

# 应用 SBSE-TDS-GC-MS 方法快速分析葡萄酒 中挥发性及半挥发性成分

王宏平<sup>1</sup>, 杨蕾<sup>2</sup>, 王保兴<sup>2</sup>, 侯英<sup>2</sup>, 杨勇<sup>2</sup>

1(云南省疾病预防控制中心, 云南 昆明, 650022) 2(云南瑞升烟草技术(集团)有限公司, 云南 昆明, 650106)

**摘要** 采用固相萃取搅拌棒(SBSE)萃取葡萄酒中的挥发性及半挥发性成分,再用热脱附(TDS)-气质联用仪(GC-MS)进行分析。研究了不同萃取时间及不同浓度 NaCl 盐析作用对萃取效率的影响;并对影响热脱附的 3 个主要因素:热脱附温度、时间及冷阱收集温度进行了条件优化。在优化条件下,对方法的重现性进行考察,方法相对标准偏差 RSD 均小于 10% ( $n=6$ )。用此方法测定了葡萄酒中 46 种挥发性及半挥发性化合物,其中酯类和酸类占很大部分,另还有一定量的醇和醛酮类物质,这些化合物反应了葡萄酒的香气特征。

**关键词** 固相萃取搅拌棒, 热脱附, 葡萄酒, 气质联用仪

目前浸提葡萄酒香气成分,采用 GC-MS 分析样品时常用的前处理方法有液-液萃取、静态顶空技术、动态顶空技术、分馏、固相萃取和固相微萃取技术<sup>[1~3]</sup>。液-液萃取方法费用低,方法简便,不需要特别的辅助仪器,并且重现性好,但仅适合葡萄酒中主要香气化合物的提取;静态顶空技术重现性好,对高挥发性化合物分析很有用,但对低挥发性化合物的分析灵敏度较低;动态顶空技术容易使某些香气成分分解变化,引入外来物质;粗提液分馏方法可以将香气成分按分析特点预分类收集,然后分别进行 GC 分析,但时间长,操作烦琐易引入外来物质;固相萃取技术(SPE)和固相微萃取(SPME)技术比上述方法先进,尤其是固相微萃取技术直接提取香气,不需要预处理,一步操作就可以进行香气 GC 分析,缺点是香气成分提取的选择性不强,分析的化合物范围窄<sup>[4]</sup>。目前,固相萃取技术(SPE)和固相微萃取(SPME)技术在微量香气化合物的分析中的应用比较多<sup>[1,5]</sup>。

1999 年 Baltussen 和 Sandra 等提出一种新的样品预处理技术——搅拌棒吸附萃取(SBSE),它是由涂有聚二甲氧基硅氧烷(PDMS)的搅拌棒构成<sup>[6]</sup>。SBSE 的原理与 SPME 相同,不同的是搅拌棒吸附萃取用涂有 25~100  $\mu\text{L}$  的 PDMS(Twister, Gerstel)的 10~20 mm 长的搅拌棒代替了 SPME 的聚合物涂层纤维,对水样中非极性溶质有很好的萃取富集能力。由于 SBSE 具有比 SPME 小得多的相比(水相的体积除以 PDMS 相的体积),因此 SBSE 比 SPME 可获得更高的萃取效率。目前,搅拌棒吸附萃取被用来测

定白葡萄酒中的苯甲醚和农残等有害成分<sup>[7]</sup>,而在国内应用 SBSE 还不够广泛<sup>[8]</sup>。

本文应用 SBSE-TDS-GC-MS 方法快速分析了葡萄酒中挥发性及半挥发性成分。探讨了影响萃取效率及测定精度的因素,用优化后的方法分析了葡萄酒中 46 种挥发性及半挥发性成分。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

TDS-2 热解吸系统(Gerstel, GmbH),将热解吸元件安装于 Agilent 6890N/5973N 的 GC/MS 气相色谱-质谱联用仪上(Agilent, 美国),GC 上同时装有 CIS4 进样口(Gerstel, GmbH)。搅拌/加热台(supelco, 美国),AB204-S 分析天平(Mettler-Toledo, 美国),SBSE 固相萃取搅拌棒(10 mm $\times$ 0.5 mm, 25  $\mu\text{L}$  PDMS, Gerstel)。

NaCl, 优级纯, 上海化学试剂有限公司;葡萄酒样品为市售。

### 1.2 仪器条件

TDS: 30~60 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ —250 $^{\circ}\text{C}$ (保持 4 min);不分流模式, 50 mL/min 解吸流速。

PTV: -50 $^{\circ}\text{C}$ (冷凝聚集温度)—12 $^{\circ}\text{C}/\text{s}$ —270 $^{\circ}\text{C}$ (保持 3 min)。

色谱柱: HP-5MS, 30 m  $\times$  0.25 mm i. d.  $\times$  0.25  $\mu\text{m}$ 。

载气: He, 流速 1.0 mL/min。

程序升温: 50 $^{\circ}\text{C}$ (1 min)—5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ —150 $^{\circ}\text{C}$ —10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ —250 $^{\circ}\text{C}$ (10 min)。

检测器: Agilent 5973N MSD。

### 1.3 样品处理和分析

第一作者: 学士, 副主任技师。

收稿日期: 2008-08-26, 改回日期: 2008-10-24

准确量取 20 mL 葡萄酒样品于 20 mL 顶空瓶中,放入搅拌棒,在室温下以 1 100 r/min 转速搅拌 60 min,萃取完成后,取出搅拌棒,用少许蒸馏水洗漆棒表面,然后用擦镜纸吸去表面的水分,插入玻璃热解吸管中(4 mm i. d. × 178 mmL.),进 GC/MS 分析。

2 结果与讨论

2.1 影响萃取效率的因素

2.1.1 萃取时间

在萃取过程中,若转子转速一定,萃取温度一定,萃取时间对 PDMS 萃取量会产生影响。本试验在 1 100 r/min,室温下分别取 30 min,60 min,120 min,240 min,480 min 进行对 PDMS 吸附待测物的影响试验,结果如图 1 所示,随着萃取时间的延长,目标化合物的总峰面积增大,在 90 min 时达到平衡。所以,随后实验选择 90 min 为样品的萃取时间。

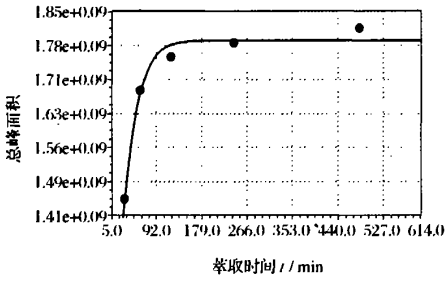


图 1 萃取时间对萃取效率的影响

2.1.2 盐析效应

在萃取过程中,以 NaCl 作为盐析剂进行色谱分析。进行了在体系中加入 5%、10%、20% 及饱和 NaCl 和空白情况下对 PDMS 吸附待测物的影响试

验,结果如图 2 所示。随着 NaCl 的加入及浓度的增加,总峰面积呈下降趋势。实验表明,盐析效应对 SBSE 萃取葡萄酒中挥发性及半挥发性成分无促进作用,因此在后续实验中不添加 NaCl。

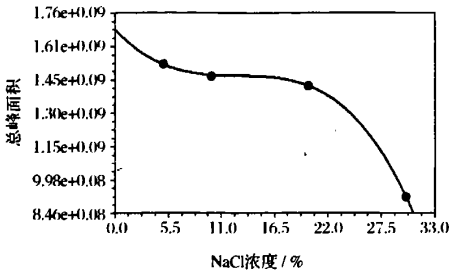


图 2 盐析作用对 PDMS 萃取效率的影响

2.2 影响热脱附的因素

采用正交试验法,选取对热脱附影响较大的 3 个因素:脱附温度(A)、脱附时间(B)及进样口冷阱温度(C),取 3 个水平制定正交表,如表 1 所示。比较了不同条件对试验结果的影响,由此确定了适宜的试验参数,优化了试验条件,确保被测物质的特征峰的总峰面积最高。

表 1 因素-水平表

水平	A(脱附温度)/℃	B(脱附时间)/min	C(冷阱温度)/℃
1	150	2	0
2	200	4	-25
3	250	6	-50

结果表明,各因素对实验结果影响大小顺序依次为 C、A、B,即冷阱温度对实验结果影响最大。较好的水平组合为 A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>,即样品在 250℃ 脱附 6 min,以 -25℃ 冷阱温度进行收集,所获得的被测物质的总峰面积最大。

表 2 正交实验方案及结果

水平	A 脱附温度/℃	B 脱附时间/min	C CIS 初温/℃	实验结果 绝对峰面积
1	250	2	0	132 973 740 4
2	250	4	-25	134 866 077 7
3	250	6	-50	816 543 952
4	200	2	-25	743 745 621
5	200	4	-50	962 351 343
6	200	6	0	429 914 516
7	150	2	-50	585 991 783
8	150	4	0	467 991 478
9	150	6	-25	174 044 956 7
K <sub>1</sub>	349 494 213 3	265 947 480 8	222 764 339 8	
K <sub>2</sub>	213 601 148 0	277 900 359 8	383 285 596 5	
K <sub>3</sub>	279 443 282 8	298 690 803 5	236 488 707 8	
k <sub>1</sub>	116 498 071 1	886 491 602. 7	742 547 799	
k <sub>2</sub>	712 003 826. 7	926 334 532. 7	127 761 865 5	
k <sub>3</sub>	931 477 609. 3	995 636 011. 7	788 295 693	
R	452 976 884. 3	109 144 409	535 070 856	

2.3 方法重现性

为了评价方法在测定葡萄酒样品中挥发性及半挥发性化合物的精确度,分别准确吸取 20 mL 酒样 6

份,按上述方法测定,46 种目标化合物 6 次测定的相对标准偏差(RSD)在 0.83~10.06,结果见表 3。

表 3 葡萄酒样品测定结果

序号	保留时间/min	化合物	匹配度	峰面积/%	RSD/%
1	6.19	Hexanoic acid, ethyl ester(己酸乙酯)	84	0.104	8.65
2	7.57	Pentanoic acid(戊酸)	86	0.856	1.56
3	10.43	Nonanal(壬醛)	90	0.347	5.55
4	10.80	Phenylethyl alcohol(苯乙醇)	97	5.529	5.64
5	12.36	Nonanol(壬醇)	80	0.199	4.33
6	12.75	Butanedioic acid, diethyl ester(丁二酸二乙酯)	91	11.548	6.87
7	13.12	Octanoic acid, ethyl ester(辛酸乙酯)	91	8.733	8.56
8	13.69	Benzofuran, 2,3-dihydro-(香豆满)	86	0.101	3.01
9	14.34	Benzeneacetic acid, ethyl ester(苯乙酸乙酯)	90	0.303	8.47
10	14.47	Isopentyl hexanoate(己酸异戊酯)	80	0.042	10.06
11	14.66	Acetic acid, 2-phenylethyl ester(乙酸-2-苯乙酯)	90	0.167	9.06
12	14.99	Butanedioic acid, hydroxyl-, diethyl ester(苹果酸二乙酯)	86	0.550	2.51
13	15.08	Decanol(癸醇)	90	0.162	8.79
14	15.5	Nonanoic acid(壬酸)	87	0.456	5.42
15	16.56	Benzoic acid, butyl ester(苯甲酸丁酯)	82	0.143	3.60
16	17.10	Benzenepropanoic acid, ethyl ester(苯丙酸乙酯)	87	0.075	1.73
17	17.46	2(3H)-Furanone, 5-heptyldihydro-( $\gamma$ -壬内酯)	80	0.095	4.04
18	18.05	2-Buten-1-one, 1-(2,6,6-trimethyl-1,3-cyclohexadien-1-yl)-, (E)-(反式- $\beta$ -大马酮)	90	0.487	0.83
19	18.11	Nonanoic acid, ethyl ester(壬酸乙酯)	87	0.675 755	5.05
20	18.24	Decanoic acid(癸酸)	92	0.534	3.64
21	18.38	Decanoic acid, ethyl ester(癸酸乙酯)	91	7.474	6.12
22	19.59	Octanoic acid, 3-methylbutyl ester(辛酸异戊酯)	86	0.119	5.69
23	19.76	5,9-Undecadien-2-one, 6,10-dimethyl-(香叶基内酯)	84	0.126	2.74
24	20.08	2-Propenoic acid, 3-phenyl-ethyl ester(肉桂酸乙酯)	93	0.397	4.16
25	21.68	Hexanoic acid, 3-hydroxy-, ethyl ester(3-羟基-己酸乙酯)	86	0.181	7.05
26	21.91	1H-2-Benzopyran-1-one, 3,4-dihydroxy-3-methyl-, (R)-(3,4-二氢-8-羟基-3-甲基-1H-2-苯并吡喃-1-酮)	95	0.193	3.76
27	22.41	4-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-3-Buten-2-one( $\beta$ 紫罗兰酮)	82	0.386	2.35
28	22.49	(R)-5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethyl-2(4H)-Benzofuranone(R-二氢猕猴桃内酯)	86	0.295	2.44
29	22.76	Dodecanoic acid(十二酸)	93	0.376	6.57
30	22.86	2(3H)-Furanone, 5-heptyldihydro-(5-庚基-2(3H)-呋喃酮)	86	0.251	4.48
31	24.71	Benzoic acid, 4-hydroxy-3-methoxy-, ethyl ester(4-羟基-3-甲氧基-苯甲酸乙酯)	92	0.107	5.20
32	25.48	Dodecanoic acid, ethyl ester(十二酸乙酯)	88	0.342	5.81
33	26.35	Dodecanoic acid, 3-hydroxy-, ethyl ester(3-羟基十二酸乙酯)	90	0.589	3.83
34	26.41	Tetradecanoic acid(十四酸)	96	1.972	6.53
35	26.67	Petadecanoic acid(十五酸)	95	0.183	7.66
36	27.71	5-hydroxymethyldihydrofuran-2-one(5-羟甲基-2-氢-呋喃-2-酮)	97	0.921	4.26
37	27.94	n-Hexadecanoic acid(十六酸)	89	3.248	2.00
38	28.10	Hexadecanoic acid, ethyl ester(十六酸乙酯)	82	0.181	4.92
39	28.94	Benzeneethanol, 4-hydroxy-(4-羟基苯乙醇)	90	0.342	3.54
40	29.87	Isophytol(异植醇)	94	2.499	3.68
41	30.55	9,12,15-Octadecatrienal(9,12,15-十八碳三烯醛)	82	0.078	1.32
42	30.77	Octadecanoic acid(十八酸)	94	1.479	2.94
43	31.21	(Hexadecanoic acid, 2-hydroxyl-1-(hydroxymethyl) ethyl ester)2-羟基-1-(羟甲基)乙基棕榈酸酯	95	0.067	2.52
44	31.55	9,12-Octadecanoic acid, (Z,Z)-methyl ester(十八碳-9,12-二烯酸甲酯)	80	0.214	5.32
45	33.24	9,12,15-Octadecanoic acid, (Z,Z)-methyl ester(十八碳-9,12,15-三烯酸甲酯)	82	2.227	6.94
46	33.27	11,14,17-Eicosatrienoic acid, methyl ester(二十碳-11,14,17-三烯酸甲酯)	80	0.547	5.23

2.4 样品分析

按上述方法测定了葡萄酒中 46 种挥发性及半挥发性化合物,总离子流量图(TIC)见图 3,测定结果列于表 3。结果表明,葡萄酒中 46 种挥发性及半挥发

性化合物中酯类占了 24 种,酸类有 8 种,它们的含量占到了测定化合物质量总量的 80.21%,另还有一定量的醇和醛酮类物质,这些化合物反应了葡萄酒的香气特征。

### 3 结论

本文应用 SBSE-TDS-GC-MS 方法快速分析了葡萄酒中挥发性及半挥发性成分。探讨了影响萃取效率及测定精度的因素,用优化后的方法测定出葡萄酒中 46 种挥发性及半挥发性成分。研究表明 SBSE-TDS-GC-MS 方法具有前处理简便、方法耗时短、重

复性好的优点,为葡萄酒中多种挥发性及半挥发性化合物的分析检测提供了一种快速、简便、准确、有效的方法。

### 参考文献

- 1 Ortega-Heras M, Gonzalez-SanJose ML, Beltran S. Aroma composition of wines studied by different extraction methods[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2002, 458: 85~93
- 2 Sabon I, Revel G, Kotseridis Y, et al. Determination of volatile compounds in Grenache wines in relation with different Terroirs in the Rhone valley[J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50, 6 341~6 345
- 3 Mallouchos A, Komaitis M, Koutinas A, et al. Evolution of volatile byproducts during wine fermentations using Immobilized cells on grape skins[J]. *J Agric Food Chem*, 2003, 51, 2 402~2 408
- 4 Lepez R, Aznar M, Cacho J, et al. Quantitative determination of minor and trace volatile compounds in wine by Solid-phase Extraction and GC-MS[J]. *J Chromatogr A*, 2002, 966: 166~177
- 5 Silva Ferreira A C, Pinho P G. Analytical methods for determination of some aroma compounds on white wines by solid phase microextraction and gas chromatography [J]. *J Food Sci*, 2003, 68(9): 2 817~2 820
- 6 Baltussen E, Sandra P, David F, Cramers C. A Novel Extraction Technique for Aqueous Samples: Theory and Principles[J]. *J Microcol Sep*, 1999, 11: 737
- 7 Hayasaka Y, MacNamara K, Gayle A, et al. Application of stir bar sorptive extraction for wine analysis[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2003, 375: 948~955
- 8 徐媛,刘文民,赵景红,关亚风. 固相萃取搅拌棒萃取一气相色谱分析海水中的多环芳烃[J]. *分析化学*, 2005, 33 (10): 1401

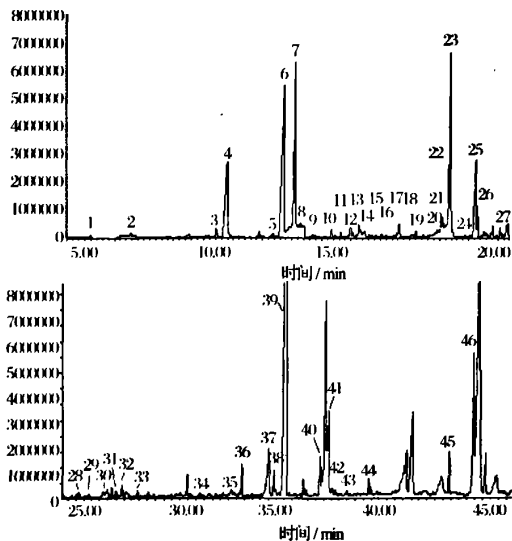


图3 葡萄酒中 46 种挥发性及半挥发性成分

## Analysis of Volatile and Semi-volatile Compounds in Wine Using Stir Bar Sorptive Extraction-Thermal Desorption-Gas Chromatography-Mass Spectrometry

Wang Hongping<sup>1</sup>, Yang Lei<sup>2</sup>, Wang Baoxing<sup>2</sup>, Hou Ying<sup>2</sup>, Yang Yong<sup>2</sup>

1( Yunnan Center for Disease Control and Prevent, Kunming 650022, China)

2( Yunnan Reascend Tobacco Technology (Group) Co., Ltd., Kunming 650106, China)

**ABSTRACT** A novel and fast method for the determination of 46 volatile and semi-volatile compounds in wine samples was established. The wine samples were analyzed by stir bar sorptive extraction-thermal desorption system-gas chromatography-mass spectrometry (SBSE-TDS-GC-MS). The stir bar was a twister coated with polydimethylsiloxane (PDMS) used as the extraction phase. In the present work, the different parameters affecting the extraction of the analytes from the wine samples to the PDMS-coated stir bars and optimization of conditions affecting thermal desorption were investigated. The optimized results were obtained after stirring the wine sample at 1100 rpm with the stir bar for 60 min at the room temperature. The addition of sodium chloride did not enhance the extraction effectiveness. Desorption was carried out at 250°C for 4 min under a helium flow of 50 ml/min in the splitting mode while maintained a cryoforcing temperature of -50°C in the programmed temperature vaporizing (PTV) injector of the GC-MS system. The relative standard deviation (RSD) of 46 compounds for six repeats was estimated between 0.83% and 10.06%. Volatile and semi-volatile compounds in wine samples were determined rapidly by this method. Under the described conditions, about 46 compounds were identified from the wine, and the compounds which mainly contributed to the characterization of the aroma were esters, carboxylic acids, aldehydes, ketones, etc.

**Key words** Stir bar sorptive extraction, thermal desorption, volatile and semi-volatile compounds, gas chromatography-mass spectrometry, wine