



GAODENG XUEXIAO ZHUANYE JIAOCAI

• 高等学校专业教材 •

现代仪器分析技术 及其在食品中的应用

XIANDAI YIQI FENXI JISHU JIQI ZAI SHIPIN ZHONG DE YINGYONG

主 编 贾春晓

副主编 熊卫东 毛多斌



中国轻工业出版社

ZHONGGUO QINGGONGYE CHUBANSHE

高等学校专业教材

现代仪器分析技术及其在食品中的应用

主 编 贾春晓
副主编 熊卫东 毛多斌
编 者 张峻松 章银良 张文叶

 中国轻工业出版社

图书在版编目(CIP)数据

现代仪器分析技术及其在食品中的应用/贾春晓主编.
北京:中国轻工业出版社,2005.1

ISBN 7-5019-4611-6

I. 现… II. 贾… III. 仪器分析-应用-食品工业
IV. TS2

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2004)第 103573 号

责任编辑:李亦兵 涂润林 责任终审:孟寿萱 封面设计:王超男
版式设计:丁夕 责任校对:李靖 责任监印:吴京一

出版发行:中国轻工业出版社(北京东长安街6号,邮编:100740)

印刷:三河市宏达印刷有限公司

经销:各地新华书店

版次:2005年1月第1版 2005年1月第1次印刷

开本:787×1092 1/16 印张:25.5

字数:588千字

书号:ISBN 7-5019-4611-6/TS·2712

定价:42.00元

读者服务部邮购热线电话:010-65241695 85111729 传真:85111730

发行电话:010-88390721 88390722

网址:<http://www.chlip.com.cn>

Email:club@chlip.com.cn

如发现图书残缺请直接与我社读者服务部联系调换

40712K1X101ZBW

前 言

现代食品的显著特点是食品的营养化、功能化、方便化,并保证食品质量与安全,这就要求食品加工从原料的选择、加工过程到最终产品及保藏整个链条中对食品的成分及成分的变化有全面的把握和认识。传统的分析手段和分析方法尽管能从宏观上了解和掌握成分及其变化,但已不能完全适应现代食品加工业的要求,现代仪器分析技术已经成为食品分析中不可缺少的重要分析手段。

随着现代仪器分析技术的发展和不断完善,现代仪器分析技术在食品分析中应用更加广泛和深入,尤其是近期发展起来的超临界萃取技术、膜分离技术、气-质联用技术、液-质联用技术等现代食品分离、分析和鉴定技术在食品、生物、烟草等研究领域的应用中发挥了越来越重要的作用。遗憾的是国内关于现代仪器分析技术及其在食品中的应用方面的书籍并不多见,相应地作为大学本科以上层次教学用专业书籍仍是空白,作者在多年的食品科学专业的教学和科研实践中发现很有必要编写一本这方面的著作或教材,以应食品科学与工程以及相关学科和专业科研和教学之需要,这正是该书出版的目的和初衷。

本书是郑州轻工业学院有关食品科学与工程专业的专业教师在多年教学和科研实践的基础上编写而成的。主要介绍食品中有效成分的现代分离技术和各种现代仪器分析技术的方法原理、分析仪器结构和应用,包括原子吸收光谱、分子吸收光谱、色谱、质谱、核磁共振波谱以及气相色谱-红外光谱联用、气相色谱-质谱联用、液相色谱-质谱联用等;针对各种测试技术,介绍了它们在食品、烟草、生化、香精香料等领域中的大量的应用实例,具有鲜明的特征和实用性。本书主要作为大专院校食品科学与工程、生物工程、应用化学专业本科生及研究生的教材,也可供有关生产、科研单位的分析工作人员参考阅读。

全书共分八章,每一章的编写次序都是在介绍分析技术原理的基础上,介绍仪器的工作原理和基本结构,接着重点介绍分析技术和分析方法,最后介绍分析技术在食品分析中的应用实例,并且每章都附有思考题。本书编写内容层次分明,条理清晰,既适于教学,也便于自学。

本书由郑州轻工业学院贾春晓副教授任主编,熊卫东副教授、毛多斌教授任副主编,第一章由毛多斌教授编写,第二章由章银良副教授、贾春晓副教授编写,第三章由张文叶高级工程师编写,第四章由章银良副教授编写,第五章由张峻松副教授编写,第六章由熊卫东副

教授编写,第七章和第八章由贾春晓副教授编写。全书由毛多斌教授、贾春晓和熊卫东副教授统稿。

本书的出版得到郑州轻工业学院有关系部的大力支持,作者在此表示衷心感谢。

由于作者水平有限,编写过程中难免存在错误和疏漏,望读者在阅读过程中批评指正。

作者

2004年6月

目 录

第一章 食品现代分离技术概要	1
第一节 超临界流体萃取.....	1
第二节 顶空分析.....	7
第三节 膜分离技术	12
第四节 固相微萃取技术	16
第五节 分子蒸馏	22
习题	27
参考文献	27
第二章 紫外-可见分子吸收光谱法	29
第一节 概述	29
第二节 吸收物质及其紫外-可见吸收光谱	30
第三节 光吸收定律	41
第四节 紫外-可见分光光度计	44
第五节 分析条件的选择	46
第六节 光度分析法的误差	54
第七节 紫外-可见分子吸收光谱法的应用	58
第八节 紫外-可见分光光度法在食品检测中的应用	65
习题	76
参考文献	78
第三章 红外吸收光谱法	80
第一节 概述	80
第二节 基本原理	82
第三节 基团频率	87
第四节 有机化合物的红外特征吸收	96
第五节 红外光谱仪.....	102
第六节 红外光谱实验技术.....	108
第七节 红外吸收光谱在食品检测中的应用.....	113
习题.....	121

参考文献	123
第四章 原子吸收光谱法	124
第一节 概述	124
第二节 基本原理	125
第三节 原子吸收分光光度计	130
第四节 干扰及其抑制方法	136
第五节 原子吸收分析实验技术	140
第六节 原子荧光光谱法	148
第七节 原子吸收与原子荧光光谱分析在食品工业中的应用	152
习题	165
参考文献	166
第五章 气相色谱法	168
第一节 概述	168
第二节 气相色谱分析理论基础	173
第三节 气相色谱固定相及其选择	181
第四节 色谱分离条件的选择	188
第五节 气相色谱检测器	193
第六节 气相色谱定性、定量分析方法	201
第七节 毛细管柱气相色谱法	210
第八节 气相色谱新技术简介	219
第九节 气相色谱法的应用实例	227
习题	232
参考文献	235
第六章 高效液相色谱法	237
第一节 概述	237
第二节 高效液相色谱的理论基础	237
第三节 高效液相色谱法的主要类型及其分离原理	241
第四节 高效液相色谱法固定相	248
第五节 高效液相色谱法流动相	252
第六节 高效液相色谱仪	254
第七节 制备液相色谱	260
第八节 毛细管电泳	262
第九节 高效液相色谱法在食品检测中的应用	266

第十节 高效液相色谱法在生化工程中的应用	272
第十一节 高效液相色谱法在烟草工业中的应用	275
习题	280
参考文献	281
第七章 质谱法	282
第一节 概述	282
第二节 质谱仪器原理	282
第三节 质谱图和离子的类型	295
第四节 质谱裂解机理	298
第五节 各类化合物的裂解特征	303
第六节 质谱法的应用	315
第七节 气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)	323
第八节 液相色谱-质谱联用技术(LC-MS)	327
第九节 气相色谱-质谱联用技术在食品检测中的应用	333
第十节 液相色谱-质谱联用技术在食品检测中的应用	347
习题	351
参考文献	352
第八章 核磁共振波谱法	355
第一节 核磁共振原理	355
第二节 核磁共振波谱仪	361
第三节 化学位移及核磁共振图谱	365
第四节 简单自旋偶合及自旋裂分	372
第五节 复杂图谱的简化方法	377
第六节 实验技术	380
第七节 其他核磁共振谱	383
第八节 核磁共振波谱法在食品检测中的应用	386
第九节 核磁共振波谱法在生化工程中的应用	390
第十节 核磁共振波谱法在烟草工业中的应用	393
习题	394
参考文献	396

第一章 食品现代分离技术概要

第一节 超临界流体萃取

一、概 述

超临界流体萃取(Supercritical Fluid Extraction, SFE)是一种较新的样品制备方法。尽管早在 1882 年人们就开始注意到了物质的临界点,但是直至 20 世纪 70 年代超临界流体才开始用于工业生产中有有机化合物的萃取,用作分析技术还是 20 世纪 80 年代的事,而在最近不到十年的时间内超临界流体萃取方面的论文却急剧增多。

超临界流体萃取(SFE)是在超临界状态下得到最佳的萃取效果和分离效果的过程,与传统的水蒸气和低沸点的甲醇、乙醇、二氯甲烷有机溶剂萃取分离相比,具有显著的优点。SFE 在化工生产中用于烃的分离、有机合成原料精制、共沸混合物分离、反应原料回收、香料和化妆品生产的各种香料的分离、精制以及食品工业上咖啡的脱咖啡因、啤酒花和植物油的提纯、植物色素和色拉油的提取、发酵酒精的回收等,在制药和生物样品的提纯等方面也有广阔的应用前景。

最常用的超临界流体是 CO_2 。 CO_2 与传统溶剂比较,具有很多优越性:

①用作溶剂的液态 CO_2 在接近室温下提取时,化学稳定性好,对环境无污染,溶解性能好,不会破坏被提取物,对分离热敏性物质如易失活的生化药物、易变质的香料提取物等特别适用,提取物能较好地保持原成分的特色,能保持芳香组分和对热不稳定的活性成分;②溶剂回收方便,无残留,易于分离;③可以通过温度、压力可调控提取天然产物的不同成分。

大规模超临界萃取的兴起源于用 SFE(CO_2)成功地从咖啡中提取咖啡因和用 SFE(戊烷)从石油中提取重油组分。前联邦德国从 1978 年就建成了 $2 \times 10^6 \text{t}$ 脱咖啡因和年处理 $2 \times 10^4 \text{t}$ 啤酒花的工业装置。日本富士香料公司也于 1989 年建成了 $1 \times 300 \text{L}$ 的天然香料生成装置,生产具有高附加值的天然香料、色素和高质量食品添加剂系列。这项技术在食品工业、精细化工、医药工业等行业的应用见表 1-1。

表 1-1 超临界流体萃取技术的应用

分 类	应 用
食品工业	动植物油脂的提取(卵磷脂、鱼肝油、可可、大豆、花生) 食品杀菌(酱油杀菌)

续表

分 类	应 用
食品工业	啤酒花提取、天然色素提取 米胚芽提取 橘皮中萜烯精油的提取
精细化工(香料、化妆品)	食品除臭 天然香料精油提取(桂花、茉莉) 烟草中提取香精 提取咖啡香气成分 植物中去植物碱,烟草中去尼古丁
医药工业	精制化妆品原料(表面活性剂,脂肪酸甘油酯) 中草药有效成分提取(蛇床子、连翘、桑白皮、丹参等) 类固醇类样品提取 EPA 和 DHA 的提取(原料:鱼油、南海翡翠贻贝)
环境保护	酶及维生素的精制回收 环境样品中污染物的分析监测 水果中农药残余物的分析 超临界水氧化法处理有机废物、废水

二、超临界流体的性质和选择

1. 超临界流体的性质

超临界流体的性质如密度、黏度和扩散性等处于气体和液体之间(表 1-2),而且与温度、压力和流体组成有关。超临界流体的密度大致是气体密度的 100 至 1 000 倍,因此超临界流体的分子间作用比气体强,而其黏度即使在 400 大气压下也只略高于气体,虽然超临界流体的密度与液体相似,但溶质分子在超临界流体中的扩散系数却比在液体中大得多,因此超临界流体具有与液体相似的溶解能力,又有良好的传质性能,而且超临界流体没有表面张力,很容易穿进样品基质内。温度略高于临界点时,超临界流体的压缩系数最大,压力的微小变化就能导致较大的密度变化,而控制密度就可控制超临界流体对溶质的溶解能力,因此同一超临界流体在不同温度和压力下能萃取极性或分子大小都不同的化合物。

表 1-2

超临界流体、液体和气体的物理性质

	超临界流体	液 体	气 体
密度/(g/cm ³)	0.2~0.9	0.8~1.0	(0.6~2.0)×10 ⁻³
扩散度/(cm ² /s)	(0.5~3.3)×10 ⁻⁴	(0.5~2.0)×10 ⁻⁵	0.01~1.0
黏度/(Pa·s)	0.20~0.99	3.00~24.0	0.05~0.35

2. 超临界流体的选择

用于 SFE 的超临界流体必须稳定、安全、易于操作,对于待萃取物质有足够大的溶解度,同时又有良好的选择性。一般的气体如氢气和氮气几乎没有溶解能力,因此不能用于 SFE,用于进行超临界流体提取的流体物质,通常有二氧化碳、一氧化二氮、乙烯、三氟甲烷、六氟化硫等,每种流体物质都有其最佳工作条件。在众多流体中最常使用的超临界流体是 CO_2 ,它的性质稳定,使用安全,价格低廉,临界温度低($T_c = 31^\circ\text{C}$),临界压力适中(7.14MPa),操作条件易于达到,在室温下液化压力为 4~6MPa,便于储运。萃取可以在室温附近的温和条件下进行,对易挥发组分或生理活性物质极少破坏,适合于天然活性成分的提取。而且在临界点附近温度或压力的改变会使密度(P)发生较大的变化,同时使许多物质在其中的溶解度(S)也发生变化。

CO_2 是非极性物质,对极性化合物的溶解能力很低,因此 SFE 在实际应用中,为提高 CO_2 的溶解能力,可在体系中添加调节剂。①加入有机改性剂。有机改性剂通常是待分析物的良好溶剂,且能破坏待测物-基体的相互作用。其选择取决于待测物的特性。常用的改性剂有:甲醇、乙醇、四氢呋喃、二氯甲烷、二硫化碳等有机溶剂。②加入衍生化试剂,使待测物中的羟基等极性基团转变为弱极性的醚,便可溶于 CO_2 中。对于萃取金属,可加入螯合剂把金属离子转化为中性的配合物,这些配合物在 CO_2 中应有较好的溶解度和快速配位的动力学性质。③使基体发生化学变化,如待测物不易衍生化,可用化学方法改变基体性质。如将 2:1 的六甲基二硅胺烷和三甲氯硅烷混合物覆盖在含有三甲基硅烷基的飘尘样品上,可破坏芳烃聚合物与基体表面的吸附作用。当然,加入有机辅助剂缩小了 SFE 比传统萃取的优势,但就目前的技术来说,其作用是肯定的。同时也可采用其他极性超临界流体如 N_2O ,缺点是它们的临界温度高、腐蚀性强。表 1-3 列出了部分超临界流体的临界数据。

表 1-3 部分超临界流体的临界数据

流体	临界温度/ $^\circ\text{C}$	临界压力/MPa	临界密度/(g/cm^3)	沸点/ $^\circ\text{C}$
CO_2	31.3	7.4	0.448	-78.5
NH_3	132.4	12.0	0.235	-33.4
H_2O	374.2	22.1	0.315	100.0
N_2O	36.5	7.3	0.450	-88.6
乙烷	32.3	4.9	0.203	-88.6
乙烯	9.2	5.0	0.218	-103.7
丙烷	96.7	4.2	0.217	-42.1
戊烷	196.6	3.4	0.232	36.1
苯	288.9	4.9	0.302	80.1
甲醇	240.5	8.0	0.272	64.7
乙醇	243.0	6.4	0.276	78.5
异丙醇	235.3	4.8	0.273	82.5

三、超临界流体萃取的特点及其分类

超临界流体的上述性质使超临界流体萃取具有速度快、萃取效率高、方法准确度高、节省溶剂等特点,同时还易于自动化,能与色谱、光谱等分析仪器直接联用。

超临界流体萃取可以离线操作也可以在线操作,前一种技术较简单,还适于采用多种手段对提取物进行分析,但是当样品量有限,而且需要高灵敏检测时最好采用在线超临界流体萃取。

超临界流体萃取可以分为动态和静态萃取。动态 SFE 就是连续不断地用超临界流体冲洗样品,流速一般控制在 $0.1 \sim 4 \text{ mL/min}$ 范围内,而且必须仔细选择最佳流速,通过改变温度和压力即改变流体密度才能对样品实现组分分馏。此法既适用于离线操作,还更常用于在线操作。动态萃取前常进行短时间的静态萃取;也可先将改性剂或衍生化试剂直接加入萃取器中,然后再进行动态萃取。静态 SFE 不如动态 SFE 应用广泛,但在溶解度测定和动态 SFE 条件的选择时却非常有用。

四、超临界流体萃取的过程和装置

SFE 大致可分为下列三步:

- ① 待测物质从样品基质中释放出来并扩散、溶解进超临界流体中。
- ② 待测物质从萃取器转移至收集系统。
- ③ 降低超临界流体的压力,有效地收集被萃取的待测物。

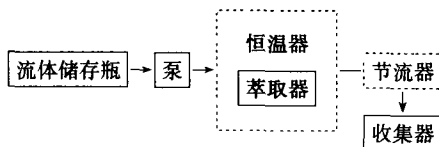


图 1-1 超临界流体萃取装置框示意图

目前已有许多商品化的仪器,但是也可以自己组装以适应各种不同用途,SFE 的装置方框示意图见图 1-1。

萃取器:典型的在线萃取器体积为 $0.1 \sim 10 \text{ mL}$,在线萃取器的体积较小。萃取器必须能耐受高压和高温,接头和密封材料都必须是化学惰性物质,在操作条件下不变形。液体样品的入口(由毛细管导入)必须在萃取器的底部,出口在上部。

节流器: SFE 所用的节流器通常是一根去活性的熔融二氧化硅毛细管或金属毛细管,内径 $15 \sim 30 \mu\text{m}$ 为宜。毛细管出口一端制成卷曲状或变细,以确保管内流体密度(即溶质的溶解度)不变。

收集技术: SFE 有三种收集技术,即溶剂捕集法、吸附剂吸附捕集法和固体表面冷冻捕集法。溶剂捕集法收集的样品可直接用于色谱或其他方法的分析。而吸附捕集法在捕集后还需要将待测物从吸附剂上脱附下来。冷冻捕集法是将一容器冷却,将待测物冷凝在容器壁上。

分析型 SFE 系统的操作分为二种:

(1) 闭合回路系统 即静态萃取系统: 将萃取池中压力升到预定的压力值, 使被萃取的样品“浸泡”在超临界流体(简称 SFL)中, 或使用一个循环泵使流体反复地流过闭合回路, 当达到溶解平衡时, 萃取物可通过阀切换收集或进入分析仪器中去。它的主要缺点是包括泵的整个系统将会被污染, 当要进行另一类样品的萃取时, 需对整个系统进行清洗, 所以费时而且代价也比较高, 但是它适合于那些与基体结合紧密的物质的萃取。

(2) 开口回路系统 即动态萃取系统: 在高压泵的推动下, SFL 不停地流过萃取池, 将溶解于流体中的组分携带出来, 在应用此系统时, 要用一个阻尼器, 其主要作用是保持萃取池的压力, 而又能使 SFL 减压后进入收集装置。阻尼器可以是微型阀, 也可以是石英毛细管柱(直径大约为 $10\sim 50\mu\text{m}$ 之间)。动态萃取的主要优点是纯净的 SFL 能不停地流过萃取池, 不用担心系统会被污染, 而且萃取速度较快, 但是所用流体数量比静态 SFE 多。在具体工作中使用静态法还是动态法, 应根据样品情况而定, 在实际应用中, 这两种方法常常结合使用。

五、在线联用技术

SFE 与其他分析仪器的联用可以通过离线(off-line)和在线(on-line)两种方式进行, 离线 SFE 是指对分析物收集后, 再用合适的方法分析。在线 SFE 联用是指分析物直接转入色谱系统或其他分析仪器中进行分析。离线 SFE 从本质上说较容易实现, 因为只需考虑萃取。在线联用则需要全面考虑, 其主要优点在于实现分离分析自动化, 能定量地将萃取物转入分析系统, 灵敏度高, 适于痕量组分的分析。下面, 主要介绍 SFE 的在线联用技术。已有的联用技术包括 SFE-GC、SFE-SFC(超临界流体色谱)、SFE-HPLC 和 SFE-TLC。

1. 毛细管超临界流体色谱(Capillary Supercritical Fluid Chromatography, 简称 CSFC)

毛细管超临界流体色谱是近年发展起来的一种新型分离技术, 是一种使用具有高分离效能的毛细管柱, 以超过其临界压力、临界温度的流体为流动相的色谱法。1981 年 Novothy 首先报道, CSFC 理论基本上是 Golay 发展的毛细管气相色谱的速率理论, 其总塔板高与分子扩散、流动相传质、固定相传质有关。影响板高的因素主要有线速、柱直径、液膜厚度和密度等。

CSFC 有下述几个特点: ①分离效能高, CSFC 通常采用微孔径($25\sim 100\mu\text{m}$)石英或玻璃交联柱, 柱效高达万塔板数/m 以上, 总柱效可达 10^5 塔板数以上; ②选择性好, 可用手性、液晶等高选择性固定液分离异构体、同位素拆分对映体等。若在单一流动相中加入各种改性剂采用混合流动相, 则分离的选择性更强; ③检测灵敏度高: CSFC 可用的检测器很多, 其检测限一般 $10^{-12}\sim 10^{-15}\text{g/s}$; ④分析速度快, SFL 内黏度较小, 扩散较快, 传质阻力小, 可采用短毛细管柱的快速程序; ⑤应用范围广。

2. SFE - GC 的联用

SFE - GC 是 SFE 与色谱技术联用最成功的一种模式。大多通过一根毛细管限流器对 SFE 进行降压,然后低温捕集萃取物,再快速升温切换进样而实现的。接口方法有:①柱头进样式 SFE - GC。用一根长 7cm,内径为 25 μ m 的石英毛细管作限流器,这个内径可得到较好的色谱峰形和适当的萃取流速。其外径为 150 μ m,可轻松地通过 GC 的柱头进样口,插入 GC 的毛细管柱中。具有不需改进仪器、不需中间处理样品、灵敏度高、峰形好等优点,适用于痕量不稳定化合物的检测。②分流式 SFE - GC。SFE 流体减压后通过从萃取池到 GC 进样器的热导线进入常规分流/不分流进样器。它克服了柱头进样式的缺点,可用于大量样品(<15mg)、含水分和脂肪的样品。③使用外接 GC 的积蓄器。所有气态流出物均引入毛细管中,增加了萃取时间和共萃取效应。

3. SFE - HPLC 和 SFE - TLC 的联用

SFE - HPLC 具有高选择性、高灵敏度、自动化程度高等特点,可采用四个六通阀联用体系,用于萃取芳香族化合物。

用 SFE - TLC 联用,超临界 CO₂ 和 N₂O 作流动相分析了大量天然产物,如咖啡、辣椒、维生素油和生物碱等。操作简单、快速,结合薄层扫描色谱,可完成动态分析过程。

六、应用实例——超临界 CO₂ 流体萃取技术提取小麦胚芽油

1. 原理

以麦胚芽作为实验材料,在超临界 CO₂ 流体状态下,不同萃取条件(萃取温度与压力)和分离条件(分离温度与压力)提取小麦胚芽油。

2. 试剂和溶液

①麦胚芽;②二氧化碳,含量 99%。

3. 仪器

①CO₂ 超临界萃取器;②日本岛津 GC-9A 型气相色谱仪,C-R3A 数据处理机,美国 Spectra - physics 公司高效液相色谱仪。

4. 测定方法

(1) 样品处理 麦胚芽→真空干燥→粉碎→过筛→称重→装萃取柱、密闭→超临界萃取设备各部分控制合适的温度、压力→在超临界状态下萃取→由分离柱获取所需要的小麦胚芽油

(2) 用 GC 测定小麦胚芽油的脂肪酸含量 软脂酸 15.94%;硬脂酸 0.49%;油酸 15.45%;亚油酸 59.81%; α -亚麻酸 8.32%。

(3) 用 HPLC 测定小麦胚芽油中的 α -维生素 E 含量(见表 1-4)。

(4) 小麦胚芽油物理常数的测定

密度(g/mL, 20℃): 0.9143; 折射率(20℃): 1.4760; 酸值(以 KOH 计): 8.5; 皂化值: 188.8; 过氧化值: 1.1。

表 1-4 不同处理的 α -维生素 E 的含量

组 分	不 同 处 理			
	25MPa	30MPa	35MPa	40MPa
α -维生素 E/(mg/kg)	1.0×10^3	9.4×10^2	1.3×10^3	1.0×10^3

5. 注意事项

- ① 水分是影响麦胚芽萃取率的因素之一,随着含水量的增加,萃取率降低。
- ② 萃取压力对萃取率的影响,在一定温度下,随压力增加,萃取率增加,萃取速度也不断增加。特别是在 35MPa 下,90min,即可达到 97.5% 的萃取率。
- ③ 萃取温度是萃取过程中最活跃的因素。随着温度增加,CO₂ 的流速增加,溶解物质的能力增加,因而萃取率提高;但温度过高,分子间的距离变大,萃取率反而降低。在前 30min,温度高,萃取率反而降低,这主要是因为分子间距增大的缘故;后 30min 随温度升高,萃取率增大,这与分子热运动速度加快,增加了分子的缔合几率有关。考虑温度在整个萃取过程中的不同变化,为了获得各个阶段以及最终的较高萃取率,以选择 35℃ 为最适宜萃取温度。

第二节 顶空分析

一、简介

顶空分析(headspace analysis)的想法源自于分析固体或液体顶部蒸气相中的有机挥发性物质,这种方法的出现比气相色谱的产生早,文献报道可以追溯到 1939 年 Harger 等人对水相中醇的含量测定。自气相色谱法产生 50 多年来,如何进行样品的制备和采用何种有效的进样方法被一致认为是气相色谱成功分析的关键因素。顶空分析被认为不但可以作为一种独立的样品处理技术,也是一种非常适合与气相色谱进行联用的分析方法。

顶空-气相色谱联用的报道最早见于 1958 年,顶空分析专一性收集样品中易挥发的成分,与液-液萃取和固相萃取方法相比,这样既可以避免在除去溶剂时引起挥发性物质的损失,又降低了共提取物所引起的噪声,这使得顶空分析方法相对于溶剂提取方法对样品中微量的有机挥发性物质分析具有更高的灵敏度和更快的分析速度。顶空分析不仅可以分析含量低的组分,也可以分析组成复杂的混合物,还因这种方法不是直接进液体或固体样品,而是将与其平衡的气体样品送进气相色谱仪,所以在很多情况下此法比

普通气相色谱分析更为简便,可省去样品前处理操作,有时还可获得更低的检测限。对于易挥发或易分解和无法直接进样分析的液体或固体样品而言,更有它的实用价值。由于顶空分析具有很多优点,因此顶空分析法在气味分析方面有独特的意义和价值。

顶空分析方法随着气相色谱分析方法的发展也在不断更新和发展,尤其是近十年来对环境、食品及添加剂中挥发性有害物质的关注,使得顶空分析这一传统的分析方法再度成为分析化学工作者关注的热点。顶空分析法在分析过程中无需采用有机溶剂进行提取,大大减少了对分析人员和环境的危害,是一种符合“绿色分析科学”要求的分析手段。

二、基本原理

当样品的蒸气压相当低时,色谱峰面积(A_i)与挥发性组分(i)蒸气压(P_i)成正比:

$$A_i = C_i P_i \quad (1-1)$$

式中 C_i ——与物质种类及检测器有关的特定常数。

对于理想混合体系,依据拉乌尔(Raoult)定律可得:

$$P_i = P_i^0 X_i \quad (1-2)$$

式中 P_i^0 —— i 的纯组分的蒸气压;

X_i ——组分的摩尔数。

对于真实体系, i 组分的分压 P_i 可如下表示:

$$P_i = \gamma_i P_i^0 X_i \quad (1-3)$$

式中 γ —— i 组分的活度系数。

近似于理想溶液的有:正庚烷/甲基环己烷、己烷/庚烷、苯/甲苯、乙醇/异丙醇等。

然而对于大多数溶液而言,各分子间吸引力不完全相同、距离也不完全相等,致使溶液的实际蒸气压与拉乌尔定律计算值之间存在着偏差,这种溶液称为非理想溶液,即组分的 $\gamma_i \neq 1$ 。

当 $\gamma_i > 1$ 时,由于不同种类分子间吸引力小于纯物质分子间的吸引力,此时,它们企图离开混合物,这就造成液上气体压力(分压和总压)大于拉乌尔定律计算值,产生正偏差。一般当极性分子与非极性分子在一起时,可能出现这种情况。如乙醚/乙醇、乙醇/庚烷、乙醇/乙腈等。

当 $\gamma_i < 1$ 时,反映在混合样品中,不同种类分子的吸引力大于纯物质分子间的吸引力,则此混合物的液上气体压力(分压和总压)小于拉乌尔定律计算值,产生负偏差。若分子具有永久性或诱导偶极矩时,这些静电作用力将导致氢键的发生或使分子间产生不稳定的化学键,使它们不易离开混合样品,造成液上气体压力小于拉乌尔定律计算值。如丙酮/1,1,2-三氯乙烷、三氯乙烯/四氢呋喃、丙酮/氯仿等。

服从拉乌尔定律的混合体系,其峰面积与浓度呈线性关系,但在高浓度区域内分压的变化与浓度变化不成线性关系,有时甚至与浓度无关。如果不注意这点,顶空分析会得到错误

的结果。因此分析中定量校正工作尤为重要。在很多情况下,样品溶液若能充分稀释,则有可能使其接近理想混合体系,服从拉乌尔定律。图 1-2 反映出峰面积与样品含量间的线性关系。

三、顶空分析装置

在密闭系统中,与液相处于平衡状态的各种蒸气的气相色谱分析需要一种特殊的实验技术,而这种技术与一般气体分析法完全不同。所用仪器应使样品容器维持在某一恒定和重现的温度上。这一点也适用于样品的制备过程以及从液面上容器中实际采样过程,因此为了进行液上顶空分析,需有特别设计的装置。其中主要部件是样品瓶、恒温装置和取样装置,目前已有很多商品化的专用仪器供选择使用。

通常用体积 5mL 或 10mL 有硅橡胶隔垫片盖的玻璃瓶作为密封系统,其中可盛液体样品 1~5mL,固体样品 1~2g。将样品瓶在恒温水浴内平衡 30~60min,然后用容量为 0.5mL 或 2.5mL 气密性好的注射器,从瓶的顶空加取 0.2~2.0mL 气体,迅速注入色谱仪的进样器中,进行色谱分析。分析的相对标准偏差约 3% 以内。

虽然顶空分析的装置与操作比较简单,但需要注意的细节很多,稍有疏忽,易导致较大的失误。其中应注意的问题如下:

- ① 取液体样品时,须用虹吸或移液管取样,不宜用倾倒法,以使取的样品具有代表性,所取样品量,以使样品瓶留有三分之二空间为好;
- ② 样品瓶盖的硅橡胶隔垫应用金属或聚四氟乙烯片将其与样品隔离,以免吸附产生误差;
- ③ 控制恒温槽的温度为 $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$;
- ④ 取样注射器密封性应良好。取样、进样的操作要迅速,以免发生样品冷凝。

四、现代顶空分析的分类

现代顶空分析法已经形成了一个相对较为完善的分析体系,主要可分为三类:①静态顶空分析(static headspace analysis);②动态顶空分析或者叫吹扫捕集(dynamic headspace analysis or purge and trap analysis);③顶空-固相微萃取(headspace-solid phase microextraction analysis)。有趣的是顶空分析法作为“气体萃取技术”与经典的萃取技术有很大程度

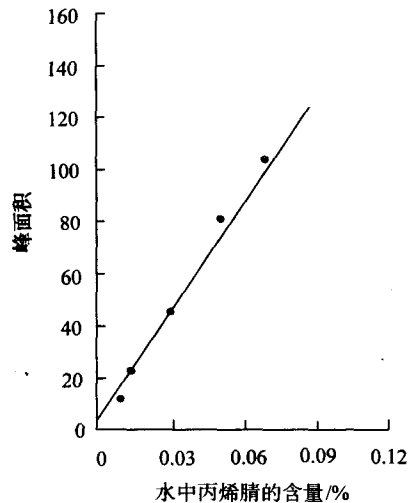


图 1-2 峰面积与样品浓度间关系图