

卷烟工业

领导信箱
ldxx@tobacco.gov.cn


烟草论坛

留言板

电子邮件定制

短信互动

国家烟草专卖局总机

010-63605000

新闻投稿热线:

010-63606303

010-63605947

010-63605142

cx-out@tobacco.gov.cn

顶空-液相微萃取在烟用香精分析中的应用

2007-07-26

样品前处理在分析过程中占有重要的地位,主要有液-液萃取、固相萃取、固相微萃取及膜萃取等几十种经典方法^[1]。1996年,JEANNOT等和CANTWELL等提出了液相微萃取(liquid-phase microextraction, LPME)技术^[2-3]。LPME是在液-液萃取的基础上发展起来的,集采样、萃取和浓缩于一体,具有萃取效率高、消耗有机溶剂少(几至几十 μL)、操作简单和快捷廉价等优点^[4],是一项环境友好的样品前处理新技术,主要用于环境样品中痕量、超痕量有机污染物的测定^[5-6],近几年在国外发展迅速,但国内用LPME进行样品前处理的报道很少。LPME的方式主要有:直接液相微萃取(Direct-LPME)、液相微萃取/后萃取(LPME/BE)和顶空液相微萃取(HS-LPME)^[7]。作者考察了HS-LPME在烟用香精挥发性成分分析中的应用。

1 材料与amp;方法

1.1 仪器与试剂

微量进样器(10 μL ,美国HP公司);固相微萃取器手柄和50/30 μm 二乙烯基苯共聚物/碳分子筛/聚二甲基硅氧烷(DVB/Carboxen/PDMS)萃取纤维头(美国Supelco公司);HP6890N气相色谱/5973MSD质谱联用仪(美国Agilent公司);AG 204型电子天平(感量0.0001g,瑞士Mettler Toledo公司);Corning磁力搅拌器(美国Supelco公司)。

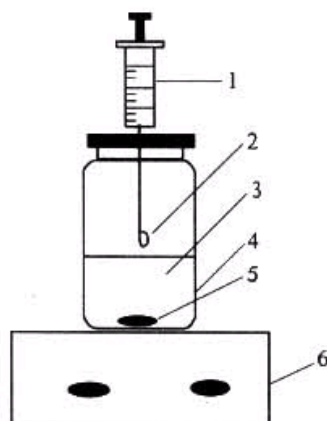
正丙醇、正辛醇、1,2-丙二醇、二氯甲烷(AR,上海试剂一厂);邻苯二甲酸二丁酯、柠檬烯、6-甲基-5-庚烯-2-酮、苯甲醛、芳樟醇、苯甲醇和2-乙酰基吡咯(AR,美国ACROS OR-

GANICS 公司);无水硫酸钠(AR,上海化学试剂有限公司);XJ1 香精样品(日本 SODA AROMATIC 公司)。

1.2 香精挥发性成分的萃取与分析

准确移取 3.0mL XJ1 香精样品,置于 15mL 螺口玻璃瓶(内有搅拌磁子)中,加入 0.5g 无水硫酸钠(使用前于 550℃ 下干燥 1.0h)和 2.0mL 正丙醇,用聚四氟乙烯内衬的硅橡胶垫密封,置于磁力搅拌器(搅拌速度 60r/min)上室温(20℃)下平衡 20min,插入预先抽取 2 μ L 正丙醇的微量进样器,小心按下进样器的活塞,使正丙醇形成一个小液滴悬挂在针尖上(图 1),室温下顶空萃取 20min,拉回活塞后将进样器抽出,并立即插入色谱仪进样口,采用不分流方式进样进行 GC 和 GC/MS 分析。分析条件为:

GC 条件:色谱柱:HP-FFAP(30m \times 0.25mm i. d. \times 0.25 μ m d. f.)弹性石英毛细管柱;进样口温度:245℃;检测器(FID)温度:250℃;载气:He,1.0



1. 色谱进样器 2. 有机溶剂液滴 3. 样品溶液
4. 样品瓶 5. 搅拌磁子 6. 搅拌器

图 1 HS-LPME 装置结构示意图

mL/min;燃料气:H₂,40mL/min,空气,450mL/min;程序升温:50℃(2min) $\xrightarrow{4^\circ\text{C}/\text{min}}$ 240℃(10min)。

GC/MS 条件:GC 条件同上,接口温度:245℃;电离方式:EI;电离能量:70eV;离子源温度:230℃;扫描范围:30~350amu。

采用 NIST98 谱库检索和标样对照法定性,外标法定量。

2 结果与讨论

2.1 萃取溶剂的选择

考察了正己烷、正丙醇、正戊醇、1,2-丙二醇和

邻苯二甲酸二丁酯 5 种有机溶剂的萃取效果,从香精样品成分的性质、液滴的稳定性、对分析物的干扰以及萃取溶剂的沸点和蒸气压 4 个方面考虑选取萃取剂。试验发现:在相同条件下,正己烷易挥发,形成的液滴不稳定;1,2-丙二醇液滴在 5min 左右脱落,仅萃取出 9 种组分,且溶剂峰干扰很大;正辛醇的溶剂峰干扰也很大;邻苯二甲酸二丁酯仅萃取出 7 种组分;正丙醇萃取出 40 余种组分,液滴也较稳定,且其相对保留时间为 5.42min,在分析物之前出峰,对分析组分不产生干扰,也易通过溶剂延迟消除影响,所以,本实验选择正丙醇作萃取剂。

2.2 萃取剂体积对萃取效果的影响

室温下将 XJ1 香精样品预平衡 30min,用不同体积的正丙醇液滴萃取 20min 后进样分析,结果(表 1)显示,萃取组分数和组分的总峰面积均随正丙醇液滴体积的增大而增大。一般来说,萃取剂液滴体积越大,分析物的萃取量越大,有利于提高方法的灵敏度,但由于分析物进入液滴是扩散过程,液滴体积越大,萃取速率越小,达到平衡所需的时间也就越长,而且悬挂在针尖的液滴同时受重力、空气浮力和表面张力的作用,当这 3 种力达到平衡时,液滴才能稳定地悬挂在进样器针头上。对于一定大小的进样器针头和一定的有机溶剂,有机溶剂液滴能稳定悬挂的体积也有一个极大值,超过了这个极大值,液滴便会脱离针头。液滴体积越大,悬挂的稳定性越低,加大了实际操作难度^[7-8]。试验发现,本实验使用的微量进样器悬挂液滴的最大体积为 3.2 μ L。因此,综合考虑上述因素和萃取后液滴重量的增加,本实验选取 2 μ L 作为正丙醇萃取液滴体积。

2.3 样品平衡时间的确定

在萃取 20min 等相同实验条件下,比较了 XJ1 香精样品在室温下分别预平衡 5、10、20、30min 后萃取出的组分数和总峰面积。结果(表 1)表明,样品平衡 10min 以上,顶空中的样品组分达到动态平衡。因此,本实验选择样品平衡时间为 20min。

2.4 萃取时间对萃取效果的影响

HS-LPME 是一个样品的富集平衡过程,萃取时间是非常重要的影响因素。本实验考察了萃取时间对 XJ1 香精样品组分萃取的影响,结果见表 1。由表 1 可知,20min 以前,萃取的 XJ1 香精样

品组分数和组分的总峰面积随萃取时间的增加而增加,20min 时达到最大,而后逐渐减小,而且从 24min 开始观察到,萃取剂液滴逐渐减小,这可能是导致萃取组分数和总峰面积减小的原因。考虑到萃取时间的选择要保证较高的灵敏度和液滴的稳定性,本实验选择萃取时间 20min。

2.5 萃取温度的选择

温度对顶空液相微萃取有两方面的影响:升高温度,分析物挥发至顶空中的量增加,向萃取溶剂相的扩散系数增大,扩散速度随之增大,同时加强了对流过程,有利于缩短达到平衡时间;但升温又会使分析物在萃取剂中的分配系数减小,导致其在萃取溶剂中的萃取量减小^[7]。同时试验还发现,由于受实验室环境温度(20℃)恒定的影响,升高温度时,顶空中的大量分析物凝聚在进样针表面而冲刷萃取液滴,致使液滴从针尖脱落,因此,本实验选择在室温(20℃)下进行 HS-LPME。

2.6 HS-LPME 与 HS-SPME 的比较

考虑到 XJ1 香精样品的组分性质,选择 50/30 μm DVB/Carboxen/PDMS 萃取纤维头^[9],在相同优化实验条件下对 XJ1 香精样品分别进行 5 次 HS-LPME 和 HS-SPME,各组分的校正峰面积和总峰面积的相对标准偏差(RSD)见表 2,其 TIC 见图 2。由表 2 可知:①HS-LPME 的 RSD 均小于 10%,

表 1 萃取剂体积、样品平衡时间和萃取时间对萃取效果的影响

萃取剂体积 (μL)	组分数	总峰面积 ($\times 10^3$)	平衡时间 (min)	组分数	总峰面积 ($\times 10^3$)	萃取时间 (min)	组分数	总峰面积 ($\times 10^3$)
1	17	0.18	5	34	0.65	5	40	0.90
2	44	1.12	10	43	1.00	10	41	1.06
3	47	1.26	20	45	0.98	20	47	1.38
			30	42	1.04	25	44	1.21

表 2 LPME 与 SPME 的对比分析

序号 (No.)	保留时间 (min)	组分	匹配度(%)		校正峰面积($\times 10^4$)		RSD(%)	
			LPME	SPME	LPME	SPME	LPME	SPME
1	5.28	3-甲基丁酸乙酯	93	— ^①	72.00	—	4.23	—
2	5.79	乙酸 3-甲基丁酯	90	—	57.70	—	9.92	—
3	6.03	2-甲基丁酸丙酯	83	—	3.66	—	4.78	—
4	6.45	β -香叶烯	87	—	2.16	—	4.24	—
5	7.13	柠檬烯	95	97	36.7	1.18	2.30	12.60
6	8.02	己酸乙酯	93	—	36.20	—	1.80	—
7	8.22	γ -松油烯	94	—	9.36	—	2.93	—
8	8.86	对伞花烃	94	—	5.34	—	4.73	—
9	9.38	3-羟基-2-丁酮	88	—	5.29	—	4.61	—
10	9.84	1-羟基丙酮	92	—	5.78	—	3.95	—
11	10.79	6-甲基-5-庚烯-2-酮	96	—	11.90	—	2.44	—
12	10.96	乳酸乙酯	88	—	8.79	—	2.98	—
13	14.14	乙酸	83	—	58.90	—	4.63	—
14	16.15	苯甲醛	95	96	426.00	13.10	4.26	10.46
15	16.89	芳樟醇	90	—	3.55	—	3.68	—
16	17.09	2-氨基苯甲酸苄酯	91	—	7.99	—	7.59	—

(续表 2)

序号 (No.)	保留时间 (min)	组分	匹配度(%)		校正峰面积($\times 10^4$)		RSD(%)	
			LPME	SPME	LPME	SPME	LPME	SPME
17	18.68	二氢-5-甲基-2[3H]-呋喃酮	91	—	34.40	—	4.22	—
18	19.29	乙二醇	86	—	5.18	—	7.63	—

19	20.38	2-甲基丁酸	83	—	19.50	—	3.87	—
20	20.87	氧代异佛尔酮	91	—	3.01	—	4.85	—
21	24.09	β -二氧大马酮	98	—	5.27	—	7.45	—
22	24.24	β -大马酮	92	—	3.57	—	8.02	—
23	24.91	苯甲酸丙二醇缩醛	97	97	41.60	3.93	6.70	15.52
24	25.88	苯甲醇	94	94	76.50	4.01	3.09	13.66
25	26.72	苯乙醇	94	91	21.00	1.68	5.28	6.35
26	28.28	2-乙酰基吡咯	91	91	90.40	8.08	3.99	6.67
27	32.52	3-乙酰基-1-甲基吡咯	91	87	4.52	1.23	6.14	8.10
总峰面积					1160.00	34.00	5.65	10.49

注:①“—”表示未检测到。

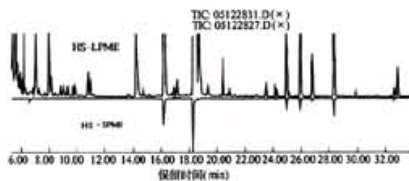


图2 HS-LPME和HS-SPME萃取XJ1香精组分的TIC比较

其中19个组分的RSD小于5% (占70.4%), 而HS-SPME只有3个组分的RSD小于10% (占43%), 表明HS-LPME的重复性远比HS-SPME的高; ②HS-LPME萃取出的组分数是HS-SPME的近4倍, 且相应各组分的峰面积是HS-SPME的10倍以上, 表明HS-LPME的灵敏度高、萃取效果比HS-SPME要好得多。此外, HS-LPME与GC仪联用时, 分析物无需在进样口解吸, 克服了HS-SPME的样品解吸时速度慢且有时易导致分析物的色谱峰拖尾现象以及涂层降解的缺点, 而且HS-LPME用的溶剂种类多且价廉, 为优化HS-LPME的萃取条件提供了巨大的选择空间, 避免了SPME萃取头选择范围小、昂贵、易碎、使用寿命短和用前需老化等缺点。

2.7 工作曲线与检出限

准确称取柠檬烯、6-甲基-5-庚烯-2-酮、苯甲醛、芳樟醇、苯甲醇和2-乙酰基吡咯各0.0118、0.0151、0.0183、0.0160、0.0166和0.0232g, 用丙二醇溶解并定容至10mL, 摇匀, 得混合标准样品储备液, 置于冰箱中4℃下保存。准确移取0.5、1.0、1.5、2.0和2.5mL储备液, 分别用丙二醇溶解并定容至5mL, 摇匀, 得标准溶液。在优化条件下, 分别对这5种浓度的标准溶液进行HS-LPME和GC分析。结果(表3)表明, 6种组分的色谱峰面积(A)与其浓度(C, mg/mL)呈良好的线性关系。

2.8 样品分析与回收率

准确移取XJ1香精样品10份, 2.5mL/份, 分别置于10只15mL螺口玻璃瓶(内有搅拌磁子)中, 其中5只瓶中均加入0.5mL丙二醇, 另外5只瓶中各加入0.5mL标准样品储备液, 分别进行HS-LPME和GC定量分析, 并根据样品的目标物

含量、加标量和测定量计算回收率,结果见表4。由表4看出,本方法具有较高的回收率,与直接气相色谱法测定的结果很接近,准确度较高,可用于香精样品挥发性成分的定量分析。

表3 6种香精组分的富集倍数¹、回归方程、线性范围、相关系数和检出限²

组分	富集倍数	回归方程	线性范围 (mg/mL)	相关系数 (r ²)	检出限 (μg/mL)
柠檬烯	73.8	$A = 1.69 \times 10^4 C + 6.77 \times 10^4$	0.03 - 0.80	0.9951	2.36
6-甲基-5-庚烯-2-酮	250.1	$A = 1.20 \times 10^4 C - 5.85 \times 10^4$	0.04 - 1.05	0.9986	3.02
苯甲醛	264.6	$A = 1.88 \times 10^4 C - 8.90 \times 10^4$	0.05 - 1.00	0.9995	0.73
芳樟醇	17.4	$A = 2.42 \times 10^4 C + 9.43 \times 10^4$	0.11 - 0.64	0.9946	0.16
苯甲醇	9.9	$A = 2.78 \times 10^4 C - 6.40 \times 10^4$	0.16 - 0.74	0.9987	1.66
2-乙酰基吡咯	16.1	$A = 1.77 \times 10^4 C + 1.70 \times 10^4$	0.23 - 0.92	0.9993	0.93

注:①富集倍数是萃取后有机溶剂中目标物的浓度与萃取前原始料液中目标物的浓度之比;②检出限按信噪比 S/N=3:1 计算。

表4 XJ1 香精样品中6种组分的含量与回收率

组分	原含量 ^① (mg/mL)	RSD (%)	加入量 (mg/mL)	测定量 ^② (mg/mL)	回收率 ^② (%)	GC法 ^③ (n=3) (mg/mL)
柠檬烯	0.325	2.25	0.118	0.468	107.7	0.311
6-甲基-5-庚烯-2-酮	0.046	2.42	0.151	0.192	89.5	0.054
苯甲醛	0.647	4.14	0.183	0.825	99.2	0.640
芳樟醇	0.190	3.78	0.160	0.324	86.3	0.222
苯甲醇	4.820	2.99	0.166	4.962	99.5	4.961
2-乙酰基吡咯	9.830	4.32	0.232	9.843	97.8	10.15

注:①本方法5次测定的平均值;②样品经CH₂Cl₂萃取后直接进样,FID检测。

3 结论

①以正丙醇为萃取溶剂,对XJ1香精样品进行HS-LPME前处理,比HS-SPME重复性好、灵敏度和萃取效率高,适合XJ1香精样品挥发性成分的快速分析;②萃取前,在XJ1香精样品中加入少量正丙醇,可以有效地减少正丙醇的挥发,提高其液滴的稳定性;加入过量无水硫酸钠既可增大分析物在有机相中的分配,提高分析灵敏度,又可脱去样品中痕量水分,有利于质谱定性分析。

(南昌卷烟总厂技术中心)

廖 张翼 肖竞

摘自《烟草科技》2007年第6期



主管:国家烟草专卖局办公室
地址:中国北京西城区月坛南街55号(100045)
建议使用:800*600分辨率以上,IE5.0以上浏览器
未经许可,本网站包括图像、图标、文字在内的所有数据不得转载

主办:国家烟草专卖局信息中心
备案序号:京ICP备05033420号