



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 113189254 B

(45) 授权公告日 2021.11.16

(21) 申请号 202110499067.4

(22) 申请日 2021.05.08

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 113189254 A

(43) 申请公布日 2021.07.30

(73) 专利权人 北京工商大学
地址 100048 北京市海淀区阜成路33号北
京工商大学

(72) 发明人 李贺贺 吴子阳 孙金沅 黄明泉
郑福平 孙啸涛 吴继红 孙宝国

(74) 专利代理机构 北京德崇智捷知识产权代理
有限公司 11467
代理人 申星宇

(51) Int. Cl.
G01N 30/06 (2006.01)
G01N 30/08 (2006.01)
G01N 30/88 (2006.01)

(56) 对比文件

US 2020225245 A1, 2020.07.16

CN 108181390 A, 2018.06.19

CN 108872455 A, 2018.11.23

张媛媛等. 芝麻香型白酒中含硫风味组分的分析.《中国食品学报》.2014, 第14卷(第5期), 218-225.

何俊等. 高效液相色谱法同时测定血浆同型半胱氨酸及其相关硫醇物浓度方法的建立.《中华检验医学杂志》.2006, 第29卷(第3期), 203-206.

MARC W. FARISS 等. High-Performance Liquid Chromatography of Thiols and Disulfides: Dinitrophenol Derivatives.《METHODS IN ENZYMOLOGY》.1987, 第143卷101-109.

审查员 董春艳

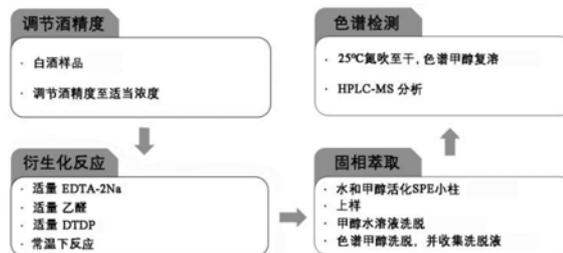
权利要求书1页 说明书4页 附图5页

(54) 发明名称

一种基于白酒中挥发性硫醇化合物的测定方法

(57) 摘要

本发明公开了一种基于白酒中挥发性硫醇化合物的测定方法, 调节酒精度取白酒样品将其酒精度稀释至10%乙醇浓度; 衍生化反应在稀释后的白酒样品中按照乙醇、二吡啶二连硫醚溶液、乙醛和乙二胺四乙酸二钠mol比17150:1:90:6分别加入二吡啶二连硫醚溶液、乙醛和乙二胺四乙酸二钠, 常温下反应30分钟; 反应结束后, 将所述白酒样品的酒精度调节至5%乙醇浓度; 将衍生化反应后的所述白酒样品加入固相萃取小柱, 色谱检测用色谱甲醇洗脱所述样品后并收集洗脱液, 进行高效液相色谱-质谱联用测定, 本方法通过衍生化试剂提升硫醇化合物对质谱的响应, 再通过固相萃取法将衍生化后的产物进行富集, 增加了对白酒中硫醇化合物定量的准确性。



1. 一种基于白酒中挥发性硫醇化合物的测定方法,其特征在于,包括以下步骤:

A调节酒精度取白酒样品将其酒精度稀释至10%乙醇浓度;

B衍生化反应按照白酒中的乙醇、二吡啶二连硫醚、乙醛和乙二胺四乙酸二钠的mol比17150:1:90:6在稀释后的白酒样品中分别加入二吡啶二连硫醚溶液、乙醛和乙二胺四乙酸二钠后,常温下反应30分钟;

C反应结束后,将所述白酒样品的酒精度调节至5%乙醇浓度;

D固相萃取将固相萃取小柱用甲醇和超纯水活化后,将衍生化反应后的所述白酒样品加入固相萃取小柱;

E待所述白酒样品上样完成后,用18mL30%体积分数的甲醇水溶液冲洗除杂,在常温下静置5分钟;

F色谱检测用色谱甲醇洗脱所述样品后并收集洗脱液,在25℃下,用氮气将洗脱液吹扫干燥后用0.5mL色谱甲醇复溶后进行高效液相色谱-质谱联用测定,

采用WatersXSELECTHSST3C18色谱柱,高效液相色谱的反应条件为流动相A:0.5%v/v甲酸水溶液,流动相B:0.5%v/v甲酸乙腈溶液,洗脱梯度:0-10.0min,20-50%B;10.0-15.0min,50-80%B;15.0-20.0min,80%B;20.0-21.0min,80-20%B;and21.0-26.0min,20%B,

质谱方法的反应条件为正离子模式的喷雾电压为3500V,喷头电压为500V,鞘气温度为250℃,鞘气流量为11L/min,雾化气体压力为45psi,干燥气体温度为300℃,干燥气体流量为5L/min。

2. 根据权利要求1所述一种基于白酒中挥发性硫醇化合物的测定方法,其特征在于,所述二吡啶二连硫醚溶液的配制方法包括将222mg二吡啶二连硫醚粉末加入超纯水溶解中,并加入100 μ L的37%质量浓度的盐酸,将所述二吡啶二连硫醚溶液定容至100mL,配置成10mmol/L的溶液,-20℃冷冻备用。

一种基于白酒中挥发性硫醇化合物的测定方法

技术领域

[0001] 本发明属于硫醇测定技术领域,尤其涉及一种基于白酒中挥发性硫醇化合物的测定方法。

背景技术

[0002] 硫醇化合物是一类在白酒中含量极低,对白酒风味作用又较大的化合物。目前关于痕量挥发性硫醇化合物的测定方法主要为SPME-GC-MS法、GC×GC-SCD法、荧光探针法和试剂盒法,在SPME-GC-MS法中,首先将白酒的酒精度调节至10vol%,通过搅拌棒吸附萃取先将挥发性化合物提取出来,而后通过固相微萃取将白酒中的挥发性挥发性化合物吸附,再将其插入GC-MS中进行解吸,通过GC-MS对挥发性含硫化合物进行分析,该方法样品前处理较为复杂,比较耗时,且质谱对极其痕量的硫醇化合物响应值不高,无法实现完全检测,对于GC×GC-SCD法是通过液液萃取法将白酒中的挥发性化合物萃取出来,通过SCD检测器对硫醇化合物进行检测的方法,虽然SCD检测器对含硫化合物的检出十分高效,但是因其只被配备于专业测定含硫化合物的仪器上,且GC×GC的普及率也并不高,因此该方法并不具有普适性,对于荧光探针法,制备方法简单,可简单迅速进入细胞中并与细胞内生物硫醇特异性结合,使其有明显的荧光增强效应,具有较高的选择性,可通过紫外吸收和荧光分光光度法进行分析,但是紫外吸收和荧光分光光度法定量不够准确,且白酒中的硫醇化合物属痕量化合物,因此无法对酒中的硫醇进行精确定量,而试剂盒法是通过特异性的试剂盒对硫醇进行检测的方法,通过试剂盒中特殊的特异性试剂使硫醇化合物产生特定的显色反应,具有操作简便的优点,但是由于白酒中的硫醇化合物属痕量化合物,含量极低,因此无法进行精确的定量分析。

[0003] 综上传统的检测方法操作复杂,对白酒中极为痕量的挥发性硫醇化合物无法测定,由于硫醇化合物高温或常温下不稳定,直接测定损失较大,硫醇化合物在白酒中含量极低,直接测定定量不准确,富集后测定效果更佳。因此,需要一种基于白酒中挥发性硫醇化合物的测定方法。

发明内容

[0004] 本发明提供一种操作简单、高效、化合物损失小的基于白酒中挥发性硫醇化合物的测定方法。

[0005] 本发明包括以下步骤:

[0006] A调节酒精度取白酒样品将其酒精度稀释至10%乙醇浓度;

[0007] B衍生化反应按照白酒中的乙醇、二吡啶二连硫醚、乙醛和乙二胺四乙酸二钠的mol比17150:1:90:6在稀释后的白酒样品中分别加入二吡啶二连硫醚溶液、乙醛和乙二胺四乙酸二钠后,常温下反应30分钟。

[0008] C反应结束后,将所述白酒样品的酒精度调节至5%乙醇浓度;

[0009] D将固相萃取小柱用甲醇和超纯水活化后,将衍生化反应后的所述白酒样品加入

固相萃取小柱；

[0010] E待所述白酒样品上样完成后，用18mL甲醇水溶液(30%v/v)冲洗除杂，在常温下静置5分钟；

[0011] F色谱检测用色谱甲醇洗脱所述样品后并收集洗脱液，在25℃下，用氮气将洗脱液吹扫干燥后用0.5mL色谱甲醇复溶后进行高效液相色谱-质谱联用测定。

[0012] 进一步地，所述二吡啶二硫醚溶液的配制方法包括将222mg二吡啶二硫醚粉末加入超纯水溶解中，并加入100μL盐酸(37%w/w)，将所述二吡啶二硫醚溶液定容至100mL，-20℃冷冻备用。

[0013] 进一步地，高效液相色谱的反应条件为流动相A:0.5%v/v甲酸水溶液，流动相B:0.5%v/v甲酸乙腈溶液，洗脱梯度:0-10.0min,20-50%B;10.0-15.0min,50-80%B;15.0-20.0min,80%B;20.0-21.0min,80-20%B;and21.0-26.0min,20%B。

[0014] 进一步地，质谱方法的反应条件为正离子模式的喷雾电压为3500V，喷头电压为500V，鞘气温度为250℃，鞘气流量为11L/min，雾化气体压力为45psi，干燥气体温度为300℃，干燥气体流量为5L/min。

[0015] 本发明的有益效果为：

[0016] 本方法通过衍生化试剂提升硫醇化合物对质谱的响应，再通过固相萃取法将衍生化后的产物进行富集，大大的增加了对白酒中硫醇化合物定量的准确性。

附图说明

[0017] 图1白酒衍生化法测定挥发性硫醇化合物流程图；

[0018] 图2为衍生化后硫醇化合物HPLC-MS色谱图；

[0019] 图3为直接测定硫醇化合物GC-MS离子色谱图；

[0020] 图4为经2-硝基苯甲酸衍生化后HPLC-MS色谱图；

[0021] 图5为经五氟苄基溴衍生化后HPLC-MS色谱图；

[0022] 图6为衍生化后未经固相萃取处理直接进样的HPLC-MS色谱图。

具体实施方式

[0023] 以下对本发明的原理和特征进行描述，所举实例只用于解释本发明，并非用于限定本发明的范围。

[0024] 如图1所示，在本实施例子中包括以下步骤：

[0025] 取三组白酒样品分别进行采用本技术方案进行硫醇测定，称取222mg的二吡啶二硫醚粉末，将二吡啶二硫醚粉末加入一定量超纯水中，并加入100μL盐酸(37%w/w)，将所述二吡啶二硫醚溶液定容至100mL，-20℃冷冻备用。

[0026] 按照白酒中的乙醇、二吡啶二硫醚、乙醛和乙二胺四乙酸二钠的mol比17150:1:90:6在稀释后的白酒样品中分别加入二吡啶二硫醚溶液、乙醛和乙二胺四乙酸二钠后，常温下反应30分钟。

[0027] 实施例1

[0028] 取20mL白酒样品(42vol%)，将其酒精度稀释至10%乙醇浓度，在稀释后的白酒样品中加入84μL二吡啶二硫醚溶液、42μL乙醛和16.4mg乙二胺四乙酸二钠，常温下30分钟，

反应结束后,将样品的酒精度调节至5%乙醇浓度,将固相萃取小柱用甲醇和超纯水活化,将样品加入固相萃取小柱,待样品上样完成后,用18mL甲醇水溶液(30%v/v)冲洗除杂,在常温下静置5分钟,用3mL色谱甲醇洗脱,并收集洗脱液,在常温(25℃)下,用氮气将洗脱液吹扫至干,用0.5mL色谱甲醇复溶后进行高效液相色谱-质谱联用测定。

[0029] 实施例2

[0030] 取20mL白酒样品(46vol%),将其酒精度稀释至10%乙醇浓度,在稀释后的白酒样品中加入92μL二吡啶二硫醚溶液、46μL乙醛和18.4mg乙二胺四乙酸二钠,常温下30分钟,反应结束后,将样品的酒精度调节至5%乙醇浓度,将固相萃取小柱用甲醇和超纯水活化,将样品加入固相萃取小柱,待样品上样完成后,用18mL甲醇水溶液(30%v/v)冲洗除杂,在常温下静置5分钟,用3mL色谱甲醇洗脱,并收集洗脱液,在常温(25℃)下,用氮气将洗脱液吹扫至干,用0.5mL色谱甲醇复溶后进行高效液相色谱-质谱联用测定

[0031] 实施例3

[0032] 取20mL白酒样品(53vol%),将其酒精度稀释至10%乙醇浓度在稀释后的白酒样品中按照mol比17150(乙醇):1(二吡啶二硫醚):90(乙醛):6(乙二胺四乙酸二钠),加入106μL 10mmol/L二吡啶二硫醚溶液、53μL乙醛和21.2mg乙二胺四乙酸二钠常温下30分钟,反应结束后,将样品的酒精度调节至5%乙醇浓度,将固相萃取小柱用甲醇和超纯水活化,将样品加入固相萃取小柱,待样品上样完成后,用18mL甲醇水溶液(30%v/v)冲洗除杂在常温下静置5分钟,用3mL色谱甲醇洗脱,并收集洗脱液,在常温(25℃)下,用氮气将洗脱液吹扫至干,用0.5mL色谱甲醇复溶后进行高效液相色谱-质谱联用测定

[0033] 实施例1-3均采用以下反应条件进行测定:

[0034] 高效液相色谱方法:采用WatersXSELECTHSST3C18色谱柱(250mm×4.6mm×5μm),柱温箱温度30℃,进样量10μL。流动相A:0.5%v/v甲酸水溶液,流动相B:0.5%v/v甲酸乙腈溶液。洗脱梯度:0-10.0min,20-50%B;10.0-15.0min,50-80%B;15.0-20.0min,80%B;20.0-21.0min,80-20%B;and21.0-26.0min,20%B。

[0035] 质谱方法:正离子模式的喷雾电压为3500V,喷头电压为500V,鞘气温度为250℃,鞘气流量为11L/min,雾化气体压力为45psi,干燥气体温度为300℃,干燥气体流量为5L/min。

[0036] 质谱优化离子:

	化合物	化学式	裂解电压	母离子	碎片离子	碰撞能量
	糠硫醇衍生 化产物	$C_{10}H_{10}S_2N$ O	105	224.02	143.0	17
79.1					41	
81.1					25	
53.1					50	
[0037]	苜硫醇衍生 化产物	$C_{12}H_{12}S_2N$	120	234.04	143.0	21
79.1					45	
91.1					45	
52.1					50	
	DTDP	$C_{10}H_{10}S_2N_2$	125	222.03	112.0	25
111.0					25	
67.1					30	
					67.5	30

[0038] 由于碎片离子不同,过量的衍生化试剂不会影响硫醇衍生化产物的定量结果。糠硫醇衍生化产物选择143.0作为定量离子,81.1作为定性离子。苜硫醇衍生化产物选择143.0作为定量离子,91.1作为定性离子。

[0039] 对比例

[0040] 采用传统GC-MS测定实施例1中的白酒样品。

[0041] 如图2-6所示,由上述数据对比,由图2和图3可知,经过本方法测定的硫醇衍生化产物相比于传统GC-MS测定,响应值提升了2-3个数量级。由图2、4和5可知,传统的硫醇衍生化试剂2-硝基苯甲酸和五氟苜基溴无法在白酒中对硫醇化合物很好的进行衍生化反应,无法对痕量的硫醇化合物进行精确定量。由图2和6可知,酒样经固相萃取处理后,各种化合物均可以得到很好的富集作用,而直接进样则无法获得很高的峰面积,从而影响定量结果的准确性。因此在白酒中只有经过二吡啶二连硫醚衍生化后的硫醇化合物可以很好的被HPLC-MS检测,其他衍生化试剂均无法被HPLC-MS很好地检测,且经过固相萃取前处理后,衍生化产物可以很好地被HPLC-MS检出,本方法相对于传统的测定方法具有操作简单、定量精确度高、普适性好、检出限低、线性范围宽、响应迅速等优点。

[0042] 二吡啶二连硫醚是一种可以在酸环境中与硫醇化合物进行良好反应的衍生化试剂,因此将二吡啶二连硫醚使用在白酒的痕量挥发性化合物的测定中是最为合适的。而固相萃取可以将原本含量极低的化合物富集后,再进行测定,大大的增加了定量的准确性。本研究采用衍生化结合固相萃取的方法对白酒中无法用常规方法测定的痕量挥发性硫醇化合物进行测定,相比于SPME-GC-MS法提升了检测效率,相比于GC×GC-SCD法具有更好的普适性,相比于荧光探针法、试剂盒法和电传感器法大大提升了检测的精确度。本方法通过衍生化试剂提升硫醇化合物对质谱的响应,再通过固相萃取法将衍生化后的产物进行富集,大大的增加了对白酒中硫醇化合物定量的准确性。

[0043] 以上所述,仅为本发明较佳的具体实施方式,但本发明的保护范围并不局限于此,任何熟悉本技术领域的技术人员在本发明揭露的技术范围内,根据本发明的技术方案及其发明构思加以等同替换或改变,都应涵盖在本发明的保护范围之内。

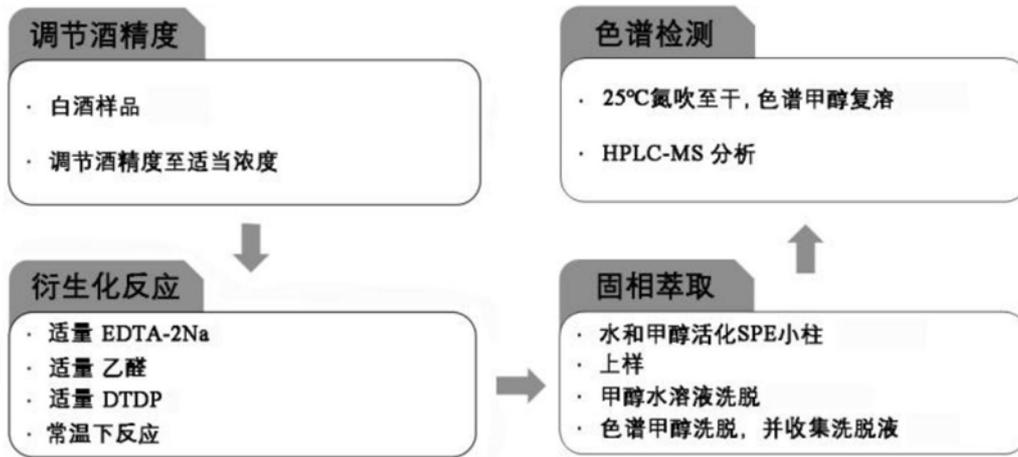


图1

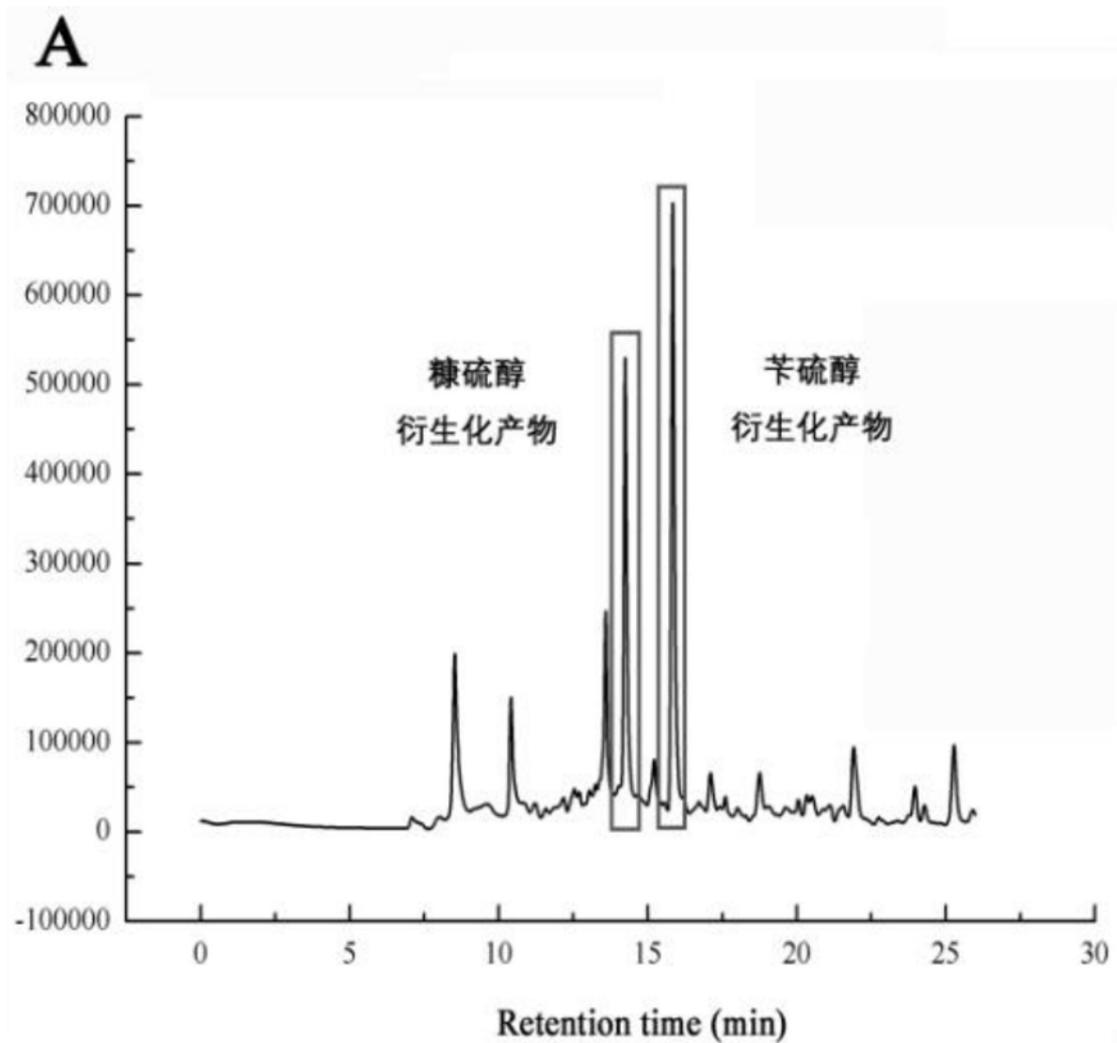


图2

B

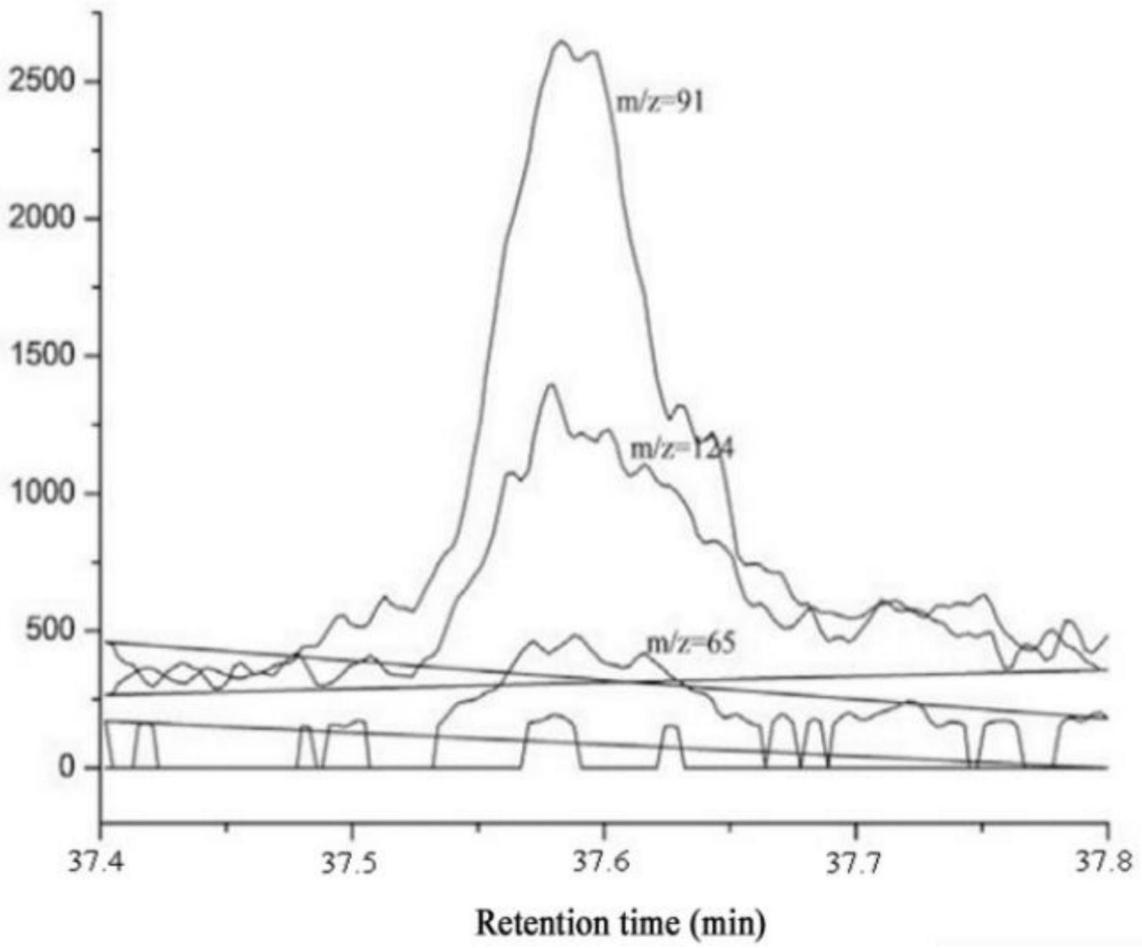


图3

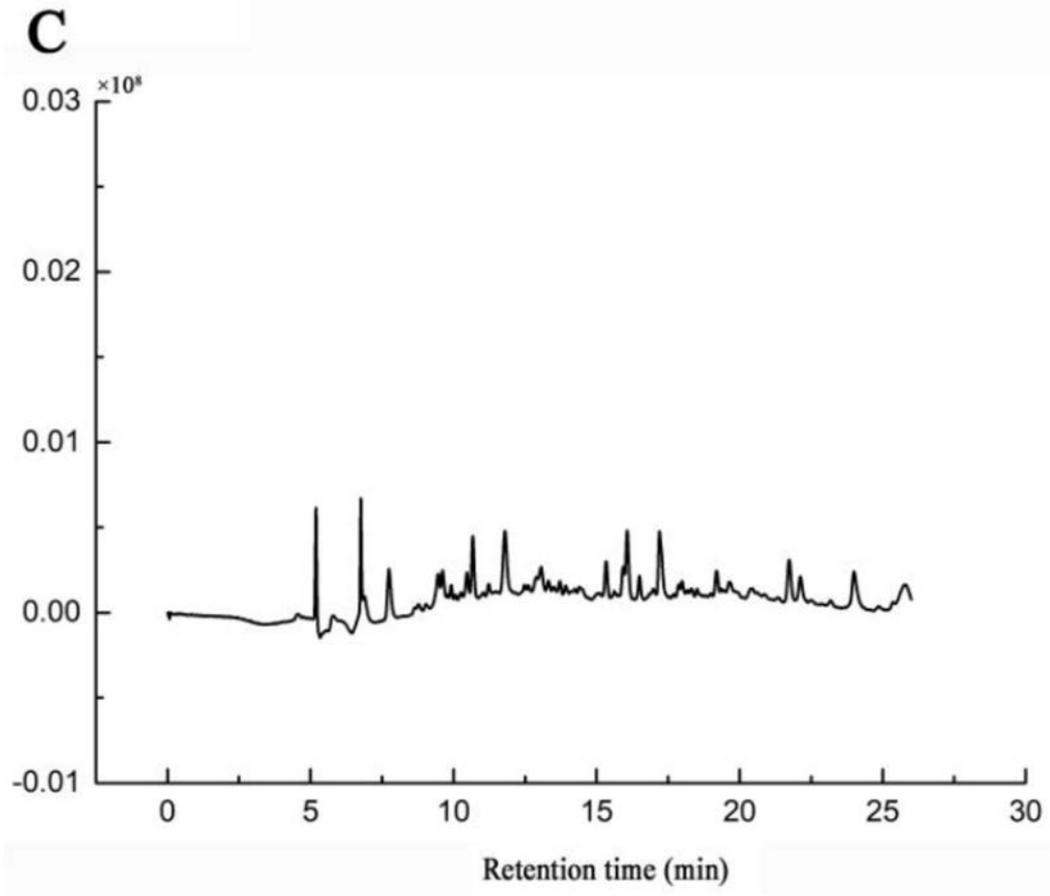


图4

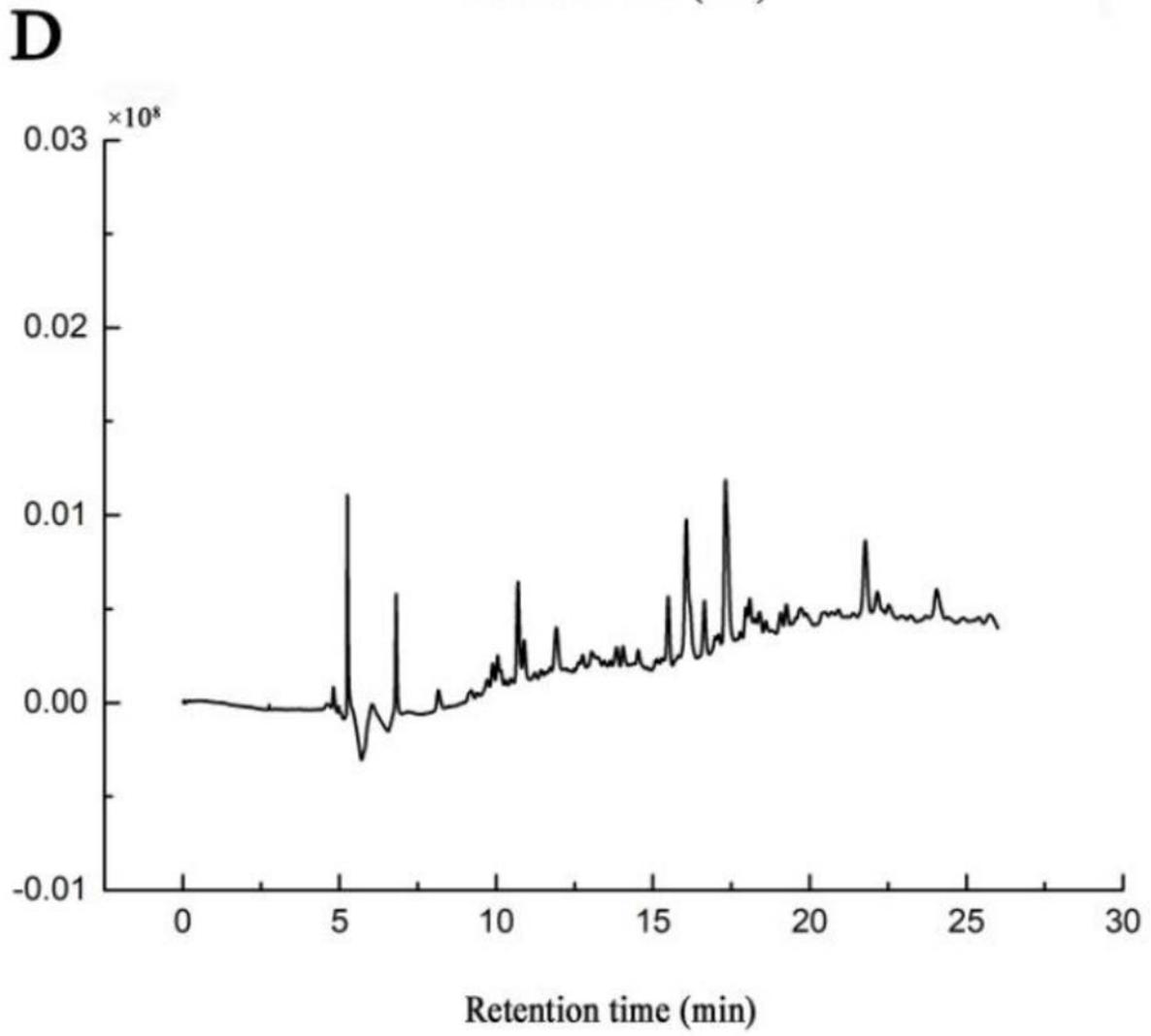


图5

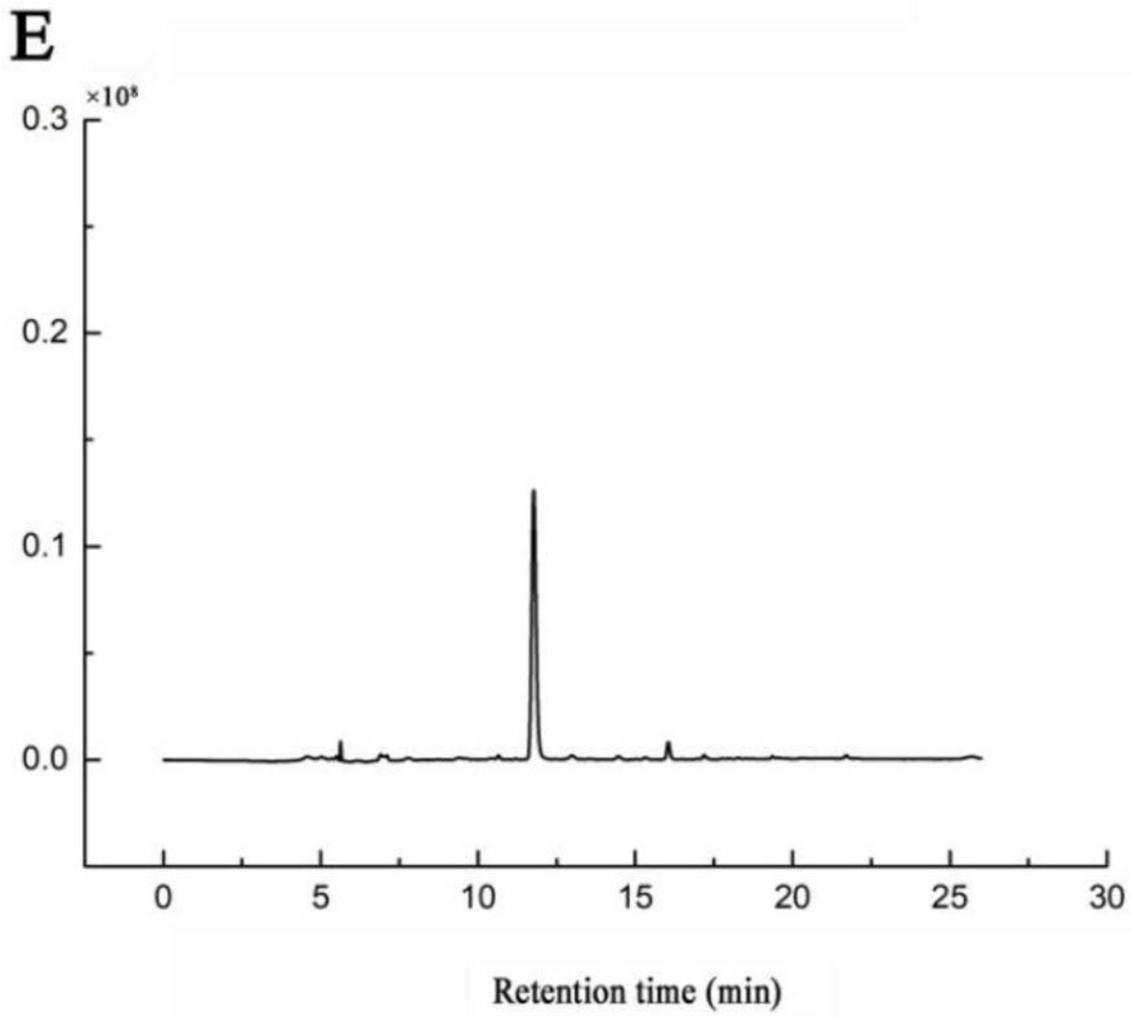


图6