

采用 LC/MS/MS 测定侧流卷烟烟气中挥发性羰基化合物的方法研究

严莉红, 易小丽, 周 骏, 白若石, 何爱军

北京卷烟厂 北京市朝阳区管庄西里 42 号 100024

摘 要:挥发性羰基化合物是卷烟烟气中的一类重要有害物质,准确测定卷烟烟气中,特别是侧流卷烟烟气中的挥发性羰基化合物还有许多问题有待解决。实验中采用 2,4-二硝基苯肼(DNPH)酸性溶液捕集侧流烟气中的羰基化合物,乙腈水溶液稀释后,以对羟基苯甲酸丁酯为内标物,用带有负离子电喷雾的 LC/MS/MS 定量分析侧流烟气中 8 种挥发性羰基化合物。实验证明,此方法有良好的重复性:对 8 种羰基化合物测定的相对标准偏差在 6% 以下;具有较高的灵敏度:8 种挥发性羰基化合物的检出限均低于 2.8 ng/cig;较高的准确性:8 种挥发性羰基化合物的回收率在 87.2%~104.7% 之间。与以往的分析方法相比,该方法具有更高的选择性,实现了烟气中巴豆醛、2-丁酮的 DNPH 衍生物的同分异构体的分离,对巴豆醛、2-丁酮定量更为准确,分析方法的灵敏度也明显提高。

关键词:LC/MS/MS;侧流烟气;挥发性羰基化合物;测定

中图分类号:TS411.2 文献标识码:A 文章编号:1004-5708(2008)05-0007-08

Quantitative analysis of volatile carbonyls in side-stream cigarette smoke by LC/MS/MS

YAN Li-hong, YI Xiao-li, ZHOU Jun, BAI Ruo-shi, HE Ai-jun

Beijing Cigarette Factory, Beijing 100024, China

Abstract: Volatile carbonyls are possible sources of carcinogenicity in cigarette smoke. There are still many problems to be solved in the accurate determination of volatile carbonyls in cigarette smoke, especially in side-stream smoke. In the experiment, cigarette smoke was collected using a Cambridge filter connected to an impinger with acidic solution of 2,4-dinitrophenylhydrazine. The collected volatile carbonyls were extracted with acetonitrile/water solution and analyzed by reversed-phase liquid chromatography coupled with quadrupole tandem mass spectrometry in negative electro-spray ionization mode using butyl paraben as internal standard. Results showed that this method achieved excellent reproducibility and the relative standard deviations were generally below 6%. Limit of detection for every carbonyl was less than 2.8ng/cig. The recoveries and accuracies were in the range of 87.2% to 104.7% and 90.1% to 103.3%, respectively. This new method had higher selectivity and sensitivity compared to conventional methods, and achieved the separation of DNPH-crotonaldehyde and DNPH-methyl-ethyl-ketone isomers successfully.

Key words: LC/MS/MS; side-stream cigarette smoke; volatile carbonyls; determination

挥发性羰基化合物是烟气中的一类重要有害物质,并作为有害物质的一类,列入了烟气 44 种有害化

学成分的“霍夫曼清单”^[1-3]。七十年代以来,有研究报道卷烟中的低级羰基化合物(主要指甲醛、乙醛和丙烯醛等)具有纤毛毒性^[4,5],在卷烟抽吸过程中会不同程度的刺激人体的呼吸系统和感觉器官,长期吸入对人体造成较严重的危害。烟气中一部分醛和酮是由烟草直接转移的结果^[6],在烟草中这些化合物是由非酶棕色化反应所形成的^[7]。然而,大部分这些挥发性化合物是吸烟时从那些前体如糖、果胶、蛋白质以及可能从烟

作者简介:严莉红,女,大学,工程师,主要从事烟气分析研究,

E-mail: ylh1008@yahoo.com.cn

周骏(通讯作者),男,博士,研究员,主要从事烟草化学研究,

E-mail: zhoujun100@sohu.com

基金项目:北京卷烟厂重点科研项目 2005-2

收稿日期:2008-01-10

草中的甘油三酯形成的^[8-11]。目前在烟相中至少已发现有20种醛和6种酮,其中含量最高的是甲醛、乙醛、丙醛、丙烯醛、巴豆醛、糠醛和丙酮。某些挥发性羰基化合物特别是甲醛、丙烯醛及巴豆醛是呼吸道纤毛的毒素,它们与氰化氢一起吸入后,抑制了肺排泄物的清除,从而可导致肺部疾病。目前国内外对大气和食品中存在的甲醛、乙醛和丙烯醛均制定了相应的限量标准^[1],但还没有卷烟烟相中挥发性羰基化合物的限量标准。从吸烟与健康角度出发,系统分析卷烟烟相中的羰基化合物,并定量测定这几种有害物十分必要,并为今后采用新技术降低其含量提供了必要的技术支持。

目前,国内外对于主流卷烟烟相中羰基化合物的分析研究工作比较多。但是相关侧流烟相中挥发性羰基化合物的研究国内外报道的都较少,加拿大健康署公布了一种用液相色谱法测定侧流烟相中挥发性羰基化合物的方法^[12],但没有对方法的重复性、准确性和灵敏度给出评价。赵贤四^[13]等采用气-质联用技术(GC-MS)分析了我国市场常见近20种卷烟主流烟相的有机成分;李炎强^[14]研究了卷烟顶空挥发性成分的快速分析,评价了动态顶空分析、小瓶平衡顶空分析和固相微萃取技术的特点;夏巧玲等^[15]利用顶空分析、GC-MS分析鉴定等技术手段对4个牌号卷烟的顶空成分进行了分析研究。由于卷烟烟相组分复杂,相互干扰大,对于烟相中羰基化合物的分析结果不理想,现在多数的分析方法采用捕集衍生的方式测定挥发性羰基化合物。捕集衍生的方式一般基于羰基的加成反应,与羟胺、肼或氨基脲衍生反应,生成相应衍生物,然后用比色法^[16]、气相色谱^[17-18]或液相色谱^[19-21]进行分析。对烟相中羰基化合物具有代表性的分析方法是加拿大卫生部门采用液相色谱法分析的一个官方方法。在捕集方式的方法中,比色法由于未经分离,即进行测定,过于简单,只能测定羰基化合物的总量。气相色谱法分离效率高,但由于受衍生物沸点的限制,对捕集衍生试剂要求较高,而且丙烯醛和巴豆醛的衍生物在进样或分离时,由于温度较高发生成环反应,导致丙烯醛和巴豆醛的测定结果偏低^[22]。而液相色谱法虽然可以分析高沸点的衍生物,还可以通过改变检测手段,如紫外、荧光、激发光散射等,改变检测的灵敏度,但由于卷烟烟相中存在大量干扰物,用液相色谱不能将干扰物与被测组分完全分离,存在不能准确定量的缺陷。

采用高效液相色谱与质谱检测器联用的方式对羰基化合物进行定量检测是解决上述问题的一个很好的

选择。质谱法则能够准确测定有机物的分子量,提供丰富的结构信息,由于高效液相色谱—串联质谱拥有多种反应监测功能可以实现特定离子对的有效监测,因此提高了分析方法的选择性,即使2种监测物质的保留时间相同,采用液相色谱—串联质谱也可进行很好的定性和定量,这一点比液相色谱/紫外光谱分析方法中所采用的保留时间定性的方法要优越得多。采用HPLC/MS/MS联用技术,可以实现8种羰基化合物的快速分离,有效排除干扰物的影响。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂

Waters2695-QUATTO MICRO液相色谱-质谱联用仪(美国Waters公司),KC-SM5五孔道吸烟机(美国,KC公司),1M1000RHD恒温恒湿箱(澳大利亚,Clayson公司),TZ-2AG台式往复旋转振荡器(北京沃德科仪公司),AP250型电子分析天平(OHAUS公司,感量0.01mg),乙腈(色谱纯,美国,Fisher公司),高纯水,甲醛,2,4-二硝基苯肼衍生化合物标准品(美国,Chemservice公司,纯度 $\geq 99.0\%$),2-丁酮,2,4-二硝基苯肼衍生化合物标准品(美国,Chemservice公司,纯度 $\geq 98.0\%$),丙酮、丙烯醛、丙醛、巴豆醛、丁醛,2,4-二硝基苯肼衍生化合物标准品(日本,TCI公司),对羟基苯甲酸丁酯标准品(美国,Waters公司提供),2,4-二硝基苯肼(DNPH)为分析纯试剂(北京化学试剂公司,纯度 $\geq 99.0\%$),高氯酸(70%)及吡啶均为分析纯(德国,Fluka公司,吡啶纯度 $\geq 99.0\%$)。

1.2 羰基化合物捕集及衍生化溶液配制

称取5g DNPH固体溶解于800 mL乙腈中,加入524 μL 70%高氯酸后,乙腈定容至1000 mL,得到羰基化合物捕集及衍生化溶液。

1.3 实验方法

1.3.1 侧流卷烟烟相中挥发性羰基化合物的捕集及处理方法

将所用卷烟在恒温恒湿箱中(温度: $22^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$,湿度 $60\% \pm 2\%$)平衡48 h,然后根据重量和吸阻选出合适烟支。在装有剑桥滤片的侧流烟相捕集器之后连接一个250 mL的捕集井,并在捕集井内加入100 mL的羰基化合物捕集及衍生化溶液。打开真空泵,将初级流量计连接于已装好剑桥滤片的侧流烟相捕集器入口处,通过流量控制装置尽快调节流量至 (2.0 ± 0.1) L/min。按照YC/T185-2004对侧流烟相进行捕集,每个剑桥滤片捕集1支卷烟的侧流烟相。卷烟抽吸结束

后,将侧流烟气滤片转移到 250 mL 锥形瓶中,把捕集井中的 100 mL 捕集液倒入锥形瓶中,再用 47 mL 羰基化合物捕集及衍生化溶液清洗鱼尾罩和侧流捕集器与捕集井之间的连接管、捕集井,清洗液收集到 250 mL 的锥形瓶中。用移液枪准确加入 3 mL 吡啶到 250 mL 锥形瓶中,盖好瓶盖,机械震荡 15 min。静置 2 min,萃取液用 0.45 μm 滤膜过滤后,用移液枪转移适量(可根据卷烟样品中羰基化合物的含量适当调节,保证色谱溶液中各羰基化合物的浓度在标准回归曲线的线性范围内,测定一般卷烟样品的移液量为 10 ~ 40 μL ,测定空白时,为 200 μL)的滤液到 10 mL 容量瓶,准确加入

20 μL 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对羟基苯甲酸丁酯作内标,用(40:60)乙腈/水溶液定容,用手摇匀,转移到色谱瓶中,即可进行分析。

1.3.2 液相色谱条件

分析柱: Xbridge phenyl 2.1 \times 150 mm, 5 μm ; 流动相参数: 流速: 0.22 mL/min, 进样量: 10 μL , 梯度: 0-20 min, 乙腈: 水(41% : 59%) 20 min, 乙腈: 水(50% : 50%)。

1.3.3 质谱条件

质谱离子源条件参数见表 1, 分析物质谱测定参数见表 2。

表 1 质谱离子源条件参数

极性(Polarity)	ES-	源温度(Source Temperature)/°C	110
毛细管针头电压(Capillary)/kV	2.7	解离温度(Desolvation Temperature)/°C	350
萃取器(Extractor)/v	2.0	锥孔气流(Cone Gas Flow)(L/h)	50
RF 透镜(RF Lens)/v	0	倍增器(Multiplier)/v	650

表 2 分析物质谱测定参数

分析物	质量数 1(Mass1) /amu	质量数 2(Mass2) /amu	驻流时间(Dwell) /s	锥电压(Cone Volt) /v	柱能量(Col. Energy) /v
对羟基苯甲酸丁酯	193.2	92	0.2	30	25
甲醛	209.1	151.0	0.2	15	9
乙醛	223.2	151.0	0.2	18	8
丙酮	237.1	207.1	0.2	20	11
丙烯醛	235.1	158.0	0.2	20	13
丙醛	237.2	163.1	0.2	18	10
巴豆醛	249.2	121.9	0.2	25	25
2-丁酮	251.2	152.1	0.2	25	15
丁醛	251.2	163.0	0.2	22	11

1.3.4 回归曲线的制作及羰基化合物的定量方法

以 40:60 的乙腈/水溶液为溶剂, 配制系列标准溶液, 内标(对羟基苯甲酸丁酯)浓度为 20 ng/mL, 以标样与内标的峰面积比为纵坐标, 其浓度比为横坐标, 制作标准工作曲线, 求出线性回归方程, 以此计算实验样品中羰基化合物的含量。

1.3.5 实验空白的测定方法

挥发性羰基化合物是一类在环境中普遍存在的化合物, 室内空气通常会含有一定量的甲醛和丙酮等, 在对羰基化合物进行定量分析时, 需要扣除空白。将处理好的滤片放置在抽吸环境中, 按 1.3.1 所述方法进行处理, 用 HPLC/MS/MS 按照 1.3.2、1.3.3、1.3.4

所述进行测定即可得到空白结果。

2 结果讨论

2.1 侧流卷烟烟气中挥发性羰基化合物的捕集方法确定

为考察经 100 mL 的羰基化合物捕集及衍生化溶液捕集侧流烟气羰基化合物的效果, 在 1.3.1 所述的捕集装置后串联了一个盛有 100 mL 的羰基化合物捕集及衍生化溶液的捕集井, 抽吸 1 支卷烟, 分别对剑桥滤片及两个捕集井中的 8 种羰基化合物进行测定。结果表明, 第二级捕集井中仅含有极少量的羰基化合物 (<3%), 说明采用一级捕集的方式就可以较为完全地

捕集侧流烟气中的8种羰基化合物。

据文献报道^[20-21],丙烯醛 DNPH 衍生物在酸性条件下聚合的速度非常快,不稳定,含量随时间增加而快速降低。为了找到适宜的酸度条件,本实验采用5种不同酸度(以100 mL的DNPH乙腈溶液中加入70%的高氯酸的体积表示)的羰基化合物捕集及衍生化溶液,捕集参比卷烟2R4F(由美国肯塔基大学提供)的侧流烟气中的挥发性羰基化合物并进行测定对比。

实验结果表明:100 mL的DNPH乙腈溶液中加入70%的高氯酸低于52.4 μL 时丙烯醛在测定结果偏低,可能由于羰基化合物捕集及衍生化溶液酸度不够,丙烯醛未能完全与DNPH试剂完全反应而造成;高于52.4 μL 时的测定结果也偏低,可能是由于酸度过高,丙烯醛衍生物部分发生了聚合;而且高氯酸的加入量为52.4 μL 时,所有8种挥发性羰基化合物的测定值都最高,说明此条件下的酸度比较合适,丙烯醛能与DNPH完全反应而又基本不发生聚合反应,因此,在实验中我们采用了100 mL的DNPH乙腈溶液中加入70%的高氯酸52.4 μL 的方式。

2.2 液相色谱条件与质谱检测条件的确定

不同色谱柱对8种物质的分离有不同的表现,对比4种(Waters Sunfire C18 2.1 \times 150 mm, 5 μm , Symmetry Shield RP18 2.1 \times 150 mm, 3.5 μm , NOVE-PAK C18 3.9 \times 150 mm, 4 μm , Xbridge phenyl 2.1 \times 150 mm, 5 μm)色谱柱的分离效果, Sunfire、Symmetry Shield 色谱柱对于丙酮和丙烯醛不能达到完全的基线分离; NOVE-PAK 色谱柱在流速0.8 mL/min,混合的二元梯度下能达到色谱峰的完全分离,但流速不能与质谱检测器匹配,需要分流进样,操作比较繁琐;而使用 Xbridge phenyl 2.1 \times 150 mm, 5 μm 色谱柱能不分流进样的条件下实现对8种羰基化合物达到完全基线分离,因此,最终选择了此色谱柱。

实验中考察了乙腈/水、甲醇/水、乙腈/水/四氢呋喃/异丙醇3个体系。除甲醇/水体系分离效果较差以外,另两个体系均能达到好的分离效果。考虑到乙腈/水体系简单实用,我们选择了此流动相体系。

实验中考察了等度洗脱和梯度洗脱。由于所分离的目标化合物数量多,分析样品成分很复杂,采用等度洗脱不能完全分离,而采用梯度洗脱时,8种目标测定成分都可以完全分离,因而采用梯度洗脱方式。

实验中发现羰基化合物在正离子电喷雾的离子化方式下没有任何响应,而在负离子电喷雾条件下有明显的响应,因此实验中采用了负离子电喷雾的离子化

方式。采用手动进样方式将每种羰基化合物标准样品注入离子源中,对其进行一级质谱扫描,可以得到每种羰基化合物的分子离子峰,选取相应的母离子峰,对其进行二级质谱分析,得到碎片离子信息,在离子扫描过程中,调节电离电压大小、锥孔电压大小、汽化温度、吹扫气流量等多个参数,使分子离子与特征离子碎片产生的离子强度达到最大时为最佳。质谱离子源条件参数、分析物质谱测定参数的最佳值见1.3.3。

2.3 侧流卷烟烟气中挥发性羰基化合物的定性

2.3.1 侧流卷烟烟气中挥发性羰基化合物的定性的结果

为了确定8种羰基化合物的DNPH衍生物色谱峰位置,本方法采用①保留时间对照法:比较标准样品和卷烟样品的谱图中色谱的相对保留时间;②单标加入法:将标准样品加入到卷烟样品中,观察色谱峰是否增高;③为排除有杂质峰干扰的可能性,质谱选择多反应监测(MRM)方式,将标准样品和测定样品中各目标化合物的分子离子峰与其特征子离子峰同时对应比较,从而对8种羰基化合物进行定性;④比较标准样品和测定样品中各目标化合物的分子离子峰与其特征子离子峰的丰度比是否一致。通过上述4种方法的验证确定了每一种目标化合物。图1是标准样品、卷烟样品和卷烟样品中加入标准样品后获得的8种羰基化合物DNPH衍生物的色谱质谱总离子流图。

2.3.2 采用HPLC/UV方法定性存在的问题

在主流卷烟烟气中挥发性羰基化合物的测定中,目前最为广泛采用的方法是HPLC/UV法,由于卷烟烟气中存在大量干扰物,HPLC/UV的方法不能将干扰物与被测组分完全分离,存在共流出现象。

图2中的3张图是在同一液相色谱分离条件得到的谱图,HPLC/UV分析方法条件:色谱柱:Nova-Pak[®] C18 3.9 \times 150 mm, 4 μm ;流动相A:水/乙腈/四氢呋喃/异丙醇(59:30:10:1);流动相B:水/乙腈(35:65);梯度洗脱:0 min \rightarrow B:0%, 25 min \rightarrow B:40%;流速:0.8 mL/min;检测波长:365 nm。A为用紫外检测器全扫描得到的。从图中可以发现,除巴豆醛 DNPH 衍生物处有干扰峰出现外,剩下的羰基化合物 DNPH 衍生物没有别的化合物干扰,峰形也很对称,在定量时就会将每个色谱峰作为一种化合物的进行定性和定量。而将同一样品在相同分离条件下用质谱进行全扫描,单独提取质量数为249(巴豆醛 DNPH 衍生物分子量)251(2-丁酮 DNPH 衍生物分子量)的离子时,在2-丁酮 DNPH 衍生物的出峰位置,有质量数为249的物

质存在,而在巴豆醛 DNPH 衍生物的出峰位置,有质量数为 251 的物质存在,同时在乙醛 DNPH 衍生物的出峰位置,也有质量数为 251 的物质存在,因此采用 HPLC/UV 方法可能存在共流出现象,可能造成对乙醛、巴豆醛、2-丁酮的定量不准确。为了确认此问题,本研究采用了高效液相色谱与质谱检测器联用的方式对羰基化合物进行定量检测。利用质谱多反应监测(MRM)方式,将目标样品的母离子分子离子峰与子离子碎片峰同时对应,从而对 8 种羰基化合物进行定性。图 3.A 为 2R4F 烟气中巴豆醛、2-丁酮、丁醛 DNPH 衍生物色谱质谱图,图 3.B、图 3.C 分别是总离子流图中提取巴豆醛 DNPH 衍生物和 2-丁酮 DNPH 衍生物定性离子对 249.2 > 121.9, 251.1 > 152.1 所得到的色谱质谱图。图中可以看出 E-巴豆醛 DNPH 衍生物与 Z-2-丁酮 DNPH 衍生物共流出,E-2-丁酮 DNPH 衍生物与 Z-巴豆醛 DNPH 衍生物共流出。

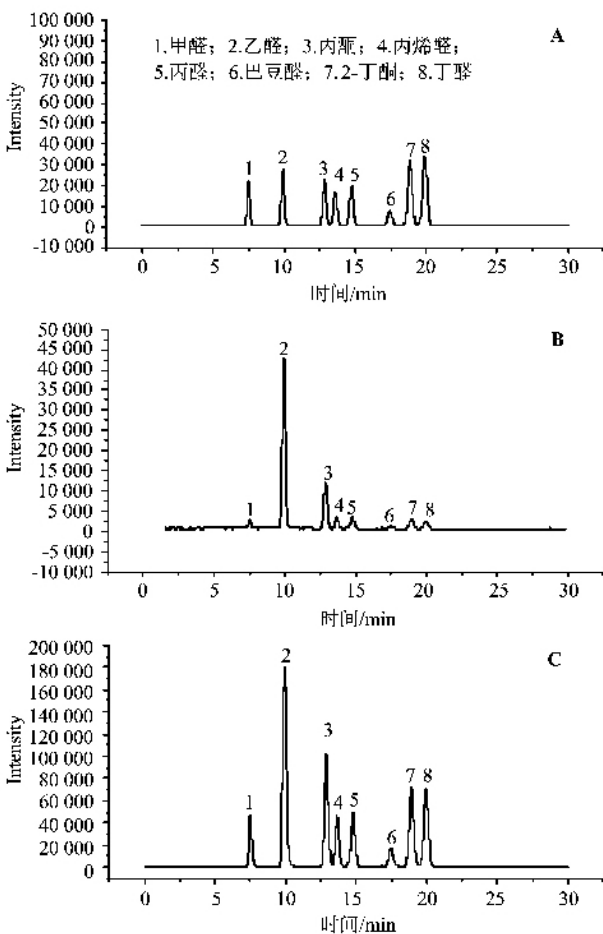


图 1 标准样品(A)、卷烟样品(B)和卷烟样品中加入标准样品(C)后获得的 8 种羰基化合物 DNPH 衍生物的质谱总离子流图

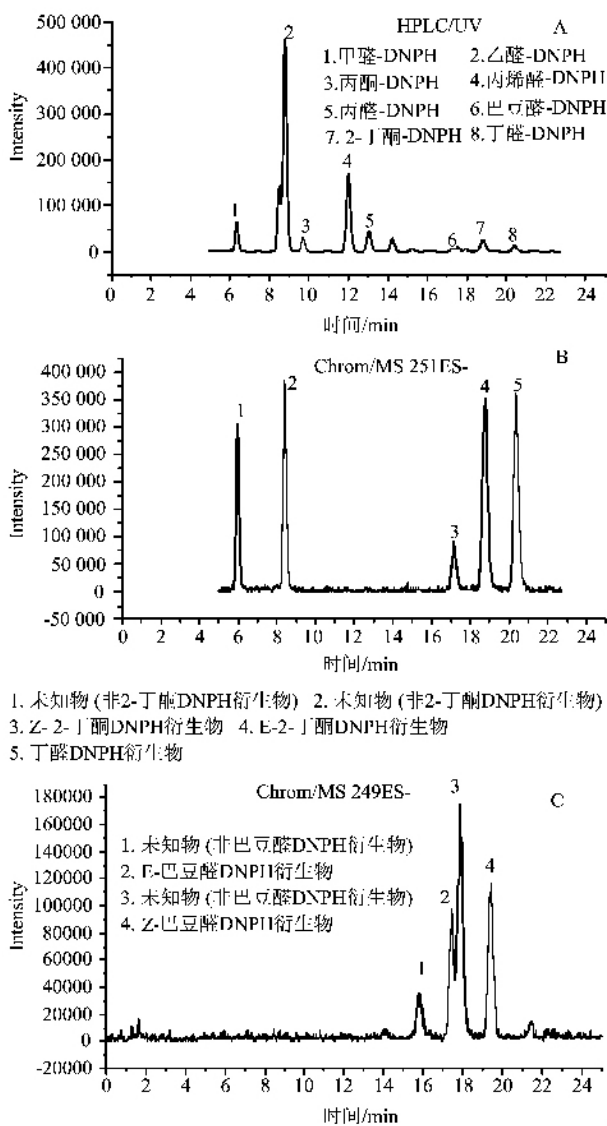


图 2 HPLC/UV 法测定烟气中挥发性羰基化合物存在共流出现象注:图中 A.2R4F 烟气中挥发性羰基化合物的 DNPH 衍生物全扫描图;B. HPLC/MS 质谱全扫描图中提取质量数为 251 的色谱图;C. HPLC/MS 质谱全扫描图中提取质量数为 249 的色谱图

对质量数为 249 和 251 的分子结构进行了探讨,以下 2 张图(图 4、图 5)是对烟草样品中质量数为 249, 251 的分子离子做子离子扫描得到的质谱图。

从子离子扫描质谱图中我们可以看出,图 4 中保留时间为 19.046 和目标化合物巴豆醛衍生物(T = 17.512)的子离子质谱图及图 5 中保留时间为 17.867 和目标化合物 2-丁酮衍生物(T = 19.380)子离子质谱图的主要碎片离子基本一致,且丰度比相近,唯一不同的就是部分碎片离子的丰度略有差异,因此两个干扰物应该与目标化合物互为顺反异构体。

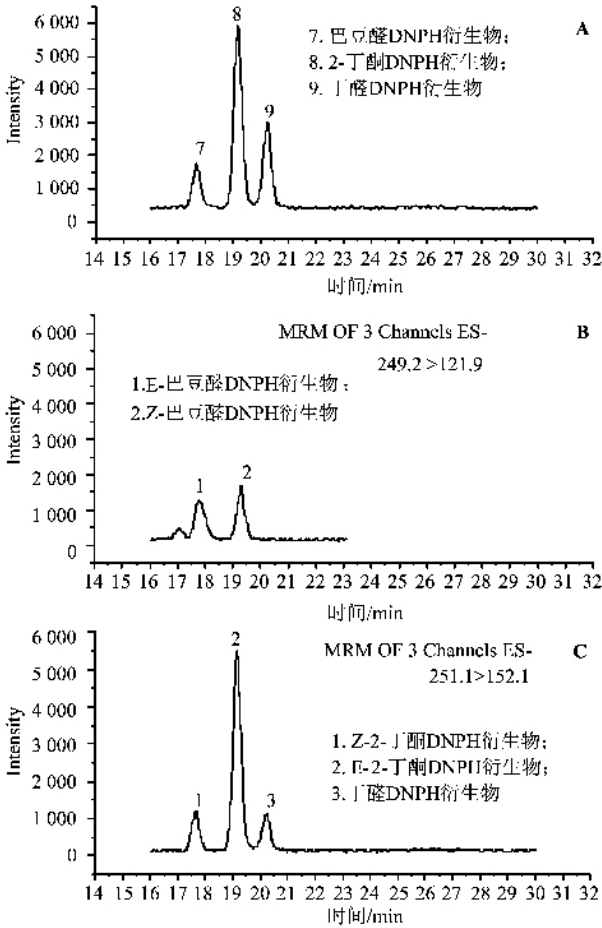


图3 烟气中巴豆醛、2-丁酮同分异构体的共流出物的分离
注:图中 A. 2R4F 烟气中巴豆醛、2-丁酮、丁醛的 DNPH 衍生物总离子流图; B. 巴豆醛的 DNPH 衍生物定性离子对 249 > 121.9 色谱质谱图; C. 2-丁酮的 DNPH 衍生物定性离子对 251.2 > 152.1 色谱质谱图

2.4 工作曲线的制作及线性相关系数

表 4 为 8 种羰基化合物的标准回归曲线的相关数据。从表 3 可知 8 种羰基化合物的标准回归曲线系数 (R²) 都在 0.999 以上,说明 8 种羰基化合物的标准回归曲线的相关性很好;其线性范围在 2 × 10² 以上,说明此测定方法的适用的测定浓度范围较宽。

2.5 分析方法的验证

2.5.1 8 种羰基化合物的测定方法回收率

采用标样加入法测定方法的回收率,即在滤片上分别加入经萃取及稀释后对应标准曲线低、中、高 3 个不同浓度的羰基化合物 DNPH 衍生物混合标样,按 2 中所述方法进行定量分析。将测定量与加入量的比值作为回收率(表 4)。计算时需要扣除空白。每个浓度

做 5 组平行,计算平均值。从表 4 可以看出 8 种挥发性羰基化合物的测定方法回收率在 87.17% ~ 104.71%,说明方法的准确性较高。

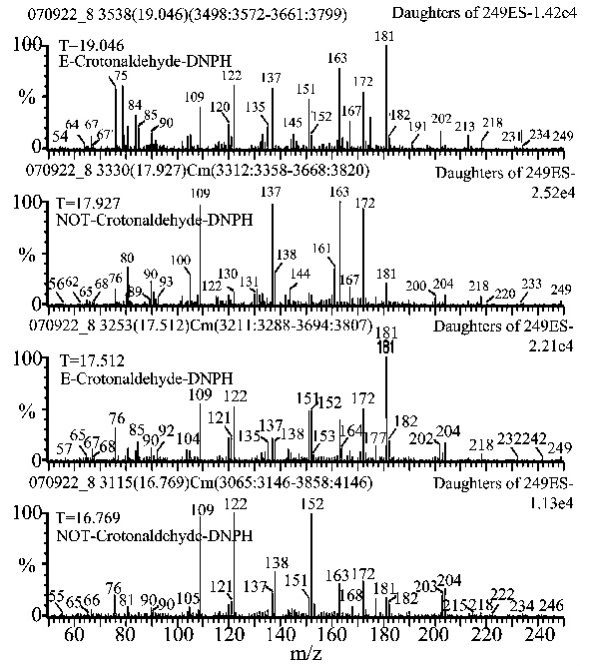


图4 巴豆醛同分异构体子离子扫描质谱图

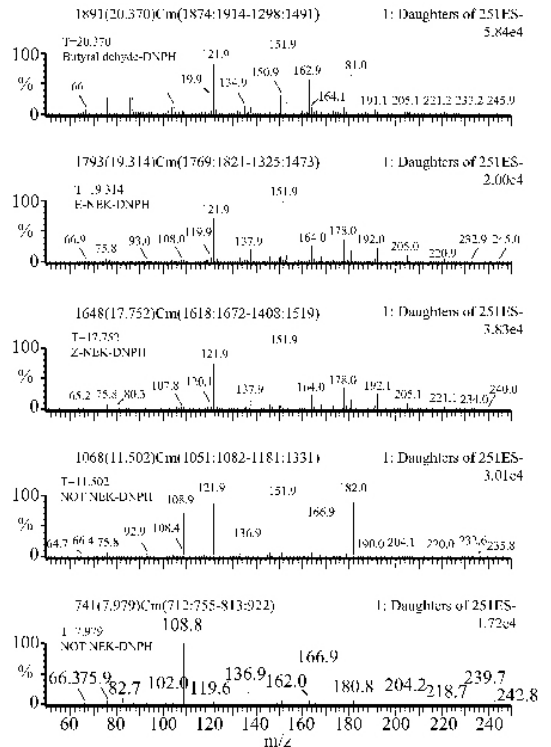


图5 2-丁酮同分异构体子离子扫描质谱图

表 3 8 种羰基化合物的标准曲线有关数据

化合物	浓度范围/(ng/mL)	线性方程	相关系数
甲醛	0.146 ~ 29.11	$y = 0.0274x + 5.35 \times 10^{-5}$	0.9998
乙醛	0.437 ~ 87.32	$y = 0.01778x + 5.79 \times 10^{-4}$	0.9992
丙酮	0.279 ~ 55.78	$y = 0.0147x + 3.66 \times 10^{-5}$	0.9999
丙烯醛	0.191 ~ 38.26	$y = 0.0199x + 7.15 \times 10^{-5}$	0.9999
丙醛	0.243 ~ 48.68	$y = 0.0122x + 2.39 \times 10^{-4}$	0.9999
巴豆醛	0.235 ~ 47.06	$y = 0.0113x + 1.04 \times 10^{-4}$	0.9997
2-丁酮	0.186 ~ 37.16	$y = 0.0207x + 1.648 \times 10^{-3}$	0.9998
丁醛	0.164 ~ 32.84	$y = 0.0137x + 9.00 \times 10^{-5}$	0.9993

表 4 8 种羰基化合物测定的回收率(n = 5)

化合物	低浓度			中浓度			高浓度		
	实测/ (ng/mL)	加入/ (ng/mL)	回收率/ %	实测/ (ng/mL)	加入/ (ng/mL)	回收率/ %	实测/ (ng/mL)	加入/ (ng/mL)	回收率/ %
甲醛	0.311	0.297	104.71	14.844	14.850	99.96	25.296	26.730	94.64
乙醛	0.806	0.891	90.46	42.885	44.550	96.26	70.574	80.190	88.01
丙酮	0.384	0.390	98.46	18.584	19.500	95.30	31.081	35.100	88.55
丙烯醛	0.531	0.569	93.32	27.837	28.450	97.85	44.638	51.210	87.17
丙醛	0.463	0.467	99.14	23.602	23.350	101.08	41.745	42.030	99.32
巴豆醛	0.447	0.480	93.13	23.680	24.000	98.67	42.128	43.200	97.52
2-丁酮	0.354	0.379	93.40	18.207	18.950	96.08	32.588	34.110	95.54
丁醛	0.318	0.335	94.93	15.558	16.750	92.88	29.270	30.150	97.08

2.5.2 测定方法准确度

按照 2 中所述方法捕集 2R4F 卷烟侧流烟气中的羰基化合物后,在捕集溶液分别加入对应 2R4F 卷烟侧流烟气中的羰基化合物含量的 0.5 倍、1 倍、1.5 倍的 DNPH 衍生物混合标样,进行定量分析。测定方法

的准确度用根据实际测定量与计算量的比值表示。计算时扣除空白。每个浓度做 5 组平行,计算平均值。如表 5 所示,8 种挥发性羰基化合物的测定方法的准确度在 90.01% ~ 103.28%,说明此方法有很好的准确度。

表 5 8 种羰基化合物的测定准确度(n = 5)

化合物	0.5 倍			1 倍			1.5 倍		
	实测量/ μg	加入量/ μg	回收率/ %	实测量/ μg	加入量/ μg	回收率/ %	实测量/ μg	加入量/ μg	回收率/ %
甲醛	273.60	264.90	103.28	525.60	529.80	99.21	779.40	794.85	98.06
乙醛	960.75	1052.10	91.32	1946.40	2104.20	92.50	2991.75	3156.30	94.79
丙酮	256.80	268.95	95.48	524.10	538.05	97.41	790.05	807.00	97.90
丙烯醛	445.80	495.30	90.01	952.95	990.75	96.18	1458.60	1486.20	98.14
丙醛	81.75	90.15	90.68	150.90	151.80	99.41	258.75	270.45	95.67
巴豆醛	40.20	41.85	96.06	79.50	83.55	95.15	123.75	125.45	98.68
2-丁酮	99.90	110.85	90.12	205.50	221.70	92.69	307.05	332.55	92.33
丁醛	54.60	59.85	91.23	108.90	119.70	90.98	165.90	179.40	92.47

2.5.3 测定方法的重复性

方法的重复性是以组内测定结果的重复性和组间测定结果的重复性来评价的。组内测定结果重复性是

以同一样品每天重复进样 5 次,连续测定 3 天,计算相对标准偏差来表示的。组间测定结果重复性是以连续 3 天,每天测定 5 组样品,计算相对标准偏差来表示

的。8种羰基化合物组内测定的相对标准偏差在2.05%~4.35%,组间测定的相对标准偏差在1.99%

~5.45%(表6),说明此方法有很好的重复性。

表6 8种羰基化合物测定的重复性

化合物	组间重复性(n=15)		组内重复性(n=15)	
	平均值($\mu\text{g}/\text{cig}$)	相对标准偏差/%	平均值($\mu\text{g}/\text{cig}$)	相对标准偏差/%
甲醛	509.31	5.45	502.29	4.35
乙醛	2085.23	4.10	2065.61	3.90
丙酮	1017.13	1.99	1015.03	2.05
丙烯醛	415.12	4.57	410.56	3.74
丙醛	182.44	3.12	183.42	2.92
巴豆醛	76.55	4.08	75.66	4.00
2-丁酮	226.11	4.95	226.45	3.54
丁醛	118.92	4.12	117.78	3.43

2.5.4 测定方法的灵敏度

测定方法的灵敏度是由测定方法的检出限体现的。将最低浓度的标准溶液连续9次进样,测定结果中8种羰基化合物标准偏差的3倍即为测定方法的检出限。实验结果表明,8种羰基化合物的检出限分别为:甲醛,1.725 ng/cig;乙醛,2.725 ng/cig;丙酮,2.450 ng/cig;丙烯醛,1.775 ng/cig;丙醛,2.425 ng/cig;巴豆醛,1.425 ng/cig;2-丁酮,1.900 ng/cig;丁醛,2.775 ng/cig。远远低于侧流卷烟烟气中这些成分的实际含量,说明本方法能够较好地满足日常定量检测侧流烟气中挥发性羰基化合物的工作需要。

3 结论

本文介绍了一种采用2,4-二硝基苯肼(DNPH)酸性溶液捕集侧流烟气中的羰基化合物,乙腈水溶液稀释后用带有负离子电喷雾的LC/MS/MS定量测定侧流烟气中8种羰基化合物的方法。与以往的方法相比,由于侧流烟气的捕集条件的改进,解决了以往测定中由于衍生化酸度不合适导致的丙烯醛测定结果偏低的问题;该方法解决了以往的液相色谱法分离存在共流出导致的巴豆醛、2-丁酮测定结果不准确的问题,并确定了是巴豆醛、2-丁酮的衍生物顺反异构体干扰了测定。测定方法的准确性、重现性、回收率很好,灵敏度较HPLC/UV的方法大大提高,实现了侧流烟气中8种羰基化合物的准确性及定量。

本文所述的方法也存在继续研究与改进的地方,比如:由于液质联用仪没有配备谱库检索,对于乙醛的DNPH衍生物干扰物的结构还未确定;能否通过对色

谱或质谱条件的改进来提高此方法的检测范围,这些都有待更进一步的研究,从而使本方法更加完善。

参考文献

- [1] Andersen L G, John A L. Sources and sinks of formaldehyde and acetaldehyde: An analysis of Denver ambient concentration data [J]. Atmospheric Environment, 1996, 30(12): 113-123.
- [2] Louis J S, Hanwant B S. Measurement formaldehyde and acetaldehyde in the urban ambient air [J]. Atmospheric Environment, 1986, 20(6): 1301-1304.
- [3] 肖协忠. 烟草化学[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1997: 242-251.
- [4] Wyder E I. Tobacco and Tobacco Smoke[M]. New York: Academic Press. 1967: 417-419.
- [5] Environmental Health Criteria 89, World Health Organization Geneva, 1989.
- [6] Stedman R L. The chemical composition of tobacco and tobacco smoke [J]. Chem Rev, 1968, 68: 153-207.
- [7] Leffingwell J C. Nitrogen components of leaf and their relationship to smoking quality and aroma [J]. Rec Adv Tob Sci, 1976(2): 1-31.
- [8] Brunemann K D, Hoffmann D. Pyrolytic origins of major gas phase constituents of cigarette smoke [J]. Rec Adv Tob Sci, 1982, 8: 103-140.
- [9] Chortyk O T, Scholtzhauer W S. The contribution of low tar cigarettes to environmental tobacco smoke [J]. J Anal Toxicol, 1989, 13: 129-134.
- [10] Miyake T, Shibamoto T. Quantitative analysis by gas chromatography of volatile carbonyl compounds in cigarette smoke [J]. J Chromatogr A, 1995, 693: 376-381.

3 结论

实验研究结果显示,对茄尼醇这样一种弱极性化合物用 SCDE 法提取是可行的。通过正交试验确定超临界 CO₂ 提取废次烟叶中茄尼醇最佳提取条件为:萃取压力 25 MPa,萃取温度 60 °C,萃取时间 1 h,75% 的乙醇作为夹带剂,用量为 5 mL/g。提取液经皂化、酸化后,用正己烷萃取,得到茄尼醇粗产品的纯度为 30.5%。与其他提取方法比较具有生产周期短、提取效率高、提取杂质少、有机溶剂用量少等优点,具有较好的应用前景。得到茄尼醇粗品经 3 次重结晶就可以达到 > 75% 纯度,操作较为简单。柱层析后得到 > 99% 茄尼醇纯品,整个工艺路线合理、经济,适合工业化生产。

参考文献

[上接第 14 页]

- [11] Schlotzhauer W S, Chortyk O T. Recent advances in studies on the pyrosynthesis of cigarette smoke constituents [J]. J Appl Pyrol, 1987, 12 : 193-222.
- [12] Health Canada, T-204, Determination of Selected Carbonyls in Side-stream Tobacc[S]. December 31 1999. www. hc-sc. gc. ca.
- [13] 赵贤四. 不同品牌香烟烟雾中有机成分的分析 [J]. 上海环境科学, 1998, 17(8): 21-22.
- [14] 李炎强. 卷烟顶空挥发成分的快速分析 [J]. 烟草科技, 2000(10): 26-27.
- [15] 夏巧玲, 赵明月. 国产及进口卷烟顶空成分分析 [J]. 烟草科技, 1996(6): 9-12.
- [16] Levine R L, Garland D, Olivier C, et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins [J]. Methods Enzymol, 1990, 186 : 464-468.
- [17] Magin D F. Gas Chromatography of simple mono-carbonyls in

- [1] 姚文, 武荣成, 栾和林. SOT 溶剂体系从烟渣中萃取茄尼醇的研究 [J]. 矿冶, 1995, 4(4): 93.
- [2] Lipshutz B H, Mollard P, Pfeiffer S S, et al. A short, highly efficient synthesis of coenzyme Q10 [J]. J Am Chem Soc. 2002, (48): 14282-14283.
- [3] Yosliynki Taliara, Micliiko Nagai, Iaatsnra Iaogure, et al. Antinlcer compounds [P]. USP, 4221810, 1980.
- [4] 孙心齐, 赵瑾, 王超杰. 从废次烟叶中提取茄尼醇的研究 [J]. 河南大学学报(自然科学版), 1995, 25(2): 37.
- [5] 赵瑾, 王超杰, 孙心齐. 高效液相色谱法测定烟叶中茄尼醇的含量 [J]. 色谱, 1997, 15(6): 544-545.
- [6] 张镜澄. 超临界流体萃取 [M], 北京: 化学工业出版社, 2000.
- [7] 朱自强. 超临界流体技术-原理与技术 [M], 北京: 化学工业出版社, 2000.
- [8] 袁海龙, 李仙逸, 张纯, 等. 超临界流体萃取-高效液相色谱法测定何首乌中磷脂成分 [J]. 药学学报, 1999, 34(9): 702-705.

- cigarette whole smoke as the benzyloxime derivatives [J]. J Chromat, 1980, 202(1): 255-261.
- [18] Komarek, Karel, Rosova, et al. Analysis of mixtures containing some carbonyl compounds using reaction gas chromatography. Chem Listy, 1982, 76(2): 200-210.
- [19] 谢复炜, 吴鸣, 王昇, 等. 卷烟主流烟气中挥发性羰基化合物的改进分析方法 [J]. 中国烟草学报, 2006, 12(5): 15-24.
- [20] 于彦彬, 谭培功, 刘赞, 等. 高效液相色谱三元梯度分离法测定大气中 11 种醛酮类化合物的研究. 分析测试学报 [J], 2000, 19(3): 43-46.
- [21] Dong J, Moldoveanu S C. Gas chromatography-mass spectrometry of carbonyl compounds in cigarette mainstream smoke after derivatization with 2, 4-dinitrophenylhydrazine [J]. J of Chromatography A 2004, 1027 : 25-35.
- [22] Chen P X, Moldoveanu S C. Mainstream Smoke Chemical Analyses for 2R4F Kentucky Reference Cigarette [J]. Beiträge zur Tabakforschung Interational 2003, 20 : 448.