

葡萄酒和软木塞中2,4,6-三氯苯甲醚检测 方法的研究进展

张亚莲¹, 柳 菡², 王岁楼^{1*}, 李静静², 沈伟健², 赵增运²

(1.中国药科大学药学院, 江苏 南京 210009; 2.江苏出入境检验检疫局, 江苏 南京 210001)

摘 要:本文介绍了葡萄酒和软木塞中2,4,6-三氯苯甲醚(2,4,6-trichloroanisole, TCA)的来源及影响,分析了2,4,6-三氯苯甲醚的检测难点,总结了目前检测2,4,6-三氯苯甲醚方法的总体趋势及现状。按照前处理方法的原理分类,介绍了前处理方法的定义、特点,并概述和讨论了前处理方法在萃取葡萄酒和软木塞中2,4,6-三氯苯甲醚中的应用;根据仪器检测方法的不同特点,总结和讨论了仪器检测方法在分析检测葡萄酒和软木塞中2,4,6-三氯苯甲醚的应用。前处理方法和仪器检测方法相结合,达到了浓缩和检测葡萄酒和软木塞中2,4,6-三氯苯甲醚的目的。

关键词: 2,4,6-三氯苯甲醚; 葡萄酒; 软木塞; 检测方法

Progress in the Detection of 2,4,6-Trichloroanisole in Wine and Cork Stoppers

ZHANG Ya-lian¹, LIU Han², WANG Sui-lou^{1*}, LI Jing-jing², SHEN Wei-jian², ZHAO Zeng-yun²

(1. College of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China;

2. Jiangsu Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Nanjing 210001, China)

Abstract: This article describes the source and impact on the flavor quality of wine of 2,4,6-trichloroanisole (TCA) in wine and cork stoppers, analyzes obstacles to the detection of TCA, and summarizes the currently available analytical methods for TCA in wine and cork stoppers. Sample pretreatment methods are classified by their principles, and their definitions, characteristics and applications for TCA detection in wine and cork stoppers are discussed. Also summarized are the characteristics and applications to detect TCA in wine and cork stoppers of different analytical instruments. To conclude, the combination of extraction techniques and instrumental detection enables the condensation and analysis of TCA in wine and cork stoppers.

Key words: 2,4,6-trichloroanisole (TCA); wine; cork stoppers; detection methods

中图分类号: TS262.6; TS207.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2014) 15-0304-06

doi:10.7506/spkx1002-6630-201415060

随着生活水平的提高,人们越来越关注葡萄酒的品质问题。其中2,4,6-三氯苯甲醚(2,4,6-trichloroanisole, TCA)的污染是葡萄酒行业目前所面临的最严重的问题之一,它直接影响到葡萄酒的品质。TCA是由软木塞中的氯酚在曲霉菌、青霉菌、木霉菌等微生物的作用下甲基化产生的。TCA呈木塞味,性质稳定,尤其是灌瓶后渗透到葡萄酒中的TCA比葡萄酒本身更稳定^[1]。美国食品药品监督管理局提供的研究报告表明,由软木塞迁移到葡萄酒中的TCA质量浓度为2.4~210.0 ng/L^[1-2],而消费者不可接受的TCA异味的阈值水平一般在3.1 ng/L左右^[3]。据估计,2%~5%的葡萄酒会受到TCA污染^[2,4],全球每年因此而造成的葡萄酒损失达到100亿美元。

葡萄酒中的TCA在极低含量(ng/L水平)时就可产生木塞味,这要求检测TCA含量的方法灵敏度极高。目前,国内外检测葡萄酒和软木塞中TCA的方法较多。前处理方法有固相微萃取、液液微萃取和免疫亲和固相萃取,其中以顶空固相微萃取的使用为主。仪器检测方法有气相色谱-电子捕获检测器、气相色谱-质谱联用法以及其他检测方法(如离子流动性光谱法、酶联免疫分析),其中以气相色谱-电子捕获检测器和气相色谱-质谱联用法的使用为主。本文对近几年来葡萄酒和软木塞中TCA的前处理方法和仪器分析方法进行了概述和讨论,旨在为相关研究提供文献基础。

收稿日期: 2014-03-15

基金项目: 国家质检总局科技项目(2011KJ39; 2012KJ31); 江苏省科技厅科技计划项目(BE2009560)

作者简介: 张亚莲(1988—),女,硕士研究生,研究方向为食品质量与安全。E-mail: drecoy11988@163.com

*通信作者: 王岁楼(1961—),男,教授,博士,研究方向为食品质量与安全。E-mail: cpuwsl@126.com

1 前处理方法

TCA在葡萄酒中的含量极低,需要采用富集倍数高的前处理方法提取。在测定软木塞中的TCA时,检测的是软木塞可转移到葡萄酒中的TCA含量。一般先将软木塞在一定浓度的乙醇溶液(模拟葡萄酒基质)中浸泡或超声一段时间,再对浸泡液进行提取浓缩。目前国内外文献报道的检测葡萄酒和软木塞浸泡液中TCA的前处理方法有固相微萃取、液液微萃取和免疫亲和固相萃取法。

1.1 固相微萃取

固相微萃取是目前国内外较为常用的一种样品前处理和富集技术,其操作简单、无需有机溶剂、分析速度快、可自动化,是大部分实验室在对葡萄酒和软木塞中痕量TCA提取时首选的前处理方法。目前,常用的固相微萃取技术有顶空固相微萃取、搅拌棒吸附萃取和浸入式固相微萃取。影响TCA固相微萃取效果的因素有:纤维涂层的种类和厚度、萃取温度、萃取时间、振动速率(搅拌速率)、离子浓度和溶液pH值等,需要对这些因素进行优化,以达到最优的萃取效果。

1.1.1 顶空固相微萃取(headspace solid-phase microextraction, HS-SPME)

HS-SPME是将涂有高分子固相液膜的石英纤维停放在样品溶液上方,吸附挥发出来的待测物,然后将纤维头插入进样口解吸,供气相色谱分析。该方法不与样品基质接触,避免了基体干扰,是目前挥发性化合物较为常用的一种前处理方法^[1]。邓晓军等^[1]比较了采用不同纤维涂层时TCA的回收率,最终选取75 μm 碳分子筛/聚二甲基硅氧烷(CAR/PDMS)涂层纤维头对葡萄酒中TCA进行HS-SPME,采用2,4,6-三氯甲苯作为内标,用气相色谱串联离子阱质谱法(gas chromatography-tandem ion trap mass spectrometry, GC-ITMS)检测,测得TCA的定量限(limit of quantitation, LOQ)为2.0 ng/L。张素娟等^[4]采用50/30 μm 聚二乙烯基苯/碳分子筛/聚二甲基硅氧烷(DVB/CAR/PDMS)涂层纤维头对葡萄酒中的TCA进行超声波辅助顶空固相微萃取,用气相色谱电子捕获检测器(gas chromatography-electron capture detection, GC-ECD)检测,其LOQ为0.5 ng/L。国际标准化组织建立了软木塞中TCA的检测标准(ISO 20752—2007)^[5]:采用12%乙醇模拟葡萄酒基质,将软木塞在12%乙醇中浸泡(24 $\pm$ 2) h,用100 μm 聚二甲基硅氧烷(PDMS)涂层纤维头对浸泡液进行HS-SPME,应用GC-ECD或气相色谱串联四极杆质谱检测器(gas chromatography-tandem quadrupole mass spectrometry, GC-MS)测定TCA,其LOQ可达到0.5 ng/L。Riu^[6]、Alzaga^[7]、Zapata^[8]、陈树兵^[9]等也在研究中使用HS-SPME对葡萄酒中TCA进行萃

取。由于HS-SPME具有富集倍数高、操作简单易行、完全自动化的特点,大多数学者均选择HS-SPME检测葡萄酒和软木塞中的TCA。它是目前检测TCA最为常用的一种前处理技术。

在采用HS-SPME分析葡萄酒和软木塞中的TCA时,常用的纤维涂层有:75 μm CAR/PDMS、50/30 μm DVB/CAR/PDMS、100 μm PDMS和65 μm PDMS/DVB。75 μm CAR/PDMS适合分析气体和低相对分子质量化合物,50/30 μm DVB/CAR/PDMS适合分析芳香化合物(挥发性和半挥发性C3~C20),100 μm PDMS适合分析非极性挥发性物质,65 μm PDMS/DVB适合分析挥发性物质、胺类、硝基芳香类化合物。这些纤维萃取头均含有PDMS,其为非极性涂层,对非极性物质如挥发性化合物、多环芳烃、芳香烃等的提取具有较好的效果。将CAR、DVB这些聚合物加到涂层中,可增大涂层的表面积,提高HS-SPME的萃取效率。

1.1.2 搅拌棒吸附萃取(stir bar sorptive extraction, SBSE)

SBSE是一种新型固相微萃取样品前处理技术,它是将PDMS套在内封磁芯的玻璃管上作为萃取涂层,对样品中的待测物进行吸附,待萃取完成后,通过热解吸仪对待测物进行热解吸,供气相色谱分析^[10]。HS-SPME和IS-SPME用到的纤维头最多只可涂布0.6 μL PDMS,而SBSE用到的纤维头最多可涂布24 μL PDMS,这使SBSE的理论吸附量是它们的40倍^[11]。SBSE固定相体积大大增加,提高了方法的灵敏度,适用于样品中超痕量组分的分析^[11-12]。而且SBSE无需外加搅拌子,可避免竞争性吸附,能在自身搅拌的同时实现萃取富集^[10,12]。

Maggi等^[11]比较了SBSE、HS-SPME和IS-SPME对葡萄酒中TCA的提取,3种方法萃取后均用GC-ITMS检测,结果显示用SBSE提取TCA灵敏度最高,检测限(limit of detection, LOD)和LOQ分别为0.03、0.10 ng/L。Vestner等^[13]将软木塞置于10%乙醇(模拟葡萄酒基质)中,室温下浸泡24 h或者超声辅助萃取软木塞中TCA,然后采用0.5 mm PDMS搅拌棒对软木塞浸泡液进行萃取,用GC-MS测得其LOQ可达到0.7 ng/L。

1.1.3 浸入式固相微萃取(immersion solid-phase microextraction, IS-SPME)

IS-SPME是将涂有高分子固相液膜的石英纤维直接插入到样品溶液或气样中,吸附其挥发或半挥发性成分,待吸附完成后,将纤维萃取头插入进样口进行解吸,供气相色谱分析^[11,14]。Maggi等^[11]采用100 μm PDMS纤维萃取头在室温、700 r/min下对葡萄酒样品进行IS-SPME,同时用相同的纤维萃取头在35 $^{\circ}\text{C}$ 、700 r/min条件下对葡萄酒样品进行HS-SPME,然后均用GC-ITMS检测,结果显示IS-SPME的灵敏度较高,测得TCA的LOD为0.46 ng/L。

1.2 液液微萃取

液液微萃取是使用少量的有机溶剂(<200 μL)对相对大量液体进行萃取。它是基于物质在有机相与水相间的平衡,通过大大减少有机相与水相的体积比,以提高富集倍数,有利于减少基体干扰,是近几年发展较快的一种新型前处理技术。它可将目标物的萃取、纯化、浓缩集中在一步操作中完成,而且成本低,不使用萃取纤维避免了纤维易损的缺点^[15-17],为葡萄酒和软木塞中TCA的提取提供了一种新的前处理方法。一些不具备固相微萃取条件的实验室,可通过液液微萃取法来实现对痕量物质的提取浓缩。目前用于TCA提取的液液微萃取技术有基于有机溶剂的顶空单液滴微萃取、基于离子液体的顶空单液滴微萃取、分散液液微萃取和超声辅助乳化液液微萃取。影响液液微萃取效率的因素主要有:萃取溶剂(和/或分散剂)、萃取温度、萃取时间、样品pH值和离子强度等,需要对这些因素进行考察,以得到最优的萃取效率。

1.2.1 基于有机溶剂的顶空单液滴微萃取(organic solvent-based headspace single drop microextraction, OS-HS-SDME)

OS-HS-SDME是指取微量进样器,吸取一定体积(一般为几微升)的有机萃取溶剂,将其插入样品瓶,然后将萃取溶剂挤出使其悬挂于微量进样器针尖的顶端,并使针尖暴露在样品溶液上空(一般距离1 cm),待萃取完成后抽回萃取液滴并将微量进样器从样品瓶中拔出,直接将此液滴注射到气相色谱中分析的过程,是一种使用有机溶剂最少的液液微萃取技术^[15-19]。

Martendal等^[15]采用微量进样器吸取2 μL 1-正辛醇萃取溶剂,顶空单液滴微萃取20 mL干红葡萄酒和合成葡萄酒(成分:11%乙醇(体积分数)、0.25 g/mL酒石酸、0.30 g/mL乳酸和0.60 g/mL丙三醇)样品中TCA,并用GC-ECD检测,其LOD为8.1 ng/L。该方法成本低,分析速度快,同时避免了HS-SPME中纤维涂层易损的缺点。但有机萃取溶剂体积小,易挥发、稳定性低,导致该方法的重现性低。

1.2.2 基于离子液体的顶空单液滴微萃取(ionic liquid-based headspace single drop microextraction, IL-HS-SDME)

IL-HS-SDME与OS-HS-SDME唯一不同的是,使用的萃取溶剂是离子液体。离子液体是指在室温及接近室温下完全由阴阳离子组成的呈现液态的物质,是一类新型的软介质和功能材料,其一般是由体积相对较大的有机阳离子和体积较小的无机阴离子构成,常见的有咪唑离子、吡啶离子、烷基铵盐等阳离子和卤素离子、含F、P、S的离子等阴离子^[20]。与传统有机溶剂相比,离子液体是一种新型绿色溶剂,具有低挥发性、热稳定强、黏度大、双重极性、高疏水性等优点^[20-23]。

Marquez-sillero等^[21]对2 mL葡萄酒样品进行固相萃取净化后,将所得溶液用高纯水稀释至8 mL,然后采用微量进样器在其尖端吸附2 μL 离子液体并置于稀释液上空1 cm处,吸附葡萄酒样品中的TCA,最后用离子流动性光谱法(ion mobility spectrometry, IMS)检测。他们考察了1-己基-3-甲基咪唑双(三氟甲基磺酰基)亚胺盐([Hmim][NTf₂])、1-辛基-3-甲基咪唑六氟磷酸盐(Omim-PF₆)和1-己基-3-甲基咪唑六氟磷酸盐(Hmim-PF₆)3种离子液体,结果显示三者的提取效率均很高,但[Hmim][NTf₂]在使用IMS检测时不产生干扰信号,故选取[Hmim][NTf₂]离子液体对葡萄酒中TCA进行提取,在上述条件下TCA的LOD为0.2 ng/L。该方法降低了分析成本,减少了对环境的污染,精密度高。

1.2.3 分散液液微萃取(dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME)

DLLME是根据待测物在水相(样品溶液)和有机相(萃取剂和分散剂)之间的不同分配系数,通过待测物在两相间的分配进行萃取富集,其中分散剂的作用是使样品与萃取溶剂间形成较大的接触面,有利于分析物在萃取溶剂中的快速提取,几秒内即可达到萃取平衡^[19,24-25]。其操作过程一般是,将含有微升级萃取溶剂的分散剂(毫升级,一般为1~2 mL)通过微量注射器快速注入到含样品液(毫升级)的离心管中,轻轻振荡使其形成浑浊液,待达到平衡后高速离心,用微量进样器吸取一定量的萃取溶剂供分析仪器测定^[24]。该方法保持了SDME使用萃取剂体积小的优点,保持了较高的富集倍数;同时它也避免了萃取剂微滴体积小带来的不稳定性,加快了萃取速度,是一种有发展潜力的分离富集技术^[19]。

Pizarro等^[25]采用微量进样器吸取173 μL 三氯甲烷萃取溶剂和1.43 mL丙酮分散剂快速注入到5 mL葡萄酒样品中,振荡形成由分散在葡萄酒样品内的三氯甲烷微珠组成的浑浊液,室温下不加盐萃取葡萄酒中TCA,待萃取完成后离心,用微量进样器吸取有机相注入到进样小瓶中供GC-ITMS分析,其LOD为0.5 ng/L。

1.2.4 超声辅助乳化液液微萃取(ultrasound-assisted emulsification liquid-liquid microextraction, USAEME)

USAEME是利用超声波使样品溶液中微升级的有机萃取溶剂发生均匀乳化,并迅速达到传质平衡,高效萃取样品中的待测物,离心分离水相和有机相,用微量进样器吸取有机相直接用于气相或气质分析的一种分离富集技术^[26-27]。

Fontana等^[27]取5 mL葡萄酒样品,向其加入25 μL 三氯乙烯萃取溶剂,在20 $^{\circ}\text{C}$ 超声5 min,待其乳化后高速离心以破坏乳化液分离两相,离心后使三氯乙烯萃取溶剂保留在锥形管底部10 μL ,用5 μL 微量进样器吸取1 μL 三氯乙烯进样,用GC-ITMS分析,其LOD为0.7 ng/L。该方法降低了LOD,使其灵敏度提高。

1.3 免疫亲和固相萃取

除了以上萃取方法外,有学者还采用免疫亲和固相萃取对葡萄酒中TCA进行提取。免疫亲和固相萃取是基于抗原抗体反应,免疫亲和柱中含有和待测物相结合的凝胶,样品中待测物经提取、过滤、稀释,然后缓慢通过免疫亲和层析柱,再经过洗涤将未被结合的物质除去,最后将待测物洗脱下来进行分析。Sanvicens等^[28]将葡萄酒样品用磷酸盐缓冲液稀释,再采用IS90免疫亲和柱对稀释液进行免疫亲和固相萃取,然后用酶联免疫吸附检测TCA,其LOD为440 ng/L。该方法特异性强、成本低,但灵敏度不高。

2 仪器检测方法

TCA为弱极性半挥发性有机化合物,且在葡萄酒中的含量极低,检测葡萄酒和软木塞中TCA含量的方法多使用气相色谱-电子捕获检测器、气相色谱-质谱联用法,有学者也使用离子流动性光谱法、酶联免疫吸附分析方法。

2.1 气相色谱-电子捕获检测器(gas chromatography-electron capture detection, GC-ECD)

TCA分子中含有3个氯原子,电负性较强,许多学者使用ECD检测葡萄酒和软木塞中的TCA,其选择性好、灵敏度高。ISO 20752—2007^[5]采用GC-ECD检测软木塞浸泡液中的TCA,其LOQ为0.5 ng/L。Riu等^[6]采用HS-SPME对干白、干红葡萄酒中的TCA进行提取浓缩,GC-ECD检测其含量,结果测得在两种基质中的LOQ分别为5、8 ng/L。Alzaga等^[7]也曾采用HS-SPME-GC-ECD技术对葡萄酒中TCA进行提取和检测,测得TCA的LOQ为2.9 ng/L。张素娟^[4]、Martendal^[15]、卫晓红^[29]等均在研究TCA的过程中使用GC-ECD对其进行分析。

2.2 气相色谱-质谱联用法

目前,用于检测葡萄酒和软木塞中TCA的气相色谱质谱联用法中,气相色谱串联四极杆质谱法、气相色谱串联离子阱质谱法使用较多,气相色谱串联三重四极杆质谱法使用较少。

2.2.1 气相色谱串联四极杆质谱法

与GC-ECD相比,GC-MS定性更可靠,选择性和灵敏度更高。ISO 20752—2007^[5]在采用HS-SPME对软木塞浸泡液中的TCA进行提取后,GC-ECD检测,同时又用GC-MS对TCA进行确认:以其质荷比(m/z) 210、212为TCA的定性离子,以 m/z 195为TCA的定量离子,其LOQ为0.5 ng/L。Vestner等^[13]采用超声波辅助搅拌棒吸附萃取对软木塞中TCA进行提取,然后采用EI离子源,GC-MS选择离子检测模式检测TCA,以其 m/z 210、212为定量

离子,内标法定量,测得的LOQ为0.7 ng/L。刘卿等^[30]采用固相微萃取气相色谱负化学源电离的质谱联用法检测葡萄酒中的TCA,选择离子监测模式下,以 m/z 174.2、176.2、210.1、212.1为TCA的定性离子,其中 m/z 174.2又作为TCA的定量离子,内标法定量,测得LOQ为0.2 ng/L。

2.2.2 气相色谱串联离子阱质谱法(gas chromatography-tandem ion trap mass spectrometry, GC-ITMS)

离子阱质谱检测器可实现时间上的串联,进行多级质谱扫描,灵敏度高,扫描质量范围大,应用范围广。邓晓军等^[1]采用HS-SPME对葡萄酒中TCA进行提取,GC-ITMS检测:选取 m/z 210作为母离子,对其进行子离子全扫描,发现主要的子离子 m/z 195的峰强度比较高,以其作为TCA的定性、定量离子,检测到的LOQ为2.0 ng/L。Pizarro等^[25]采用DLLME处理样品,然后用EI离子源,GC-ITMS检测葡萄酒中TCA,其定性离子和定量离子分别为一级质谱特征离子峰 m/z 195和二级质谱特征离子峰 m/z 167,测得LOD为5 ng/L。Fontana等^[27]采用USAEME前处理方法,GC-ITMS多反应监测模式(MRM)检测葡萄酒中的TCA,以其一级质谱特征离子峰 m/z 197为TCA的定量离子,以其二级质谱特征离子峰 m/z 167为TCA的定性离子,其LOD为0.7 ng/L。

2.2.3 气相色谱串联三重四极杆质谱法(gas chromatography-tandem triple quadrupole mass spectrometry, GC-MS-MS)

GC-MS-MS可进行多反应监测模式,其抗干扰能力强,定性能力强,分析时间短。陈树兵等^[9]采用100 μ m PDMS纤维萃取头对葡萄酒中TCA进行HS-SPME,用HP-5毛细管柱(30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μ m),GC-MS-MS多反应监测模式检测TCA,其定性离子和定量离子分别为 m/z 166.9、 m/z 195.0,外标法定量,测得LOD为0.01 ng/L,灵敏度高。

2.3 其他检测方法

除上述检测方法外,一些学者还使用离子流动性光谱法、酶联免疫吸附分析、多孔生物检测器和电子鼻等方法。

2.3.1 离子流动性光谱法(ion mobility spectrometry, IMS)

IMS是利用气相离子在弱电场中的迁移率来测定物质的方法。它的原理与飞行时间质谱相似,主要区别是IMS不需要真空^[31]。它体积小、质量轻、耗能少、价格便宜、灵敏度高、适用范围广,能用于在线分析,但选择性差、线性范围窄。Marquez-Sillero等^[21]采用基于离子液体的顶空单液滴微萃取处理葡萄酒样品,以氙作为离子源,在负离子模式下,使用IMS检测葡萄酒中TCA,其LOD和LOQ分别可达到0.2、0.66 ng/L。该方法成本低,分析速度快,所用仪器设备简单。

2.3.2 酶联免疫吸附分析法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)

ELISA是将抗原抗体反应的高度特异性和酶的高效催化作用相结合而建立的一种免疫分析方法,其主要是基于抗原或抗体能吸附至固相载体的表面并保持其免疫活性,抗原或抗体与酶形成的酶结合物仍保持其免疫活性和酶催化活性^[32]。Sanvicens等^[33]采用As78抗血清与C9-OVA卵清蛋白作为包被抗原,使用羊抗兔IgG抗体,然后用ELISA检测干白、干红葡萄酒中的TCA,其LOD分别为200 ng/L和1 μ g/L;在半数抑制浓度 IC_{50} 大于5 000 nmol/L时,除2,4,6-三溴苯甲醚外,TCA与其他结构类似物不存在交叉反应。ELISA特异性强,但灵敏度不高,对于葡萄酒中更低浓度TCA的检测会受到其他结构类似物的竞争限制。

2.3.3 多孔生物检测器法

细胞生物传感器是以哺乳动物细胞为基础并用生物电识别检测。生物电识别检测是基于细胞膜内含有人工制造的待测物特异性抗体,可与样品中的待测物结合,使固定细胞的膜电位改变并对其识别,从而对待测物进行检测^[34]。Varelas等^[34]按照ISO 20752—2007标准^[5]将软木塞置于体积分数为12%的乙醇中浸泡,然后采用以生物电识别检测为基础的细胞生物传感器检测软木塞浸泡液和葡萄酒中TCA,其能够在几分钟内检测到0.1 ng/L水平的TCA。该方法具有超高的灵敏度、超快的检测速度以及低成本检测的特点,是一种快速检测TCA的新型技术。

2.3.4 电子鼻法

电子鼻是以模拟天然气味识别系统为特征,通过具有交叉选择性的传感器阵列与合适的数据处理技术相配合,来检测样品中待测物的一种技术^[35]。Santos等^[36]使用基于薄膜半导体感受器的电子鼻检测葡萄酒中TCA的阈值,并与人类感官陪审团的检测值比较,结果显示电子鼻有一定的优势。该方法可用于TCA的阈值检测,不适于TCA的准确定性与定量,应用范围较小。

3 结 语

综上所述,在对葡萄酒和软木塞浸泡液进行TCA萃取的方法中,早期固相微萃取技术的应用较为广泛,其中又以HS-SPME的使用为主。固相微萃取操作简单、分析速度快、无需有机溶剂,集采样、萃取、浓集、进样于一体,但是固相微萃取使用萃取纤维,萃取纤维有易损的缺点,且固相微萃取对仪器的依赖度较高。而近几年液液微萃取技术因其成本低、富集倍数高,在TCA的检测中发展较快,成为固相微萃取技术的有力补充。仪器检测方法中多使用气相色谱-电子捕获检测器和气相色

谱质谱联用法,由于TCA含有3个氯原子,因而电负性较强,使用电子捕获检测器的灵敏度完全可以满足检测要求。而气相色谱质谱联用法的抗干扰能力和定性能力更强。HS-SPME和气相色谱质谱联用法相结合,从前处理到分析检测完全自动化,操作简单,分析速度快,适用于大批量分析,是目前TCA检测中应用最为广泛的方法。

目前,液液微萃取技术在葡萄酒和软木塞的TCA萃取中应用较少。但液液微萃取技术具有成本低、使用设备简单的优势,这将推动其在TCA萃取中的广泛使用。同时,随着气相色谱分离技术和质谱检测能力的不断提高,气相色谱-质谱联用法在TCA检测分析中的应用会越来越广泛,这将对葡萄酒和软木塞中TCA的检测研究起到巨大的促进作用。

参考文献:

- [1] 邓晓军,郭德华,李波,等.葡萄酒中痕量木塞污染物的顶空固相微萃取-气相色谱串联质谱法检测[J].分析测试学报,2008,7(12): 1375-1378.
- [2] 钟其顶,刘明,熊正河,等.红葡萄酒中2,4,6-三氯苯甲醚(TCA)感官阈值的研究[J].中外葡萄与葡萄酒,2010(9): 13-16.
- [3] 张哲琦,李艳.气相色谱电子捕获技术分析检测葡萄酒及软木塞中TCA的研究进展[J].酿酒科技,2013(9): 82-85.
- [4] 张素娟,梁宝爱,孙丽萍,等.超声波辅助-顶空固相微萃取-气相色谱法测定葡萄酒中痕量2,4,6-三氯苯甲醚[J].食品工程,2012(1): 44-48.
- [5] International Standard Organization. ISO 20752—2007 Cork stoppers-determination of releasable 2,4,6-trichloroanisole (TCA)[S]. Switzerland: ISO Copyright Office, 2007.
- [6] RIU M, MESTRES M, BUSTO O, et al. Determination of 2,4,6-trichloroanisole in wines by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-electron-capture detection[J]. Journal of Chromatography A, 2002, 977(1): 1-8.
- [7] ALZAGA R, ORTIZ L, SANCHEZ-BAEZA F, et al. Accurate determination of 2,4,6-trichloroanisole in wines at low parts per trillion by solid-phase microextraction followed by GC-ECD[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(12): 3509-3514.
- [8] ZAPATA J, MATEO-VIVARACHO L, CACHO J, et al. Comparison of extraction techniques and mass spectrometric ionization modes in the analysis of wine volatile carbonyls[J]. Analytica Chimica Acta, 2010, 660(1): 197-205.
- [9] 陈树兵,孟原,施瑛,等.顶空-固相微萃取-气相色谱串联质谱法测定葡萄酒中多种氯酚及氯代茴香醚[J].食品科学,2012,33(16): 146-149.
- [10] 许志刚,胡玉玲,李攻科.搅拌棒吸附萃取技术的研究进展[J].分析化学,2011,39(11): 1766-1773.
- [11] MAGGI L, ZALACAIN A, MAZZOLENI V, et al. Comparison of stir bar sorptive extraction and solid-phase microextraction to determine halophenols and haloanisoles by gas chromatography-ion trap tandem mass spectrometry[J]. Talanta, 2008, 75(3): 753-759.
- [12] 李广庆,马国辉.固相萃取技术在食品痕量残留和污染分析中的应用[J].色谱,2011,29(7): 606-612.
- [13] VESTNER J, FRITSCH S, RAUHUT D. Development of a microwave assisted extraction method for the analysis of 2,4,6-trichloroanisole in cork stoppers by SIDA-SBSE-GC-MS[J]. Analytica Chimica Acta, 2010, 660(1): 76-80.
- [14] 张军翔,冯长根,李华,等.浸入式固相微萃取GC-MS联用测定赤霞珠葡萄酒中挥发性成分[J].酿酒科技,2006(5): 95-97.

- [15] MARTENDAL E, BUDZIAK D, CARASEK E. Application of fractional factorial experimental and box-behnken designs for optimization of single-drop microextraction of 2,4,6-trichloroanisole and 2,4,6-tribromoanisole from wine samples[J]. *Journal of Chromatography A*, 2007, 1148: 131-136.
- [16] 相素云, 相秉仁. 顶空单液滴微萃取-气相色谱法测定水中卤代烃和烷基苯的含量[J]. *中国药科大学学报*, 2007, 38(4): 336-339.
- [17] 周建科, 韩康, 张前莉, 等. 顶空单液滴微萃取-气相色谱法检测马来酸氯苯那敏中苯系物残留量[J]. *药物分析杂志*, 2006, 26(10): 1480-1482.
- [18] 王帅斌, 谢建春, 孙宝国. 顶空单液滴微萃取在挥发性成分分析中的应用进展[J]. *食品科技*, 2007(10): 25-29.
- [19] 邓勃. 一种新的液液萃取模式-分散液液微萃取[J]. *现代科学仪器*, 2010, 20(3): 123-130.
- [20] 孙伟, 高瑞芳, 焦奎. 离子液体在分析化学中应用研究进展[J]. *分析化学*, 2007, 35(12): 1813-1819.
- [21] MARQUEZ-SILLERO I, AGUILERA-HERRADOR E, CARDENAS S, et al. Determination of 2,4,6-trichloroanisole in water and wine samples by ionic liquid-based single-drop microextraction and ion mobility spectrometry[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2011, 702(2): 199-204.
- [22] VALLECILLOS L, POCURULL E, BORRULL F. Fully automated ionic liquid-based headspace single drop microextraction coupled to GC-MS/MS to determine musk fragrances in environmental water samples[J]. *Talanta*, 2012, 99: 824-832.
- [23] 张文慧, 姜延福, 吕志华, 等. 基于离子液体的单滴微萃取-毛细管电泳在线联用测定水体中3种溴酚类化合物[J]. *色谱*, 2013, 31(7): 656-660.
- [24] 屈晓萍, 傅晓钦. 分散液-液微萃取技术在水中有机污染物测定中的应用进展[J]. *现代科学仪器*, 2012, 22(4): 14-18.
- [25] PIZARRO C, SÁENZ-GONZÁLEZ C, PÉREZ-DEL-NOTARIO N, et al. Development of a dispersive liquid-liquid microextraction method for the simultaneous determination of the main compounds causing cork taint and brett character in wines using gas chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2011, 1218(12): 1576-1584.
- [26] 虞锐鹏, 车金水, 何恩奇, 等. 超声辅助乳化液液微萃取-气相色谱-质谱分析水中的人工合成麝香[J]. *分析化学*, 2012, 40(1): 159-163.
- [27] FONTANA A R, PATIL S H, BANERJEE K, et al. Ultrasound-assisted emulsification microextraction for determination of 2,4,6-trichloroanisole in wine samples by gas chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(8): 4576-4581.
- [28] SANVICENS N, MOORE E J, GUILBAULT G G, et al. Determination of haloanisols in white wine by immunosorbent solid-phase extraction followed by enzyme-linked immunosorbent assay[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54(24): 9176-9183.
- [29] 卫晓红, 李燕, 张燕, 等. 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)[J]. *酿酒科技*, 2010(4): 92-93.
- [30] 刘卿, 钟其顶, 李敬光, 等. 固相微萃取-气相色谱-负化学源质谱法测定葡萄酒中2,4,6-三氯苯甲醚[J]. *卫生研究*, 2012, 41(4): 642-645.
- [31] 李芳, 谢志永, SCHMIDT H, 等. 一种新颖的在线监测仪器: 离子流动光谱仪[J]. *光谱学与光谱分析*, 2002, 22(6): 1025-1029.
- [32] 马颀, 任珊, 许美玉. 酶联免疫吸附技术在食品安全检测中的应用[J]. *食品科技*, 2008(1): 200-204.
- [33] SANVICENS N, VARELA B, MARCO M P, et al. Immunochemical determination of 2,4,6-trichloroanisole as the responsible agent for the musty odor in foods. 2. immunoassay evaluation[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51(14): 3932-3939.
- [34] VARELAS V, SANVICENS N, M-PILAR-MARCO, et al. Development of a cellular biosensor for the detection of 2,4,6-trichloroanisole(TCA)[J]. *Talanta*, 2011, 84(3): 936-940.
- [35] GÖPEL W. 从电子鼻到生物电子鼻: 人鼻和MOSES人工鼻的嗅觉感受[J]. *化学传感器*, 1998, 18(4): 1-20.
- [36] SANTOS J P, LOZANO J, ALEIXANDRE M, et al. Threshold detection of aromatic compounds in wine with an electronic nose and a human sensory panel[J]. *Talanta*, 2010, 80(5): 1899-1906.