

利用 GC-C-IRMS 技术追溯食醋的来源与制作工艺

李洁莉¹, 梁明祥², 金丽巾^{2,*}

(1.江苏省产品质量监督检验研究院, 南京 210007;

2.南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095)

摘要:利用同位素技术测定食品中的 $\delta^{13}\text{C}$ 值已经成为食品质量检验的一种重要手段。该实验中,通过有机溶剂稀释与气相色谱-燃烧-同位素比值质谱联用(GC-C-IRMS)方法来测定3种工业用冰醋酸、2种食用醋酸以及14种商品化食醋中的醋酸的 $\delta^{13}\text{C}$ 值,发现食用醋酸的 $\delta^{13}\text{C}$ 值在 -11.57% ~ -20.66% 之间,而工业冰醋酸的 $\delta^{13}\text{C}$ 值在 -24.45% ~ -29.14% 之间;镇江香醋中的醋酸 $\delta^{13}\text{C}$ 值在 -22% ~ -25% 之间,山西陈醋的 $\delta^{13}\text{C}$ 值在 -13% ~ 20% 之间,白醋的 $\delta^{13}\text{C}$ 值在 -14% ~ -25% 之间。因此 GC-C-IRMS 技术不但可以区分工业冰醋酸和食用醋酸,而且可以区别部分不同来源和不同酿造工艺的食醋。

关键词:食醋,醋酸(乙酸),气相色谱-燃烧-稳定同位素比值质谱, $\delta^{13}\text{C}$

Origin traceability and processing authenticity in brewing vinegars by GC-C-IRMS technique

LI Jie-li¹, LIANG Ming-xiang², JIN Li-jin^{2,*}

(1.Jiangsu Product Quality Testing & Inspection Institute, Nanjing 210007, China;

2.College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: Stable carbon isotope technique ($\delta^{13}\text{C}$) has been extensively utilized in food quality examination. In this study, $\delta^{13}\text{C}$ of acetic acid, acquired from three synthetic glacial acetic acids, two edible acetic acids and fourteenth commercial vinegars were determined by gas chromatography-combustion-isotope ratio mass spectrometry (GC-C-IRMS). The results showed that $\delta^{13}\text{C}$ from edible acetic acids were between -11.57% and -20.66% and $\delta^{13}\text{C}$ of different synthetic glacial acetic acids were between -24.45% and -29.14% based on our measurements. $\delta^{13}\text{C}$ of commercial vinegars made at Zhenjiang city was between -22% and -25% , $\delta^{13}\text{C}$ of commercial vinegars made at Shanxi province was between -13% and -20% , while $\delta^{13}\text{C}$ of white vinegars was from -14% and -25% . So, this method could not only distinguish the $\delta^{13}\text{C}$ between synthetic acetic acid and edible acetic acid from natural fermentation, but also could be applicable in authenticity and origin traceability of some vinegars.

Key words: vinegar; acetic acid; gas chromatography-mass spectrometry (GC-C-IRMS); $\delta^{13}\text{C}$

中图分类号: TS264.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2016)10-0099-04

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2016.10.010

食醋作为传统调味品,不仅风味独特,含有较丰富的营养成分,而且具有抗疲劳和预防动脉硬化等多种生理药理活性^[1]。按照不同的生产工艺,食醋分为酿造食醋和配制食醋^[2]。按照不同的原材料,食醋可分为白醋(或米醋)、香醋和陈醋^[3]。

我国食醋国家标准和行业标准中仅使用一些物理化学常规指标进行食醋质量的判定,而很难追溯食醋的发酵原料,特别是部分不法商家添加工业醋酸也带来监管的困难。基于此,研究者尝试多种方

法,试图建立快速检测或者可视化检验食醋真假的技术,主体大致可分为两大类:第一大类是对非法添加外源物质进行检测^[4-7]。第二大类是对食醋本身特有的物质进行检测区分^[8-14]。这些方法中,核磁共振和同位素技术结合的方法效果较好^[15-21],但核磁共振方法的醋酸提取方法比较繁琐;同位素技术(液体闪烁)测定操作的处理也很麻烦,而且误差较大,限制了其广泛使用^[22]。

目前钟其顶等人构建了采用有机溶剂稀释与

收稿日期:2015-11-27

作者简介:李洁莉(1971-),女,硕士,研究员级高工,研究方向:从事食品检验研究工作,E-mail:304332108@qq.com。

* 通讯作者:金丽巾(1989-),女,硕士研究生,研究方向:农业资源利用,E-mail:MAOJINZI726@163.com。

基金项目:发酵食用醋酸与工业合成醋酸鉴别技术的研究(KJ122705)。

气相色谱-燃烧-同位素比值质谱联用技术(GC-C-IRMS)结合的方法来测定食醋样品中醋酸的 $\delta^{13}\text{C}$ 值,精密度高,并与不同稳定同位素实验室的能力验证计划(FIT-PTS)进行比较,发现该方法能够达到国际实验室间比对的能力验证范围^[23-24]。GC-C-IRMS的基本原理是通过气相色谱分离挥发性物质,通过燃烧炉将挥发物质燃烧,再通过质谱对同位素气体进行测定。虽然该方法操作简便,结果可重复性好,而且样品前处理简易,但我国国内仅有零星在食品行业的应用报道^[25-26]。本研究拟采用GC-C-IRMS技术,测定食醋中醋酸的 $\delta^{13}\text{C}$ 值的范围,探讨该测定方法能否追溯酿造食醋原料和生产工艺。

1 材料和方法

1.1 试剂与仪器

氦气 纯度大于99.999%,广东光华科技有限公司;乙醇 国产色谱纯,南京化学试剂有限公司;工业冰醋酸 国产分析纯,上海申博化工有限公司生产;14种酿造食醋 购置于当地大型超市;3种白醋样品 分别由山西老陈醋集团有限公司,北京市老才臣食品有限公司和江苏省恒顺醋业股份有限公司生产;5种香醋样品 由镇江市恒康调味品公司和江苏省恒顺醋业股份有限公司生产;6种陈醋 由山西水塔醋业股份有限公司,山西老陈醋集团有限公司和太原市古灯调味食品有限公司生产;食用醋酸 知名食醋生产企业采集的食用醋酸2个,其中从酒精原料发酵工艺生产和从粮食原料发酵工艺生产的各1个。

Triplus自动进样器,Trace GC气相色谱仪,燃烧转化装置,MAT253同位素比值质谱仪(内精度 $\delta \leq 0.1\%$,外精度 $\delta \leq 0.2\%$),Flash EA/HT 1112型元素分析仪 均为美国Thermo-Fisher公司产品。

1.2 样品前处理

根据稳定同位素比值质谱仪的测定性范围(2~10 V)及色谱条件,用乙醇将食醋样品稀释,至总酸含量约8 g/L。

1.3 样品测定

样品经燃烧转化装置(IsoLink),在配备陶瓷氧化管中(氧化管工作温度为960 $^{\circ}\text{C}$),将乙酸转化成 CO_2 。后经Wax毛细管柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm);载气为氦气;柱流速1.2 mL/min;进样口温度:280 $^{\circ}\text{C}$ 。升温程序:起始温度120 $^{\circ}\text{C}$ 保持1 min,以10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至200 $^{\circ}\text{C}$,保持1.5 min,进样体积1 μL ;分流比:20:1,进行测定。

1.4 $\delta^{13}\text{C}$ 同位素值的计算

$$\delta^{13}\text{C}(\%) = (\text{R}_{\text{样品}} - \text{R}_{\text{标准}}) / \text{R}_{\text{标准}} \times 1000$$

式中: $\delta^{13}\text{C}$ 为样品相对于标准物质的 $\delta^{13}\text{C}$ 同位素值;R为 $\delta^{13}\text{C}$ 与 $\delta^{12}\text{C}$ 比值。

1.5 数据处理

利用Microsoft Excel进行实验数据的计算处理分析。利用SPSS20.0(SPSS Inc.,USA)分别对不同类型食醋的同位素数据进行one-way ANOVA的LSD多重比较分析($p=0.05$)。

2 结果分析

2.1 GC-C-IRMS方法的可行性和准确性分析

2.1.1 GC-C-IRMS方法对食醋样品中的醋酸测定的可行性分析 按照前处理方法和色谱程序操作,对食醋样品中的醋酸进行测定。由色谱图1可以看出,食醋样品中醋酸的保留时间为356.35 s,能够和其他物质分开,分离效果较好。见图1。

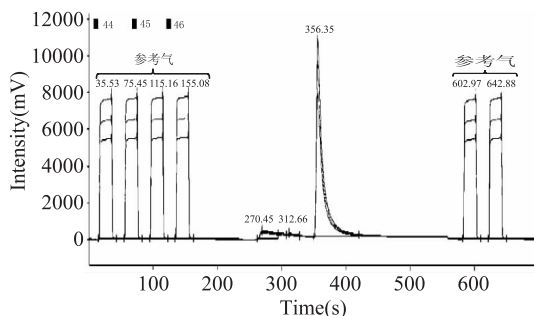


图1 食醋样品醋酸 $\delta^{13}\text{C}$ 分析图谱

Fig.1 Chromatogram of acetic acid in commercial vinegar

2.1.2 GC-C-IRMS方法对工业冰醋酸中的醋酸 $\delta^{13}\text{C}$ 测定的准确性分析 为了验证GC-C-IRMS方法的精密度与准确性,对同一厂家同一批次的工业冰醋酸的醋酸 $\delta^{13}\text{C}$ 进行10次重复测定,结果见表1。实验结果显示,标准偏差仅0.09‰,符合国际碳同位素测定要求($\leq 0.20\%$)。因此该方法精密度高,准确性较好。

表1 同一厂家同一批次的冰醋酸的醋酸 $\delta^{13}\text{C}$ 重复性测定结果

Table 1 Repeatability of $\delta^{13}\text{C}$ of same glacial acetic acid Lot of manufacturer

编号	$\delta^{13}\text{C}(\%)$	编号	$\delta^{13}\text{C}(\%)$
1	-25.26	6	-25.41
2	-25.38	7	-25.27
3	-25.22	8	-25.18
4	-25.2	9	-25.43
5	-25.38	10	-25.39
平均值		-25.31	
标准偏差		0.09	
相对标准偏差		-0.0038	

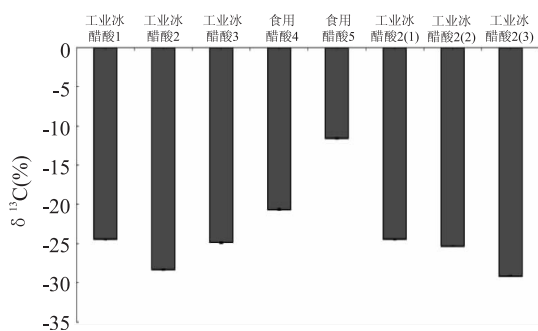
2.2 GC-C-IRMS方法对食用醋酸和工业冰醋酸的醋酸区分度

通过对三种不同厂家的工业冰醋酸(以工业冰醋酸1,2,3代表),以及同一品牌不同批次的工业冰醋酸(以工业冰醋酸2(1,2,3)代表),以及两种食用醋酸(以食用醋酸4,5代表)进行分析测定,测定结果见图2。结果表明不同品牌的冰醋酸,以及同一品牌不同批次的冰醋酸的 $\delta^{13}\text{C}$ 值在-24.45‰~-29.14‰范围内浮动,不尽相同,但显著低于食用醋酸的 $\delta^{13}\text{C}$ 的浮动范围-11.57‰~-20.66‰。因此可以采用GC-C-IRMS方法区分食用醋酸和工业冰醋酸。

表2 16个酿造食醋样品中的醋酸的 $\delta^{13}\text{C}$ 分析Table 2 Analysis of $\delta^{13}\text{C}$ of acetic acid from 16 vinegar samples

样品号	类型	原料	产地	$\delta^{13}\text{C}(\text{‰})$	SD(‰)
1	食用醋酸	厂家直接提供(以酒精为原料发酵)		-20.66	0.09
2	食用醋酸	厂家直接提供(以粮食等为原料发酵)		-11.57	0.07
3	白醋	水、大米、食用醋酸	山西	-14.69	0.08
4	白醋	水、大米、白砂糖	镇江	-24.52	0.11
5	白醋	水、大米、白砂糖、食用醋酸	镇江	-16.67	0.11
6*	香醋	水、糯米、麦麸、大米、糖、食用盐	镇江	-23.07	0.06
7*	香醋	水、糯米、麦麸、大曲	镇江	-25.18	0.09
8*	香醋	水、糯米、麦麸、大曲	镇江	-22.67	0.11
9*	香醋	水、糯米、麦麸、大米、大曲	镇江	-25.77	0.09
10*	香醋	水、糯米、麦麸、大米、大曲	镇江	-25.40	0.08
11	陈醋	水、高粱、大麦、豌豆、麸皮	山西	-13.39	0.05
12	陈醋	水、高粱、大麦、豌豆、麸皮、食盐	山西	-14.07	0.15
13	陈醋	水、高粱、玉米、麸皮	山西	-14.05	0.01
14	陈醋	水、高粱、大麦、豌豆、麸皮	山西	-19.65	0.04
15	陈醋	水、高粱、大麦、豌豆、麸皮	山西	-14.73	0.12
16	陈醋	水、大米、玉米、麸皮	山西	-16.87	0.13

注:基于不同类型食醋(白醋,香醋,陈醋)的统计分析结果,*为不同类型食醋群体之间的显著差异($p \leq 0.05$)。

图2 不同来源醋酸的 $\delta^{13}\text{C}$ 分析结果Fig.2 Analysis of $\delta^{13}\text{C}$ of acetic acid from 8 acetic acid samples

2.3 GC-C-IRMS 方法对不同食醋样品中醋酸 $\delta^{13}\text{C}$ 值的分析

食醋样品采自于大型正规超市及食醋生产厂家,共采集食醋样品16个。其中白醋样品3个,香醋样品5个,陈醋样品6个,从知名食醋生产企业采集的食用醋酸2个(其中从酒精原料发酵工艺生产和从粮食原料发酵工艺生产的各1个),测定结果见表2。

由测定结果可知,所有食醋样品和食用醋酸的 $\delta^{13}\text{C}$ 值在 $-11.57\text{‰} \sim -25.77\text{‰}$ 之间,食醋中碳同位素比值变化较大,不同类型食醋之间的 $\delta^{13}\text{C}$ 值存在一定差异。其中,白醋和陈醋之间的 $\delta^{13}\text{C}$ 值差异不显著($p > 0.05$),但香醋的 $\delta^{13}\text{C}$ 值显著低于白醋和陈醋($p \leq 0.05$),这可能与食醋原料和生产工艺有关。白醋样品中,含有食用醋酸样品的 $\delta^{13}\text{C}$ 值明显高于不含食用冰醋酸的白醋样品,这可能与食用醋酸中 $\delta^{13}\text{C}$ 的值较高有关。由此可见,利用GC-C-IRMS方法可以一定程度区分不同种类的食醋,同时对部分食醋中是否添加了食用冰醋酸有一定的指示作用。

3 结果讨论

通过测定结果可以看出食用醋酸 $\delta^{13}\text{C}$ 值明显高于工业冰醋酸,因而此方法在一定程度上可以区分食用醋酸和工业冰醋酸。虽然不同品牌的工业冰醋酸或者同一品牌不同批次工业冰醋酸的 $\delta^{13}\text{C}$ 值有所差异,但该测定结果与Remaud等利用IRMS测定了19种工业冰醋酸 $\delta^{13}\text{C}$ 值的一致,工业冰醋酸 $\delta^{13}\text{C}$ 值在 $-35\text{‰} \pm 7\text{‰}$ 范围内^[12],与之比对,本实验结果得到类似的结果,说明浮动在可信范围之内,也进一步证明该方法具有一定的准确性。

不同类型食醋之间的 $\delta^{13}\text{C}$ 值存在一定差异。食用醋酸由于其原料来源广泛(可以来自于粮食,也可以来源于酒精发酵),其 $\delta^{13}\text{C}$ 值具有一定的波动,总体在 $-11.57\text{‰} \sim -20.66\text{‰}$ 之间。同时Remaud等研究发现,不同原材料发酵的食用醋酸其 $\delta^{13}\text{C}$ 确实存在一定的差异:以玉米为原料的食用醋酸的 $\delta^{13}\text{C}$ 值在 -14.8‰ 左右,而混合玉米和大麦的 $\delta^{13}\text{C}$ 值在 -19.1‰ 左右^[12]。

酿造白醋虽然均以大米为主要原料,但不同地域的白醋的 $\delta^{13}\text{C}$ 值存在差异,添加食用醋酸的白醋的 $\delta^{13}\text{C}$ 值较高,这与食用醋酸的 $\delta^{13}\text{C}$ 值偏高有关。白醋和陈醋之间 $\delta^{13}\text{C}$ 值差异不显著,而香醋的 $\delta^{13}\text{C}$ 值明显降低,这可能与发酵原料有关。采用大米为主要原料的传统发酵食醋的 $\delta^{13}\text{C}$ 值平均比 -20‰ 小,而采用高粱和玉米为主要原料的传统发酵食醋的 $\delta^{13}\text{C}$ 值均在 -20‰ 以上,基本比 -15‰ 大。

酿造食醋的原料来源于 C_3 和 C_4 植物。一般而言, C_3 植物的 $\delta^{13}\text{C}$ 值在 $-22\text{‰} \sim -35\text{‰}$ 之间, C_4 植物的 $\delta^{13}\text{C}$ 值在 $-8\text{‰} \sim -20\text{‰}$ 之间,而空气中的 CO_2 的 $\delta^{13}\text{C}$ 平均为 -8‰ ^[15]。不同植物的 $\delta^{13}\text{C}$ 值不同,主要与其采用的光合途径、光合羧化酶、水分利用效率和

(下转第116页)

定[J].食品科学,2002,23(2):103-105.

[22] 苏一军,李慧芳,沈晓鹏,等.不同类型鸡肌肉肌苷酸含量分析和比较[J].中国家禽,2002,24(23):12-13.

[23] Fujimura S, Muramoto T, Katsukawa M, et al. Chemical

analysis and sensory evaluation of free amino acids and 5'-inosinic acid in meat of Hinai-dori, Japanese native chicken comparison with borilers and layer pullets [J]. Animal Science and Technology, 1994, 65: 610-618.

(上接第 101 页)

生长环境等相关^[27-28]。在醋酸的发酵原料中,高粱、玉米和甘蔗(白砂糖)等均为 C₄ 植物,而小麦(麦麸)、水稻(米)和豌豆等均为 C₃ 植物。当然,不同地域同一类型食醋的 δ¹³C 值也存在一定的差异。例如美国小麦的 δ¹³C 值平均为 -22.7‰,而德国的小麦 δ¹³C 值为 -25.2‰;美国的大米的 δ¹³C 值平均为 -24.2‰,日本大米的 δ¹³C 值为 -25.7‰^[15]。此外,影响碳同位素变化的因素较多,如温度、降雨量、土壤类型、空气湿度等,这些因素的不同都会造成植物的 δ¹³C 值有所差异。不同年份由于温度、光照等自然条件的差异,其植物中的 δ¹³C 值也会有一些波动,但跟 C₃ 或者 C₄ 植物内在的差异比要小的多。镇江主要以生产香醋为主,其原料组成相对固定,主要以 C₃ 植物为主,因而食醋中 δ¹³C 值大多在 -22‰ 以下;山西以生产陈醋为主,其原料(13 号样品中的原料中有玉米,16 号样品中各成分的含量具有一些差异),主要以 C₄ 植物为主,因此其 δ¹³C 值较高。通过对 δ¹³C 值的统计学分析,可以很容易将山西陈醋、镇江香醋和白醋区分开来。

4 结论

采用有机溶剂稀释与 GC-C-IRMS 技术结合,可以对食醋样品中醋酸 δ¹³C 值进行快速测定,精密度高,准确性较好,前处理简单。该方法不仅能够一定程度上用于区分食用醋酸和工业醋酸而且可以判断同类白醋样品是否添加了食用醋酸,同时还能够鉴别食醋类型及其原料来源。因此可以利用 GC-C-IRMS 技术一定程度追溯酿造食醋的来源与制作工艺。

参考文献

- [1] 徐清萍, 敖宗华, 陶文沂. 食醋研究功能进展(上)[J]. 中国调味品, 2003(12): 11-12.
- [2] 杜威, 贾彦博, 屠海云, 等. 食醋中勾兑工业合成醋酸的调查分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2012, 24(4): 366-369.
- [3] 李利军, 陈江梅, 赵文娟, 等. 吴起荞麦与镇江香醋、山西老陈醋比较研究[J]. 中国酿造, 2008(21): 78-80.
- [4] 阮长青, 郭德军, 侯殿江. 连续电导滴定法测出中游游离酸和有机酸的含量[J]. 食品科学, 2001, 22(2): 62-64.
- [5] 方那有, 路东琪, 严守雷, 等. 真假食醋现场快速鉴别试剂盒的研制[J]. 中国调味品, 2012(5): 75-76.
- [6] 沈瑶, 黄华, 鲁绯, 等. 食醋中游离矿酸测定方法的比较及分析[J]. 中国调味品, 2011(5): 109-113.
- [7] 李琴. 酿造酱油、配制酱油及酿造食醋、配制食醋的鉴别[J]. 化学分析计量, 2003, 12(3): 45-46.
- [8] 王伟岗, 曹伟, 朱新生. 食醋中有机酸含量的测定及差异性分析[J]. 食品与发酵科技, 2013, 49(2): 81-84.
- [9] 王贵双, 高丽华, 赵俊平, 等. 酿造食醋与配制食醋中有机

酸的分析研究[J]. 中国酿造, 2011, 11(236): 146-148.

[10] 刘晓伟, 李忠海, 杨代明, 等. 高效液相指纹图谱对食醋的掺伪判定研究[J]. 中国调味品, 2010, 6(35): 96-98.

[11] 李先瑞, 马志静, 张丽宏, 等. 酿造醋与配置醋质量分析与鉴定[J]. 中国食物与营养, 2011, 17(2): 27-31.

[12] Remaud G, Guillou C, Vallet C, et al. A coupled NMR and MS isotopic method for the authentication of natural vinegars[J]. Fresenius Journal of Analytical Chemistry, 1992, 342(4-5): 457-461.

[13] Hermann A. Determination of D/H isotope ratio in acetic acid from vinegars and pickled products by H-2-NMR-spectroscopy[J]. European Food Research and Technology, 2001, 212(6): 683-686.

[14] 管彬彬, 赵杰文, 林颖. 嗅觉可视化技术鉴别不同原料和不同批次的食醋[J]. 农机化研究, 2013(11): 202-205.

[15] 李金城. 用稳定性同位素方法鉴别食品真假和产地[J]. 食品科学, 1991(1): 14-17.

[16] 朱永红, 赵博, 肖昭竟. 食醋掺假检验方法研究进展[J]. 中国调味品, 2012(4): 94-99.

[17] 施正学. 氦核磁共振和同位素分析在食品鉴定中的应用[J]. 食品科学, 1993(1): 18-22.

[18] 郭波莉, 魏益民, 潘家荣. 同位素指纹分析技术在食品产地溯源中的应用进展[J]. 农业工程学报, 2007, 23(3): 284-289.

[19] 黄代宽, 李心清, 安宁, 等. 挥发性有机化合物标准样品的碳同位素 δ¹³C 测定: 以甲酸、乙酸为例[J]. 质谱学报, 2008, 29(5): 301-305.

[20] 李爱平, 李震宇, 邢婕, 等. 核磁共振代谢组学技术检测食醋化学变化[J]. 食品科学, 2013, 34(12): 247-253.

[21] 朱永红, 赵博, 肖昭竟. 食醋掺假检验方法研究进展[J]. 中国调味品, 2012(4): 94-99.

[22] 翟宗德, 吴小梅. 同位素分析技术在食醋质量鉴别中的应用[J]. 中国调味品, 2012(11): 6-9.

[23] 钟其顶, 王道兵, 孟镇, 等. 有机溶剂稀释与气相色谱-同位素质谱(GC-C-IRMS)联用测定食醋中的乙酸的 δ¹³C[J]. 质谱学报, 2014, 35(4): 372-377.

[24] 钟其顶, 王道兵, 熊正河. GC-C-IRMS 测定食醋中乙酸的碳 13 稳定同位素方法研究[R]. 食品安全与产品真实性技术国际论坛, 2012.

[25] 陈文斌, 钟其顶, 王道兵, 等. 气相色谱-同位素质谱(GC-C-IRMS)测定饮料酒中乙醇¹³C/¹²C 比值方法研究[J]. 酿酒科技, 2013(5): 90-93.

[26] 钟其顶, 李国辉, 王道兵, 等. 气相色谱-燃烧-同位素质谱仪(GC-C-IRMS)测定游离氨基酸的 δ¹³C 的值[J]. 酿酒科技, 2013(5): 90-93.

[27] 冯虎元, 安黎哲, 王勋陵. 环境条件对植物稳定性碳同位素组成的影响[J]. 植物学通报, 2000, 17(4): 312-318.

[28] 陈世革, 白永飞, 韩兴国. 稳定性碳同位素技术在生态学中的应用[J]. 植物生态学报, 2002, 26(5): 549-560.