

电喷雾萃取电离质谱法用于掺假白酒的快速分析

欧阳永中^a 李操^{*,a} 周亚飞^a 周振^b

(^a 东华理工大学江西省质谱科学与仪器重点实验室 南昌 330013)

(^b 上海大学环境污染与健康研究所 上海 200444)

摘要 采用自行研制的电喷雾萃取电离源(EESI)与 LTQ-XL 质谱仪耦合,并结合主成分分析(PCA)和聚类分析(CA),建立了一种能在无需样品预处理的条件下直接、快速、准确鉴别茅台等八种掺假白酒(混掺水和工业酒精,且通过酒精计调控掺假酒的酒精度与真酒保持一致)的新方法。同时,利用串联质谱能够对目标组分进行准确鉴定。研究结果表明,EESI-LTQ-MS 检测单个样品的时间小于 1 min,且重现性好,PCA 区分正确率高达 96.5%。通过设置未知样分析进一步验证了该方法的可行性。此外,还结合单光子电离飞行时间质谱法(SPI-TOF-MS)对检测谱图进行对比分析。阐述了 EESI 和 SPI 两种电离技术在挥发性有机物分析上具有各自的优势,且两种检测手段具有互补的特点。为市场上酒类饮品真假的快速鉴别及品质鉴定建立了一个综合的分析方法,对于快速筛选伪劣酒类产品具有非常重要的应用价值。

关键词 电喷雾萃取电离; 质谱; 鉴别; 主成分分析; 聚类分析; 单光子电离; 掺假白酒

Rapid Analysis of Adulterated Chinese Liquor by Extractive Electrospray Ionization Mass Spectrometry

Ouyang, Yongzhong^a Li, Cao^{*,a} Zhou, Yafei^a Zhou, Zhen^b

(^a Jiangxi Key Laboratory for Mass Spectrometry and Instrumentation, East China Institute of Technology, Nanchang 330013)

(^b Institute of Environmental Pollution and Health, Shanghai University, Shanghai 200444)

Abstract A novel analytical platform based on a home-made extractive electrospray ionization (EESI) source coupled with LTQ-XL mass spectrometer has been developed for fast and accurate identification of eight different kinds of adulterated Chinese liquors such as Maotai. Alcohol concentration in each liquor sample was measured by an alcohol meter and was adjusted to the same value by adding water and industrial alcohol. Measurements were done in positive ion detection mode under optimized experimental conditions. The ESI voltage was set to +4 kV, the pressure of the sheath gas (N₂) was 1.2 MPa, the temperature of the heated capillary was set to 150 °C, and the primary ions were created by electrospraying methanol/water/acetic acid mixture (4 : 4 : 2, V : V : V) at 5 μL·min⁻¹. Normalized mass spectra of authentic and counterfeit liquors were differentiated by principal component analysis (PCA). Reproducibility of the method was characterized by cluster analysis (CA). Several constituents of liquor vapor were identified by tandem mass spectrometry (MS/MS). To perform MS/MS experiments, ions of interest were isolated with a mass-to-charge window width of 1.4 u. and then subjected to collision-induced dissociation (CID) with 16%~24% collision energy for 30 ms. The analysis time for a single sample was less than 1 min. The accuracy of identification predicted by PCA was 96.5%. The feasibility of this method was verified by testing several unknown samples. In addition to EESI-LTQ-MS, volatile compounds in Maotai vapor were also studied by single photon ionization time-of-flight mass spectrometry (SPI-TOF-MS), and molecular fingerprints obtained by these two methods were compared. These two detection means showed their respectively outstanding advantages and synergy for the analysis of volatile organic compounds (VOCs). The introduced method provides an important tool for the quality control of alcoholic beverages with high speed and simplicity of analysis on the market.

Keywords extractive electrospray ionization; mass spectrometry; identification; principal component analysis; cluster analysis; single photon ionization; adulterated Chinese liquor

1 引言

随着国内外消费者需求的变化和食品危害事件的

频繁发生, 食品安全^[1]已成为全世界广泛关注的热点问题之一。白酒在中国有着悠久的历史, 在当今人们

* E-mail: licao0823@126.com; Tel.: 0791-83896370; Fax: 0791-83896370

Received July 14, 2013; published October 2, 2013.

Supporting information for this article is available free of charge via the Internet at <http://sioc-journal.cn>.

Project supported by the National Science Fund for Distinguished Young Scholars (No. 21225522), Natural Science Foundation of China (No. 21265001), Jiangxi Science & Technology Pillar Program (No. 2010BNB00900, 20113BCB24024) and Nanchang Science & Technology Program of Jiangxi Province in 2012 (No. 2012-sys-003).

项目受国家杰出青年科学基金(No. 21225522)、国家自然科学基金(No. 21265001)、江西省科技支撑计划(No. 2010BNB00900, 20113BCB24024)和南昌市 2012 年科技计划项目(No. 2012-sys-003)资助。

的生活中占有重要地位. 而如今市面上销售的白酒中却不乏各种私自勾兑而成的假酒. 假酒的制造与销售不仅破坏了正常的市场秩序, 也严重损害了消费者的切身利益和身心健康. 因此, 建立一种可靠、快捷地区分掺假白酒的方法具有非常重要的意义.

传统的检测酒的分析方法, 主要包括傅里叶近红外光谱法(NIR)^[2]、紫外可见吸收光谱法(UV-VIS)^[3]、核磁共振光谱法(NMR)^[4]、气相色谱-质谱联用法(GC-MS)^[5,6]、高效液相色谱法(HPLC)^[7]、电子鼻法(E-NOSES)^[8]等. 虽然 NIR 等光谱法的仪器成本低, 操作简单, 但检测灵敏度有待提高. 色谱法已发展为应用较为广泛的常规分析方法, 其选择性好, 分离能力强, 但操作繁琐、耗时长, 很难避免对样品造成破坏, 不能满足实际样品快速检测的需要. 而电子鼻法能够满足现场检测的需要, 但对模式识别的依赖性比较强, 且缺乏准确性和定量检测的能力.

电喷雾萃取电离质谱法(EESI-LTQ-MS)是一种新型的常压环境电离质谱方法, 与其它技术不同, 在 EESI 中, 样品的主体与电场或带电粒子等隔离, 不受刺激性试剂如甲醇、乙酸等的污染, 而且是一种比电喷雾电离(ESI)更加温和的软电离技术^[9], 能够在质谱分析时最大限度地保证样品不受到试剂和操作条件的影响^[10]. 它的最大优点在于能在无需预处理的情况下对复杂基体样品进行直接质谱检测^[11]; 同时, 通过串联质谱能够准确获得待测物的结构信息; 具有分析速度快、基质耐受力强、无化学污染及灵敏度高特点^[12], 能进行原位活体分析和痕量分析. 目前 EESI-LTQ-MS 已广泛应用于液体、气溶胶、黏性样品等不同复杂形态样品的分析. 本文主要采用电喷雾萃取电离质谱法, 并结合主成分分析(PCA)和聚类分析(CA), 建立了一种能在无需样品预处理条件下快速、准确地鉴别白酒真假的新方法.

2 结果与讨论

2.1 EESI-LTQ-MS 电离源的优化

为满足实验的高稳定性要求, 本研究采用新型电喷雾萃取电离源自动进样系统^[13](图 1), 新型 EESI 离子源的特点是操作相对灵活, 在具体实验中可根据样品的形

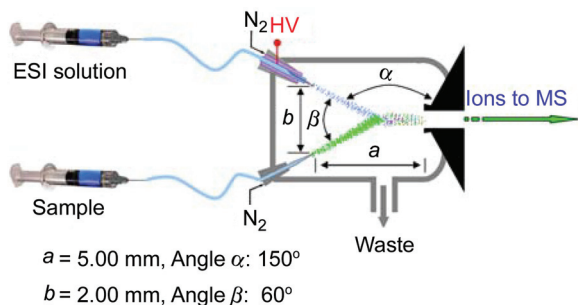


图 1 新型电喷雾萃取电离源自动进样装置示意图

Figure 1 Schematic diagram of EESI-LTQ-MS auto sampling device for wine analysis

态和待测物的性质等对 EESI 电离源的参数(电喷雾通道与质谱仪进样口的角度 α 、距离 a 以及电喷雾通道与样品通道间角度 β 、距离 b)进行调整, 以达到最佳检测效果. 离子源的上下表面均有管道, 分别排出无用的气体和液体; 在提供充分电离空间的前提下, 接口的材质对质谱信号没有明显影响. EESI 电离源的工作原理及参数优化设置详见文献^[11,12,14]. 本实验中, 样品溶液与萃取剂喷雾交汇处和质谱口保持在同一水平线上, 经过优化控制 a 为 5.00 mm , b 为 2.00 mm , α 为 150° , β 为 60° .

2.2 真假白酒的 EESI-LTQ-MS 一级扫描谱图及串联质谱分析

本文通过模拟市场上掺假白酒的常见方法^[15], 向真酒里混掺水和工业酒精(含乙醇浓度达 96%以上), 利用酒精计来调控掺假酒的酒精度与真酒保持一致. 在优化的实验条件下, 利用正离子检测模式获得茅台真假酒的 EESI-LTQ-MS 一级谱图如图 2 所示.

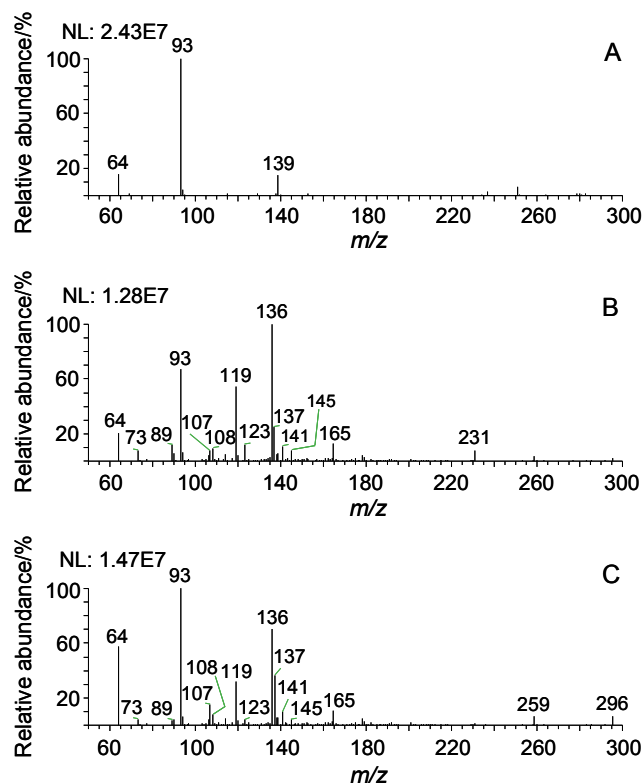


图 2 正离子模式空白样及茅台真假酒的 EESI-MS 一级谱图: (A) 空白样谱图; (B) 茅台谱图; (C) 茅台混掺水和工业酒精谱图

Figure 2 EESI-MS spectrum of blank sample and true and fake Chinese Maotai in positive ion detection mode: (A) The EESI-MS spectrum of pure ethanol used as a blank sample; (B) The EESI-MS spectrum of Maotai; (C) The EESI-MS spectrum of fake Maotai adulterated with water and industrial alcohol

正离子模式下, 图 2B 和图 2C 谱图上都存在明显的 m/z 93, 136, 119, 64, 107, 137 等离子峰, 说明茅台酒与掺假茅台的主要成分相同, 但相对强度不同. 掺假茅台在质荷比 m/z 89, 119, 136, 145, 231 处质谱信号强度较

茅台均有不同程度的降低, 而 m/z 64, 93, 107, 123, 137 相对强度增大(酒鬼酒等其它 4 种真假白酒的 EESI-MS 谱图中这些物质也有类似的变化规律, 谱图见支持信息图 S1~S4). 并且, 掺假茅台在 m/z 250~300 之间出现了一些质荷比相对强度较小的离子峰, 如 m/z 259, 296 等, 而茅台则相对干净. 白酒中所含的化学成分十分复杂, 主要包括醇、酯、醛(缩醛)、酮、有机酸等几类, 大多集中在 m/z 50~300 范围内^[16], 两者在此质荷比区间的差异显著, 可能是因为茅台在混掺水和工业酒精后, 部分香气成分如酯类等的浓度降低; 另外, 由于工业酒精中含有一些杂醇及其它杂质, 使得掺假茅台中的醇类物质和杂质的浓度升高所致.

在利用质谱技术定性复杂样品中的化合物时, 一般需要通过串联质谱来排除假阳性干扰^[17,18]. 由于本研究的主要目的是快速检测区分真假酒, 为了简化实验, 选择茅台酒谱图(图 2B)中丰度较高的几种特征物质如 m/z 64, 73, 89, 93, 107, 108, 119, 123, 136, 137, 141, 145, 165 和 231 等 14 种离子进行串联质谱鉴定. 图 3 为通过碰撞诱导解离实验(CID)得到的茅台中离子 m/z 93, 107, 119, 145 的二级质谱图(表 1 列出了茅台中 m/z 64 等 10 种离子的 EESI-MS/MS 谱图特征).

从一级质谱图(图 2)可以看出, 空白样(色谱纯乙醇)

及茅台真假酒的指纹谱图中均有明显的 m/z 93 离子峰, 而空白样里的主要物质是 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$, 因此可以推测离子 m/z 93 是质子化的乙醇团簇峰, 通过串联质谱技术可以进一步确认. 图 3A 为 m/z 93 的二级质谱图, 分析其丢失碎片结构可知, m/z 47 离子峰是母体离子 m/z 93 丢失 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ 基团所形成的, 表明 m/z 93 是质子化的乙醇团簇峰 $[\text{2CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{H}]^+$, 验证推测正确性.

图 3B 为 m/z 107 的二级质谱图, 其特征碎片离子 m/z 89, 45 则分别是由质子化的母体离子(m/z 107)经 CID 丢失 H_2O , $(\text{CH}_3)_2\text{S}$ 基团所形成的, 根据这些碎片离子特征, 可以推断 m/z 107 为质子化的 3-甲基硫基丙醇 $[\text{CH}_3\text{S}(\text{CH}_2)_3\text{OH} + \text{H}]^+$, 这与文献^[16]采用 GC/TOF-MS 检测结果一致.

m/z 119 离子的二级质谱图如图 3C 所示, 产生主要碎片离子 m/z 91, 为母体离子丢失中性碎片 C_2H_4 形成的, 可能与酯类物质丢失碎片规律一致^[19], 推测 m/z 119 为一酯类物质, 通过文献^[16]进一步确认了 m/z 119 为质子化的乳酸乙酯 $[\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COOCH}_2\text{CH}_3 + \text{H}]^+$. 图 3D 为 m/z 145 的二级质谱图, 同理, 根据其丢失碎片规律及文献^[16]可知, m/z 145 为质子化的己酸乙酯 $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{COOCH}_2\text{CH}_3 + \text{H}]^+$.

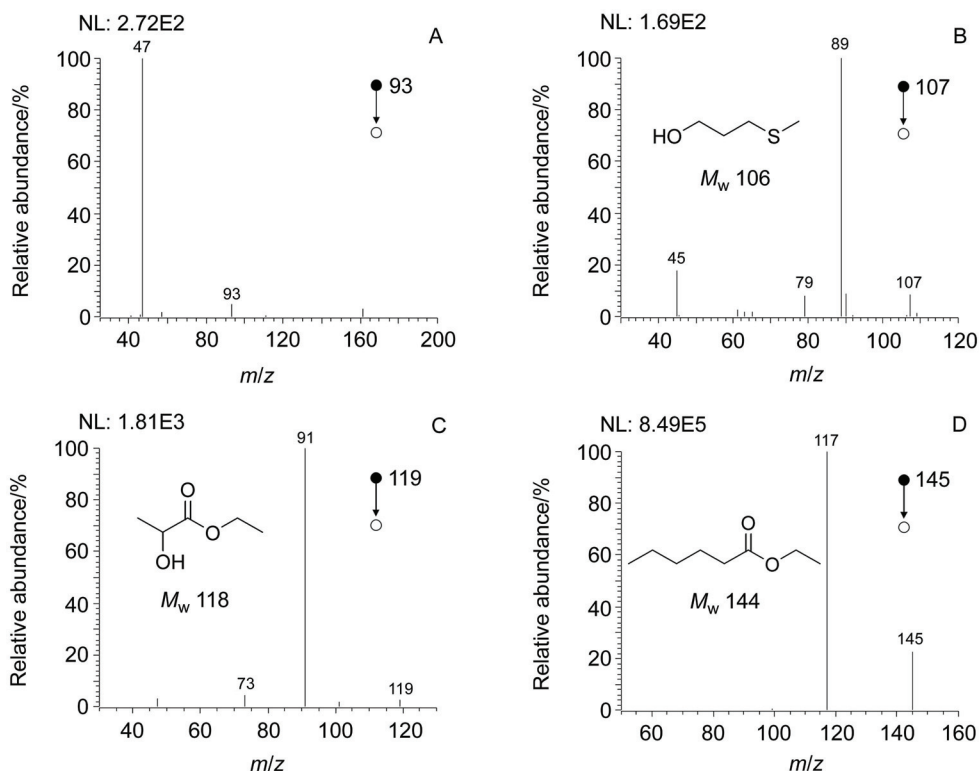


图 3 正离子模式茅台酒中四种特征离子的 EESI-MS 串联质谱图: (A) m/z 93 的二级谱图; (B) 3-甲基硫基丙醇的二级谱图(m/z 107); (C) 乳酸乙酯的二级谱图(m/z 119); (D) 己酸乙酯的二级谱图(m/z 145)

Figure 3 EESI tandem mass spectra of the four representative ions in Chinese Maotai samples in positive ion detection mode: (A) EESI-MS² spectra of m/z 93; (B) EESI-MS² spectra of 3-(Methylthio)propanol (m/z 107); (C) EESI-MS² spectra of ethyl lactate (m/z 119); (D) EESI-MS² spectra of ethyl caproate (m/z 145)

表 1 正离子模式茅台酒中 10 种物质的 EESI-MS/MS 谱图特征
Table 1 Summary of the EESI-MS/MS spectra for ten chemical components of Chinese Maotai in positive ion detection mode

<i>m/z</i>	Losses in MS/MS	Chemical identification
64	H ₂ O	[Ethanol+H ₂ O] ⁺
73	CO	[2-Butanone+H] ⁺
89	C ₂ H ₄	[Ethyl acetate+H] ⁺
108	NH ₃	[Pyridine, 2,3-dimethyl-+H] ⁺
123	H ₂ O	[Phenylethyl alcohol+H] ⁺
136	NH ₃	[Benzothiazole+H] ⁺
137	H ₂ O	[Benzenepropanol+H] ⁺
141	H ₂ O, CO	[2-Nonenal, (Z)-+H] ⁺
165	NH ₃	[Pyrazine, 3-butyl-2,5-dimethyl-+H] ⁺
231	C ₂ H ₄	[Suberic acid diethyl ester+H] ⁺

2.3 主成分分析(PCA)

主成分分析(PCA)是一种强有力的化学计量学方法,它能够将复杂数据降维,排除噪音和冗余,找到数据的最主要影响因素,目前在复杂样品的分析检测中已得到广泛地应用^[20,21].将质谱技术结合 PCA 能快速实现对不同香型掺假白酒地准确区分.为了更直观地揭示掺假白酒与真酒之间的差异和进一步论证实验结果的正确性,本研究通过 Matlab 软件将采集的大量质荷比在 *m/z* 50~500 范围内的 EESI-MS 一级质谱数据进行归一化处理,利用‘princomp’函数^[22]对每一类样品数据进行 PCA 分析,自动得到各个主成分的得分图及相应的载荷图.

图 4A 是正离子模式茅台真假酒的 EESI-MS 数据的三维 PCA 得分图,从图中可得出,PC1, PC2 和 PC3 对方差的贡献率分别为 79.8%, 6.7%和 2.7%,三者之和达到 89.2%,因而这 3 个主成分包含了被分析样品的绝大部分信息.同时,掺假茅台与茅台能够被明显地区分开.图 4B 是其相应的载荷图,记录了 3 个主成分贡献较大的质谱信号,分别是 *m/z* 93, 119, 107, 64 和 137 等,根据前文的串联质谱定性分析可知, *m/z* 64, 93, 107, 137 为醇类物质, *m/z* 119 是酯类物质,表明茅台酒在混掺水和工业酒精后,这些物质的含量发生了显著差异,另外,在 PC3 方向上贡献较大的物质还包括 *m/z* 296,对比图 2C 与图 2B 发现,图 2C 上能够明显检测到 *m/z* 296,可能是掺假茅台中引入一些杂质所致. PCA 分析结果与指纹谱图的数据特征一致,所得结论也与正离子模式得到的实验结果相吻合.

图 5 为酒鬼酒等 4 种不同香型掺假白酒(掺假方式与茅台相同)的 EESI-MS 数据的三维 PCA 得分图.从图中可以看出,这 4 种真假酒都能分别清晰地被区分开,说明 EESI-MS 已具备区分多种香型真假白酒的能力.其中,酒鬼酒、酒中酒霸、老白干、二锅头这 4 种真假

酒的 PCA 得分图上 3 个主成分对方差的总贡献率均达到了 93%以上,尤其是酒鬼酒和二锅头,其真假酒的 PCA 得分图的 3 个主成分总贡献率分别达到了 95.7%和 95.2%,表明 EESI-MS 在区分掺假白酒方面具有较强的优势.

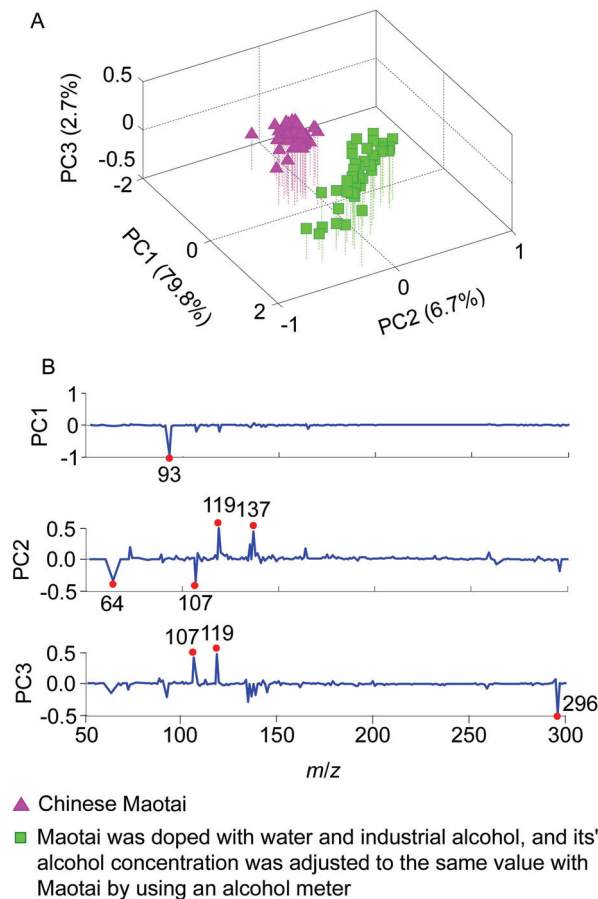
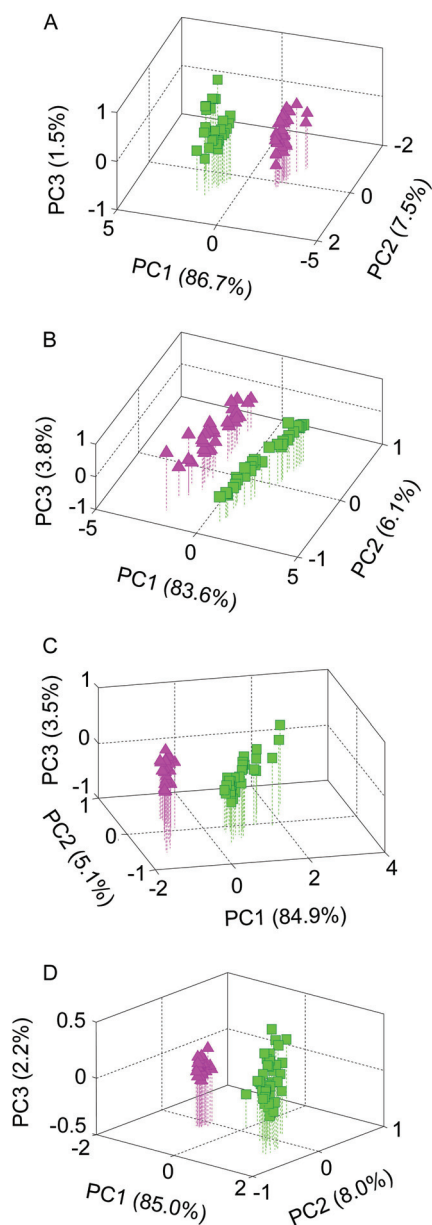


图 4 正离子模式茅台真假酒样品的 EESI-MS 数据 PCA 分析结果: (A) 茅台酒与掺假茅台的 PCA 三维得分图; (B) 3 个主成分上的 PCA 载荷图

Figure 4 PCA results of true and fake Chinese Maotai obtained from EESI-MS data in positive ion detection mode: (A) 3D plot of PCA score results for Maotai and fake Maotai; (B) PCA loading results for the PCs

以上分析数据讨论了不同香型掺假白酒的 PCA 区分效果,为了使实验数据更加充分,本文设计利用 PCA 来区分同一香型不同酒精度的真假酒.选取的样品为四特酒,酒精度分别为 45%, 50%和 52%,然后分别制备成掺假酒(掺假方式类同茅台),在正离子模式下,将质荷比在 *m/z* 50~500 范围内的 3 种不同酒精度的四特真假酒的 EESI-MS 数据导入 Matlab 软件中进行 PCA 分析,结果如图 6 所示.从图中可发现,3 种不同酒精度的四特真假酒也能分别明显地被鉴别.综合以上 PCA 分析结果表明: EESI-MS 不仅能区分不同香型的掺假白酒,对于同一香型不同酒精度的掺假白酒, EESI-MS 也都能很好的鉴别.

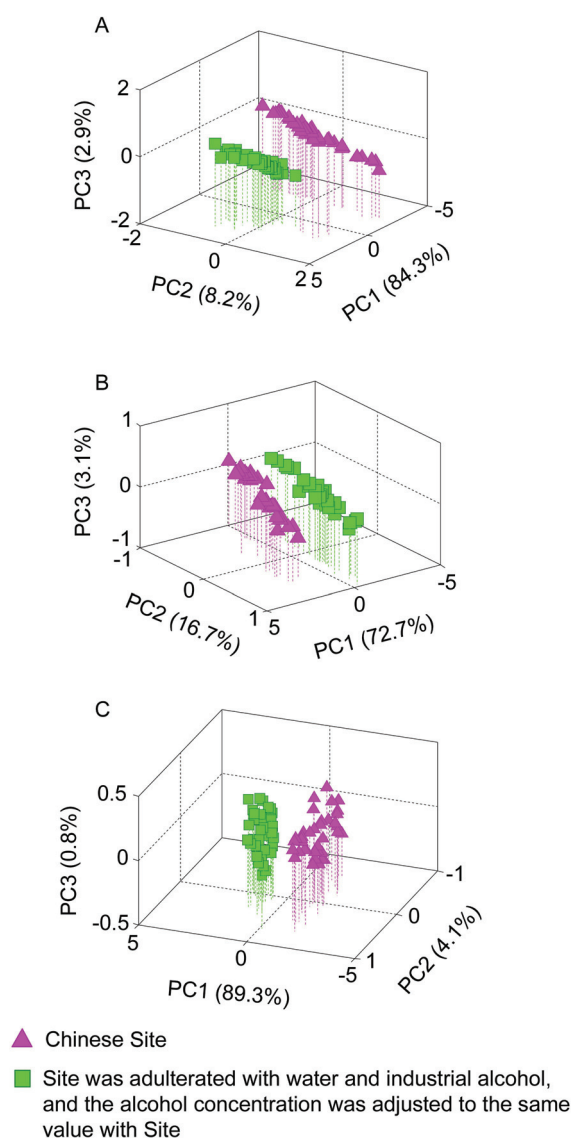


▲ Chinese liquor
■ Liquor was adulterated with water and industrial alcohol, and the alcohol concentration was adjusted to the same value with liquor

图5 正离子模式4种真假白酒的EESI-MS数据三维PCA得分图: (A) 真假酒鬼酒三维PCA得分图; (B) 真假酒中酒霸三维PCA得分图; (C) 真假老白干三维PCA得分图; (D) 真假二锅头三维PCA得分图

Figure 5 3D plot of PCA score results of EESI-MS' data for four types of true and fake Chinese white wine in positive ion detection mode: (A) 3D plot of PCA of true and fake Jiugui Liquor; (B) 3D plot of PCA of true and fake Wine liquor tyrants; (C) 3D plot of PCA of true and fake Laobaigan; (D) 3D plot of PCA of true and fake Erguotou

为了验证上述PCA分析结果的可靠性, 本实验设计一组未知样^[23], 分别由比例不定的茅台酒、掺假茅台1(混掺水和工业酒精, 且掺假酒的酒精度与真酒一致)、



▲ Chinese Site
■ Site was adulterated with water and industrial alcohol, and the alcohol concentration was adjusted to the same value with Site

图6 正离子模式3种不同酒精度四特真假酒的EESI-MS数据PCA分析结果: (A) 45度四特真假酒的PCA三维得分图; (B) 50度四特真假酒的PCA三维得分图; (C) 52度四特真假酒的PCA三维得分图

Figure 6 PCA results for three different kinds of alcohol content of true and fake Chinese Site obtained from EESI-MS data in positive ion detection mode: (A) 3D plot of PCA score results for 45 vol% Site and fake Site; (B) 3D plot of PCA score results for 50 vol% Site and fake Site; (C) 3D plot of PCA score results for 52 vol% Site and fake Site

掺假茅台2(混掺白糖和工业酒精, 且掺假酒的酒精度与真酒相同), 由他人随机抽选41个未知样本进行检测, 并将数据导入PCA模型分析, 正离子模式结果见图7. 样本的真实情况: 1~17, 茅台真酒; 18~26, 掺假茅台1; 27~41, 掺假茅台2. 实验的分析结果: 与样本的真实情况基本一致, 且PCA区分正确率高达96.5%, 说明此PCA模型能足够精确地区分掺假白酒. 与此同时, 从PCA得分图中能够清楚地看到, 掺假茅台2明显区别于茅台和掺假茅台1, 表明EESI-MS还能够区分不同掺假方式的白酒.

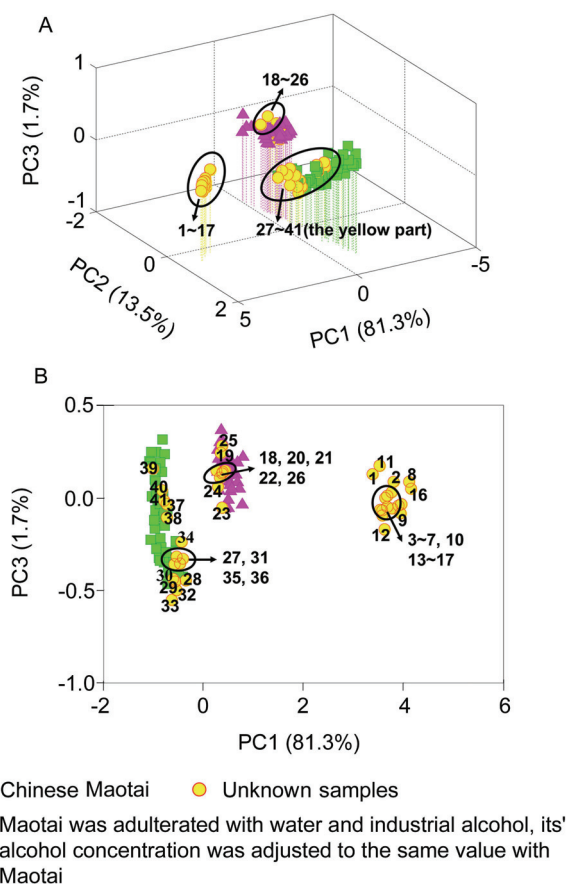


图7 正离子模式未知茅台样品(未知样本41个)的EESI-MS数据的PCA三维得分图(A)和PCA二维得分图(B)

Figure 7 PCA results of unknown Chinese Maotai samples obtained from EESI-MS data in positive ion detection mode: (A) 3D plot of PCA score results (41 unknown samples); (B) 2D plot of PCA score results

2.4 聚类分析(CA)

聚类分析(CA)^[24]是一种静态数据分析的统计学方法,它能够把相似的对象通过静态分类的方式分成不同的组别或者更多的子集,让在同一个子集中的成员对象都有相似的一些属性,目前已广泛应用于模式识别和图像分析等领域.实验将正离子模式茅台真假酒的EESI-MS数据(已进行PCA分析)导入Matlab软件的聚类分析程序中进行分析,结果如图8.茅台样本为40个,掺假茅台1(混掺水和工业酒精)样本为43个.分析结果显示,相对于茅台样本而言,掺假茅台之间距离差异较大,最大欧式距离达 1.0×10^7 ,说明掺假茅台之间差异更显著.从一级谱图和PCA结果可见,掺假茅台的醇类物质(杂醇)含量较茅台偏高,且杂质增多,可能导致样品混溶不均匀,使得掺假茅台表现出更大的个体差异,欧式距离加大.同时,从图中还可以得出,1~40号样本(茅台样品,左支)自聚成一类,41~83号样本(掺假茅台1样品,右支)聚成另一类,反映真假茅台能够明显被区分开,这与PCA的分析结果相印证.

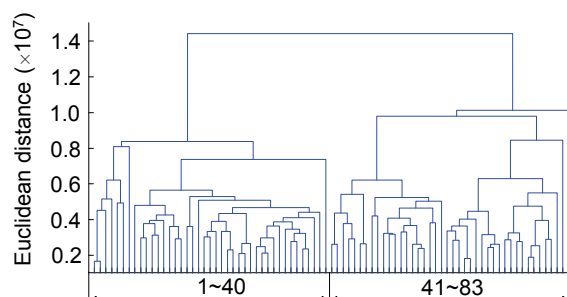


图8 正离子模式茅台真假酒样品的EESI-MS数据聚类分析结果
Figure 8 CA results of Chinese true and fake Maotai samples obtained from EESI-MS data in positive ion detection mode

2.5 EESI-LTQ-MS与SPI-TOF-MS检测谱图比较

本文还采用了单光子电离飞行时间质谱法(SPI-TOF-MS)^[25]来检测茅台酒,将SPI-TOF-MS与EESI-LTQ-MS检测谱图进行对比,来阐述这两种检测手段各自的优势,同时也为鉴别真假白酒建立一个综合的分析方法.

单光子电离(SPI)技术是一种基于真空紫外光阈值电离原理,将电离能低于光子能量(10.6 eV)的样品分子电离为分子离子的“软”电离技术,具有高分子离子峰,谱图简单等特点,易于实现挥发性有机化合物(VOCs)的原位实时在线监测^[26,27].本研究中,SPI-TOF-MS采用密封顶空手动进样方式.在 m/z 25~200范围内获得茅台的SPI-TOF-MS特征谱图(图9B),如图可知,谱图上的物质大多集中在 m/z 30~90的范围内,丰度较高的离子峰是 m/z 46, 45, 31, 49, 88, 61和43等, m/z 46, m/z 88分别对应的是自由基阳离子($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}^+$)、($\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3^+$),为乙醇和乙酸乙酯分别失去羟基、羰基上氧原子的电子而形成带正电荷的分子离子,且部分母体离子为分子离子的物质可直接定性,这证明了SPI这种“软”电离方式在挥发性有机物分析方面的优势. m/z 45, 31和 m/z 61, 43则分别是 m/z 46和 m/z 88丢失碎片所形成的结构,这些离子峰的解释在文献^[27]中已有详细的描述,本文将不再赘述.

图9A为正离子模式下茅台酒的EESI-LTQ-MS一级谱图.对比图9A与9B可知,图9A上检测到的物质比图9B明显要多,说明相比于SPI-TOF-MS,EESI-LTQ-MS能够检测到酒里面更多的物质,为PCA分析能提供充分的特征数据;且EESI-LTQ-MS具有强大的串联质谱定性能力,能对一未知物质通过CID进行定性,表明在定性检测上EESI-LTQ-MS具有一定的优势.与此同时,SPI-TOF-MS因其检测谱图简单,能为分析鉴别工作带来一些便利.因此,这两种检测手段相结合,能实现市场上掺假白酒的准确鉴别.

2.6 EESI-LTQ-MS分析速度与稳定性

分析速度是分析方法的主要性能参数之一.本文采用的EESI-LTQ-MS检测单个样品的时间小于1 min,能

够快速地进行质谱分析. 此外, 实验在优化的条件下, 总离子流信号稳定性高, 相对标准偏差(RSD)不大于 7.0% ($n=10$), 可重复性高.

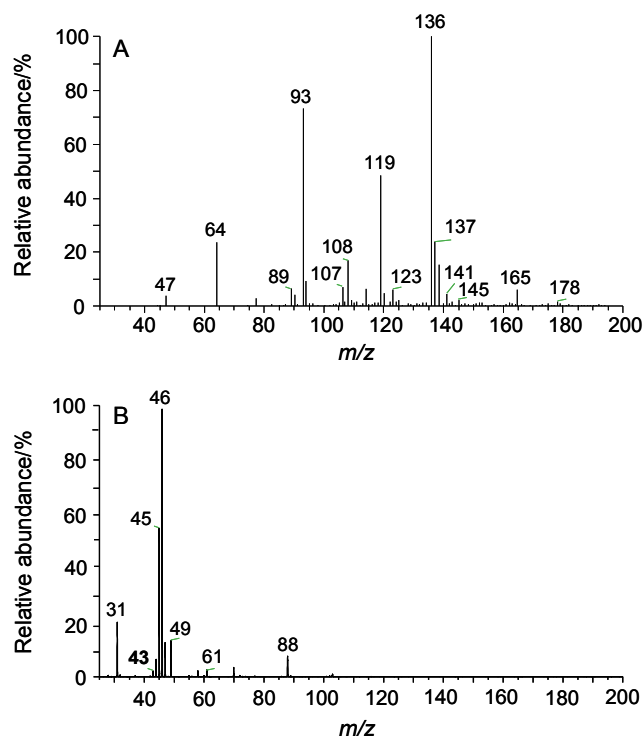


图 9 茅台酒的 EESI-LTQ-MS 和 SPI-TOF-MS 谱图比较: A. EESI-LTQ-MS 谱图; B. SPI-TOF-MS 谱图

Figure 9 The comparison of EESI-LTQ-MS spectrum with SPI-TOF-MS spectrum for Chinese Maotai: A. EESI-LTQ-MS spectrum; B. SPI-TOF-MS spectrum

3 结论

综上所述, 本研究建立了一种基于电喷雾萃取电离直接质谱技术并结合主成分分析及聚类分析快速鉴别掺假白酒的新方法. 同时, 还利用了单光子电离飞行时间质谱法对茅台酒检测谱图进行对比分析, 阐述了 EESI-LTQ-MS 与 SPI-TOF-MS 在检测掺假白酒上的优势互补. 本研究可作为一种全面的鉴别方法以应用于市场上真假酒的快速分析.

4 实验部分

4.1 仪器和试剂

LTQ-XL 线性离子阱质谱仪(美国 Finnigan 公司), 配有 Xcalibur 数据处理系统, EESI 电离源^[28-33](东华理工大学江西省质谱科学与仪器重点实验室自行研制); SPIMS-1000 在线挥发性气体质谱仪(广州禾信分析仪器有限公司); 物理光学酒精计折光仪 0~80%乙醇百分比浓度计折射仪(白酒专用)(杭州陆恒生物有限公司).

贵州茅台(53 vol%, 酱香型, 贵州茅台酒股份有限公司); 酒鬼酒(50 vol%, 馥郁香型, 酒鬼酒股份有限公司); 四特(45 vol%, 50 vol%, 52 vol%, 特香型, 江西樟

树四特有限责任公司); 酒中酒霸(45 vol%, 浓香型, 贵州酒中酒集团有限责任公司); 衡水老白干(42 vol%, 老白干香型, 河北衡水老白干酒业股份有限公司); 红星二锅头(56 vol%, 清香型, 北京红星股份有限公司); 甲醇(色谱纯, 美国 TEDIA 公司); 冰乙酸(色谱纯, 天津市福晨化学试剂厂); 无水乙醇(色谱纯, 天津市福晨化学试剂厂); 市售工业酒精; 市售白糖; 实验用水为二次蒸馏水.

4.2 实验方法

4.2.1 样品制备

根据实验需要, 在制备假酒时, 向真酒里混掺水和工业酒精(或混掺白糖和工业酒精)时, 通过酒精计来调控掺假酒的酒精度与真酒保持一致.

4.2.2 EESI-LTQ-MS 实验条件

设置 EESI-LTQ-MS 为正离子模式, 每种样品平行进样 10 次, MS 扫描范围为 m/z 50~500. 离子传输管温度 150 °C, 电离电压 4 kV, 鞘气为氮气(纯度 99.999%), 喷雾气压为 1.2 MPa, 萃取剂和样品溶液流速均为 5 $\mu\text{L}/\text{min}$. 萃取剂是甲醇:水:冰乙酸(4:4:2, $V:V:V$)^[19]. CID 实验时, 母离子的隔离宽度为 1.4 Da, 碰撞时间为 30 ms, 碰撞能量为 16%~24%, 其它参数由 LTQ-MS 自动优化. 以空白为背景, 所有质谱图均为扣除背景的结果.

4.2.3 SPI-TOF-MS 实验条件

SPI-TOF-MS 采用正离子检测模式, 设置电离室电压(IC) 17.30 V, 引出电极(G1) 14.20 V, 聚焦电极(G2) 10.38 V, 排斥电极(G3) 6.32 V. 平行进样 10 次. 实验温度 20 °C, 空气相对湿度 40%. 低真空度 6.65~13.30 Pa, 高真空度 1.091×10^{-3} Pa.

4.2.4 数据处理

将实验得到的质谱数据导入至 Excel 表中, 调用 Matlab 软件(7.0 版, 美国 Mathworks 公司)中的 'princomp' 函数进行 PCA 分析, 并将 3 个主成分方向上的得分及载荷结果通过 Matlab 软件以图形化的方式显示. 所有一级质谱数据在 PCA 和 CA 分析前均进行了归一化处理.

References

- [1] Domínguez, M. J. N.; Durán, D.; Chamorro, M. P. V.; Arroyo, R. M. *J. Int. Sci. Vigne. Vin.* **2010**, *44*, 179.
- [2] Shen, F.; Yang, D.; Ying, Y.; Li, B.; Zheng, Y.; Jiang, T. *Food Bioprocess Tech.* **2012**, *5*, 786.
- [3] Contreras, U.; Barbosa-García, O.; Pichardo-Molina, J.; Ramos-Ortiz, G.; Maldonado, J.; Meneses-Nava, M.; Ornelas-Soto, N.; López-de-Alba, P. *Food Res. Int.* **2010**, *43*, 2356.
- [4] Ali, K.; Maltese, F.; Toepfer, R.; Choi, Y. H.; Verpoorte, R. *J. Biomol. NMR* **2011**, *49*, 255.
- [5] Guadalupe, Z.; Martínez-Pinilla, O.; Garrido, Á.; Carrillo, J. D.; Ayestarán, B. *Food Chem.* **2012**, *131*, 367.
- [6] Toci, A. T.; Crupi, P.; Gambacorta, G.; Dipalmo, T.; Antonacci, D.; Coletta, A. *J. Mass Spectrom.* **2012**, *47*, 1104.
- [7] Arroyo-Manzanares, N.; García-Campaña, A. M.; Gámiz-Gracia, L.

- Anal. Bioanal. Chem.* **2011**, *401*, 2987.
- [8] Cynkar, W.; Damberg, R.; Smith, P.; Cozzolino, D. *Anal. Chim. Acta* **2010**, *660*, 227.
- [9] Chen, H. W.; Touboul, D.; Jecklin, M. C.; Zheng, J.; Luo, M. B.; Zenobi, R. *Eur. J. Mass Spectrom.* **2007**, *13*, 273.
- [10] Chen, H. W.; Hu, B.; Zhang, X. *Chin. J. Anal. Chem.* **2010**, *38*, 1069. (陈焕文, 胡斌, 张燮, 分析化学, **2010**, *38*, 1069.)
- [11] Li, X.; Hu, B.; Ding, J. H.; Chen, H. W. *Nat. Protoc.* **2011**, *6*, 1010.
- [12] Jia, B.; Zhang, X. L.; Ding, J. H.; Yang, S. P.; Chen, H. W. *Chin. Sci. Bull.* **2012**, *57*(20), 1918. (贾滨, 张兴磊, 丁健桦, 杨水平, 陈焕文, 科学通报, **2012**, *57*(20), 1918.)
- [13] Xu, N.; Zhu, Z. Q.; Yang, S. P.; Wang, J.; Gu, H. W.; Zhou, Z.; Chen, H. W. *Chin. J. Anal. Chem.* **2013**, *41*(4), 523. (许柠, 朱志强, 杨水平, 王姜, 顾海巍, 周振, 陈焕文, 分析化学, **2013**, *41*(4), 523.)
- [14] Gu, H. W.; Yang, S. P.; Li, J. Q.; Hu, B.; Chen, H. W.; Zhang, L. L.; Fei, Q. *Analyst* **2010**, *135*, 779.
- [15] Yang, P. R. *Liquor-making Science & Technology* **2003**, (4), 106. (杨佩荣, 酿酒科技, **2003**, (4), 106.)
- [16] Zhu, S. K.; Lu, X.; Ji, K. L.; Guo, K. L.; Li, Y. L.; Wu, C. Y.; Xu, G. W. *Anal. Chim. Acta* **2007**, *597*, 340.
- [17] Hu, B.; Chen, H. W.; Zhang, X.; Yang, S. P.; Feng, S. H. *Acta Chim. Sinica* **2009**, *67*(12), 1331. (胡斌, 陈焕文, 张燮, 杨水平, 冯守华, 化学学报, **2009**, *67*(12), 1331.)
- [18] Yang, D. W.; Fan, X. L.; Kind, T.; Fiehn, O.; Guo, R. B. *Acta Chim. Sinica* **2013**, *71*, 663. (杨大伟, 范晓蕾, Kind Tobias, Fiehn Oliver, 郭荣波, 化学学报, **2013**, *71*, 663.)
- [19] Zhu, L.; Hu, Z.; Gamez, G.; Law, W. S.; Chen, H. W.; Yang, S. P.; Chinglin, K.; Balabin, R. M.; Wang, R.; Zhang, T. T.; Zenobi, R. *Anal. Bioanal. Chem.* **2010**, *398*, 405.
- [20] Zhang, X. L.; Jia, B.; Huang, K. K.; Hu, B.; Chen, R.; Chen, H. W. *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 8060.
- [21] Jia, B.; Ouyang, Y. Z.; Sodhi, R. N.; Hu, B.; Zhang, T. T.; Li, J. Q.; Chen, H. W. *J. Mass Spectrom.* **2011**, *46*, 313.
- [22] Zhu, Z. Q.; Yan, J. P.; Wang, Y.; Chen, S. Z.; Chen, H. W. *Chin. J. Anal. Chem.* **2013**, *41*(6), 905. (朱志强, 闫建平, 汪雨, 陈瞬宗, 陈焕文, 分析化学, **2013**, *41*(6), 905.)
- [23] Luo, L. P.; Wang, J.; Zhang, W. J.; Dai, X. M.; Fang, X. W.; Zhang, X.; Liu, Y. L.; Chen, H. W. *Chin. J. Anal. Chem.* **2013**, *41*(7), 1050. (罗丽萍, 王姜, 章文军, 戴喜末, 方小伟, 张茜, 刘亚丽, 陈焕文, 分析化学, **2013**, *41*(7), 1050.)
- [24] Chen, H. W.; Liang, H. Z.; Ding, J. H.; Lai, J. H.; Huan, Y. F.; Qiao, X. L. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 10093.
- [25] Hua, L.; Wu, Q. H.; Hou, K. Y.; Cui, H. P.; Chen, P.; Wang, W. G.; Li, J. H.; Li, H. Y. *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 5309.
- [26] Geissler, R.; Saraji-Bozorgzad, M. R.; Gröger, T.; Fendt, A.; Streibel, T.; Sklorz, M.; Krooss, B. M.; Fuhrer, K.; Gonin, M.; Kaisersberger, E. *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 6038.
- [27] Li, C.; Zhou, Y. F.; Tan, G. B.; Liu, Y. L.; Gao, W.; Zhou, Z.; Chen, H. W.; Ouyang, Y. Z. *Chin. J. Anal. Chem.* **2013**, *41*(9), 1359. (李操, 周亚飞, 谭国斌, 刘亚丽, 高伟, 周振, 陈焕文, 欧阳永中, 分析化学, **2013**, *41*(9), 1359.)
- [28] Li, M.; Hu, B.; Li, J. Q.; Chen, R.; Zhang, X. L.; Chen, H. W. *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 7724.
- [29] Chen, H. W.; Wortmann, A.; Zhang, W. H.; Zenobi, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 580.
- [30] Gu, H. W.; Hu, B.; Li, J. Q.; Yang, S. P.; Han, J.; Chen, H. W. *Analyst* **2010**, *135*, 1259.
- [31] Chen, H. W.; Yang, S. P.; Li, M.; Hu, B.; Li, J. Q.; Wang, J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 3053.
- [32] Chen, H. W.; Venter, A.; Cooks, R. G. *Chem. Commun.* **2006**, *42*, 2042.
- [33] Chen, H. W.; Zenobi, R. *Nat. Protoc.* **2008**, *3*, 1467.

(Cheng, B.; Fan, Y.)