

doi:10.3969/j.issn.2095-6002.2014.05.006

文章编号:2095-6002(2014)05-0027-08

引用格式:孙啸涛,张锋国,董蔚,等. 芝麻香白酒中3-甲硫基丙醇的GC-FPD分析. 食品科学技术学报,2014,32(5):27-34.



SUN Xiaotao, ZHANG Fengguo, DONG Wei, et al. GC-FPD analysis of 3-methylthiopropanol in sesame-flavor liquor.

Journal of Food Science and Technology, 2014,32(5):27-34.

芝麻香白酒中3-甲硫基丙醇的GC-FPD分析

孙啸涛^{1,2}, 张锋国³, 董蔚^{1,2}, 孙金沅^{1,2}, 孙宝国^{1,2,*}

(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. 北京工商大学食品质量与安全北京实验室, 北京 100048;

3. 山东扳倒井集团技术中心, 山东 高青 256300)

摘要:建立了利用气相色谱-火焰光度检测器检测芝麻香白酒风味成分3-甲硫基丙醇的方法。样品前处理方法为 CH_2Cl_2 萃取,酒样浓缩50倍分析;色谱方法为DB-FFAP(60 m×0.25 mm×0.25 μm)毛细管柱,程序升温,进样口温度为260℃,检测器温度为200℃;采用外标法定量。结果表明:在3-甲硫基丙醇质量浓度为5~100 mg/L时,线性相关系数为0.9913,检测限为2.5 mg/L,定量限为5 mg/L。在3-甲硫基丙醇质量浓度为8,30,80 mg/L 3个水平下,回收率为84.3%~89.7%,相对标准偏差为3.7%~4.6%。对国内5家芝麻香型白酒骨干生产企业共18个酒样的3-甲硫基丙醇经换算后的检测结果是:企业I原酒及商品酒中均未检出3-甲硫基丙醇;企业II原酒中未检出3-甲硫基丙醇,商品酒II-a、II-b、II-c和II-d中3-甲硫基丙醇质量浓度分别为1.03,0.35,0.80,0.67 mg/L;企业III原酒及商品酒中均未检出3-甲硫基丙醇;企业IV原酒及商品酒中3-甲硫基丙醇质量浓度低于0.1 mg/L;企业V原酒中未检出3-甲硫基丙醇,商品酒V-a中3-甲硫基丙醇质量浓度为0.18 mg/L。

关键词:3-甲硫基丙醇;3-甲硫基丙酸乙酯;气相色谱-火焰光度检测器;芝麻香白酒

中图分类号:TS262.3;TS202.3

文献标志码:A

白酒是中国的国酒,目前有十二大香型。芝麻香白酒是新中国成立后的创新香型酒,具有“芝麻香突出、诸味协调、丰满细腻、回味悠长”的特点^[1]。风味物质的独特性造就了酒体风格的差异性,GB/T 20824—2007《芝麻香型白酒》中将3-甲硫基丙醇确定为芝麻香白酒的特征风味物质,并规定高度酒中3-甲硫基丙醇质量浓度须大于0.5 mg/L,低度酒质量浓度须大于0.4 mg/L^[2]。3-甲硫基丙醇结构如图1。



图1 3-甲硫基丙醇结构式

Fig.1 Structure of 3-methylthiopropanol

3-甲硫基丙醇俗称菠萝醇,分子式为 $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{OS}$,

具有典型的硫化物气息,稀释到一定程度后具有洋葱、甜的肉汤的气味,是调配肉味香精的重要香料之一,也可用于调配水果、蔬菜、酱油、酒等食用香精^[3]。目前,对于白酒中3-甲硫基丙醇含量的检测方法主要是国标采用的气相色谱-氢火焰离子化检测器(GC-FID)法^[2];胡国栋等^[4]应用气相色谱-火焰光度检测器(GC-FPD)对芝麻香白酒中的高沸点含硫化合物进行了分析,确定3-甲硫基丙醇为芝麻香白酒的特征成分;万素琴等^[5]应用气相色谱-质谱(GC-MS)法对芝麻香白酒中3-甲硫基丙醇进行了测定,检出限为50 μg/L;张媛媛等^[6]应用浸入式固相微萃取和液-液萃取两种前处理方法,结合GC-MS对扳倒井芝麻香型白酒中含硫组分进行分析;张

收稿日期:2014-08-25

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(31301466);北京市教委科技计划重点项目(KZ201410011015)。

作者简介:孙啸涛,男,实验师,主要从事白酒分析方面的研究;

*孙宝国,男,教授,主要从事食品风味方面的研究。通讯作者。

小溪等^[7]建立了 GC-MS 测定发酵液中的 3-甲硫基丙醇含量的方法;侯晟等^[8]建立了高效液相色谱法同步测定发酵液中 3-甲硫基丙醇及其衍生香料的方法。

对白酒中 3-甲硫基丙醇含量检测的已有方法尚有很大改进空间,FPD 是一类对含硫、磷化合物特异性强的选择性检测器,具有灵敏度高、专一性强的优点,尤其适合对含硫化合物的痕量分析^[9-10]。本研究拟利用 GC-FPD 技术采用外标法定量对芝麻香白酒中的 3-甲硫基丙醇进行系统研究,希望建立一种高效、准确和特异性强的检测方法。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

酒样:编号为 I-1、II-1、III-1、III-2、III-3、III-4、IV-1 和 V-1 的原酒,分别取自 5 家芝麻香型白酒骨干生产企业(企业依次编号为企业 I、企业 II、企业 III、企业 IV 和企业 V);编号为 I-a、II-a、II-b、II-c、II-d、III-a、III-b、III-c、IV-a、V-a 的相应企业的商品酒,由市场购得。

3-甲硫基丙醇标样,山东省滕州市瑞元香料厂;C₂H₅OH、CH₂Cl₂(色谱纯),德国 Merck 公司;NaCl、CH₂Cl₂(分析纯),国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

7890A 型气相色谱仪,配自动进样器和火焰光度检测器,美国 Agilent 公司;EYEL 4 OSB-2000 型旋转蒸发仪,日本 TOKYO 公司;HD-200p 型氮吹仪,德国 Blue Marlin 公司。

1.3 样品前处理

取 50 mL 酒样用煮沸 5 min 冷却至室温的超纯水将酒样酒精度稀释至 14%,加入 NaCl 至饱和析出、摇匀,静止 10 min,加入有机溶剂萃取 3 次,合并萃取液。萃取液加入无水硫酸钠干燥过夜、过滤,依次经旋转蒸发仪、氮吹仪浓缩,准确定容至 1 mL,供 GC-FPD 进样分析。

1.4 色谱方法

色谱柱为 DB-FFAP 型(60 m × 0.25 mm × 0.25 μm)毛细管柱;升温程序为初始温度 50 °C,以 15 °C/min 升至 100 °C,以 4 °C/min 升至 140 °C,保持 8 min,以 15 °C/min 升至 220 °C,保持 3 min;载气(N₂)流速 1.0 mL/min;进样口温度为 260 °C;检测器温度为 200 °C;进样量 1 μL;分流比 20:1。

1.5 定量方法

用色谱纯 CH₂Cl₂ 配制 3-甲硫基丙醇的系列标准溶液,质量浓度分别为 1.0、2.5、4.0、5.0、10.0、20.0、50.0、100.0 mg/L;按照 1.4 方法进样分析,以质量浓度-峰面积建立标准曲线;将色谱峰信噪比(S/N)大于 3 的质量浓度确定为检出限,信噪比大于 10 确定为定量限。

2 结果与分析

2.1 典型色谱图分析

3-甲硫基丙醇(质量浓度为 20 mg/L)的典型 GC-FPD 色谱图如图 2,保留时间为 21.3 min 左右的为 3-甲硫基丙醇。

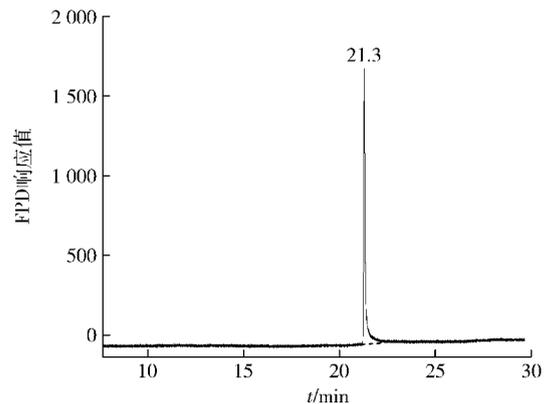


图 2 3-甲硫基丙醇典型色谱图

Fig. 2 Typical chromatogram of 3-methylthiopropanol

2.2 萃取剂的考察

向 50 mL 的 60% 乙醇/水溶液添加 50 μg 的 3-甲硫基丙醇溶液,考察 n-C₆H₁₄、CH₃COOC₂H₅、CH₂Cl₂ 和 CHCl₃ 等萃取剂对 3-甲硫基丙醇萃取率的影响,结果如图 3。由图 3 可以看出,CH₂Cl₂ 萃取率最高,达到 83% 左右,因此,最终选择 CH₂Cl₂ 作为酒样的萃取剂。

2.3 线性范围和检出限、定量限考察

对用 CH₂Cl₂ 溶液配制的一系列质量浓度为 1.0、2.5、4.0、5.0、10.0、20.0、50.0、100.0 mg/L 的 3-甲硫基丙醇标准溶液进行 GC-FPD 分析,以质量浓度-峰面积进行线性回归,绘制标准曲线。线性回归方程为: $y = 358.07x - 727.28$, 线性相关系数: $R^2 = 0.9913$, 线性范围为 5 ~ 100 mg/L。

按照 1.4 建立的色谱方法的检出限(LOD)为 2.5 mg/L(S/N = 3.5, 如图 4), 定量限(LOQ)为 5 mg/L(S/N = 10.1, 如图 5)。

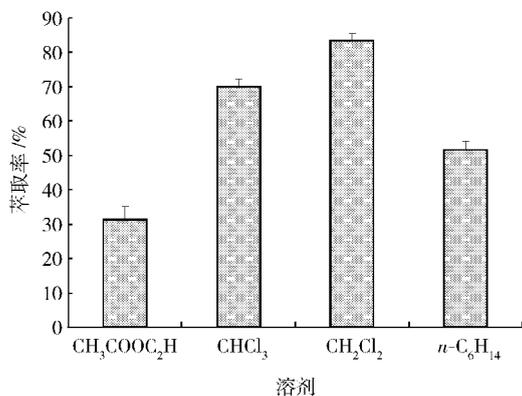


图3 不同溶剂的萃取率

Fig.3 Extraction rate of different solvents

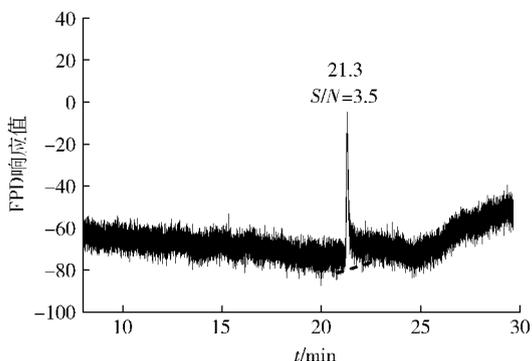


图4 检出限的色谱图

Fig.4 Chromatogram of LOD

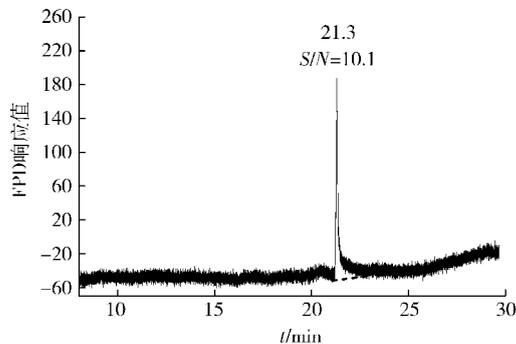


图5 定量限的色谱图

Fig.5 Chromatogram of LOQ

2.4 回收率和精密度考察

称取 50 mL 的 60% 乙醇-水溶液, 分别添加质量浓度为 8, 3, 80 mg/L 的低、中、高 3 个水平的 3-甲硫基丙醇标准溶液, 按照 1.3 的方法前处理, 依照 1.4 方法进样分析, 各添加水平下的平均回收率和相对标准偏差如表 1; 对 8, 30, 80 mg/L 共 3 个水平的溶液连续测样 3 天, 计算日内精密度和日间精密度, 结果显示其相对标准偏差均小于 5%.

2.5 实际样品测定结果

应用 1.4 建立的 GC-FPD 方法对企业 I、II、III、IV、V 提供的 18 个酒样的芝麻香白酒进行系统分析, 图 6 至图 23 为相关酒样的 GC-FPD 色谱图.

表 1 平均回收率和相对标准偏差

Tab.1 Average spiked recoveries and relative standard deviations

%

	添加量 8 mg/L		添加量 30 mg/L		添加量 80 mg/L	
	RSD	平均回收率	RSD	平均回收率	RSD	平均回收率
3-甲硫基丙醇	4.6	85.0	4.1	89.7	3.7	84.3

2.5.1 企业 I 芝麻香白酒的检测结果

原酒 I-1 的 GC-FPD 色谱图如图 6. 将 20 ~ 22.5 min 的窗口放大, 保留时间为 21.3 min 未发现色谱峰, 即未检出 3-甲硫基丙醇; 商品酒 I-a GC-FPD 色谱图如图 7. 在保留时间 21.3 min 发现信噪比为 1.3 的小峰, 但未达到检出限的要求.

2.5.2 企业 II 芝麻香白酒的检测结果

原酒 II-1 的 GC-FPD 色谱图如图 8, 在 20 ~ 22.5 min 的时间窗口, 未发现色谱峰, 即未检出 3-甲硫基丙醇; 商品酒 II-a GC-FPD 色谱图如图 9, 在保留时间为 21.3 min 出现信噪比为 98 的色谱峰, 即检出 3-甲硫基丙醇; 商品酒 II-b 的 GC-FPD

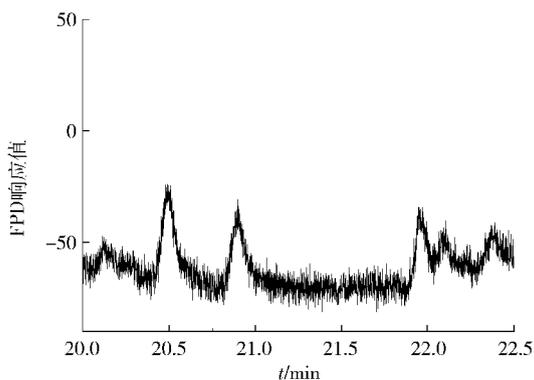


图6 原酒 I-1 色谱图

Fig.6 Chromatogram of original wine of I-1

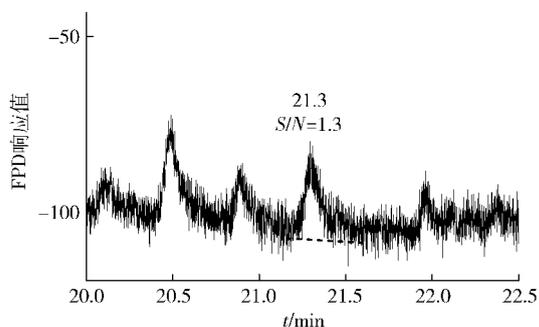


图7 商品酒 I-a 色谱图

Fig. 7 Chromatogram of commercial wine of I-a

色谱图如图10,信噪比为71;商品酒 II-c 和 II-d 的 GC-FPD 色谱图如图11和图12,在保留时间为21.3 min 均检出3-甲硫基丙醇,信噪比分别为26和103.

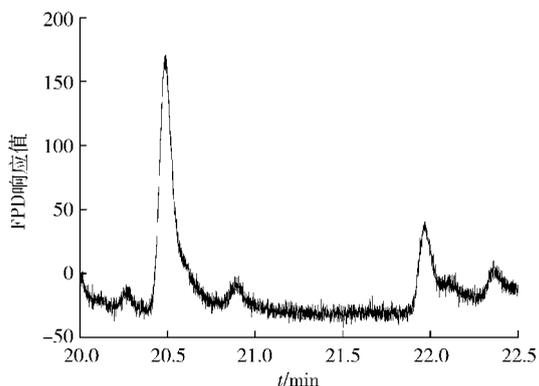


图8 原酒 II-1 色谱图

Fig. 8 Chromatogram of original wine of II-1

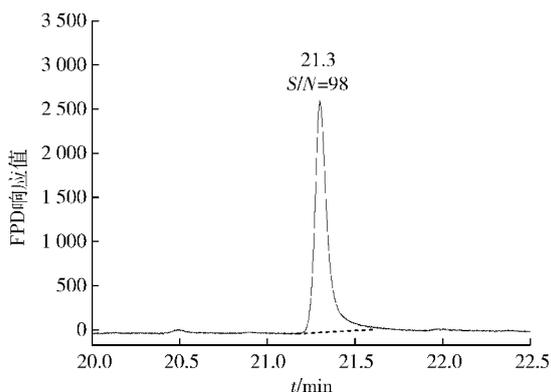


图9 商品酒 II-a 色谱图

Fig. 9 Chromatogram of commercial wine of II-a

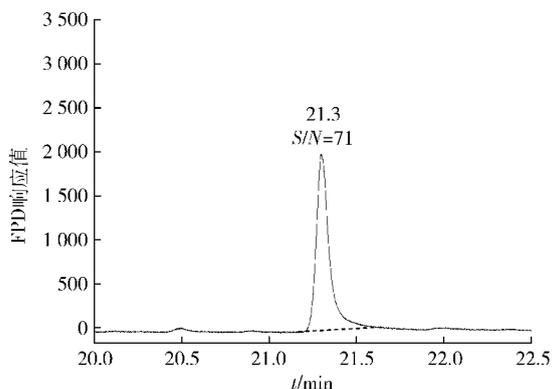


图10 商品酒 II-b 的色谱图

Fig. 10 Chromatogram of commercial wine of II-b

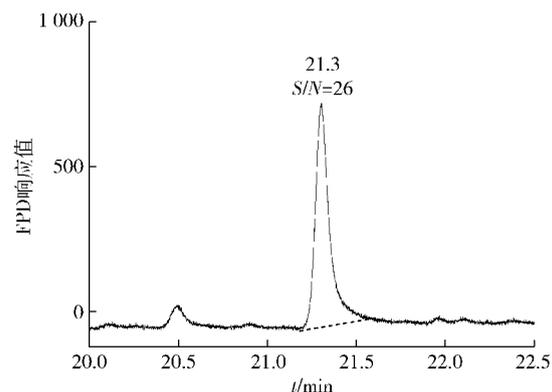


图11 商品酒 II-c 色谱图

Fig. 11 Chromatogram of commercial wine of II-c

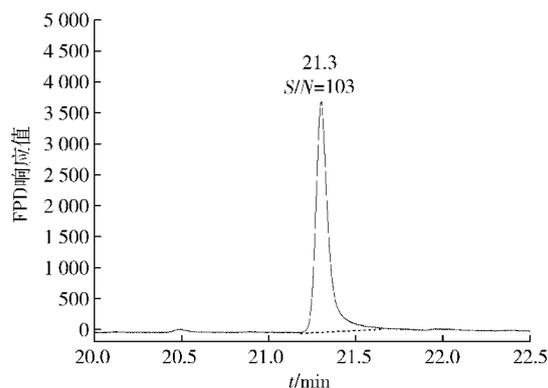


图12 商品酒 II-d 色谱图

Fig. 12 Chromatogram of commercial wine of II-d

2.5.3 企业 III 芝麻香白酒的检测结果

图13至图16为企业 III 不同编号芝麻香原浆酒的色谱图,在20~22.5 min 的时间窗口,均未

发现色谱峰,即未检出3-甲硫基丙醇;图17、图18为商品酒 III-a 和 III-b 的 GC-FPD 色谱图,均未检出3-甲硫基丙醇;图19为商品酒 III-c 色谱图,在20~22.5 min 的时间窗口,发现信噪比为1.6的色谱峰,未达到检出限。

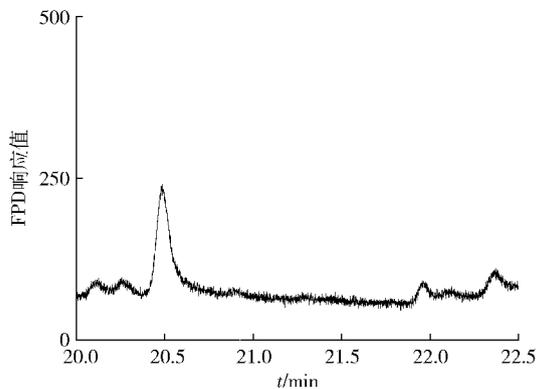


图 13 原酒 III-1 的色谱图

Fig. 13 Chromatogram of original wine of III-1

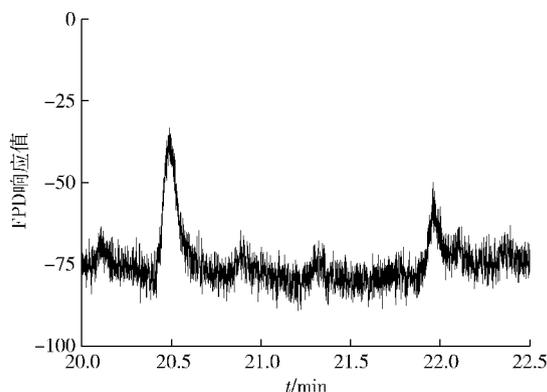


图 16 原酒 III-4 的色谱图

Fig. 16 Chromatogram of original wine of III-4

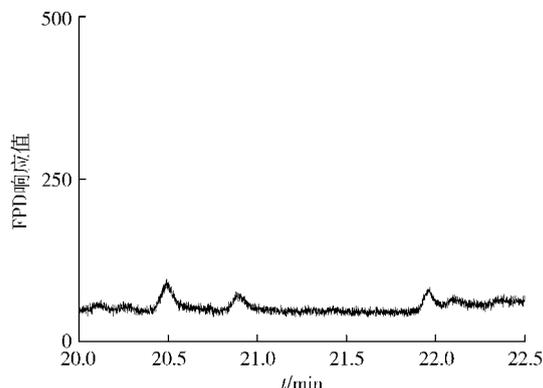


图 14 原酒 III-2 的色谱图

Fig. 14 Chromatogram of original wine of III-2

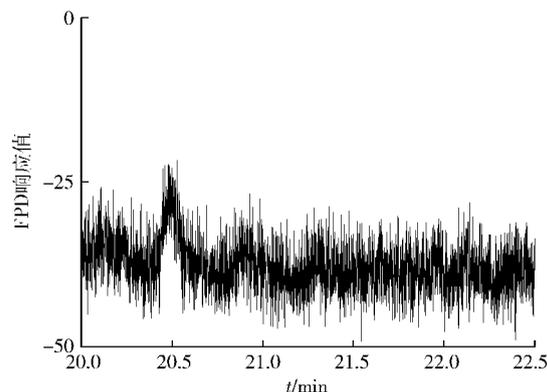


图 17 商品酒 III-a 的色谱图

Fig. 17 Chromatogram of commercial wine of III-a

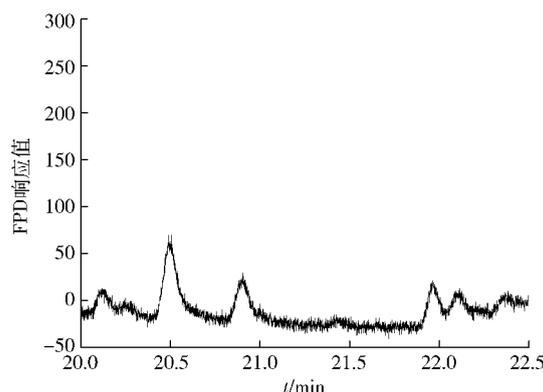


图 15 原酒 III-3 的色谱图

Fig. 15 Chromatogram of original wine of III-3

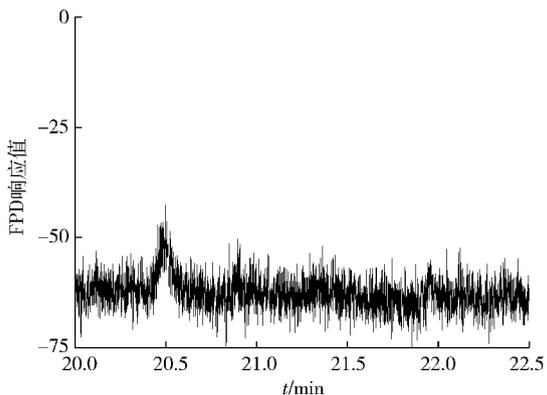


图 18 商品酒 III-b 的色谱图

Fig. 18 Chromatogram of commercial wine of III-b

2.5.4 企业IV芝麻香白酒的检测结果

原酒 IV-1 的 GC-FPD 色谱图如图 20,在 20 ~ 22.5 min 的时间窗口,发现信噪比为 6.1 的色谱峰,即检出 3-甲硫基丙醇;商品酒 IV-a 的 GC-FPD 色谱图如图 21,检出 3-甲硫基丙醇,信噪比为 7.6. 但两

者均未达到定量限要求.

2.5.5 企业V芝麻香白酒的检测结果

原酒 V-1 的 GC-FPD 色谱图如图 22,在 20 ~ 22.5 min 的时间窗口,未检出 3-甲硫基丙醇;商品酒 V-a 的 GC-FPD 色谱图如图 23,检出 3-甲硫基丙醇,信噪比为 15.6.

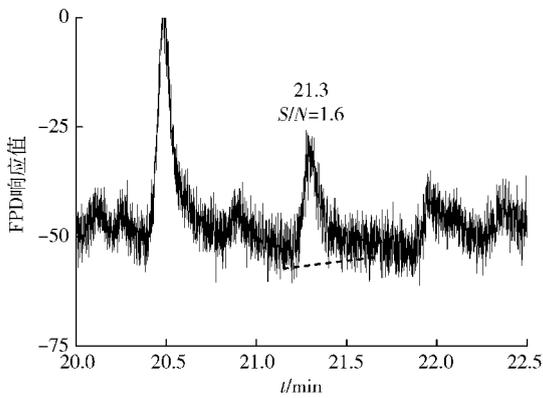


图 19 商品酒 III-c 的 GC-FPD 色谱图

Fig. 19 Chromatogram of commercial wine of III-c

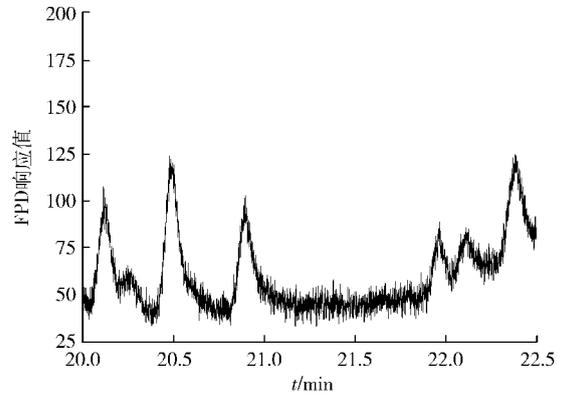


图 22 原酒 V-1 的色谱图

Fig. 22 Chromatogram of original wine of V-1

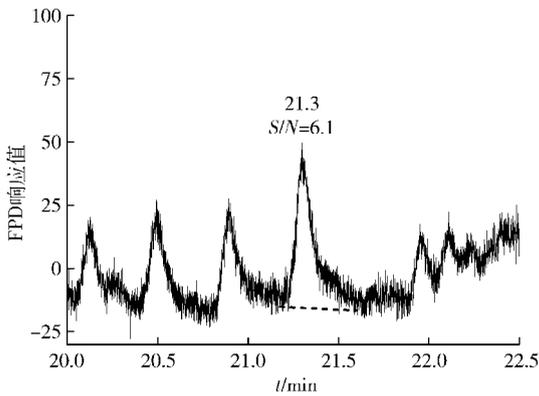


图 20 原酒 IV-1 的色谱图

Fig. 20 Chromatogram of original wine of IV-1

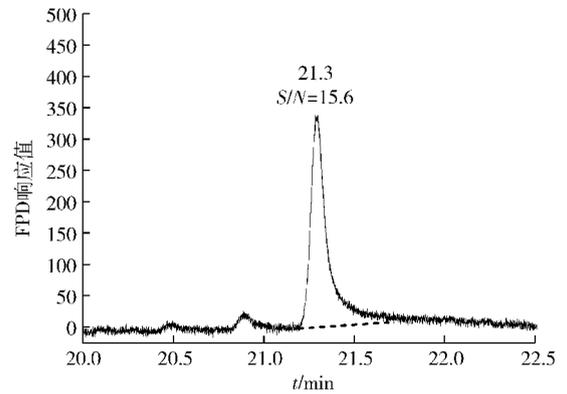


图 23 商品酒 V-a 的色谱图

Fig. 23 Chromatogram of commercial wine of V-a

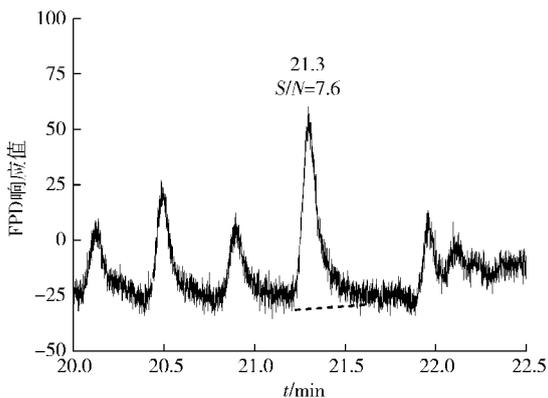


图 21 商品酒 IV-a 的色谱图

Fig. 21 Chromatogram of commercial wine of IV-a

2.5.6 酒样检测结果分析

对芝麻香风格显著的 5 个不同品牌、18 个酒样中 3-甲硫基丙醇含量的检测结果如表 2. 表中所示数据为实际酒样浓度(由浓缩 50 倍酒样换算得到). 企业 I 原酒及商品酒中均未检出 3-甲硫基丙醇; 企业 II 原酒中未检出 3-甲硫基丙醇, 商品酒 II -a、II -c 和 II -d 中 3-甲硫基丙醇质量浓度分别为 1.03, 0.80, 0.67 mg/L, 符合国家标准, 商品酒 II -b 3-甲硫基丙醇质量浓度为 0.35 mg/L, 略低于国家标准; 企业 III 原酒及商品酒中均未检出 3-甲硫基丙醇; 企业 IV 原酒及商品酒中 3-甲硫基丙醇质量浓度低于 0.1 mg/L; 企业 V 原酒中未检出 3-甲硫基丙醇, 商品酒 V -a 中 3-甲硫基丙醇质量浓度为 0.18 mg/L.

表2 实际酒样的检测结果
Tab.2 Results of real wine sample

	芝麻香白酒企业																	
	I		II				III				IV		V					
	原酒	商品酒	原酒	商品酒			原酒	商品酒			原酒	商品酒	原酒	商品酒				
	I-1	I-a	II-1	II-a	II-b	II-c	II-d	III-1	III-2	III-3	III-4	III-a	III-b	III-c	IV-1	IV-a	V-1	V-a
ρ(3-甲硫基丙醇)/(mg·L ⁻¹)	×	×	×	1.03	0.35	0.80	0.67	×	×	×	×	×	×	×	√	√	×	0.18

“×”表示未检出($S/N < 3$);“√”表示检出,但未达到定量限($3 < S/N < 10$);以上结果均为平行测3次的统计结果

3 结论

最早将3-甲硫基丙醇定为芝麻香型白酒国标特征香味物质的原因是,与其他香型白酒相比,3-甲硫基丙醇在芝麻香白酒中含量相对更高^[11],但其在豉香型白酒中含量甚至略高于景芝芝麻香型白酒^[12];同时,3-甲硫基丙醇在越来越多香型白酒中被发现,如米香型白酒(质量浓度约为0.4 mg/L)、豉香型白酒(质量浓度约为0.7 mg/L)^[13],另外,3-甲硫基丙醇的感官特征也并非芝麻香。因此,无论是从含量还是从香味特征角度来衡量,3-甲硫基丙醇在主要代表性芝麻香型白酒中都不具有标志性,将3-甲硫基丙醇定为芝麻香型白酒的特征香味物质是不准确的,在芝麻香型白酒国家标准中规定3-甲硫基丙醇的含量可能是不合理的。

本实验室采用GC-O,GC-MS和GC-NPD等多种手段相结合,在国井芝麻香白酒中共发现11种含硫化合物和31种含氮化合物^[14-15],尤其是在芝麻香白酒中首次发现了甲硫基乙酸乙酯、糠硫醇、二糠基二硫醚、二异丙基二硫、二甲基硫代亚磺酸酯和二甲基四硫醚共6种含硫化合物以及2-乙基吡嗪、2,3-二乙基-5-甲基吡嗪、2-乙酰基吡咯、2-乙酰基吡啶、烟酸乙酯、3-苯基吡啶、3-甲基-2-噁唑烷酮共7种含氮化合物,其中糠硫醇、二糠基二硫醚、吡嗪类化合物以及吡啶类化合物的感官特征是芝麻香。因此,芝麻香白酒的特征香有可能并非由一种单一化合物形成,而是由多种化合物协同贡献形成的整体香,相关研究正在进行中。3-甲硫基丙醇与芝麻香型白酒典型性没有关系,作为特征物质值得商榷,对典型特征物质的分析亦在进一步研究中。

参考文献:

- [1] 徐岩. 科学传承 集成创新 走中国白酒技术持续发展的道路——对芝麻香酒的看法和认识[J]. 酿酒科技, 2013(4): 17-20.
- [2] 中国食品发酵工业研究院,山东景芝酒业股份有限公司. GB/T 20824—2007 芝麻香型白酒[S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.
- [3] 刘玉平,孙宝国,郑福平,等. 3-甲硫基-1-丙醇的合成研究[J]. 香料香精化妆品, 2003(6): 1-2.
- [4] 胡国栋,陆久瑞,蔡心尧,等. 芝麻香型白酒特征组分的分析研究[J]. 酿酒科技, 1994(4): 75-77.
- [5] 万素琴,周玮,颜春荣,等. GC-MS法测定芝麻香型白酒中3-甲硫基丙醇含量[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(4): 268-270.
- [6] 张媛媛,孙金沅,张国锋,等. 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.
- [7] 张小溪,王成涛,安晶晶,等. 发酵液中3-甲硫基丙醇的GC-MS分析[J]. 中国酿造, 2013, 32(3): 146-151.
- [8] 侯晟,王成涛,曹雁平,等. 发酵液中3-甲硫基丙醇及其衍生香料的HPLC同步检测方法的研究[J]. 食品工业科技, 2011(8): 384-391.
- [9] Chin Sungtong, Wu Zeying. Observations on comprehensive two dimensional gas chromatography coupled with flame photometric detection for sulfur- and phosphorus-containing compounds[J]. Analytical Methods, 2010, 2(3): 243-253.
- [10] Gomez-Meire S, Campos C, Falque E, et al. Assuring the authenticity of northwest Spain white wine varieties using machine learning techniques[J]. Food Research International, 2014, 60: 230-240.
- [11] 胡国栋,陆久瑞. 芝麻香型白酒含硫特征组分的分

- 析研究[J]. 酿酒科技, 1995, 72 (6): 67 - 68.
- [12] 冯志强, 邱晓红. 豉香型白酒香型研究[J]. 酿酒, 1995(4): 75 - 84.
- [13] 金佩璋. 豉香型白酒中的 3-甲硫基丙醇[J]. 酿酒, 2004, 31(5): 110 - 111.
- [14] 张媛媛, 孙金沅, 张峰国, 等. 芝麻香型白酒中含硫风味组分的分析[J]. 中国食品学报, 2014, 14(5): 218 - 225.
- [15] 王柏文, 李贺贺, 张锋国, 等. 应用液-液萃取结合 GC-MS 与 GC-NPD 技术对国井芝麻香型白酒中含氮化合物的分析[J]. 食品科学, 2014, 35 (10): 126 - 131.

GC-FPD Analysis of 3-Methylthiopropanol in Sesame-Flavor Liquor

SUN Xiaotao^{1,2}, ZHANG Fengguo³, DONG Wei^{1,2}, SUN Jinyuan^{1,2}, SUN Baoguo^{1,2,*}

(1. *Beijing Key Laboratory of Flavor Chemistry, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China*; 2. *Beijing Laboratory for Food Quality and Safety, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China*; 3. *Technical Center of Bandaoling Co. Ltd., Gaoqing 256300, China*)

Abstract: 3-methylthiopropanol in Sesame-Flavor Liquor was analyzed by gas chromatography-flame photometric detector (GC-FPD) in this study. The wine was concentrated 50 times and extracted by dichloromethane for sample pretreatment. The chromatographic condition carried out that: polar chromatographic column DB-FFAP (60 m × 0.25 mm × 0.25 μm), programmed temperature, inlet temperature 260 °C, detector temperature 200 °C. External standard method was adopted. The results showed that with the concentration of 5 - 100 mg/L of 3-methylthiopropanol the linear correlation coefficient (R^2) was 0.9913, LOD was 2.5 mg/L, LOQ was 5 mg/L, while with the level of 8, 30, 80 mg/L recovery rates were between 84.3% to 89.7%, R.S.D. ranged from 3.7% to 4.6%. Five major Sesame Flavor Liquor corporations and 18 samples were inspected. The 3-methylthiopropanol couldn't be detected in commercial wines including the corporation of I and III, original wines such as I, II, III and V. While the concentration of 3-methylthiopropanol in the commercial wines of II-a, II-b, II-c, II-d and V-a were 1.03, 0.35, 0.80, 0.67, 0.18 mg/L, respectively. In the corporation of IV original wine and commercial wine, its concentration were all below 0.1 mg/L.

Key words: 3-methylthiopropanol; ethyl 3-methylthiopropionate; GC-FPD; sesame-flavor liquor

(责任编辑:叶红波)