

GC-MS 指纹图谱结合化学计量学用于黄酒品种判别

张雪婧¹, 张长勇², 方志娟¹, 张玲¹, 丁洪流², 叶湖^{1*}

(1. 苏州市食品检验检测中心, 江苏苏州 215104; 2. 苏州市产品质量监督检验院, 江苏苏州 215104)

摘要 选择不同产地具有代表性的黄酒类型, 采用气相色谱质谱联用法 (GC-MS) 分析黄酒中的挥发性成分, 分析不同产地、不同酒型之间的差异, 构建指纹图谱。通过主成分分析法建立共有模式, 共筛选出 17 个共有峰, 利用欧式距离算法进行相似度分析, 显示 3 种不同类型的样品之间具有显著差异。再分别进行多元统计分析, 建立样品分类识别模型。最后, 通过聚类统计分析、神经网络分析, 验证了该模型可以很好地将不同种类、不同产地的黄酒进行区分。

关键词 指纹图谱; 化学计量学; 黄酒; GC-MS; 挥发性成分

中图分类号 TS262.4 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2022)10-0169-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2022.10.038



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Recognition of Chinese Rice Wine by GC-MS Fingerprint Combined with Chemometrics

ZHANG Xue-jing¹, ZHANG Chang-yong², FANG Zhi-juan¹ et al (1. Suzhou Food Inspection and Testing Center, Suzhou, Jiangsu 215104; 2. Suzhou Product Quality Supervision and Inspection Institute, Suzhou, Jiangsu 215104)

Abstract The representative rice wine types from different origins were selected, the volatile components in rice wine were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry, the differences between different origins and different wine types were analyzed, and the fingerprint was constructed. A common pattern was established by principal component analysis, and a total of 17 common peaks were screened out. Similarity analysis was carried out using the Euclidean distance algorithm, which showed that there were significant differences between the three different types of samples. Then multivariate statistical analysis was carried out to establish sample classification and recognition model. Finally, through HCA-heatmap analysis and self-organizing map clustering, the model was proved to be able to distinguish different types of Chinese rice wine from different origins.

Key words Fingerprint; Chemometrics; Chinese rice wine; GC-MS; Volatile components

黄酒是我国历史上最古老的酒种, 源于中国, 且唯中国有之, 与啤酒、葡萄酒并称为世界三大古酒^[1]。黄酒在发酵过程中由酵母代谢生成有机酸^[2], 这些有机酸类物质经过长时间的发酵与醇类物质产生香气成分, 如己酸乙酯、乙酸乙酯、乳酸乙酯等^[3]。随着人们物质文化生活水平的日益提高, 消费者对黄酒的要求也不断提高, 黄酒的营养价值和口感, 尤其是形成黄酒风味的微量成分越来越受到消费者的普遍重视^[4]。感官品评虽方便快捷, 但其中不稳定的人为因素制约了这种方式的科学性。因此, 需要寻求更科学、客观、有效的品质评价方法^[5]。黄酒中成分的分析方法主要有气相色谱法、液相色谱法和气质联用法等^[6]。单一的分析方法往往针对个别指标, 不能整体反映黄酒的质量。因此, 利用气相色谱质谱仪快速分析黄酒中的各种香气成分, 建立相应的化学成分指纹图谱, 同时结合化学计量学和多元统计分析方法分析, 建立黄酒的品质评价体系尤为必要^[7]。

化学计量学是一门将计算机科学、数学和统计学的系统理论和研究方法与分析化学和现代仪器分析紧密结合的化学分支学科^[8-9]。多元统计分析方法有主成分分析法、聚类统计分析法、偏最小二乘-判别分析 (PLS-DA) 等^[10]。主成分分析法是一种有效的数据降维方法, 仅用部分主成分就能表达原有变量的重要信息^[11]。聚类统计分析是一组将研究对象分为相对同质的群组的统计分析技术, 以距离函数的

规律进行模式分类, 将相似的归为一类, 不相似的归为一类^[12]。PLS-DA 是对多元线性回归模型的拓展^[13], 是偏最小二乘回归的特殊形式, 其采用二值化的 Y 矩阵进行回归, 具有数据降维并提取特征信息的功能^[14]。如刘秀明等^[15]利用 PLS-DA 方法进行模式识别, 实现了对香精质量稳定性的控制。笔者采用气相色谱质谱联用法 (GC-MS) 分析黄酒中的挥发性成分, 构建指纹图谱; 再结合化学计量学和多元统计分析方法分析, 建立黄酒的品质评价体系, 为黄酒品质控制、评价体系建立提供了新思路。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试材。黄酒, 选取无锡地区具有代表性的黄酒厂家生产的不同类型 (清爽半干 A、清爽半甜、玛咖) 的黄酒各 30 批次、上海地区具有代表性的黄酒厂家生产的清爽半干型黄酒 15 批次 (清爽半干 B), 样品存放于 4 °C 冰箱中。

1.1.2 试剂。乙酸乙酯、乳酸乙酯、β-苯乙醇、3-甲硫基丙醇标准物质, BePure。

1.1.3 仪器与设备。8890-5977B 气相色谱质谱联用仪, 安捷伦科技有限公司; 7890-7697A 气相色谱仪, 安捷伦科技有限公司; Elix-Aduatage 超纯水仪, 美国密理博公司; ME204E 电子天平, 梅特勒-托利多公司。

1.2 试验方法

1.2.1 样品预处理。取各黄酒样品 10 mL, 4 °C, 4 000 r/min 离心 15 min, 处理好的样品装入进样小瓶待用。

1.2.2 黄酒中挥发性物质测定。采用气相色谱法测定黄酒中挥发性物质。色谱条件: 色谱柱为 CP-Sil 5 CB 毛细管柱

基金项目 江苏省市场监督管理局科技计划项目 (KJ196038)。

作者简介 张雪婧 (1990—), 女, 江苏淮安人, 工程师, 硕士, 从事食品科学与工程研究。* 通信作者, 高级工程师, 从事食品安全与质量控制研究。

收稿日期 2021-12-01

(30 m×0.53 mm×1.50 μm);柱温升温程序:50 ℃ 保持5 min, 20 ℃/min 升至200 ℃,保持10 min;进样口温度200 ℃,进样量1 μL;分流比为1:10;检测器为FID,温度250 ℃;载气为高纯N₂,3.0 mL/min(恒流),尾吹27 mL/min;氢气30 mL/min,空气300 mL/min。

1.2.3 气相色谱-质谱测定。

1.2.3.1 色谱条件。色谱柱为VF-WAX(30 m×0.25 mm×0.25 μm);流速1.0 mL/min;柱温升温程序:50 ℃ 保持2 min, 20 ℃/min升至220 ℃,保持1 min,5 ℃/min 升至280 ℃,保持5 min;进样口温度250 ℃;色谱-质谱接口温度280 ℃;离子源温度230 ℃;分流比为5:1。

1.2.3.2 质谱条件。溶剂延迟6 min,电离方式为EI;电离能量70 eV,离子源温度230 ℃,质量扫描范围30~500 amu。

1.3 数据处理 数据处理采用ChemPattern软件[科迈恩(北京)科技有限公司]。

2 结果与分析

2.1 黄酒中挥发性物质测定 从选取的具有代表性的清爽半干型、清爽半甜型、玛咖型样品中挥发性物质含量(表1)可以看出,清爽半干型黄酒和清爽半甜型黄酒乙酸乙酯、乳酸乙酯、3-甲硫基丙醇的含量较为接近,而清爽半甜型黄酒中苯乙醇含量高于清爽半干型黄酒。玛咖型黄酒中乙酸乙酯含量在3种类型黄酒中最高,为85.42 mg/L,乳酸乙酯含量最低,为94.61 mg/L。由此可见,清爽半干型黄酒和清爽半甜型黄酒几种物质含量比较接近,玛咖型黄酒与其他两类型黄酒差异较大。

表1 3种黄酒中的挥发物质

Table 1 Volatile substances in three rice wines

样品 Sample	乙酸乙酯 Ethyl acetate	苯乙醇 Phenylethanol	乳酸乙酯 Ethyl lactate	3-甲硫基丙醇 3-Methylthiopropanol
清爽半干型 Refreshing semi-dry type	29.71±0.81	97.08±10.23	141.30±15.08	14.63±1.12
玛咖型 Maca type	85.42±5.58	133.80±8.06	94.61±7.86	22.40±0.84
清爽半甜型 Refreshing semi-sweet type	31.53±1.45	123.20±11.60	147.60±12.34	16.72±0.46

2.2 主成分分析 该研究选择清爽半干型A、清爽半甜型、玛咖型样品为训练样本,清爽半干型B作为测试集,对GC-MS色谱图进行去背景、积分等处理,分析色谱峰的共有性和保留时间的一致性。同时,基于最小二乘原则,利用主成分分析法,从保留和概括原始指纹图谱信息的角度出发,生成对照指纹图谱,确定共有峰,共有峰图谱如图1所示。结果显示,3种不同类型的黄酒生成共有峰17个,其中共有峰1、2、3、4、7、8、11、15特征性较强,分别为乙酸、糠醛、2,3-丁二醇、5-甲基-2-糠醛、苯乙醛、苯乙醇、丙三醇、5-羟甲基糠醛。

2.3 聚类统计分析 图2为清爽半干型A、清爽半干型B(测试集)、清爽半甜型、玛咖型4组黄酒的聚类统计分析热

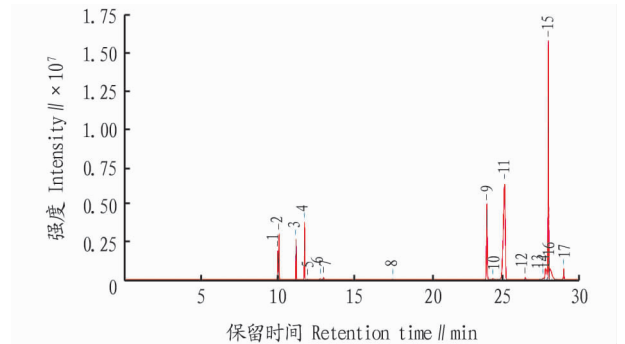


图1 3种黄酒的共有模式建立

Fig.1 Common pattern of 3 types of rice wine

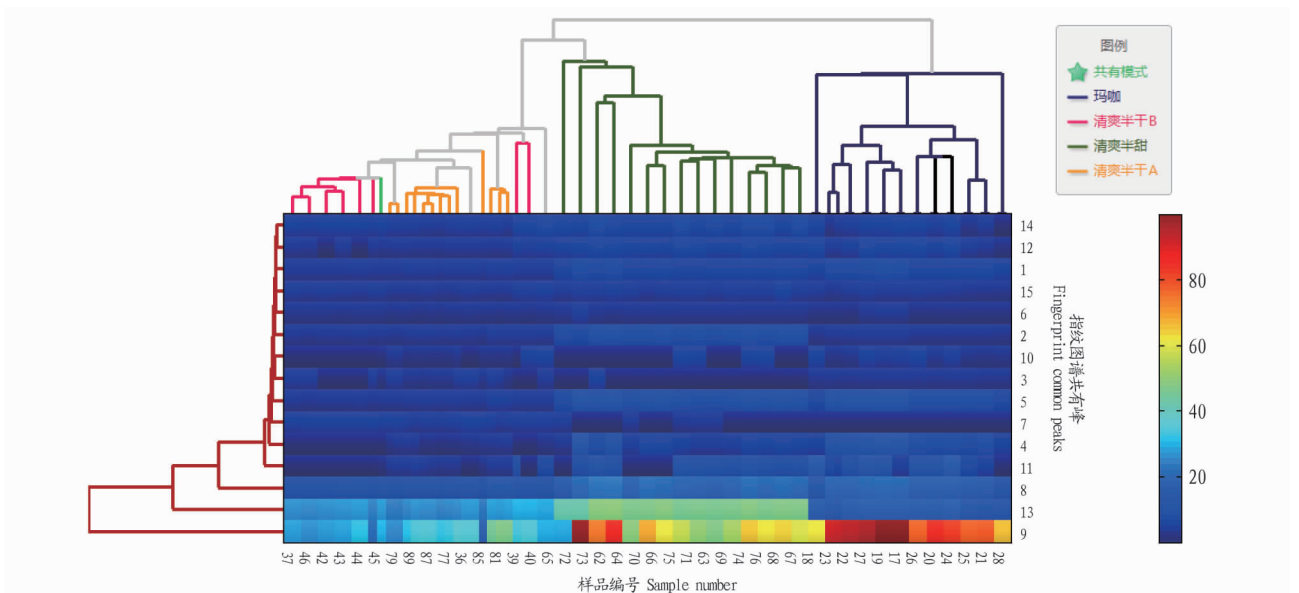


图2 3种黄酒聚类统计分析热图

Fig.2 Heat map of clustering statistical analysis of three kinds of rice wine

图。它按照不同对象之间的差异,利用欧式距离函数进行模式分类,将相似的归为一类,不相似的归为一类。热图的颜色代表归一化法下各个峰所占的面积百分比。从图 2 可以看出,8、13、9 号峰在 3 种类型黄酒中区别较大,是区别 3 种类型黄酒的强特征峰。上述结果显示 3 种不同类型的黄酒被分开,清爽半干型 A 和 B 被归为一类,清爽半甜型和清爽半干型由于生产工艺比较相似,归为相似度更近的一类。而玛咖型,由于与其他两类酒差别较大,被很好地区分开。该分析方法为黄酒类型的鉴别提供了依据,可直观地观察每个样品中的共有峰在样本和自变量 2 个维度中所形成的聚类

模式,以及其对聚类结果的影响,同时能够清楚地反映出样本或变量的亲疏关系。

以清爽半干型 A、清爽半甜型、玛咖型样品为训练集,建立共有模式,进行主成分分析和人工神经网络分析,分析结果如图 3 所示。尽管 28 号、68 号、55 号样品偏离较大,但从图中可以看出,清爽半干型 A、清爽半甜型、玛咖型 3 组样品被很好地分开,而清爽半干型 B 作为测试集,也与清爽半干型 A 分为一类。说明所建立模型结果可靠,能够很好地对这 3 种类型的黄酒进行区分。

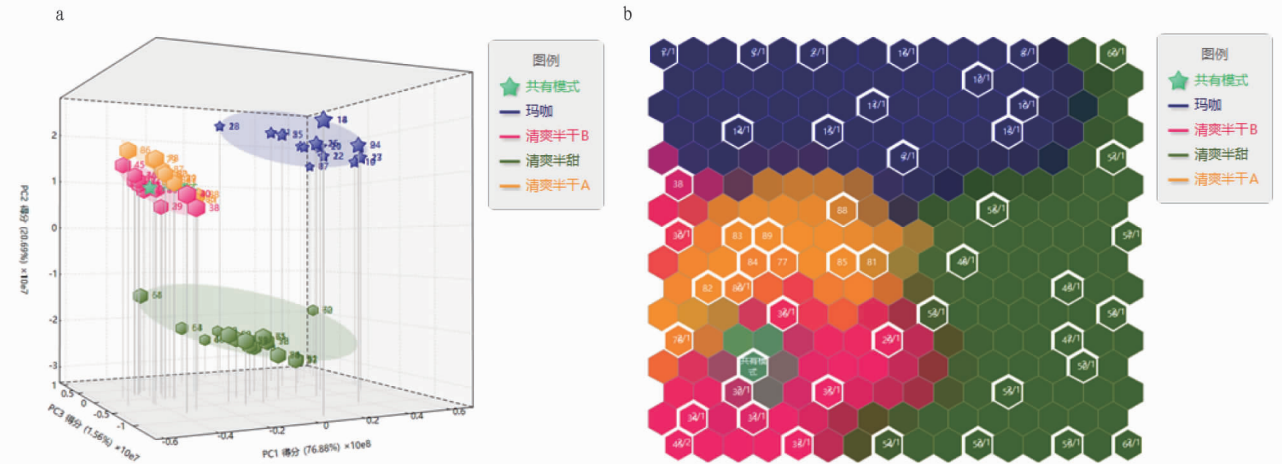


图 3 主成分分析 (a) 和自组映射人工神经网络分析 (b)

Fig.3 Principal component analysis (a) and self-organizing mapping artificial neural network analysis (b)

2.4 化学模式识别 将清爽半干 B 类作为测试集,采用 PLS-DA 算法进行模式识别,测试结果如表 2 和图 4 所示。从表 2 和图 4 可以看出,清爽半干型 B 类全部被识别,误差

率为 0,识别率达 100%。因此,所建立的模型能够提供一个稳定的评价标准,准确判定所选黄酒的类型。

3 结论

该试验采用气相色谱质谱联用法对不同类型(清爽半干型、清爽半甜型和玛咖型)的黄酒进行分析,研究其中的共性和差异。结果表明,3 种不同类型的黄酒生成共有峰 17 个,其中具有代表性的为乙酸、糠醛、2,3-丁二醇、5-甲基-2-糠醛、苯乙醛、苯乙醇、丙三醇、5-羟甲基糠醛。不同类型的黄酒其含量也有显著差异。主成分分析结果表明,3 种不同类型的黄酒可以很好地区分,自组映射人工神经网络结果也与此结果一致。以上海地区的清爽半干型黄酒为测试集,也显示预测分类结果正确率为 100%,证明了模型识别模式的可靠性。

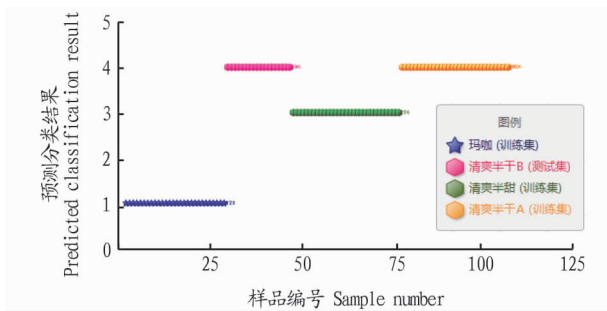


图 4 PLS-DA 模型分类预测效果

Fig.4 Classification and prediction effect of PLS-DA model

表 2 模式识别结果统计
Table 2 Statistics of pattern recognition results

样品 Sample	归属 Attribution	总样本 Total samples	训练集 Training set	验证集 Validation set	测试集 Test set	拒识 FRR // %	误识率 FAR // %
玛咖型 Maca type	训练集	30	20	10	0	0	0
清爽半干型 A Refreshing semi-dry type A	训练集	30	20	10	0	0	0
清爽半甜型 Refreshing semi-sweet type	训练集	30	20	10	0	0	0
清爽半干型 B Refreshing semi-dry type B	测试集	15	0	0	15	0	0
合计 Total		105	60	30	15	0	0

表7 20批样品主成分值及综合主成分值

Table 7 Principal component values and comprehensive principal component values of 20 batches of samples

产地 Production area	F1	F2	F3	F
S01	-0.14	-0.57	0.45	-0.16
S02	-2.00	-0.34	1.08	-0.82
S03	-0.53	-0.18	0.63	-0.19
S04	-1.15	-1.60	-0.49	-1.04
S05	3.11	2.57	-0.86	1.98
S06	-0.44	-0.16	0.15	-0.22
S07	0.46	-0.56	-0.25	0.01
S08	-1.02	0.60	1.27	-0.09
S09	-0.46	0.48	0.69	0.04
S10	-0.47	0.93	1.06	0.22
S11	1.79	0.09	-1.28	0.63
S12	1.10	1.24	-0.63	0.75
S13	-1.24	-0.36	0.29	-0.61
S14	-0.51	-1.21	-0.02	-0.58
S15	-0.61	0.25	-0.31	-0.24
S16	3.34	-0.44	-1.90	1.07
S17	0.51	-0.37	-0.11	0.10
S18	0.05	0.89	-0.12	0.26
S19	-1.26	-1.81	-0.98	-1.22
S20	-0.54	0.54	1.32	0.11

凉粉草多糖含量、特性黏度、质构通过验证发现其具有明显差异性^[21]。该试验选取凉粉草全草为试验材料,且不同产地、不同品种的多糖含量不一,与林丽华等^[21]的研究结果一致,可对多糖成分进行进一步研究。

通过主成分分析法对凉粉草咖啡酸、紫云英苷、迷迭香酸、总黄酮、总酚酸和总糖测定的结果进行分析,结果显示,在20份不同产地的样本中的含量均有较大差异,且黄酮类、酚酸类成分对凉粉草质量有较大贡献。依据主成分综合得分进行评价排名的方式,以广东平远上举镇、福建武平县下坝乡、福建长汀县种植的凉粉草质量较高,且上述地区在地理位置上接壤,可考虑在此地区对凉粉草种植进行推广。

对比前人^[22]对凉粉草中成分含量测定的结果,该研究同时对多种成分进行测定,采用主成分分析对6种成分含量进行分析,建立的分析方法更为全面直观,结果表明不同产地的凉粉草在化学物质成分上存在差异,提高凉粉草质量评价水平对提高凉粉草资源质量有重要意义。

(上接第171页)

参考文献

- [1] 赵培城,蔡际豪,顾赛麒,等.不同酒龄传统绍兴黄酒的特征风味物质分析[J].食品科学,2020,41(22):231-237.
- [2] 陈子凡,成莲,曾石峭.气相色谱-质谱法快速测定客家黄酒中的醇类物质[J].化学分析计量,2019,28(4):57-60.
- [3] 朱潘伟,周建弟,刘东红.不同年份成品黄酒对照GC-MS指纹图谱的建立[J].中国食品学报,2012,12(1):191-197.
- [4] CAI H Y, ZHANG Q, SHEN L Z, et al. Phenolic profile and antioxidant activity of Chinese rice wine fermented with different rice materials and starters[J]. LWT, 2019, 111: 226-234.
- [5] 罗涛,范文来,郭翔,等.顶空固相微萃取(HS-SPME)和气相色谱-质谱(GC-MS)联用分析黄酒中挥发性和半挥发性微量成分[J].酿酒科技,2007(6):121-124.
- [6] 陈成,殷子建,徐速.浅析黄酒的历史及营养价值[J].酿酒,2002,29(1):55-56.
- [7] YU H Y, XIE T, QIAN X H, et al. Characterization of the volatile profile of Chinese rice wine by comprehensive two-dimensional gas chromatography

参考文献

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会.中华本草[M].上海:上海科学技术出版社,1999:474.
- [2] 赵志国,石云平,黄宁珍,等.中国凉粉草属植物研究进展[J].南方农业学报,2011,42(6):657-660.
- [3] 何传波,邓婷,魏好程,等.仙草多糖对细胞氧化损伤的保护作用[J].食品科学,2020,41(13):160-168.
- [4] 王文洁.凉粉草多糖的凝胶特性、形成机理及其对四氯化碳诱导的小鼠急性肝损伤的保护作用[D].南昌:南昌大学,2019.
- [5] 魏星任.凉粉草质量控制及体外降脂作用初步研究[D].广州:广州中医药大学,2017.
- [6] 杨楠,贾晓斌,张振海,等.黄酮类化合物抗肿瘤活性及机制研究进展[J].中国中药杂志,2015,40(3):373-381.
- [7] 杨硕,徐元庆,邢媛媛,等.植物源黄酮类化合物对动物免疫和抗氧化功能影响的研究进展[J].动物营养学报,2019,31(7):2958-2964.
- [8] 李萌茹,周玉枝,杜冠华,等.中药黄酮类化合物抗衰老作用及其机制研究进展[J].药学报,2019,54(8):1382-1391.
- [9] 蓝晓雪,杨洁.黄酮类化合物降糖功能研究进展[J].安徽农业科学,2016,44(17):255-257.
- [10] 张瑞霞,谢敏.凉粉草中总黄酮的提取工艺研究[J].北方药学,2012,9(8):37-38.
- [11] 魏星任,宋晓娟,龙洁怡,等.仙草总黄酮提取纯化工艺优化及其抗氧化活性[J].中成药,2018,40(5):1185-1188.
- [12] 李丰阳.紫云英苷抗LPS诱发的小鼠乳腺炎作用及机制研究[D].长春:吉林大学,2014.
- [13] 韦智灵,林朝展,祝晨陈.南药“凉粉草”药材水溶性成分HPLC指纹图谱鉴别研究[J].中药新药与临床药理,2016,27(1):86-90.
- [14] KIM J H, WANG Q, LEE S, et al. Antioxidant activity and protective effect of caffeic acid against oxidative stress induced by amyloid beta and LPS in C6 glial cells[J]. Korean journal of pharmacognosy, 2015, 46(2): 109-115.
- [15] 冯涛,吴云奇.凉粉草总多酚的提取及其咖啡酸的检测[J].食品工业,2009,30(3):70-73.
- [16] 曹雯,张文娟,潘金凤,等.迷迭香酸药理作用的研究进展[J].广西中医药,2019,42(1):54-58.
- [17] DIVYA G, ARCHOO S, HUSSAIN S N, et al. Rosmarinic acid: A naturally occurring plant based agent prevents impaired mitochondrial dynamics and apoptosis in ultraviolet-B-irradiated human skin cells[J/OL]. Photochemistry and photobiology, 2021 [2021-06-28]. https://doi.org/10.1111/php.13533.
- [18] 李培源,卢汝梅,苏炜,等.萹蓄总黄酮含量测定及其抗氧化活性研究[J].时珍国医国药,2015,26(6):1303-1304.
- [19] 胡昭德,陈畅杨,李大祥,等.黑茶中多酚组分和多酚总量分析[J].蚕桑茶叶通讯,2011(2):26-28.
- [20] 林丽,王琰,王福星,等.基于硫酸-萹蓄法对不同产地藏药线叶龙胆多糖的含量测定[J].中国中药杂志,2014,39(14):2774-2776.
- [21] 林丽华,黄莉鑫,谢建华.凉粉草功能活性成分及其生物活性研究进展[J].食品工业科技,2016,37(20):356-359.
- [22] 李博,谢欢,钟国跃,等.仙草质量控制的研究进展[J].广州中医药大学学报,2016,33(5):755-758.

coupled to quadrupole mass spectrometry[J]. Journal of the science of food and agriculture, 2019, 99(12): 5444-5456.

- [8] 蒋程,丁静,孙云峰,等.基于偏最小二乘-判别分析算法的参麦注射剂不良反应关键影响因素分析[J].中国临床药理学杂志,2017,26(4):221-225.
- [9] 孙磊,张超,田润涛,等.色谱指纹图谱结合化学计量学用于3种乳香的鉴别和质量评价[J].中国药理学杂志,2015,50(2):140-146.
- [10] 刘秀明,李涛,李源栋,等.基于NIR分析和模式识别技术的葛根品种及产地判别[J].食品工业科技,2018,39(22):247-251.
- [11] 孙灵霞,陈锦屏,赵改名,等.化学计量学在食品分析中的应用研究进展[J].食品工业科技,2012,33(7):444-448,452.
- [12] 郑岩,汤茂莉,吴天祥,等.GC-MS法建立贵州茅台酒指纹图谱的研究[J].中国酿造,2008(9):74-76,91.
- [13] 沈飞.绍兴黄酒的陈酿特性与指纹图谱检测方法及其装置研究[D].杭州:浙江大学,2012:7-16.
- [14] 董颖娜.基于模式识别的料酒品质研究及其指纹图谱建立[D].杭州:浙江农林大学,2018:6-10.
- [15] 刘秀明,王艳芳,李超,等.GC-MS指纹图谱结合多元统计方法用于香精质量差异分析[J].中国测试,2018,44(6):42-47.