

液液萃取结合气-质联机分析景芝白干酒中的挥发性成分

吴继红, 黄明泉*, 孙宝国, 郑福平, 孙金沅

(1.北京工商大学 北京市食品风味化学重点实验室, 北京 100048;

2.北京工商大学 食品添加剂与配料北京高校工程研究中心, 北京 100048)

摘要: 采用不同的溶剂, 通过液液萃取法结合气-质联机对景芝白干酒中的香气成分进行分析, 并通过NIST 11 谱库检索和保留指数进行了鉴定。结果表明, 不同种类和极性的有机溶剂, 其萃取出来的成分也不相同。采用正戊烷作为萃取剂, 共发现30 种物质, 采用乙醚作为萃取剂, 共发现29 种物质, 采用二氯甲烷作为萃取剂, 共发现35 种物质。3 种溶剂一共萃取出65 种物质, 其中醇类化合物9 种、酯类化合物19 种、酸类化合物11 种、烃类化合物14 种、芳香族化合物3 种、呋喃类化合物3 种、醛类化合物3 种、酮类化合物1 种、含氮化合物1 种、含硫化合物1 种。

关键词: 液液萃取; 有机溶剂; 景芝白干酒; 香气成分; 气相色谱-质谱法

Analysis of Volatile Compounds in Jingzhi Baigan Liquor by Liquid-liquid Extraction (LLE) and Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

WU Ji-hong, HUANG Ming-quan*, SUN Bao-guo, ZHENG Fu-ping, SUN Jin-yuan

(1. Beijing Key Laboratory of Flavor Chemistry, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China;

2. Beijing Higher Institution Engineering Research Center of Food Additives and Ingredients, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China)

Abstract: Volatile compounds of Jingzhi Baigan liquor were analyzed by liquid-liquid extraction and gas chromatography-mass spectrometry and identified by mass spectral library searching and comparison of retention indexes. Different compounds were extracted by using different kinds of organic solvents with various polarities. The results showed that 30 compounds were identified in *n*-pentane extract compared to 29 compounds in ethyl ether extract and 35 compounds in dichloromethane extract. In total, 65 compounds were extracted with three organic solvents including 9 alcohols, 19 esters, 11 acids, 14 alkanes, 3 aromatics, 3 furans, 3 aldehydes, 1 ketones, 1 nitrogenous compound and 1 sulfocompound.

Key words: liquid-liquid extraction; organic solvent; Jingzhi Baigan liquor; flavor compounds; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

中图分类号: TS207.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2014) 08-0072-04

doi:10.7506/spkx1002-6630-201408013

中国白酒已有几千年的历史, 是中华民族的传统食品, 也是中华文明的象征。改革开放以来, 中国的白酒得到了快速的发展, 其生产工艺有了较大的改善和提高^[1-2]。白酒的成分极其复杂, 除了含有约98%~99%的水和乙醇以外, 还有约1%~2%的其他成分^[3], 同时也正是这微量的其他成分决定了酒的香型和品质。气相色谱-质谱 (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) 联机技术作为一种先进的分离检测技术, 在白酒的香气

成分分析中发挥着重要的作用^[4]。从20世纪60年代原轻工业部在贵州茅台酒厂和山西汾酒酒厂的科学试点工作开始^[5], 越来越多的人投入到中国白酒香气成分的研究这个课题中去。

景芝白干酒作为山东白酒的典型, 其香型特点非常特殊。1957年, 白酒专家首次在景芝白干酒中发现芝麻香“因子”, 从1965年起人们开始对芝麻香型白酒进行探索。在20世纪80—90年代, 山东一轻厅科研所、山东

收稿日期: 2013-07-18

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (31301466); 2012年北京市新世纪百千万人才工程培养经费资助项目; “十二五” 国家科技支撑计划项目 (2011BAD23B01)

作者简介: 吴继红 (1989—), 女, 硕士研究生, 研究方向为香料香料的分析与应用。E-mail: wujihong12@126.com

*通信作者: 黄明泉 (1977—), 男, 副教授, 博士研究生, 研究方向为香料香精。E-mail: hmqsir@163.com

大学实验中心、轻工业部食品发酵所等相关人员分别采用分馏法及直接进样法对景芝白干酒的挥发性成分进行了研究探讨^[6]。景芝白干酒的典型性研究终于取得了决定性的胜利,以芝麻香著称的景芝白干,的确是独立成型的一类白酒。

液液萃取作为一种常用的技术^[7-10]在分离提取研究中被广泛采用。该实验选取了3种溶剂,即正戊烷、二氯甲烷和乙醚分别对白酒中的香气成分进行萃取,然后采用GC-MS对萃取物进行分析检测。本实验主要目的是探究合适的有机溶剂对景芝白干酒进行萃取,并为其香气成分的剖析做好铺垫,为进一步地改善白酒工艺提供依据^[11]。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

景芝白干酒(质量等级:优级;酒精度:49%) 山东景芝酒厂;二氯甲烷、乙醚、戊烷(均为分析纯) 国药集团化学试剂有限公司;C₆~C₃₀正构烷烃(色谱纯) 北京化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

RE-52AA 旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂; SL-N Electronic Balance 电子天平 上海民桥精密科学仪器有限公司; 7890N-5975c 气相色谱-质谱联用仪、10 μL 微量进样器 美国安捷伦公司; N-Evap 系列氮吹仪 上海思伯明仪器设备有限公司。

1.3 方法

1.3.1 液液萃取

取40 mL 景芝白干酒样,用90 mL 重蒸的正戊烷平均分3次萃取。合并萃取液于250 mL 的烧瓶中,加入60 g 无水硫酸钠,封口后置于-20℃的冰箱内过夜。之后过滤得到滤液,滤液经过减压旋转蒸发后除去大部分溶剂。氮吹浓缩至500 μL,待GC-MS分析。

按照上述方法,分别再用等量的重蒸的乙醚、二氯甲烷萃取,最终得到氮吹浓缩后的样品500 μL,待GC-MS分析。

1.3.2 GC-MS条件

1.3.2.1 气相色谱条件

色谱柱:FFAP毛细管柱(60 m×0.25 mm, 0.25 μm);载气:He(99.999%);恒流:柱流速1.0 mL/min;分流比:50:1;进样量:1 μL;进样口温度:250℃;升温程序:初温35℃,以10℃/min升至50℃,保持20 min;以1℃/min升至70℃,保持10 min,再以3℃/min升至250℃,保持5 min^[12];

1.3.2.2 质谱条件

EI源;电子能量70 eV;离子源230℃;四极杆温度

150℃;传输管线温度:250℃;溶剂延迟时间3.0 min;扫描模式full scan;扫描质量范围m/z 29~450。

1.3.3 定性分析

经过NIST 11谱库检索,并结合正构烷烃的保留指数、参考文献[11]及相关网站等共同进行定性。保留指数计算公式:

$$RI = 100n + 100 \times \frac{t_a - t_n}{t_{n+1} - t_n}$$

式中:RI为保留指数;n+1和n分别为未知物流出前后正构烷烃碳原子数,t_{n+1}和t_n分别为相应正构烷烃的保留时间;t_a为未知物在气相色谱中的保留时间(t_n<t_a<t_{n+1});a为未知物峰^[13]。

2 结果与分析

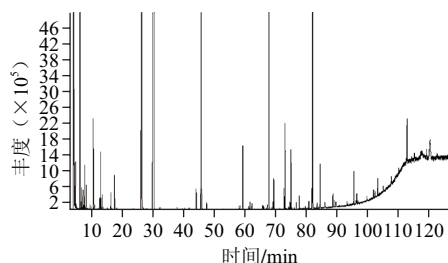


图1 正戊烷萃取结合GC-MS分析景芝白干酒挥发性成分总离子流图
Fig.1 GC-MS TIC of volatile compounds in Jingzhi Baigan liquor extracted with n-pentane

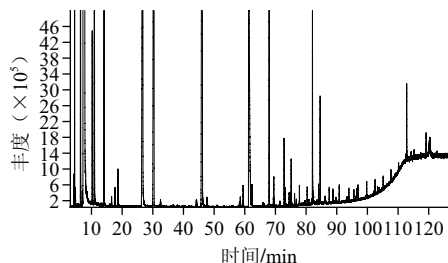


图2 乙醚萃取结合GC-MS分析景芝白干酒挥发性成分总离子流图
Fig.2 GC-MS TIC of volatile compounds in Jingzhi Baigan liquor extracted with ethyl ether

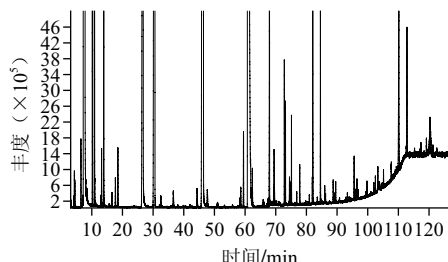


图3 二氯甲烷萃取结合GC-MS分析景芝白干酒挥发性成分总离子流图

Fig.3 GC-MS TIC of volatile compounds in Jingzhi Baigan liquor extracted with dichloromethane

分别用戊烷、乙醚和二氯甲烷为溶剂，依次采用液液萃取法对景芝白干白酒的挥发成分进行了萃取、浓缩，用GC-MS进行了分析，并采用谱库检索，保留指数等对照等手段进行定性分析。相应的总离子流图如图1~3所示，分析鉴定结果如表1所示。

表1 3种溶剂萃取结合GC-MS分析景芝白干白酒挥发性成分
Table 1 Volatile compounds of Jingzhi Baigan liquor extracted with different organic solvents

序号	RI值计算值/文献值	化合物	面积百分比/%			鉴定方式
			正戊烷	乙醚	二氯甲烷	
1	741	2-甲基丁烷	38.89	—	—	MS
2	794	环戊烯	0.18	—	—	MS
3	801	庚烷	0.16	—	—	MS
4	803	乙醛	—	0.04	—	MS
5	860	环己烷	0.06	—	—	MS
6	861	2-甲基-1-戊烯	0.06	—	—	MS
7	866	2-丙硫醇	0.11	—	—	MS
8	911/885 ^[14]	乙酸乙酯 ^[19]	—	2.19	—	MS,RI
9	912/900 ^[14]	1,1-二乙氧基乙烷	7.05	—	—	MS,RI
10	933	3-甲基丁醛	0.06	0.05	—	MS
11	947	2,4,5-三甲氧基-1,3-二氧戊环	0.06	—	—	MS
12	960	丙酸乙酯 ^[19]	0.13	—	—	MS
13	977	1,1-二乙氧基-2-甲基丙烷	0.11	—	—	MS
14	1 019/1 000 ^[14]	2-丁醇	—	0.32	0.34	MS,RI
15	1 030	丁酸乙酯	0.34	—	—	MS
16	1 032	1-丙醇	—	2.46	2.73	MS
17	1 073	1,1-乙氧基-3-甲基丁烷	0.28	—	—	MS
18	1 090/1 098 ^[15]	2-甲基-1-丙醇	0.13	1.55	1.69	MS,RI
19	1 127/1 138 ^[16]	戊酸乙酯	0.22	0.05	0.06	MS,RI
20	1 134/1 151 ^[14]	正丁醇	0.11	0.14	—	MS,RI
21	1 205/1 220 ^[14]	3-甲基-1-丁醇	4.20	5.30	6.70	MS,RI
22	1 232/1 223 ^[17]	己酸乙酯	37.31	8.01	14.13	MS,RI
23	1 251/1 331 ^[18]	庚酸乙酯	0.18	—	—	MS,RI
24	1 337/1 342 ^[14]	乳酸乙酯	4.80	7.85	—	MS,RI
25	1 434/1 424 ^[14]	辛酸乙酯	0.38	0.06	0.15	MS,RI
26	1 454/1 452 ^[18]	乙酸	2.95	—	—	MS,RI
27	1 462	二乙缩醛呋喃	—	—	0.04	MS
28	1 466/1 468 ^[18]	糠醛 ^[19]	—	0.07	0.08	MS,RI
29	1 512/1 496 ^[19]	苯甲醛	—	—	0.64	MS,RI
30	1 541	2,6-二甲基-4-庚醇	0.88	—	—	MS
31	1 569	2-甲基丙酸	—	—	0.02	MS
32	1 628/1 624 ^[15]	丁酸	0.11	0.03	0.24	MS,RI
33	1 629	丝氨酸甲酯	—	0.17	—	MS
34	1 635/1 630 ^[14]	癸酸乙酯	0.33	—	0.13	MS,RI
35	1 663	2-呋喃甲醇	—	0.03	0.05	MS
36	1 676/1 667 ^[17]	丁二酸二乙酯 ^[19]	—	0.07	0.10	MS,RI
37	1 700	十七烷	—	0.02	—	MS
38	1 737	3-苯氧基-2-丁醇	—	0.04	—	MS
39	1 738/1 745 ^[18]	戊酸	—	—	0.06	MS,RI
40	1 816	5-苯基-2-戊酮	—	—	0.02	MS
41	1 842/1 840 ^[20]	十二烷酸乙酯	0.22	—	0.03	MS,RI
42	1 843	壬酸乙酯	0.07	—	—	MS
43	1 846/1 852 ^[15]	己酸	1.22	0.50	0.73	MS,RI
44	1 886/1 892 ^[16]	苯丙酸乙酯	—	—	0.22	MS,RI
45	1 899	十九烷	—	0.33	—	MS
46	1 914/1 931 ^[14]	苯乙醇	0.19	0.22	0.28	MS,RI
47	1 954/1 958 ^[18]	庚酸	—	—	0.02	MS,RI

续表1

序号	RI值计算值/文献值	化合物	面积百分比/%			鉴定方式
			正戊烷	乙醚	二氯甲烷	
48	1 962	甲酚	—	—	0.01	MS
49	2 021	木焦油醇	—	0.03	—	MS
50	2 036	2-甲氧基-4-乙基苯酚	—	0.02	—	MS
51	2 048/2 048 ^[18]	十四烷酸乙酯	—	—	0.01	MS,RI
52	2 061/2 050 ^[18]	辛酸	—	—	0.03	MS,RI
53	2 099	二十烷	—	0.03	0.02	MS
54	2 181	4-乙基苯酚	—	—	0.01	MS
55	2 199	二十二烷	—	0.03	—	MS
56	2 253	棕榈酸乙酯	0.12	—	—	MS
57	2 254/2 251 ^[21]	十六烷酸乙酯	—	—	0.05	MS,RI
58	2 273	正癸酸	—	—	0.02	MS
59	2 300	四氢噻唑	—	0.03	—	MS
60	2 530/2 455 ^[22]	9,12-十八碳二烯酸乙酯	—	—	0.03	MS,RI
61	2 532/2 456 ^[22]	9,12-十八烷酸乙酯	0.07	—	—	MS,RI
62	2 600	二十四烷	—	—	0.03	MS
63	2 610	[2-甲基乙基硫代]-乙酸	—	0.02	—	MS
64	2 908	棕榈酸	0.27	—	0.34	MS
65	2 099	硬脂酸	—	0.03	0.02	MS

注：MS. 质谱分析法；RI. 保留指数法；—. 未检出。

由表1可以看出，采用经过NIST 11谱库检索和正构烷烃保留指数鉴定后，采用戊烷、乙醚和二氯甲烷作为萃取剂，共发现65种物质，其中醇类化合物9种、酯类化合物19种、酸类化合物11种、烃类化合物14种、芳香族化合物3种、呋喃类化合物3种、醛类化合物3种、酮类化合物1种、含氮化合物1种、含硫化合物1种。

同时还可以看出，不同溶剂由于极性的不同，所萃取出的成分也不一样。采用正戊烷作为萃取剂，共发现30种物质，其中醇类4种、酯类12种、酸类3种、醛类1种、烃类9种、含硫化合物1种。采用乙醚作为萃取剂，共发现29种物质，其中醇类7种、酯类7种、酸类5种、芳香族化合物1种、醛类2种、烃类4种、呋喃类化合物2种、含氮化合物1种。采用二氯甲烷作为萃取剂，共发现35种物质，其中醇类6种、酯类10种、酸类9种、芳香族化合物3种、醛酮类2种、烃类2种、呋喃类化合物3种。可见，萃取溶剂极性越大，所分析出的极性成分也就越多，非极性成分越少。所以为准确地全面分析白酒的挥发性香成分，不同极性的萃取溶剂相结合是比较好的方法。按照相似相溶原理，正戊烷萃取应该获得更多的烷烃类物质，而在本研究中大部分烷烃的行为也是如此。但对于诸如十九烷、二十烷、二十二烷、二十四烷等个别未发现烷烃，经多次萃取及分析，可以看出白酒中这些物质的含量较低且正戊烷对它们的萃取率较低。即使是一样的溶剂，对不同链长及链结构的烷烃萃取效率是不同的，相似相溶在一些长链烷烃萃取中不一定是总是有效^[23-25]。在20世纪90年代，胡国栋^[23]对不同年份的特级景芝白干酒的香味组分进行了研究：采用PEG20M交联柱直接进样分析白酒，获得了67个组

分峰, 对其中的14种醇类、7种羰基化合物、8种有机酸、1种缩醛、1种吡嗪化合物进行了定量分析; 随后又采用动态顶空进样分析白酒的微量挥发性组分, 共检出了74种化合物, 包含有41种酸、10种醇、7种醛、5种酮类、10种缩醛类及1种芳烃(甲基萘); 同时也对含氮化合物进行了测定, 共检测出36种化合物, 其中吡嗪类化合物有29种。但上述实验仅报道了该酒中检测出的7种呋喃类化合物和含量较高的几种酯类, 它们分别是糠醛、糠醇、2-乙氧基-5-甲基呋喃、2-戊基呋喃、2-乙酰基呋喃、5-甲基-2-糠醛和2-乙酰基-5-甲基呋喃、乙酸乙酯、丙酸乙酯和丁二酸二乙酯等, 其他成分未具体报道。本实验检测到的呋喃类化合物仅有3种, 少于上述文献报道, 但却检测出19种相对含量较高的酯类化合物, 其中18种化合物是首次报道, 包括13种酯类化合物(丁酸乙酯、戊酸乙酯、庚酸乙酯、癸酸乙酯、丝氨酸甲酯、十二烷酸乙酯、壬酸乙酯、苯丙酸乙酯、十四烷酸乙酯、棕榈酸乙酯、十六烷酸乙酯、9,12-十八碳二烯酸乙酯、9,12-十八烷酸乙酯), 3种芳香族化合物(甲酚、2-甲氧基-4-乙基苯酚、4-乙基苯酚)、1种含氮化合物(四氢噻唑)和1种含硫化合物(2-丙硫醇)。由于本实验仅选取了优级景芝白干酒为待测样品, 该酒样的档次及批次相对单一, 且该酒价格低廉, 主要面向低消费人群, 所以该酒中的香味成分相对特级景芝白干酒偏少。

3 结 论

采用不同的溶剂, 通过液液萃取法结合GC-MS对景芝白干酒中的香气成分进行分析, 并通过NIST 11谱库检索和保留指数进行了鉴定。结果表明, 不同种类和极性的有机溶剂, 其萃取出来的成分也不相同。采用正戊烷作为萃取剂, 共发现30种物质, 采用乙醚作为萃取剂, 共发现29种物质, 采用二氯甲烷作为萃取剂, 共发现35种物质。3种溶剂一共萃取出65种物质, 其中醇类化合物9种、酯类化合物19种、酸类化合物11种、烃类化合物14种、芳香族化合物3种、呋喃类化合物3种、醛类化合物3种、酮类化合物1种、含氮化合物1种、含硫化合物1种。由检出的化合物可知, 酯类化合物、醇类和酸类化合物种类较多, 这与景芝白干酒本身的成分及微生物的代谢有关。另外, 醛酮类、酚类化合物及含硫化合物可能是由于景芝白干酒中的成分在一定条件下发生各种反应而生成的^[6]。

采用不同极性的溶剂, 经过GC-MS分离鉴定后得到的物质有很大的不同。上述3种萃取剂的极性大小不同, 其提取出的化合物的种类和数目也不相同。有机溶剂的极性越接近白酒中的挥发性化合物的极性, 萃取效果也就越好。这对之后采用液液萃取法提取白酒中的香气成

分时如何选取萃取剂有一定的指导作用, 在以后的实验中可以采取多种溶剂进行萃取, 并可以结合固相微萃取等方法对白酒中的香味化合物进行分析, 以便保证尽量多的风味化合物被萃取出来, 为进一步确定白酒中香气物质提供一定的价值。

参考文献:

- [1] 赖高淮. 新型白酒勾调技术与生产工艺[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2003: 5-10.
- [2] 肖东光. 白酒生产技术全书[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 4-10.
- [3] 汤道文, 谢玉球, 朱法余. 白酒中的微量成分及与白酒风味技术发展的关系[J]. 酿酒科技, 2010(5): 78-81.
- [4] 胡国栋. 气相色谱法在白酒分析中的应用现状与回顾[J]. 食品与发酵工业, 2003, 29(10): 65-69.
- [5] 徐岩, 范文来, 王海燕. 风味分析定向中国白酒技术研究的进展[J]. 酿酒科技, 2010(11): 73-78.
- [6] 熊子书. 景芝白干的芝麻香[J]. 中国酒, 2002(5): 17.
- [7] 范文来, 徐岩, 杨廷栋, 等. 应用液液萃取与分馏技术定性绵柔型蓝色经典微量挥发性成分[J]. 酿酒, 2012, 39(1): 21-29.
- [8] 丁云连, 范文来, 徐岩, 等. 老白干香型白酒香气成分分析[J]. 酿酒, 2008, 35(4): 109-113.
- [9] 杨春霞, 廖永红, 胡建华, 等. 液液萃取与固相微萃取二锅头香气成分的比较[J]. 食品工业科技, 2012, 33(8): 68-74.
- [10] 范文来, 徐岩. 应用液液萃取结合正相色谱技术鉴定汾酒与郎酒挥发性成分: 上[J]. 酿酒科技, 2013(2): 17-26.
- [11] 刘玉平. 中国白酒挥发性成分研究进展[J]. 食品科学, 2010, 31(21): 437-441.
- [12] 张媛媛, 孙金沅. 扳倒井芝麻香型白酒中含硫风味成分的分析[J]. 中国食品学报, 2012, 12(12): 173-179.
- [13] 谢建春. 现代香味分析技术及应用[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2008: 17-18.
- [14] FAN Wenlai, QIAN M C. Identification of aroma compounds in Chinese 'Yanghe Daqu' liquor by normal phase chromatography fractionation followed by gas chromatography/olfactometry[J]. Flavour and Fragrance Journal, 2006, 21(2): 333-342.
- [15] CHA Y J, KIM H, CADWALLADER K R. Aroma-active compounds in Kimchi during fermentation[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1998, 46(5): 1944-1953.
- [16] DIMITRIOS K, STEPHEN J, DONALD S. Comparison of the volatile compositions and flavour properties of cantaloupe, Galia and honeydew muskmelons[J]. Food Chemistry, 2006, 46(5): 95-102.
- [17] FERRARI G, LABLANQUIE O, CANTAQREL R, et al. Determination of key odorant compounds in freshly distilled cognac using GC-O, GC-MS and sensory evaluation[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(18): 5670-5676.
- [18] VERZERA A, ZIINO M, CONDURSO C, et al. Solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry for rapid characterisation of semi-hard cheeses[J]. Analytical Bioanalytical Chemistry, 2004, 380: 930-936.
- [19] SHIMODA M, SHIBAMOTO T. Isolation and identification of headspace volatiles from brewed coffee with an on-column GC/MS method[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1990, 38(3): 802-804.
- [20] MITSUYA S, HIROKO S, HIDEKI S, et al. Comparison of the odor concentrates by SDE and adsorptive column method from green tea infusion[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1995, 43(6): 1616-1620.
- [21] PENG C T. Prediction of retention indices V. Influence of electronic effects and column polarity on retention index[J]. Journal of Chromatography, 200, 903(1/2): 117-143.
- [22] ZHAO Yuping, LI Jiming, XU Yan, et al. Characterization of aroma compounds of four brandies by aroma extract dilution analysis[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2009, 60: 269-276.
- [23] 胡国栋. 景芝白干特征香味成分的研究[J]. 酿酒, 1992, 19(1): 83-88.
- [24] 王海平, 于振法. 景芝白干酒典型性: '芝麻香'研究工作的回顾与展望[J]. 酿酒, 1992, 19(4): 61-70.
- [25] 石丽明, 刘美美, 王晓华. 加速溶剂萃取提取土壤中正构烷烃的方法研究[J]. 岩矿测试, 2010, 29(2): 104-108.