

# 超高效液相色谱-高分辨质谱组学技术 鉴别咖啡掺假

黎 星<sup>1,2,3</sup>, 吴婉琴<sup>1,2,3</sup>, 陈 冉<sup>1,2,3</sup>, 汪 薇<sup>1,2,3</sup>, 江 丰<sup>1,2,3\*</sup>

[1. 湖北省食品质量安全监督检验研究院, 武汉 430075; 2. 湖北省食品质量安全检测工程技术研究中心, 武汉 430075; 3. 国家市场监督管理总局重点实验室(动物源性食品中重点化学危害物检测技术), 武汉 430075]

**摘要:** **目的** 采用超高效液相色谱-高分辨质谱法(ultra performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry, UPLC-HRMS)对咖啡及其掺假物建立高分辨质谱数据库, 建立一种基于组学技术对咖啡掺假进行鉴别的方法。**方法** 咖啡及其掺假物经甲醇-水(7:3, V:V)超声提取后, 经 BEH C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm)分离, 电喷雾电离(electrospray ionization, ESI)离子源, 在高分辨质谱 Full MS/dd MS<sup>2</sup> 扫描模式下采集数据, 建立咖啡及掺假物黑玉米、黑豆、大麦的高分辨质谱数据。采用 Compound Discoverer 3.3 (CD 3.3)组学软件对 UPLC-HRMS 数据进行主成分分析(principal component analysis, PCA)和火山图差异分析, 根据咖啡及掺假物中差异化合物的精准分子质量数、母离子同位素组成及碎片离子信息质量信息检索 mzCloud 和 Chem Spider 在线数据库, 对差异成分进行匹配鉴定。**结果** PCA 结果表明咖啡与掺假物黑玉米、黑豆、大麦明显分离, 说明化合物成分差异显著, 通过差异性分析, 筛选并鉴定出 23 个特征差异成分, 可以对咖啡进行掺假鉴别。**结论** 利用组学技术建立了咖啡中高通量、准确的掺假鉴别方法, 对进一步建立基于差异性标志物快速定量的掺假鉴别技术具有重要的意义。

**关键词:** 超高效液相色谱-高分辨质谱法; 组学技术; 咖啡; 鉴别; 掺假

## Identification of coffee adulteration by ultra performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry combined with omics technology

LI Xing<sup>1,2,3</sup>, WU Wan-Qin<sup>1,2,3</sup>, CHEN Ran<sup>1,2,3</sup>, WANG Wei<sup>1,2,3</sup>, JIANG Feng<sup>1,2,3\*</sup>

(1. Hubei Provincial Institute for Food Supervision and Test, Wuhan 430075, China; 2. Hubei Provincial Engineering and Technology Research Center for Food Quality and Safety Test, Wuhan 430075, China; 3. Key Laboratory of Detection Technology of Focus Chemical Hazards in Animal-derived Food for State Market Regulation, Wuhan 430075, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a high-resolution mass spectrometry database for coffee and its adulterants by ultra performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry (UPLC-HRMS), and establish a method for identifying coffee adulterants based on omics technology. **Methods** Coffee and its adulterants were extracted by methanol-water (7:3, V:V) ultrasonic wave, separated by BEH C<sub>18</sub> column (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm),

基金项目: 湖北省市场监督管理局科技计划项目(Hbscjj-KJ2021002)

Fund: Supported by the Hubei Provincial Market Supervision Administration Science and Technology Program Project (Hbscjj-KJ2021002)

\*通信作者: 江丰, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: 349136833@qq.com

\*Corresponding author: JIANG Feng, Master, Senior Engineer, Hubei Provincial Institute for Food Supervision and Test, No.8, Pharmacovigilance 2nd Road, Donghu New Technology Development Zone, Wuhan 430075, China. E-mail: 349136833@qq.com

electrospray ionization (ESI) ion source, and the data were collected in the scanning mode of Full MS/dd MS<sup>2</sup>, and the high-resolution mass spectrometry data of coffee and adulterants such as black corn, black beans and barley were established. The UPLC-HRMS data were analyzed by principal component analysis (PCA) and volcano diagram difference analysis with Compound Discoverer 3.3 (CD 3.3) omics software. According to the precise molecular weight, parent ion isotope composition and fragment ion information quality information of different compounds in coffee and adulterants, the online databases of mzCloud and Chem Spider were searched, and the different components were matched and identified. **Results** PCA results showed that coffee was obviously separated from adulterants such as black corn, black beans and barley, which indicated that the composition of the compounds was significantly different. Through difference analysis, 23 characteristic difference components were screened and identified to identify coffee adulteration. **Conclusion** This method is high-throughput, accurate, which can identify the coffee by using omics technology and is of great significance to further establish a rapid quantitative identification technology by using differential markers.

**KEY WORDS:** ultra performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry; omics technology; coffee; identification: adulteration

## 0 引言

咖啡是用经过烘焙的咖啡豆制作出来的一种饮品,与可可和茶同为流行于全世界的三大饮品,适量饮用能起到消除疲劳和振奋精神的作用,因此,其已成为当今人们饮食生活中的重要组成部分<sup>[1]</sup>。在供不应求的情况下,不法商贩在咖啡中掺入玉米、大麦、小麦、大豆、大米等物质,以获取更高的利润,从而损害了广大消费者的利益<sup>[2]</sup>。我国高度重视食品掺假问题,从食品生产、供应链追溯、标签标识都有相关的法律法规做出明确规定,我国《食品安全法》中规定,禁止生产经营掺假掺杂或者感官性状异常的食品。通常情况下,食品掺假鉴别研究是指综合运用物理、化学、生物等学科的技术手段,对食品掺假进行识别研判<sup>[3-4]</sup>。常见的食品掺假行为包括冒充、稀释、违法添加和非标注成分<sup>[5]</sup>。咖啡掺假是一种典型的冒充掺假行为<sup>[6]</sup>,即使用低价值的一种营养物质、成分或食物的一部分替换高价值的咖啡,目前对食品掺假鉴别研究是全球食品安全领域的一个热点,因此本研究以咖啡掺假作为研究对象。

针对传统造假行为,一些食品掺假鉴别研究针对特定的目标物进行定性、定量分析,此类方法对已经明确的掺假行为可以很好地鉴别,但不适用未报道过的掺假行为、或尚未被明确的掺假目标物。由于食品掺假行为越来越隐蔽,传统靶向分析技术很难实现对食品隐蔽性掺假的高效鉴别<sup>[7]</sup>。液相色谱-高分辨质谱法在食品欺诈筛查鉴别中扮演着重要角色<sup>[8]</sup>。分辨率 $\geq 10000$  半峰宽的高分辨质谱,凭借其高准确度的分辨能力和同位素峰形分布测定能力,可通过全扫描进行准确性和非定向未知物筛查<sup>[9]</sup>。组学技术是一种基于高通量检测技术的大数据分析方法,在食品掺假及品质鉴别、食品产地溯源等方面得到广泛应

用,其具有高通量、高准确性、全景分析、技术灵活等特点<sup>[10]</sup>。李波等<sup>[11]</sup>等采用超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法结合化学计量学方法研究不同温度下烤制牛肉样品的代谢物差异,筛查 4 个化合物作为有害标记物;沈施等<sup>[12]</sup>基于超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱法的非靶向代谢组学方法从不同来源单花蜜中分析筛选并鉴定出 32 个代谢化合物作为蜂蜜溯源判别的差异标志物;LIORACH 等<sup>[13]</sup>采用液相色谱-质谱-Orbitrap 代谢组学技术在 3 种豆科植物之间鉴定出 43 种差异特征成分,液相色谱-高分辨质谱法及组学技术在食品中差异性筛查、鉴定广泛应用,也是目前食品质量鉴别研究的新兴热点技术。代谢组学是基于全面分析食品组成的整体分析方法,在识别非特定目标物方面具有独特优势<sup>[14-17]</sup>。液相色谱-高分辨质谱法强大的筛查、鉴别功能在食品欺诈检测中广泛应用,结合食品组学技术可以有效解决食品中潜在不安全物质的方法和标准落后于新物质出现和应用的现状,并开展高水平的食品安全风险监测和非靶向食品掺假鉴别。

目前对咖啡掺假研究鉴别方法有显微镜法<sup>[18]</sup>、离子色谱-脉冲安培检测器法<sup>[19]</sup>、红外光谱技术法<sup>[20-21]</sup>、太赫兹时域光谱法<sup>[22]</sup>、特异性实时荧光聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR)<sup>[23-24]</sup>、色谱-质谱法<sup>[25-27]</sup>。显微镜法是对样品与掺假物标准品在水溶液中形态对比观察,属于形态定性鉴别;离子色谱-脉冲安培检测器法针对掺假物中糖类标记物,仅对存在糖类差异的掺假物有效识别,可鉴别的掺假物种类具有一定的局限性;红外光谱和太赫兹时域光谱属于光谱技术,通过建立精准的数据模型并需要实验室反复校准,这一过程非常耗时、耗费人力和物力;PCR 法存在耗时长、操作烦琐且对技术要求较高,由于焙烤工艺对咖啡 DNA 的破坏降解作用,此方法不一定适用于咖啡衍生产品的鉴别;色谱-质谱法结合组学技术

针对食品中的各类小分子代谢物, 可实现所有小分子同时定性、定量及差异分析, 从而实现对非靶向目标化合物高效鉴别, 应用范围广, 更适合复杂的各类食品的真实性研究。超高效液相色谱-高分辨质谱法(ultra performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry, UPLC-HRMS)结合代谢组学技术, 可以高通量快速识别掺假物中的非特定化合物, 从而实现非靶向目标组分掺假鉴别, 具有较大的技术优势。因此本研究采用 UPLC-HRMS 对咖啡豆、玉米、大麦、大豆进行高通量数据采集, 建立高分辨化合物数据库, 通过 Compound Discoverer 3.3 代谢组学软件快速识别样品中的特征成分, 结合组学技术对样品中成分进行主成分分析(principal component analysis, PCA), 根据 S-plot 图找出咖啡豆与各掺假物之间的差异成分, 鉴定出差异成分作为咖啡掺假鉴别的差异性标志物, 为进一步建立差异性标志物快速定量掺假鉴别提供有效的技术手段。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与试剂

烘焙咖啡豆、黑玉米、大麦、黑豆均来源于市售。

乙腈、甲醇(色谱纯, 德国默克公司); 甲酸(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 实验用水均为超纯水(Mili-Q 纯水系统)。

### 1.2 仪器与设备

Orbitrap Fusion 三合一高分辨质谱仪、代谢组学分析软件 Compound Discoverer 3.3、ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm)(美国赛默飞世尔科技公司); Milli-Q 超纯水仪(法国密理博公司); ME203/02 分析天平[精度 0.001 g, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]; P300H 超声仪(德国艾尔玛公司); CLT55 高速离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); LG-SY920 粉碎机(中山市力果电器有限公司); UF160 烘箱(德国美墨尔特 MEMMERT 公司); 0.22 μm 微孔尼龙滤膜(天津博纳艾杰尔有限公司)。

### 1.3 液相色谱-质谱条件

#### 1.3.1 色谱条件

色谱柱: ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm); 柱温: 35°C; 进样量: 5 μL; 流速: 0.3 mL/min; 流动相 A 为乙腈, 流动相 B 为: 0.1% (V:V) 甲酸水溶液, 梯度洗脱; 洗脱程序为: 0~2.0 min, 5% A; 2.0~16.0 min, 5%~95% A; 16.0~21.0 min, 95% A; 21.0~22.0 min, 95%~5% A; 22.1~25.0 min, 5% A。

#### 1.3.2 质谱条件

电喷雾离子源, 质谱扫描方式: 正离子、负离子分别扫描方式。采集模式: 全扫描数据依赖二级扫描(full MS/dd MS<sup>2</sup>)。喷雾电压: 正离子 3000 V/负离子 2500 V;

鞘气: 40 Arb; 辅助气: 10 Arb; 离子传输管温度: 350°C; 雾化器温度: 325°C。一级扫描分辨率为 120000, 质量数扫描范围  $m/z$  50~1000 Da, 自动增益控制目标离子数为  $1\times 10^5$ 。二级扫描分辨率为 60000, 高能碰撞诱导裂解(higher energy collision induced dissociation, HCD)能量为 40%±15%。

### 1.4 样品制备及前处理

将样品(样品粉碎前于 105°C 烘箱中干燥 4 h)经粉碎机磨成粉末后, 称取 1.00 g 试样于 50 mL 容量瓶中, 加入 30 mL 甲醇-水(7:3, V:V)超声 30 min, 用甲醇-水(7:3, V:V)定容至刻度线, 转移至 50 mL 离心管中, 于 10000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 经 0.22 μm 有机滤膜过滤后上机测定。

### 1.5 数据处理

将分析样品采集到的全扫描一级质谱数据导入 Compound Discoverer 3.3 (CD 3.3)进行数据分析。通过 CD 3.3 组学软件分析, 自动识别和综合比较样品间色谱和质谱信息的差异, 绘制出 PCA 二维散点图, 通过在线化合物数据库检索匹配所有化合物, 给出样品化合物元素组成和结构预测信息, 根据咖啡及掺假物样的 S-plot 图, 找出咖啡及掺假物的差异性化合物<sup>[28]</sup>。具体参数设定: 质量偏差设定为  $5\times 10^{-6}$  (5 ppm), 峰对齐最大保留时间偏移设定为 0.5 min, 信号强度最大偏差为 30%, 信噪比(S/N)最大窗口为 3, 未知物测定保留时间窗口设定为 0.2 min, 代谢物组成预测信号强度窗口设定为 0.1, 代谢物组成预测最大质量偏差 30%, 鉴定数据库为 mzCloud 和 Chem Spider 在线数据库。

## 2 结果与分析

### 2.1 咖啡豆及掺假物 UPLC-HRMS 分析

在电喷雾电离(electrospray ionization, ESI)全扫描模式下采集咖啡豆、黑豆、黑玉米、大麦样品的质谱信息, 如图 1~4。从图 1 正模式全扫描一级质谱图可以看出咖啡豆在保留时间为 6.84 min 处出现  $m/z$  为 195.08688 的特征离子色谱峰, 该特征离子化合物为咖啡因, 为咖啡豆的主要特征成分之一<sup>[29]</sup>。从图 1 负模式全扫描一级质谱图可以看出咖啡在保留时间为 7.72 min 处出现  $m/z$  为 335.07764 的特征离子色谱峰、6.82 min 处出现  $m/z$  为 353.08826 的特征离子色谱峰, 其中  $m/z$  为 353.08826 特征离子化合物为绿原酸, 为咖啡豆的主要特征成分之一<sup>[30]</sup>。图 2 为黑豆全扫描一级质谱图, 图 3 为黑玉米全扫描一级质谱图, 图 4 为大麦全扫描一级质谱图, 为了确定样品中主要特征成分, 利用 CD 3.3 组学技术对采集的高分辨质谱数据进行分析 and 数据库检索匹配, 进行主成分分析。

### 2.2 咖啡及掺假物主成分分析

通过 CD 3.3 组学软件分析咖啡豆、黑豆、黑玉米、

大麦样品 UPLC-HRMS 质谱信息, 将样品按类别进行分组, 扣除试剂空白, 分别在正和负模式下得到 PCA 得分散点图, 可以从整体上观察各组样品的分离情况, PCA 图直观地显示不同样品之间的整体差异。结果显示如图 5, 在正模式和负模式下, 咖啡豆与黑豆、黑玉米、大麦存在

明显分离, 结果表明咖啡豆与各掺假物之间的主成分差异较为明显。黑豆与黑玉米和大麦之间主成分存在明显差异, 黑玉米与大麦分离不明显, 表明组间主成分差异不明显。PCA 结果表明由于主成分的明显差异, 可快速识别出咖啡及掺假物。

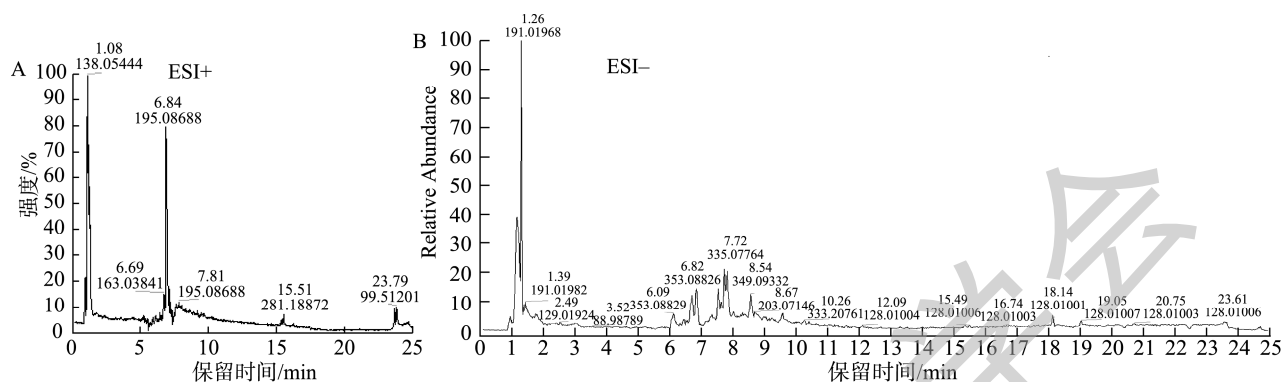


图 1 咖啡豆正模式和负模式下的总离子流色谱图

Fig.1 Total ion chromatograms of coffee bean in positive and negative ion modes

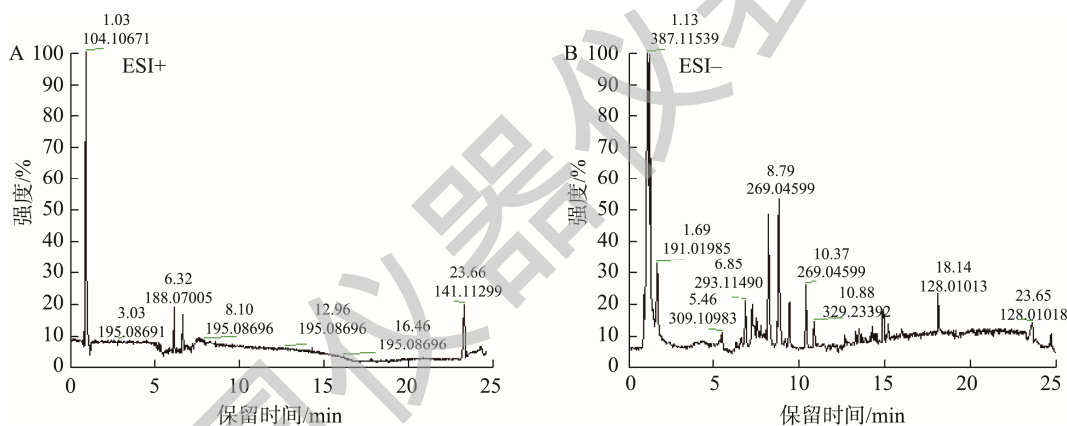


图 2 黑豆正模式和负模式下的总离子流色谱图

Fig.2 Total ion chromatograms of black soybean in positive and negative ion modes

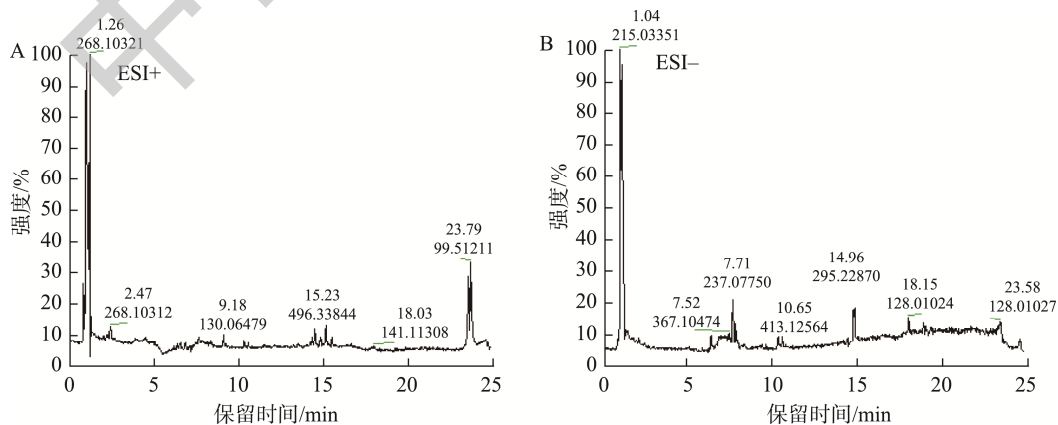


图 3 黑玉米正模式和负模式下的总离子流色谱图

Fig.3 Total ion chromatograms of black corn in positive and negative ion modes

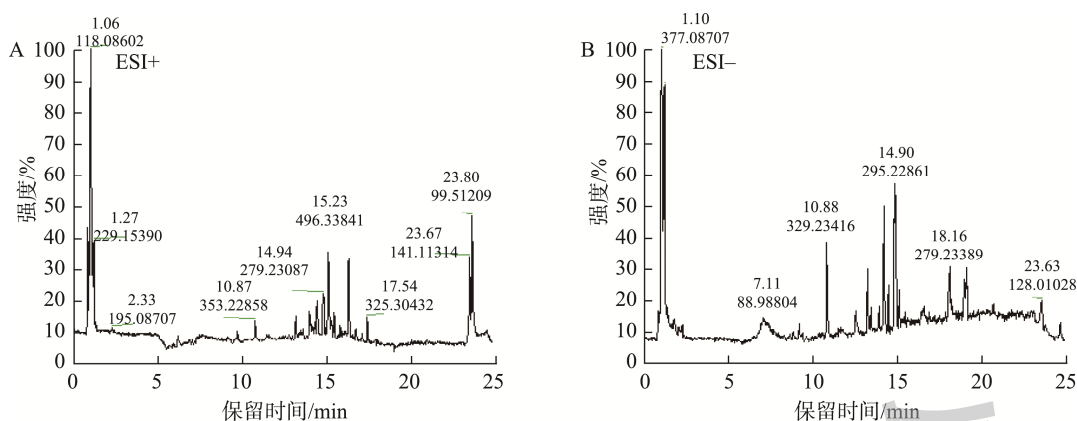


图 4 大麦正模式和负模式下的总离子流色谱图

Fig.4 Total ion chromatograms of barley in positive and negative ion modes

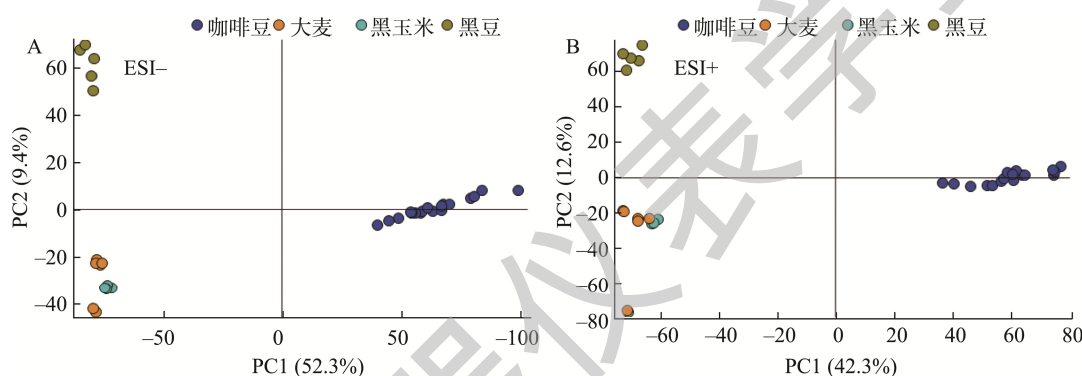


图 5 咖啡豆、黑豆、黑玉米、大麦样品 UPLC-HRMS 化合物 PCA 图

Fig.5 UPLC-HRMS related compound PCA diagrams of coffee bean, black soybean, black corn, barley

### 2.3 咖啡豆及掺假物差异性成分鉴定

通过咖啡豆及掺假物 PCA 图可以看出, 咖啡豆与黑豆、黑玉米、大麦样品间存在明显差异。利用 CD 3.3 组学软件对咖啡豆、黑豆、黑玉米、大麦的差异成分筛选识别, 根据母离子的精确质量数、母离子同位素组成和二级质谱信息确定元素组成, 并利用 mzCloud 和 Chem Spider 在线数据库进行检索匹配。将咖啡豆与掺假物黑豆、黑玉米、大麦分成 3 组样品, 并对 3 组样品和试剂空白进行差异化合物识别, 咖啡豆的主要特征成分见表 1, 根据 S-plot 图结合变量权重值(variable importance in project, VIP)值>1 和  $t$  检验  $P$  值( $P<0.05$ )筛选差异成分, S-plot 图如图 6~8, 掺假物差异成分鉴定结果见表 2~4。从表 2 结果可以看出, 大豆苷元、染料木素、黄豆苷元、大豆苷、染料木苷、黄豆黄苷、色氨酸、精氨酸、异亮氨酸、脯氨酸 10 种差异成分可以有效地识别咖啡中掺假黑豆。从表 3 结果可以看出, 果糖、精氨酸、谷氨酸、丝氨酸、脯氨酸、缬氨酸、组氨酸、鞘氨醇、亚麻酸、异亮氨酸、香芹酮、麦芽糖 12 种差异成分可以有效地识别咖啡掺假黑玉米。潘丙珍等<sup>[31]</sup>在测定烘焙咖啡豆及掺假物中的糖类标记物发现, 咖啡样品中

表 1 咖啡豆的主要特征成分

Table 1 Principal characteristic components of coffee bean

序号	化合物名称	分子式	加合方式	质荷比
1	咖啡因	$C_8H_{10}N_4O_2$	+H	195.0802
2	烟酸	$C_6H_5NO_2$	+H	124.0319
3	绿原酸	$C_{16}H_{18}O_9$	-H	353.0882
4	异绿原酸	$C_{25}H_{24}O_{12}$	-H	515.1202
5	葫芦巴碱	$C_7H_7NO_2$	+H	138.0475
6	咖啡酸	$C_9H_8O_4$	-H	180.0422
7	巴豆酸	$C_4H_6O_2$	+H	87.0439
8	4-羟基香豆素	$C_9H_{10}O_2$	+H	163.0316
9	松柏醛	$C_{10}H_{10}O_3$	-H	177.0557
10	阿魏酸	$C_{10}H_{10}O_4$	-H	191.0561
11	奎宁酸	$C_7H_{12}O_6$	-H	191.0561
12	骆驼蓬碱	$C_{12}H_{10}N_2O$	+H	199.0858
13	云香碱	$C_{13}H_{12}N_2O$	+H	213.1012

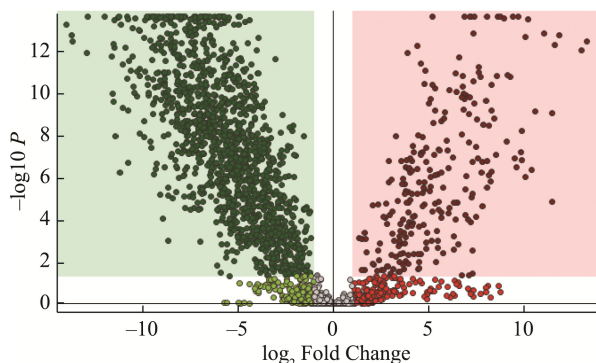


图 6 咖啡豆和黑豆差异成分 S-plot 图

Fig.6 S-plot graph of coffee bean and black soybean

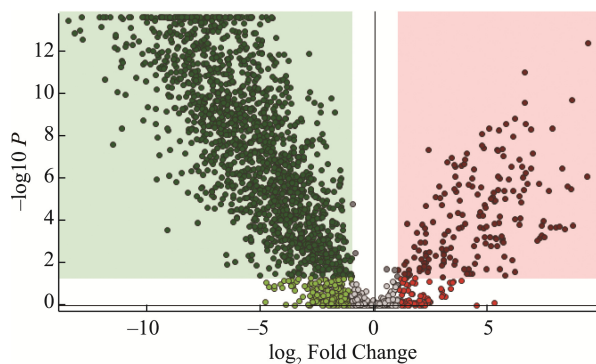


图 7 咖啡豆和黑玉米差异成分 S-plot 图

Fig.7 S-plot graph of coffee bean and black corn

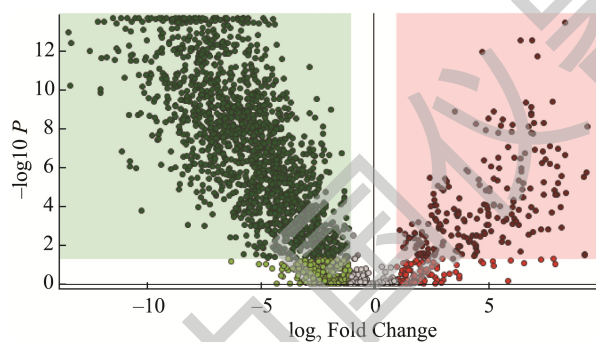


图 8 咖啡豆和大麦差异成分 S-plot 图

Fig.8 S-plot graph of coffee bean and barley

主要含有阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、木糖和甘露糖 5 种糖, 不含果糖, 黑玉米中含有阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、果糖, 不含有甘露糖, 果糖是鉴别咖啡豆掺假的一个重要差异成分。从表 4 结果可以看出, 脯氨酸、鞘氨醇、甜菜碱、谷氨酸、桐油酸、精氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、天冬酰胺、组氨酸、亚麻酸、色氨酸、丝氨酸、油酸 14 种差异成分可以有效地识别咖啡中掺假大麦。其中精氨酸、异亮氨酸、脯氨酸可以同时识别咖啡中掺假黑豆、黑玉米、大麦。由表 2~4 结果可知共鉴定 23 种差异成分, 对咖啡中的掺假物黑豆、黑玉米、大麦进行掺假鉴别。

表 2 咖啡豆与黑豆差异成分鉴定表

Table 2 Identification table difference components of coffee bean and black soybean

序号	化合物名称	分子式	加合方式	质荷比
1	大豆苷元	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	+H	255.0642
2	染料木素	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	+H	271.0590
3	黄豆苷元	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	+H	285.0673
4	大豆苷	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub>	+H	417.1164
5	染料木苷	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	+H	433.1113
6	黄豆黄苷	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	+H	447.1268
7	色氨酸	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	-H	203.0828
8	精氨酸	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	+H	175.1184
9	异亮氨酸	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	+H	132.1015
10	脯氨酸	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	+H	116.0703

表 3 咖啡豆与黑玉米差异成分鉴定表

Table 3 Identification table difference components of coffee bean and black corn

序号	化合物名称	分子式	加合方式	质荷比
1	果糖	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	-H	179.1000
2	精氨酸	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	+H	175.1184
3	谷氨酸	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>4</sub>	+H	148.0600
4	丝氨酸	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>3</sub>	+H	106.0496
5	脯氨酸	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	+H	116.0703
6	缬氨酸	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	+H	118.0859
7	组氨酸	C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	+H	156.0762
8	鞘氨醇	C <sub>18</sub> H <sub>37</sub> NO <sub>2</sub>	+H	300.2886
9	亚麻酸	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	-H	277.2336
10	异亮氨酸	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	+H	132.1015
11	香芹酮	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	+H	151.1112
12	麦芽糖	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	-H	341.1099

表 4 咖啡豆与大麦差异成分鉴定表

Table 4 Identification table difference components of coffee bean and barley

序号	化合物名称	分子式	加合方式	质荷比
1	脯氨酸	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	+H	116.0703
2	鞘氨醇	C <sub>18</sub> H <sub>37</sub> NO <sub>2</sub>	+H	300.2886
3	甜菜碱	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	+H	118.0859
4	谷氨酸	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>4</sub>	+H	148.0600
5	桐油酸	C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	+H	279.2307
6	精氨酸	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	+H	175.1184
7	缬氨酸	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	+H	118.0859
8	异亮氨酸	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	+H	132.1015
9	天冬酰胺	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	+H	133.0604
10	组氨酸	C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	+H	156.0762
11	亚麻酸	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	-H	277.2336
12	色氨酸	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	-H	203.0828
13	丝氨酸	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>3</sub>	-H	104.0353
14	油酸	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	-H	281.2495



### 3 结 论

本研究建立了基于 UPLC-HRMS 结合组学技术鉴别咖啡中掺假的方法, 组学技术具有高通量, 快速筛查和鉴别掺假物。该方法利用超高效液相色谱-高分辨质谱法建立了咖啡豆及掺假物的高分辨数据库, 运用 CD 3.3 组学软件, 采用 PCA 和差异特征成分分析, 化合物检索 mzCloud 和 Chem Spider 在线数据库。根据 S-plot 图结合 VIP 值和  $t$  检验  $P$  值, 筛选差异性成分, 鉴定出咖啡豆与黑豆差异成分 10 种, 咖啡豆与黑玉米差异成分 12 种, 咖啡豆与大麦差异成分 14 种, 从掺假物中共鉴定出 23 种差异成分。通过对鉴定出的 23 种差异成分分析筛选, 其中精氨酸、异亮氨酸、脯氨酸为掺假物黑豆、黑玉米、大麦共有特异成分以及咖啡中不含果糖, 后续进一步研究建立基于果糖、精氨酸、异亮氨酸、脯氨酸 4 种差异性标志物的含量分析方法, 应用于咖啡中掺假物黑豆、黑玉米、大麦快速定量掺假鉴别。同时进一步扩大易掺假样品范围, 建立掺假物的高分辨数据库, 为咖啡掺假鉴别建立一种高通量、准确、非靶向识别多种掺假物的方法提供有效技术手段。

### 参考文献

- [1] 邱明华, 张枝润, 李忠荣, 等. 咖啡化学成分与健康[J]. 植物科学学报, 2014, 32(5): 540–550.  
QIU MH, ZHANG ZR, LI ZR, *et al.* Review of research on the chemical constituents and bioactivities of coffee [J]. *Plant Sci J*, 2014, 32(5): 540–550.
- [2] OLIVEIRA EMM, FARAH A, FREITAS-SLILVA O, *et al.* Overview of currently applied techniques for detection of adulterants in coffee and potential use of DNA-based methods as promising new analytical tools [M]. Pittsburgh: Coffee in Health and Disease Prevention, 2015.
- [3] 陈颖, 吴亚君. 基因检测技术在食品物种鉴定中的应用[J]. 色谱, 2011, 29(7): 594–600.  
CHEN Y, WU YJ. Application of gene detection technology in food species identification [J]. *Chin J Chromatogr*, 2011, 29(7): 594–600.
- [4] 陈颖, 董文, 吴亚君, 等. 食品鉴伪技术体系的研究与应用[J]. 食品工业科技, 2008, (7): 216–218, 312.  
CHEN Y, DONG W, WU YJ, *et al.* Research and application of food authentication system [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2008, (7): 216–218, 312.
- [5] 赵璐瑶, 段晓亮, 张东, 等. 基于特征标志物的粮油食品掺假鉴别技术研究进展[J]. 中国粮油学报, 2022, 37(10): 305–312.  
ZHAO LY, DUAN XL, ZHANG D, *et al.* Adulteration and Identification technologies of grain and oil based on characteristic markers [J]. *J Chin Cereals Oils Ass*, 2022, 37(10): 305–312.
- [6] 王冰峰, 徐贞贞, 张星联. 基于网络信息的中国食用农产品经济利益驱动型掺假的分析研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(21): 8597–8603.  
WANG BF, XU ZZ, ZHANG XL. Analysis and research on economic motivated adulteration of chinese edible agricultural products based on network information [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(21): 8597–8603.
- [7] 王冰峰, 徐雷, 徐贞贞, 等. 液相色谱-高分辨质谱技术在食品掺假鉴别研究中的应用[J]. 食品科学, 2021, 42(7): 301–310.  
WANG BF, XU L, XU ZZ, *et al.* Recent Progress in the application of liquid chromatography-high resolution mass spectrometry in the identification of food adulteration [J]. *Food Sci*, 2021, 42(7): 301–310.
- [8] SENYUVA HZ, GOKMEN V, SARIKAYA EA. Future perspectives in orbitrap-high-resolution mass spectrometry in food analysis: A review [J]. *Food Addit Contam A*, 2015, 32(10): 1568–1606.
- [9] 张福, 李辛辛, 黎东. 液相色谱-高分辨质谱联用技术在食品欺诈检测鉴别中的应用价值探讨[J]. 现代食品, 2019, (1): 84–85, 94.  
ZHANG F, LI YX, LI D. Application value of liquid chromatography-high resolution mass spectrometry in detection and identification of food fraud [J]. *Mod Food*, 2019, (1): 84–85, 94.
- [10] 郝杰, 姜洁, 毛婷, 等. 代谢组学技术在食品安全风险监测中的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(7): 2587–2597.  
HAO J, JIANG J, MAO T, *et al.* Research progress of metabolomics in food safety risk monitoring [J]. *J Food Saf Qual*, 2017, 8(7): 2587–2597.
- [11] 李波, 孙世琨, 苏阿龙, 等. 基于超高效液相色谱-四级杆/静电场轨道阱高分辨质谱非靶向筛查分析烤肉在不同温度下的差异标记物[J/OL]. 食品与发酵工业: 1-9. [2023-12-06] <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.034531>  
LI B, SUN SK, SU AL, *et al.* Non-targeted screening analysis of differential markers of roasted beef at different temperatures based on ultra performance liquid chromatography-quadrupole exactive-mass-spectrometry [J/OL]. *Food Ferment Ind*: 1-9. [2023-12-06] <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.034531>
- [12] 沈施, 杨奕, 王晶波, 等. 基于超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱的非靶向代谢组学用于不同来源单花蜜的差异分析[J]. 色谱, 2021, 39(3): 291–300.  
SHEN S, YANG Y, WANG JB, *et al.* Analysis of differences between unifloral honeys from different botanical origins based on non-targeted metabolomics by ultra-high performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2021, 39(3): 291–300.
- [13] LIORACH R, FAVARI C, ALONSO D, *et al.* Comparative metabolite fingerprinting of legumes using LC-MS-based untargeted metabolomics [J]. *Food Res Int*, 2019, 126: 108666.
- [14] 熊月丰, 陈山乔, 陶佳佳, 等. LC-MS 结合代谢组学技术鉴定真假白酒的研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(9): 331–334, 392.  
XIONG YF, CHEN SQ, TAO JJ, *et al.* Identification of true and fake Chinese liquors by LC-MS with metabolomics technology [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2016, 37(9): 331–334, 392.
- [15] DAVID C, JUAN MGS, ROSA E, *et al.* Metabolomics of meat exudate: Its potential to evaluate beef meat conservation and aging [J]. *Anal Chim Acta*, 2015, 901: 1–11.
- [16] SEGERS K, DECLERCK S, MANGELINGS D, *et al.* Analytical techniques for metabolomic studies: A review [J]. *Bioanalysis*, 2019, 11(24): 2297–2318.

- [17] ANA M, JIMENEZ-CARVELO, VALERIA AL, *et al.* Comparative chemometric analysis of fluorescence and near infrared spectroscopies for authenticity confirmation and geographical origin of Argentinean extra virgin olive oils [J]. *Food Control*, 2019, 96: 22–28.
- [18] 刘慧智, 奚星林, 邵仕萍. 掺假咖啡的形态鉴别研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2017, 8(8): 3129–3133.  
LIU HZ, XI XL, SHAO SP. Identification of morphology of adulterated coffee [J]. *J Food Saf Qual*, 2017, 8(8): 3129–3133.
- [19] 潘丙珍, 庞世琦, 陈秀明, 等. 基于主成分分析和判别分析的咖啡掺假鉴别方法研究[J]. *食品科技*, 2022, 47(11): 267–272.  
PAN BZ, PANG SQ, CHEN XM, *et al.* Study of the identification method of coffee adulteration based on principal component analysis and discriminant analysis [J]. *Food Sci Technol*, 2022, 47(11): 267–272.
- [20] 陈秀明, 奚星林, 潘丙珍, 等. 基于近红外光谱技术的咖啡掺假快速鉴别方法[J]. *现代食品科技*, 2018, 34(10): 253–257, 290.  
CHEN XM, XI XL, PAN BZ, *et al.* Study of the rapid identification method of coffee adulteration based on near-infrared spectroscopy [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2018, 34(10): 253–257, 290.
- [21] 奚星林, 陈秀明, 邵仕萍, 等. 咖啡中掺入黑玉米、大麦和巴西莓果粉的红外鉴别研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2017, 8(9): 3450–3454.  
XI XL, CHEN XM, SHAO SP, *et al.* Identification of coffee blended with black corn, barley and acai berry fruit powder with infrared spectroscopy [J]. *J Food Saf Qual*, 2017, 8(9): 3450–3454.
- [22] 张傲林, 李绅, 邹颖芳, 等. 基于融合预处理的掺假咖啡太赫兹光谱识别[J]. *食品与发酵工业*, 2023, 49(14): 295–301.  
ZHANG AOL, LI S, ZOU YF, *et al.* Terahertz spectral identification of adulterated coffee based on fusion pretreatment [J]. *Food Ferment Ind*, 2023, 49(14): 295–301.
- [23] 梁颖婕, 冼钰茵, 刘婧文, 等. 咖啡特异性实时荧光 PCR 检测方法的建立[J]. *检验检疫学刊*, 2019, 29(1): 13–17.  
LIANG YJ, XIAN YY, LIU JW, *et al.* Establishment of real-time fluorescent PCR detection method for coffee species specificity [J]. *J Inspect Quar*, 2019, 29(1): 13–17.
- [24] FERREIRA T, FARAH A, OLIVERIRA TC, *et al.* Using real-time PCR as a tool for monitoring the authenticity of commercial coffees [J]. *Food Chem*, 2016, 199: 433–438.
- [25] DANIEL D, LOPES FS, SANTOS VB, *et al.* Detection of coffee adulteration with soybean and corn by capillary electrophoresis-tandem mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2017, (9): 305–310.
- [26] TIE C, HU T, ZHANG JL. Novel identification strategy for ground coffee adulteration based on UPLC-HRMS oligosaccharide profiling [J]. *Food Chem*, 2016, 190: 1046–1049.
- [27] SEZER B, APAYDIN H, BILGE G, *et al.* Coffee arabica adulteration: Detection of wheat, corn and chickpea [J]. *Food Chem*, 2018, 264: 142–148.
- [28] 张静, 刘嘉飞, 汪廷彩, 等. 超高效液相色谱-串联高分辨质谱技术结合组学技术鉴别异味盐[J]. *食品安全质量检报*, 2019, 10(13): 4105–4111.  
ZHANG J, LIU JF, WANG TC, *et al.* Identification of smelly salt by ultra performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry combined with omics [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(13): 4105–4111.
- [29] 韩洪波, 杨春琳, 李敏杰. HPLC 测定小粒种咖啡不同部位咖啡因含量[J]. *食品研究与开发*, 2013, 34(6): 85–88.  
HAN HB, YANG CL, LI MJ. The caffeine content determination in different parts of arabica coffee by HPLC [J]. *Food Res Dev*, 2013, 34(6): 85–88.
- [30] 袁栋勇, 周湧智, 毛玮琪, 等. 高效液相色谱法测定手冲咖啡中绿原酸与咖啡酸含量[J]. *科技创新与应用*, 2022, 12(35): 54–56, 60.  
YUAN DY, ZHOU YZ, MAO WQ, *et al.* The content of chlorogenic acid and caffeic acid of hand-made coffee was determined by high performance liquid chromatography [J]. *Technol Innov Appl*, 2022, 12(35): 54–56, 60.
- [31] 潘丙珍, 奚星林, 陈秀明, 等. 高效阴离子交换色谱-脉冲安培检测法测定烘焙咖啡豆及其掺假物中的糖类标记物[J]. *食品安全质量检测学报*, 2018, 9(20): 5346–5352.  
PAN BZ, XI XL, CHEN XM, *et al.* Determination of carbohydrate markers in roasted coffee beans and adulterated products by high performance anion exchange chromatography-pulse amperometric detection [J]. *J Food Saf Qual*, 2018, 9(20): 5346–5352.

(责任编辑: 张晓寒 郑 丽)

## 作者简介

黎 星, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品安全检测。  
E-mail: 441839750@qq.com

江 丰, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测。  
E-mail: 349136833@qq.com