

分散液液微萃取结合气相色谱-火焰光度检测器法测定 芝麻香型白酒中 3-甲硫基丙醇

唐晖慧^{1*}, 金美东²

1(黄山学院 旅游学院, 安徽 黄山, 245021) 2(黄山学院 教育科学学院, 安徽 黄山, 245021)

摘 要 研究了超声波辅助分散液液微萃取联合气相色谱测定芝麻香型白酒中 3-甲硫基丙醇。筛选优化样品前处理条件, 联合气相色谱-火焰光度检测器(gas chromatography-flame photometric detector, GC-FPD)测定其含量。结果表明:分散液液微萃取参数为萃取剂三氯甲烷 65 μL 、分散剂甲醇 100 μL 、样品体积 1 mL、样品 pH 值为 3、酒精度 12% vol、NaCl 离子强度 15%、低温分离时间 1 h、离心时间 3.5 min, 3-甲硫基丙醇提取率为 93.01%。在 3-甲硫基丙醇质量浓度为 50~2 000 $\mu\text{g/L}$ 时, 线性相关系数为 0.999 4, 检测限为 1.5 $\mu\text{g/L}$, 定量限为 5 $\mu\text{g/L}$ 。在 3-甲硫基丙醇质量浓度分别为 50、100、200、400 $\mu\text{g/L}$ 四个水平下, 回收率为 92.11%~101.90%。检测 5 个白酒样品中 3-甲硫基丙醇含量, 质量浓度分别为 110.41~1 238.67 $\mu\text{g/L}$, 其中孔府家酒含量最高。

关键词 3-甲硫基丙醇; 超声辅助法; 分散液液微萃取(DLLME); 气相色谱法; 响应面; 检测

中国白酒是世界上最古老的饮料之一, 其风味受到发酵、蒸馏和陈放过程的影响^[1]。由于原料和发酵工艺的差别, 白酒已经形成较为复杂的风味类型。芝麻香型白酒以其浓郁的芝麻香味而得名^[2], 3-甲硫基丙醇是该香型酒区别于其他香型白酒的特征性和标志性成分^[3]。国家标准《芝麻香型白酒》中有明确的质量要求^[4], 3-甲硫基丙醇的含量不得低于 500 $\mu\text{g/L}$ 。因此, 对芝麻香型白酒中 3-甲硫基丙醇进行准确定量显得尤为重要。建立选择性强、灵敏度高的方法来测定白酒中的硫化物越来越受到关注。

一般测定硫化物的方法是基于气相色谱(gas chromatography, GC)与选择性强和灵敏度高的检测器联用来实现, 如火焰光度检测器(flame photometric detector, FPD)、化学发光检测器和质谱检测器^[5]。然而, 由于白酒中的 3-甲硫基丙醇的含量很低, 因此在色谱测定之前需要对其进行萃取和浓缩处理^[6]。传统的液液萃取法已经被广泛用于酒类中香味成分的分析中。但是, 传统的液液萃取法只适合用来萃取高沸点的分析物, 以免操作过程造成目标分析物的损失^[7]。分散液液微萃取(dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME)是一种新颖的样品微萃取技术, 由 REZAEI 等在 2006 年首次提出。该方法首先

将一定体积的提取剂和分散剂用微型注射器迅速注入含水样品中, 然后将混合物混匀, 超声提取, 最后离心取一定体积的沉淀相进行色谱分析^[8]。其优点为操作简单、快速、费用低、高回收率和富集倍数, 以及环境友好等。

本文旨在建立一种 DLLME 结合 GC-FPD 测定芝麻香型白酒中 3-甲硫基丙醇的快速检测方法。通过筛选优化提取条件, 以期获得最佳的提取率。

1 材料与方法

1.1 实验材料

4 种芝麻香型白酒: 梅兰春酒(46% vol), 景芝酒(49% vol), 孔府家酒(50% vol), 兰陵酒(42% vol); 1 种浓香型白酒: 扳倒井酒(34% vol)。所有的酒样于 2013 年灌装, 储藏在 4 $^{\circ}\text{C}$ 环境中直至实验分析。3-甲硫基丙醇标准品(纯度 99%)购自滕州市悟通香料有限公司; 正丙硫醇标准品(纯度 99%)购自德国 Dr. Ehrenstorfer 公司; 氯苯、1, 2-二氯乙烷、二氯甲烷、三氯甲烷、四氯化碳、四氯乙烷、丙酮、氯化钠、氢氧化钠均为分析纯, 购自国药集团化学试剂有限公司; 甲醇和乙腈为色谱纯, 购自美国 Tedia 公司。

超声波清洗机 SB-5200DT, 宁波新芝生物科技股份有限公司; Agilent 7890A 气相色谱仪, 美国 Agilent 公司; Allegra X-22R 台式冷冻离心机, 德国贝克曼公司; Vortex Genine2 涡旋混合器, 美国 Vortex-Genine 公司; 分析天平 XS205DU, 瑞士梅特勒托利多公司。

第一作者: 硕士, 助教(本文通讯作者)。

基金项目: 黄山学院校级科研项目(2015xsk002)

收稿日期: 2015-08-30, 改回日期: 2015-11-14

1.2 实验方法

1.2.1 色谱条件

气相色谱仪为 Agilent 7890A,配火焰光度检测器 (FPD)。毛细管柱:Agilent DB1701 (30 m × 0.32 mm × 0.5 μm)。程序升温:初温 40℃ 保持 2 min,然后以 2℃/min 升至 100℃ 保持 2 min,再以 5℃/min 升至 220℃/min 保持 2 min。载气:99.999% 高纯氮气:6.5 mL/min,氢气:75 mL/min,空气:100 mL/min;进样口温度:220℃,检测器温度:200℃。

1.2.2 样品预处理和 UA-DLLME 过程

酒样(酒精度大约 40% vol)的 pH 用 1 mol/L 的 HCl 调至 3。然后,用双蒸水将酒样的酒精度调至 12% vol 于 4℃ 环境中保存至萃取过程。取 1 mL 上述预处理过的酒样置于 5 mL 的玻璃离心管中,先分别加入 10 μL (正丙硫醇,50 μg/L) 和 0.1 g NaCl,再将 100 μL 的提取剂(三氯甲烷)和 100 μL 分散剂(甲醇)迅速加入离心管中,涡旋 30 s,4℃ 下超声辅助乳化 2 min。最后,将三元乳浊液于 5 000 r/min 离心 5 min,获得沉淀相。用微型注射器吸除上层溶液,取 1 μL 沉淀相进行气相分析。

1.2.3 3-甲硫基丙醇和正丙硫醇标准储备液配制

3-甲硫基丙醇标准储备液的配制:精密称取 20 mg,置于 1 L 容量瓶中,用无水乙醇定容至刻度,得到 20 mg/L 的储备液。

正丙硫醇(internal standard, IS)标准溶液的配制:精密称取 5 mg,置于 1 L 容量瓶中,用无水乙醇定容至刻度,得到 5 mg/L 的储备液。

3-甲硫基丙醇工作液的配制:精密量取 1 mL 储备液,置于 10 mL 容量瓶中,再加入 100 μL 正丙硫醇标准储备液用无水乙醇定容至刻度,得 2 000 μg/L,工作液。以同样的方法分别配制 1 000、500、400、250、125、100 和 50 μg/L 的工作液(IS 的质量浓度恒定为 50 μg/L)。

1.2.4 模拟样品的制备

选用红星二锅头(50% vol)作为模拟酒体,用于方法的研究。用双蒸水将二锅头的酒精度稀释至 40% vol,加入一定量的 3-甲硫基丙醇储备液使得加

标质量浓度为 100 μg/L,再用 1 mol/L 的 NaOH 将酒体 pH 调至 5,得到模拟样品。

1.2.5 真实样品的制备

在梅兰春酒中加入一定量的 3-甲硫基丙醇储备液使得加标质量浓度为 100 μg/L,将加标后的酒样用于方法的优化和验证。

1.2.6 最佳提取方案的筛选优化

将分散剂与萃取剂混合,再加入 1 mL 酒样,将样品 pH 值调至 3,经超声萃取 2 min 进行分散液液微萃取(DLLME),为了评估影响 UA-DLLME 的主要因素,如分散剂及其体积、萃取剂及其体积、离子强度、酒精度、低温静置时间和离心时间等,本研究通过单因素实验对以上参数进行筛选优化。

1.2.7 数据处理

试验数据采用方差分析进行统计处理。各组数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS16.0 软件进行显著性差异分析($P < 0.05$)。

2 结果与讨论

2.1 GC 工作曲线的绘制

在 1.2.1 色谱条件下,1.2.3 中每个浓度的 3-甲硫基丙醇工作液进样 3 次,取其平均值(表 1)。FPD 对硫化物的响应是非线性的,只能用偏最小二乘法进行二次曲线拟合。本实验采用内标法进行定量计算,以 3-甲硫基丙醇的浓度为纵坐标,3-甲硫基丙醇和正丙硫醇(IS)的峰面积比为横坐标进行曲线拟合,见图 1。3-甲硫基丙醇在 50 ~ 2 000 μg/L 范围内呈现良好的二次多项式关系,相关系数 R^2 为 0.999 4,回归方程为 $y = 0.308 7x^2 - 2.632 2x + 76.272$ 。

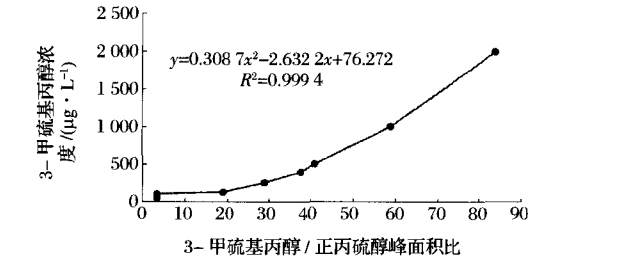


图 1 3-甲硫基丙醇的标准曲线
Fig. 1 The standard curve of 3-methylthiopropanol

表 1 3-甲硫基丙醇浓度与 3-甲硫基丙醇/正丙硫醇峰面积比的关系
Table 1 Relationship of 3-methylthiopropanol concentration and the peak area ratio of 3-methylthiopropanol and n-propylmercaptan

3-甲硫基丙醇质量浓度/(μg · L ⁻¹)	50	100	125	250	400	500	1000	2000
3-甲硫基丙醇/正丙硫醇峰面积比	3.4	3.4	18.9	28.9	37.3	40.8	59.0	83.8

2.2 分散液液微萃取条件的选择

在 UA-DLLME 方法中,有很多因素会显著影响萃取的效率,如萃取剂和分散剂的种类,超声萃取时间和样品溶液的 pH 等^[9]。对于基质较为复杂的样品来说,影响的因素就更多。这也是分散液液微萃取应用受限的原因。现有的关于分散液液微萃取的研究主要集中于环境、食品安全和药物代谢等水体样品分析方面。然而,酒体样品与水体样品相比,基质更为复杂,特别是其高的乙醇含量。因此,本实验除研究常规的因素外,还对酒样的酒精度进行考察。富集因子(EF)和萃取回收率(ER)是评价 UA-DLLME 浓缩和萃取效果的两个重要指标。

EF 被定义为沉淀相中 3-甲硫基丙醇的浓度($C_{[rec]}$)和模拟酒样 3-甲硫基丙醇的加标水平($C_{[add]}$)之比:

$$EF = C_{[rec]} / C_{[add]} \quad (1)$$

ER 被定义为沉淀相中 3-甲硫基丙醇的量($n_{[rec]}$)与模拟酒样中加入的 3-甲硫基丙醇的量($n_{[add]}$)的百分比:

$$ER/\% = n_{[rec]} / n_{[add]} \times 100 = C_{[rec]} \times V_{[rec]} / C_{[add]} \times V_{[add]} \times 100 \quad (2)$$

其中: $V_{[rec]}$ 和 $V_{[add]}$ 分别是沉淀相的体积和模拟酒样的体积。

2.2.1 萃取剂的选择

萃取剂的种类对 UA-DLLME 的效果影响很大。它不但要对分析物有很强的萃取效果,而且在酒样中的溶解度要尽量的小。酒样中硫化物常用的萃取剂有二氯甲烷、戊烷-二氯甲烷(2:1, V/V)、乙酸乙酯等^[10]。实验分别研究氯苯、1,2-二氯乙烷、二氯乙烷、三氯乙烷、四氯化碳、四氯乙烷和乙酸乙酯作为萃取剂对 3-甲硫基丙醇提取效果的影响。取各溶剂 100 μL 加入样品中,再加入 100 μL 甲醇,比较沉淀相的体积和萃取效果。乙酸乙酯作为提取剂时,由于在酒样中的溶解度较大没有出现分层,不适合作为液液微萃取提取剂。图 2 显示在其他 6 种提取剂中,三氯甲烷的回收率最高且沉淀相的体积最大(142 μL)。因此,选择三氯甲烷作为提取剂。

2.2.2 分散剂的选择

在液液微萃取中,分散剂的种类会直接影响到分析物的萃取效果。分散剂必须能够与水相和提取相互溶,从而将提取剂均匀分布在水相中以增加与目标化合物的接触表面积的效果,最终达到提高萃取效率的目的。这是由于不同分散剂在提取剂和酒样中溶

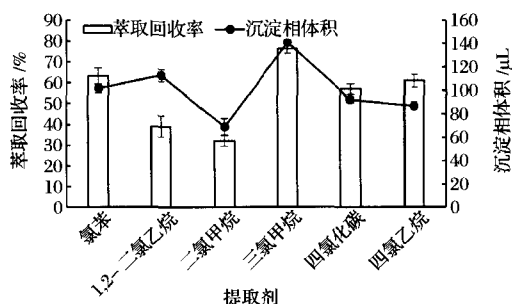


图 2 3-甲硫基丙醇的标准曲线

Fig. 2 The standard curve of 3-methylthiopropanol

解度的差异造成的。本实验分别选取甲醇、丙酮和乙腈(100 μL)作为分散剂,研究它们对三氯甲烷作为提取剂在 1 mL 模拟酒样中的提取效率影响。图 3 表明,使用甲醇作为分散剂时,提取效果最好。因此,选择甲醇作为分散剂进行进一步研究。

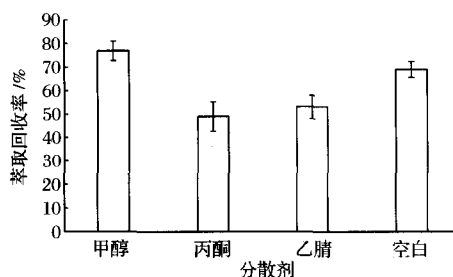


图 3 UA-DLLME 中分散剂对萃取回收率的影响

Fig. 3 The effect of dispersant on the ERs of UA-DLLME

2.2.3 萃取剂体积的考察

在 DLLME 过程中,萃取剂体积是影响萃取效果的一个关键参数。一般希望使用最少量的萃取剂获得较高的 EF 和 ER,并且减低对环境的毒性;同时,萃取剂的体积又必须适当大以尽可能完全地提取目标分析物,并保证有足够的沉淀相用于气相色谱分析。为了研究萃取剂用量的影响,将不同体积的三氯甲烷(40, 50, 60, 70, 80, 90 和 100 μL)分别加入 100 μL 甲醇中,并注入 1 mL 模拟酒样中进行 DLLME,每个体积做 3 次,结果如图 4 所示。在研究范围内,3-甲硫基丙醇的 EF 随萃取剂用量的增加而减小。同时沉淀相的体积随萃取剂用量的减少而减少,当萃取剂用量小于 40 μL 时,沉淀相太少不足以进行气相分析,相对标准差也明显变大。然而,实验发现 EF 和 ER 成负相关关系,随着 EF 的降低 ER 却不断升高。出现这种现象可能是由于当萃取剂体积很少时,溶解在酒样中的萃取剂占整个用量的比例较高,从而降低其萃取效果。综合考虑 EF、ER、沉淀相体积和重现

性,萃取剂三氯甲烷的用量定为 65 μL 。

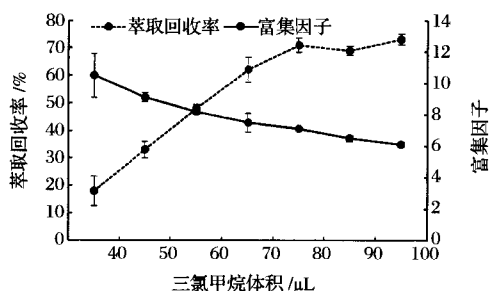


图4 UA-DLLME中三氯甲烷体积对ERs和EFs的影响

Fig. 4 The effect of CHCl_3 volume on the ERs and EFs of UA-DLLME

2.2.4 分散剂体积的考察

分散剂的用量是影响 DLLME 又一重要的影响因素。分散剂用量过少,萃取剂不能很好地分散成微小液滴,会降低萃取效率。当分散剂的量增加时,一方面能更好地使萃取剂分散在酒样中而提高萃取效率,另一方面会使目标分析物在萃取相中的分配系数降低,导致萃取效果变差;与此同时,分散剂对萃取剂的促溶作用增加,还会导致部分目标分析物随萃取剂溶解于酒样中而损失。因此,分别将不同体积的甲醇(50、100、150、200、250、300、350、400和450 μL)与65 μL 三氯甲烷混合,加入1 mL 模拟酒样进行 DLLME,每个浓度做3次,结果(图5)显示。当甲醇的体积从0增加到100 μL ,ER随之增加;当甲醇的量从100 μL 增加到450 μL 时,ER则随之下降。同时,由于甲醇能促进三氯甲烷溶解在酒样中,沉淀相的体积也随着甲醇的增加而减少,当甲醇体积为500 μL 时并未出现沉淀相。兼顾ER和沉淀相的体积,甲醇的用量定为100 μL 。

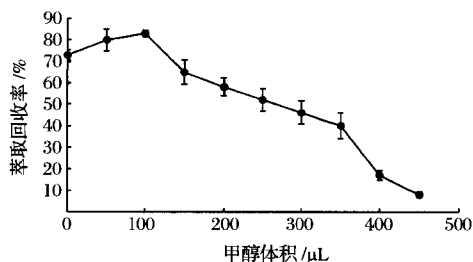


图5 甲醇的用量对UA-DLLME的影响

Fig. 5 The effect of methanol volume on UA-DLLME

2.2.5 酒样中酒精度的考察

与葡萄酒相比,白酒的酒精度较大,一般在30%~60% vol之间。这就使得白酒对提取剂的溶解力

很强,进而影响萃取效果。因此,在固相微萃取过程中要对酒样进行稀释以提高萃取效果^[11]。实验中用蒸馏水分别将酒样稀释到5%、12%、20%和30% vol四个浓度来考察酒精度对3-甲硫基丙醇萃取效果的影响。结果(图6)表明,酒精度在5%~12% vol范围内时,EF和ER随着酒精度的增加而增加,其中ER的增加幅度更为明显。当酒精度大于12% vol后,EF却随着酒精度的增加而减低,这是因为高的酒精度使得更多的提取剂溶于酒样中。然而,ER的变化趋势和EF并不一样。在酒精度从12% vol增加到30%的过程中,ER先增加再下降,并在20% vol时达到最大值。同时考虑到ER和EF的变化趋势,最终选取12% vol为酒样的酒精度。

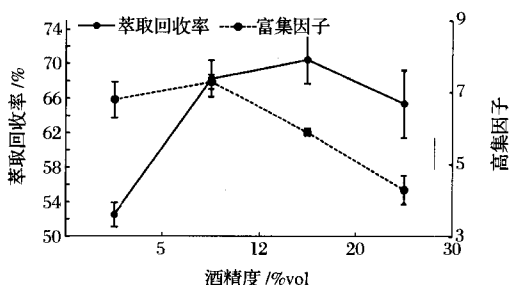


图6 UA-DLLME中酒精度对ER和EF的影响

Fig. 6 The effect of alcohol strength on the ER and EF of UA-DLLME

2.2.6 离子强度的考察

在考察离子强度对 DLLME 的影响时,一般在样品溶液中加入一定量的 NaCl 来提高溶液的离子强度。然而,也有研究发现,在分析基质较为复杂的样品时,加入 NaCl 会有絮状物沉淀下来,反而会干扰样品的分析^[12]。本实验中首先在酒样中分别加入50、100和150 g/L的NaCl,结果发现NaCl不但不能很快地溶解在整个三元系统中,而且会随着离心过程进入沉淀相。为此,我们将NaCl先溶解在蒸馏水中,然后用溶有NaCl的蒸馏水去调酒精度。实验结果(图7)表明,在0~150 g/L范围内随着NaCl添加量的增加沉淀相的体积也不断增加,并在150 g/L时达到最大值。而ER则呈现出“N”型变化,先上升后下降然后再上升。出现这现象的原因是当浓度范围在0~50 g/L之间时,3-甲硫基丙醇在提取剂中和3-甲硫基丙醇极性类似物会与3-甲硫基丙醇竞争性抑制,使得3-甲硫基丙醇在提取剂中的分配系数变小,ER降低。随着NaCl浓度的继续增加,沉淀相的体积迅速增大使得某些3-甲硫基丙醇极性类似物与3-甲硫基

丙醇的竞争性抑制降低,这样 ER 又再次增加。因此,离子强度定为 150 g/L。

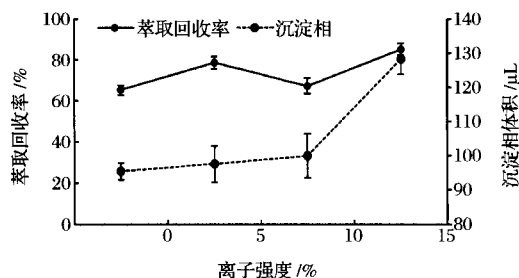


图7 UA-DLLME 中离子强度对 ER 和沉淀相体积的影响

Fig. 7 Influence of salt addition on the ER and sediment phase volume of the UA-DLLME step

2.2.7 低温分离时间考察

低温分离技术起初用来萃取匀质(水+乙腈)中的农药残留,通过降低温度破坏原有的固液平衡,使得农药在萃取剂的分配系数增加。将液液萃取或液液微萃取与低温分离技术联用,不但提取剂的用量少,而且操作简便^[13]。本实验先进行 DLLME,匀质提取后放入 4℃ 环境中分别静置 1、2、3、4、5 和 6 h,以增加 3-甲硫基丙醇在萃取剂中的分配系数。结果(图 8)发现,静置时间在 0~1 h 之间时,随着时间的延长 3-甲硫基丙醇的回收率不断提高。然而,当静置时间延长到 1 h 后,3-甲硫基丙醇的回收率则趋于稳定,不再随时间的延长而增加。因此,将低温分离的时间定为 1 h。

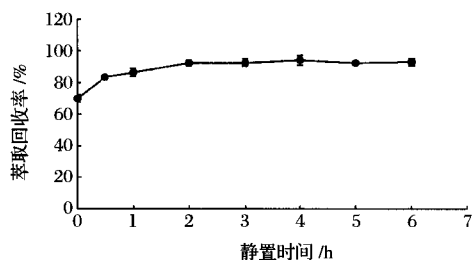


图8 UA-DLLME 中低温静置时间对 ER 的影响

Fig. 8 Influence of freezing time on the ER of the UA-DLLME step

2.2.8 离心时间考察

离心时间是分散液液微萃取能否发挥良好效果的关键指标,离心效果不佳会严重影响萃取的效率和回收率。本实验中分别考察不同的离心时间(2、2.5、3、3.5、4、4.5 和 5 min),结果(图 9)发现,离心时间在 2~3.5 min 时,随着时间增加 3-甲硫基丙醇的回收率逐渐提高。但是当离心时间在 3.5 min 后继续增加,3-甲硫基丙醇的回收率则基本稳定。因

此,将离心时间定为 3.5 min。

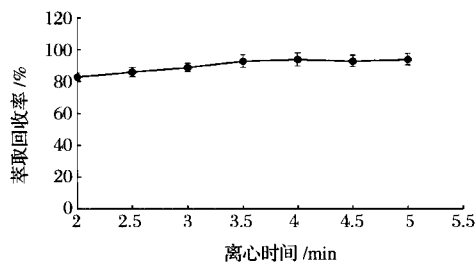


图9 UA-DLLME 中离心时间对 ER 的影响

Fig. 9 Influence of centrifugation time on the ER of the UA-DLLME step

总结以上 UA-DLLME 的萃取过程,筛选优化后的参数为萃取剂三氯甲烷 65 μL、分散剂甲醇 100 μL、样品体积 1 mL、样品 pH 值为 3、酒精度 12% vol、NaCl 离子强度 150 g/L、低温分离时间 1 h、离心时间 3.5 min,萃取回收率达到 93.01%。

2.3 UA-DLLME-GC-SPD 的方法学研究

2.3.1 UA-DLLME 方法验证

验证实验采用模拟酒样在优化后的条件下进行分析,色谱图见图 10。方法的线性范围,在 3-甲硫基丙醇最佳浓度水平下测试。校准曲线为浓度对峰面积的响应值获得。采用 9 个浓度绘制校正曲线,每个浓度点连续重复进样 3 次。校准回归方程采用偏最小二乘法拟合。3-甲硫基丙醇的检测限和定量限分别为信噪比(S/N)3 和 10 计算得到。UA-DLLME-GC-SPD 对于 3-甲硫基丙醇的线性范围,相关系数,检测限和定量限见表 10。已有文献报道气相色谱-质谱法测定 3-甲硫基丙醇的线性范围为 0.1~2 mg/L^[14],而本实验的工作曲线下限为 0.05 mg/L,说明检测 3-甲硫基丙醇时,SPD 检测器表现出与质谱检测器同样的检测能力。

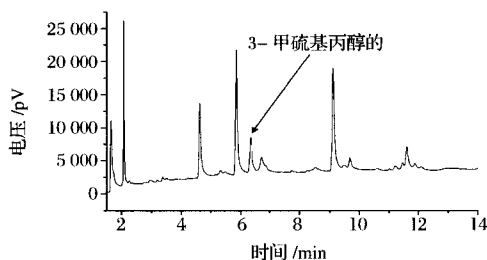


图10 芝麻香型白酒的 UA-DLLME-GC-SPD 色谱图

Fig. 10 UA-DLLME-GC-SPD chromatogram of a Zhima flavor Chinese spirits

表 10 UA-DLLME-GC-FPD 测定芝麻香型白酒中
3-甲硫基丙醇的分析参数

Table 10 Analytical parameters for the determination of
3-methylthiopropanol in Zhima flavor Chinese spirits
samples by UA-DLLME-GC-FPD

目标物	线性范围/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	R^2	检测限/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	定量限/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)
3-甲硫基丙醇	50 ~ 2 000	0.999 4	1.5	5

重复性和再现性实验用中等浓度的样品(3-甲硫基丙醇加标水平为 100 $\mu\text{g/L}$ 的模拟酒样)进行分析。方法的重复性(1 天内精度),将 1 个样品在 1 天内重复分析 8 次。在所有情况下,相对标准差小于或等于 7.32%。再现性(间天精度),在 3 天内进行,每个样品每天分析 8 次,相对标准差小于或等于 9.65%。

2.3.2 回收试验

为了评估样品基质的影响,对梅兰春酒进行 4 个水平(50, 100, 200, 400 $\mu\text{g/L}$)的加标试验,测定 3-甲硫基丙醇的加标回收率。将 15 mL 梅兰春酒平均分成 15 份,每份 1 mL。取其中 3 份,不加标样直接进行分析;其余 12 份分成 3 组,分别进行低中高 4 个水平加标回收实验,结果见表 11。加标回收率的平均值达到 97.75%,说明本方法具有较高的准确性,适合于分析酒样中的 3-甲硫基丙醇。

表 12 UA-DLLME-GC-FPD 测定不同品牌白酒中 3-甲硫基丙醇的含量

Table 12 3-methylthiopropanol found in different brand Chinese spirits analyzed by UA-DLLME-GC-FPD

酒品种	梅兰春	景芝	孔府家	兰陵	扳倒井
3-甲硫基丙醇浓度/($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	729.75 \pm 51.32	1009.10 \pm 42.58	1238.67 \pm 83.41	873.90 \pm 32.89	110.41 \pm 7.63

3 结论

UA-DLLME-GC-FPD 方法是一种测定芝麻香型白酒中 3-甲硫基丙醇的新方法,结合超声辅助提取、分散液液微萃取的提取优势,并联合气相色谱高分离能力,以及火焰光度检测器对含硫化合物的高选择性和高灵敏度的特点,使此法具有简单、高效、灵敏和环保的优点。此外,本文经过单因素筛选优化后得到最佳的 UA-DLLME 条件,并将 UA-DLLME-GC-FPD 方法成功地用于多种芝麻香型白酒中 3-甲硫基丙醇含量的分析。

参 考 文 献

[1] 黄名扬,曾钧,郭庆东,等.传统小曲米香型白酒生产的工艺技术探讨[J].现代食品科技,2013,29(4):845-850.

表 11 芝麻香型白酒中不同 3-甲硫基丙醇
加标水平的回收率

Table 11 Recovery of 3-methylthiopropanol obtained
for spiked Zhima flavor Chinese spirits samples

加标浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	50	100	200	400
回收率/%	100.11 \pm 5.81	101.90 \pm 2.79	92.11 \pm 1.71	96.87 \pm 2.62

2.3.3 应用验证后的方法进行芝麻香型白酒样品分析

应用 UA-DLLME-GC-FPD 方法分析 4 种芝麻香型白酒与 1 种浓香型白酒(扳倒井酒)。结果见表 12,其中孔府家酒中的 3-甲硫基丙醇含量最高,为 1 238.67 $\mu\text{g/L}$;5 种白酒中的 3-甲硫基丙醇的含量范围在 110.41 ~ 1 238.67 $\mu\text{g/L}$ 之间,这种差异主要是由不同的发酵工艺所造成的。被分析的 4 种芝麻香型白酒都达到国标规定(3-甲硫基丙醇含量大于 500 $\mu\text{g/L}$ ^[4])。孙啸涛等^[3]利用 GC-FPD 法检测某种商品酒,其 3-甲硫基丙醇的含量范围为 0.35 ~ 1.03 mg/L。万素琴等^[6]通过 GC-MS 法测定 2 种芝麻香型白酒的 3-甲硫基丙醇的含量分别为 21.78 mg/kg 和 30.22 mg/kg。总结以上检测结果,再次说明 3-甲硫基丙醇是芝麻香型白酒的特征风味物质。

- [2] 赵爽,杨春霞,窦岫,等.白酒生产中酿酒微生物研究进展[J].中国酿造,2012,31(4):5-10.
- [3] 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[J].食品科学技术学报,2014,32(5):27-34.
- [4] GB/T 20824-2007.芝麻香型白酒[S].
- [5] 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.
- [6] 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.
- [7] ZHANG Yu-feng, HIAN K L. Ionic Liquid-based ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction followed high-performance liquid chromatography for the determination of ultraviolet filters in environmental water sam-

- ples[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2012, 750: 120 – 126.
- [8] REZAEI M, ASSADI Y, AGHAEE E, et al. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction [J]. *Journal of Chromatography A*, 2006, 1116(1): 1 – 9.
- [9] ZHANG Hui, CHEN Xiao-ging, JIANG Xin-yu. Determination of phthalate esters in water samples by ionic liquid cold-induced aggregation dispersive liquid-liquid microextraction coupled with high-performance liquid chromatography[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2011, 689(1): 137 – 142.
- [10] CARPINTEIRO I, ABUIN B, RODRIGUEZ I, et al. Mixed-mode solid-phase extraction followed by dispersive liquid-liquid microextraction for the sensitive determination of ethylphenols in red wines [J]. *Journal of Chromatography A*, 2012, 1229: 79 – 85.
- [11] MARIANI M B, GIANNETTI V, TESTANI E. HS-SPME/GC-MS method to characterise the flavour of Italian Pasta: potential application to assess the quality of the products [J]. *Food Analytical Methods*, 2014, 7(1): 64 – 72.
- [12] FENG Juan-juan, SUN Min, XU Li-li, et al. Novel double-confined polymeric ionic liquids as sorbents for solid-phase microextraction with enhanced stability and durability in high-ionic-strength solution [J]. *Journal of Chromatography A*, 2012, 1268: 16 – 21.
- [13] SARAJI M, BOROUJENI M K. Recent developments in dispersive liquid-liquid microextraction [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2014, 406: 2 027 – 2 066.
- [14] 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.

Determination of 3-methylthiopropanol in Zhima-flavour Chinese spirits by dispersive liquid-liquid microextraction coupling with GC-FPD

TANG Hui-hui^{1*}, JIN Mei-dong²

1(Tourism College, Huangshan University, Huangshan 245021, China)

2(School of Education Science, Huangshan University, Huangshan 245021, China)

ABSTRACT Ultrasound assisted dispersive liquid-liquid microextraction combined with gas chromatography was used to determine 3-methylthiopropanol in Zhima-flavour Chinese spirits. Pretreatment condition was selected to optimize the conditions of extracting 3-methylthiopropanol, and gas chromatography-flame photometric detector was used to determine the content. The results showed that the parameters of dispersive liquid-liquid microextraction were as follows: the extractant was 65 μL of chloroform, the dispersant was 100 μL of methanol, sample volume was 1 mL, pH value of sample was 3, alcohol concentration was 12% vol, ionic strength was 15% NaCl, freezing time was 1 h, centrifugal time was 3.5 min, and the extraction rate of 3-methylthiopropanol was 93.01%. The linear correlation coefficient was 0.999 4 in 3-methylthiopropanol concentration for 50 ~ 2 000 $\mu\text{g/L}$, the detection limit was 1.5 $\mu\text{g/L}$, and the quantitation limit was 5 $\mu\text{g/L}$. The recovery rates were 92.11% ~ 101.90% in 4 concentration levels of 3-methylthiopropanol concentration (50, 100, 200, 400 $\mu\text{g/L}$). 3-Methylthiopropanol contents in 5 Chinese spirits were determined to be 110.41 ~ 1 238.67 $\mu\text{g/L}$, wherein the 3-methylthiopropanol content in Congfujia Chinese spirits was the highest.

Key words 3-methylthiopropanol; ultrasound waves-sampling; dispersive liquid-liquid microextraction; gas chromatography; response surface; determination