

固相微萃取-气相色谱法测定葡萄酒及软木塞中 2,4,6-三氯苯甲醚(TCA)

卫晓红 李 燕 张 燕 王 锴

(国家葡萄酒及白酒、露酒质量监督检验中心, 山东 烟台 264003)

摘 要: 采用固相微萃取-气相色谱法测定葡萄酒及软木塞中的 TCA 含量, 样品试液经固相微萃取装置萃取、富集后, 直接无分流进样, 经毛细管柱 DB-5 分离后, 用 ECD 检测器检测。结果表明, 该方法检出限为 0.1 ng/L, 回收率在 90 %~106 % 之间, 相对标准偏差(n=5)小于 5 %。

关键词: TCA; 固相微萃取; 软木塞; 葡萄酒

中图分类号: TS262.6; O657.7; O652.6

文献标识码: B

文章编号: 1001-9286(2010)04-0092-02

Determination of 2,4,6-trichloroanisole(TCA) in Grape Wine and Cork Stopper by SPME-GC

WEI Xiao-hong, LI Yan, ZHANG Yan and WANG Kun

(China National Quality Supervision & Testing Center for Wine, Liqueur and Liquor, Yantai, Shandong 264003, China)

Abstract: 2,4,6-trichloroanisole (TCA) content in grape wine and cork stopper was determined by SPME-GC. TCA in the sample solution was extracted and concentrated to SPME fibre. By splitless injection and capillarity column DB-5 separation, TCA was then determined by ECD. The results showed that the detection limit was 0.1 ng/L and the recovery was between 90 % to 106 % and RSD (n=5) was less than 5 %.

Key words: TCA; SPME; cork stopper; grape wine

软木塞广泛应用于多种食品的包装, 特别是葡萄酒及果酒等产品。它可以为葡萄酒、果酒等产品提供适宜的贮存环境, 但是, 软木塞在霉菌的作用下, 很容易产生 2,4,6-三氯苯甲醚(TCA)^[1]。这是一种带有腐烂木头味道的物质, 如果进入酒中, 对葡萄酒产品的质量及口感产生严重影响。TCA 在葡萄酒中的感官阈值非常低^[2], 目前我国对 TCA 的检测方法研究仅限于饮用水^[3-4], 尚未制订关于软木塞及葡萄酒中 TCA 检测方法的国家标准和行业标准。对软木塞及葡萄酒中 TCA 检测方法的研究未见报道。本方法可以准确测定 TCA 含量, 为制定相关行业标准和国家标准以及有效控制贮存条件提供可靠的数据支持。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

气相色谱仪(配 ECD 检测器); 固相微萃取(SPME): 配 100 μm PDMS 萃取头; 磁力搅拌器: 可以控制温度及搅拌转速。

乙醇水溶液: 体积比 12 %; 无水乙醇、氯化钠、氨水

均为 GR 级; 2,4,6-三氯苯甲醚(TCA): $\geq 99\%$ 。

1.2 色谱条件

毛细柱: DB-5 (0.25 μm , 30 m $\times$ 0.25 mm); 载气: 氮气; 流速: 1.0 mL/min; 进样方式: 无分流, 进样时间为 2 min; 进样口温度: 220 $^{\circ}\text{C}$; 检测器温度: 240 $^{\circ}\text{C}$ 。

程序升温: 初始温度 50 $^{\circ}\text{C}$, 保持 2 min; 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 180 $^{\circ}\text{C}$, 保持 0 min; 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 220 $^{\circ}\text{C}$, 保持 2 min。

1.3 试验方法

1.3.1 葡萄酒

取葡萄酒 50 mL, 用氨水调制中性, 定容至 100 mL。量取 5 mL 于 15 mL 萃取瓶中, 加入 2 g NaCl, 封口。置磁力搅拌器上, (35 $\pm$ 2) $^{\circ}\text{C}$ 加热搅拌, PDMS 萃取头萃取 30 min, 进样, 按色谱条件进行分析。

1.3.2 软木塞或合成塞

取 10~15 个塞子于 1000 mL 烧杯中, 加入 400 mL 乙醇水溶液 (12 % vol), 并使塞子浸入液面以下, 浸泡 (24 $\pm$ 2)h。取 5 mL 浸泡液于 15 mL 萃取瓶中, 以下步骤

收稿日期: 2009-12-29

作者简介: 卫晓红, 女, 大学本科, 从事食品、化工产品的分析多年, 现任国家葡萄酒检测中心副主任。

同 1.3.1。

2 结果与讨论

2.1 样品前处理条件的选择

2.1.1 NaCl 的添加量

在萃取过程中,向样品溶液中加入一定量的 NaCl,可以有效地提高 TCA 在气相中的分配,从而有利于 TCA 在萃取头上的富集。实验表明,NaCl 的添加量与 TCA 的萃取量有直接的关系(见图 1),未添加 NaCl 的 10 ppt 的标准溶液 10 mL,经固相微萃取后,经气相色谱柱分离,几乎检测不到 TCA;而随着 NaCl 添加量的增加,TCA 的色谱峰面积也相应增加,当 NaCl 添加量达到 2 g 以上时,色谱峰面积基本保持不变,从而确定 NaCl 添加量为 2 g。

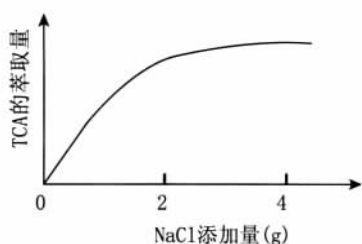


图 1 NaCl 的添加量与 TCA 的萃取量的关系

2.1.2 萃取温度

适当提高萃取温度有利于 TCA 的萃取,但是温度过高会降低气相中 TCA 在萃取头固定相上的吸附,不利于富集。通过反复试验,根据同一浓度的溶液在不同萃取温度下得到的色谱峰面积不同,选择可以得到最大色谱峰的萃取温度,确定最佳萃取温度为 35 ℃。

2.1.3 萃取时间

萃取时间对固相微萃取的效果有显著影响,时间太短,萃取不完全,时间过长会延长分析时间,降低工作效率。选择 10 min、20 min、30 min 几个不同的萃取时间,测定同一浓度的 TCA 标液,结果表明 30 min 可以得到较好的萃取结果。同时对 10 ppt、50 ppt、100 ppt 等不同浓度的标准溶液进行测定,30 min 均可以得到满意的萃取结果。

2.1.4 其他萃取条件的影响

固相微萃取不是一种完全萃取的方式,所以萃取效率受很多因素的影响,除了与萃取温度、时间有关外,还受溶液酸度、萃取头在萃取瓶中的深度、搅拌速率、萃取头在进样口中插入位置等多种条件有关,所以在应用固相微萃取时,要严格确保标准系列与样品的试验条件一致。

2.2 分离条件的选择

2.2.1 进样时间

利用萃取头直接进样,进样时间对测定结果的影响很大,很容易造成萃取头的记忆效应,使目标物不能完全进入色谱柱,并影响下一个样品的测定。在 220 ℃ 温度下,选择 2 min、3 min、4 min、5 min 无分流进样,并对每次实验的萃取头重复进样 1 次,以确定相应的进样时间是否可以将萃取头上的目标物完全解析,并进入色谱柱。试验表明,无分流进样 2 min,完全可以避免萃取头的记忆效应。

2.2.2 初始温度

利用固相微萃取的萃取头进样,需要一定的解析时间,如果程序升温的初始时间过高或从初始温度直接升温,会造成色谱峰的严重拖尾。初始温度采用 50 ℃、保持 2 min,可以完全避免这个问题,使目标峰得到很好的分离,并保持尖锐和对称的峰型(色谱图见图 2)。

2.3 工作曲线及检出限

用甲醇配制 1 g/L 的 TCA 标准储备液,并用甲醇逐级稀释为 1 mg/L 的中间液。准确移取中间液,用 12 % 乙醇溶液配制成浓度为 0、1 ng/L、5 ng/L、20 ng/L、50 ng/L 的标准使用液,按试验条件进行测定,TCA 浓度在 1~50 ng/L 范围呈线性,回归方程为 $Y=189007X+642820$,相关系数为 0.9913,平行测定 10 次空白样,相对标准偏差为 3.6 %,检出限(3S/N)为 0.1 ng/L。

2.4 回收率实验

在葡萄酒中加入不同浓度的 TCA 标准溶液,量取 5 mL 加入 15 mL 萃取瓶中,按试验方法进行样品处理,按仪器条件进行测定,根据样品测定结果计算回收率,结果见表 1(软木塞用同样的方法测定回收率,回收均在 90 %~106 %)。

表 1 TCA 测定方法的回收率

序号	添加量 (ng/L)	测定结果 (ng/L)	回收率 (%)
1	1	0.9	90
2	5	4.6	92
3	10	10.6	106
4	20	19.5	98
5	50	51.2	102

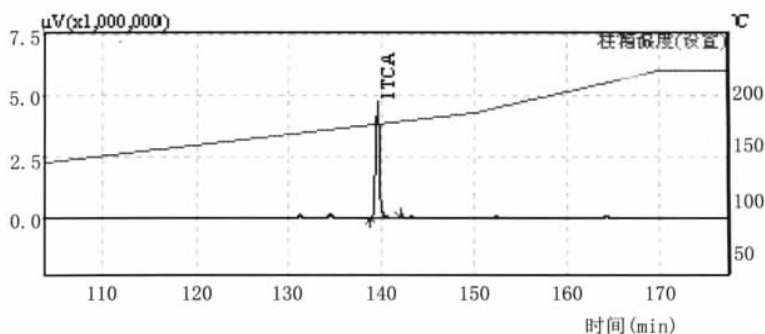


图 2 TCA 标准溶液色谱图

(下转第 95 页)

1.2 mg/L、0.6 mg/L 和 0.3 mg/L, 然后通过液相色谱分析, 用峰面积对浓度做曲线, 进行线性分析, 线性系数 $R^2=0.9977$ 。

2.2 方法的精密度

将标准储备液稀释到 1.2 mg/L, 重复进样 5 次, 测定其精密度, 结果见表 1。

表 1 实验方法的精密度分析

项目	测定次数					平均值	SD	CV (%)
	1	2	3	4	5			
含量(mg/L)	1.23	1.26	1.18	1.15	1.29	1.222	0.057	4.68

2.3 方法的检出限

将标液储备液逐渐稀释到 1.2 mg/L、0.6 mg/L、0.3 mg/L、0.15 mg/L 和 0.075 mg/L 进行检测分析, 最终确定该方法的定量检出限为 0.15 mg/L。

2.4 实际样品的测定和方法回收率实验

随机取 3 个麦芽和 3 种啤酒, 分别添加赤霉素标准液 0.6 mg/L, 进行检测, 计算其回收率, 结果见表 2。

3 结论

通过优化色谱条件使用高效液相色谱测定啤酒和麦芽中的赤霉素, 该方法的相对标准偏差为 4.68 %, 线性

(上接第 93 页)

2.5 样品分析

按照实验方法对 1 种聚合软木塞、1 种天然软木塞和 4 款葡萄酒分别进行测定, 结果见表 2。

表 2 样品分析结果

样品	TCA 测定值 (ng/L)
聚合软木塞	<0.1
天然软木塞	3
葡萄酒 1#	15
葡萄酒 2#	6
葡萄酒 3#	<0.1
葡萄酒 4#	50

另对 1 款未检出 TCA 的葡萄酒产品添加标液至 TCA 浓度分别为 0.4 ng/L、10 ng/L、20 ng/L, 选择 10 位视觉、嗅觉、味觉均无明显缺陷的人对 4 个不同 TCA 浓度的溶液进行比较, 结果表明, 4 ng/L 的 TCA 对葡萄酒的感官影响明显。本方法 0.1 ng/L 的检出限完全可以达到监察软木塞对葡萄酒污染的要求。

3 结论

采用固相微萃取-气相色谱法测定葡萄酒及软木塞中的 TCA 含量, 样品试液经固相微萃取装置萃取、富集后, 直接进行无分流进样, 经毛细管柱 DB-5 分离后, 用 ECD 检测器检测。结果表明, 该方法的检出限(3 S/N)为

表 2 方法的回收率分析

名称	样品含量	添加量	测定值	回收率 (%)
麦芽 1	0.3687	0.6	1.0600	115.22
麦芽 2	0.9707	0.6	1.5323	93.60
麦芽 3	0.9627	0.6	1.6481	105.46
啤酒 1	0.3370	0.6	0.9498	102.13
啤酒 2	0.5637	0.6	1.2225	109.80
啤酒 3	1.1563	0.6	1.7907	101.96

系数 $R^2=0.9977$, 方法定量检出限 0.15 mg/L, 回收率在 93.60 %~115.22 %, 该方法操作简单, 相关性好, 能满足分析啤酒和麦芽中赤霉素要求。

参考文献:

- [1] 李文雍. 赤霉素含量紫外吸收测定法的改进[J]. 氨基酸和生物资源, 1999, 21(1): 24-26.
- [2] 谈锋. 植物激素的高效液相色谱[J]. 植物生理学通讯, 1986, (5): 15-23.
- [3] 马庆虎, 谭志一, 焦述平. 简评植物激素的几种测定方法[J]. 植物生理学通讯, 1987, (1): 7-11.
- [4] 罗正荣. 植物激素测定方法[J]. 果树科学, 1990, 7(3): 186-190.
- [5] 沈镇德, 周元吉, 等. 赤霉素的气液色谱和高效液相色谱分析技术[J]. 植物生理学通讯, 1992, 28(4): 290-293.

0.1 ng/L, 回收率在 90 %~106 %之间, 相对标准偏差 ($n=5$) 小于 5 %; 利用该方法完全可以达到监察软木塞对葡萄酒污染的要求。

参考文献:

- [1] ROBERT F. SIMPSON. Origin and fate of 2,4,6-trichloro-anisole in cork bark and wine corks[J]. Australian Journal of Grape and Wine Research, 2007, 13(2): 106-116.
- [2] Taylor, MK. Supercritical fluid extraction of 2,4,6-trichloro-anisole from cork stoppers[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2000, 48(6): 2000.
- [3] 张德明, 徐荣, 林细萍, 刘丽君. 固相微萃取 / 气质联用测定水中五种异味有机物[J]. 中国给水排水, 2006, (10): 81-83.
- [4] 张锡辉, 伍婧娉, 王治军, 向修传. HS-SPME-GC 法测定水中典型异味物质[J]. 中国给水排水, 2007, (2): 78-82.

更正

本刊 2009 年第 11 期第 40 页刊发的“硒对根霉和酵母菌生长的影响”一文, 因校对失误, 文中多处出现硒酸或硒酸根, 应更正为硒, 没有“酸”或“酸根”, 在此向作者和读者致歉。

特此更正

《酿酒科技》编辑部

2010.3.26