

顶空固相微萃取的分段操作

华永兵¹, 宋焕禄²

(1. 广州优宝有限责任公司, 广东 广州 510663
2. 北京工商大学化学与环境工程学院, 北京 100037)

摘 要: 本文研究了在利用顶空固相微萃取对挥发性物质进行吸附检测时, 操作因素对萃取容量的影响。在不同保留时间段, 挥发性物质在萃取纤维上的吸附情况受到操作因素的影响不同。在各个时间段, 萃取温度都是最大的影响因子。基于以上, 提出顶空固相微萃取的分段操作, 针对高挥发度的待分析物质采用较低的萃取温度萃取, 低挥发度的待分析物质采用较高的萃取温度萃取。

关键词: 顶空 - 固相微萃取; 萃取容量; 分段操作;

Study on Multistage Operation of Headspace Solid Phase Micro-extraction of Meat Essence

HUA Yong-bing¹, SONG Huan-lu²

(1. Guangzhou Youbao Industry Co. Ltd., Guangzhou 510663, China
2. College of Chemical Engineering, Beijing Technology and Business University, Beijing 100037, China)

Abstract: The article studied the quantitative and qualitative impact of operation factors on fiber absorption capacity when volatile substance of meat essence was extracted and analysed by applying HS-SPME coupled with GC-MS. The results appeared that in the different Retention Times (RT), the impacts of each operation factor on the absorption of volatile substance in the SPME fiber varied. Among them the extracting temperature was the predominant factor. According to the extracting temperature, the multistage operation of HS-SPME was developed, that is the operation should apply relative high extracting temperature for low volatility substance, and apply relative low extracting temperature for high volatility substance.

Key words: headspace solid phase micro-extraction (HS-SPME); extraction capacity; multistage operation

中图分类号: 06-332

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)11-0197-04

在利用固相微萃取 (SPME) 对美拉德反应产物肉味香精挥发性和半挥发性成分进行富集过程中, 主要考虑两方面: 萃取纤维的选择性和萃取容量。在确定萃取纤维之后, 还需考虑增加萃取容量, 才能使微量成分在气-质联用仪的总离子流图中得到反映, 从而对微量成分定性和定量分析。

利用 SPME 对挥发性成分进行吸附、检测, 除萃取纤维的涂层性质和厚度等对萃取容量有影响之外, 萃取条件和操作条件对萃取容量也有较大影响, 如萃取纤维头的活化、吸附、热解析、萃取温度等条件^[1], 本文通过采用 $L_9(3^4)$ 正交试验考察这些因素对萃取容量的影响。

1 材料与方法

1.1 材料和仪器

热反应肉味香精 自制 NaCl A.R. SPME 手动取样装置; 搅拌子; 15 ml 萃取瓶; 85 μ m 的聚丙烯酸酯: PA, Polyacrylate; 萃取纤维 SUPELCO 公司, 美国; CP-3800 气相色谱仪: VARIAN 公司, 美国; 色谱柱: WCOT Fused silica (25mm \times 0.32mm id \times 0.20 μ m); 固定液: CP-WAX58 (FFAP) - CB。

1.2 气相色谱仪操作条件

1.2.1 萃取纤维活化条件 进样口温度 250 $^{\circ}$ C, 柱温 250 $^{\circ}$ C 保持 30min。载气流量 0.5ml/min。

1.2.2 热解析条件 采用程序升温: 初始温度 30 $^{\circ}$ C, 保持 2min, 以 3 $^{\circ}$ C/min 升温至 190 $^{\circ}$ C, 然后以 8 $^{\circ}$ C/min 升温至 250 $^{\circ}$ C, 保持 5min。进样口温度 250 $^{\circ}$ C, 不分流进样。载气为高纯氮气, 流量 1.0ml/min。

1.3 试验方案

收稿日期: 2004-11-30

作者简介: 华永兵 (1977-), 男, 硕士, 主要从事食品科学研究。

自制肉味香精, 每个样品用量体积为萃取瓶的66%, 所有样品一次分装完毕, 密封后冷藏, 待用时取出。在每次实验开始对吸附时间计时前, 将萃取瓶置于恒温水浴中(水浴温度等于萃取温度), 固定电磁搅拌速度不变, 平衡40min使样品顶空与水浴热平衡之后插入萃取纤维进行吸附^[2]。固相微萃取装置见图1。

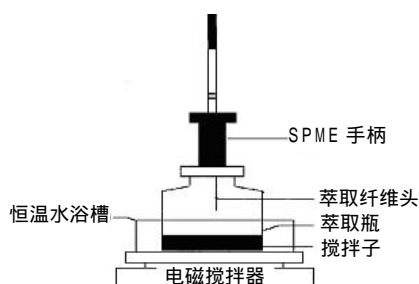


图1 固相微萃取装置

Fig.1 Solid phase microextraction device

选取萃取温度、吸附时间、解析时间和NaCl用量(质量百分比)作为考察因子, 各时间段色谱图峰面积为考察指标(对信噪比大于10的峰积分), 作 $L_9(3^4)$ 正交试验。考察因子与水平见表1。

表1 考察因子与水平表
Table 1 Factors and levels

水平	因素			
	萃取温度(°C)	吸附时间(min)	解吸时间(min)	NaCl 用量(%)
1	40	19	0.05	2
2	60	25	1	5
3	70	10	2	10

2 结果与讨论

2.1 样品色谱图

用色谱仪自带的工作站软件VARIAN 6.00将七个样品(由远自近依次为样品2至样品8)的色谱图放在图2上。从图2中可以看出, 各样品色谱图形状相似。处于相同保留时间段的不同样品峰面积有很大差别, 将不同部分放大后图3。

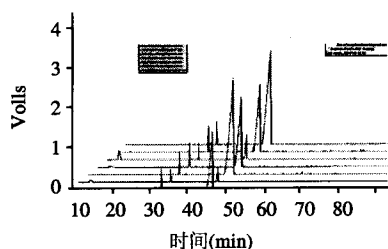


图2 样品2到8的色谱图

Fig.2 Chromatographic diagrams of samples 2~8

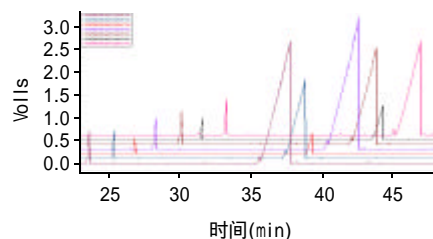


图3 样品3到9的部分色谱图

Fig.3 Chromatographic diagrams of samples 3~9

2.2 正交试验结果

将不同保留时间段的峰面积 S_i ($i=1,2,3,4$)除以样品质量(单位为g)校正后作为考察指标, 见表2。四个保留时间段分别为 S_1 (0~10min), S_2 (10~30min), S_3 (30~45min), S_4 (45~80min)。

表2 正交实验结果

Table 2 Result of the orthogonal experiment

试验号	萃取温度(°C)	吸附时间(min)	解吸时间(min)	NaCl 用量(%)	峰面积($\times 10^{-5}$)			
					S_1	S_2	S_3	S_4
1	1	1	3	2	159.27	43.68	254.82	7.03
2	2	1	1	1	1.64	55.35	1783.97	13.3
3	3	1	2	3	4.04	63.82	1006.9	26.64
4	1	2	2	1	84.6	30.02	165.94	6.18
5	2	2	3	3	2.16	68.99	1479.99	15.1
6	3	2	1	2	2.59	50.93	1808.35	18.42
7	1	3	1	3	23.33	19.58	60.9	1.54
8	2	3	2	2	4.62	43.47	737.63	8.1
9	3	3	3	1	1.89	55.6	1658.4	19.38
R_1	86.26	45.04	45.26	45.65				
R_2	25.7	14.74	14.14	4.77				
R_3	1330.66	332.45	580.91	353.51				
R_4	16.56	5.98	2.75	3.24				

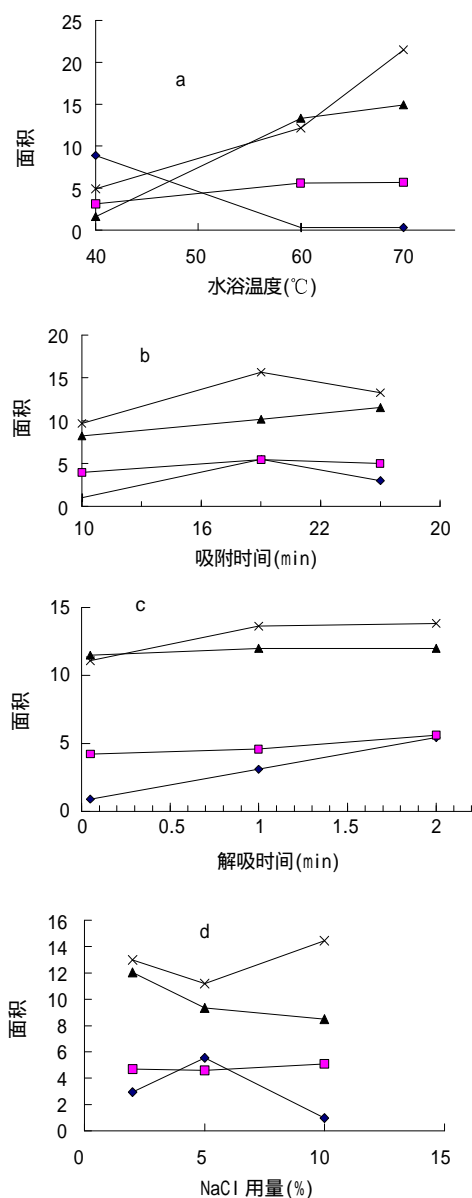
注: R_1, R_2, R_3, R_4 为四个时间段的极差。

在四个时间段中, 萃取温度的极差均为最大值, 萃取温度是最大的影响因素, 其他因素对峰面积的影响则随保留时间有所不同。肉味香精的挥发性成分是很复杂的体系, 分子量、极性、沸点和挥发度不同, 在萃取纤维上吸附、在色谱柱上分离有着多种不同方式, 导致了各种因子在不同时间段表现出不同的影响, 见图4中的a、b、c和d。

2.2.1 萃取温度

利用水浴加热样品, 提供待测物从基体解离所必须的能量, 以增加其顶空蒸汽压, 进而加强待测物扩散至萃取涂层的同时加速传质过程。萃取温度对萃取容量的影响见图4-a。

在第一时间段, 峰面积随着萃取温度由40°C升至60°C而迅速较少。因为先流出色谱柱的是低沸点、非极性(或低极性的)成分, 它们在极性纤维上吸附的动态平衡



注: ◆代表第一时间段; ■代表第二时间段; ▲代表第三时间段; ×代表第四时间段, 其中第四时间段峰面积取原来的10%以利于在一张图中显示四个时间段的各个面积变化趋势。

图4 各个因素对色谱图峰面积的影响
Fig.4 Effects of the 4 factors on the areas of GC peaks

随着水浴温度的升高引起解吸增加, 反映在峰面积上就是面积减少。此后时间段的流出物挥发度较低, 升温增加它们从液面的挥发, 加快在萃取纤维上的吸附。高萃取温度使低挥发性物质从液面挥发增强, 并吸附到萃取纤维上去。在升温同时, 也使纤维上吸附的高挥发度物质解吸作用加快。

2.2.2 吸附时间

对于搅拌充分的萃取体系, 纤维上待测物的含量随吸附时间的增加呈指数上升趋势。当萃取体系远未达

到平衡时, 纤维上待测物的含量与吸附时间的关系可采用线性方程模拟^[3]。吸附时间和萃取容量关系见图4-b。

由图4-b看出, 第一时间段的峰面积在20min之后有所下降。这是因为第一时间段的低沸点成分很快达到顶空吸附平衡, 随着吸附时间的增加, 低沸点物质在实验温度下解吸加快, 造成峰面积下降。此后时间段的待测物吸附量呈线性缓慢增长, 其中待测物的质量迁移速率是恒定的。此时, 体系平衡时间的长短取决于目标待测物的分配系数大小和固定液的膜厚, 分配系数越大, 平衡时间越长。

2.2.3 解吸时间

从图4-c看出, 随着解吸时间的增加, 峰面积增加, 第一、二时间段的峰面积仍有上升趋势, 应该延长解吸时间继续试验以找到最佳解吸时间。但同时要注意解吸时间长将使峰形变宽, 损害分离效果。在待测物已经出峰的前提下, 可以不考虑达到萃取平衡, 也就不必考虑延长解吸时间。

2.2.4 盐的用量

一般认为, 随着电解质的加入, 某些有机挥发物质因为盐析效应, 在纤维上的吸附量也增加。但本实验结果表明, 肉味香精中部分挥发性物质却随着食盐的加入而迅速减少, 如第一时间段和第三时间段。加入电解质以增加待测物的挥发度是利用电解质对部分物质有“盐析”作用, 但对有些物质却是“盐溶”现象。本实验中第一时间段和第二时间段中某些物质由于“盐溶作用”而挥发大量减少^[4]。由于只使用气相色谱, 不清楚发生“盐溶”物质的具体成分。电解质的加入与否及加入种类都有待继续研究。

3 结论

萃取条件对各个保留时间段的挥发性、半挥发性成分在萃取纤维上的吸附状况的影响不同。

在顶空-固相微萃取的应用中, 除萃取纤维的选择性之外, 采用合适的萃取条件来增加不同保留时间段待分析成分的萃取容量也相当重要。萃取纤维选择正确, 但萃取条件不合适时, 微量成分将不能被检测出来, 若这些成分又是目标物质, 将会分析结果上导致重大偏差。

由于不同保留时间段的成分受到萃取条件的影响是不同, 因此不应采用单一的优化萃取条件来操作, 须有所区分。在利用固相微萃取对保留时间段比较宽的样品进行定性、定量研究中, 只有采用恰当的“分段操作”才能得到较好的结论。这里的“分段”是指不同保留时间段的挥发性、半挥发性成分在纤维上吸附情况经过不同温度的分段萃取后, 各种微量成分在谱图上都可以得到很好的反映。

西洋参中人参皂苷类 HPLC 测定 及其指纹图谱研究

陈军辉, 谢明勇, 王慧琴, 彭日煌, 王远兴
(南昌大学 食品科学教育部重点实验室, 江西 南昌 330047)

摘 要: 对 12 种西洋参中的 7 种人参皂苷进行 HPLC 同时测定, 建立西洋参中人参皂苷含量测定的现代分析方法, 并建立起西洋参人参皂苷类的色谱指纹图谱。HPLC 测定条件: 梯度洗脱, Alltima C₁₈ 色谱柱, 乙腈-0.05% 磷酸水溶液为流动相, 流速为 1.2 ml/min, 柱温为 35℃, 紫外检测器, 检测波长 203 nm。在选定的最佳色谱条件下每种成分在各自的浓度范围内均具有较好的线性相关性, 7 种人参皂苷的加标回收率为 94.1%~97.9%。对色谱指纹图谱进行相似度和聚类分析计算, 得到了令人满意的结果。该法为西洋参样品的质量和品种鉴定提供了较全面的信息, 并为 HPLC 应用于样品复杂组分的分析和鉴别开拓了新的领域。

关键词: 高效液相色谱法; 西洋参; 人参皂苷; 指纹图谱

Determination of Ginsenosides in *Panax quinquefolium* L by HPLC and Study on Their Fingerprints Analysis

CHEN Jun-hui, XIE Ming-yong, WANG Hui-qin, PENG Ri-huang, WANG Yuan-xing

收稿日期: 2004-11-11

作者简介: 陈军辉(1978-), 男, 在读硕士, 主要从事食品化学与天然活性成分的分析利用。

3.1 定性方面

固相微萃取纤维的吸附方式对待测物的物理、化学性质不造成破坏, 顶空分析可以直接得到样品所释放出的气体的化学组成, 因此顶空分析法在气味分析方面有独特的意义和价值^[5], 因此它不仅可用于已知产品的挥发性、半挥发性成分的定性鉴定研究, 更重要的是可以用于从自然或加工环境中寻找未知的、新的香料来源, 如从国内外某些著名的地方风味小吃挥发性成分中、从某种自然环境或原料(如某些熏香草类、香木类等)挥发性成分中吸附、辨别和开发出新的香料品种。在此类应用中, 由于对未知待测物性质不了解, 须根据预计沸点、挥发度的不同采用多种萃取温度, 根据预计极性的不同采用合适的萃取纤维、色谱柱和电解质, 经过多次试验来得到最佳的检测方法。

3.2 定量方面

在挥发性、半挥发性成分的 SPME 定量检测中, 若待测成分需要准确定量或待测成分是复杂的体系, 特别是对于那些低、高沸点成分均有, 保留时间范围较宽的体系, 应该采取多个萃取温度和多种内标物进行分段操作。采用单一萃取温度、单一内标物来检测复杂体系中待测成分的含量是不够完整的。根据预备试验总离

子流图(或色谱图)中各成分的保留时间情况, 用不同的萃取温度萃取不同挥发性、保留时间的成分。并在每次萃取时使用与该次挥发性成分保留时间接近、性质相似的内标物, 使得每阶段的含量都最接近真实。

参考文献:

- [1] Posen H, Zupanic-Krajic L. Solid-phase microextraction [J]. Trends Anal Chem, 1999, 18: 272-282.
- [2] Maria Pia Gianelli, Monica Flores, Fidel Toldra. Optimisation of solid phase microextraction (SPME) for the analysis of volatile compounds in dry-cured ham [J]. J Sci Food Agric, 2002, 82: 1703-1709.
- [3] 帅琴, 杨薇, 郑岳君, 等. 固相微萃取与气相色谱-质谱联用测定有机磷杀虫剂的残留量[J]. 色谱, 2003, 21(3): 273-276.
- [4] 周菊珍, 周培庆. 固相微萃取实验条件的优化[J]. 华东师范大学学报(自然科学版), 2000, (1): 103-106.
- [5] Philip Marriott, Robert Shellie, Charles Cornwell. Gas Chromatographic technologies for analysis of essential oil [J]. J Chromatogr A, 2001, 934: 1-22.