

固相萃取 GC/MS 法分析白酒中的香气成分

李铁纯, 回瑞华, 侯冬岩

(鞍山师范学院化学系, 辽宁 鞍山 114007)

摘要: 利用 OASIS HLB 提取白酒中的醇、酯、醛等中性成分, 用 5% 氨水清洗小柱, 氮气吹干后用二氯甲烷洗脱, 得到挥发性成分。清洗液和穿透液合并, 经浓氨水中和后, 再用 MAX 固相萃取柱提取其中的有机酸, 用含有 0.5% 盐酸的乙腈洗脱得到有机酸。富集后的样品用 GC/MS 分离、鉴定, 从中性成分中鉴定出 50 种成分, 其中包括 7 种有机酸。白酒中的有机酸和其他中性成分经过两种固相萃取柱得到了较好的富集和分离。

关键词: 白酒; 固相萃取; 香气成分; 有机酸; GC/MS

中图分类号: O657.63 文献标识码: A 文章编号: 1004-2997(2007)02-96-05

Analysis of the Volatile Compounds from Chinese Wine by Solid Phase Extraction and GC/MS

LI Tie-chun, HUI Rui-hua, HOU Dong-yan

(Department of Chemistry, Anshan Normal University, Anshan 114007, China)

Abstract: OASIS HLB SPE was used to extract the neutral compounds from Chinese wine, such as alcohols, esters and aldehydes etc. After washed by 5% ammonia, the HLB SPE was dried by N₂, and then eluted by CH₂Cl₂, the volatile compounds were obtained. The filtrate was neutralized by ammonia and loaded in the MAX SPE, the organic acids were eluted by 0.5% HCl in ACN. The volatiles and organic acids were separated and identified by GC/MS. 50 compounds are identified in the neutral, including 7 organic acids in the eluent from MAX. The organic acids and other neutral compounds in the wine are separated well by these two SPE.

Key words: Chinese wine; SPE; volatile compounds; organic acids; GC/MS

中国白酒是世界著名的六大蒸馏酒之一, 按照主体的香气成分, 中国白酒可分为浓香型、清香型、酱香型、米香型和药香型^[1]。这些香气成分的不同与原料配方、发酵工艺有直接关系。迄今为止, 已鉴定的白酒香气成分约 300 种, 而它们的含量仅占白酒的 1% 左右^[2], 并且在这 1% 的香气成分中更为微量的成分(微克甚至纳克

级)对白酒的典型性及风味特征也有巨大的作用^[3]。白酒香气成分的分析主要采用气相色谱法。在样品的处理方法上, 大多数采用白酒直接进样方法^[4-7], 但此方法对于更为微量成分的分析稍有不足; 对有机酸成分的分析可采用衍生化的方法^[8]、非酶分光光度法、酶法、电泳法等进行样品处理^[9]。国外在分析葡萄酒香气成分中, 采

用了冷阱捕集低沸点成分,液液萃取提取高沸点成分的方法^[10],以及固相萃取方法^[11]等。本实验拟采用 OASIS HLB 固相萃取小柱提取白酒的醇、酯、醛等中性成分,用 5% 的氨水洗去酸性成分,而酸性成分再用 OASIS MAX 固相萃取柱进行提取、富集,最后用气质联用方法鉴定各成分。

1 实验部分

1.1 仪器及试剂

HP6890/5973 气质联用仪:美国惠普公司产品;OASIS HLB 和 OASIS MAX 固相萃取小柱(1 mL, 30 mg):美国 Waters 公司产品;甲醇、乙腈(色谱纯):美国迪马公司产品;浓氨水、浓盐酸(分析纯):沈阳化学试剂厂产品;二氯甲烷(分析纯,重新蒸馏):沈阳新西试剂厂产品;白酒:江西产特香型,自购。

1.2 实验方法

1.2.1 固相萃取小柱提取、分离白酒的香气成分 取 0.5 mL 白酒加到活化(1 mL 甲醇、1 mL 去离子水活化)好的 HLB 固相萃取小柱内,以重力自然流过小柱,然后用 1 mL 5% 氨水清洗小柱,洗去残留的白酒中的有机酸,清洗液与穿透液合并留做下一步处理。氨水清洗过的小柱再用 1 mL 去离子水清洗,然后用氮气吹干(30 s),用 100 μ L 二氯甲烷洗脱白酒中的醇、酯等中性成分,洗脱液留做气质联用分析。将 HLB 小柱的穿透液和氨水清洗液合并后,加入 1 滴 0.5% 酚酞作指示剂,用浓氨水滴至微红,使白酒

中的有机酸成盐,然后加到活化(1 mL 甲醇、1 mL 5% 的氨水活化)好的 MAX 固相萃取小柱内,待样品自然流过后,用 1 mL 去离子水洗涤小柱,氮气吹干,然后用 1 mL 二氯甲烷洗涤,再用氮气吹干,最后用 200 μ L 含 0.5% 盐酸的乙腈洗脱白酒中的有机酸。

1.2.2 色谱及质谱条件 色谱条件:色谱柱:HP-FFAP 弹性石英毛细管柱(25 m \times 0.20 mm \times 0.33 μ m);进样口温度 230 $^{\circ}$ C;升温程序:60 $^{\circ}$ C 保持 3 min,8 $^{\circ}$ C \cdot min⁻¹ 升至 220 $^{\circ}$ C,保持 5 min;升温速率为 8 $^{\circ}$ C \cdot min⁻¹;进样量 1 μ L;分流比 10:1;载气:He 气,流速:1 mL \cdot min⁻¹。

质谱条件:电子轰击离子源;离子源温度为 230 $^{\circ}$ C;电离电压为 70 eV;电子倍增器电压为 1 482 V;发射电流为 34.6 μ A;接口温度为 230 $^{\circ}$ C;质量扫描范围为 m/z 20~500,溶剂延迟为二氯甲烷洗脱液 3 min,乙腈洗脱液 4 min。

1.2.3 对比实验 取 1 μ L 白酒直接进样与固相萃取小柱富集的样品分析对照;取 1 μ L HLB 固相萃取小柱的穿透液进样与白酒及富集样品分析对照。

2 结果与讨论

按上述条件分别取白酒、HLB 穿透液及洗脱液分析,以 G1701BA 化学工作站检索 NIST98 标准质谱库做定性分析,面积归一化法确定各成分的相对含量,分离的各化学成分列于表 1,得到的总离子流图示于图 1~4。

表 1 鉴定的白酒香气成分

Table 1 Identified volatile compounds from Chinese wine

序号 No.	化合物名称 Compound	相对含量 Relative content/%	
		未处理 Untreated	固相萃取 HLB SPE
1	丁酸乙酯 Butanoic acid ethyl ester	—	4.02
2	3-甲基-丁醛乙二缩醛 3-Methyl-butane-1, 1-diethoxy	—	0.31
3	2-甲基-1-丙醇 2-Methyl-1-propanol	0.71	0.43
4	2-戊醇 2-Pentanol	—	0.03
5	3-甲基-1-丁醇乙酸酯 3-Methyl-1-butanol acetate	0.18	0.35
6	1-丁醇 1-Butanol	0.52	0.43
7	3-甲基-1-丁醇 3-Methyl-1-butanol	—	7.19
8	己酸乙酯 Hexanoic acetate	43.11	61.01
9	3-甲基-1-丁醇甲酸酯 3-Methyl-1-butanol formate	3.80	—
10	1-戊醇 1-Pentanol	0.04	0.14

续表

序号 No.	化合物名称 Compound	相对含量 Relative content/%	
		未处理 Untreated	固相萃取 HLB SPE
11	2-辛酮 2-Octanone	—	0.05
12	己腈 Hexanenitrile	0.09	0.35
13	己酸丙酯 Hexanoic acid propyl ester	—	0.14
14	庚酸乙酯 Heptanoic acid ethyl ester	0.9	2.41
15	2-羟基-丙酸乙酯 2-Hydroxy-propanoic acid ethyl ester	19.24	6.77
16	1-羟基-2-丙酮 1-Hydroxy-2-propanone	0.81	—
17	1-己醇 1-Hexanol	—	1.57
18	十四烷 Tetradecane	—	0.06
19	壬醛 Nonanal	—	0.03
20	庚腈 Heptanenitrile	0.05	0.14
21	己酸丁酯 Hexanoic acid butyl ester	—	0.04
22	2-辛醇 2-Octanol	—	0.07
23	辛酸乙酯 Octanoic acid ethyl ester	0.22	0.58
24	2-甲基丁基己酸酯 2-Methylbutyl-hexanoic ester	—	0.04
25	2-糠醛二乙缩醛 2-Furaldehyde diethyl acetal	—	0.02
26	乙酸 Acetic acid	6.58	—
27	糠醛 Furfural	0.71	0.85
28	苯甲醛 Benzaldehyde	—	0.17
29	二甲基丙二酸 Dimethyl propanedioic acid	0.14	—
30	2,3-丁二醇 2,3-Butanediol	0.13	—
31	丁酸 Butanoic acid	1.88	—
32	1-辛醇 1-Octanol	—	0.04
33	十六烷 Hexadecane	—	0.14
34	己酸己酯 Hexanoic acid hexyl ester	—	0.08
35	癸酸乙酯 Decanoic acid ethyl ester	—	0.12
36	苯乙醛 Benzeneacetaldehyde	—	0.03
37	2-呋喃甲醇 2-Furanmethanol	0.11	0.03
38	苯甲酸乙酯 Benzoic acid ethyl ester	—	0.02
39	丁二酸二乙酯 Butanedioic diethyl ester	0.14	0.58
40	戊酸 Pentanoic acid	0.40	—
41	苯乙醛二乙缩醛 2, 2-Diethoxyethyl benzene	—	0.10
42	1,2-环戊二酮 1,2-Cyclopentanedione	0.15	—
43	己酸 Hexanoic acid	11.20	—
44	十八烷 Octadecane	—	0.11
45	苯乙酸乙酯 Benzeneacetic ethyl ester	—	0.07
46	十二酸乙酯 Dodecanoic acid ethyl ester	—	0.08
47	1-甲基萘 1-Methyl-naphthalene	—	0.02
48	苯甲醇 Benzyl alcohol	—	0.01
49	苯丙酸乙酯 Benzenepropanoic acid ethyl ester	0.05	0.15
50	苯乙醇 Phenylethyl alcohol	0.20	0.75
51	庚酸 Heptanoic acid	0.20	—
52	2-甲氧基-4-甲基苯酚 2-Methoxy-4-methyl phenol	—	0.03
53	1,2-苯噻唑 1,2-Benzisothiazole	—	0.05
54	二十烷 Eicosane	—	0.08
55	十四酸乙酯 Tetradecanoic acid ethyl ester	0.10	0.31
56	二十二烷 Docosane	—	0.04
57	十六酸乙酯 Hexadecanoic acid ethyl ester	0.59	1.13
58	9-十六烯酸乙酯 9-Hexadecenoate ethyl	—	0.09
59	油酸乙酯 Ethyl oleate	0.43	0.83
60	亚油酸乙酯 Linoleic acid ethyl	0.28	0.83
61	十四酸 Tetradecanoic acid	0.09	—

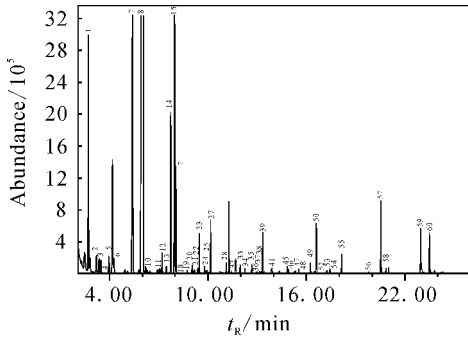


图 1 HLB 固相萃取小柱提取的白酒挥发性成分的总离子流图

Fig. 1 TIC of the volatile compounds from Chinese wine extracted by HLB SPE

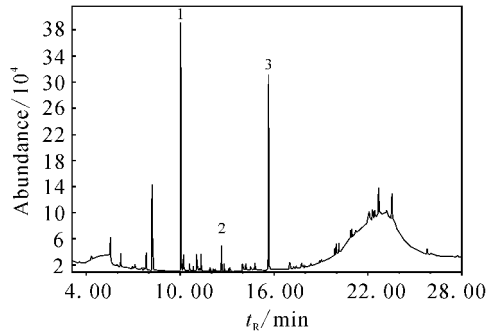


图 4 白酒穿透 HLB 固相萃取柱样品的总离子流图

1—乙酸;2—丁酸;3—己酸

Fig. 4 TIC of Chinese wine passing through the HLB SPE

1—acetic acid; 2—butanoic acid;
3—hexanoic acid

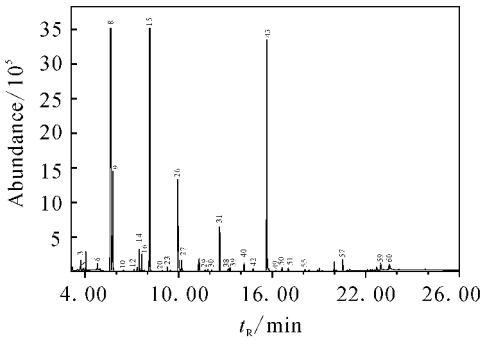


图 2 白酒直接进样得到的挥发性成分的总离子流图

Fig. 2 TIC of the volatile compounds from Chinese untreated wine

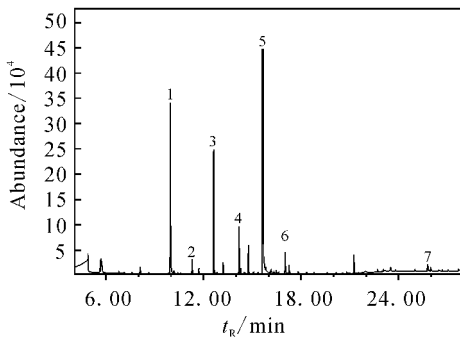


图 3 MAX 固相萃取小柱提取的白酒有机酸成分的总离子流图

1—乙酸;2—丙酸;3—丁酸;4—戊酸;
5—己酸;6—庚酸;7—十四酸

Fig. 3 TIC of the organic acids from Chinese wine extracted by MAX SPE

1—acetic acid; 2—propanoic acid;
3—butanoic acid; 4—pentanoic acid;
5—hexanoic acid; 6—heptanoic acid;
7—tetradecanoic acid

利用固相萃取技术,从白酒中共分离出 115 种成分,鉴定出其中 50 种成分(见表 1,有机酸见图 3,乙酸乙酯由于在溶剂前出峰,所以表中未列出);而直接进样鉴定出白酒中的 29 种成分,未检测到烷烃、缩醛及部分酯、醇,而经固相萃取富集后可以检出;HLB 固相萃取得到的样品中未检测到有机酸成分。由此可知,经过清洗后有机酸成分全部穿透小柱,穿透 HLB 小柱的样品经 GC/MS 分析(图 4),主要成分为有机酸,在 MAX 固相萃取柱的洗脱液中检测到 7 种有机酸。

固相萃取技术以样品、溶剂用量少、提取的通用性和较好的选择性得到了广泛的应用。通过选择适当的洗脱条件可以使目标成分保留或穿过,从而达到净化、富集的目的。通过图 1、2 和 4 的比较,可以看出白酒样品在 HLB 小柱中醇、酯、醛等中性成分得到保留,而酸性成分主要是有机酸穿过 HLB 柱,用 5% 氨水洗涤,可以使残留的有机酸成盐而得到进一步的洗脱。这样,醇、酯等成分与有机酸得到分离,分离后的有机酸再用氨水中成盐后上 MAX 离子交换小柱,酸性成分得到保留,用二氯甲烷可以洗去微量的中性杂质,然后再酸化洗脱得到有机酸。两种固相萃取小柱的组合运用,可以有效地把酒中的有机酸和醇、酯等成分分离。

在洗脱 OASIS MAX 小柱时,可以使用 $\text{CH}_3\text{CN-HCl}$,也可以使用 $\text{CH}_3\text{OH-HCl}$,而使用 $\text{CH}_3\text{OH-HCl}$ 洗脱进样后,由于甲醇在盐酸条件下,在进样口内与部分有机酸形成酯,会影响它的定量,所以,本实验选择 $\text{CH}_3\text{CN-HCl}$ 来洗脱有机酸。

以往分析白酒中的有机酸多采用直接进样

或将有机酸用 NaOH 中和后,蒸发除去醇、酯等成分,再将有机酸衍生或酸化液液萃取,这样消耗的时间长,步骤较为繁琐,不可避免的会造成样品的损失。本实验采用的固相萃取技术缩短了时间,简化了步骤。

参考文献:

[1] 邵长军,李刚,李亮.白酒香型与香气成分探究[J].酿酒科技,2005(8):92-93.
 [2] 金佩璋.气相色谱分析与白酒香味及感官品评的关系研究[J].酿酒,2005,32(4):87-89.
 [3] 曾祖训.试论白酒香味成分与质量风格的关系[J].酿酒,2002,29(1):8-10.
 [4] 张洪波,刘鸿雁.大庆老窖白酒直接进样 GC/MS 定性定量分析[J].酿酒,2005,32(3):10-11.
 [5] 陈仁远.FFAP 毛细管柱直接进样测定白酒中微量成分[J].酿酒科技,2004(5):105-107.
 [6] 郭文杰.利用大口径毛细管柱直接进样快速测定白酒中的乳酸乙酯和己酸乙酯[J].酿酒科技,1995(3):27-28.

[7] 蔡心尧,尹建军.毛细管色谱直接进样法测定白酒中高碳脂肪酸乙酯的研究[J].分析测试学报,1998,17(3):63-65.
 [8] 胡家元,李家明.气相色谱法快速测定白酒与发酵液中的低沸点有机酸[J].酿酒科技,1994,(4):95.
 [9] MATO I, SUAREZ-LUQUE S, HUIDOBRO JF. A review of the analytical methods to determine organic acids in grape juices and wines[J]. Food Research International, 2005, 38(10): 1175-1188.
 [10] MARIA EO, MAMEDE, GLAUCIA MP. Study of methods for the extraction of volatile compounds from fermented grape must [J]. Food Chemistry, 2006, 96(4): 586-590.
 [11] LOPEZ R, AZNAR M, CACHO J, et al. Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection [J]. Chromatog A, 2002, 966(1/2): 167-177.

ICP-MS 实践指南

李金英 姚继军等译

《ICP-MS 实践指南》是美国 Robert Thomas 专著《Practical Guide to ICP-MS》的中译本。本书由李金英、姚继军等译,原子能出版社 2007 年 4 月出版。

2001 年 4 月,美国 Spectroscopy 杂志(www.spectroscopyonline.com)发表了 Robert Thomas 的 ICP-MS 的系列文章,《Practical Guide to ICP-MS》一书在此基础上成文。该书保留了这些月刊性文章的基本内容,以一种通俗易懂的形式反映了作者从事 ICP-MS 研究 20 余年的实践经验。

《ICP-MS 实践指南》全书共分 20 章:

ICP-MS 概述,包括 ICP-MS 的工作原理和组成系统的基本部件;简要概述离子形成的原理——利用高温等离子体生成正电荷离子;样品引入系统——等离子体中样品由液态转变为适合电离的细颗粒气溶胶,介绍不同类型的商用雾化器和雾化室;等离子体源——等离子体放电形成的基本原理;接口区;离子聚焦系统——通过静电作用在轴向或垂直方向将待测元素离子从接口区传输至质量分离的装置;质量分析器——将离子按照其质荷比(m/z)进行分离的装置,包括四极杆、双聚焦扇形磁场、飞行时间、碰撞/反应池四种质量分离技术;检测器,包括通道式电子倍增器和法拉第杯、离散打拿极电子倍增器;峰值测量方案;定量方法,包括外标法、标准加入法及同位素比值法和内标法;概述各种干扰,包括谱线干扰、基体干扰以及消除或抑制各种干扰的方法;沾污问题。影响 ICP-MS 分析结果的主要因素包括采样、样品制备、处理、分解过程,试剂和标准的选择,样品制备装置,实验环境及采用的仪器和方法;ICP-MS 系统各个部件的日常维护;进样附件的选择,包括激光烧蚀进样系统、流动注射分析系统、电热蒸发进样器、去溶装置、直接注射雾化器和色谱分离装置等;ICP-MS 在环境、生物医学、地球化学、半导体工业、核工业及其他领域如冶金、石油化学、食品分析中的应用;ICP-MS 与其他原子谱技术在检出限、分析工作范围、样品处理量、常见干扰、实用性、购买和运行成本、相关消耗品等方面的比较;从分析性能、检测能力、精密度、准确度、动态范围、技术支持及相关售后服务等一些重要方面考虑如何选择 ICP-MS。

欲购买者请与原子能出版社联系。

联系人:刘 娟

电 话:010-68462073

地 址:北京市海淀区阜成路 43 号 邮 编:100037