

指纹图谱在酒的检测中的作用

庞立¹, 刘素纯¹, 夏波¹, 敖亚平²

(1. 湖南农业大学食品科技学院, 湖南 长沙 410128; 2. 湖南省桃源县质量技术监督局产品检验所, 湖南 桃源 415700)

摘要: 指纹图谱是一种近期发展迅速的实用检测技术, 在食品质量检测方面的应用逐步得到重视。综述了近年来已应用于酒类食品检测的各种指纹图谱技术的研究进展, 探讨了这几类指纹图谱技术的适用性和应用范围, 分析了在不同目的的检测中的价值。

关键词: 指纹图谱; 酒; 检测; 分析方法

中图分类号: TS262.3; TS261.7; O657

文献标识码: B

文章编号: 1001-9286(2009)08-0128-03

The Roles of Fingerprints in Wine Quality Testing

PANG Li¹, LIU Su-chun¹, XIA Bo¹ and AO Ya-ping²

(1. Institute of Food Science and Technology, Hu'nan Agricultural University, Changsha, Hu'nan 410128;

2. Taoyuan Quality & Techniques Supervision & Management Bureau, Taoyuan, Hu'nan 415700, China)

Abstract: As a rapidly-developed practical testing technique in recent period, fingerprints has gradually applied in food quality testing field. In this paper, the research progress in the use of various fingerprints technology in wine quality testing in recent years was reviewed, the applicability and the use range of various fingerprints technique was discussed, and their values for different testing purposes were analyzed.

Key words: fingerprints, wine, quality testing; analytic methods

指纹图谱是指经光谱或色谱测定得到的组分群体的特征图谱或图像。建立指纹图谱将能较为全面地反映酒中所含化学成分的种类与数量, 进而对其质量进行整体描述和评价^[1]。目前, 指纹图谱技术已涉及众多方法, 包括高效液相色谱法(HPLC)、气相色谱法(GC)和毛细管电泳法(CE)等色谱法以及紫外光谱法(UV)、红外光谱法(IR)、质谱法(MS)、核磁共振法(NMR)等光谱法。其中, 色谱方法为主流方法, 尤其是 HPLC 和 GC 已成为公认的获取指纹图谱的常规分析手段。

并不是所有的指纹图谱技术都可以应用到酒类的检测当中。尽管每种指纹图谱技术都具有出色的性能, 各自具有不同的特色, 但是在利用这些技术时, 必须根据目的以及适用性来合理进行选择。每种不同的目的都会有许多种不同的方法来实现, 所以针对不同的目的采用合适的方法, 可以起到事半功倍的效果。一般而言, 在针对不同类型的酒以及不同的目的时, 一些技术还必须经过相应的处理才能够获得高效、准确、快捷的优点。

本文综述了近年来与酒类检测有关的指纹图谱技术的研究进展和成果, 同时也分析了在运用这些技术时一些提高指纹图谱应用的策略。这样, 通过对准确度较低、灵敏度不高的技术进行调整, 也可以比相应的高效、高灵敏的技术表现出更优越的性能, 以及更加实用。在所有情

况下, 通过合理运用, 各项技术的效果是一致的, 谁更有优势取决于研究的目的和需求。

1 高效液相色谱技术

由于高效液相色谱技术具有分离效能高、选择性高、检测灵敏度高、分析速度快、应用范围广等特点; 中药成分绝大多数可在高效液相色谱仪上进行分析检测, 且积累较丰富的应用经验, 因此高效液相色谱法是获得指纹图谱技术的首选方法, 尤其是在中药质量控制方面, 多项研究都是采用的高效液相色谱技术^[2~5]。而在酒类的质量控制或者分析时, 高效液相色谱技术也是倍受研究者的青睐。

一般利用高效液相色谱技术获得酒类的指纹图谱快速简便, 样品前处理也很简单, 但是所得的指纹图谱并不能定性, 即无法有效地确定各个色谱峰的具体成分^[6]。在不需要确定每种成分、只需要确保一致性的质量控制、真伪辨别等能力上, 高效液相色谱分析具有相当的优势。魏新军^[7]等人采用高效液相色谱建立了保健酒的石油醚-乙醚提取物的指纹图谱, 实验采用反相 C₁₈ 柱, 紫外检测器。通过分析比较色谱指纹图谱中的相对保留值和相对面积, 建立了指纹图谱特征性分析方法, 比较了 10 个不同批次中国劲酒样品之间的产品质量差异。结果表明, 10

收稿日期: 2009-04-15

作者简介: 庞立(1980-), 女, 湖南省长沙市人, 本科, 在读硕士研究生, 专业: 营养与食品卫生学。

个样品之间具有 8 个共有峰,共有峰的相对面积大多数差别不大,且指纹图谱重叠率均大于 80 %。综合考虑,认为本次试验所分析的 10 个不同批次的产品质量比较稳定。

HPLC 指纹图谱广泛地应用到天然产物研究中,其优势是不需要定量测定产物或产品的各种化学成分,而只需要对产物或产品的化学成分的含量和组成(比例)利用色谱等现代分析方法反映出来,从宏观上进行分析来确定产物间的差异即可。指纹图谱技术的建立有可能解决产物复杂多变、质量不可控的难题^[8]。将指纹图谱方法引入酒类化学鉴定中,避免了使用昂贵的标准品,简化了葡萄酒的鉴定,方法易于推广,具有重要的意义。张军翔、冯长根^[9]等人采用高效液相色谱技术建立葡萄酒酒龄花青素指纹图谱,并以此区分鉴定不同酒龄(年份)的蛇龙珠葡萄酒,并根据资料对葡萄酒各色谱峰成分进行了初步的定性鉴定。结果表明,试验结果稳定,效果好;花青素 HPLC 指纹图谱可以区分不同酒龄葡萄酒,是区分鉴定葡萄酒酒龄可行的方法。

2 气相色谱技术

气相色谱法是俄国学者茨威特 1906 年首先提出的。其高灵敏度、高选择性、高效能的特点使其在检测分析方面具有相当的地位。在酒类检测当中,多见使用气相色谱获得白酒指纹图谱的研究。但是气相色谱同高效液相色谱相同,对于指纹图谱中的各个峰所代表的化学成分的分析较为复杂,需要利用内标法、外标法等手段逐一鉴定分析,费时费力。因此,该法也较适合进行酒类的质量控制、真假鉴别等目的,与高效液相色谱的区别在与分析的物质有所不同。

周围、周小平^[10]等人利用气相色谱技术分析获得了茅台、五粮液、剑南春等几类名酒的质量指纹图谱,可分析出的指纹图谱具有 32 个特征峰,每个峰代表一种可挥发性的香味化学成分,经初步分析,鉴定出了包括酯类、醇类、酸类、醛类(包括羰基类物质)等 4 大类物质,它们的含量和比例的变化对白酒的香型和风格具有决定性的影响,不同品牌的白酒都有各自的质量指纹图谱。

3 近红外光谱技术

近红外区域按照 ASTM 定义是指波长在 780~2526 nm 范围内的电磁波,是人们最早发现的非可见光区域。曾经蛰伏了很长一段时间的近红外光谱技术,在 20 世纪 80 年代后期得到了长足发展。随着计算机技术的迅速发展,带动了分析仪器的数字化和化学计量学的发展,通过化学计量学方法在解决光谱信息提取和背景干扰方面取得的良好效果,加之近红外光谱在测样技术

上所独有的特点,使人们认识了近红外光谱的价值,近红外光谱在各领域中的应用研究陆续展开。

与常规分析技术不同,近红外光谱是一种间接分析技术,必须通过建立校正模型(标定模型)来实现对未知样品的定性或定量分析。近红外光谱分析技术具有诸多优点,它能在几分钟内,仅通过对被测样品完成一次近红外光谱的采集测量,即可完成其多项性能指标的测定。光谱测量时不需要对分析样品进行前处理;分析过程中不消耗其他材料或破坏样品;分析重现性好、成本低。王莉等人^[11]应用近红外光谱建立茅台酒近红外光谱指纹图,建立主要成分的指纹数据并将分析数据应用化学计量软件进行处理建立茅台酒指纹图,对样品进行特征性判断。这一方法的开发为酒类鉴别真假的方法开创了新的思路。

4 DNA 指纹技术

1984 年英国莱斯特大学的遗传学家 Jefferys 及其合作者首次将分离的人源小卫星 DNA 用作基因探针,同人体核 DNA 的酶切片段杂交,获得了由多个位点上的等位基因组成的长度不等的杂交带图纹,这种图纹极少有完全相同的,故称为“DNA 指纹”。DNA 指纹具有高度的特异性、稳定的遗传性、体细胞稳定性等特点。

即使是同一个品种,随着生长的环境不同,其基因会发生微小的变异,可以通过一些具有高分辨率的技术或方法检测出来,所以利用从酒类产品中获得的 DNA 指纹图可以判断酿造酒所用的原料的原产地。

为了发展一种客观的、可靠的葡萄酒鉴别方法,John E.Bowers 和 Elizabeth B.Bandman 等人^[12]根据人类 DNA 指纹图谱鉴别技术的原理建立了葡萄酒的 DNA 指纹图谱鉴别方法,并比较了美国加利福尼亚州绝大多数的葡萄酒。他们提取了 43 个品种的 DNA,经 Hind III 或 Eco RV 消化,再利用从葡萄基因组 DNA 库中选择的 5 个低拷贝数 DNA 克隆体进行检测。通过图谱的比较发现,该方法能够精确有效地区别不同葡萄品种的葡萄酒。但是此方法对于内部品种变异(克隆体或者芽变体)的鉴别不敏感。

R. Herrera 等人^[13]通过 PAPD 技术和 ISSR-PCR 技术分别获得用于酿酒的 4 个葡萄品种的 DNA 指纹图。结果表明:尽管从分辨能力上说,ISSP 技术要高于 PAPD 技术,即 ISSP 的应用更加广泛一些,但是两种技术均能分析出本文所研究的几个品种的区别。研究发现 Merlot 葡萄品种、智利品种和法国的典型品种的 DNA 指纹图存在差别。两种方法高度相似的分析结果表明,法国 Merlot 品种和智利品种甚至不是近亲植物,这和以前的许多认识有较大差异。

5 仪器联用技术

酒是很复杂的物质,除了水、糖和酒精外,还有很多成分,包括无机物和有机物。所以,一个完全的分析是不可能的。任何的指纹鉴别技术都只能针对具有代表性的一类元素或有机物质,至少通过这些被选择的物质是能够识别源产地的^[14]。随着科技的发展,目前位列监测分析一线前沿的不再是应用单独一种仪器分析技术,而是两种甚至多种检测仪器串联起来一起使用,利用它们各自的优点使获得的检测结果更加精确^[15]。

郑岩、汤庆莉^[16]等人用气相色谱-质谱联用技术对 10 批酒样进行指纹图谱测定,采用指纹图谱计算软件进行计算,建立了贵州茅台酒的共有指纹图谱。结果表明,GC-MS 法所建立的 GC-MS 指纹图谱不仅具有多成分同时定性的优势,而且有很好的重现性、精密度和稳定性,能够有效地应用于白酒的质量控制及真伪辨别。利用联用技术,该研究能够快速简便的获得指纹图谱中的各个共有峰的具体化学物质信息,这是目前很多分析检测技术所没有的优势。利用这种优势进行酒类的成分分析和鉴定时是非常重要的。

Eva^[17]等采用顶空-固相微萃取结合气相色谱-质谱对 Muscat 葡萄中的香气成分进行了分析,认为芳樟醇、香叶醇、橙花醇是 Muscat 葡萄及其葡萄酒香气中含量最高的物质。Alves^[18]等采用固相萃取搅拌棒-固相微萃取-气相色谱-质谱技术对 Madeira 葡萄酒的挥发性物质进行了研究,认为癸酸乙酯、丁二酸二乙酯、辛酸乙酯、十二酸乙酯、壬酸乙酯、己酸乙酯、辛酸异戊酯等为其特征香气物质。Serkan^[19]等采用溶剂萃取法结合气相色谱-质谱对白葡萄酒的香气成分分析定性并定量了 72 种成分,其中乙酸异戊酯、苯乙酸乙酯、芳樟醇、香叶醇、苯乙醇、 β -大马酮、己酸乙酯、丁酸乙酯为主要挥发性成分。

6 展望

现代仪器分析的迅速发展为酒类的分析和鉴别提供了可靠的技术手段。指纹图谱的研究和利用也为酒类质量分析领域提供了快速准确的手段。但要完整地表达酒类的质量状况,指纹图谱的建立与识别技术确定仍需要做出大量的基础性工作和研究。科学地运用指纹图谱技术对酒类进行数据分析并积累产品数据,结合感官对数据进行分析,掌握酒类(包括原料)质量与市场反应结果的差异,建立产品的个性标准,对保持酒类质量稳定,并适时改进提升酒类质量具有很大的指导意义。

参考文献:

[1] Manuel Urbano Cuadrado, Gonzalo Cerruela Garca, Irene Luque Ruiz. A method for clustering and screening of long-dimensional chemical data based on fingerprints and similarity measurements [J]. Journal of Mathematical Chemistry, 2006,40(1):15-27.

[2] 程翼宇,陈闽军,吴永江.化学指纹图谱的相似性测度及其评价方法[J].北学学报,2002,60(11):2017-2021.

[3] 刘荣霞,周婷婷,董婷霞,等.建立评价当归质量的 HPLC 指纹图谱分析方法[J].中国药学杂志,2003,38(10):757-760.

[4] 黄朝瑜,赵陆华,梅玲华,等.淫羊藿药材 HPLC 指纹图谱的研究[J].中国天然药物,2003,1(3):146-149.

[5] 曾志,杨东晖,陶敬奇,等.高效液相色谱指纹图谱在中药芦根上的应用[J].分析化学,2004,32(8):1035-1038.

[6] Eva Garcia-Beneytez, Eugenio Revilla, Felix Cabello. Anthocyanin pattern of several red grape cultivars and wines made from them[J]. Eur Food Res Technol, 2002, 215: 32-37.

[7] 魏新军,张浩.保健酒的 HPLC 指纹图谱研究[A].食品安全监督与法制建设国际研讨会暨第二届中国食品研究生论坛论文集(上)[C].2005.

[8] Eugenio Revilla, Jorge F. Lepez. Anthocyanin pattern of Tempranillo wines during ageing in oak barrels and storage in stainless-steel tanks[J]. Eur Food Res Technol, 2005, 220: 592-596.

[9] 张军翔,冯长根,李华.蛇龙珠葡萄酒酒龄花青素高效液相色谱(HPLC)指纹图谱研究[J].中国农业科学,2006,39(7):1451-1456.

[10] 周围,周小平,赵国宏,等.名优白酒质量指纹专家鉴别系统[J].分析化学,2004,32(6):735-740.

[11] 王莉,汪地强,汪华.近红外透射光谱法和气相色谱法结合建立茅台酒指纹模型[J].酿酒,2005,32(4):18-19.

[12] John E. Bowers, Elizabeth B. Bandman, Carole P. Meredith. DNA Fingerprint characterization of some wine grape cultivars[J]. American Journal of Enology and Viticulture, 1993, 44(3): 266-274.

[13] R. Herrera, V. Cares, M. J. Wilkinson. Characterisation of genetic variation between Vitis vinifera cultivars from central Chile using RAPD and inter simple sequence repeat markers [J]. Euphytica, 2002, 124: 139-145.

[14] N. Jakubowski, R. Brandt, D. Stuewer, et al. Analysis of wines by ICP-MS: Is the pattern of the rare earth elements a reliable fingerprint for the provenance[J]. Fresenius J Anal Chem, 1999, 364: 424-428.

[15] Gunther Stecher, Christian W. Huck, Michael Popp. Determination of flavonoids and stilbenes in red wine and related biological products by HPLC and HPLC-ESI-MS-MS[J]. Fresenius J Anal Chem, 2001, 371: 73-80.

[16] 郑岩,汤庆莉,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

[17] Eva S P, Consuelo D M, Soledad P C. Rapid determination of volatile compounds in grapes by HS-SPME coupled with GC-MS[J]. Talanta, 2005, 66(5): 1152-1157.

[18] Alves R F, Nascimento A M D, Nogueira J M F. Characterization of the aroma profile of Madeira wine by sorptive extraction techniques [J]. Analytica Chimica Acta, 2005, 546(1): 11-21.

[19] Serkan S, Ahmet C, Turgut C, et al. Aroma components of cv. Muscat of Bornova wines and influence of skin contact treatment [J]. Food Chemistry, 2006, 94(3): 319-326.