

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

王柏文^{1,2}, 李贺贺^{1,2}, 张锋国³, 信春晖³, 孙金沅^{1,2,*}, 黄明泉^{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:应用液-液萃取结合气相色谱-质谱(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)与气相色谱-氮磷检测器(GC-nitrogen phosphorus detector, GC-NPD)技术对国井芝麻香型白酒中含氮化合物进行分析, 实验中以模拟酒样为研究对象确定分析的较优条件: 用4 mol/L的盐酸溶液将酒样H⁺浓度调至1 mol/L, 浓缩后用新重蒸的乙醚萃取出酸、中性组分, 再将水相pH值调至9, 用新重蒸的乙醚萃取出碱性组分, 浓缩后进行GC-MS与GC-NPD分析。结果表明, 采用液-液萃取结合GC-MS与GC-NPD方法, 从国井芝麻香型白酒中共检测出31种含氮化合物, 其中23种通过标准品比对进行准确定性, 确证为吡嗪类化合物14种、吡咯类化合物1种、吡啶类化合物4种、噻唑类化合物1种、噁唑类化合物1种, 其他类化合物2种。

关键词:液-液萃取; 气相色谱-质谱; 气相色谱-氮磷检测器; 芝麻香型白酒; 含氮化合物

Analysis of Nitrogen-Containing Compounds of Guojing Sesame-flavour Liquor by Liquid-liquid Extraction Coupled with GC-MS and GC-NPD

WANG Bo-wen^{1,2}, LI He-he^{1,2}, ZHANG Feng-guo³, XIN Chun-hui³, SUN Jin-yuan^{1,2,*}, HUANG Ming-quan^{1,2}, SUN Bao-guo^{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. Technology Center of Bandaoling Co. Ltd., Gaoqing 256300, China)

Abstract: In the present study, the nitrogen-containing compounds of Guojing sesame-flavor liquor were analyzed by liquid-liquid extraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and GC-nitrogen phosphorus detection (GC-NPD). Using a simulated liquor sample, the optimum experimental conditions were determined as follows: the sample was adjusted with 4 mol/L HCl to a H⁺ concentration of 1 mol/L, concentrated, and extracted with freshly distilled diethyl ether to remove acidic and neutral components; the aqueous phase was adjusted to pH 9 and its alkaline components were extracted into freshly distilled diethyl ether. After concentration, the analysis by GC-MS and GC-NPD was carried out. A total of 31 nitrogen-containing compounds were detected in Guojing sesame-flavor liquor, of which, 23 compounds were identified by comparing them with authentic standards, including 14 pyrazines, 1 pyrrole, 4 pyridines, 1 thiazole, 1 oxazole and 2 other compounds.

Key words: liquid-liquid extraction; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); gas chromatography-nitrogen phosphorus detector (GC-NPD); sesame-flavor liquor; nitrogen-containing compounds

中图分类号: TS207.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2014) 10-0126-06

doi:10.7506/spkx1002-6630-201410023

芝麻香型白酒作为中国白酒行业创新香型之一, 综合感官具有焙烤芝麻香气特征^[1], 其生产工艺是由酱、清、浓香型白酒的生产工艺发展而来, 风格独特, 自成

一派^[2]。国井芝麻香型白酒作为芝麻香型白酒的典型代表, 其独特的原料配方及生产工艺^[3-5], 促使其风格独特、品质高雅。

收稿日期: 2014-03-11

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(31301466);

科研基地建设-科技创新平台-国家自然科学基金配套(市级)项目(19005418040);

北京市新世纪百万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: 王柏文(1990—), 男, 硕士研究生, 研究方向为食品风味化学。E-mail: wbw828@yeah.net

*通信作者: 孙金沅(1983—), 女, 助理研究员, 硕士, 研究方向为食品风味化学。E-mail: sunjinyuan@btbu.edu.cn

中国白酒微量成分中主要包括醇类、酯类、酸类、醛酮类以及含氮、含硫化合物等,其不同的量比关系形成不同香型的白酒。含氮化合物具有强烈的坚果、焙烤、咖啡、焦香等香气特征,对改善白酒口感、促进白酒香气优雅有一定作用^[6]。目前,人们对酱香型、浓香型和清香型等白酒的风味物质进行了研究,采用的前处理方式主要有液-液萃取^[7-14]、固相微萃取^[15-21]等,采用的分析手段主要有气相色谱-质谱联用(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)^[7-23]、GC^[24]、全二维气相色谱-飞行时间质谱(comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry, GC×GC-TOFMS)^[8,25]等方法。从酱香型白酒中,检测出528种化合物,其中含氮化合物37种,包括吡嗪类22种、吡啶类8种、噻唑类2种、噁唑类1种、胺类1种、腈类3种^[8];从浓香型白酒中鉴定出1227种微量成分,包括吡嗪类18种^[25];从清香型白酒中鉴定出453种化合物,其中含氮化合物20种,包括吡嗪类11种、吡啶类2种、吡唑类2种、噻唑类1种、胺类1种、其他类3种^[9-10]。

20世纪80年代起开始了对芝麻香型白酒中风味物质的研究,主要对景芝、梅兰春等品牌的芝麻香型白酒进行了研究,其中景芝白干酒中检测出21种含氮化合物^[26];梅兰春酒中检测出21种含氮化合物,包括吡嗪类17种、吡啶类2种、噻唑类1种、噁唑类1种^[27]。研究人员认为吡嗪类和其他杂环类化合物的研究是揭示芝麻香型白酒香气成分的重要环节。

国井芝麻香型白酒是山东芝麻香型白酒的后起之秀,市场影响力和研发能力都在不断增强,但与其他几大品牌相比,其风味物质的研究开展尚不够深入,其含氮化合物的研究鲜有报道。仅2012年胡风艳等^[16]从国井复粮芝麻香型白酒中检测出7种含氮化合物,包括吡嗪类5种、噻唑类1种、其他类1种,从单粮芝麻香型白酒中检测出2种含氮化合物包括吡嗪类1种、其他类1种。本实验继续对国井芝麻香型白酒中的含氮化合物进行深入研究。

本实验采用液-液萃取,结合GC-MS和气相色谱-氮磷检测器(GC-nitrogen phosphorus detector, GC-NPD)对国井芝麻香型白酒成品酒及原酒中的含氮化合物进行了分析,同时通过配制的模拟酒样,对液-液萃取的条件进行了优化。GC配有含氮化合物专用检测器,其检测灵敏度比质谱检测器高。本研究将为探索白酒中含氮化合物的提取方法,以及研究芝麻香型白酒的特征风味成分提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

国井芝麻香型白酒酒样,即为1、2、3、4号酒样

(其酒精度依次为54%、60%、57.5%、61.5%),1号酒样为成品酒,2、3、4号酒样为原酒,由山东扳倒井酒厂提供。

乙醚、无水硫酸钠(均为分析纯) 国药集团化学试剂有限公司;氢气、氮气、合成空气、氦气 北京氮普北分气体工业有限公司;2-甲基吡嗪、2-乙基吡嗪、2,3-二甲基吡嗪、2,5-二甲基吡嗪、2,6-二甲基吡嗪、2-乙基-3-甲基吡嗪、四甲基吡嗪、2-乙基-3,5(6)-二甲基吡嗪 滕州瑞元香料厂;2,3-二乙基-5-甲基吡嗪、三甲基吡嗪、5-乙基-2,3-二甲基吡嗪、2-乙基-6-甲基吡嗪、4,6-二甲基噻唑、2-氨基噻唑、4-甲基噻唑、2-乙氧基噻唑、吡啶、烟酸乙酯、2-乙酰基吡啶、3-苯基吡啶、2-乙酰基吡咯、噻唑、三甲基噻唑、氨基甲酸乙酯、3-甲基-2-噻唑烷酮 百灵威科技有限公司。

1.2 仪器与设备

OSB-2000旋转蒸发仪 上海爱朗仪器有限公司;BL-2200H电子分析天平 岛津国际贸易(上海)有限公司;7890A-5975C气相色谱-质谱联用仪、7890B-5977A气相色谱-质谱联用仪、7890A气相色谱-氮磷检测器 美国Agilent科技有限公司;N-Evap系列氮吹仪 上海思伯明仪器设备有限公司;雷磁PHSJ-5实验室pH计 上海精科仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 模拟酒样配制

为了节省真实酒样以及提高研究的目的性,探索更加适合白酒中含氮化合物分析的条件,依据文献中报道的白酒中含氮化合物以及其他大宗酸、醇、酯类化合物的种类与含量,同时考虑实验操作的难易程度,确定模拟酒样的配制方法。

1.3.1.1 标准溶液配制

分别取一定量的标准品,置于2 mL的容量瓶中,用体积分数60%的乙醇溶液定容,配成如下质量浓度的标准溶液:2-甲基吡嗪(32.0 mg/mL)、2-乙基吡嗪(39.0 mg/mL)、2,3-二甲基吡嗪(34.0 mg/mL)、2,6-二甲基吡嗪(13.0 mg/mL)、2,3-二乙基-5-甲基吡嗪(31.0 mg/mL)、2-乙基-3-甲基吡嗪(38.0 mg/mL)、2-乙基-3-甲基吡嗪(38.0 mg/mL)、四甲基吡嗪(29.0 mg/mL)、三甲基吡嗪(36.0 mg/mL)、5-乙基-2,3-二甲基吡嗪(34.0 mg/mL)、4,6-二甲基噻唑(28.0 mg/mL)、2-氨基噻唑(16.0 mg/mL)、4-甲基噻唑(36.0 mg/mL)、2-乙氧基噻唑(40.0 mg/mL)、吡啶(32.0 mg/mL)、2-乙酰基吡啶(36.0 mg/mL)、3-苯基吡啶(22.0 mg/mL)、2-乙酰基吡咯(26.0 mg/mL)。

分别取20 μL的乙酸乙酯、丙酸乙酯、己酸乙酯、乳酸异戊酯、苯乙酸乙酯、异戊酸乙酯、丁酸乙酯、乙酸苯乙酯、3-苯丙酸乙酯、棕榈酸乙酯、油酸乙酯、丙

酸、戊酸、糠酸、十六酸、戊烷、1,1,3-三乙氧基丙烷、1,1,3,3-四乙氧基丙烷、十五烷、十六烷、十七烷、异丁醇、糠醇、苯乙醇、仲丁醇、2-戊醇、异戊醇、戊醇、庚醇、2,3-丁二醇、糠醛、苯乙醛、异戊醛、2-乙酰基呋喃等标准品,置于2 mL的容量瓶中,用60%的乙醇溶液定容,配成标准溶液。

1.3.1.2 模拟酒样配制

分别取50 μL 的1.3.1.1节中配成的标准溶液,置于250 mL的容量瓶中,用60%的乙醇溶液定容,配制成模拟酒样。

1.3.2 样品前处理

1.3.2.1 液-液萃取条件优化

1) 酸性条件优化:取20 mL 1.3.1.2节中配制的模拟酒样,用4 mol/L HCl溶液将酒样的pH值分别调至1.5、0.6、0.2以及加入7 mL的4 mol/L HCl溶液将酒样 H^+ 浓度调至1 mol/L,搅拌15 min, 50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴条件下用旋转蒸发器除去乙醇,用10 mL新重蒸的乙醚萃取3次,合并有机相,记为“酸中性组分”;水相用12 mol/L NaOH溶液将pH值调至7,再用1 mol/L的NaOH溶液将pH值调至10, NaCl饱和,然后用10 mL新重蒸的乙醚萃取3次,合并有机相,记为“碱性组分”,最后加入无水硫酸钠,干燥过夜,过滤,浓缩至约1.0 mL,定容至2.0 mL,待GC-NPD分析。

2) 碱性条件优化:取20 mL 1.3.1.2节中配制的模拟酒样,加入7 mL的4 mol/L HCl溶液将酒样 H^+ 浓度调至1 mol/L,搅拌15 min, 50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴条件下用旋转蒸发器除去乙醇,用10 mL新重蒸的乙醚萃取3次,合并有机相,记为“酸中性组分”;水相用12 mol/L NaOH溶液将pH值调至7,再用1 mol/L的NaOH溶液将pH值分别调至9、10、11, NaCl饱和,然后用10 mL新重蒸的乙醚萃取3次,合并有机相,记为“碱性组分”,最后加入无水硫酸钠,干燥过夜,过滤,浓缩至约1.0 mL,定容至2.0 mL,待GC-NPD分析。

1.3.2.2 酒样前处理

取50 mL酒样,加入17 mL的4 mol/L HCl溶液将酒样 H^+ 浓度调至1 mol/L, 50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴条件下用旋转蒸发器除去乙醇,用20 mL新重蒸的乙醚萃取3次,合并有机相,记为“酸中性组分”;水相用12 mol/L NaOH溶液将pH值调至7,再用1 mol/L的NaOH溶液将pH值调至9, NaCl饱和,然后用20 mL新重蒸的乙醚萃取3次,合并有机相,记为“碱性组分”,最后加入无水硫酸钠,干燥过夜,过滤,浓缩至1.0 mL,氮吹至0.5 mL,待GC-MS、GC-NPD分析。

1.3.3 分析条件

气相色谱-质谱条件:色谱柱:DB-FFAP毛细管柱(60 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μm), HP-5MS毛细管柱

(30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μm);载气:He (99.999%);恒流:柱流速1.0 mL/min;不分流模式,进样量:1 μL ,进样口温度:260 $^{\circ}\text{C}$;升温程序:初温35 $^{\circ}\text{C}$,以10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至50 $^{\circ}\text{C}$,保持20 min;以1 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至70 $^{\circ}\text{C}$,保持10 min,再以3 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至250 $^{\circ}\text{C}$,保持5 min。

质谱条件:电子电离源;电子能量70 eV;离子源温度230 $^{\circ}\text{C}$;四极杆温度150 $^{\circ}\text{C}$;传输管线温度250 $^{\circ}\text{C}$;溶剂延迟时间3.0 min;扫描模式full scan;扫描质量范围 m/z 29~550;调谐文件为标准调谐。

气相色谱条件:色谱柱:DB-FFAP毛细管柱(60 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μm);恒流:柱流速2.0 mL/min;不分流模式,进样量:1 μL ,进样口温度:260 $^{\circ}\text{C}$;升温程序:初温35 $^{\circ}\text{C}$,以10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至50 $^{\circ}\text{C}$,保持20 min;以1 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至70 $^{\circ}\text{C}$,保持10 min,再以3 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至250 $^{\circ}\text{C}$,保持5 min。

NPD温度:340 $^{\circ}\text{C}$;氢气流速:3.0 mL/min;空气流速:60.0 mL/min;氮气流速:8.0 mL/min;铷铯电压:3.326 V。

1.4 数据分析

含氮化合物的鉴定采用NIST 11谱库检索、标准品比对,并结合保留指数以及人工解谱进行确定。

保留指数计算公式:

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

式中:RI为保留指数; n 和 $n+1$ 分别为未知物流出前后正构烷烃碳原子数, t_n 和 t_{n+1} 分别为相应正构烷烃的保留时间; t 为未知物在气相色谱中的保留时间($t_n < t < t_{n+1}$)^[28]。

2 结果与分析

2.1 液-液萃取法较优条件

液-液直接萃取法分析过程中发现,含氮化合物的分析易受到低沸点化合物的干扰。因此,根据含氮化合物一般显碱性的特点,进一步采用了先将酒样调至酸性,将其转化成盐进入水相,浓缩除去对含氮化合物分析有干扰的低沸点化合物,再将水相调至碱性,使成盐的含氮化合物重新析出,然后用溶剂萃取的分析方法。实验初期,使用的实验条件为先将酒样pH值调至1,再将水相pH值调至10,但是碱性组分中常常检测不到含氮化合物,分析其原因为:一是酒样酸化过程中含氮化合物成盐不够充分,浓缩除杂过程中有所损失,二是水相调至碱性时成盐的含氮化合物没能充分析出,溶剂萃取不到。针对此情况,进一步设计优化实验,以已知质量浓度的吡嗪类、噻唑类、吡啶类、吡咯类、嘧啶类化合物为目标化合物,前处理后经GC-NPD分析,比较不同pH值条件下目标化合物的峰面积,确定出更适宜的pH值条件。

2.1.1 酸性较优条件

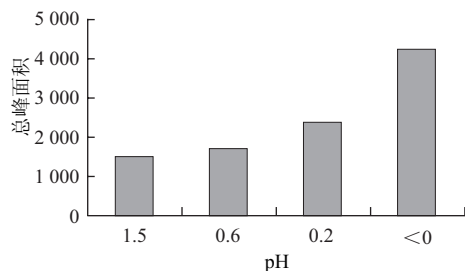


图1 不同酸性条件下目标化合物的总峰面积

Fig.1 peak area of target compounds at different [H⁺] levels

由图1可以看出,随着pH值减小,目标化合物的总峰面积逐渐增加,说明了随着pH值减小,越来越多的目标化合物成盐进入水相。相关文献报道吡嗪的 pK_a 值为0.65, 2,5-二甲基吡嗪的 pK_a 值为1.85^[14],传统方法将pH值调至1~2^[29]不足以保证此类化合物全部酸化成盐,余晓等^[11]提到将酒样H⁺浓度调至1 mol/L能够保证90%的吡嗪成盐,相对于吡嗪碱性更弱的含氮化合物其成盐比例更小, H⁺浓度为1 mol/L应是最起码的使用酸度。模拟酒样分析确定的较优条件,后续研究中,应用国井芝麻香型白酒酒样对此条件进行反复验证,实验结果显示将酒样H⁺浓度调为1 mol/L即可获得较为理想、稳定的实验结果。

2.1.2 碱性较优条件

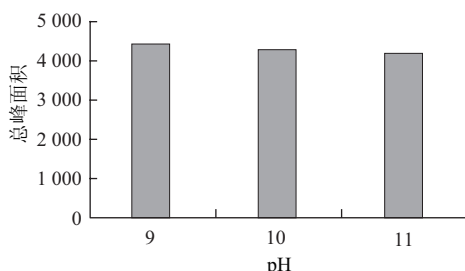


图2 不同碱性条件下目标化合物的总峰面积

Fig.2 Total peak area of target compounds at different [OH⁻] levels

由图2可以看出, pH值为9、10、11时,目标化合物的总峰面积相差不大,说明了碱性条件对目标化合物的影响不大,经比较, pH值为9时实验结果略好。

从上述实验结果可以看出,液-液萃取法较优条件为先将酒样H⁺浓度调至1 mol/L,浓缩后萃取除去酸、中性组分,再将水相pH值调至9萃取出碱性组分,浓缩后,待GC-MS与GC-NPD分析。

2.2 国井芝麻香型白酒中含氮化合物的分析

国井芝麻香型白酒处理后GC-MS分析的总离子流图如图3所示, GC-NPD分析的色谱图如图4所示;通过NIST 11检索、标准品比对并结合人工解谱,国井芝麻香型白酒鉴定出的含氮化合物如表1所示。

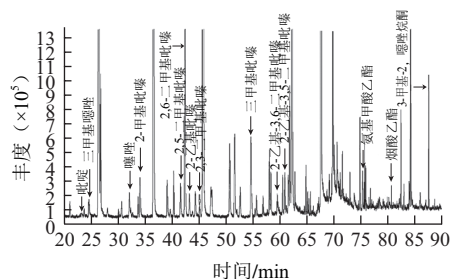


图3 国井芝麻香型白酒中含氮化合物GC-MS分析的总离子流图

Fig.3 GC-MS TIC of nitrogen-containing compounds in Guojing sesame-flavor liquor

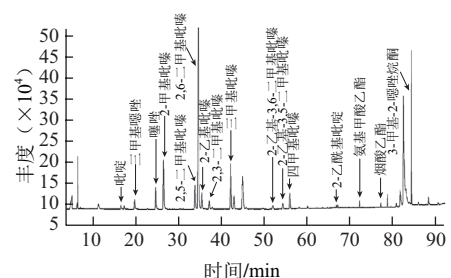


图4 国井芝麻香型白酒中含氮化合物GC-NPD分析的色谱图

Fig.4 GC-NPD chromatogram of nitrogen-containing compounds in Guojing sesame-flavor liquor

国井芝麻香型白酒经液-液萃取结合GC-MS与GC-NPD分析,共检测出31种含氮化合物,包括吡嗪类化合物22种,吡咯类化合物1种,吡啶类化合物4种,噻唑类化合物1种,噁唑类化合物1种,其他类化合物2种;通过标准品比准确定性了其中23种含氮化合物,包括吡嗪类化合物14种,吡咯类化合物1种,吡啶类化合物4种,噻唑类化合物1种,噁唑类化合物1种,其他类化合物2种;另外8种含氮化合物,由于目前实验室缺少相应的标准品,而是通过NIST 11谱库检索或保留指数比予以定性。如表1所示, DB-FFAP色谱柱检测出30种含氮化合物,与HP-5MS色谱柱相比,没有检测出2-乙基-3-甲基吡嗪,而HP-5MS色谱柱未能检测出吡嗪、2,5-二甲基吡嗪、吡啶、3-苯基吡啶等几类化合物。由此看出,分析中使用两种不同极性的色谱柱,能够形成良好的互补作用,同时也提高了定性的准确性。目前国井芝麻香型白酒检测出的含氮化合物,从种类来看,吡嗪类化合物检测出的最多(22种);从组分含量来看,吡嗪类化合物(4.92%)也远高于其他类化合物,其中面积百分比比较大的化合物为2,6-二甲基吡嗪(1.94%)、2-乙基-6-甲基吡嗪(0.96%)、三甲基吡嗪(0.68%)。其他品牌的芝麻香型白酒中,梅兰春芝麻香型白酒中检测出含量较高的吡嗪类化合物亦为2,6-二甲基吡嗪、2-乙基-6-甲基吡嗪、三甲基吡嗪^[26],生力源芝麻香型白酒中含量较高的吡嗪类化合物则是三甲基吡嗪与四甲基吡嗪^[31],景芝白

干中定量的21种含氮化合物也是吡嗪及烷基吡嗪类化合物^[25]，可见吡嗪类化合物作为一类重要的呈香物质，对芝麻香型白酒风味有重要贡献。通过与文献比较，可知3-甲基-2-噁唑烷酮是首次在白酒中发现，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6种化合物是首次在芝麻香型白酒中鉴定出^[16,26,31]。

表1 GC-MS与GC-NPD鉴定国井芝麻香型白酒中的含氮化合物
Table 1 Nitrogen-containing compounds in Guojing sesame-flavor liquor identified by GC-MS and GC-NPD

编号	化合物	匹配度/%	RI/RI*		标准品RI		面积百分比/%	鉴定依据
			DB-FFAP	HP-5MS	DB-FFAP	HP-5MS		
吡嗪类								
1	吡嗪	86	1 148				0.01	MS
2	2-甲基吡嗪	91	1 193	820/822 ^[30]	1 193	825	0.17	MS,RLS
3	2,3-二甲基吡嗪	87	1 258	911/919 ^[30]	1 258	913	0.05	MS,RLS
4	2,5-二甲基吡嗪	91	1 236		1 235		0.13	MS,S
5	2,6-二甲基吡嗪	91	1 241	906/912 ^[30]	1 240	905	1.94	MS,RLS
6	三甲基吡嗪	91	1 318	994/1 005 ^[30]	1 318	996	0.68	MS,RLS
7	四甲基吡嗪	91	1 379	1 079/1 086 ^[30]	1 379	1 080	0.18	MS,RLS
8	2-甲基-5-异丙基吡嗪	90	1 302	1 040			0.16	MS
9	2,3-二甲基-5-乙基吡嗪	93	1 370	1 084/1 089 ^[30]	1 370	1 079	0.02	MS,RLS
10	2,5-二甲基-3-戊基吡嗪	93	1 593	1 350/1 357 ^[30]			0.04	MS,RI
11	2,3,5-三甲基-6-乙基吡嗪	91	1 435	1 149/1 163 ^[30]			0.07	MS,RI
12	2-乙基吡嗪	94	1 247	909/917 ^[30]	1 247	911	0.03	MS,RLS
13	2,6-二乙基吡嗪	97	1 361	1 072/1 078 ^[30]			0.07	MS,RI
14	2-乙基-3-甲基吡嗪	91		997/999 ^[30]		1 000	0.14	MS,RLS
15	2-乙基-5-甲基吡嗪	91	1 304	998/1 001 ^[30]	1 306	993	0.03	MS,RLS
16	2-乙基-6-甲基吡嗪	95	1 297	988/992 ^[30]	1 300	992	0.96	MS,RLS
17	2-乙基-3,6-二甲基吡嗪	94	1 358	1 073/1 075 ^[30]	1 358	1 073	0.02	MS,RLS
18	2-乙基-3,5-二甲基吡嗪	81	1 369	1 074	1 369	1 078	0.04	MS,S
19	2,3-二乙基-5-甲基吡嗪	55	1 392	1 144	1 393	1 145	0.01	MS,S
20	3-丁基-2,5-二甲基吡嗪	86	1 594	1 258			0.05	MS
21	2-丁基-3,5-二甲基吡嗪	90	1 499	1 261/1 254 ^[30]			0.07	MS,RI
22	2-乙烯基-6-甲基吡嗪	78	1 397	1 011/1 016 ^[30]			0.05	MS,RI
总计							4.92	
吡咯类								
23	2-乙酰基吡咯	91	1 863	1 091/1 065 ^[30]	1 861	1 059	0.05	MS,RLS
总计							0.05	
吡啶类								
24	吡啶	86	1 120		1 118		0.04	MS,S
25	烟酸乙酯	94	1 706	1 202	1 705	1 205	0.05	MS,S
26	2-乙酰基吡啶	94	1 495	1 028	1 491	1 025	0.08	MS,S
27	3-苯基吡啶	94	2 121		2 120		0.03	MS,S
总计							0.20	
噻唑类								
28	噻唑	80	1 178	<800	1 177	<800	0.06	MS,S
总计							0.06	
噁唑类								
29	三甲基噁唑	91	1 136	839	1 139	837	0.03	MS,S
总计							0.03	
其他类								
30	氨基甲酸乙酯	83	1 578	824	1 578	833	0.12	MS,S
31	3-甲基-2-噁唑烷酮	90	1 894	1 087	1 891	1 086	0.03	MS,S
总计							0.15	

注:RI/RI*:保留指数计算值/保留指数文献值;MS:化合物通过质谱检测;RI:化合物通过查阅文献保留指数比对确认;S:化合物通过标准品比对确认。

芝麻香型白酒具有焙烤芝麻香气的典型特点，这一特殊香气的化学本质值得深入研究。国内外许多研究者曾对芝麻油与芝麻香精风味成分做过大量研究。1989年，Nakamura^[32]从芝麻油风味成分中检测出103种杂环化合物，主要包括吡嗪类38种、吡咯类9种、吡啶类8种、噁唑类4种、噻唑类14种，从组分含量来看，相对面积百分比比较大的化合物为2-甲基吡嗪（17.2%）、2,5-二甲基吡嗪（4.77%）、2,6-二甲基吡嗪（3.52%）、三甲基吡嗪（1.67%）、2-乙基吡嗪（1.35%）、2,3-二甲基吡嗪（1.02%）、2-乙酰基吡咯等（1.22%），而其他组分的含量都低于1%。芝麻香精风味成分中含量较高的化合物为吡嗪类、呋喃类、吡啶类、酚类和酮类化合物^[33]，吡嗪类化合物主要为2-甲基吡嗪、2,3-二甲基吡嗪、三甲基吡嗪等^[32]。上述研究中提到的多种含氮化合物在国井芝麻香型白酒中都有检出，如具有烤面包香、烤杏仁香、炒花生香的2-甲基吡嗪，具有烤面包香、烤花生香的2,3-二甲基吡嗪，具有炒豆香的2,5-二甲基吡嗪，具有炒芝麻、炒花生香的2-乙基吡嗪，具有咖啡香、烤面包香气的三甲基吡嗪^[34]以及具有烤面包、炒榛子香气的2-乙酰基吡咯；鉴定出的其他类化合物还包括具有烤香、焦糖香气的三甲基噁唑^[35]。可见在芝麻香型白酒的香气成分中的确有很多与芝麻油和芝麻香精风味成分中相同的含氮化合物，分析结果进一步证明了含氮化合物对芝麻香型白酒的特殊风味有着重要贡献，不同类含氮化合物的贡献程度还需在后续工作中进一步深入研究。

3 结 论

本实验主要采用液-液萃取，结合GC-MS和GC-NPD对国井芝麻香型白酒中的含氮化合物进行了研究。通过配制的模拟酒样对液-液萃取的条件进行了优化，并对国井芝麻香型白酒成品酒和原酒中的含氮化合物进行了分析。1)液-液萃取法较优条件：先将酒样H⁺浓度调至1 mol/L，浓缩后，萃取除去酸中性组分后，再将水相pH值调至9，然后萃取出碱性组分，即含氮化合物；2)从国井芝麻香型白酒中共检测出31种含氮化合物，其中23种通过标准品比对进行了准确定性，为吡嗪类化合物14种、吡咯类化合物1种、吡啶类化合物4种、噻唑类化合物1种、噁唑类化合物1种，其他类化合物2种。

研究表明，液-液萃取法结合GC-MS和GC-NPD分析技术在国井芝麻香型白酒含氮化合物分析中取得较大突破，是一种芝麻香型白酒中含氮化合物分析的有效办法。酒中含氮化合物的分析结果也与芝麻油风味成分的分析结果有很多相同的地方，实验结果为进一步研究芝麻香型白酒中含氮化合物的种类、含量以及与芝麻香型白酒特征风味之间的关系提供了一定的参考。

参考文献:

- [1] 王海平, 于振海. 景芝白干酒的典型性: 芝麻香研究工作的回顾与展望[J]. 酿酒, 1992, 19(4): 61.
- [2] 黄业立, 张彬, 武金华. 试论芝麻香型白酒[J]. 酿酒科技, 2007(7): 116-119.
- [3] 徐希望. 鲁酒芝麻香的现状及发展[J]. 酿酒科技, 2012(3): 111-117.
- [4] 信春晖. 扳倒井复粮芝麻香型白酒生产工艺的特点[J]. 酿酒科技, 2010(3): 65-66.
- [5] 张锋国. 提高扳倒井芝麻香型白酒风味的关键环节[J]. 酿酒, 2007, 34(4): 47-48.
- [6] 汤道文, 谢玉球, 朱法余, 等. 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.
- [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] ZHU Shukui, LU Xin, JI Keliang, et al. Characterization of flavor compounds in Chinese liquor Moutai by comprehensive two-dimensional gas chromatography/time-of-flight mass spectrometry[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2007, 597(2): 340-348.
- [9] 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.
- [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: 下[J]. 酿酒科技, 2013(3): 17-27.
- [11] 余晓, 尹建军, 胡国栋. 白酒中吡嗪类化合物的分析研究[C]//北京食品学会青年科技论文集, 1992.
- [12] FAN Wenlai, QIAN M C. Characterization of aroma compoundsof Chinese “Wuliangye” and “Jiannanchun” liquors by aroma extract dilution analysis[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54: 2695-2704.
- [13] ALLEN M S, LACEY M J, BOYD S. Determination of methoxypyrazines in red wines by stable isotope dilution gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1994, 42: 1734-1738.
- [14] FAN Wenlai, XU Yan, ZHANG Yanhong. Characterization of pyrazines in some Chinese liquors and their approximate concentrations[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55: 9956-9962.
- [15] 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.
- [16] 胡风艳, 张秋月, 郑萌萌, 等. 应用DI-SPME和GC-MS分析白酒香气成分: 上[J]. 酿酒, 2012, 39(5): 39-43.
- [17] SALA C, MESTRES M, P MARTÍM, et al. Headspace solid-phase microextraction analysis of 3-alkyl-2-methoxypyrazines in wines[J]. *Journal of Chromatography A*, 2002, 953: 1-6.
- [18] GODELMANN R, LIMMERT S, KUBALLA T. Implementation of headspace-solid-phase-microextraction-GC-MS/MS methodology for determination of 3-alkyl-2-methoxypyrazines in wine[J]. *Food Research and Technology*, 2008, 227: 449-461.
- [19] 李建飞, 王德良. SPME-GC-MS-SIM联用检测白酒中含氮化合物[J]. 酿酒科技, 2010(9): 89-92.
- [20] FAN Wenlai, QIAN M C. Headspace solid phase microextraction and gas chromatography-olfactometry dilution analysis of young and aged Chinese “Yanghe Daqu” liquors[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53: 7931-7938.
- [21] 王莉, 吴建霞, 雷良波. 气相色谱-质谱-离子扫描联用法快速检测白酒中4种吡嗪类化合物[J]. 中国酿造, 2009, 27(3): 148-150.
- [22] MAGI E, BONO L, di CARRO M. Characterization of cocoa liquors by GC-MS and LC-MS/MS: focus on alkylpyrazines and flavanols[J]. *Journal of Mass Spectrometry*, 2012, 47: 1191-1197.
- [23] DZIADAS M, JELEN H H. Analysis of terpenes in white wines using SPE-SPME-GC/MS approach[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2010, 677(1): 43-49.
- [24] 乔慧, 高晓娟. GC-NPD快速测定吡嗪类物质方法研究[J]. 酿酒, 2011, 38(6): 45-46.
- [25] 徐占成, 王勇, 陈双. 利用SBSE和全二维气质联用(GC×GC-TOFMS)新技术解析白酒香味物质的研究[J]. 酿酒科技, 2012(7): 50-51; 55.
- [26] 胡国栋. 景芝白干特征香味组份的研究[J]. 酿酒, 1992, 19(1): 83-88.
- [27] 金佩璋. 优质白酒梅兰春香味成分初析[J]. 酿酒科技, 1993(1): 62-65.
- [28] 谢建春. 现代香味分析技术及应用[M]. 北京: 中国标准出版社, 2008: 17-18.
- [29] 薛长湖, 李兆杰, 肖辉, 等. 白酒中几种含氮杂环化合物[J]. 青岛海洋大学学报, 1994, 24(3): 357-363.
- [30] NIST Chemistry WebBook[DB/OL]. <http://webbook.nist.gov/chemistry/>.
- [31] 武金华, 孙启栋, 姜淑芬, 等. 对生力源芝麻香型白酒成分的分析及探讨[J]. 酿酒科技, 2009(6): 65-66; 69.
- [32] NAKAMURA S. Identification of volatile flavor compounds of oil from roasted sesame seeds[J]. *Agricultural Boil Chemistry*, 1989, 53(7): 1891-1899.
- [33] 秦早, 杨冉, 高桂园, 等. 顶空固相微萃取结合气质联用分析芝麻油和芝麻香精的挥发性成分[J]. 食品科学, 2012, 33(24): 263-268.
- [34] 范文来, 徐岩. 白酒79个风味化合物嗅觉阈值测定[J]. 酿酒, 2011, 38(4): 80-84.
- [35] 王石, 谢建春, 孙宝国, 等. 食用香料2,4,5-三甲基噁唑和4-乙基-2,5-二甲基噁唑的合成[J]. 食品科学, 2010, 31(24): 163-167.