

葡萄园产地和酿酒厂对红葡萄酒元素特征的影响

应用简报

食品检测与农业

作者

Helene Hopfer^{1,2}、Jenny Nelson^{1,3}、
Thomas S. Collins^{1,2}、Hildegard
Heymann¹ 和 Susan E. Ebeler^{1,2}

¹ 加州大学戴维斯分校葡萄栽培
和酿酒系

² 加州大学戴维斯分校食品安全
与测量机构

³ 安捷伦科技有限公司



前言

消费者希望了解所购买食品的安全性和可靠性的需求日益增加。在高价值食品中掺入低品质组分或将高价值食品替换为低品质组分的现象令人担忧。将廉价的产品使用虚假标签标注为高价值品牌，然后作为顶级产品出售，也可以获取高利润，对于与特定产地相关的食品而言尤其如此。葡萄酒、奶酪、火腿、橄榄油和蜂蜜经常出现这种情况。将 DNA 指纹图谱与多种有机标记物的检测相结合，人们提出了一种多元素分析方法，用于鉴定食品的真伪。

多种因素影响食品和饮料中的元素组成。例如，葡萄酒的金属元素特征取决于葡萄种植的土壤的组成、葡萄栽培实践（例如，施用农用化学品及灌溉）以及葡萄酒酿造过程（包括储存和陈化）[1]。



通过原子光谱对痕量元素进行特征识别的方法已被用于确定葡萄酒是否可以被鉴定为来自特定区域 [2]。多年来，ICP-MS 一直被用于葡萄酒的元素指纹图谱分析 [3-7]。本研究采用 ICP-MS 针对葡萄园产地和酿酒厂加工过程对 65 个红葡萄酒样品的综合影响进行了研究。使用 Agilent Mass Profiler Professional (MPP) 集成式化学计量学软件，通过 63 种元素的浓度表征对不同葡萄酒的产地进行建模分析。通过分析来源于同一葡萄园但是在不同酿酒厂加工的葡萄酒，可以将葡萄园的影响与酿酒厂的影响分开，反之亦然。这样有助于了解葡萄酒的元素特征在生产过程中改变的程度。

实验

化学品与标准品

在所有校准溶液配制和稀释中均使用超纯水 (18 MWcm⁻¹, EMD Millipore) 和乙醇 (200 proof, Gold Shield Distributors, Hayward, CA)。使用前，将混合内标用 1% HNO₃ 按 1:10 进行稀释。SPEX CertiPrep 多元素校准标样 (1、2A、3 和 4) 和混合内标 (10 mg/L, 溶于 1% HNO₃ 中) 购自 SPEX, Metuchen, NJ。超纯硝酸购自赛默飞世尔科技公司，环境加标混合溶液来自安捷伦。

样品与样品前处理

来自加利福尼亚北部五个不同葡萄园的 65 个市售红葡萄酒样品为五家不同的商业酿酒厂所生产，如图 1 所示。每种葡萄酒均由单一葡萄栽培品种制成，包括欧亚种葡萄、赤霞珠、梅洛、黑比诺。每个酿酒厂均使用单独的发酵容器对来自各个葡萄园的葡萄进行发酵。发酵完成后，在进行其他后续发酵处理之前，直接从不锈钢罐中取样。将葡萄酒取样至不含金属的 50 mL 塑料管 (VWR, Radnor, PA) 中，在分析之前储存于 4 °C 下。分析前，将所有葡萄酒样品用 5% HNO₃ 按 1:3 的比例进行稀释，使乙醇含量降至约 4%，对每个样品重复分析两次。

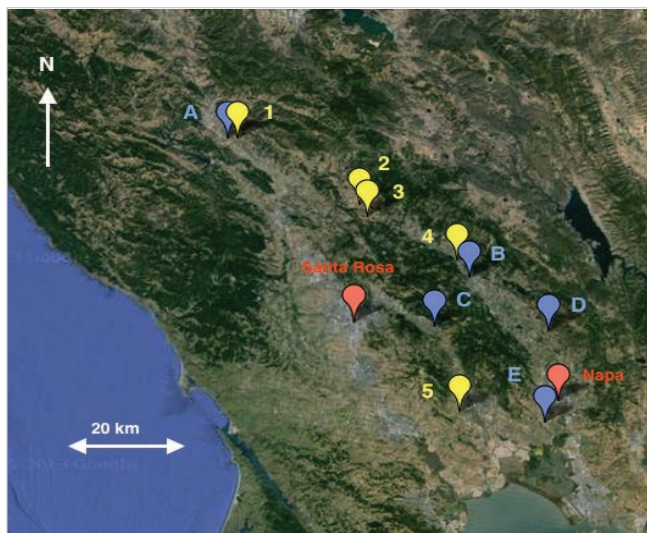


图 1. 加利福尼亚地图显示了 65 个红葡萄酒样品的产地和加工地，即五家葡萄园 (1-5) 和五个酿酒厂 (A-E)

仪器

本研究采用了配备八极杆反应池系统 (ORS³) 碰撞/反应池的 Agilent 7700x ICP-MS。使用 1% 硝酸将含有 ⁶Li、Sc、Ge、Y、In、Tb 和 Bi 的内标 (ISTD) 溶液稀释至 1 µg/L。使用雾化器之前的混合三通将 ISTD 溶液与样品在线混合。使用安捷伦调谐混标 (Li、Y、Ce、Tl 和 Co) 和安捷伦检测器 P/A 校准溶液 (Zn、Be、Cd、As、Ni、Pb、Mg、Th、Ca、Co、Sr、V、Cr、Mn、⁶Li、Sc、In、Lu、Bi、Y、Yb、Mo、Sb、Sn、Ge、Ru、Pd、Ti 和 Ir) 对 ICP-MS 进行每日的校准和调谐。利用安捷伦环境加标混合标样对葡萄酒样品加标。表 1 列出了仪器操作参数。

表 1. Agilent 7700x ICP-MS 操作条件

	无气体	He 模式	高能量 (HE) He
RF 功率 (W)			1550
雾化器类型			MicroMist
载气流速 (L/min)			1.05
采样深度 (mm)			10
雾化室温度 (°C)			2
碰撞反应池气体流速 (mL/min)	NA	4.3	10

校准

用 5% HNO₃ 和 4% 乙醇对标准溶液进行基体匹配，使之与葡萄酒样品重点酸和碳含量相匹配，对所有 63 种监测的元素在 0 和 500 µg/L 的浓度之间进行六点校准。表 2 列出了所检测的全部 46 种元素及其检测限 (LOD)。浓度较高的元素 (> 500 µg/L; B、Na、Mg、Si、P、K、Ca、Mn、Cu、Rb、Sr 和 Ba) 用 5% HNO₃ 按 1:1000 稀释后进行分析 (标准溶液用 5% 的 HNO₃ 进行基体匹配)。在整个运行中分析加标样品，以确保分析方法的有效性，并且每 10 个样品运行一次连续校准空白样品和连续校准验证样品。

表 2. 检出的元素列表和 LOD (ppb)，引自 Hopfer 等人于 2015 年发表的文献 [1]

元素	m/z	模式 ^a	LOD ^b
Li	7	无气体	2.25E-01
Be	9	无气体	1.40E-02
B	11	无气体	1.12E-01
Na	23	无气体	1.79E+00
Mg	24	He	5.76E-01
Al	27	He	4.83E-01
P	31	He	5.45E+00
K	39	He	1.16E+00
Ca	43	He	8.79E-01
Ti	47	He	5.43E-01
V	51	He	2.40E-02
Cr	52	He	7.70E-02
Mn	55	He	2.30E-02
Co	59	He	9.00E-03
Ni	60	He	3.47E-01
Cu	63	He	2.30E-02
Zn	66	He	1.50E-02
Ga	69	He	5.00E-03
As	75	He	7.00E-03
Se	78	HEHe	5.20E-02
Rb	85	He	6.88E-03
Sr	88	He	1.00E-02
Mo	95	He	8.30E-02
Rh	103	He	1.00E-03
Cd	111	He	9.00E-03
Sn	118	He	2.10E-02
Sb	121	He	4.00E-03
Cs	133	He	4.60E-03

Ba	137	He	1.30E-02
La	139	He	6.00E-04
Ce	140	He	2.00E-03
Pr	141	He	3.00E-04
Nd	142	He	7.00E-04
Sm	147	He	2.00E-03
Eu	153	He	4.60E-06
Gd	157	He	1.00E-03
Dy	163	He	1.11E-03
Ho	165	He	6.00E-04
Er	166	He	2.00E-03
Tm	169	He	7.30E-03
Yb	172	He	1.00E-03
W	182	He	1.90E-02
Re	185	He	5.00E-04
Tl	205	He	1.40E-02
Pb	208	He	5.00E-03
U	238	He	6.60E-06

使用 Mass Profiler Professional 软件进行数据分析

Agilent ICP-MS MassHunter 软件用于采集和分析数据。在数据分析中，将所有葡萄酒的元素浓度导入安捷伦集成式 MPP 化学计量学软件，对大的复杂数据组 (65 个葡萄酒样品 × 46 个监测的元素 × 三次重复测定) 进行统计分析。MPP 还提供了便于研究和确定多维数据组的关系的数据可视化工具，在本例中，该数据组为来自五个不同的葡萄园和酿酒厂组合的 65 个葡萄酒样品和 46 种元素浓度。在 MPP 中对 log₂ 刻度浓度数据进行方差分析 (ANOVA)，以评价酿酒厂和葡萄园的影响以及酿酒厂与葡萄园的相互影响。将统计显著性设置为 5%。选择规范变量分析 (CVA) 作为一种分类技术，使用多变量 ANOVA 模型研究各个酿酒厂、葡萄园和酿酒厂-葡萄园组合彼此之间的差异。

结果与讨论

元素分析

在 63 种监测的元素中，检测到 46 种，将这 46 种元素包含于随后的数据分析中。在整个序列中分析加标样品得到的回收率在 93%（对于 Ba）和 103%（对于 Ca）之间。所检测的元素未表现出与不同的葡萄栽培品种相关联的显著差异。然而，在五家不同的酿酒厂（33 种显著不同的元素）、五家不同的葡萄园（26 种显著不同的元素）和 15 种不同的酿酒厂-葡萄园组合（17 种显著不同的元素：Be、Na、P、Ti、Zn、As、Rb、Cd、Sb、Cs、La、Pr、Dy、Er、Tm、Yb 和 Tl）之间发现元素含量存在显著差异。这些发现表明葡萄种植与葡萄酒酿造均影响葡萄酒的元素组成。相比于不同的葡萄园产地，采用不同加工方法的酿酒厂所制得的葡萄酒之间存在更多显著不同的元素。这可以解释为葡萄酒酿造方法比葡萄园位置对葡萄酒的元素含量影响更大。有关葡萄园和酿酒厂影响的完整详细数据可参见 Hopfer 等人于 2015 年发表的文献 [1]。

酿酒厂与葡萄园相互影响

基于上文提及的 17 种元素，使用 MPP 软件获得样品的 CVA 图示（图 2）。来自 A 和 B 酿酒厂的葡萄酒存在清晰的簇。葡萄园 1 中种植的葡萄（A1、C1 和 D1）形成群组，与酿造葡萄酒的酿酒厂无关。类似的模式存在于葡萄园 5 中种植的葡萄。葡萄园 2 和 3 在地理位置上彼此靠近，其土壤条件可能相似。这反映在分值图（图 2）中，其中 A2 和 B2 葡萄酒位于图片右侧，而 A3 和 B3 葡萄酒位于左侧。对于葡萄园 4 中种植的葡萄，仅制备了两个样品（B4 和 E4），而结果表明酿酒厂对元素组成的影响掩盖了葡萄园的影响。

根据图 3A 和 3B 所示的分值箱线图和总结构系数，可以研究哪些元素促成了图 2 所示的葡萄酒样品的分离。图 3A 表明沿水平第一维度 CV1，葡萄酒受到较强的葡萄园影响（对于出现在 CV1 刻度相对侧的葡萄园 1 和 5 而言）或受到酿酒厂葡萄园综合影响（对于酿酒厂 A 和 B 以及葡萄园 2 和 4）而分离。引起葡萄酒的水平分离的元素如图 3B 所示。右侧葡萄酒中存在较高浓度的 Be、Rb、Cs、Tl 和某些稀土元素，而左侧葡萄酒与 Na、P、Ti、Zn、As 相关并且在较小程度上与 Cd 和 Sb 相关。

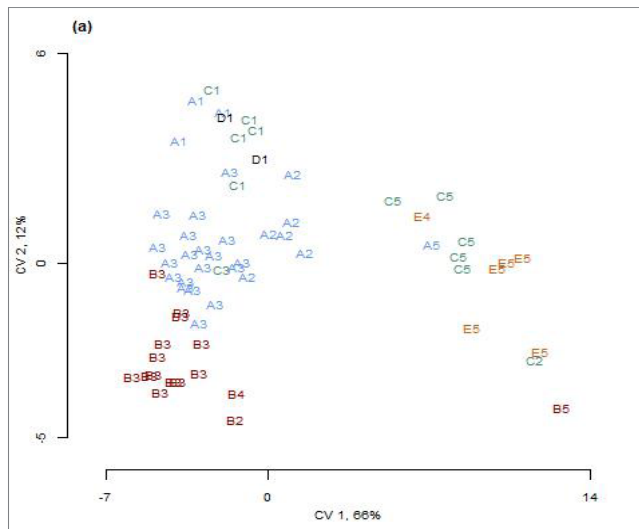


图 2. 前两个维度的规范变量分析，使用酿酒厂-葡萄园相互影响作为分类依据。各个葡萄酒样品按酿酒厂以不同颜色显示。编号 1-5 指示五个不同的葡萄园。经 Elsevier 授权，转载自：Hopfer, H.; Nelson, J.; Collins, T. S.; Heymann, H.; Ebeler, S. E. The combined impact of vineyard origin and processing winery on the elemental profile of red wines. Food Chemistry 2015, 172, pp. 11

在垂直的第二维度上 (CV2)，在酿酒厂 B 加工的葡萄酒在图的下部形成群组（图 3C）。图 3D 表明在酿酒厂 B 中加工的葡萄酒中包含较高浓度的所有元素（除 P 和 Ti 以外）。

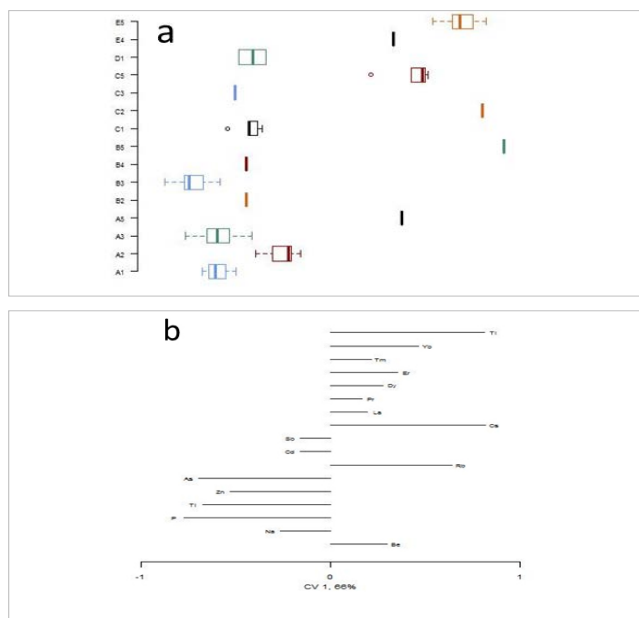


图 3a. 前两个维度的规范变量分析，使用酿酒厂-葡萄园相互影响作为分类依据。CV1 箱线图 (A) 和结构系数图 (B)。经 Elsevier 授权，转载自：Hopfer, H.; Nelson, J.; Collins, T. S.; Heymann, H.; Ebeler, S. E. The combined impact of vineyard origin and processing winery on the elemental profile of red wines. Food Chemistry 2015, 172, pp. 11

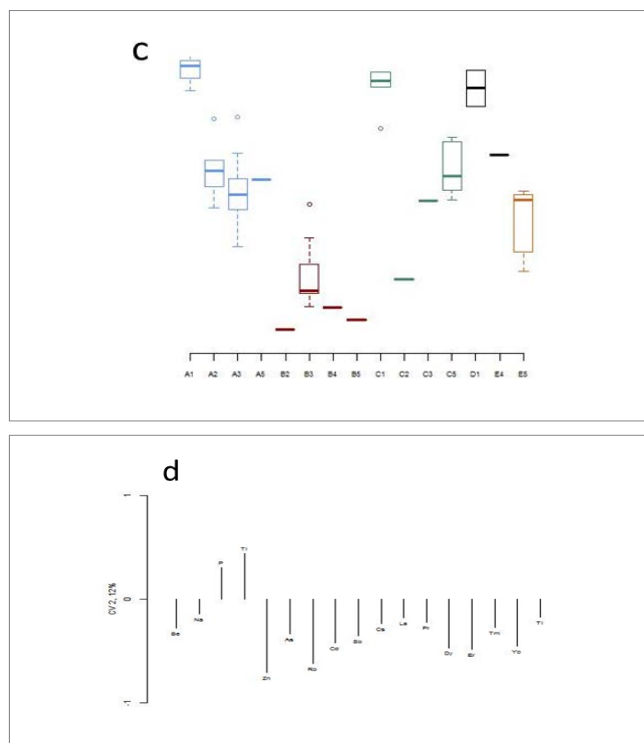


图 3b. CV 2 箱线图 (C) 和结构系数图 (D)。由长线表示的元素对于 CVA 中观察到的分离贡献更大。经 Elsevier 授权, 转载自: Hopfer, H.; Nelson, J.; Collins, T. S.; Heymann, H.; Ebeler, S. E. The combined impact of vineyard origin and processing winery on the elemental profile of red wines. *Food Chemistry* 2015, 172, pp. 11

结论

元素分析越来越多地应用于对食品和饮料 (包括葡萄酒) 的产地进行表征。为了更好地了解葡萄园产地和酿酒厂加工的综合影响, 通过将 Agilent 7700x/7800 ICP-MS 与 Agilent Mass Profiler Professional 化学计量学软件相结合对 65 个红葡萄酒中的元素含量进行了研究。研究表明元素特征无法区分不同类型的葡萄 (葡萄品种)。然而, 元素指纹图谱分析能够根据葡萄园产地、酿酒厂以及两种因素的组合对葡萄酒样品进行分类。17 种元素表明存在显著的酿酒厂-葡萄园相互影响, 即在 15 种酿酒厂葡萄园组合中, 这 17 种元素的元素浓度均在不同程度上受到葡萄种植和葡萄酒酿造的共同影响。对这些综合影响的研究使我们对使用多元素指纹图谱测定红葡萄酒的产地有了更深入的了解。

参考文献

1. Hopfer, H.; Nelson, J.; Collins, T. S.; Heymann, H.; Ebeler, S. E. The combined impact of vineyard origin and processing winery on the elemental profile of red wines. *Food Chem.* **2015**, 172 (1), 486-496
2. Baxter, M. J.; Crews, H. M.; Dennis, M. J.; Goodall, I.; Anderson, D. The determination of the authenticity of wine from its trace element composition. *Food Chem.* **1997**, 60 (3), 443-450
3. Almeida, C. M. R.; Vasconcelos, M. T. S. D.; Barbaste, M.; Medina, B. ICP-MS multi-element analysis of wine samples - A comparative study of the methodologies used in two laboratories. *Anal. Bioanal. Chem.* **2002**, 374 (2), 314-322
4. Augagneur, S.; Médina, B.; Szpunar, J.; Lobiński, R. Determination of rare earth elements in wine by inductively coupled plasma mass spectrometry using a microconcentric nebulizer. *J. Anal. At. Spectrom.* **1996**, 11, 713-721
5. Greenough, J. D.; Longerich, H. P.; Jackson, S. E. Element fingerprinting of Okanagan Valley wines using ICP-MS: Relationships between wine composition, vineyard and wine colour. *Aust. J. Grape Wine R.* **1997**, 3, 75-83
6. Taylor, V. F.; Longerich, H. P.; Greenough, J. D. Multielement analysis of Canadian wines by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) and multivariate statistics. *J. of Ag. Food Chem.* **2003**, 51, 856-860
7. Sperkova, J.; Suchanek, M. Multivariate classification of wines from different Bohemian regions (Czech Republic). *Food Chem.* **2005**, 93, 659-663

Agilent 7800 ICP-MS
已得到验证



本资料中列出的结果均由 7700x 获得，但经验证后得知性能参数同样适用于 7800 ICP-MS。

www.agilent.com

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本资料中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）公司，2017
2017 年 7 月 4 日，中国出版
出版号：5991-6111CHCN