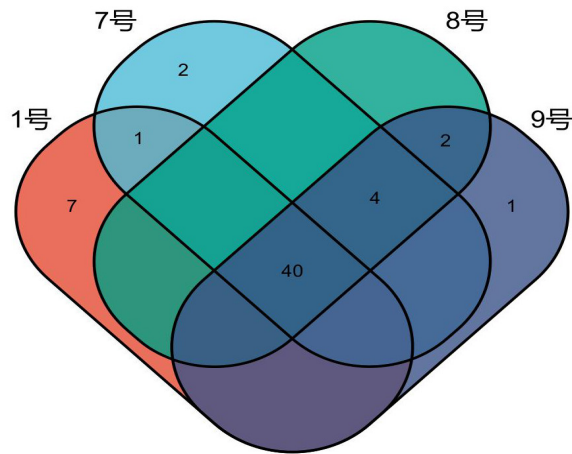


图 3 4 份清香型白酒检测组分种类统计

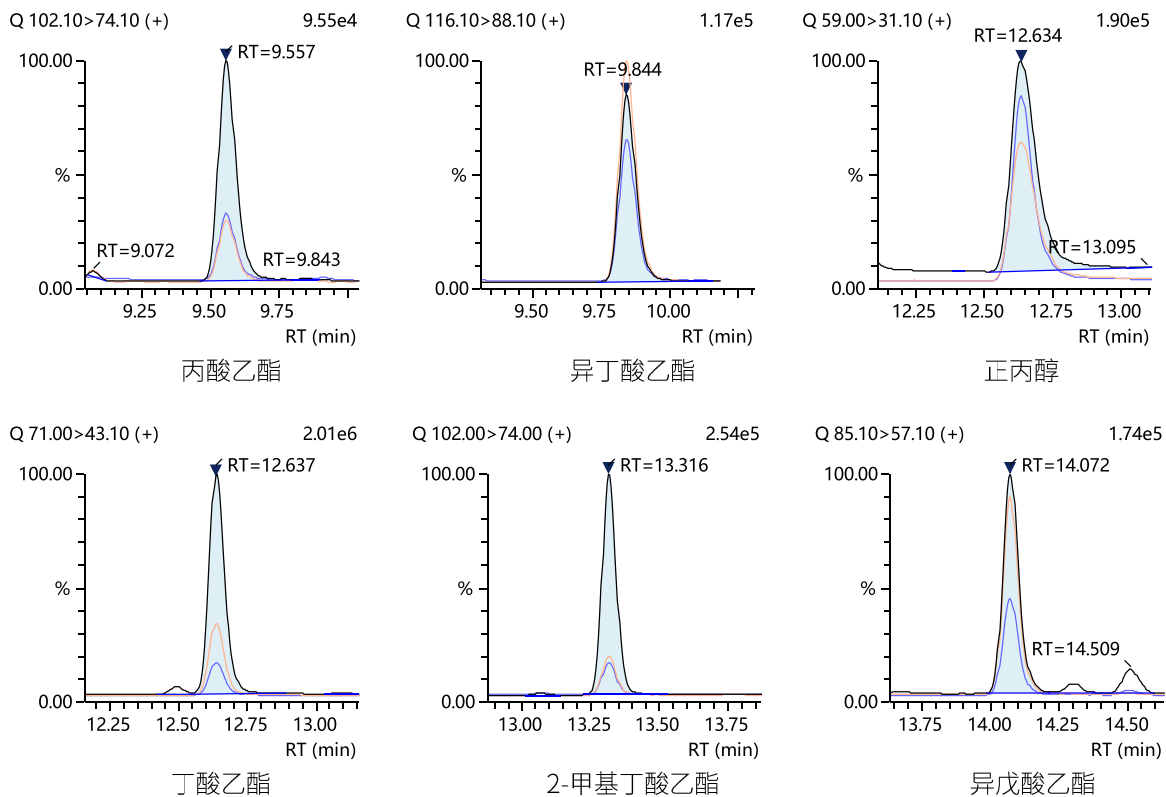


图 4 部分共有组分 MRM 色谱图 (谱图来源为 1 号样品)

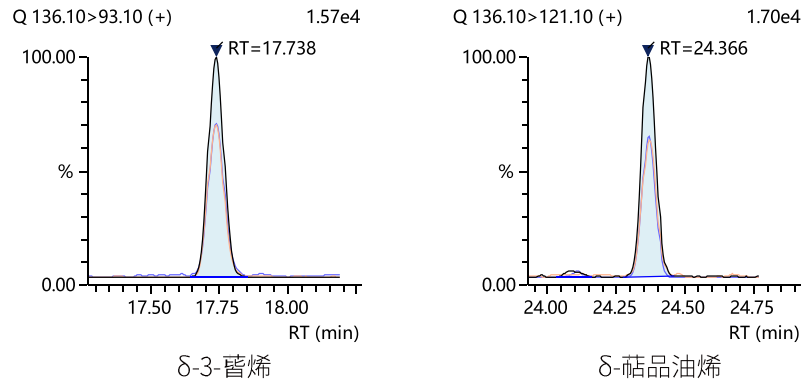


图 5 仅在 7 号样品中检出的组分 MRM 色谱图

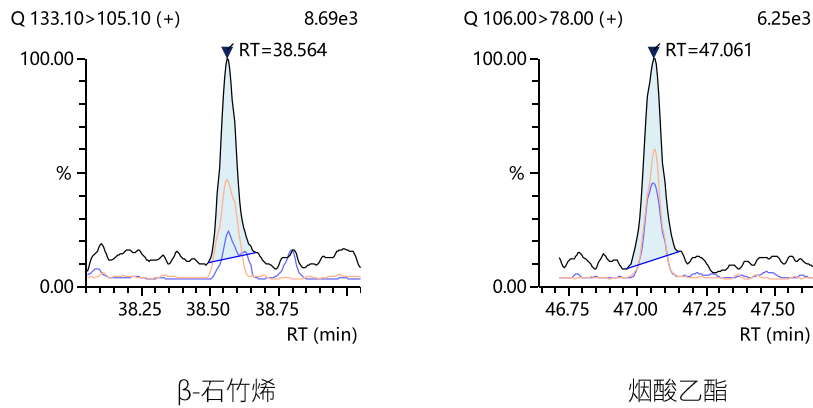


图 6 仅在 1 号样品中检出的组分 MRM 色谱图

表 1 4 份清香型白酒样品检测结果

| No. | 化合物 | CAS | 平均峰面积 (n=3) | | | | 描述 |
|-----------|-----------|------------|-------------|----------|----------|----------|----------|
| | | | 1 号 | 7 号 | 8 号 | 9 号 | |
| 酯类 (34 种) | | | | | | | |
| 1 | 乙酸乙酯 | 141-78-6 | 79514339 | 93183475 | 92011825 | 93209240 | 菠萝香味 |
| 2 | 丙酸乙酯 | 105-37-3 | 428219 | 987359 | 1006720 | 1358428 | 水果味 |
| 3 | 异丁酸乙酯 | 97-62-1 | 500162 | 165954 | 188546 | 223548 | 甜味, 橡胶味 |
| 4 | 乙酸丙酯 | 109-60-4 | 105106 | 156980 | 135429 | 137729 | 甜味, 芳香味 |
| 5 | 丁酸乙酯 | 105-54-4 | 8242315 | 12151558 | 10047317 | 9458587 | 苹果味 |
| 6 | 丙酸正丙酯 | 106-36-5 | 1626 | 30593 | 21907 | 20368 | 菠萝味 |
| 7 | 2- 甲基丁酸乙酯 | 7452-79-1 | 909666 | 362396 | 424106 | 517375 | 苹果味 |
| 8 | 异戊酸乙酯 | 108-64-5 | 710942 | 416124 | 491584 | 581954 | 水果味 |
| 9 | 乙酸异戊酯 | 123-92-2 | 2913766 | 5143972 | 5385981 | 5348763 | 香蕉味 |
| 10 | 戊酸乙酯 | 539-82-2 | 541885 | 419360 | 336643 | 419389 | 酵母味, 水果味 |
| 11 | 异己酸乙酯 | 25415-67-2 | 25229 | 19385 | 20952 | 23113 | 水果味 |
| 12 | 正己酸乙酯 | 123-66-0 | 5680362 | 37154875 | 35761040 | 34321316 | 苹果皮, 水果味 |

| | | | | | | | |
|----------|------------------|------------|----------|----------|----------|----------|----------------|
| 13 | 丁酸异戊酯 | 106-27-4 | 89987 | 73491 | 75543 | 80191 | 水果味 |
| 14 | 乙酸己酯 | 142-92-7 | 11744 | N.D. | N.D. | 37561 | 水果味, 草本味 |
| 15 | 庚酸乙酯 | 106-30-9 | 432067 | 46129808 | 43674927 | 41954042 | 水果味 |
| 16 | 乳酸乙酯 | 97-64-3 | 5599781 | 8950420 | 7787189 | 7579570 | 水果 |
| 17 | 辛酸乙酯 | 106-32-1 | 7901584 | 16430917 | 22327470 | 19732180 | 水果味, 脂肪味 |
| 18 | 己酸异戊酯 | 2198-61-0 | 14237 | 92248 | 106953 | 68665 | 脂肪酸, 果香味的 |
| 19 | 壬酸乙酯 | 123-29-5 | 680058 | 1042952 | 1332673 | 1250951 | 水果味, 玫瑰, 坚果味的 |
| 20 | DL-2-羟基-4-甲基戊酸乙酯 | 10348-47-7 | 805105 | 525470 | 538996 | 601155 | 清新, 黑莓气味 |
| 21 | 丙二酸二乙酯 | 105-53-3 | 5321 | N.D. | N.D. | N.D. | 苹果味 |
| 22 | 癸酸乙酯 | 110-38-3 | 2643884 | 3175293 | 3960143 | 3505741 | 葡萄 |
| 23 | 辛酸异戊酯 | 2035-99-6 | 51151 | 61247 | 76369 | 26627 | 果味, 橙子, 梨子, 甜瓜 |
| 24 | 苯甲酸乙酯 | 93-89-0 | 582208 | 215428 | 392483 | 307457 | 甘菊, 花, 芹菜, 水果味 |
| 25 | 丁二酸二乙酯 | 123-25-1 | 14374451 | 1148323 | 1166851 | 1505517 | 酒, 水果 |
| 26 | 苯乙酸乙酯 | 101-97-3 | 995023 | 220556 | 285772 | 307542 | 水果, 甜味 |
| 27 | 乙酸苯乙酯 | 103-45-7 | 302038 | 182466 | 183093 | 192658 | 玫瑰, 蜂蜜, 烟草 |
| 28 | 烟酸乙酯 | 614-18-6 | 41014 | N.D. | N.D. | N.D. | 茴香, 陈腐, 葡萄味 |
| 29 | 月桂酸乙酯 | 106-33-2 | 370533 | 270929 | 205726 | 207024 | 叶子 |
| 30 | 十四酸乙酯 | 124-06-1 | 132787 | 62726 | N.D. | N.D. | 酯味 |
| 31 | 棕榈酸乙酯 | 628-97-7 | 3901976 | 755497 | 308172 | 441729 | 蜡脂 |
| 32 | 十八酸乙酯 | 111-61-5 | 81461 | N.D. | N.D. | N.D. | 脂肪酸 |
| 33 | 己酸甲酯 | 106-70-7 | N.D. | N.D. | N.D. | 12069 | 水果味, 清新的, 甜味 |
| 34 | 己酸丙酯 | 626-77-7 | N.D. | 36832 | 39696 | 37561 | 水果味 |
| 醇类 (8 种) | | | | | | | |
| 1 | 仲丁醇 | 78-92-2 | 61545 | 59154 | 35850 | 30457 | 酒味 |
| 2 | 正丙醇 | 71-23-8 | 1249561 | 1182863 | 1246607 | 1224913 | 酒精味, 刺激气味 |
| 3 | 异丁醇 | 78-83-1 | 7570587 | 4226625 | 5693056 | 5726295 | 酒味, 溶剂味, 苦味 |
| 4 | 正丁醇 | 71-36-3 | 905669 | 315491 | 389467 | 401385 | 药味, 水果味 |
| 5 | 异戊醇 | 123-51-3 | 24871732 | 45343840 | 46635243 | 46645899 | 威士忌, 麦芽, 焦味 |
| 6 | 1-戊醇 | 71-41-0 | 65495 | 65019 | 42134 | 59558 | 香脂的 |
| 7 | 正己醇 | 111-27-3 | 212267 | 453397 | 704527 | 774257 | 树脂, 花, 绿植 |
| 8 | 苯乙醇 | 60-12-8 | 2425871 | 4965591 | 4699563 | 5182900 | 蜂蜜, 玫瑰, 丁香 |
| 酮类 (2 种) | | | | | | | |
| 1 | 2-戊酮 | 107-87-9 | 28437 | N.D. | N.D. | N.D. | 醚味, 水果味 |
| 2 | β -大马酮 | 23696-85-7 | N.D. | N.D. | 12465 | 7196 | 炖苹果, 蜂蜜的, 草莓 |

| 醛类 (2 种) | | | | | | | |
|-----------|----------------|------------|----------|----------|----------|----------|----------------|
| 1 | 糠醛 | 98-01-1 | 237765 | 145952 | 177564 | 212872 | 面包, 杏仁, 甜味 |
| 2 | 苯甲醛 | 100-52-7 | 2190196 | N.D. | N.D. | N.D. | 杏仁, 焦糖味 |
| 硫化物 (2 种) | | | | | | | |
| 1 | 二甲基二硫 | 624-92-0 | 155096 | 77689 | 65068 | 92487 | 洋葱味, 卷心菜味, 腐烂味 |
| 2 | 二甲基三硫 | 3658-80-8 | N.D. | 86858 | 107244 | 121038 | 硫磺味, 鱼腥味, 卷心菜味 |
| 萜类 (3 种) | | | | | | | |
| 1 | β -石竹烯 | 87-44-5 | 23505 | N.D. | N.D. | N.D. | 木头, 香料 |
| 2 | δ -3-萜烯 | 13466-78-9 | N.D. | 67963 | N.D. | N.D. | 柠檬味, 树脂味 |
| 3 | δ -萜品油烯 | 586-62-9 | N.D. | 63142 | N.D. | N.D. | 松木味, 塑料味 |
| 芳香烃 (1 种) | | | | | | | |
| 1 | 苯乙烯 | 100-42-5 | N.D. | 691679 | 628128 | 794009 | 香脂的, 汽油味 |
| 酸类 (1 种) | | | | | | | |
| 1 | 醋酸 | 64-19-7 | N.D. | 13467237 | 13474744 | 16490970 | 酸味 |
| 其他 (4 种) | | | | | | | |
| 1 | 1,1-二氧基乙烷 | 105-57-7 | 87704034 | 57333353 | 57942595 | 57365121 | 水果味, 奶油味 |
| 2 | 2-正戊基咪喃 | 3777-69-3 | 13904 | 126642 | 106589 | 134062 | 绿豆味, 黄油味 |
| 3 | 2,3,5-三甲基吡嗪 | 14667-55-1 | 37861 | 7789 | 9195 | 12494 | 焙烤, 土豆味, 霉味 |
| 4 | 抗氧化剂 264 | 128-37-0 | N.D. | N.D. | 42960 | 65228 | 霉味 |

注: N.D. 表示未检出

2.3 数据统计分析

2.3.1 PCA 分析

PCA 分析即主成分分析 (Principal Component Analysis) 是一种将大量数据进行降维处理的数学统计分析方法, 该方法将原来变量重新组合成一组新的互相无关的几个综合变量, 同时根据实际需要从中可以取出几个较少的综合变量尽可能多地反映原来变量的信息。以新变量中对样品间方差贡献最大的两个作为 x 轴与 y 轴, 在该坐标轴上标注各样品的位置就可得到能够直观反映样品间差异的 PCA 图。图 7 为 4 份清香型白酒样品的 PCA 图, 在 PCA 图上越近的样本相似度越高, 越远的样本区分度越大, 从图中可以看出 4 份清香型白酒检测组分差异较大。1 号与 7 号、8 号、9 号相比, 具有更高的独立性, 7 号、8 号和 9 号在 PC1 方向相似, 在 PC2 方向差异较大。

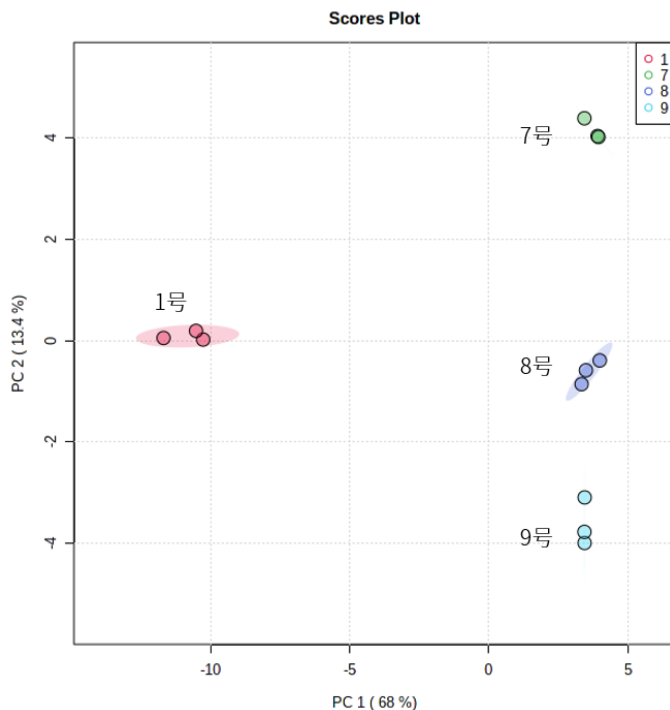


图7 4份清香型样品的PCA图

2.3.2 PLS-DA 统计分析

PLS-DA 分析法指的是偏最小二乘回归分析法，通过该统计方法可以找到对样品间差异起关键性作用的化合物。图8展示了对样品间差异贡献最大的10种化合物，图右侧的色块颜色越偏暖色调表示该化合物响应越高，越偏冷色调表示该化合物响应越低。

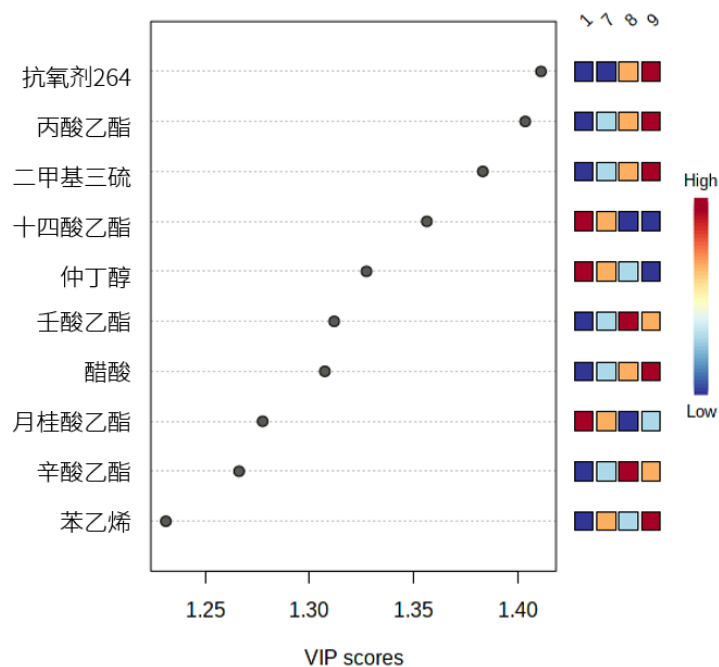


图8 对样品间差异贡献最大的前10种化合物

■ 结论

本文采用岛津三重四极杆气相色谱质谱联用仪 GCMS-TQ8050 NX，结合 AOC-6000 多功能自动进样器 SPME 进样模式和 Smart Aroma Database 香味数据库建立了 483 种气味成分的 MRM 分析方法。使用此方法检测了 4 份清香型白酒样品，共检出 57 种气味成分，其中共有组分 40 种。使用 PCA 分析得到了可以直观体现样品间差异的 PCA 图，使用 PLS-DA 统计分析得到了对样品间差异贡献最大的 10 种化合物。该方法操作简单，可以对清香型白酒中的气味成分进行筛查分析。

岛津应用云

