

分析与测试

化学试剂 2011 33(8) 723 ~ 726

SBSE-TDS-GC-MS 测定烟草表香挥发性与半挥发性成分

刘汗青^{1,2}, 金诚¹, 杨新周¹, 曾程¹, 杨叶昆², 戴云^{*1}

(1. 云南民族大学 化学与生物技术学院, 云南 昆明 650500;

2. 云南烟草科学研究院 香精香料室, 云南 昆明 650106)

摘要: 以固态萃取搅拌棒为样品前处理技术, 采用气相色谱/质谱联用法分析了烟草表香挥发性与半挥发性成分。对影响萃取效果的实验条件进行了考察, 并采用正交实验法对影响热解吸的 3 个主要实验参数(热解吸温度、解吸时间和进样口冷聚焦温度)进行考察, 得到优化的实验条件。结果表明, 同一样品经 6 次测定, 所得 27 个组分峰面积的相对标准偏差(RSD)平均值小于 10%, 实验证明该方法具有较高的准确度和较好的重现性, 可用于烟草表香的快速分析测定, 也可成为烟用香精香料质量控制的有效手段。

关键词: 烟草表香; 固态萃取搅拌棒; 热解吸; 气相色谱-质谱

中图分类号: TQ651 文献标识码: A 文章编号: 0258-3283(2011)08-0723-04

卷烟配方一直被视为卷烟工业的核心技术, 而香精香料的使用是其中重要环节之一。烟用香精香料多取材于天然香料植物, 受原料产地、生产工艺等诸多因素影响, 其质量具有一定的波动性, 因此香精香料的质量控制对卷烟的生产至关重要。以往香精香料的分析方法中, 进行气相色谱分析前需要用有机溶剂进行前处理^[1], 且操作时间较长、操作烦琐、重现性不好, 不能满足快速、准确的分析要求。

固态萃取搅拌棒(SBSE)是近几年新发展起来的技术之一。1999 年加拿大学者 Arthur 和 Janusz Pawliszyn 等学者在研究固相微萃取(SPME)技术时发现, 虽然样品中被测定物质的浓度很高, 但是 SPME 测定的回收率仍然很低, 测定的灵敏度仍然不够高^[2]。通过研究发现, 将聚二甲基硅氧烷(PDMS)涂敷在萃取棒上(膜厚 0.5 ~ 1.0 mm), 萃取棒固相萃取体积是 SPME 的 50 倍以上^[3], 具有比 SPME 更小的相比(水相体积/PDMS 相体积), 获得了很高的测定灵敏度和回收率。之后, Gerstel GmbH 公司实现了商品化的磁力搅动吸附萃取棒。从此, SBSE 应用于各种水体样品中痕量有机物的分离和浓缩。它不同于传统的液液萃取、固液萃取等。SBSE 不需要有机溶剂, 是一种环境友好、简便的萃取技术, 特别是在许多易乳化、不均匀的样品中表现出突出的优势。SBSE 的解吸有两种方式: 热解吸与溶剂解吸。根据实

际分析物理性质, 选择不同的解吸方法。如果萃取的是热不稳定、不挥发物质, 采用溶剂解析, 再用 HPLC 分析^[4]。

目前, SBSE 已广泛应用到食品^[5,6]、环境^[7,8]等领域, 成为了一种简便、灵敏的分析技术, 而对烟草表香的分析测定还未见文献报道, 因此本文采用 SBSE 萃取某烟草表香的挥发性与半挥发性成分, 然后将萃取物放入热解吸-冷进样系统(TD-CIS)实现解吸并导入气相色谱/质谱仪进行检测。同时还对影响 SBSE 和 TDS(Thermal desorption system)的实验条件进行了优化, 考察了实验方法的重现性。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

Gerstel Twister 搅拌棒(长 20 mm, 厚 0.5 mm)、Gerstel TDU-3 热解吸装置、Gerstel 玻璃热脱附管(4 mm i. d. × 178 mm)、Gerstel CIS 冷进样系统(德国 Gerstel 公司); 6890N 气相色谱仪、5973N 质谱检测器(美国 Agilent 公司); 5MS 毛细管柱(0.25 mm i. d. × 30 mm × 0.25 μm, 美国 HP 公司); 78-1 型恒温加热磁力搅拌器(杭州仪

收稿日期: 2010-09-19

作者简介: 刘汗青(1979-)男, 云南玉溪人, 硕士, 主要从事烟用香精香料分析研究。

通讯作者: 戴云, E-mail: wuyi4689@163.com。

表厂)。

自制蒸馏水;烟草表香样品(固体,红塔集团玉溪卷烟厂)。

1.2 仪器条件

SBSE 萃取条件:萃取温度为 40 ℃,萃取时间为 1 h,搅拌速度为 1 000 r/min。

热解吸条件:从 20 ℃以 50 ℃/min 的速率升至 250 ℃,保持 4 min,不分流进样,传输线温度 350 ℃。

冷进样系统条件:采用溶剂排空模式进样,分流比 30:1,冷聚焦温度为 -30 ℃,以 12 ℃/s 的速率升至 280 ℃,保持 5 min。

气相色谱-质谱条件:色谱柱温 45 ℃保持 2 min,以 8 ℃/min 升至 150 ℃,再以 4 ℃/min 升至 250 ℃,保持 5 min;载气为氦气,流速 1.2 mL/min;GC-MS 传输线温度为 280 ℃;电子轰击离子源(EI),离子源温度为 230 ℃,电子能量为 70 eV;采用全扫描模式采集数据,质量扫描范围为 45~400 m/z ,采用 NIST98 标准图谱库进行数据检索。

1.3 实验步骤

搅拌棒在使用前夜放入 TDS 热脱附管中老化。称量 0.200 0 g 某固体香料样品于玻璃瓶中,加入 15 mL 蒸馏水,并密封好玻璃瓶。放入活化好的搅拌棒,在 40 ℃下,以 1 000 r/min 转速磁力搅拌 60 min。萃取完成后使用干净的镊子将搅拌棒从样品瓶中取出,用蒸馏水冲洗搅拌棒上的附加物质(如糖、蛋白质及其他脏物)后,放在干燥的棉布上擦干净,再将干净的搅拌棒放入玻璃脱附管中部,以便使其均匀加热,进而达到样品完全解吸。

2 结果与讨论

2.1 SBSE 技术条件优化

2.1.1 萃取时间

SBSE 的萃取是基于分析物在样品基质和涂层间的分配平衡,一旦达到平衡,被分析物在两相间的浓度达到恒定。因此,萃取时间是影响样品中各组分从水溶液转移进入搅拌棒的一个重要因素,达到平衡后再无限地延长萃取时间也没有实际意义。在室温条件下,分别称量相同的样品,将搅拌速度控制在 1 000 r/min,萃取时间选取 25、35、45、60、70、80 min,获得不同的时间条件下色谱峰面积总和,来确定最佳的萃取时间(见图 1)。

从图 1 中可以看出,随着萃取时间的延长,在 25~45 min 内色谱峰峰面积总和迅速增加,60 min 后,峰面积增加减缓,最后趋于平稳。考虑到实验周期,工作效率,将萃取时间定为 60 min。

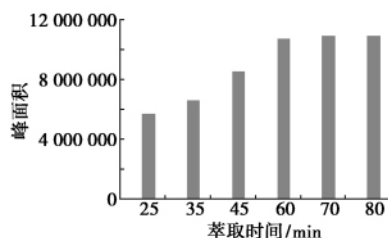


图 1 萃取时间对萃取效率的影响

Fig. 1 Effect of extraction time on extraction efficiency

2.1.2 萃取温度

萃取温度会直接影响涂层萃取量和萃取速度,因此考察了不同温度(30、40、50、55 ℃)对吸附效果的作用。从萃取效率(以峰面积计)随萃取温度的变化曲线(图 2)可以看出,随着温度升高,检出的成分逐渐增多,色谱峰面积逐渐增大,当萃取温度为 40 ℃时,大部分分析物有较高的萃取效率。温度达到 50 ℃后,萃取效率降低,可能与部分低沸点物质挥发有关。

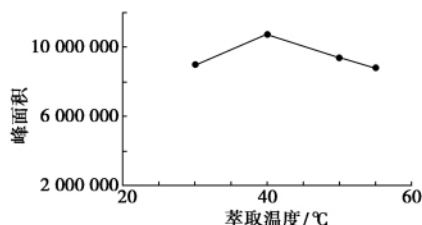


图 2 萃取温度对萃取效率的影响

Fig. 2 Effect of extraction temperature on extraction efficiency

2.1.3 溶液离子强度

SPE 是 SPME 和 SBSE 的理论基础,因此,离子强度对 SBSE 的萃取也会产生影响。实验中分别向样品中加入不同浓度 Na_2SO_4 水溶液(0%、4%、7%、10%),调节样品离子强度,使待测物溶解度降低。通过比较发现,随着盐浓度增加,月桂酸、葵酸、壬酸、棕榈酸等的峰面积增加,但葵酸乙酯、亚麻酸乙酯、亚油酸甲酯、柠檬酸三丁酯等的峰面积降低。加入 Na_2SO_4 水溶液与未加 Na_2SO_4 相比较,并未检测到更多的物质。可见 Na_2SO_4 的加入并不能显著地提高该样品萃取效率,同时随 Na_2SO_4 浓度增加,多数物质萃取效率反而降低。因此,实验中选择不加 Na_2SO_4 。

综合上述优化实验的结果,确定 SBSE 萃取条件为: 40 ℃ 下,不加入 Na₂SO₄,以 1 000 r/min 的转速搅拌吸附 60 min。

2.2 TDS 技术条件的优化

萃取棒上所吸附的样品能否实现完全解吸,关系到实验结果的准确性。在相同的 SBSE 条件下,热解吸温度(A)、解吸时间(B)和进样口冷聚焦温度(C)3 个实验条件是影响被分析物从搅拌棒上转移至气相色谱的主要实验参数。因此,固定 SBSE 条件,应用正交实验法,在 3 个不同水平上对 3 个影响因素进行实验,制定出正交实验表,见表 1。

表 1 正交实验因素-水平表
Tab.1 Factor-level of orthogonal test

水平	A/℃	B/min	C/℃
1	250	3	0
2	280	4	-20
3	300	5	-30

实验结果表明,各因素对实验结果影响的大小依次为:进样口冷聚焦温度、热解吸温度、解吸时间,即冷阱温度对实验结果影响最大。较好的实验水平组合为 A₁B₂C₃,即 SBSE 在 250 ℃ 下脱附 4 min,以 -30 ℃ 的温度冷阱捕集,得到的被测物质的总峰面积最大。

2.3 样品分析

按照上述实验方法,在优化的实验条件下对该烟草表香进行测定,得到样品总离子流色谱图(见图 3),经标准谱库检索色谱峰分析结果见表 2。表 2 中采用峰面积归一化法计算各组分百分含量(各组分峰面积/总峰面积)。定性分析是将未知物的图谱与 NIST Library 相比较,选取匹配度大于 85%(最大值为 100%)的作为鉴定结果。从表中可以看出,样品含有大量的酯类和酸类化合物,同时还含有少量醛类和酮类化合物,这些化合物都是特征香气的物质,能反映该香料的

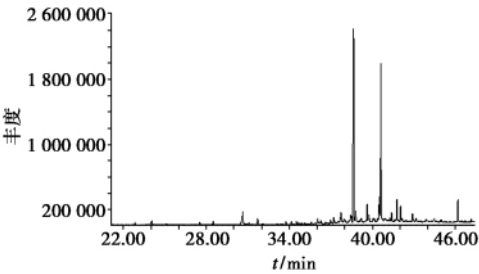


图 3 样品总离子流色谱图

Fig.3 Total ion current chromatogram of a real sample

表 2 样品主要化学成分及其相对含量

Tab.2 The major compounds of real sample and their relative content

序号	t/min	化合物	匹配度/%	相对含量 ω/%
1	24.07	癸酸	97	0.35
2	30.62	月桂酸	99	0.59
3	31.71	薄荷醇	86	0.35
4	34.20	7-羟基-苯并呋喃	87	0.16
5	34.41	乙酸呋喃甲酯	90	0.11
6	34.73	正壬醛	88	0.13
7	36.05	肉豆蔻酸	97	0.09
8	37.20	壬酸	91	0.04
9	37.67	糠醛	96	0.17
10	37.73	糠醇	88	0.21
11	38.42	α-松油醇	89	0.46
12	38.48	邻酞酸	98	0.41
13	38.64	5-羟甲基糠醛	90	22.80
14	38.78	葵酸乙酯	90	20.20
15	39.62	β-丁香烯	86	3.30
16	39.75	茴酮	94	0.31
17	40.23	乙酸异龙脑酯	85	3.10
18	40.50	棕榈酸	99	2.40
19	40.61	羧酸二丁酯	95	0.12
20	41.38	3-苯基-2-丙烯酸乙酯	96	19.34
21	41.76	亚油酸甲酯	87	13.60
22	42.04	2-羟基-4-甲氧基-苯甲酮	91	4.00
23	42.89	十九醇	95	2.90
24	43.10	苯甲酸苄酯	89	0.63
25	43.44	亚麻酸乙酯	96	0.16
26	43.51	1-异丙基-棕榈酸	92	0.07
27	46.17	柠檬酸三丁酯	86	4.50

特点。如糠醛和 5-羟甲基糠醛具有浓的、香甜的焦糖味;葵酸乙酯和亚油酸甲酯具有类似于烟草的香气,起到增强烟草香气的作用。

2.4 实验方法的重现性

分别称量同一样品相同质量 6 份,同一天内在上述确定的优化实验条件下进行测定。实验结果表明,27 个组分的峰面积的相对标准偏差(RSD)最大的是亚油酸甲酯为 12.3%,最小的是葵酸乙酯为 3%。其中有 21 个组分的 RSD < 10%,平均值为 7.5%,说明该实验方法具有良好的重现性。

3 结论

本文运用 SBSE 和 TD 这种快速和新颖的前处理技术^[9],并结合 GC-MS 首次对烟草表香的挥

发性和半挥发性成分进行测定,从样品中鉴定出 27 个不同化学成分,这些物质能反应该样品的香气特征。并对影响搅拌棒与热解吸的实验条件进行了考察与优化,得到的较优实验条件是:搅拌棒萃取条件为 40℃ 下,不加入 Na_2SO_4 ,以 1 000 r/min 的转速搅拌吸附 60 min;热解吸实验条件为从 20℃ 以 50℃/min 的速率升至 250℃,保持 4 min,被测组分通过流速为 50 mL/min 的氦气转移到冷进样系统中进行冷阱聚焦;冷进样系统实验条件为采用溶剂排空模式进样,分流比 30:1,冷聚焦温度为 -30℃,以 12℃/s 的速率升至 280℃,将萃取的目标分析物转移至气相色谱/质谱中进行分离和鉴定。同一样品 6 次测定的不同组分峰面积的 RSD 平均值 <10%,说明建立的实验方法重复性较好。因此,SBSE-TDS-GC-MS 结合色谱定量方法和色谱指纹技术可以应用到香精香料的质量监控中,对同一牌号表香、不同批次样品分析测定来考察样品质量稳定性。

参考文献:

- [1] 蒋次清,杨洪明,王璐,等. 气质联用仪分析烟用香精的几种方法比较[J]. 分析测试学报, 2007, 26(9): 300-304.
- [2] 王立,汪正范. 色谱分析样品处理[M]. 北京: 化学工业出版社, 2008: 148-159.
- [3] 禹春鹤,胡斌,江祖成. 搅拌棒吸附萃取研究进展[J]. 分析化学, 2006, 34(9): 289-294.
- [4] 林福华,段宁宁,黄晓佳,等. 搅拌棒固相萃取与液相色谱联用测定水样品中烷基酚类污染物[J]. 分析化学, 2010, 38(1): 67-71.
- [5] SANDRA P, TIENPONT B, VERCAMMEN J, et al. Stir bar sorptive extraction applied to the determination of dicarboximide fungicides in wine[J]. *J. Chromatogr. A*, 2001, 928(1): 117-126.
- [6] OCHIAI N, SASAMOTO K, DAISHIMA S, et al. Determination of stale-flavor carbonyl compounds in beer by stir bar sorptive extraction with in-situ derivatization and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry[J]. *J. Chromatogr. A*, 2003, 986(1): 101-110.
- [7] KAWAGUCHI M, ITO R, SAKUI N, et al. Dual derivatization-stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry for determination of 17 β -estradiol in water sample[J]. *J. Chromatogr. A*, 2006, 1105(1/2): 140-147.
- [8] ZUIN V G, MONTERO L, BAUER C, et al. Stir bar sorptive extraction and high-performance liquid chromatography-fluorescence detection for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in mate teas[J]. *J. Chromatogr. A*, 2005, 1091(1/2): 2-10.
- [9] 侯英,曹秋娥,谢小光,等. 应用搅拌棒吸附萃取-热脱附-气相色谱-质谱测定烟叶和茶叶中拟除虫菊酯类农药残留[J]. 色谱, 2007, 25(1): 25-29.

Analysis of volatile and semi-volatile ingredients in tobacco spices using SBSE-TDS-GC-MS

LIU Han-qing^{1,2}, JIN Cheng¹, YANG Xin-zhou¹, ZENG Cheng¹, YANG Ye-kun², Dai Yun^{*1} (1. Department of Chemistry and Biotechnology, Yunnan Nationalities University, Kunming 650500, China; 2. Flavor Laboratory, Yunnan Academy of Tobacco Sciences, Kunming 650106, China), Huaxue Shiji 2011, 33(8): 723~726

Abstract: The volatile and semi-volatile ingredients of tobacco spices was analyzed using stir bar sorptive extraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry. The experimental conditions affecting extraction effect was optimized, and three main factors affecting thermal desorption (desorption temperature, desorption time, cold hydrazine temperature) was also investigated by the method of orthogonal test. The average relative standard deviation (RSD) of peak areas of 27 components for 6 determinations was less than 10%. Therefore, this method can satisfy the requirements for the rapid analysis of tobacco spices and be also used to control the quality of tobacco flavor.

Key words: tobacco spices; stir bar sorptive extraction; thermal desorption system; GC-MS

《无机试剂与精细化学品生产答疑》

作者针对无机试剂和精细化学品在制备与提纯过程中,容易发生并难于解决的问题,用“为什么”和“怎么办”的问答方式为读者解答疑难。该书涉及近 200 个无机品种,实用性和可操作性很强。是作者毕生实践得来的经验总结。书中既有许多技术诀窍,又有通俗易懂的理论解说。可供制造、提纯无机产品的人员、工人阅读,对提高技术能力有帮助。

定价: 25 元/本 邮费: 5 元 共 30 元。