

doi:10.12301/spxb202201080

文章编号:2095-6002(2024)03-0058-12

引用格式:陈晓漫,连旭东,叶思廷,等.磁性固相萃取-气质联用-同位素内标法精准检测白酒中8种高级脂肪酸乙酯[J].食品科学技术学报,2024,42(3):58-69.



CHEN Xiaoman, LIAN Xudong, YE Siting, et al. Accurate detection of 8 long-chain fatty acid ethyl esters in Baijiu based on magnetic solid phase extraction-gas chromatography-mass spectrometry combined with isotope internal standards[J]. Journal of Food Science and Technology, 2024,42(3):58-69.

磁性固相萃取-气质联用-同位素内标法精准检测 白酒中8种高级脂肪酸乙酯

陈晓漫¹, 连旭东¹, 叶思廷¹, 安明哲², 赵东²,
郑佳², 孙啸涛¹, 董蔚^{1,*}

(1. 北京工商大学酿酒分子工程中国轻工业重点实验室/北京市食品风味化学重点实验室, 北京 100048;
2. 五粮液集团有限公司, 四川 宜宾 511500)

摘要:高级脂肪酸乙酯是引起酒体浑浊的关键因素之一。为系统分析白酒中的高级脂肪酸乙酯以改善白酒生产过程中的浑浊问题,建立了一种基于氨基化四氧化三铁($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NH}_2$)磁性固相萃取结合气质联用技术的方法,用以同时测定白酒中8种高级脂肪酸乙酯。通过考察酒样的pH值、离子强度、吸附剂用量、吸附时间、解吸溶剂种类、解吸溶剂酸碱度、解吸时间等因素,确定了较佳的萃取条件。结果表明:这8种高级脂肪酸乙酯在各自的质量浓度范围内线性关系良好,相关系数 R^2 均大于0.99;方法检出限和定量限分别为9.1~42.9 $\mu\text{g/L}$ 和5.2~200.0 $\mu\text{g/L}$;回收率为79.6%~99.3%,相对标准偏差($n=3$)为8.0%~10.7%。应用此方法,并结合同位素内标法对24种不同香型和品牌的白酒样品中8种高级脂肪酸乙酯进行精准定量,发现它们的种类和质量浓度存在显著差异。其中,在酱香型白酒中,高级脂肪酸乙酯的检出率最高,达到100%。该方法简便快捷,样品萃取只需10 min,具有高灵敏度和准确性,能够有效避免传统液-液萃取技术的背景干扰问题,可为实现白酒中高级脂肪酸乙酯的精准检测提供一种新的方法。

关键词:高级脂肪酸乙酯; 浑浊; 磁性固相萃取; 同位素内标; 白酒

中图分类号: TS207.3; TS262.3

文献标志码: A

酯类化合物是白酒中一类十分重要的风味化合物,对白酒香气、口感及风格的形成起着关键作用,是白酒中最主要的微量成分之一^[1]。在这些酯类化合物中,乙酸酯的存在最为常见^[2]。高级脂肪酸乙酯(亦称长链脂肪酸乙酯)通常指含有 C_{14} ~ C_{18} 脂肪酸的乙酯^[3],它们是白酒中乙酸酯类化合物的重

要组成部分。虽然这些高级脂肪酸乙酯本身没有显著的香味,但它们对于维持酒的香气和确保酒体品质的稳定性发挥着重要作用^[4]。此外,高级脂肪酸乙酯会导致白酒在稀释降度时出现浑浊现象^[5-6],目前的研究表明,棕榈酸乙酯、油酸乙酯、亚油酸乙酯3种高级脂肪酸乙酯是引起酒体浑浊的主要物

收稿日期:2022-12-01

基金项目:“十四五”国家重点研发计划项目(2022YFD2101205);国家自然科学基金资助项目(32102122)。

Foundation:“14th Five-Year Plan” for National Key Research and Development Program of China (2022YFD2101205); National Natural Science Foundation of China (32102122).

第一作者:陈晓漫,女,硕士研究生,研究方向为白酒风味分析。

*通信作者:董蔚,女,副教授,博士,主要从事酒类风味化学及提取新技术开发的研究。

质^[7]。然而,研究还发现即使在极低浓度或检测不到这3种乙酯的情况下,38% vol和30% vol浓香型白酒在冬季仍会出现失光现象^[8]。因此,除已经提到的3种高级脂肪酸乙酯之外,还需要进一步确定是否有其他类型的高级脂肪酸乙酯会导致酒体浑浊。全面分析白酒中高级脂肪酸乙酯的分布及含量差异,对于科学地解释它们与白酒浑浊之间的关系至关重要。

由于白酒中高级脂肪酸乙酯的浓度较低,且酒体基质复杂,因此在仪器检测前通常需要对其进行分离和富集。目前,用于白酒中高级脂肪酸乙酯的前处理技术主要包括直接进样法、液-液萃取法、固相微萃取法、搅拌棒吸附萃取法和溶剂辅助风味蒸发法^[9-15],但传统方法普遍存在有机溶剂消耗量高、萃取方式烦琐且耗时、靶向性差等问题。其中,液-液萃取法是高级脂肪酸乙酯分析中最为常用的方法。然而,使用该操作方法过程中会消耗大量的有机试剂和无机盐,在模拟酒样中亦检测到棕榈酸乙酯以及部分烷烃类化合物,导致真实酒样中化合物定量结果偏高或出现假阳性^[16]。磁性固相萃取法(magnetic solid phase extraction, MSPE)是一种以磁性或可磁性化的材料作为吸附剂基质的一种新型固相萃取技术^[17]。通过对磁性纳米吸附剂进行修饰^[18-19],该方法可靶向提取目标待测物,进而有效避免背景问题的干扰^[20]。此外,在外加磁场作用下,可在数秒内实现目标待测物与样品基质的快速分离^[21],具有简单、高效、准确等特点,有着良好的萃取能力和萃取效率。目前,MSPE已广泛应用于环境、食品领域,并实现对白酒中有害物质^[22]、风味物质^[23]的准确定量,但尚未见关于MSPE在白酒中高级脂肪酸乙酯定量检测的研究报道。

基于此,本研究建立了一种基于氨基化四氧化三铁($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NH}_2$)磁性固相萃取-气质联用-同位素内标(MSPE-GC-MS)技术,用以同时测定白酒中8种高级脂肪酸乙酯。为了确保定量结果的准确性,采用了同位素内标法,结合GC-MS技术,在24种白酒中对这8种高级脂肪酸乙酯实现了精准检测。该方法简便快速,具有高灵敏度和准确性,可有效避免传统液-液萃取技术的背景干扰问题,不仅可为实现白酒中高级脂肪酸乙酯的精准检测提供新的方法,同时也可为解决白酒降度过程中出现的浑浊问题提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

酒样:市售商品酒共24种。包括浓香型白酒6种,编号及酒精度为GJG(48% vol)、GJ-1(56% vol)、GJ-2(43% vol)、LZ-1(52% vol)、LZ-2(42% vol)、LZ-3(52% vol);酱香型白酒2种,编号及酒精度为LJ(53% vol)、GT(53% vol);清香型白酒4种,编号及酒精度为FJ(64% vol)、HX(56% vol)、NLS-1(52% vol)、NLS-2(45% vol);董香型白酒2种,编号及酒精度为DJ-1(54% vol)、DJ-2(46% vol);老白干香型白酒2种,编号及酒精度为HSLBG-1(38% vol)、HSLBG-2(67% vol);馥郁香型白酒3种,编号及酒精度为JGJ-1(52% vol)、JGJ-2(54% vol)、JGJ-3(52% vol);米香型、豉香型、兼香型、特香型、芝麻香型白酒各1种,编号及酒精度分别为GLSH(48% vol)、YBS(29% vol)、KZJ(36% vol)、STJ(52% vol)、JZ(52% vol)。

$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (质量分数99.5%)、甲醇(色谱纯)、乙醇(色谱纯)、氨水,阿拉丁试剂有限公司;己二醇(质量分数99%)、1,6-己二胺(质量分数99.5%)、乙腈(色谱纯)、乙酸乙酯(色谱纯),北京伊诺凯科技有限公司;稀盐酸溶液(体积分数36.0%~38.0%),J&K科技有限公司; CH_3COONa (质量分数99%)、氢氧化钠(分析纯)、氯化钠(分析纯),上海麦克林生化科技股份有限公司;丙酮(色谱纯),国药集团化学试剂有限公司。

分析标准品包括十四酸乙酯(质量分数98%)、硬脂酸乙酯(质量分数99.3%)、坛墨质检科技有限公司;十五酸乙酯(质量分数97%)、棕榈酸乙酯(质量分数95%)、十七烷酸乙酯(质量分数97%),上海麦克林生化科技股份有限公司;油酸乙酯(质量分数99%)、亚油酸乙酯(质量分数97%)、亚麻酸乙酯(质量分数98%),上海源叶生物科技有限公司;十四酸乙酯-D27(质量分数98%)、棕榈酸乙酯-D31(质量分数98.4%),加拿大C/D/N Isotopes公司;硬脂酸乙酯-D35(质量分数99.1%)、油酸乙酯-D5(质量分数99.62%),上海甄准生物。

模拟酒样的制备:取15 mL乙醇于100 mL容量瓶中,以超纯水定容,配制成体积分数为15%的乙醇水溶液。

1.2 仪器与设备

ME104/02型电子分析天平,梅特勒-托利多仪

器有限公司; Milli-Q 型超纯水仪, 美国 Millipore 公司; Kylin-Bell 型涡旋混合器, 其林贝尔仪器制造有限公司; KH-500DE 型数控超声波清洗器, 江苏昆山禾创超声仪器有限公司; 移液枪, 德国 Eppendorf 公司; 磁力架, 北京启研生物科技有限公司; 气相色谱质谱联用仪[配置 Thermo TG-WAXMS 毛细管柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)]、ESCALAB XI + X 射线光电子能谱仪、Talos F200X S/TEM 型透射电子显微镜、Nicolet iS5 型傅里叶变换红外光谱仪, 美国赛默飞世尔科技公司; JSM-7610F 型热场发射扫描电子显微镜, 日本电子株式会社; lakeshore7407 型振动样品磁强计, 泰科电子有限公司; D8 ADVANCE 型衍射仪, 布鲁克有限公司; SDT Q600 型热重分析仪, 美国 TA 仪器有限公司; ZS90 纳米粒度电位仪, 英国马尔文仪器有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 标准溶液的配制

1) 单个标准溶液的配制。分别准确称取各标准品于 10 mL 容量瓶中, 用无水乙醇定容, 配制成质量浓度为 10 g/L 的单标溶液。

2) 混合标准溶液的配制。分别取 8 种高级脂肪酸乙酯溶液于 10 mL 容量瓶中, 以无水乙醇为溶剂定容, 配置成质量浓度为 1 000 mg/L 的混合标准溶液。取 1 000 mg/L 的混合标准溶液 1 mL, 从无水乙醇定容至 10 mL, 配置成质量浓度为 100 mg/L 的混合标准溶液, 贮藏在 -20 °C 冰箱直至分析。

3) 标准系列工作液的配制。为消除基质的影响, 以添加体积分数 5% 氨水的甲醇溶液为溶剂将质量浓度为 1 000 mg/L 的 8 种目标化合物混合标准溶液逐级稀释成标准系列工作液, 质量浓度依次为 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、20.0、50.0、100.0、200.0、500.0 mg/L。

4) 同位素内标溶液的配制。以无水乙醇为溶剂配制, 十四酸乙酯-D27、棕榈酸乙酯-D31、硬脂酸乙酯-D35、油酸乙酯-D5 共 4 种同位素内标混合标准溶液, 质量浓度均为 100.0 mg/L, 贮藏在 -20 °C 冰箱直至分析。

1.3.2 Fe₃O₄-NH₂ 磁性纳米材料的制备

参考文献[24]的方法, 并进行适当修改, 制备 Fe₃O₄-NH₂ 纳米材料。取 1.0 g FeCl₃·6H₂O, 2.0 g 无水乙酸钠和 6.5 g 1,6-己二胺于 100 mL 圆底烧瓶, 加入 30 mL 乙二醇, 在室温下搅拌 2 h 使体系充分溶解; 将混合均匀的溶液移至 100 mL 的聚四氟乙

烯-不锈钢高温高压反应釜中, 在 200 °C 反应 6 h 后停止反应。待反应釜冷却至室温, 用磁石辅助收集反应釜底部黑色产物, 用去离子水和乙醇分别超声清洗至中性。最终, 在 -50 °C 条件下真空干燥 24 h, 制备得到 Fe₃O₄-NH₂ 纳米颗粒。

1.3.3 Fe₃O₄-NH₂ 磁性纳米材料的表征

采用扫描电镜(scanning electron microscopy, SEM)和透射电镜(transmission electron microscopy, TEM)对 Fe₃O₄-NH₂ 纳米材料的形貌特征及粒径大小进行测定。

采用傅里叶变换红外光谱(fourier transform infrared spectroscopy, FT-IR)以及 X 射线衍射(X-ray diffraction, XRD)对 Fe₃O₄-NH₂ 纳米材料的基团结构和晶相结构进行测定。

采用振动样品磁强计对 Fe₃O₄-NH₂ 纳米材料的磁学性能进行测定。

1.3.4 MSPE 萃取方法

将 1.1 节中待测酒样稀释至 15% vol, 取 5 mL, 加入 0.8775 g NaCl(终浓度为 3 mol/L), 用 NaOH 溶液(1 mol/L)调节样品溶液 pH 值至 7.0。称取 25 mg Fe₃O₄-NH₂ 纳米颗粒于 5 mL 酒样中, 加入 100 μL 氘代同位素内标标准溶液(100 mg/L), 于 IKA VORTEX 2 涡流搅拌器上, 2 800 r/min 涡旋振荡 10 min, 加速对目标物的吸附。待吸附平衡后, 使用磁力架分离, 并将 Fe₃O₄-NH₂ 收集在离心管中。依次加入 0.5 mL 体积分数为 5% 的氨水甲醇溶液, 室温下超声洗脱 3 次, 每次 20 min。洗脱后, 合并洗脱液(1.5 mL)于 2.0 mL 进样小瓶中, 氮吹浓缩至 0.5 mL, 待 GC-MS 分析。MSPE 萃取方法见图 1。

1.3.5 气相色谱-质谱分析方法

气相色谱条件。进样口温度 250 °C, 载气为氦气(纯度 ≥ 99.999%), 恒流流速 1.0 mL/min; 进样量 1.0 μL, 分流进样, 分流比 15:1。升温程序为初始温度 60 °C, 以 20 °C/min 升至 120 °C, 以 5 °C/min 升至 200 °C, 保持 7 min, 再以 15 °C/min 升至 245 °C, 保持 3 min。

质谱条件。电离方式为电子电离(electron ionization, EI); 电子能量为 70 eV; 离子源温度 200 °C; 传输线温度 245 °C; 定性采用全扫描模式; 质量扫描范围 m/z 45 ~ 450 u, 驻留时间 0.2 s; 溶剂延迟 7 min; 定量采用选择离子模式(selective ion mode, SIM), 8 种高级脂肪酸乙酯及其同位素内标物在色谱柱中的保留时间、定性定量离子的选择见表 1。

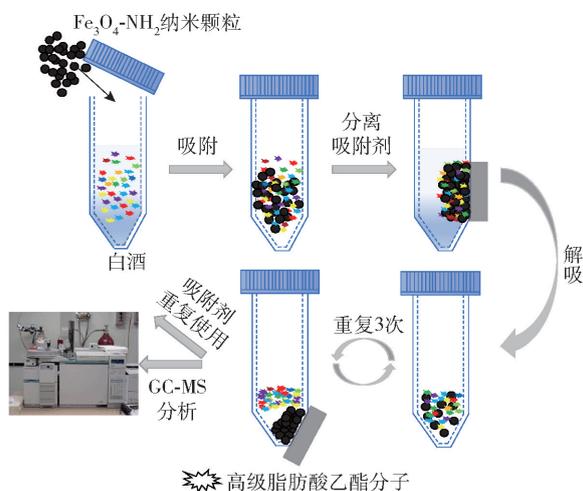


图1 磁性固相萃取方法的操作流程

Fig. 1 Operation flow of magnetic solid phase extraction

表1 8种高级脂肪酸乙酯物质及其氘代同位素内标的保留时间和SIM参数

Tab. 1 8 Long-chain fatty acid ethyl esters and their deuterated isotope internal standards retention time and SIM parameters

序号	化合物名称	保留时间/min	定性、定量离子(m/z)
1	十四酸乙酯-D27	12.81	91, 105, 169, 233, 283
2	十四酸乙酯	13.29	88, 101, 157, 256
3	十五酸乙酯	15.09	88, 101, 157, 270
4	棕榈酸乙酯-D31	16.31	91, 105, 169, 265, 315
5	棕榈酸乙酯	16.88	88, 101, 157, 284
6	十七烷酸乙酯	18.62	88, 101, 157, 255, 298
7	硬脂酸乙酯-D35	19.74	91, 105, 169, 233, 297, 347
8	硬脂酸乙酯	20.46	88, 101, 157, 312
9	油酸乙酯-D5	20.71	180, 222, 264, 265, 312
10	油酸乙酯	20.87	154, 180, 222, 264, 310
11	亚油酸乙酯	21.86	95, 109, 135, 263, 308
12	亚麻酸乙酯	23.54	121, 135, 149, 261, 306

1.3.6 定量分析方法

采用同位素内标法建立标准曲线。将8种高级脂肪酸乙酯混合标准溶液配制浓度分别为0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、20.0、50.0、100.0、200.0、500.0 mg/L的系列混合标准溶液,加入4种同位素内标于体系中,至最终的质量浓度均为20 mg/L。以目标酯类与同位素内标的浓度之比作为横坐标(x),目标酯类的峰面积与内标的峰面积之比作为纵坐标(y),建立线性回归方程 $y = ax + b$ 。最终,各待测酒样中8种高级脂肪酸乙酯的浓度通

过建立的标准曲线计算得出。

1.3.7 萃取率的评价方法

采用富集因子(enrichment factor, EF)对8种高级脂肪酸乙酯的萃取效率进行评价,计算方法见式(1)。

$$EF = C_d / C_0 \times 100\% \quad (1)$$

式(1)中, C_d 为MSPE萃取后解吸液中高级脂肪酸乙酯的质量浓度,mg/L; C_0 为模拟白酒样品中分析物的初始质量浓度(20 mg/L)。

1.3.8 方法学评价的参数

方法学评价参数主要包括线性、检出限(limit of detection, LOD)、定量限(limit of quantification, LOQ)、回收率及精密度。其中,标准曲线的线性关系通过线性相关系数(R^2)进行评估;同时,以3倍信噪比(signal-to-noise, $S/N = 3$)对应的浓度为方法LOD,10倍信噪比($S/N = 10$)对应的浓度为LOQ;方法的准确度通过回收率测定:取1.1节制备的模拟酒样5 mL于10 mL离心管中,加入8种高级脂肪酸乙酯混合标品及同位素混合标品,参照1.3.4节和1.3.5节方法对样品进行提取、富集和检测。最终通过由标准曲线计算得出的浓度与实际添加浓度间的比值,得到方法的回收率。此外,选取溶液连续进样3次,以相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)进行精密度考察。

1.4 数据处理

每个实验均进行3次平行实验,待测化合物的定量结果以质量浓度 \pm 标准偏差表示。此外,使用R语言(Heatmap Illustrator,版本1.0)进行Heatmap分析。

2 结果与分析

2.1 $Fe_3O_4-NH_2$ 磁性纳米材料的表征结果

2.1.1 形貌分析

通过SEM和TEM对 $Fe_3O_4-NH_2$ 纳米颗粒的形貌特征及粒径大小进行表征,见图2。扫描电镜图和透射电镜图分别见图2(a)和图2(b),结果表明,制备的 $Fe_3O_4-NH_2$ 纳米颗粒近似球形,表面较粗糙,粒径分布均匀。通过对该纳米颗粒的平均直径进行统计计算,其平均直径约为27.51 nm。

2.1.2 结构分析

为验证 $Fe_3O_4-NH_2$ 纳米材料的成功合成,分别采用FT-IR以及XRD对该材料的基团结构和晶相

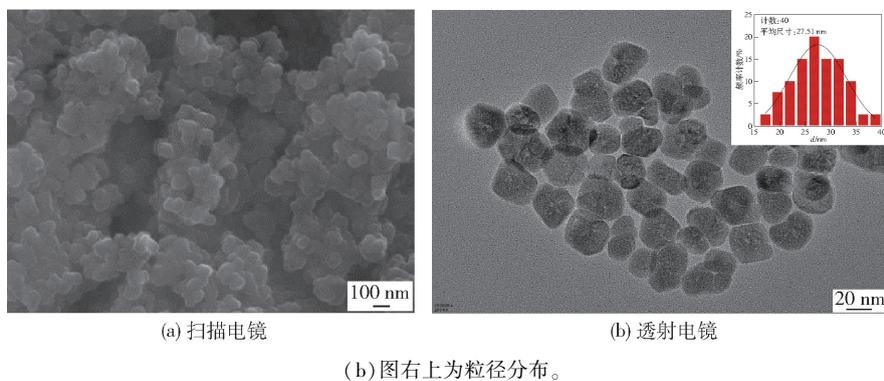


图2 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NH}_2$ 纳米颗粒的形貌分析结果

Fig. 2 Morphology analysis results of $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NH}_2$ nanoparticles

结构进行分析,见图3和图4。

由图3可知, $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NH}_2$ 在波数 572 cm^{-1} 处出现强吸收峰,此峰为 Fe-O 的伸缩振动吸收峰;在 3430 、 1631 、 1044 、 871 cm^{-1} 处分别对应于 N-H 的伸缩振动、 N-H 面内弯曲振动、 C-H 和 C-N 的伸缩振动。红外光谱结果表明: Fe_3O_4 纳米粒子成功包覆上1,6-己二胺分子, $-\text{NH}_2$ 成功地连接在磁性粒子上。

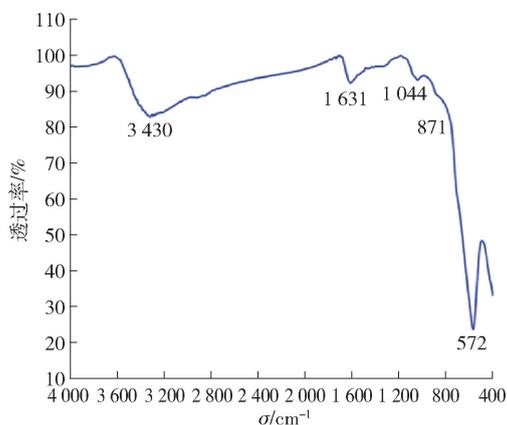


图3 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NH}_2$ 纳米颗粒的红外光谱

Fig. 3 FT-IR of $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NH}_2$ nanoparticles

图4(a)中曲线上出现的衍射峰与 Fe_3O_4 标准卡片(JCPDS号75-0449)的特征衍射峰位置完全一致^[25],观察到6个特征衍射峰位置分别为 $2\theta = 30.1^\circ$ 、 35.5° 、 43.1° 、 53.4° 、 57.0° 、 62.6° ,出现的衍射峰分别对应于标准 Fe_3O_4 晶相的晶面反射 $[(220)$ 、 (310) 、 (400) 、 (422) 、 (511) 、 $(440)]$ 且匹配良好,峰尖锐而强烈,表明所制备材料为尖晶石结构,且结晶良好。

2.1.3 性能分析

采用振动样品磁强计测量 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NH}_2$ 纳米材

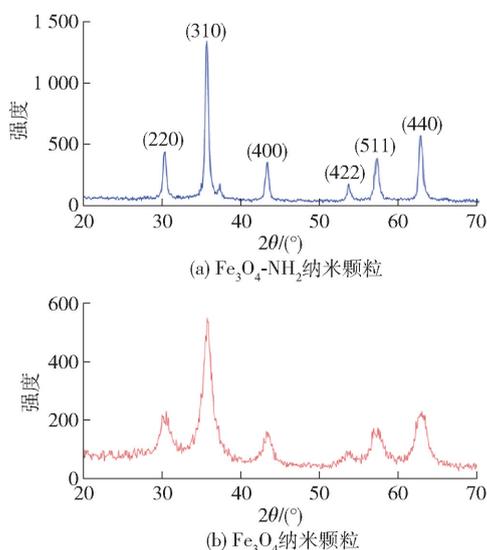


图4 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NH}_2$ 和 Fe_3O_4 纳米颗粒的X-射线衍射谱

Fig. 4 XRD of $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NH}_2$ nanoparticles and Fe_3O_4 nanoparticles

料的磁学性能,结果见图5(a)。合成的磁性纳米材料磁学性能呈现典型的S形曲线,剩余磁化强度为0,未出现磁滞现象,表明该材料具有超顺磁性^[26]。该材料的饱和磁力强度为 75.04 emu/g ,磁性能良好,在外加磁场作用下,能够实现与溶液的快速、彻底分离。综上表明 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NH}_2$ 纳米材料具有较强的磁性吸附潜力^[27],可以满足磁性分离的要求。

此外,为了评估 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NH}_2$ 纳米材料的热稳定性,对其进行了热重分析,见图5(b),该材料的质量损失根据温度可以分为2个阶段。在 $0\sim 462^\circ\text{C}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NH}_2$ 产生了约 4.53% 的质量损失,且在 $200\sim 400^\circ\text{C}$ 处有大幅度质量损失,这与1,6-己二胺燃烧有关^[28],且第二个失重阶段是在 $462\sim 952^\circ\text{C}$ 。综上,热重分析结果表明: $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NH}_2$ 纳米材料经两

个质量损失阶段后, 总的质量损失小于 10%, 材料的热稳定性良好。

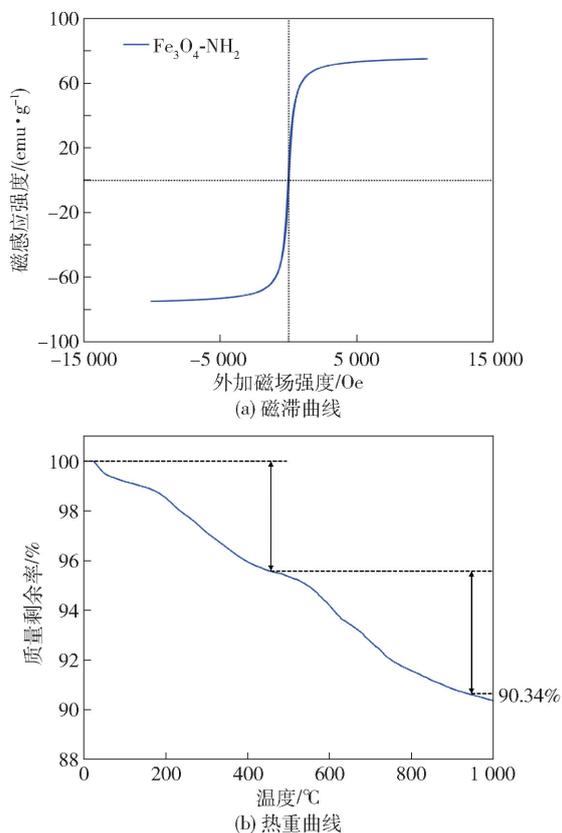


图5 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NH}_2$ 纳米颗粒的性能分析结果

Fig. 5 Performance analysis results of $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NH}_2$ nanoparticles

2.2 MSPE 萃取条件的优化

为更加准确、高效地解析不同香型和品牌白酒中高级脂肪酸乙酯的存在情况, 分别对包括吸附过程和解吸过程中酒样 pH 值、离子强度、 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NH}_2$ 用量、吸附时间、解吸溶剂种类、解吸溶剂酸碱度、解吸时间等 7 个因素进行了优化。在 MSPE 萃取过程中, 取 1.1 节制备的模拟酒样 5 mL 于 10 mL 离心管中, 加入 100 μL 高级脂肪酸乙酯的混合标准溶液 (100 mg/L), 至最终质量浓度为 20 mg/L, 用于考察 MSPE 的性能萃取。

2.2.1 酒样 pH 值的优化

将待测酒样调至合适的 pH 值, 对提高目标待测物的萃取效率至关重要^[29]。因此, 在研究中, 分别考察了 pH 值在 2 ~ 12 内 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NH}_2$ 对高级脂肪酸乙酯的萃取效果, 结果见图 6。吸附剂的吸附能力在低 pH 值下逐渐增加, 并在样品溶液 pH = 7.0 时吸附容量达到峰值, EF 为 550%。但随着 pH

值不断增加, EF 逐步下降。 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NH}_2$ 纳米颗粒的 Zeta 电位见图 7。由图 7 可知, $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NH}_2$ 表面带 -NH_2 , 其等电点为 8.3。当 $\text{pH} > 8.3$ 时, 吸附剂表面和目标待测物均带负电, 它们之间产生静电斥力。因此, 碱性环境不利于吸附剂对目标物的吸附。综上, 将样品溶液 pH 值调节为 7.0 为较优 pH 值, $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NH}_2$ 对高级脂肪酸乙酯富集效率最高。

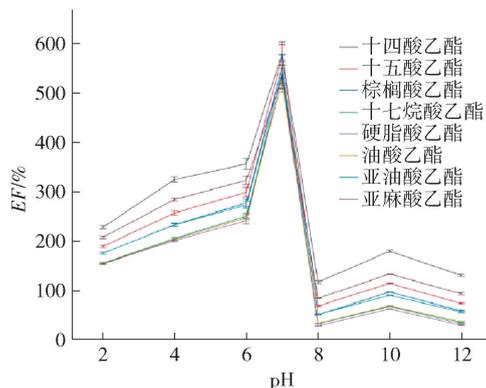


图6 pH 值对富集因子的影响

Fig. 6 Effect of pH value on enrichment factor

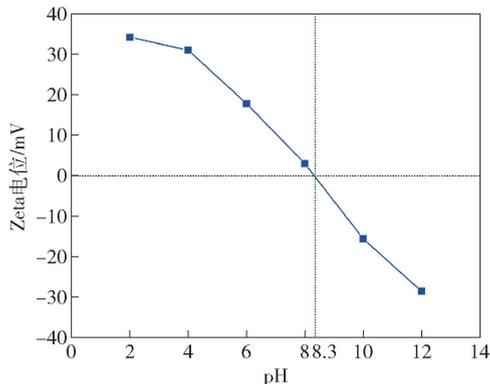


图7 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NH}_2$ 纳米颗粒的 Zeta 电位

Fig. 7 Zeta potential of $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NH}_2$ nanoparticles

2.2.2 离子浓度的优化

离子浓度是影响吸附的关键因素之一, 本研究采用 NaCl 作为离子强度调节剂, 研究离子浓度对 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NH}_2$ 吸附高级脂肪酸乙酯类物质的影响, 结果见图 8。随着离子浓度的增加, $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NH}_2$ 对高级脂肪酸乙酯类物质的富集效率也在不断增加。究其原因, 主要是因为离子浓度的增加可诱使 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NH}_2$ 表面双电层结构发生变化^[30], 从而导致 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NH}_2$ 与高级脂肪酸乙酯类物质的吸附作用增强或 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NH}_2$ 表面的活性位点数目增加, 从而增强了 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NH}_2$ 对高级脂肪酸乙酯的吸附作用, 最终在 NaCl 浓度为 3 mol/L 时达到峰

值, EF 达到 1 100%。

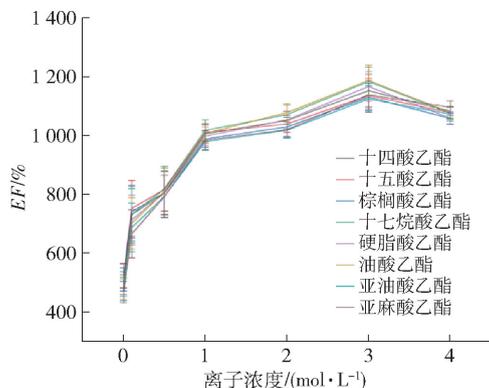


图 8 离子浓度对富集因子的影响

Fig. 8 Effect of ionic strength on enrichment factor

2.2.3 吸附剂用量的优化

在本研究中,分别考察了 100、150、200、250、300、400 g/g 等 6 种不同吸附剂添加量对高级脂肪酸酯类物质萃取效率的影响。结果见图 9。由图 9 可知,当吸附剂用量为 100 ~ 200 g/g 时, EF 为 500% ~ 600%,富集效率较低,此时吸附剂对高级脂肪酸酯类物质吸附不完全。随着吸附剂用量的增加,在 250 g/g 时达到平衡状态的充足接触时间。继续增加用量至 300 g/g 和 400 g/g, EF 明显下降,可能是由于吸附剂用量过多,粒子与粒子间的相互作用力加剧,减弱了吸附剂对目标物的吸引,并导致吸附剂有效吸附表面积减少的结果^[31]。因此,选择添加 250 g/g 的 $Fe_3O_4-NH_2$ 作为较优吸附剂用量。

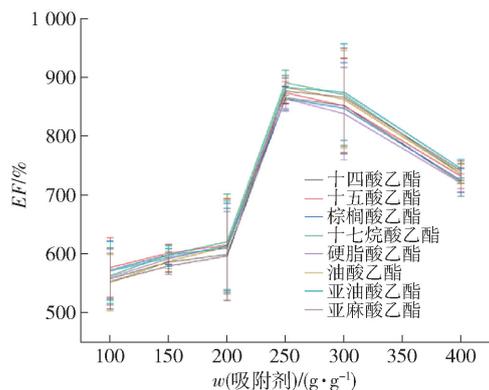


图 9 吸附剂用量对富集因子的影响

Fig. 9 Effect of adsorbent dosage on enrichment factor

2.2.4 吸附时间的优化

在较佳实验条件下,分别考察了吸附时间在 0.5 ~ 20 min 范围内 $Fe_3O_4-NH_2$ 富集效率的变化规律,结果见图 10。随着吸附时间的延长(0.5 ~

10 min),目标物的富集效率迅速增加;进一步增加萃取时间,富集效率逐渐降低。综上,选择 10 min 作为较佳吸附时间。

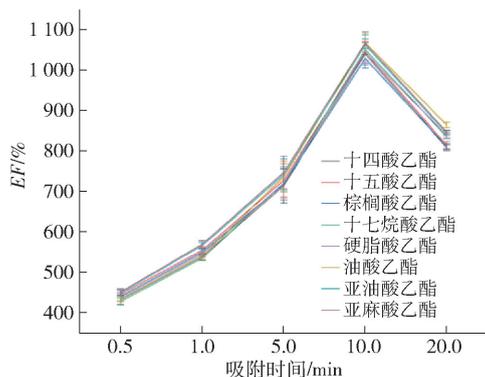


图 10 吸附时间对富集因子的影响

Fig. 10 Effect of adsorption time on enrichment factor

2.2.5 解吸溶剂种类的优化

高级脂肪酸酯属于极性化合物,其主要含有羰基、羟基、甲基等特征官能团,为保证对该类化合物的有效提取,本研究选择了二氯甲烷、乙腈、丙酮和甲醇共 4 种极性较强的溶剂进行洗脱。结果表明,4 种有机溶剂的洗脱效果由大到小依次为甲醇、丙酮、乙腈、二氯甲烷。与乙腈、丙酮和甲醇相比,二氯甲烷的极性较弱,且吸附剂在二氯甲烷溶剂中会出现团聚现象,无法得到很好的分散,因此,导致对高级脂肪酸酯类物质洗脱效果较差。总体而言,甲醇洗脱效果较好,为较佳洗脱溶剂,此时,吸附剂对高级脂肪酸酯类物质的富集因子在 1 750% ~ 2 030% (图 11)。

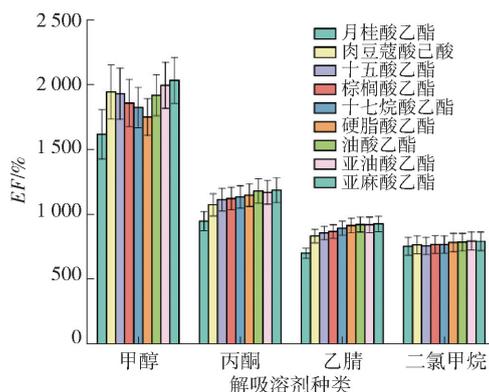


图 11 解吸溶剂种类对富集因子的影响

Fig. 11 Effect of desorption solvent type on enrichment factor

2.2.6 解吸溶剂酸碱度的优化

由于 $Fe_3O_4-NH_2$ 表面带有 $-NH_2$, 因此,解吸过程中解吸溶剂的酸碱度可能会影响高级脂肪酸酯的脱附。本研究通过添加氨水体积分数为 0.5% ~

5.0%和甲酸体积分数为1%~5%的甲醇溶液,研究解吸溶剂酸碱度对富集效率的影响。结果见图12,当选择添加5%氨水的甲醇溶液(pH=9)时,高级脂肪酸乙酯的富集效率最高。即当 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NH}_2$ 处于pH值大于8.3的碱性环境时(图7),吸附剂表面($-\text{NH}_2$)易被电离,从而使得 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NH}_2$ 带负电荷。在较强的静电斥力下,利于目标待测物从吸附剂上洗脱下来。因此,选择添加5%氨水的甲醇溶液作为较佳解吸溶剂,且EF在1800%~6500%。

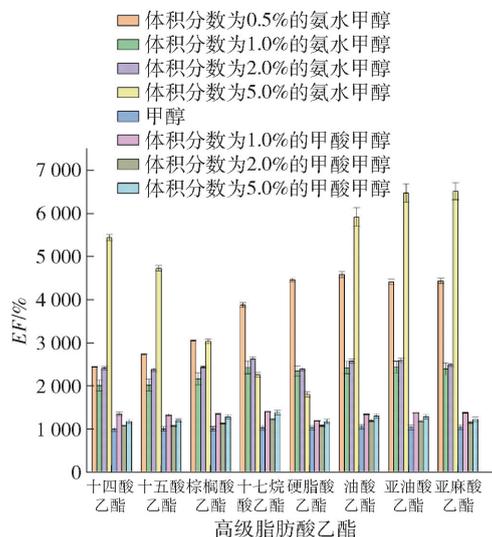


图12 解吸溶剂酸碱度对富集因子的影响

Fig. 12 Effect of desorption solvent pH on enrichment factor

2.2.7 解吸时间的优化

合适的解吸时间不仅能保证高回收率,还能保

证方法的整体效率。结果见图13,随着解吸时间的增加,富集效率也在不断增加,当超声解吸20 min时,高级脂肪酸乙酯的萃取率最高,EF达到4095%~4882%。因此,最终选择20 min为较佳解吸时间。

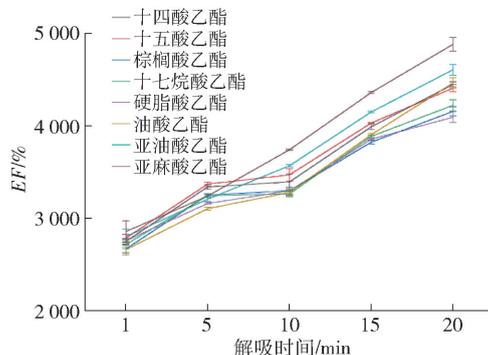


图13 解吸时间对富集因子的影响

Fig. 13 Effect of desorption time on enrichment factor

2.3 方法学评价分析

对已建立的MSPE-GC-MS方法进行评价,结果见表2。由表2可知,8种高级脂肪酸乙酯在相应的浓度范围内线性关系良好, R^2 均大于0.99。对8种高级脂肪酸乙酯的LOD、LOQ进行检测,方法的LOD为9.1~42.9 $\mu\text{g/L}$,LOQ为5.2~200.0 $\mu\text{g/L}$ 。表明该方法具有良好的线性和灵敏度。此外,该方法对8种高级脂肪酸乙酯的平均回收率为79.6%~99.3%,相对标准偏差($RSD, n=3$)为8.0%~10.7%。

表2 MSPE-GC-MS对8种高级脂肪酸乙酯检测的线性回归方程、LOD和LOQ

Tab. 2 Linear regression equation, LOD and LOQ of 8 long-chain fatty acid ethyl esters detected by MSPE-GC-MS

序号	酯类化合物	线性回归方程			灵敏度/ $(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$		回收率/ %	RSD/ %
		回归方程	R^2	线性范围/ $(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	LOD	LOQ		
1	十四酸乙酯	$y=0.7382x-0.0018$	0.9943	0.1~10.0	11.1	37.0	99.3	8.5
2	十五酸乙酯	$y=3.7627x-0.2586$	0.9908	0.1~50.0	9.1	30.3	97.4	8.6
3	棕榈酸乙酯	$y=3.8361x-0.2633$	0.9913	0.1~50.0	25.0	83.3	92.6	8.5
4	十七烷酸乙酯	$y=3.8050x-0.1717$	0.9964	0.1~50.0	13.6	50.0	85.3	8.0
5	硬脂酸乙酯	$y=0.3304x+0.0506$	0.9987	2.0~100.0	8.8	29.4	79.6	8.6
6	油酸乙酯	$y=0.3135x-0.0711$	0.9962	2.0~200.0	1.6	5.2	84.8	8.4
		$y=4.3096x-0.0209$	0.9953	0.1~10.0				9.6
7	亚油酸乙酯	$y=6.2838x-0.2744$	0.9990	0.1~100.0	27.3	90.9	82.6	10.7
		$y=6.4529x-1.5711$	0.9964	2.0~200.0				8.5
8	亚麻酸乙酯	$y=1.5288x-0.043$	0.9940	0.2~50.0	42.9	200.0	79.4	8.6

2.4 实际样品的测定结果

应用建立的MSPE-GC-MS方法,结合同位素

内标对24个不同香型白酒样品中的8种高级脂肪酸乙酯进行定量分析,结果见表3。表3结果表明,

不同品牌和香型白酒中高级脂肪酸乙酯类化合物的种类和质量浓度间存在显著差异。在所检测的高级脂肪酸乙酯中,十四酸乙酯、十五酸乙酯、棕榈酸乙酯、硬脂酸乙酯、油酸乙酯和亚油酸乙酯在24种酒样中的检出率较高,达到70.8%~100.0%;其中,油酸乙酯的含量最高,为2 546.0~41 555.4 $\mu\text{g/L}$ 。十七烷酸乙酯、亚麻酸乙酯的检出率较低,仅为33.3%~50.0%。

通过全面对比不同香型白酒中高级脂肪酸乙酯的检出情况可知,8种高级脂肪酸乙酯在LJ和GT两种酱香型白酒中均有检出,且质量浓度都较高。

其中,油酸乙酯和亚油酸乙酯的浓度最高,达到6 218.1~26 662.1 $\mu\text{g/L}$ 。油酸乙酯和亚油酸乙酯是引起降度白酒浑浊的主要高级脂肪酸乙酯^[7]。目前,相关研究表明,高级脂肪酸乙酯是酱香型白酒浑浊失光的主要原因^[6],因此,在酱香型白酒的生产过程中要重点关注高级脂肪酸乙酯引起的浊度问题。此外,孙优兰等^[32]的研究表明,在酱香型白酒中,酱香风味越突出,其高级脂肪酸乙酯的含量越高。因此,如何在维持酒体风味的同时亦能降低高级脂肪酸乙酯对酒体浊度的影响,从而提高低度酱香型白酒的品质成为后期研究的重点。

表3 不同品牌白酒中高级脂肪酸乙酯类物质的质量浓度

Tab. 3		Mass concentration of long-chain fatty acid ethyl esters in different brands of Baijiu								$\mu\text{g/L}$
序号	白酒编号	十四酸乙酯	十五酸乙酯	棕榈酸乙酯	十七烷酸乙酯	硬脂酸乙酯	油酸乙酯	亚油酸乙酯	亚麻酸乙酯	
1	GJG	191.2 ± 20.9	444.6 ± 0.7	835.1 ± 34.9	<LOQ	84.3 ± 4.3	10 901.6 ± 1 019.8	5 126.8 ± 355.0	341.0 ± 39.9	
2	GJ-1	343.8 ± 9.8	524.5 ± 0.5	1 311.2 ± 17.8	<LOQ	102.7 ± 2.5	29 013.9 ± 248.1	11 055.5 ± 290.6	702.7 ± 44.4	
3	GJ-2	ND	ND	402.1 ± 0.7	ND	53.6 ± 0.5	ND	<LOQ	ND	
4	LZ-1	<LOQ	ND	492.3 ± 1.1	ND	65.9 ± 3.0	ND	ND	ND	
5	LZ-2	<LOQ	ND	382.4 ± 0.7	ND	54.6 ± 1.6	18 568.4 ± 1 436.9	<LOQ	208.0 ± 7.4	
6	LZ-3	<LOQ	ND	486.4 ± 1.3	ND	63.5 ± 0.4	3 086.4 ± 247.5	<LOQ	ND	
7	LJ	320.3 ± 11.4	498.6 ± 0.5	1 620.1 ± 36.4	324.7 ± 2.2	128.1 ± 2.5	26 662.1 ± 1 103.9	6 218.1 ± 212.2	360.5 ± 21.9	
8	GT	354.6 ± 14.3	499.3 ± 0.7	1 561.2 ± 47.3	323.1 ± 1.5	105.1 ± 0.7	23 745.9 ± 881.2	8 506.2 ± 444.3	529.3 ± 30.9	
9	FJ	111.0 ± 8.4	<LOQ	760.9 ± 9.1	ND	86.1 ± 0.8	7 338.1 ± 338.7	1 541.4 ± 110.5	<LOQ	
10	HX	9 864.3 ± 21.9	<LOQ	556.2 ± 0.8	ND	70.1 ± 0.6	ND	220.0 ± 7.6	ND	
11	NLS-1	<LOQ	<LOQ	528.6 ± 0.9	ND	67.6 ± 1.0	3 401.0 ± 15.5	336.3 ± 25.4	ND	
12	NLS-2	<LOQ	<LOQ	441.0 ± 0.9	ND	55.3 ± 0.5	2 546.0 ± 103.8	298.9 ± 18.4	ND	
13	GLSH	2 946.2 ± 88.8	445.0 ± 0.3	1 505.6 ± 24.6	<LOQ	101.5 ± 1.6	13 863.5 ± 554.9	5 204.7 ± 152.4	344.0 ± 6.0	
14	YBS	ND	ND	267.1 ± 0.5	ND	<LOQ	<LOQ	<LOQ	ND	
15	DJ-1	272.0 ± 6.5	500.8 ± 0.3	1 030.2 ± 7.9	<LOQ	99.0 ± 0.9	11 645.0 ± 539.6	3 275.8 ± 52.2	307.8 ± 6.0	
16	DJ-2	49.0 ± 3.0	<LOQ	438.0 ± 0.2	ND	<LOQ	ND	244.9 ± 10.5	<LOQ	
17	KZJ	ND	ND	ND	ND	<LOQ	<LOQ	ND	ND	
18	STJ	1 459.5 ± 40.2	481.7 ± 0.1	534.6 ± 1.4	ND	65.0 ± 1.1	11 012.7 ± 577.1	411.6 ± 14.6	417.1 ± 19.5	
19	JZ	116.1 ± 5.8	<LOQ	536.6 ± 1.8	ND	64.0 ± 1.9	ND	334.6 ± 2.3	ND	
20	HSLBG-1	ND	ND	ND	ND	<LOQ	ND	ND	ND	
21	HSLBG-2	498.3 ± 15.6	626.8 ± 0.8	1 997.2 ± 68.5	408.0 ± 0.2	200.2 ± 6.1	41 555.4 ± 1 926.7	855.8 ± 46.7	657.0 ± 52.8	
22	JGJ-1	767.9 ± 26.3	487.2 ± 1.0	1 252.3 ± 20.8	<LOQ	91.6 ± 1.3	15 857.8 ± 949.2	154.1 ± 8.4	ND	
23	JGJ-2	1 220.3 ± 52.3	511.5 ± 1.3	2 004.3 ± 83.6	329.7 ± 0.3	152.6 ± 2.9	32 633.7 ± 1 868.5	355.1 ± 20.9	4 908.2 ± 426.7	
24	JGJ-3	451.9 ± 6.9	483.0 ± 0.1	894.5 ± 6.3	ND	19 954.8 ± 1 234.9	10 170.1 ± 282.4	126.6 ± 3.2	ND	

ND表示未检出对应高级脂肪酸乙酯。

3 结论

建立了基于氨基化四氧化三铁($\text{Fe}_3\text{O}_4-\text{NH}_2$)磁性固相萃取结合气相色谱-质谱联用技术同时测定了白酒中8种高级脂肪酸乙酯的方法。通过对酒

样pH值、离子强度、吸附剂用量、吸附时间、解吸溶剂种类及酸碱度、解吸时间等7因素优化,确定了当添加25 mg $\text{Fe}_3\text{O}_4-\text{NH}_2$ 、稀释酒样酒精度至15% vol时,调节pH值为7.0、NaCl浓度3 mol/L、吸附平衡时间10 min、使用添加5%氨水的甲醇溶液为解吸溶剂、超声解吸20 min后的萃取效果较佳。该方法

操作简单、耗时短、灵敏度高,有效解决了传统液-液萃取法的背景干扰问题,且对于白酒中高级脂肪酸乙酯的分离效果良好。

应用建立的方法对24种白酒中8种高级脂肪酸乙酯的存在情况进行检测,研究结果显示,在不同香型和品牌白酒中高级脂肪酸乙酯的检出有显著差异。酱香型白酒的高级脂肪酸乙酯检出值最高,达到了100%。在酱香型白酒生产中,提高高级脂肪酸乙酯监测能力,加强由高级脂肪酸乙酯引起酒体浑浊问题的关注,对生产优质的低度白酒产品至关重要。

参考文献:

[1] 孙宝国. 国酒[M]. 北京: 化学工业出版社, 2019: 168.
SUN B G. Baijiu & Huangjiu: Chinese national alcohols [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2019: 168.

[2] 倪冰倩, 夏韩硕, 闵伟红, 等. *Pichia kudriavzevii* 生物强化对酱香型白酒酒醅微生物群落结构及挥发性风味组分的影响[J]. 食品科学技术学报, 2024, 42(2): 93-108.
NI B Q, XIA H S, MIN W H, et al. Effect of biofortification with *Pichia kudriavzevii* on community structure and volatile flavour fractions of fermented grains of sauce-*aroma* Baijiu[J]. Journal of Food Science and Technology, 2024, 42(2): 93-108.

[3] 马宇. 基于风味组学策略研究酱香型白酒关键成分及其呈香呈味特性[D]. 贵阳: 贵州大学, 2019.
MA Y. Study on the key components of sauce flavor Baijiu and its aroma and taste characteristics based on flavomics [D]. Guiyang: Guizhou University, 2019.

[4] 蔡冰尧, 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.
CAI X Y, YIN J J. Study on determination of ethyl esters of long-chain fatty acids in Chinese spirits by capillary gas chromatography with direct injection[J]. Journal of Instrumental Analysis, 1998, 17(3): 63-65.

[5] 沈怡方. 白酒生产技术全书[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2015.
SHEN Y F. Complete book of liquor production technology [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2015.

[6] 梁慧珍, 刘正, 卢延想, 等. 酱香型白酒浑浊成分解析及降度酒除浊研究[J]. 中国酿造, 2022, 41(8): 51-56.

LIANG H Z, LIU Z, LU Y X, et al. Analysis of turbidity components and turbidity removal for alcohol-reduced sauce-flavor Baijiu[J]. China Brewing, 2022, 41(8): 51-56.

[7] 范文来. 低度白酒研究的回顾与展望[J]. 酿酒, 2022, 49(4): 3-6.
FAN W L. Review and prospect of low-alcohol Baijiu research[J]. Liquor Making, 2022, 49(4): 3-6.

[8] 王勇, 卢建春, 郭文杰. 低度酒在低温下出现浑浊、油花的成因探讨[J]. 酿酒科技, 1997(1): 43-46.
WANG Y, LU J C, GUO W J. Discussion on the causes of turbidity and oily flower in low-alcohol wine at low temperature [J]. Liquor-Making Science & Technology, 1997(1): 43-46.

[9] WANG M Y, ZHANG Q, YANG J G, et al. Volatile compounds of Chinese Luzhou flavoured liquor distilled from grains fermented in 100 to 300 year-old cellars[J]. Journal of the Institute of Brewing, 2019, 126(1): 116-130.

[10] 范文来, 徐岩. 白酒香气物质研究的方法学[J]. 食品科学技术学报, 2018, 36(3): 1-10.
FAN W L, XU Y. Methodology for aroma compounds in Baijiu[J]. Journal of Food Science and Technology, 2018, 36(3): 1-10.

[11] 常宇桐, 罗云敬, 钱承敬, 等. 全二维气质技术解析馥郁香型白酒风味与质量品评关系[J]. 食品科学技术学报, 2019, 37(6): 64-70.
CHANG Y T, LUO Y J, QIAN C J, et al. Analysis of relationship between flavor and quality of Fuyu flavor Baijiu by two comprehensive dimensional gas chromatography-mass spectrometry[J]. Journal of Food Science and Technology, 2019, 37(6): 64-70.

[12] ZHU J C, NIU Y W, XIAO Z B. Characterization of important sulfur and nitrogen compounds in Lang Baijiu by application of gas chromatography-olfactometry, flame photometric detection, nitrogen phosphorus detector and odor activity value [J]. Food Research International, 2020, 131: 109001.

[13] WU J H, CHEN R Y, LI X B, et al. Comprehensive identification of key compounds in different quality grades of soy sauce-*aroma* type Baijiu by HS-SPME-GC-MS coupled with electronic nose[J]. Frontiers in Nutrition, 2023, 10: 1132527.

[14] DU J Y, LI Y M, XU J C, et al. Characterization of key odorants in Langyatai Baijiu with Jian flavour by sensory-directed analysis [J]. Food Chemistry, 2021, 352: 129363.

- [15] ZHAO D R, SHI D M, SUN J Y, et al. Characterization of key aroma compounds in Gujinggong Chinese Baijiu by gas chromatography-olfactometry, quantitative measurements, and sensory evaluation [J]. *Food Research International*, 2018, 105: 616–627.
- [16] DONG W, LIN W X, CHEN X M, et al. Reducing the background interference of liquid-liquid extraction method during Baijiu aroma analysis [J]. *Food Chemistry*, 2023, 404(Pt A): 134557.
- [17] CHEN J P, ZHU X S. Magnetic solid phase extraction using ionic liquid-coated core-shell magnetic nanoparticles followed by high-performance liquid chromatography for determination of Rhodamine B in food samples[J]. *Food Chemistry*, 2016, 200: 10–15.
- [18] ZHOU Y S, ZHOU T T, JIN H, et al. Rapid and selective extraction of multiple macrolide antibiotics in food-stuff samples based on magnetic molecularly imprinted polymers[J]. *Talanta*, 2015, 137: 1–10.
- [19] GAN H J, XU H. A novel aptamer-based online magnetic solid phase extraction method for the selective determination of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in human urine[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2018, 1008: 48–56.
- [20] CUI S B, MAO X W, ZHANG H J, et al. Magnetic solid-phase extraction based on magnetic sulfonated reduced graphene oxide for HPLC-MS/MS analysis of illegal basic dyes in foods [J]. *Molecules*, 2021, 26(24): 7427.
- [21] XIAO R, ZHANG X T, ZHANG X N, et al. Analysis of flavors and fragrances by HPLC with Fe₃O₄@GO magnetic nanocomposite as the adsorbent[J]. *Talanta*, 2017, 166: 262–267.
- [22] 孙卿, 马悦, 王琦, 等. 磁性壳聚糖表面离子液体固定化及其对丙烯酰胺吸附性能研究[J]. *北京工商大学学报(自然科学版)*, 2012, 30(5): 52–55.
SUN Q, MA Y, WANG Q, et al. Preparation of magnetic chitosan immobilized with ionic liquid and its adsorption ability toward acrylamide[J]. *Journal of Beijing Technology and Business University (Natural Science Edition)*, 2012, 30(5): 52–55.
- [23] DONG W, GUO R N, LIN W X, et al. Polyamine-modified magnetic graphene oxide nanocomposites and HPLC-MS/MS allow the determination of two indolic derivatives in strong-aroma types of base Baijiu [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(11): 3594–3606.
- [24] SHI Z H, QIU L N, ZHANG D, et al. Dispersive liquid-liquid microextraction based on amine-functionalized Fe₃O₄ nanoparticles for the determination of phenolic acids in vegetable oils by high-performance liquid chromatography with UV detection[J]. *Journal of Separation Science*, 2015, 38(16): 2865–2872.
- [25] 宋月红, 徐辉, 吴林林, 等. 羧基化磁性 Fe₃O₄ 复合材料对 Pb²⁺ 的吸附性能研究[J]. *工业用水与废水*, 2022, 53(5): 22–28.
SONG Y H, XU H, WU L L, et al. Study on adsorption performance of carboxylated magnetic Fe₃O₄ composite materials on Pb²⁺ [J]. *Industrial Water & Wastewater*, 2022, 53(5): 22–28.
- [26] KASSAE M Z, MOTAMED I, MAJDI M. Magnetic Fe₃O₄ - graphene oxide/polystyrene: fabrication and characterization of a promising nanocomposite [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2011, 172(1): 540–549.
- [27] NASSEH N, BARIKBIN B, TAGHAVI L, et al. Adsorption of metronidazole antibiotic using a new magnetic nanocomposite from simulated wastewater (isotherm, kinetic and thermodynamic studies) [J]. *Composites Part B: Engineering*, 2019, 159: 146–156.
- [28] 高冬兰. 氨基功能化磁性材料的制备及其对水中重金属离子的吸附性能研究 [D]. 南京: 南京理工大学, 2013.
GAO D L. Preparation of amino functionalized magnetic materials and their adsorption properties for heavy metal ions in water [D]. Nanjing: Nanjing University of Science and Technology, 2013.
- [29] 吴志坚, 刘海宁, 张慧芳. 离子强度对吸附影响机理的研究进展 [J]. *环境化学*, 2010, 29(6): 997–1003.
WU Z J, LIU H N, ZHANG H F. Research progress on mechanisms about the effect of ionic strength on adsorption [J]. *Environmental Chemistry*, 2010, 29(6): 997–1003.
- [30] 谢汶级, 李佳, 王辛龙, 等. PVP 包覆纳米 Fe₃O₄ 对 U(VI) 的吸附 [J]. *核化学与放射化学*, 2022, 44(3): 377–385.
XIE W J, LI J, WANG X L, et al. Adsorption of U(VI) onto nano-Fe₃O₄ coated by polyvinyl pyrrolidone [J]. *Journal of Nuclear and Radiochemistry*, 2022, 44(3): 377–385.
- [31] TAGHVIMI A, HAMISHEHKAR H, EBRAHIMI M. Magnetic nano graphene oxide as solid phase extraction adsorbent coupled with liquid chromatography to determine pseudoephedrine in urine samples [J]. *Journal of Chromatography B, Analytical Technologies in the Bio-*

medical and Life Sciences, 2016, 1009/1010: 66–72.
[32] 孙优兰, 黄永光, 朱晓春, 等. 清酱香型白酒特征风味化合物分析[J]. 食品科学, 2020, 41(24): 199–208.

SUN Y L, HUANG Y G, ZHU X C, et al. Analysis of characteristic flavor compounds of Chinese light-soy sauce aroma type liquors [J]. Food Science, 2020, 41(24): 199–208.

Accurate Detection of 8 Long-Chain Fatty Acid Ethyl Esters in Baijiu Based on Magnetic Solid Phase Extraction-Gas Chromatography-Mass Spectrometry Combined with Isotope Internal Standards

CHEN Xiaoman¹, LIAN Xudong¹, YE Siting¹, AN Mingzhe², ZHAO Dong²,
ZHENG Jia², SUN Xiaotao¹, DONG Wei^{1,*}

(1. Key Laboratory of Brewing Molecular Engineering of China Light Industry/Beijing Key Laboratory of Flavor Chemistry, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China;
2. Wuliangye Group Co. Ltd., Yibin 511500, China)

Abstract: Long-chain fatty acid ethyl ester is one of the important factors causing the turbidity of Baijiu. In order to systematically analyze the effect of long-chain fatty acid ethyl ester content in Baijiu and improve the turbidity issue of Baijiu production, a method using magnetic solid phase extraction of aminated ferric oxide ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-NH}_2$) coupled with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) was established to simultaneously determine 8 long-chain fatty acid ethyl esters in Baijiu. Optimal extraction conditions were determined by evaluating factors such sample solution pH, ionic strength, adsorbent amount, adsorption time, desorption solvent type and pH, and desorption time. The results indicated that the linear relationship between the 8 long-chain fatty acid ethyl esters within their respective mass concentration ranges was strong, with correlation coefficients (R^2) all above 0.99. Detection limits ranged from 9.1 $\mu\text{g/L}$ to 42.9 $\mu\text{g/L}$, and quantitation limits from 5.2 $\mu\text{g/L}$ to 200.0 $\mu\text{g/L}$. Recovery rates were between 79.6% and 99.3%, with a relative standard deviation of 8.0% to 10.7% ($n=3$). By applying the established method, along with the isotope internal standard approach, the accurate quantification of 8 long-chain fatty acid ethyl esters in 24 kinds of Baijiu samples with different flavor types and brands was carried out. Significant variations in types and concentration levels of long-chain fatty acid ethyl esters were observed, with the detection rate of long-chain fatty acid ethyl esters in sauce-flavored Baijiu reaching 100%. The method developed in this research was rapid and straightforward, requiring only a 10 min extraction time, yielding highly sensitive and precise outcomes. It effectively eliminated the background interference typically associated with conventional liquid-liquid extraction, and provided a new approach for the accurate detection of long-chain fatty acid ethyl esters in Baijiu.

Keywords: long-chain fatty acid ethyl esters; turbidity; magnetic solid phase extraction; isotope internal standard; Baijiu