

应用搅拌棒吸附萃取-热脱附-气相色谱-质谱 分析烟用香料的化学成分

侯 英^{1,2}, 杨 蕾³, 王保兴¹, 徐济仓¹, 杨 勇¹,
杨 燕¹, 曹秋娥², 谢小光²

(1. 云南瑞升烟草技术(集团)有限公司, 云南 昆明 650106 ; 2. 云南大学, 云南 昆明 650091 ;
3. 云南师范大学, 云南 昆明 650092)

摘要 :应用搅拌棒吸附萃取法(SBSE)提取烟用香料的化学成分,并利用热脱附(TD)和色谱-质谱联用(GC-MS)进行分析。对影响萃取效果的因素(萃取时间和氯化钠的加入量)进行了考察,并采用正交试验法对影响热脱附的 3 个主要因素(脱附温度、脱附时间和冷阱温度)进行了优化,得到了较优的实验条件。对方法的重现性进行了考察,同一样品 6 次测定所得 30 个组分的峰面积的相对标准偏差(RSD)平均值小于 10% ,说明所建立方法的重现性较好。在样品中鉴别出酯类、酮类和醛类等 30 种不同化学组分,这些物质反映了该香料的香气特点。实验证明 SBSE 和 TD 适用于烟用香料的快速分析测定。

关键词 :搅拌棒吸附萃取 ;热脱附 ;气相色谱 ;质谱 ;烟用香料

中图分类号 :O658 文献标识码 :A 文章编号 :1000-8713(2006)06-0601-05 栏目类别 :研究论文

Analysis of Chemical Components in Tobacco Flavors Using Stir Bar Sorptive Extraction and Thermal Desorption Coupled with Gas Chromatography-Mass Spectrometry

HOU Ying^{1,2}, YANG Lei³, WANG Baoxing¹, XU Jicang¹, YANG Yong¹,
YANG Yan¹, CAO Qiue², XIE Xiaoguang²

(1. *Yunnan Reascend Tobacco Technology (Group) Co. , Ltd, Kunming 650106 , China* ; 2. *Yunnan University , Kunming 650091 , China* ; 3. *Yunnan Normal University , Kunming 650092 , China*)

Abstract : A novel method for the analysis of chemical components in tobacco flavors was established using stir bar sorptive extraction (SBSE) and thermal desorption coupled with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The different parameters affecting the extraction of the analytes from the samples to the poly(dimethylsiloxane) (PDMS) coated stir bars and the conditions affected thermal desorption were investigated. The optimized extraction conditions were that the sample was extracted with a stir bar (10 mm length and 0.5 mm thickness) at 1 100 r/min for 1 h at ambient temperature. Desorption was carried out from 20 °C ramped to 250 °C at 60 °C/min and hold for 2 min under a helium flow of 50 mL/min in the splitless mode while maintained the cryofocusing temperature of -100 °C in a CIS-4 injector of the GC-MS system. Finally , the CIS-4 injector was raised to a temperature of 280 °C and the analytes were separated by GC and detected by MS using full scan mode (m/z 35 - 400). Under the described conditions , about 30 components were identified from the tobacco flavors , and the major components included esters , ketones , aldehydes , etc. The average relative standard deviation (RSD) of peak areas of 30 components for 6 determinations was less than 10%. The good repeatability made SBSE a powerful tool for the routine quality control analysis of chemical components in tobacco flavors.

Key words : stir bar sorptive extraction ; thermal desorption ; gas chromatography (GC) ; mass spectrometry (MS) ; tobacco flavors

收稿日期 2006-05-23

第一作者 :侯 英,女,工程师,硕士研究生, Tel (0871)8322467.

通讯联系人 :王保兴,男,博士,副研究员, Tel (0871)835996 ;曹秋娥,女,教授, E-mail :qecao@ynu.edu.cn ;谢小光,男,教授,
E-mail :xgxie@ynu.edu.cn.

在卷烟生产过程中需要根据卷烟产品的类型和风格在烟叶上施加水溶性烟用香料,以改善烟草的韧性和燃烧性,同时改进吃味、增加香气^[1]。烟用香料中含有大量的沸点较高、不易挥发的保润剂、糖类、天然香料和人工合成香料等,在气相色谱(GC)分析测定前,往往需要进行大量的前处理工作以除去基质中的极性物质。常用的前处理手段包括液-液萃取、固相微萃取和同时蒸馏萃取等^[2-3],这些前处理方法有的需要较长的操作时间,有的重现性不太好,不能满足快速和准确的分析要求。

搅拌棒吸附萃取(SBSE)是一种较新的样品预处理技术,它由 Baltussen 和 Sandra 等^[4]于 1999 年提出。SBSE 的原理与固相微萃取(SPME)相同,是采用涂有一层聚二甲基硅氧烷(PDMS)的搅拌棒在搅拌水性基质的同时将待测组分吸附萃取于 PDMS 涂层中,萃取完成后,待测组分可通过热脱附(TD)进行 GC 分析,也可以通过液体解吸后再进行分析。吸附萃取本质上是利用相平衡原理发展的一种技术,溶质能否从水相迁移至萃取介质中由该溶质在萃取介质和水相间的分配系数决定。近年来的研究发现,这一分配系数与溶质在辛醇-水中的分配系数(K_{ow})有关。SBSE 与 SPME 的不同之处在于 SBSE 用涂有 25 μL PDMS(Twister, Gerstel)涂层的 10 mm 长的搅拌棒代替了 SPME 的聚合物涂层纤维,对水样中的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 可获得更高的萃取回收率。目前,国外在环境^[5-6]、生物^[7-8]和食品^[9-10]等领域很好地应用了 SBSE,为挥发性和半挥发性溶质的测定提供了简单而又非常灵敏的分析工具,而在国内 SBSE 的应用还不够广泛^[11]。

本文利用 SBSE 和 TD 结合气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)测定了烟用香料的化学成分,对影响 SBSE 和 TD 的条件进行了优化。同时考察了方法的重现性,并对烟用香料样品进行了分析,从中鉴别出 30 种成分。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

Gerstel TDS-2 热脱附装置, Gerstel CIS-4 冷进样系统, Gerstel 玻璃热脱附管(4 mm i. d. \times 178 mm), Gerstel Twister 搅拌棒(0.5 mm 厚, 10 mm 长)(德国); Agilent 6890N 气相色谱仪, Agilent 5973N 质谱检测器(美国); Supelco 农残级石英棉(美国); HP-35MS 毛细管柱(0.25 mm i. d. \times 30 m

\times 0.25 μm , 美国); Corning 搅拌/加热台(美国)。内标-喹啉(98%, 优级纯, 上海亭新化工厂)。

1.2 仪器条件

热脱附条件:不分流进样,从 20 $^{\circ}\text{C}$ 以 60 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率升至 250 $^{\circ}\text{C}$, 保持 2 min, 传输线温度 350 $^{\circ}\text{C}$ 。冷进样系统(CIS-4)条件:分流比为 40:1, 从 -100 $^{\circ}\text{C}$ 以 12 $^{\circ}\text{C}/\text{s}$ 的速率升至 280 $^{\circ}\text{C}$, 保持 3 min。气相色谱-质谱条件:色谱柱温从 50 $^{\circ}\text{C}$ (保持 1 min)以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 150 $^{\circ}\text{C}$, 再以 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 250 $^{\circ}\text{C}$ (保持 3 min);载气为氦气,流速 1.2 mL/min;GC 与 MS 传输线温度为 280 $^{\circ}\text{C}$;电子轰击离子源(EI),离子源温度为 230 $^{\circ}\text{C}$,电子能量为 70 eV;采用全扫描模式采集数据,扫描质量范围为 m/z 35~400,采用 NIST98 标准图谱库进行数据检索。

1.3 操作步骤

搅拌棒在使用前需进行条件化,具体操作如下:将 5 个搅拌棒放入空的玻璃热脱附管中在 300 $^{\circ}\text{C}$ 下加热 4 h,通入的氦气流量为 50 mL/min。

称取 0.500 g 烟用香料样品和 19.5 mL 蒸馏水置于 20 mL 顶空试样瓶中,加入 5 μL 质量浓度为 5.218 g/L 的内标溶液。放入搅拌棒以 1 100 r/min 的转速搅拌 60 min,萃取完成后取出搅拌棒,用少许蒸馏水洗涤搅拌棒的表面,然后用滤纸吸去表面的水分,插入玻璃热脱附管中进行热脱附。

2 结果与讨论

2.1 热脱附条件的优化

在相同的 SBSE 条件下,脱附温度、脱附时间和进样口冷聚焦温度这 3 个因素主要影响被分析物从搅拌棒上转移至毛细管柱中是否完全。因此固定 SBSE 条件,采用正交试验法,选 3 个因素(脱附温度(A)、脱附时间(B)及进样口冷阱温度(C))在 3 个不同水平上进行试验,制定的正交试验表见表 1,试验结果见表 2。通过标准谱库检索,选择出与标准谱图的匹配度大于 80% 的 30 个组分,通过比较所选定的 30 个组分的峰面积之和的大小确定较优水平组合。

从表 2 可以得出,各因素对实验结果影响的强弱次序为 $C > A > B$,即冷聚焦温度对实验结果影响

表 1 正交试验的因素-水平表

Level	A/ $^{\circ}\text{C}$	B/min	C/ $^{\circ}\text{C}$
1	200	2	-50
2	250	4	-75
3	280	6	-100

A: desorption temperature; B: desorption time; C: cryofocusing temperature.

最大,脱附时间对实验结果影响最小,脱附温度对实验结果影响居中。较优的水平组合为 $A_2B_1C_3$,即搅拌棒在 250 °C 时脱附 2 min,CIS-4 进样口以 -100 °C 的温度冷却收集被分析物,得到样品中各组分的峰面积之和最大。

表 2 正交试验的方案及结果表

Table 2 Project-results of the orthogonal test

Test No.	A/°C	B/min	C/°C	Total peak area
1	200	2	-50	765695216
2	200	4	-75	864790463
3	200	6	-100	710189000
4	250	2	-75	867778973
5	250	4	-100	965181885
6	250	6	-50	684984689
7	280	2	-100	1004611888
8	280	4	-50	697134409
9	280	6	-75	705210880
K_1	2340674679	2638086077	2147814314	
K_2	2517945547	2527106757	2437780316	
K_3	2406957177	2100384569	2679982773	
k_1	780224893	879362026	715938105	
k_2	839315182	842368919	812593439	
k_3	802319059	700128190	893327591	
R	59090289	36993107	96655334	
Optimal factor	A_2	B_1	C_3	

A : desorption temperature ; B : desorption time ; C : cryofocusing temperature.

2.2 萃取条件的优化

2.2.1 盐析效应

由于 PDMS 涂层的搅拌棒对极性物质的萃取效率低于非极性物质^[4],因此可以通过盐析来增加搅拌棒对极性物质的萃取。在固定热脱附和搅拌棒的其他萃取条件不变的情况下,考察了 5 个不同质量分数(0%、5%、10%、20% 和 25%)的 NaCl 水溶液对搅拌棒吸附量的影响,通过比较选定的 30 个组分的峰面积之和的大小来确定是否需加入 NaCl 溶液。实验结果表明,经过不同含量的 NaCl 溶液的盐析作用,样品中有的组分,如苯甲醛、三甲基吡嗪、水杨酸甲酯、香兰素、2,2,4-三甲基-3-羧基异丙基戊酸异丁酯、香豆素和 1-[5-(2-咪喃基(甲基)-2-咪喃基)乙酮]的峰面积随着 NaCl 含量的增大而增加;有的组分,如壬醛、己酸-2-甲基丙基酯、己烷硫代酸-S-庚基酯、乙酸冰片酯、乙酸异冰片酯、己酸异戊酯、己酸戊酯、壬酸、苯酸苄酯、肉桂酸苄酯和肉桂酸肉桂酯等的峰面积随着 NaCl 含量的增大而降低;其他组分的峰面积不随 NaCl 含量的变化而明显变化。从图 1 可以看出,从总体来看,样品中 30 个组分的峰面积之和随着 NaCl 含量的增大而明显降低,因此实验中选用蒸馏水来稀释样品,不加入 NaCl 溶液。

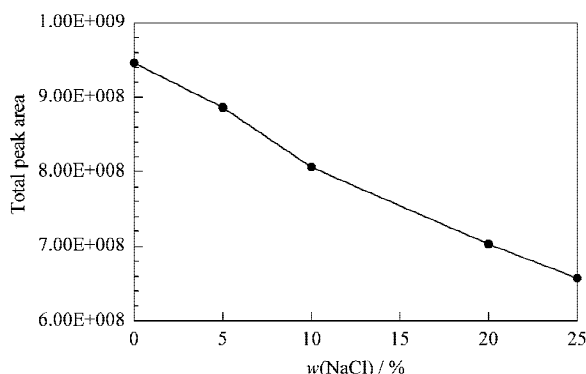


图 1 NaCl 的含量对萃取量的影响

Fig.1 Effect of NaCl content on the total peak area of 30 components extracted

2.2.2 萃取时间

萃取时间是影响样品中各组分从溶液转移进入搅拌棒是否完全的一个主要因素,因此在转速、萃取温度和热脱附条件不变的情况下,考察了不同的萃取时间(0.5、1、2、4、8 和 16 h)对搅拌棒萃取量的影响,根据样品中 30 个组分的峰面积之和的大小,来确定实验所需的萃取时间(见图 2)。

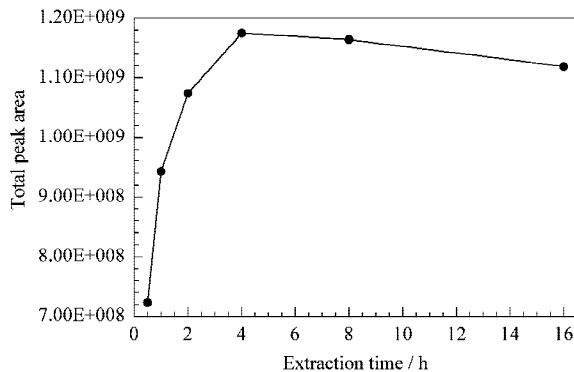


图 2 萃取时间对萃取量的影响

Fig.2 Effect of extraction time on the total peak area of 30 compounds extracted

由图 2 可以看出,随着萃取时间的延长,样品中 30 个组分的峰面积之和增加。萃取时间由 0.5 h 延长至 1 h,组分的峰面积之和增加很大;由 1 h 延长至 4 h,组分的峰面积之和增加渐缓,在 4 h 时达到最大;当萃取时间超过 4 h 之后,组分的峰面积之和略有下降。为了获得快速分析的方法,选取 1 h 的萃取时间进行实验,由于 1 h 时未达到萃取平衡,所以实验过程中一定要严格控制好萃取时间。

2.3 方法的重现性

分别取同一样品 6 份,按实验方法进行制备,在上述确定的较优测定条件下进行测定,结果表明,30 个组分的峰面积的相对标准偏差值(RSD)最大的为 14.7%,最小为 4.5%,平均值为 9.6%,其中有 18 个组分的 RSD 小于 10%,有 12 个组分的 RSD 小于

15% ,说明方法的重现性较好。

2.4 样品分析

按实验方法进行样品制备 ,在以上得到的较优的条件下对一个香料样品进行测定 ,标准谱库检索结果和经过计算的相对于内标的峰面积比值见表 3 ,所得到的总离子流色谱图(TIC)见图 3。从表 3

可以看出样品中含有大量的酯类和酮类化合物 ,另外还含有一定量的醛类化合物 ,这些化合物能反映该香料的香气特征。由于不同类型的烟用香料所含有的成分不同 ,在进行搅拌棒吸附萃取时 ,为获得最佳的萃取效果 ,可针对具体样品进行进一步萃取条件的优化。

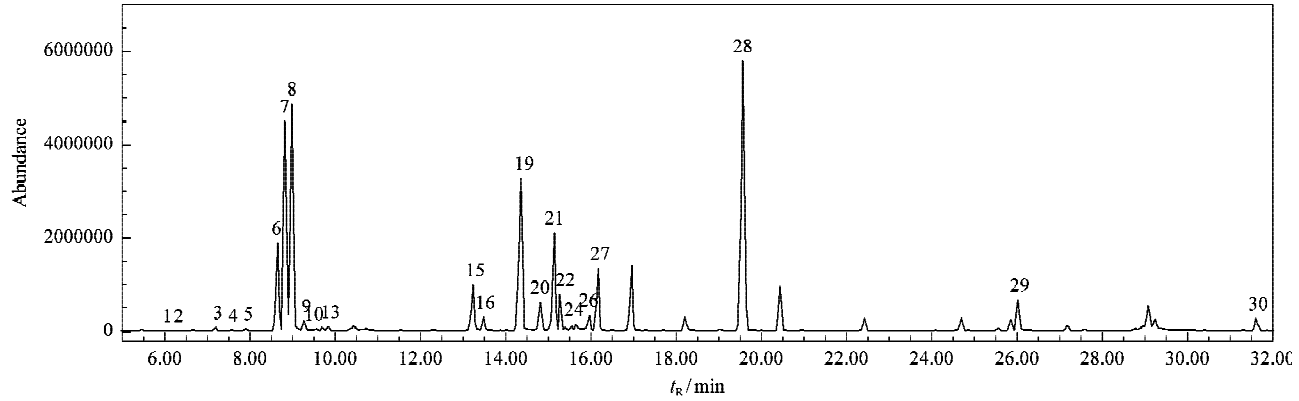


图 3 烟用香料样品的总离子流色谱图

Fig.3 Total ion current chromatogram of a real sample of tobacco flavors

表 3 一种烟用香料样品中的化学成分及其相对峰面积

Table 3 Chemical components in a real sample of tobacco flavors and their relative peak areas

Peak No.	t_R in Fig. 3/ min	Compound	Similarity/ %	Relative peak area ¹⁾
1	6.11	benzaldehyde(苯甲醛)	82	0.096
2	6.27	pyrazine , trimethyl(三甲基吡嗪)	80	0.065
3	7.25	nonanal(壬醛)	87	0.770
4	7.60	hexanoic acid , 2-methylpropyl ester(己酸-2-甲基丙基酯)	83	0.065
5	7.96	hexanethioic acid , S-heptyl ester(己烷硫代酸-S-庚基酯)	81	0.150
6	8.68	hexanoic acid , 2-methylbutyl ester(己酸-2-甲基丁基酯)	84	20.435
7	8.91	isopentyl hexanoate(己酸异戊酯)	82	60.185
8	9.05	hexanoic acid , pentyl ester(己酸戊酯)	80	37.656
9	9.32	methyl salicylate(水杨酸甲酯)	94	1.279
10	9.5	nonanoic acid(壬酸)	83	0.260
11	9.61	pentanoic acid , 4-methyl , pentyl ester(4-甲基戊酸戊酯)	82	0.208
12	9.77	bornyl acetate(乙酸冰片酯)	85	0.686
13	9.89	isobornyl acetate(乙酸异冰片酯)	91	0.478
14	13.15	phenol , 2 , 4-bis(1 , 1-dimethylethyl) 2 , 4-二(1 , 1-二甲基乙基) 苯酚)	90	0.250
15	13.29	vanillin(香兰素)	97	8.122
16	13.52	2-propenoic acid , 3-phenyl- , ethyl ester(3-苯基-2-丙烯酸乙酯)	98	2.247
17	13.59	1 , 10-dodecatrien-3-ol , 3 , 7 , 11-trimethyl(3 , 7 , 11-三甲基-1 , 10-十二烷三烯-3-醇)	81	0.356
18	13.96	pentanoic acid , 2 , 2 , 4-trimethyl-3-carboxyisopropyl , isobutyl ester (2 , 2 , 4-三甲基-3-羧基异丙基戊酸异丁酯)	80	1.411
19	14.44	2H-1-benzopyran-2-one(香豆素)	94	43.127
20	14.88	megastigmatrienone(巨豆三烯酮)-1 ²⁾	96	4.673
21	15.20	megastigmatrienone(巨豆三烯酮)-2	98	14.246
22	15.32	ethanone , 1-[5-(2-furanylmethyl)-2-furanyl] (1-[5-(2-呋喃甲基)-2-呋喃基] 乙酮)	83	5.978
23	15.45	naphthalene , 1 , 2 , 3 , 4 , 4a , 5 , 6 , 8a-octahydro- 7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl) (1 , 2 , 3 , 4 , 4a , 5 , 6 , 8a-八氢-7-甲基-4-亚甲基-1-(1-甲基乙基) 萘)	85	0.901
24	15.71	benzoic acid , 2-hydroxy-4-methoxy-6-methyl , methyl ester (2-羟基-4-甲氧基-6-甲基苯甲酸甲酯)	96	1.414
25	15.88	3-butene-2-one , 1-(2 , 3 , 6-trimethylphenyl) 1-(2 , 3 , 6-三甲基苯基)-3-丁烯-2-酮)	81	0.718
26	16.01	megastigmatrienone(巨豆三烯酮)-3	96	2.463
27	16.22	megastigmatrienone(巨豆三烯酮)-4	99	9.498
28	19.67	benzyl benzoate(苯酸苄酯)	97	78.530
29	26.06	benzyl cinnamate(肉桂酸苄酯)	99	5.230
30	31.66	cinnamyl cinnamate(肉桂酸肉桂酯)	91	2.146

1) Ratios of peak areas of compounds to internal standard. 2) Isomers were marked 1 , 2 , 3 and 4 based on the retention time.

3 结论

本文应用搅拌棒吸附萃取和热脱附前处理技术,结合色谱-质谱联用测定了烟用香料的化学成分。对影响搅拌棒萃取和热脱附的几个因素进行了优化,得到的优化条件是:在室温下用 10 mm 长的有 PDMS 涂层的搅拌棒萃取 20 mL 样品水溶液,转速为 1 100 r/min,萃取时间为 1 h,然后将搅拌棒置于热脱附装置中,于 250 °C 时脱附 2 min,被测组分通过流速为 50 mL/min 的氦气转移到冷却至 -100 °C 的 CIS-4 进样口进行冷聚焦,最后 CIS-4 进样口升温到 280 °C 将被测组分转移到 GC-MS 的毛细管柱中进行分离和鉴定。样品 6 次测定的不同组分的峰面积的 RSD 平均值小于 10%,说明所建立方法的重现性较好。对 1 个牌号的烟用香料样品进行分析,从样品中鉴别出 30 种不同化学组分。实验证明 SBSE 和 TD 应用于烟用香料的分析测定具有很高的灵敏度和很好的重现性,可用于烟用香料质量控制的分析测定。

致谢:感谢德祥科技有限公司提供搅拌棒和热脱附仪器及相关技术支持。

参考文献:

- [1] Yu Jianjun. Cigarette Technology. Beijing: Chinese Agriculture Press (于建军. 卷烟工艺学. 北京:中国农业出版社), 2003:95
- [2] Lin Ping, Liao Qibin, Liu Jiazeng, Su Qingde, Liu Zechun, Cai Guohua. Acta Tabacaria Sinica (林平, 廖启斌, 刘加增, 苏庆德, 刘泽春, 蔡国华. 中国烟草学报), 2003, 9(2):6
- [3] Lü Jian, Ruan Xiaoming, Sheng Zhiyi, Xu Haitao, Li Yanqiang. Tobacco Science & Technology (吕健, 阮晓明, 盛志艺, 徐海涛, 李炎强. 烟草科技), 2003(2):25
- [4] Baltussen E, Sandra P, David F, Cramers C. J Microcol-umn Sep, 1999, 11:737
- [5] Popp P, Bauer C, Wennrich L. Anal Chim Acta, 2001, 436:1
- [6] Kolahgar B, Hoffmann A, Heiden A C. J Chromatogr A, 2002, 963(1/2):225
- [7] Kawaguchi M, Inoue K, Sakui N, Ito R, Izumi S, Makino T, Okanouchi N, Nakazawa H. J Chromatogr B, 2004, 799:119
- [8] Kawaguchi M, Ito R, Hayatsu Y, Nakata H, Sakui N, Okanouchi N, Saito K, Yokota H, Izumi S, Makinod T, Nakazawa H. J Pharm Biomed Anal, 2006, 40:82
- [9] Diez J, Dominguez C, Guillén D A, Veas R, Barroso C G. J Chromatogr A, 2004, 1025:263
- [10] Tateo F, Bononi M. J Food Compost Anal, 2003, 16:721
- [11] Xu Yuan, Liu Wenmin, Zhao Jinghong, Guan Yafeng. Chinese Journal of Analytical Chemistry (徐媛, 刘文民, 赵景红, 关亚凤. 分析化学), 2005, 33(10):1401

《中国学术期刊文摘》中文版和英文版

2007 年征订启事

《中国学术期刊文摘》分中文版(简称 CSAC)和英文版(简称 CSAE)两种,各自收录了我国高水平学术期刊中基础科学、医学、农业科学和工程技术领域约 40 个学科的论文文摘,全景展现我国的科研成果与进展。

作为综合性科技类检索刊物《中国学术期刊文摘》致力于将我国科学技术各领域的原创性学术成果全面、快速地向科技工作者交流、传播,其中 CSAE 是我国第一份综合性英文版科技类学术检索刊物。

《中国学术期刊文摘》由中国科学技术协会主管,科技导报社主办并负责编辑、出版、发行,对科研单位、高等院校、图书馆以及广大科技工作者检索和了解我国的科技研究成果、学术研究动向具有重要的参考价值。

《中国学术期刊文摘(中文版)》刊号为 CN 11-3501/N,ISSN 1005-8923,2007 年为半月刊,大 16 开,国内定价 38.00 元/册,全年定价 912 元,邮发代号 82-707。

《中国学术期刊文摘(英文版)》刊号为 CN 11-5411/N,ISSN 1673-4084,2007 年改为月刊,大 16 开,国内定价 15.00 元/册,全年定价 180 元,邮发代号 80-487。

欢迎广大科技工作者、科研单位、高等院校、图书馆订阅。

邮局汇款:

联系人:姚玉琴 联系电话:010-62103122

网址: <http://www.csac.org.cn>

E-mail: wzbjb@cast.org.cn

通讯地址:北京市海淀区学院南路 86 号科技导报社

邮编:100081

银行汇款:

帐号:0200001409089017271

户名:科技导报社

开户银行:工商银行百万庄支行