

作者

Catherine Stacey, Robert Seward, Ewa Pruszkowski
珀金埃尔默, 沃尔瑟姆马和圣何塞, CA

1 引言

通过电喷雾离子源质谱 (ESI-LCMS) 和等离子体质谱 (ICP-MS) 技术, 分析不同地理源区地的麦芽威士忌, 可以获得其中非挥发有机和无机成分的信息。

统计分析和可视化工具可清楚地辨别不同威士忌以及相关质谱与元素标记物的强度差异。不同威士忌中标记物与地理来源、蒸馏和酿熟过程极其相关。准确质量数和有机标记离子的同位素模式可用于获得参考元素方程, 这些与威士忌中的已知化合物相关。

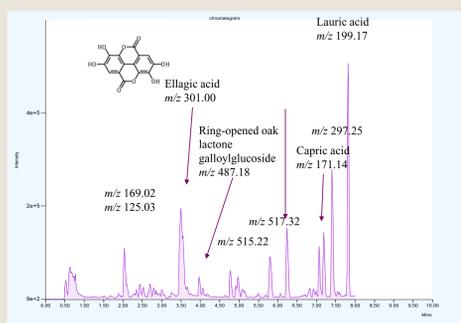
将LC / MS数据集处理后可降低全谱、时间信息和信号显著相关 (质量、时间、强度)。这些细节相关的所有数据集, 分析中允许质量数和保留时间轻微差异, 产生一个表含有所有 (质量、时间) 检测到数据集的详细信息和相应强度。而ICP-MS结果可从一个电子表格中直接导入。

统计模型允许添加过去的更多样品至样本组中, 从而进一步完善模型和建立更完整的不同威士忌的典型信息。通过与已知单一或混合麦芽威士忌中组分比较, 该模型可以扩展到检测掺假威士忌。

2 实验

购买商品化的苏格兰和加拿大威士忌样品, 室温下放置于塑料小瓶中被蒸发干燥后, 再溶解在水中。采用一个精确质量TOF (PerkinElmer AxION 2 TOF和Flexar 15 UHPLC系统) 的LC/MS在正和负模式下测定每件样品中的低浓度挥发性化合物。

在正模式下大多数化合物以 $[M+NH_4]^+$ 或 $[M+Na]^+$ 离子形式检测, 负模式检测 $[M+H]^-$ 离子。检测超过100种化合物, 并分配了基本方程。许多化合物是酚类物质, 来源于用于成熟威士忌的橡木桶和使用发酵原料的大麦。



负模式下分离例子

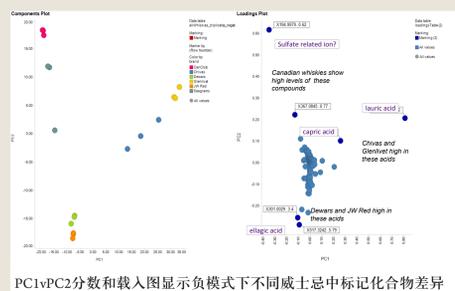
色谱条件-UHPLC柱 (PK1 Brownlee 2mm*10cm C18)。流动相A = 水 + 10mM 甲酸氨, B=乙腈, 梯度从100% A To 70% B, 10min, 0.4mL/min, 提取物注入5mL。

元素分析: 每个威士忌蒸发至干, 酸性溶液中重新溶解, 采用PerkinElmer NexION 300 ICP-MS在碰撞模式下分析三次。

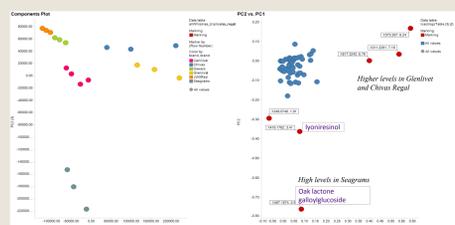
3 数据处理

每一批数据集均采用定制软件重新处理, 减少全谱和时间信息的复杂性。从每个数据集中所创建与所有数据相关的显著(质量数、时间、强度)细节, 允许分析中质量数和保留时间轻微差异, 产生一个表含有所有 (质量、时间) 检测到数据集的详细信息和相应强度作为数据集的一个列。将表格导入TibCo SpotFire 软件统计分析并区分样品和可视化的结果。

4 结果



PC1vPC2分数和载入图显示负模式下不同威士忌中标记化合物差异



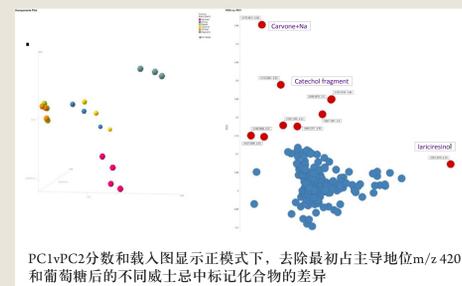
负模式下不同威士忌中高质量数的标记化合物的分数和载入图

主成分分析 (PCA) 结果分数图表明相同样本组之间有明显地差异。PCA载入图表明 (质量数与时间) 在不同组之间的标记物强度具有明显不同。利用PerkinElmer eCID软件将准确标记化合物的质量数产生基本公式, 并与相应的威士忌中已知化合物相比较。

在负离子模式下包括癸酸和月桂酸具有较大差异, 这些酸来源于大麦脂质和在威士忌蒸馏所用铜盆后的残留物 (1)。在苏格兰威士忌中检出了高浓度的上述物质。另外一种m/z 194.99的强标记物可区分加拿大威士忌, 通过质谱与同位素模式确认为硫酸盐簇离子, 可能涉及到合法添加的焦糖。质量数m/z 301.00 (C₁₄H₆O₈) 鞣花酸是大麦丹宁酸降解的最终产物, 同时也存在于柞木中, 在某些苏格兰威士忌中被检测出高浓度。

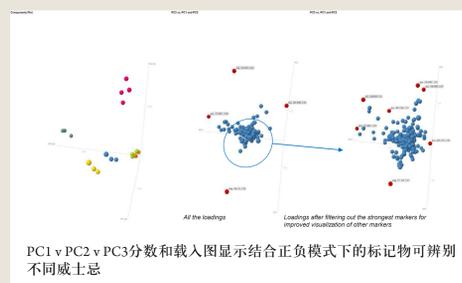
高质量数范围中存在一个标记物m/z 301.00, 在加拿大威士忌样品中信号很强, 已经被报道是开环顺式橡木内酯没食子酸葡萄糖苷(2)。m/z 517.32可能为三萜烯的标记物可用于从混合物种区分单一麦芽(3)。而在加拿大混合威士忌中, m/z 515.21豆糖 (coumaryl glycate) 标记物信号很强。

在正离子模式下m/z 420.33 (C₂₂H₄₄O₆) 强标记物和非保留的葡萄糖则为加合物和二聚体。其它明显标记物有m/z 249.10和m/z 110.06儿茶酚碎片离子, m/z 173.10香芹酮, m/z 209.09芥子醇, m/z 193.05东莨菪素和m/z 361.16落叶松树脂醇。



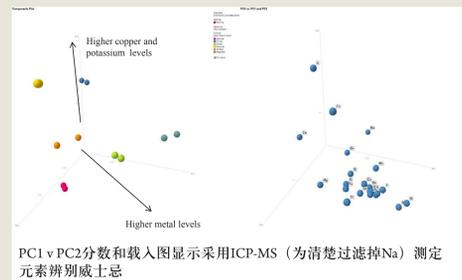
PC1vPC2分数和载入图显示正模式下, 去除最初占主导地位m/z 420和葡萄糖后的不同威士忌中标记化合物的差异

为生成一个威士忌样品中总的非挥发性标记物信息, 将正负模式中信息相结合于表格中。除Dewars和Johnnie Walker Red外, 其它所有威士忌样品组可完全区分开。

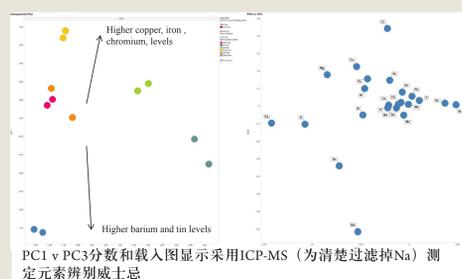


PC1 v PC2 v PC3分数和载入图显示结合正负模式下的标记物可辨别不同威士忌

ICP-MS分析每个样品中元素浓度的统计分析突出了无机标记物。由于浓度有较宽的动态范围, 采用每个浓度开方值同高浓度钠比较后的变化值, 而用于可视化区分。单一麦芽含有高浓度一些金属, 尤其是Cr和Cu, 同时苏格兰混合样品显示出高浓度的Ba和Sn。



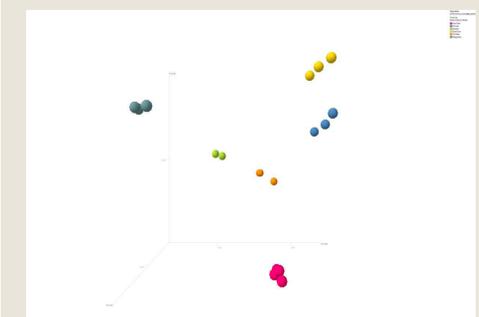
PC1 v PC2分数和载入图显示采用ICP-MS (为清楚过滤掉Na) 测定元素辨别威士忌



PC1 v PC3分数和载入图显示采用ICP-MS (为清楚过滤掉Na) 测定元素辨别威士忌

即使结合所有的正和负模式信息, Dewars和Johnnie Walker Red仍然集聚在一起。然而, 无机标记物可辨别出这两种混合样品。

把无机和有机标记物组合成一个完整统计分析需要扩展的不同特性, 正、负模式和ICP-MS结果信息统一形成强的组分。(由于强度变化, 在每种正负模式组中最大5个强度的平均值可供使用)



PC1 v PC2分数和载入图表明利用有机与无机标记物组合可完全区分不同的威士忌组

结合有机与无机标记物可以完全区分所有的威士忌组。

5 结论

使用PCA分析比较LC / MS数据集是一个众所周知的反馈模式和样品聚类的技术, 可用于发现导致差异的标记物。

为获得一个更加完整标记物特性的图片, 本工作组合了同一样品的不同分析方法结果。

从这些分析所获得的复杂信息中, 揭示了木材、酿熟过程和蒸馏方法差异。

这些统计方法可用于确定未知威士忌的地理来源, 和辨别掺假和欺骗性的样品。

6 总结

将非挥发性有机物的不同电离模式下信息组合, 并联合元素组成信息, 可提供一个有效区分不同威士忌的方法。

参考文献

- P. P. de Souza et al., "Brazilian cachaça: 'Single shot' typification of fresh alembic and industrial samples via Electrospray ionization mass spectrometry fingerprinting" Food Chemistry 115 (2009) 1064-1068
- Kevin MacNamara, Dagmara Dabrowska, Meike Baden, Norbert Helle, Advances in the Ageing Chemistry of Distilled Spirits Matured in Oak Barrels LCGC Europe Sep 1, 2011,
- Gilles Arramon, Cedric Saucier, Sophie Tijou and Yves Glories; LCGC Asia, Vol 7, Number 7, March 2004
- Helene Hopfer, Jenny Nelson, Thomas S. Collins and Susan E. Ebeler, ASMS 2013 poster WP-338 Elemental Non-targeted Profiling of 78 Whiskies Using ICP-MS and MPP
- Thomas Collins; Jerry Zweigenbaum; Susan E. Ebeler, ASMS 2013 oral Non-volatile Profiling of Whiskies Using UHPLC/QTOF-MS