

顶空气相色谱-质谱法同时测定蜂蜜中57种挥发性有机溶剂残留

刘永明*, 葛娜, 王飞, 李金, 吴艳萍, 黄学者, 曹彦忠

(秦皇岛出入境检验检疫局, 河北 秦皇岛 066004)

摘要:建立了顶空气相色谱-质谱(HS-GC/MS)同时测定蜂蜜中57种挥发性有机溶剂(包括烷烃类、芳香烃类、醇类、酮类、酯类、醚类)残留量的分析方法。蜂蜜样品在密封的顶空瓶中用水溶解后,在顶空仪中于80℃下平衡30 min,使气-液两相达到动态平衡。采用DB-624毛细管色谱柱(60 m×0.25 mm×1.40 μm)对57种有机溶剂进行分离,GC/MS测定,外标法定量。该方法对于烷烃类、芳香烃类和醚类挥发性有机溶剂在0.005~0.2 μg、酯类0.05~2.0 μg、酮类0.5~20 μg、醇类2.5~100 μg范围内线性关系良好,相关系数均大于0.996。对于烷烃类、芳香烃类和醚类挥发性有机溶剂在1.0~20 μg/kg、酯类10~200 μg/kg、酮类100~2000 μg/kg、醇类500~10000 μg/kg添加范围内的平均添加回收率为61.0%~113.1%,相对标准偏差为1.9%~9.8%。对于烷烃类、芳香烃类和醚类挥发性有机溶剂的检出限为1.0 μg/kg、酯类10 μg/kg、酮类100 μg/kg、醇类500 μg/kg。该方法操作简单、快速,灵敏度和准确度高,适用于蜂蜜样品中多种挥发性有机溶剂残留量的同时检测。

关键词:顶空气相色谱-质谱法;挥发性有机溶剂;蜂蜜

中图分类号:O658

文献标识码:A

文章编号:1000-8713(2012)08-0782-10

Simultaneous determination of 57 residual volatile organic solvents in honey by headspace gas chromatography-mass spectrometry

LIU Yongming*, GE Na, WANG Fei, LI Jin, WU Yanping, HUANG Xuezhe, CAO Yanzhong

(Qinhuangdao Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Qinhuangdao 066004, China)

Abstract: A method was developed for the simultaneous determination of 57 residual volatile organic solvents (including several alkanes, aromatic hydrocarbons, alcohols, ketones, esters and ethers) in honey by headspace gas chromatography-mass spectrometry (HS-GC/MS). The honey sample was dissolved with water in a headspace vial, and the equilibration of the sample in the headspace vessel was achieved at 80 °C in 30 min. A DB-624 capillary chromatographic column (60 m×0.25 mm×1.40 μm) was used for the separation of 57 volatile organic solvents, and the analysis was performed by GC/MS. The external calibrations were used for the quantification. The linear ranges of the method were 0.005–0.2 μg for the alkanes, aromatic hydrocarbons and ethers, 0.05–2.0 μg for the esters, 0.5–20 μg for the ketones, 2.5–100 μg for the alcohols. The correlation coefficients were more than 0.996 for all the volatile organic solvents. The recoveries and the relative standard deviations were from 61.0% to 113.1% and 1.9% to 9.8%, respectively, at the spiked levels of 1.0–20 μg/kg for the alkanes, aromatic hydrocarbons and ethers, 10–200 μg/kg for the esters, 100–2000 μg/kg for the ketones, 500–10000 μg/kg for the alcohols. The limits of detection were 1.0 μg/kg for the alkanes, aromatic hydrocarbons and ethers, 10 μg/kg for the esters, 100 μg/kg for the ketones, 500 μg/kg for the alcohols. The method is simple, rapid, sensitive and accurate, and can be used for the simultaneous determination of residual volatile organic solvents in honey samples.

Key words: headspace gas chromatography-mass spectrometry (HS-GC/MS); volatile organic solvents; honey

* 通讯联系人:刘永明,研究员,主要从事食品检测技术研究. Tel: (0335)5308698, E-mail: qhdciqlm@yahoo.com.cn.

基金项目:河北出入境检验检疫局科研项目(HE2011K017).

收稿日期:2012-03-26

随着全世界对食品安全问题关注程度的不断增加,由食品包装污染导致的食品安全问题也越来越受到世界各国的广泛关注,同时也被国外一些发达国家作为技术性贸易措施来提高进口食品的门槛,给食品出口国带来很大的风险和影响。为了适应国际和国内市场需要,我国也对食品容器、包装材料用添加剂使用的卫生标准做出了具体的规定。在 2008 年公布的国家标准中规定了 959 种添加剂的名称和最高使用量^[1],除此以外的添加剂不准使用。我国是食品加工和出口大国,加强对国外食品包装新要求、新变化以及应对策略的研究和探讨,对于促进我国食品出口贸易意义重大。

蜂蜜是我国大宗传统出口商品。蜂蜜的储存方式和方法是影响蜂蜜品质的重要因素。由于蜂蜜属于弱酸性液体,能与金属起化学反应,所以蜂蜜应采用陶瓷、玻璃瓶、无毒塑料桶等容器储存。另外,在储存过程中还应防止串味、吸湿、发酵、污染等方面的影响。由于蜂蜜发酵、储存、环境污染和包装材料中未使用相关法规中规定的粘合剂和油墨等原因,致使有些蜂蜜中含有少量的易挥发性有机溶剂,从而影响了蜂蜜的味香、口感等品质,造成了蜂蜜质量下降。影响蜂蜜品质的有机溶剂包括多类物质,如链烷烃、烯烃、醇、醛、胺、酯、醚、酮、芳香烃、氯化烃、萜烯烃、卤代烃、杂环化合物及含氮化合物、含硫化合物等,它们的大多数品种对人体有一定的毒性,特别是芳香烃类化合物。现在欧盟的蜂蜜检测实验室已开展了蜂蜜中烷烃类、芳香烃及醚类等化合物的检测。为了了解蜂蜜中有机溶剂的污染来源和程度,掌握进出口蜂蜜的质量,建立快速、准确的分析方法非常必要。

目前,对于易挥发性有机溶剂残留的检测方法主要有顶空气相色谱法^[2-6]、顶空气相色谱-质谱法(HS-GC/MS)^[7-9]、吹扫捕集-气相色谱-质谱法^[10]和顶空固相萃取-气相色谱-质谱法^[11]。检测对象主要包括食品包装材料^[2-5]、化妆品^[6]、玩具^[7]、涂料^[8]、饮料^[9]、土壤^[10]和酒^[11],针对蜂蜜产品的分析方法鲜有报道。由于顶空气相色谱-质谱法测定易挥发性有机溶剂具有操作简单、准确度高、确证性好等优点,并且采用选择离子监测模式可排除本底和干扰离子的影响,降低了信号本底和噪声,提高了信噪比和检测灵敏度,在国内外应用最为广泛。而建立可同时测定多种类、多品种的分析方法是顶空分析的发展趋势。虽然现在世界各国对于蜂蜜中的有机溶剂残留量还没有设定具体的限量要求,但一般情况下参照饮用水的卫生标准进行评估。目前,世

界卫生组织规定的饮用水中苯的含量标准是小于 10 $\mu\text{g/L}$,甲苯为 700 $\mu\text{g/L}$,二甲苯(总量)为 500 $\mu\text{g/L}$,乙苯为 300 $\mu\text{g/L}$;美国的标准中规定苯为 5.0 $\mu\text{g/L}$;日本规定苯为 10 $\mu\text{g/L}$;欧盟标准中苯的含量要求最严格,为 1.0 $\mu\text{g/L}$;中国与世界卫生组织的规定相同^[12]。本文通过对蜂蜜中 6 类 57 种有机溶剂的色谱分离、质谱测定、顶空仪的温度和平衡时间的选择条件试验,以及对多种基质进行对比试验,确定了降低蜂蜜基质效应的方法,建立了顶空气相色谱-质谱测定方法。该方法灵敏度高,分离效果好,定性和定量准确,蜂蜜中的烷烃类、芳香烃类、醚类等化合物的检出限达到 1.0 $\mu\text{g/kg}$;酯类化合物为 10 $\mu\text{g/kg}$;酮类化合物为 100 $\mu\text{g/kg}$;醇类化合物为 500 $\mu\text{g/kg}$,满足蜂蜜检验的实际工作需要。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent 5975C 气相色谱-质谱仪(美国安捷伦公司);DANI HSS 8650 自动顶空进样器(意大利 DANI 公司);20 mL 钳口平底顶空瓶(配聚四氟乙烯硅橡胶垫);M 63210-33 涡漩混合器(美国 Thermolyne 公司)。

除 1,2,3,5-四甲苯标准物质的纯度为 84.5% 外,其他 56 种有机溶剂标准物质的纯度均不低于 97.5%(德国 Dr. Ehrenstorfen 公司和美国 Chem Service 公司);N,N-二甲基乙酰胺(DMA)(分析纯,天津市光复精细化工研究所);无水葡萄糖(分析纯,天津市风船化学试剂科技有限公司);水为重蒸馏水。

蜂蜜样品为全国各地的蜂蜜出口企业委托检验样品。

1.2 标准溶液的制备

1.2.1 标准储备溶液

称量洗净、干燥的具塞 20 mL 顶空瓶的质量为 m_1 (g),瓶中加入 DMA,尽量减少瓶内的液上空,使其静置几分钟,带塞称量为 m_2 (g),用移液器或称量勺移取适量的标准物质置于顶空瓶中(注意不要使移液器或称量勺与溶液接触),密封瓶口,混匀,准确称量为 m_3 (g),用下式计算标准储备溶液的质量浓度 X (g/L):

$$X = \frac{m_3 - m_2}{(m_2 - m_1) / 0.935} \times 1000$$

式中 0.935 为 DMA 在 20 $^{\circ}\text{C}$ 时的密度(g/mL)。

对于纯度大于 96% 的标准物质,可直接计算标准储备溶液的浓度;对于小于 96% 的标准物质,如

本文的 1,2,3,5-四甲苯标准物质,需先进行质量校正后再进行计算。标准储备溶液应避免于冰箱中保存。

1.2.2 混合标准工作溶液

根据需要吸取适量的标准储备溶液,用 DMA 稀释成烷烃、芳香烃类和醚类化合物为 1.0 mg/L,酯类化合物为 10 mg/L,酮类化合物为 100 mg/L,醇类化合物为 500 mg/L 的混合标准工作溶液。对于烷烃、芳香烃类和醚类化合物需要配制中间浓度的溶液再进行稀释。

1.2.3 混合基质标准工作溶液

称取 4 g 无水葡萄糖于顶空瓶中,加入 6 mL 重蒸馏水,分别移取 5、10、20、50、100、200 μ L 的混合标准工作溶液于顶空瓶中,密封瓶口,混匀。混合基质标准工作溶液应现用现配。

1.3 仪器工作条件

1.3.1 顶空条件

顶空瓶加热温度为 80 $^{\circ}$ C,进样温度为 90 $^{\circ}$ C,传输线温度为 90 $^{\circ}$ C;样品平衡时间为 30 min;定量环为 1 mL。

1.3.2 色谱条件

DB-624 毛细管色谱柱(60 m \times 0.25 mm \times 1.40 μ m);载气为氦气,纯度 \geq 99.999%,流速为 1.5 mL/min;进样口温度为 200 $^{\circ}$ C;进样方式为分流进样,分流比为 10:1;升温程序:初始温度 45 $^{\circ}$ C,保持 3 min;以 8 $^{\circ}$ C/min 速率升温至 90 $^{\circ}$ C,保持 4 min;以 6 $^{\circ}$ C/min 速率升温至 200 $^{\circ}$ C,保持 6 min。

1.3.3 质谱条件

电子轰击离子源,碰撞能量 70 eV;离子源温度 230 $^{\circ}$ C;四极杆温度 150 $^{\circ}$ C;传输线温度 280 $^{\circ}$ C;溶剂延迟时间 4.8 min;选择离子监测(SIM)模式。57 种有机溶剂的保留时间、定量和定性离子及定量离子与定性离子的丰度比见表 1。采用分时段分别监测,质谱参数见表 2。

表 1 57 种挥发性有机溶剂的 GC-MS 检测参数
Table 1 GC-MS parameters of 57 volatile organic solvents

No.	Compound	Retention time/min	Quantitative ion (m/z)	Qualitative ion 1 (m/z) (abundance ratio*/%)	Qualitative ion 2 (m/z) (abundance ratio/%)	Qualitative ion 3 (m/z) (abundance ratio/%)
1	methanol(甲醇)	5.16	31	29(71)	30(8)	
2	iso-pentane(异戊烷)	5.77	43	57(55)	56(20)	72(6)
3	ethanol(乙醇)	6.30	31	45(52)	46(21)	43(12)
4	2,2-dimethylbutane(2,2-二甲基丁烷)	7.01	57	43(110)	71(86)	41(82)
5	acetone(丙酮)	7.02	43	58(27)	42(7)	39(6)
6	isopropanol(异丙醇)	7.15	45	43(21)	41(8)	59(4)
7	2-methylpentane(2-甲基戊烷)	7.75	43	71(26)	57(11)	41(45)
8	tert-butylmethyl ether(叔丁基甲基醚)	8.12	73	57(87)	41(83)	43(50)
9	3-methylpentane(3-甲基戊烷)	8.20	57	56(66)	41(95)	43(56)
10	n-hexane(正己烷)	8.56	57	43(80)	86(13)	71(5)
11	propanol(正丙醇)	8.82	31	42(13)	59(14)	60(7)
12	2,4-dimethylpentane(2,4-二甲基戊烷)	9.39	43	57(69)	56(38)	85(15)
13	methylcyclopentane(甲基环戊烷)	9.60	56	41(68)	69(37)	84(8)
14	butanone(丁酮)	9.70	43	72(19)	57(7)	42(6)
15	ethyl acetate(乙酸乙酯)	9.74	43	61(10)	70(7)	88(3)
16	2-methylhexane(2-甲基己烷)	10.58	43	57(27)	85(31)	100(3)
17	2,3-dimethylpentane(2,3-二甲基戊烷)	10.74	56	43(45)	71(13)	85(4)
18	cyclohexane(环己烷)	10.80	41	56(120)	69(37)	84(59)
19	isobutyl alcohol(异丁醇)	10.92	42	43(150)	41(120)	74(20)
20	3-methylhexane(3-甲基己烷)	10.93	43	57(42)	71(39)	70(37)
21	benzene(苯)	11.37	78	77(24)	51(25)	50(23)
22	2,2,4-trimethylpentane(2,2,4-三甲基戊烷)	11.47	57	41(36)	56(32)	99(4)
23	n-heptane(正庚烷)	11.81	43	57(41)	71(39)	100(10)
24	normal butanol(正丁醇)	12.30	31	41(107)	56(133)	43(86)
25	methylcyclohexane(甲基环己烷)	13.25	55	83(90)	98(37)	41(68)
26	propyl acetate(乙酸丙酯)	13.53	43	61(24)	73(11)	42(12)

表 1 (续)
Table 1 (Continued)

No.	Compound	Retention time/min	Quantitative ion (m/z)	Qualitative ion 1 (m/z) (abundance ratio*/%)	Qualitative ion 2 (m/z) (abundance ratio/%)	Qualitative ion 3 (m/z) (abundance ratio/%)
27	2,3-dimethylhexane(2,3-二甲基己烷)	14.53	43	70(54)	55(22)	71(38)
28	2-methylheptane(2-甲基庚烷)	14.63	43	57(82)	70(17)	99(5)
29	3-methylheptane(3-甲基庚烷)	15.01	43	57(67)	85(39)	84(26)
30	toluene(甲苯)	15.90	91	92(58)	65(15)	39(19)
31	<i>n</i> -octane(正辛烷)	16.10	43	57(32)	85(28)	71(19)
32	butyl acetate(乙酸丁酯)	17.81	43	56(37)	61(12)	73(12)
33	<i>m</i> -xylene(间二甲苯)	19.85	91	106(27)	77(10)	105(4)
34	ethylbenzene(乙苯)	19.87	91	106(27)	77(10)	65(12)
35	<i>n</i> -nonane(正壬烷)	20.17	43	57(64)	71(15)	85(34)
36	<i>o</i> -xylene(邻二甲苯)	20.20	91	106(42)	105(19)	77(15)
37	<i>p</i> -xylene(对二甲苯)	21.19	91	106(42)	105(19)	77(32)
38	styrene(苯乙烯)	21.29	104	78(66)	51(64)	103(55)
39	cumene(异丙苯)	22.24	105	120(23)	77(21)	51(17)
40	propylbenzene(正丙苯)	23.32	91	120(18)	65(15)	78(7)
41	<i>n</i> -decane(正癸烷)	23.80	43	57(90)	71(28)	85(18)
42	1,3,5-trimethylbenzene(1,3,5-三甲苯)	23.81	105	120(43)	119(11)	77(16)
43	2-ethyltoluene(2-乙基甲苯)	24.35	105	120(27)	77(16)	91(14)
44	1,2,4-trimethylbenzene(1,2,4-三甲苯)	24.78	105	120(40)	119(11)	77(16)
45	1,2,3-trimethylbenzene(1,2,3-三甲苯)	25.95	105	120(37)	119(8)	77(16)
46	1,3-diethylbenzene(1,3-二乙基苯)	26.47	105	119(80)	134(38)	91(2)
47	indane(茚满)	26.49	117	118(56)	115(34)	91(20)
48	1,4-diethylbenzene(1,4-二乙基苯)	26.67	105	119(80)	134(38)	91(50)
49	<i>n</i> -undecane(正十一烷)	26.97	43	57(92)	71(38)	85(20)
50	1,2-diethylbenzene(邻二乙基苯)	26.99	105	119(80)	134(43)	91(37)
51	indene(茚)	27.05	115	116(96)	89(16)	117(9)
52	1,2,4,5-tetramethylbenzene(1,2,4,5-四甲苯)	28.74	119	134(42)	91(20)	120(10)
53	1,2,3,5-tetramethylbenzene(1,2,3,5-四甲苯)	28.87	119	134(40)	91(20)	120(10)
54	<i>n</i> -dodecane(正十二烷)	29.83	43	57(96)	71(45)	85(23)
55	1,2,3,4-tetramethylbenzene(1,2,3,4-四甲苯)	29.97	119	134(38)	91(20)	120(10)
56	<i>n</i> -tridecane(正十三烷)	32.53	43	57(98)	71(49)	85(27)
57	<i>n</i> -tetradecane(正十四烷)	35.67	43	57(101)	71(54)	85(29)

* The abundance ratio of quantitative ion and qualitative ions.

表 2 57 种挥发性有机溶剂的选择离子监测模式的质谱参数
Table 2 Mass spectrometric parameters of selected ion monitoring mode for 57 volatile organic solvents

Channel	Time/min	Selected ion (m/z)	Dwell time/ms
1	5.00	29, 30, 31	150
2	5.50	31, 43, 45, 46, 56, 57, 72	60
3	6.50	39, 41, 42, 43, 45, 57, 58, 59, 71	50
4	8.00	31, 41, 42, 43, 56, 57, 59, 60, 71, 73, 86	40
5	9.00	41, 42, 43, 56, 57, 61, 69, 70, 72, 84, 85, 88	40
6	10.00	41, 42, 43, 56, 57, 69, 70, 71, 74, 84, 85, 100	40
7	11.10	31, 41, 43, 50, 51, 56, 57, 71, 77, 78, 99, 100	40
8	12.50	41, 42, 43, 55, 61, 73, 83, 98	60
9	14.00	43, 55, 57, 70, 71, 84, 85, 99	60
10	15.50	39, 43, 56, 57, 61, 65, 71, 73, 85, 91, 92	40
11	19.00	41, 51, 57, 65, 71, 77, 78, 85, 91, 103, 104, 105, 106	30
12	22.00	51, 77, 105, 120	120
13	23.00	43, 57, 65, 71, 77, 78, 85, 91, 105, 119, 120	40
14	26.10	91, 105, 115, 117, 118, 119, 134	70
15	26.60	43, 57, 71, 85, 89, 91, 105, 115, 116, 117, 119, 134	40
16	28.00	43, 57, 71, 85, 91, 119, 120, 134	60

1.4 样品测定

1.4.1 工作曲线绘制

按 1.2.3 节方法配制混合基质标准工作溶液。将配制的 6 个不同浓度的混合基质标准工作溶液放入顶空仪中,同时做一空白试验。按仪器工作条件进行测定,以各有机溶剂的质量为横坐标,对应的峰面积为纵坐标,绘制工作曲线。

1.4.2 样品测定

称取 5 g 蜂蜜试样(精确到 0.01 g)置于 20 mL 顶空瓶中,加入 5 mL 重蒸馏水,密封瓶口,在液体混匀器上混匀 1 min。放入顶空仪进样盘中,按自动顶空条件进行操作,注入气相色谱-质谱仪中进行测定。根据工作曲线求出各有机溶剂的含量。

2 结果与讨论

2.1 测定品种及稀释溶剂的选择

蜂蜜因蜂种、蜜源、环境的不同,其化学组成有很大差异。其主要成分是果糖和葡萄糖,两者含量合计约占 65%~80%;水分约占 16%~25%;尚含有少量的蔗糖、麦芽糖、糊精、树胶以及含氮化合物、有机酸、挥发油、色素、蜡、天然香料、植物残片(特别是花粉粒)、酵母、酶类化合物、无机盐等,含量在 5% 左右。而蜂蜜中微量的挥发性有机溶剂的主要来源是环境污染、包装材料污染以及蜂蜜在酿造和储存过程中自然产生。这些有机溶剂主要包括烷烃类、芳香烃类、醇类、酮类、酯类、醚类化合物。本文通过

查阅有关文献^[2-5]和根据最近国内外客户对蜂蜜品质的要求,以及对大量蜂蜜样品进行顶空气相色谱-质谱分析确定的品种等,最终确定了 57 种不同性质的有机溶剂。

对于挥发性有机溶剂的稀释溶剂的选择,文献报道主要有甲醇^[6,8,9]、丙酮^[7]、正己烷、环己酮、酰胺、甘油三乙酸酯^[2,3]和 DMA^[5]。由于甲醇、丙酮、正己烷等溶剂为本文研究的品种,而 DMA 能与水、醇、醚、酯、烷烃和芳香类化合物等有机溶剂任意混合,并且测定过程中出峰时间及碎片离子对其他待测物基本无干扰,故本文最终选择 DMA 作为 57 种有机溶剂的稀释剂。

2.2 色谱柱及色谱-质谱条件的选择

本文涉及的 57 种有机溶剂品种多,同分异构体多,较难分离。本文选择了常用于残留溶剂及挥发性污染物分离的 DB-624 毛细管色谱柱(60 m × 0.25 mm × 1.40 μm)作为分离柱。DB-624 属中等极性柱,由 6% 氰丙基-苯基和 94% 的二甲基聚硅氧烷组成,它对非极性和极性化合物的分离都有很好的效果。在优化的色谱条件下 57 种有机溶剂的总离子流图见图 1。其中 2,2-二甲基丁烷与丙酮、叔丁基甲基醚与 3-甲基戊烷、2,3-二甲基戊烷与环己烷、异丁醇与 3-甲基己烷等虽然色谱峰未完全分离,但依据它们之间不同碎片离子可分别进行定性和定量。只有间二甲苯与乙苯的保留时间相同,碎片离子相同,本文按两种化合物的结果相加计算。

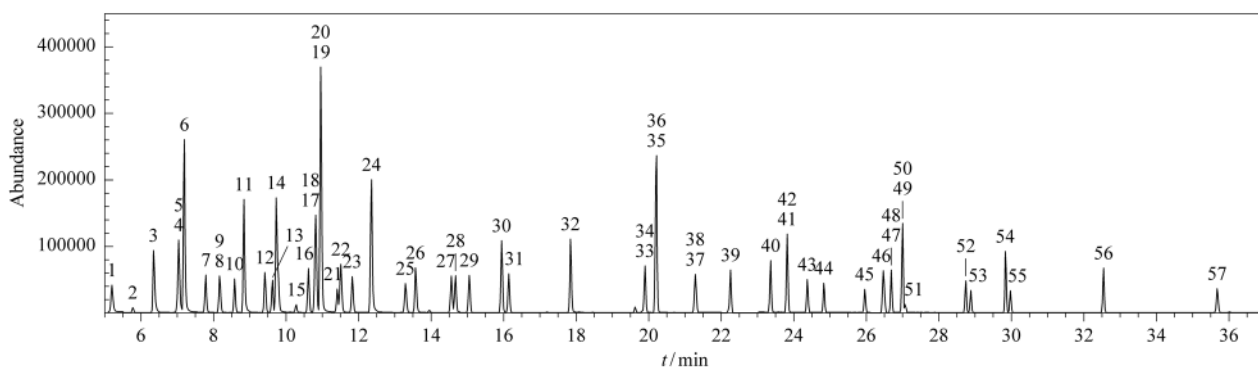


图 1 57 种挥发性有机溶剂的总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatogram of 57 volatile organic solvents

For peak identifications, see Table 1.

采用气相色谱-质谱仪在 m/z 30~200 范围内对蜂蜜样品中挥发性有机溶剂进行测定时发现,干扰离子主要是 m/z 32、40、44。如果采用选择离子监测模式排除这些离子,可明显降低噪声,提高信噪比。每种化合物选择 1 个定量离子,3 个定性离子(甲醇选择 2 个定性离子)。可依据保留时间、定量

离子及定性离子之间的丰度比来定性。

2.3 基质效应降低的方法

蜂蜜的主要成分为果糖和葡萄糖,且大多数蜂蜜都比较黏稠,因此需要用水溶解后再进行顶空测定。但过度稀释样品会降低方法的检出限^[6]。通过试验发现,将质量比为 1:1 的水和蜂蜜混合,即保证

了样品的测定,又保证了方法的检出限。本文采用在顶空瓶中称取 5 g 蜂蜜样品,用 5 mL 水溶解,密闭后充分溶解,然后再进行顶空测定。

顶空气体中各组分的含量与挥发性有关,又与各组分在样品基质中的溶解度大小有关。如果直接用水代替蜂蜜样品建立工作曲线,测定结果和回收率结果与实际结果和真实回收率有明显的差异。由于蜂蜜样品中几乎都含有不同浓度的乙醇、乙酸乙酯、正辛烷等有机溶剂,很难找到不含这几种有机溶剂的空白蜂蜜样品。参考文献^[6]及进行盐水、葡萄糖水、大米糖浆及玉米糖浆等试验发现,用无水葡萄糖代替蜂蜜样品以减少基质效应的效果最好(无水葡萄糖中含有一定量的乙酸乙酯,实验中需扣除)。通过对不同含量的葡萄糖水溶液进行试验发现,随着糖分含量的增加,醇类、酮类、酯类化合物的响应值逐渐增高,而烷烃类、醚类、芳香烃类化合物的响应值变化较小。当水溶液中葡萄糖含量达到与蜂蜜样品溶解后的糖分含量相近时,基质效应降低明显。本文采用称取 4 g 葡萄糖,用 6 mL 水溶解,这样建立的工作曲线基本可以消除基质效应。但对于相对分子质量较大的烷烃,如正十一烷、正十二烷、正十三烷、正十四烷,在葡萄糖水溶液中的响应值较蜂蜜中明显高,需要用不含这 4 种烷烃的空白蜂蜜样品建立工作曲线以降低基质效应。

2.4 顶空条件的选择

顶空分析法中,气相中各组分的相平衡受温度影响非常明显。实验采用本文确定的葡萄糖水溶液作为基质,分别加入 100 μL 混合标准工作溶液,在平衡时间确定为 30 min 条件下,在分别加热顶空瓶温度至 60、70、80、90 $^{\circ}\text{C}$ 下测定 57 种化合物的响应值。结果表明:醚类化合物随着温度的升高,响应值基本无变化;烷烃和芳香烃类化合物的响应逐渐降低,醇类、酯类、酮类化合物的响应逐渐升高。为了表述方便,各类化合物只选择一种有代表性的化合物进行图示,结果见图 2。综合考虑基质、耐压以及气密性等原因,加热平衡温度最终确定为 80 $^{\circ}\text{C}$ 。

气相中各组分的相平衡除了受温度的影响外,与各组分从样品基质扩散到气相的速率,即平衡时间也有一定的关系。在加热温度确定在 80 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,分别将平衡时间设定为 10、20、30、40、50 min 测定 57 种化合物的响应值。结果表明:随着平衡时间的增加,各类化合物的峰面积趋于稳定;当平衡时间达到 30 min 后,各类化合物的峰面积变化较小,表明气液两相之间基本达到平衡(见图 3)。故最终确定平衡时间为 30 min。

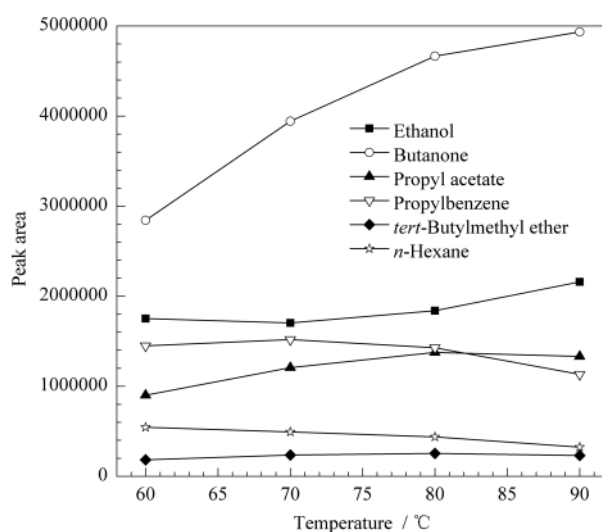


图 2 平衡温度对 6 种代表性有机溶剂峰面积的影响

Fig. 2 Effect of equilibrium temperature on peak areas of 6 representative organic solvents

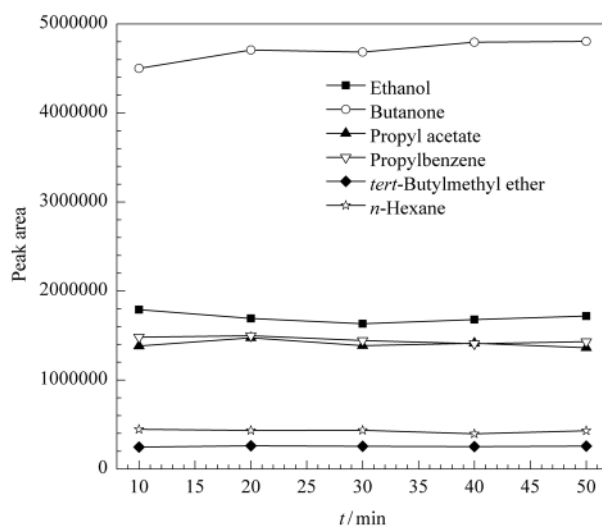


图 3 顶空平衡时间对 6 种代表性有机溶剂峰面积的影响

Fig. 3 Effect of equilibrium time on peak areas of 6 representative organic solvents

2.5 线性关系和检出限

由于各类有机溶剂在仪器上的响应值不同,在配制混合标准溶液时,将各类有机溶剂按不同浓度进行配制,使各个待测物响应值(峰高或峰面积)基本一致,这样在条件试验、建立线性关系和进行添加回收率试验等工作中容易获得满意的结果。按 1.2.2 节方法配制混合标准溶液。为了减少基质效应,按 1.4.1 节所述方法绘制工作曲线,在线性范围内,57 种挥发性有机溶剂的质量($X, \mu\text{g}$)与峰面积(Y)有良好的线性关系,线性相关系数均大于 0.996。检出限(LOD)采用在葡萄糖水溶液基质中进行添加试验确定,以信噪比(S/N)大于 5 的含量确定为方法的检出限,结果见表 3。

表 3 57 种挥发性有机溶剂的线性范围、相关系数、线性方程和检出限
 Table 3 Linear ranges, correlation coefficients, regression equations, limits of detection (LOD) for 57 volatile organic solvents

Compound	Linear range/ μg	Correlation coefficient	Regression equation	LOD/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$
Methanol	2.5-100	0.9997	$Y=2.890 \times 10^4 X+4.427 \times 10^4$	500
iso-Pentane	0.005-0.2	0.9996	$Y=1.044 \times 10^6 X+5.433 \times 10^2$	1.0
Ethanol	2.5-100	0.9996	$Y=5.474 \times 10^4 X+4.408 \times 10^4$	500
2,2-Dimethylbutane	0.005-0.2	0.9999	$Y=3.565 \times 10^7 X+4.462 \times 10^4$	1.0
Acetone	0.5-20	0.9999	$Y=3.566 \times 10^5 X+4.648 \times 10^4$	100
Isopropanol	2.5-100	1.0000	$Y=1.836 \times 10^5 X+2.308 \times 10^4$	500
2-Methylpentane	0.005-0.2	0.9992	$Y=5.737 \times 10^6 X-1.004 \times 10^4$	1.0
tert-Butylmethyl ether	0.005-0.2	0.9999	$Y=3.033 \times 10^6 X+9.290 \times 10^3$	1.0
3-Methylpentane	0.005-0.2	0.9993	$Y=4.617 \times 10^6 X-6.977 \times 10^3$	1.0
n-Hexane	0.005-0.2	0.9991	$Y=3.380 \times 10^6 X-8.745 \times 10^3$	1.0
Propanol	2.5-100	0.9998	$Y=1.109 \times 10^5 X-6.951 \times 10^4$	500
2,4-Dimethylpentane	0.005-0.2	0.9988	$Y=4.976 \times 10^6 X-1.045 \times 10^4$	1.0
Methylcyclopentane	0.005-0.2	0.9988	$Y=5.311 \times 10^6 X-1.371 \times 10^4$	1.0
Butanone	0.5-20	0.9986	$Y=6.315 \times 10^5 X-1.815 \times 10^5$	100
Ethyl acetate	0.05-2.0	0.9987	$Y=1.933 \times 10^6 X-9.804 \times 10^4$	10
2-Methylhexane	0.005-0.2	0.9982	$Y=6.107 \times 10^6 X-2.067 \times 10^4$	1.0
2,3-Dimethylpentane	0.005-0.2	0.9985	$Y=1.475 \times 10^7 X-4.574 \times 10^4$	1.0
Cyclohexane	0.005-0.2	0.9986	$Y=1.368 \times 10^7 X-5.684 \times 10^4$	1.0
Isobutyl alcohol	2.5-100	0.9999	$Y=1.369 \times 10^5 X-7.124 \times 10^4$	500
3-Methylhexane	0.005-0.2	0.9999	$Y=6.856 \times 10^7 X-7.404 \times 10^4$	1.0
Benzene	0.005-0.2	0.9998	$Y=7.067 \times 10^6 X+4.854 \times 10^3$	1.0
2,2,4-Trimethylpentane	0.005-0.2	0.9985	$Y=1.263 \times 10^7 X-4.018 \times 10^4$	1.0
n-Heptane	0.005-0.2	0.9979	$Y=5.132 \times 10^6 X-2.050 \times 10^4$	1.0
Normal butanol	2.5-100	0.9994	$Y=5.237 \times 10^4 X-9.365 \times 10^4$	500
Methylcyclohexane	0.005-0.2	0.9983	$Y=4.212 \times 10^6 X-1.440 \times 10^4$	1.0
Propyl acetate	0.05-2.0	0.9998	$Y=2.433 \times 10^6 X-3.392 \times 10^4$	10
2,3-Dimethylhexane	0.005-0.2	0.9970	$Y=6.712 \times 10^6 X-3.245 \times 10^4$	1.0
2-Methylheptane	0.005-0.2	0.9963	$Y=6.674 \times 10^6 X-3.992 \times 10^4$	1.0
3-Methylheptane	0.005-0.2	0.9969	$Y=5.967 \times 10^6 X-3.035 \times 10^4$	1.0
Toluene	0.005-0.2	0.9997	$Y=1.723 \times 10^7 X-2.086 \times 10^4$	1.0
n-Octane	0.005-0.2	0.9986	$Y=6.769 \times 10^6 X-2.690 \times 10^4$	1.0
Butyl acetate	0.05-2.0	0.9993	$Y=3.060 \times 10^6 X-1.093 \times 10^5$	10
m-Xylene	0.005-0.2	0.9985	$Y=1.078 \times 10^7 X-3.578 \times 10^4$	1.0
Ethylbenzene	0.005-0.2	0.9985	$Y=1.078 \times 10^7 X-3.578 \times 10^4$	1.0
n-Nonane	0.005-0.2	0.9986	$Y=7.138 \times 10^6 X-3.490 \times 10^4$	1.0
o-Xylene	0.005-0.2	0.9994	$Y=2.476 \times 10^7 X-7.809 \times 10^4$	1.0
p-Xylene	0.005-0.2	0.9993	$Y=6.189 \times 10^6 X-1.393 \times 10^4$	1.0
Styrene	0.005-0.2	0.9993	$Y=3.032 \times 10^6 X-8.210 \times 10^3$	1.0
Cumene	0.005-0.2	0.9999	$Y=1.086 \times 10^7 X-2.947 \times 10^3$	1.0
Propylbenzene	0.005-0.2	0.9993	$Y=1.306 \times 10^7 X-3.747 \times 10^4$	1.0
n-Decane	0.005-0.2	0.9986	$Y=6.816 \times 10^6 X-3.324 \times 10^4$	1.0
1,3,5-Trimethylbenzene	0.005-0.2	0.9993	$Y=6.622 \times 10^6 X-2.264 \times 10^4$	1.0
2-Ethyltoluene	0.005-0.2	0.9995	$Y=7.367 \times 10^6 X-1.834 \times 10^4$	1.0
1,2,4-Trimethylbenzene	0.005-0.2	0.9990	$Y=5.920 \times 10^6 X-1.942 \times 10^4$	1.0
1,2,3-Trimethylbenzene	0.005-0.2	0.9993	$Y=4.877 \times 10^6 X-1.207 \times 10^4$	1.0
1,3-Diethylbenzene	0.005-0.2	0.9972	$Y=5.048 \times 10^6 X-2.732 \times 10^4$	1.0
Indane	0.005-0.2	0.9997	$Y=4.416 \times 10^6 X-7.295 \times 10^3$	1.0
1,4-Diethylbenzene	0.005-0.2	0.9979	$Y=4.368 \times 10^6 X-2.332 \times 10^4$	1.0
n-Undecane	0.005-0.2	0.9976	$Y=6.512 \times 10^6 X-3.513 \times 10^4$	1.0
1,2-Diethylbenzene	0.005-0.2	0.9991	$Y=4.724 \times 10^6 X-1.947 \times 10^4$	1.0
Indene	0.005-0.2	0.9994	$Y=1.525 \times 10^6 X+1.617 \times 10^3$	1.0
1,2,4,5-Tetramethylbenzene	0.005-0.2	0.9975	$Y=6.632 \times 10^6 X-3.177 \times 10^4$	1.0
1,2,3,5-Tetramethylbenzene	0.005-0.2	0.9980	$Y=4.713 \times 10^6 X-1.756 \times 10^4$	1.0
n-Dodecane	0.005-0.2	0.9980	$Y=5.512 \times 10^6 X-3.315 \times 10^4$	1.0
1,2,3,4-Tetramethylbenzene	0.005-0.2	0.9996	$Y=4.726 \times 10^6 X-1.324 \times 10^4$	1.0
n-Tridecane	0.005-0.2	0.9982	$Y=3.888 \times 10^6 X-1.537 \times 10^4$	1.0
n-Tetradecane	0.005-0.2	0.9980	$Y=2.506 \times 10^6 X+5.838 \times 10^3$	1.0

Y: peak area; X: content, μg .

2.6 精密度和回收率

选择纯正的蜂蜜样品进行添加回收率和精密度试验。首先采用本方法对蜂蜜样品进行测定,得到蜂蜜中已含有的挥发性有机溶剂的定量结果。然后在样品中添加不同量的混合标准溶液,加水并充分混合,按本方法进行 HS-GC/MS 测定。测定结果扣除样品空白值。方法的回收率和精密度见表 4。从表 4 中数据可以看出,对于烷烃类、芳香烃类和醚类化合物在 1.0~20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、酯类化合物在 10~200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、酮类化合物在 100~2 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、醇类化合物在 500~10 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的加标范围内,平均回收率在 61.0%~113.1% 之间,相对标准偏差在 1.90%~9.80% 之间,均在国家标准要求范围^[13]内。由于顶空方法测定的是挥发性有机溶剂,对仪器和

色谱柱的污染较小,所以方法的重复性很好。

2.7 蜂蜜样品测定

利用本方法对 20 个不同蜜种的蜂蜜样品进行了测定,蜂蜜样品中都检出不同含量的乙醇(含量为 18~1 300 mg/kg)、丙酮(含量为 0.2~2.5 mg/kg)、乙酸乙酯(含量为 0.02~0.9 mg/kg)、正辛烷(含量为 0.005~0.044 mg/kg)、正壬烷(含量为 0.001~0.002 mg/kg)。在大多数样品中检出甲醇(含量为 0.5~1.7 mg/kg)、正庚烷(含量为 0.001~0.002 mg/kg)。另外,在其中的 1 个样品中检出苯乙烯(含量为 8.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$); 1 个样品中检出甲苯(含量为 1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$); 1 个样品中检出 1,2,3,5-四甲苯(含量为 2.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$)及 1,2,3,4-四甲苯(含量为 1.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$)。

表 4 蜂蜜样品中 57 种有机溶剂的加标回收率和精密度 ($n=6$)
Table 4 Recoveries and precisions (RSDs) of 57 organic solvents spiked in a honey sample ($n=6$)

Compound	Spiked/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Recovery/ %	RSD/ %	Compound	Spiked/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Recovery/ %	RSD/ %
Methanol	500	70.6	7.85	Toluene	1	71.2	5.52
	1000	69.6	7.88		2	92.6	2.79
	10000	87.7	2.21		20	86.7	2.93
iso-Pentane	1	61.0	4.64	<i>n</i> -Octane	1	74.7	5.89
	2	68.8	8.61		2	74.1	5.22
	20	76.8	5.41		20	85.7	7.39
Ethanol	500	65.5	1.9	Butyl acetate	10	75.6	6.61
	1000	71.7	4.48		20	88.3	3.47
	10000	86.3	2.58		200	83.3	3.3
2,2-Dimethylbutane	1	61.6	8.3	<i>m</i> -Xylene	1	76.0	6.13
	2	64.8	6.22		2	95.2	3.12
	20	85.2	2.82		20	84.7	3.58
Acetone	100	62.0	8.24	Ethylbenzene	1	76.0	6.13
	200	64.9	6.12		2	95.2	3.12
	2000	85.3	2.82		20	84.7	3.58
Isopropanol	500	80.5	5.25	<i>n</i> -Nonane	1	63.5	6.48
	1000	82.5	3.47		2	63.7	6.9
	10000	86.2	2.81		20	69.9	3.83
2-Methylpentane	1	73.5	2.74	<i>o</i> -Xylene	1	75.8	6.46
	2	71.8	5.91		2	95.2	3.08
	20	81.5	4.9		20	85.0	3.11
<i>tert</i> -Butylmethyl ether	1	79.7	4.63	<i>p</i> -Xylene	1	74.0	6.59
	2	91.5	3.09		2	91.9	3.17
	20	88.0	3.46		20	82.4	3.42
3-Methylpentane	1	71.5	3.71	Styrene	1	72.4	6.85
	2	66.1	5.72		2	88.4	2.67
	20	82.4	4.51		20	79.4	3.37
<i>n</i> -Hexane	1	113.1	2.52	Cumene	1	81.6	6.05
	2	56.9	7.11		2	100.0	3.42
	20	72.5	6.4		20	87.7	2.39
Propanol	500	66.2	6.6	Propylbenzene	1	77.6	8.14
	1000	79.7	3.6		2	94.2	3.10
	10000	83.5	2.9		20	83.8	3.18

表 4 (续)
Table 4 (Continued)

Compound	Spiked/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Recovery/ %	RSD/ %	Compound	Spiked/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Recovery/ %	RSD/ %
2,4-Dimethylpentane	1	64.9	6.31	<i>n</i> -Decane	1	76.4	4.65
	2	69.0	7.00		2	73.0	2.96
	20	75.8	2.08		20	73.7	4.03
Methylcyclopentane	1	75.1	4.50	1,3,5-Trimethylbenzene	1	76.2	8.47
	2	68.1	4.82		2	89.7	3.25
	20	84.5	4.11		20	79.4	3.71
Butanone	100	72.0	5.83	2-Ethyltoluene	1	74.9	8.46
	200	70.7	7.40		2	89.8	3.05
	2000	81.9	3.11		20	81.3	3.52
Ethyl acetate	10	71.9	5.78	1,2,4-Trimethylbenzene	1	89.9	7.32
	20	68.3	5.97		2	79.8	3.60
	200	75.5	3.73		20	81.2	3.90
2-Methylhexane	1	73.0	2.95	1,2,3-Trimethylbenzene	1	71.7	8.01
	2	89.8	5.62		2	84.5	2.88
	20	83.1	5.24		20	77.2	4.12
2,3-Dimethylpentane	1	75.1	3.84	1,3-Diethylbenzene	1	69.3	7.36
	2	94.7	3.49		2	83.4	3.18
	20	86.8	3.92		20	76.9	3.17
Cyclohexane	1	70.2	5.06	Indane	1	72.6	8.21
	2	76.2	3.26		2	87.9	2.80
	20	86.8	3.92		20	77.6	4.29
Isobutyl alcohol	500	65.7	6.51	1,4-Diethylbenzene	1	71.6	7.95
	1000	80.0	3.73		2	86.9	3.14
	10000	82.2	2.70		20	77.6	3.95
3-Methylhexane	1	66.0	6.50	<i>n</i> -Undecane	1	71.5	5.08
	2	80.4	3.99		2	86.1	4.46
	20	82.2	2.67		20	71.7	6.17
Benzene	1	70.2	7.29	1,2-Diethylbenzene	1	68.9	7.98
	2	93.9	3.24		2	84.1	3.27
	20	87.8	2.89		20	74.0	3.83
2,2,4-Trimethylpentane	1	61.1	5.35	Indene	1	61.1	8.03
	2	76.3	7.71		2	71.8	2.57
	20	82.0	5.76		20	69.5	3.49
<i>n</i> -Heptane	1	64.3	9.80	1,2,4,5-Tetramethylbenzene	1	74.2	8.19
	2	87.7	9.09		2	88.0	3.02
	20	84.4	5.54		20	76.2	4.50
Normal butanol	500	65.1	6.91	1,2,3,5-Tetramethylbenzene	1	66.2	6.69
	1000	77.2	2.68		2	93.3	4.00
	10000	80.7	3.08		20	73.4	4.18
Methylcyclohexane	1	77.7	4.19	<i>n</i> -Dodecane	1	68.9	5.39
	2	98.4	3.03		2	70.9	6.73
	20	86.4	3.74		20	73.1	4.11
Propyl acetate	10	76.8	5.96	1,2,3,4-Tetramethylbenzene	1	63.4	8.08
	20	89.4	3.22		2	74.7	2.79
	200	85.6	3.07		20	64.9	3.21
2,3-Dimethylhexane	1	70.9	4.56	<i>n</i> -Tridecane	1	62.9	5.95
	2	85.1	8.41		2	74.8	3.77
	20	78.6	6.58		20	69.4	4.52
2-Methylheptane	1	69.4	4.24	<i>n</i> -Tetradecane	1	65.9	3.76
	2	80.7	8.89		2	71.4	6.09
	20	75.5	7.41		20	68.4	3.18
3-Methylheptane	1	68.3	5.17				
	2	81.7	7.87				
	20	76.5	7.23				

3 结论

综上所述,本文建立的顶空气相色谱-质谱同时测定蜂蜜中 57 种挥发性有机溶剂的分析方法,样品前处理简单快速,线性范围宽,精密度好,准确度高,适用于蜂蜜中挥发性有机溶剂的快速测定。需要特别注意的是,本方法由于灵敏度高,操作环境一定要无污染,使用的重蒸馏水和试剂都要进行空白实验,以免影响测定结果的准确性。本方法稍加变化,也可应用于大气、水、饮料等多种基质的挥发性有机溶剂的测定。

参考文献:

- [1] GB 9685-2008
- [2] EN 13628-1-2002
- [3] EN 13628-2-2002
- [4] Chen Z L, Wang J, Chen X Z, et al. Physical Testing and Chemical Analysis Part B: Chemical Analysis (陈自力, 王瑾, 陈小珍, 等. 理化检验: 化学分册), 2010, 46(8): 911
- [5] Xu C X, Yang Y, Gao J W, et al. Food Science (徐春祥, 杨洋, 高俊伟, 等. 食品科学), 2008, 29(9): 496
- [6] Xu Y H, Zhu B H, Zhong X H, et al. Chinese Journal of Chromatography (许瑛华, 朱炳辉, 钟秀华, 等. 色谱), 2010, 28(1): 73
- [7] Lü Q, Zhang Q, Kang S Y, et al. Chinese Journal of Chromatography (吕庆, 张庆, 康苏媛, 等. 色谱), 2010, 28(8): 800
- [8] Zhang W Y, Li Y, Liu L, et al. Chinese Journal of Analytical Chemistry (张伟亚, 李英, 刘丽, 等. 分析化学), 2003, 31(2): 212
- [9] Laboratory Procedure for the Determination of Benzene in Beverages. [2012-03-10]. http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/res-rech/analy-meth/chem/lps_001-eng.php
- [10] Jia J, Liu Y. Chinese Journal of Analysis Laboratory (贾静, 刘艳. 分析实验室), 2011, 30(10): 92
- [11] Zhang N, Xiao Z B, Yu H Y, et al. Food Science (张妮, 肖作兵, 于海燕, 等. 食品科学), 2011, 32(10): 97
- [12] GB 5749-2006
- [13] GB/T 27404-2008