

# 应用X500R QTOF系统基于代谢组学进行黄酒的酒龄鉴别

## Application of SCIEX X500R QTOF in Chinese Rice Wine Metabolomics

陈慧敏<sup>1</sup>, 胡建刚<sup>2</sup>, 郇宇<sup>1</sup>, 杨总<sup>1</sup>, 刘冰洁<sup>1</sup>, 郭立海<sup>1</sup>

Chen Huimin<sup>1</sup>, Hu Jiangang<sup>2</sup>, Huan Yu<sup>1</sup>, Yang Zong<sup>1</sup>, Liu Bingjie<sup>1</sup>, Guo Lihai<sup>1</sup>

<sup>1</sup> SCIEX, China

<sup>2</sup> Shaoxing Food And Drug Administration, China

**Keywords:** Metabolomics; Chinese rice wine; X500R

### 引言

黄酒在陈酿老化过程中, 酒体中各种成分相互作用发生大量的化学变化和物理变化, 改善了酒体的口感和稳定性, 因而黄酒的陈酿时间(即酒龄)是其品质的主要标志。目前, 酒龄鉴别是黄酒行业存在的诸多问题之一, 各个生产厂家库存的陈年黄酒有多有少, 勾兑技术不统一, 少数企业有随意标注酒龄的现象, 不利于黄酒的推广和销售。因此需要较明确的品质指标作为酒龄判断依据。

本文通过X500R QTOF系统采用非靶向代谢组学方法进行不同陈酿时间的黄酒成分差异研究。使用SCIEX OS软件对黄酒完成数据采集和数据分析工作, 鉴定出黄酒中小分子代谢物, 并进行五个酒龄的黄酒的差异分析, 帮助探究酒龄鉴别的指标。

### 实验方案特点:

1. 本实验利用代谢组学思路对绍兴黄酒进行成分鉴定, 并进行了陈酿年份对黄酒品质风味影响的研究;
2. SCIEX X500R QTOF系统展示出良好稳定性, 轻松应对大批量组学样本实验;
3. SCIEX OS软件红绿灯式筛查设置结合高质量二级谱库帮助简单快速进行化合物鉴定;
4. 研究结果筛选出黄酒中80种差异化合物可以用来进行陈酿年份的判别。

### 1、样品准备

5个酒龄的绍兴黄酒(2009年份、2011年、2014年份、2019年份和2021年份相当于13年份、11年份、8年份、4年份和1年份酒龄)各10份, 共50个样品。50%甲醇水(v/v)稀释五倍后过0.22 μm滤膜进样。制备好的样品每个取10 μL混合为质控样(QC)。

### 2、实验条件

质谱系统: SCIEX X500R QTOF系统(图1);



图1. SCIEX X500R QTOF 系统

扫描方式: ESI+/-TOF MS-IDA-10 TOF MS/MS; 动态背景扣除开启; 扫描范围: 一级m/z 70-1250 Da, 二级m/z 40-1250 Da;

喷雾电压IS: 5500 V/-4500 V      源温度 TEM: 500 °C  
 气帘气 CUR: 30 psi                  碰撞气 CAD: 7 psi  
 雾化气 GS1: 50 psi                  辅助气 GS2: 50 psi

### 3、结果与讨论

#### 3.1 数据重现性和可靠性

SCIEX X500R QTOF系统稳定性和抗污染能力保证数据重现性及可靠性。每5针穿插一针QC, 代谢组学样品在正离子模式和负离子模式下各自的11针QC总离子流图 (TIC) 重现性良好, 见图2。表明信号强度和保留时间稳定, 采集到的大批量组学样本结果可靠, 可以用来进行差异分析。

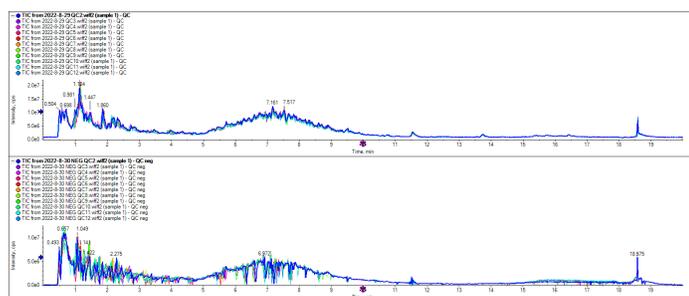


图2. 样品11针QC叠加的正离子模式 (上) 和负离子模式 (下) 总离子流图

#### 3.2 SCIEX OS软件帮助快速鉴定黄酒成分

利用SCIEX X500R QTOF系统对QC进行正离子模式和负离子模式分别一针进样便可以获得全面一级二级信息, 用于准确性。结合高质量二级谱库, 利用SCIEX OS软件通过一级质量精度、同位素分布和二级库匹配快速进行化合物筛查鉴定, 红绿灯式筛查结果显示如图3。并且可以呈现详细色谱图积分情况、一级质谱图的同位素丰度比情况以及二级质谱图与二级谱库中标准谱图匹配情况, 以丁二酸为例见图4。

Index	Component Name	Area	Reten. Time	Adduct / Charge	Formula	Precur. Mass	Mass Error (...)	Mass Error Conf.	Isotope Confidence	Library Confide.
111	Leu-Leu	3.397e6	7.09	[M+H] <sup>+</sup>	C12H24N2O3	245.1860	-0.8	✓	✓	✓
113	脯氨酸 Proline	3.220e6	0.65	[M+H] <sup>+</sup>	C5H9NO2	116.0706	-0.2	✓	✓	✓
115	诺非里曼	2.705e6	7.09	[M+H] <sup>+</sup>	C11H18N2	169.0760	-0.7	✓	✓	✓
116	Glycerophosphochol...	2.531e6	0.61	[M+H] <sup>+</sup>	C8H20NO6P	258.1101	0.8	✓	✓	✓
118	Ile-Leu	2.348e6	6.30	[M+H] <sup>+</sup>	C12H24N2O3	245.1860	-0.3	✓	✓	✓
117	Acetophenone	2.339e6	1.24	[M+H] <sup>+</sup>	C8H8O	121.0648	-0.7	✓	✓	✓
119	Ile-Phe	2.165e6	7.48	[M+H] <sup>+</sup>	C15H22N2O3	279.1703	-0.6	✓	✓	✓
120	Ile-Val	2.099e6	3.55	[M+H] <sup>+</sup>	C11H22N2O3	231.1703	-0.6	✓	✓	✓
168	PyroGlu-Pro	2.026e6	2.73	[M+H] <sup>+</sup>	C10H14N2O4	227.1026	0.0	✓	✓	✓
122	Val-Pro	1.973e6	2.00	[M+H] <sup>+</sup>	C10H18N2O3	215.1390	0.1	✓	✓	✓
121	Val-Val	1.877e6	1.86	[M+H] <sup>+</sup>	C10H20N2O3	217.1547	0.1	✓	✓	✓
123	Val-Ile	1.747e6	4.21	[M+H] <sup>+</sup>	C11H22N2O3	231.1703	-0.8	✓	✓	✓
124	L-焦谷氨酸 L-Pyrroglut...	1.734e6	1.12	[M+H] <sup>+</sup>	C5H7NO3	130.0499	-1.0	✓	✓	✓

图3. 红绿灯式筛查结果显示

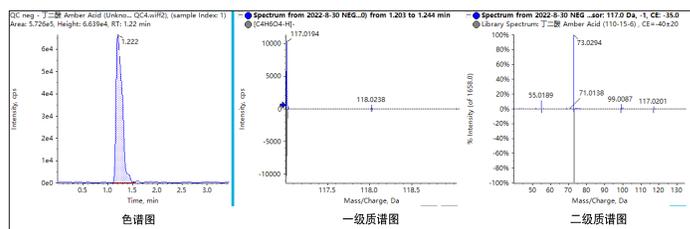


图4. 丁二酸色谱图、一级质谱图和二级质谱图

#### 3.3 代谢组学鉴定结果及差异分析

结合SCIEX代谢物数据库和天然产物数据库共鉴定到黄酒中208个化合物, 个数占比最高的为氨基酸相关化合物。另外还鉴定到多酚、有机酸、核苷酸、醛类、酯类以及糖等化合物 (图5)。利用五个年份黄酒中鉴定到的代谢物峰面积进行PLS-DA分析, 图6可以看出五个年份黄酒代谢物组成具有显著差异。利用ANOVA P<0.05 & VIP>1筛选差异化合物, 筛选出黄酒的不同陈酿年份产生的80个差异化合物。

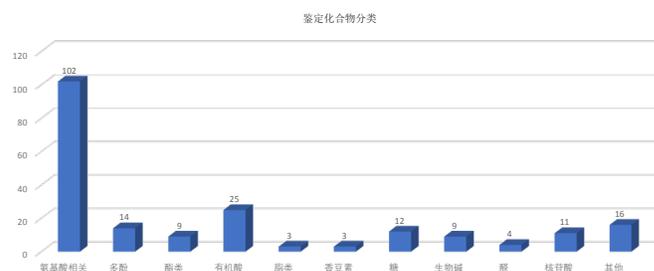


图5. 黄酒的代谢物鉴定结果分布图

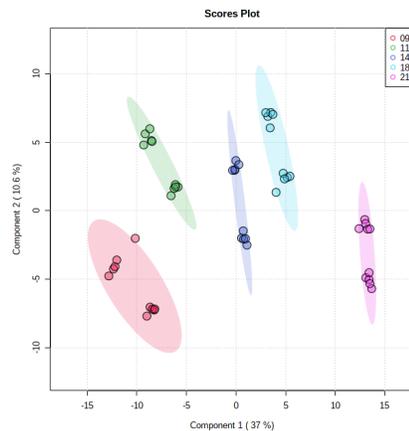


图6. 五个酒龄黄酒中代谢物的PLS-DA图

结果表明，不同的氨基酸及小肽随着陈酿年份增加有上调和下调变化，其中4种环二肽随着年份增加均呈现显著增长，2011年酿造的11年的黄酒含量最高而酒龄达到13年时含量稍有下降。另外几种有机酸、醛类和酯类显著上调，有研究表明酯类的升高这一趋势普遍存在于绍兴黄酒的陈酿过程中<sup>[1]</sup>。最后我们还发现7种化合物只在酒龄为一年的黄酒中检出（见表1），酿造时间更长的黄酒中无检出。均可考虑作为黄酒酒龄鉴别依据。图6为环(缬氨酸-脯氨酸)和水杨酸在不同酒龄黄酒中含量变化的箱状图。

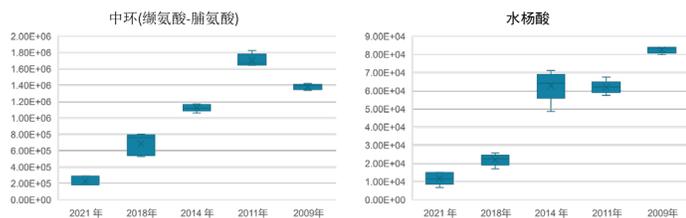


图7. 五个酒龄黄酒中环(缬氨酸-脯氨酸)和水杨酸含量变化箱状图

表1. 仅2021年酿造的黄酒检测到的化合物

序号	中文名
1	小麦黄素
2	甲硫氨酸
3	山奈酚-3-葡萄糖苷-7-木糖苷
4	5'-脱氧-5'-(甲硫基)腺苷
5	3-吡啶丙烯酸
6	4-甲基伞形酮
7	苯乙酸

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2022 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-15361-ZH-A



#### SCIEX中国

北京分公司  
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院  
1号楼5层  
电话: 010-5808-1388  
传真: 010-5808-1390  
全国咨询电话: 800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心  
上海市长宁区福泉北路518号  
1座502室  
电话: 021-2419-7201  
传真: 021-2419-7333  
官网: [sciex.com.cn](http://sciex.com.cn)

广州办公室  
广州国际生物岛星岛环北路1号  
B2栋501、502单元  
电话: 020-8842-4017

官方微信: [SCIEX-China](https://www.sciex.com.cn)

## 4、总结

本文使用SCIEX X500R QTOF系统建立了黄酒非靶向代谢组学方法。由于X500R超快扫描速度兼顾灵敏度和分辨率，一针进样即可得到复杂基质样品中待测物的全面的高质量一级与二级质谱数据，且一级质量精度均小于1 ppm。并且利用SCIEX OS软件配合一级质谱、同位素分布和二级质谱图可快速准确地提供定性结果。X500R QTOF系统采集的数据保证得到全面丰富的鉴定结果，帮助进行黄酒成分鉴定和陈酿年份鉴别。

## 参考文献

- 江超, 林峰, 邹慧君等. 陈年绍兴黄酒成分分析和品质鉴定. 食品与发酵工业, 2009, 35(10): 18-22.