

thermo scientific



ThermoScientific
iCAP RQ 在电子烟行业无机元素分析的应用优势

ThermoFisher
SCIENTIFIC

一.什么是电子烟?

电子烟是一种模仿卷烟的电子产品，有着与卷烟一样的外观、烟雾、味道和感觉。它是通过雾化等手段，将尼古丁等变成蒸汽后，让用户吸食的一种产品。世界卫生组织专门对电子烟进行了研究，并得出了明确的结论：电子烟有害公共健康，它更不是戒烟手段，必须加强对其进行管制，杜绝青少年和非吸烟者产生危害。

2019年3月15日，2019年中央广播电视总台3·15晚会曝光了长时间吸食电子烟的青少年，同样会产生对尼古丁的依赖。2019年8月23日，美国伊利诺伊州卫生官员表示，一病人疑似因吸电子烟导致肺部严重病变死亡。

表1.电子烟成分

	烟液	烟气
主要成份	甘油 丙二醇 香精 尼古丁	甘油 丙二醇 尼古丁
其他成份	丙酮、丙烯醛、乙醇、1,3-丁二烯、环己烷、二甘醇、乙二醇、甲醛、烟草生物碱（去甲基烟碱、三聚氰胺、新烟碱）、金属（镉、铅、镍、锡、铜等）	乙醛、甲苯、丙酮、丙烯醛、乙醇、甲醛、N-亚硝基去甲基碱、金属（镉、铅、镍、锡、铜等）

表2.电子烟油现有相关限度标准—重金属部分

Type	Category	Test Items	GB	FDA	TPD	Remark
类型	分类	测试项目				
烟油类	Heavy Metals 重金属	Cd (Cadmium)镉	0.2 mg/kg	√	√	GB管控6种 FDA提到4种 TPD提到11种
		Cr (Chromium)铬	0.3 mg/kg	√	√	
		Pb (Lead)铅	0.5 mg/kg	√	√	
		Ni (Nickel)镍	0.5 mg/kg	√	√	
		Sb (Antimony)锑	×	×	√	
		As (Arsenic)砷	0.2 mg/kg	×	√	
		Fe (Iron)铁	×	×	√	
		Al (Aluminum)铝	×	×	√	
		Sn (Tin)锡	×	×	√	
		Hg (Mercury)汞	0.1 mg/kg	×	√	
Cu (Copper)铜	×	×	√			

(注：TPD指欧美烟草产品指令)

二.电子烟有毒吗?

电子烟并不安全，研究显示，电子烟的气溶胶中发现了有毒物质与污染物，目前市面上绝对大多数电子烟都含有尼古丁，接触尼古丁本身就会产生健康风险。电子烟的二手烟也不安全，有研究显示，相比卷烟，电子烟又新增了乙二醛等有毒物质，一些金属等物质的浓度，比如镍和铬，甚至比传统卷烟产生的烟雾浓度还要高。

三.电子烟监管

当前，美国，欧盟都对电子烟做了质量监管。中国是电子烟的发明者和主要生产地，全球90%以上的电子烟来自中国深圳等地，但我国对其监管尚属空白。在我国，电子烟既不属于药品，也非保健品、医疗器械，更不是烟草，因而大多数电子烟处于“三无”状态，即无产品标准、无质量监管、无安全评价。

2019年6月3日，国家标准化管理委员会官方网站显示，《电子烟》国家标准制定计划于2017年10月11日下达，主管部门为国家烟草专卖局，属强制性国家标准。目前《电子烟》强制性国家标准已经审查完毕，处于“正在批准”状态，按照项目计划时间表，或将于年内发布。

表3.电子烟液重金属杂质和污染物限量

Category 分类	Test Items 测试项目	Limit (mg/kg)	Test Method 测试方法
Heavy Metals 重金属	Cd (Cadmium) 镉	0.2	GB5009.268
	Cr (Chromium) 铬	0.3	
	Pb (Lead) 铅	0.5	
	Ni (Nickel) 镍	0.5	
	As (Arsenic) 砷	0.2	
	Hg (Mercury) 汞	0.1	

四.电子烟标准草案解读

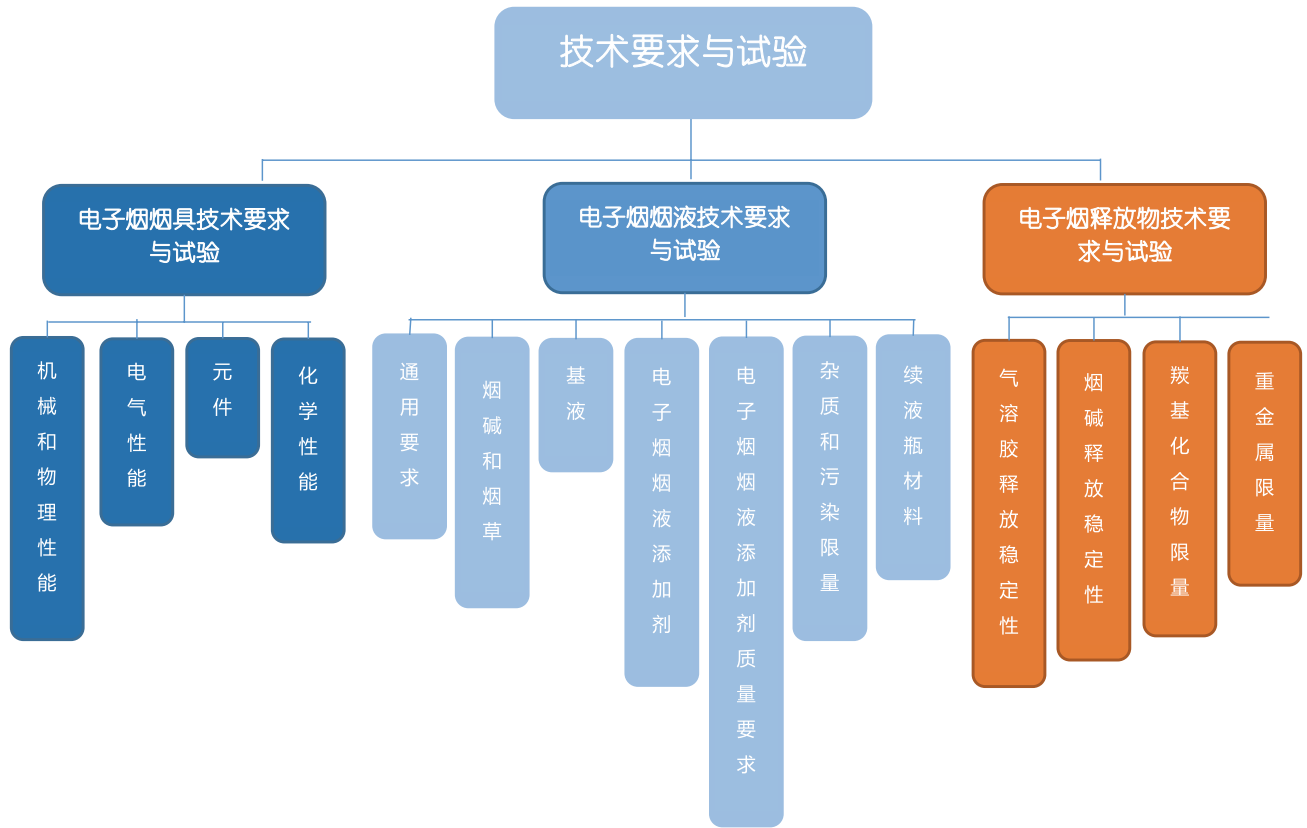


表4 电子烟释放物重金属限量

Category 分类	Test Items 测试项目	Limit (mg/kg)	Test Method 测试方法
Heavy Metals 重金属	Cd (Cadmium) 镉	0.2	GB5009.268
	Cr (Chromium) 铬	0.3	
	Pb (Lead) 铅	0.5	
	Ni (Nickel) 镍	0.5	
	Sb (Antimony) 锑	2	
	As (Arsenic) 砷	0.2	
	Hg (Mercury) 汞	0.1	

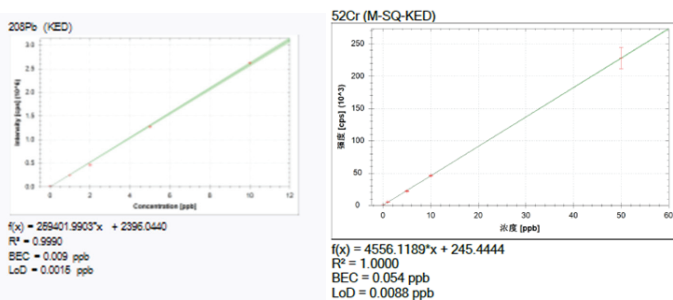
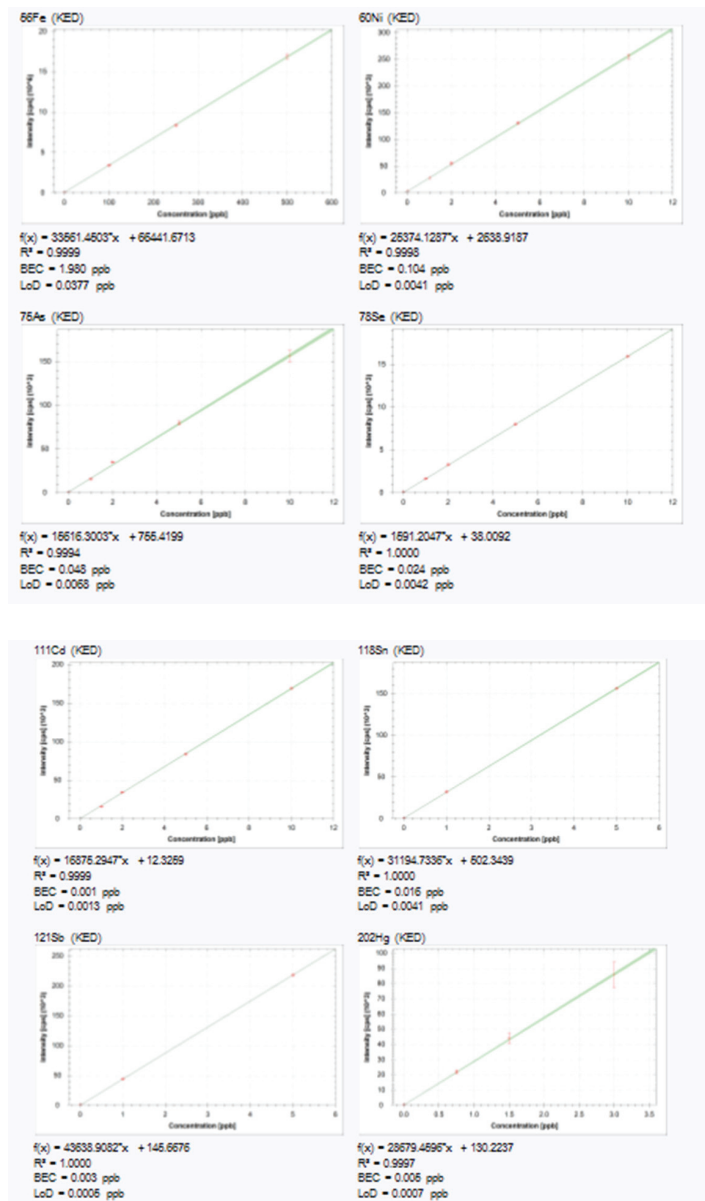
五.赛默飞电子烟重金属分析解决方案

1.电子烟油快速重金属分析解决方案



测定元素	Cr, Fe, Ni, As, Cd, Sn, Sb, Hg, Pb
样品前处理	直接进样
仪器设备	Thermo iCAP RQ ICPMS
测定模式	单氦碰撞模式

1.1 标准曲线



1.2. 样品结果

元素/ug/kg	样1	样2	方法检出限MDL
Cr	0.21	0.19	0.18
Fe	12.35	11.57	0.75
Ni	0.51	0.53	0.08
As	3.51	3.82	0.14
Cd	<MDL	<MDL	0.02
Sn	2.51	10.32	0.08
Sb	1.04	1.51	0.02
Hg	<MDL	<MDL	0.02
Pb	0.35	0.38	0.02

方法检出限远小于国标限量要求；

2.电子烟气释放物重金属分析解决方案

2.1 电子烟气重金属收集方案

(1) 可以采用专用吸烟机产生烟气，再通过5%硝酸溶液收集烟气金属元素后直接测定



2.2 样品结果

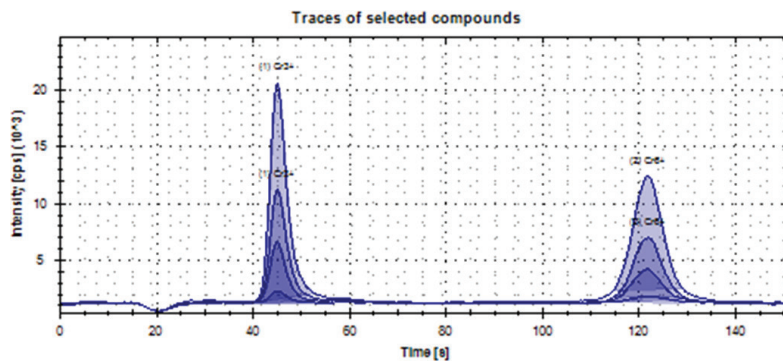
元素	样3 (ug/100口)
Cr	0.02
Ni	0.04
As	0.03
Sb	0.08
Cd	ND
Pb	0.02
Hg	ND

3.电子烟油中六价铬测定（非标项目）

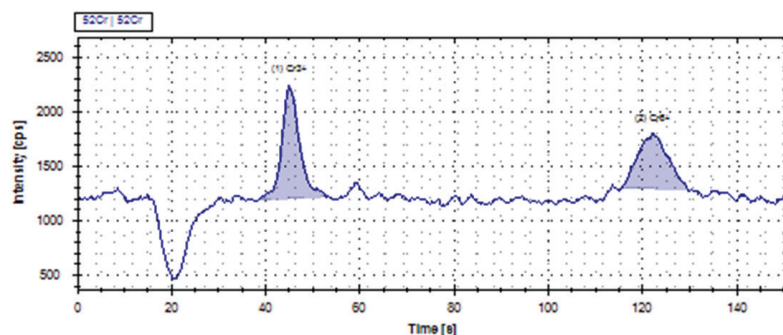
3.1 IC600仪器参数

IC600	
柱子	Dionex AG7(4.0*50mm)
洗脱	等度
流动相	70mmol/L NH4NO3 调节pH7.1
流速	1.0mL/min
进样体积	100uL
持续时间	150s

3.2 标准曲线及谱图

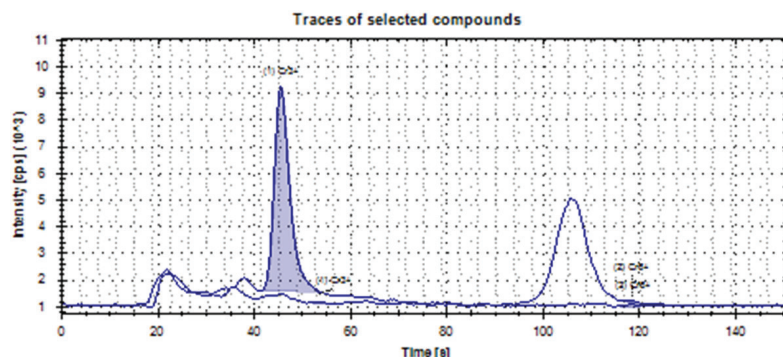


标准曲线叠加图



标准点5ppt色谱图

3.3 样品结果



三价铬和六价铬回收率可以达到80%以上，满足分析需求。

样品测定结果

样品ug/kg	三价铬	六价铬	检出限MDL
样4	0.14	<MDL	0.10
样4+0.1ppb回收率	84%	82%	/

IC全惰性系统提供更低的金属本底值，与ICP-MS联机完美实现电子烟油的六价铬分析。



性能优异

全新设计的RF 发生器，高有机耐受性，能让烟油实现直接进样的快速分析；

全新RAPID 90度直角偏转透镜设计，业内最佳的灵敏度，最低的背景噪声----业内最高的信噪比（最低的检出限）；

钼材质四极杆---业内最好的长期稳定性及短期稳定性；

独特的Qcell低质量切割专利技术---碰撞反应池消除质谱干扰。

可靠性

全新的耐高盐嵌片接口专利设计，最低的记忆效应，最小的信号漂移；

全新的RF固态发生器，稳定可靠，耐有机溶剂能力强，实现电子烟油稀释直接进样。

使用维护方便

锥、气路连接，炬管等部件易于拆卸设计；

预准直卡式炬管设计----安装和拆卸最便捷；

直观的自动调谐和预设方法方便初学者操作。

IC-ICPMS 联机应用

一体式联机接口和软件；

可提供丰富的离子交换色谱柱和应用，应用面更广；

难点：

- 元素种类多，限量要求低
- 有机含量高，对仪器耐受性要求高
- 气体分析要求
- 元素形态分析，且限量要求极低

赛默飞世尔科技

上海

上海市浦东新区新金桥路27号3,6,7号楼
邮编 201206
电话 021-68654588*2570

北京

北京市东城区北三环东路36号环球贸易中心C座7层/8层
邮编 100000
电话 010-87946888

广州

广州国际生物岛寰宇三路36、38号合景星辉广场北塔204-206单元
邮编 510000
电话 020-82401600

成都

成都市临江西路1号锦江国际大厦1406室
邮编 610041
电话 028-65545388*5300

沈阳

沈阳市沈河区惠工街10号卓越大厦3109室
邮编 110013
电话 024-31096388*3901

西安

西安市高新区科技路38号林凯国际大厦
1006-08单元
邮编 710075
电话 029-84500588*3801

南京

南京市中央路201号南京国际广场南楼1103室
邮编 210000
电话 021-68654588*2901

武汉

武汉市东湖高新技术开发区高新大道生物园路
生物医药园C8栋5楼
邮编 430075
电话 027-59744988*5401

昆明

云南省昆明市五华区三市街6号柏联广场写字楼908单元
邮编 650021
电话 0871-63118338*7001

欲了解更多信息, 请扫描二维码关注我们的微信公众账号

赛默飞世尔科技在全国有共21个办事处。本资料中的信息, 说明和技术指标如有变更, 恕不另行通知。



赛默飞
官方微信



赛默飞
中国技术培训中心
China Service Training Center

热线 800 810 5118
电话 400 650 5118
www.thermofisher.com

ThermoFisher
SCIENTIFIC

使用高分辨GC-Orbitrap/MS对电子烟油进行综合化学表征

作者

Jane Cooper,¹ Chris Allen,² and Cristian Cojocariu¹

¹Thermo Fisher Scientific, Runcorn, UK

²Broughton Nicotine Services, Earby, UK

关键词

精确质量，化学物质，电子烟，烟油，气体，气相色谱，高分辨精确质量数（HRAM），静电场轨道阱（Orbitrap）质谱，固相微萃取（SPME），SPME Arrow

目标

使用Thermo Scientific™ Exactive™ GC Orbitrap™气质联用仪对电子烟油中的化学成分进行可靠鉴定。

介绍

电子烟出现于2007年，是传统香烟的替代品之一，其使用在全世界有显著的增速。尽管电子烟的热度越来越高，其对人体的潜在危害却知之甚少。对于电子烟中可能添加的香精香料、溶剂、添加剂以及其他有意或无意添加的物质，其长期效应尚不明确，因此这类研究尤为重要。

2012年美国食品药品监督管理局（FDA）发布了烟草、过滤嘴和无烟烟草产品中93种有害或潜在有害物（HPHCs）列表。其中，904（a）（3）联邦食品、药品和化妆品法令（FD&C Act）草案中，有烟草制造商报告仅在其可燃性产品中就有20种代表性化合物检出。此外，910草案在电

子尼古丁传送系统 (ENDS) 的烟草预上市申请 (PMTA) 准则中列出了29种HPHCs。

2016年5月, 2014/14/EU烟草产品指令 (TPD) 推行了含尼古丁的电子烟产品和补充装容器新规定 (Article 20), 以保护人类健康并履行世界卫生组织烟草控制框架公约义务。英国的药品和保健品管理局 (MHRA) 应用了上述article 20中的绝大多数条款。其他欧盟国家也把烟草产品指令转化为自己国家的法律并指派机构进行监管。

当前, 对于电子烟油的定性和定量分析多采用LC-MS和GC-MS, 但是二者均受限于其质量精度、灵敏度和动态线性范围。三重四极杆气质联用仪和气相色谱FID检测器一般只用于烟油中已知物的定量分析。而高分辨质谱 (HRAM) 可以完成可靠的靶向和非靶向鉴定。

使用GC和GC-MS分析电子烟油有着诸多难点。在基质较为复杂的情况下, 为了达到全面的检测覆盖, 要求GC和GC-MS具有良好的灵敏度和选择性。GC联用高分辨质谱的高灵敏度高选择性的特点使其可以胜任这样的工作。GC-Orbitrap 静电场轨道阱质谱具有ppm级质量精度、多种多样的样品采集方式、独特算法的自动解卷积软件和全面的谱库, 使用全扫描模式完成定性和定量工作, 是电子烟油检测的利器。

这类分析较多采用液体进样方式完成, 也可以采用固相微萃取 (SPME) 方式。SPME无需萃取溶剂, 一步完成萃取和富集, 使用有机溶剂涂覆的熔融石英纤维的选择性吸附进行萃取和富集。

萃取纤维可以采用顶空或直接浸没的方式进行采集。Thermo Scientific™ SPME Arrow在常规SPME的基础上改进了纤维的设计、提升了灵敏度、获得高效萃取的同时提高了纤维头的物理强度, 突破了传统SPME的一些限制。

此研究展示了SPME Arrow结合GC-Orbitrap对电子烟油中的化学成分进行靶向和非靶向的定性分析。为了得到可靠的定性结果, 在常规电子轰击电离源 (EI) 基础上还增加了软性离子源 (化学电离, CI)。

实验部分

样品制备

本地购买10种电子烟油, 包括含香和无香的烟油 (表1)。还购买了两种不含尼古丁的“shortfill”烟油进行分析。“shortfill”的包装容量大于规定的10mL, 用户可以在

使用前自行添加尼古丁。由于该类产品在购买时不含尼古丁, 因此在英国不受TPD法规的管制。

表1 分析中用到的电子烟油, 包括含香和无香, 标称尼古丁含量三个水平: 0、6和12mg/mL

	香味	瓶容量 (mL)	标称尼古丁含量
a	无香	10	0
b	品牌	10	0
c	品牌	50	0
d	香草	10	0
e	薄荷	10	0
f	品牌	10	6
g	无香	10	6
h	柠檬	10	12
i	草莓	50	0
j	柠檬	10	0

在靶向和非靶向定性分析中, 用10mL水 (HPLC级) 稀释100μL烟油样品, 混匀后再取混合液50μL进一步稀释到1mL水 (HPLC级) 中, 装入20mL螺口瓶盖 (P/N 20-MCBC-ST3) 顶空瓶 (P/N 20-CV) 中, 准备进行SPME Arrow分析。

样品空白采用1mL水 (HPLC级) 装入20mL顶空瓶中。此外, 所有样品和空白中加入8-羟基喹啉作为内标物, 最终浓度10μg/mL。

仪器和方法

所有试验中采用Thermo Scientific™ Exactive™ GC Orbitrap™质谱仪联用Thermo Scientific™ TRACE™ 1310 气相色谱搭载Thermo Scientific™ TriPlus™ RSH™ SPME Arrow自动进样器并配备了Thermo Scientific™即插式分流/不分流进样口和SPME Arrow 适配器。

色谱柱采用Thermo Scientific™ TG-WaxMS 30 m x 0.25 mm i.d.x 0.25 μm (P/N 26088-1420)。

对质谱进行调谐、检漏并使用FC43 (CAS 311-89-7) 校准<1.5min获得<2ppm的质量精度。使用真空锁定装置对EI、PCI和NCI模式进行快速的切换。在60000分辨率 (m/z 200半峰宽) 下进行全扫描数据采集。其他仪器参数见表2-4。

表2 TriPlus RSH自动进样器参数

Extraction parameters		
SPME Arrow fiber:	Thermo Scientific™ DVB / Carbon WR / PDMS (P/N 36SA11T1)	
Vial:	Fiber depth in vial (mm):	35
Incubation:	Temperature (°C):	60
	Time (min):	10
	Agitator speed (rpm):	500
Extraction:	Temperature (°C):	60
	Time (min):	10
	Stirring speed (rpm):	500
Fiber desorption:	Temperature (°C):	230
	Time (min):	3.0
Fiber conditioning:	Fiber depth in injector (mm):	70
	Temperature (°C):	280
	Time - pre desorb (min):	3.0
	Time - post desorb (min):	15

表3 GC和进样口参数

TRACE 1310 GC system parameters				
Liner:	SPME Arrow Liner 1.7 mm i.d. (P/N 453A0415-UI)			
Inlet temperature (°C):	230			
Carrier gas, (mL/min):	He, 1.2			
Inlet module and mode:	SSL, split mode			
Split ratio:	100:1			
Purge flow (mL/min):	5			
Column:	TG-WaxMS 30 m x 0.25 mm i.d. x 0.25 µm film capillary column (Thermo Scientific™ TraceGOLD™ GC Column) (P/N 26088-1420)			
Oven temperature program:	RT (min)	Rate (°C/min)	Target temperature (°C)	Hold time (min)
Initial	0	-	40	3.00
Final	3.00	13	250	6.00
Run time	25	-	-	-

表4 质谱参数

Ionization type:	EI	NCI	PCI
Transfer line (°C):	250		
Ion source (°C):	230	170	170
CI gas type:	n/a	Methane	Methane
CI gas flow (mL/min):	n/a	1.2	1.3
Electron energy (eV):	70		
Acquisition mode:	Full-scan		
Mass range (Da):	35-400	100-400	80-400
Mass resolution:	60,000 FWHM at m/z 200		

数据处理

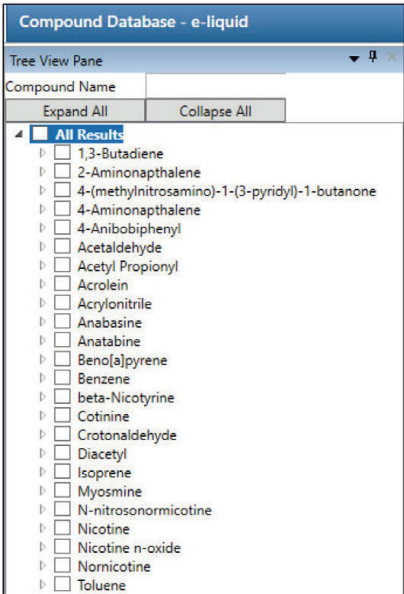
使用Thermo Scientific™ TraceFinder™软件进行数据处理。该软件集成仪器控制、方法开发和定性定量数据处理为一体，同时也包含高分辨数据解卷积和谱库搜索匹配功能。

结果和讨论

烟油分析主要针对美国FDA的HPHCs列表中的化合物进行定性分析，此外，也采取非靶标方式对其他可能存在的有害物质进行筛查。

烟油中HPHC化合物靶向筛查

化合物数据库中包含化合物名称、保留时间和若干碎片离子的精确质量信息，在无法获得标准品的情况下，Exactive GC Orbitrap可以通过高分辨率和高质量精度来进行目标化合物的靶向筛查。



Beta-Nicotryne

#	Compound Name	Peak Label	Peak Workflow	Associated Target Peak	Precursor m/z
1	beta-Nicotryne	T1: 158.08385	TargetPeak		158.08385
2	beta-Nicotryne	T1F1: 130.06513	Fragment	T1: 158.08385	130.06513
3	beta-Nicotryne	T1F2: 157.07602	Fragment	T1: 158.08385	157.07602

Nicotine

#	Compound Name	Peak Label	Peak Workflow	Associated Target Peak	Precursor m/z
1	Nicotine	T1: 161.10732	TargetPeak		161.10732
2	Nicotine	T1F1: 133.07602	Fragment	T1: 161.10732	133.07602
3	Nicotine	T1F2: 84.08078	Fragment	T1: 161.10732	84.08078

图1. 化合物数据库中尼可他因和尼古丁的名称、精确质量、定量和定性离子等信息

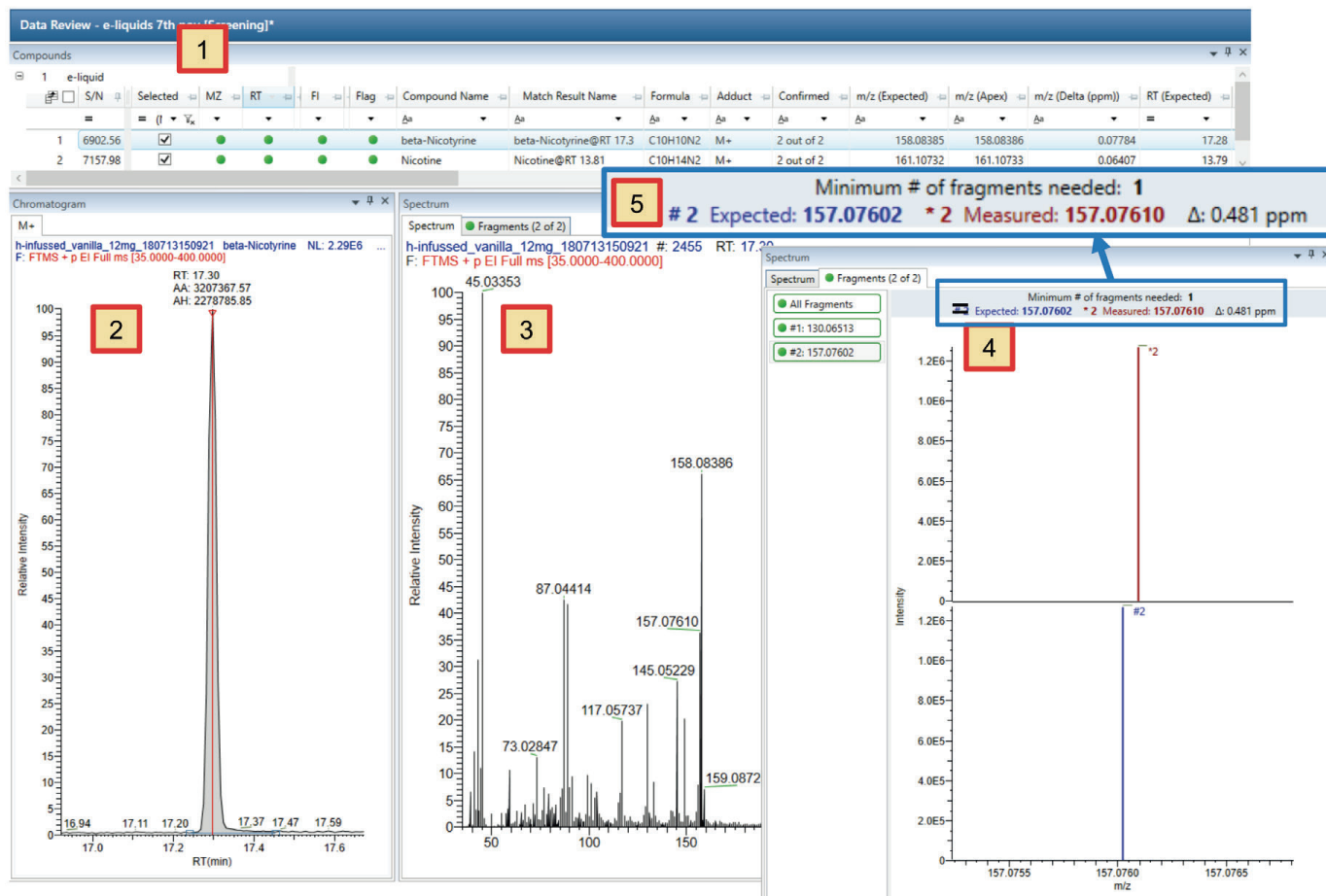


图2.h样品（香草）的靶向筛查结果：1基于碎片离子（±5ppm范围内）的化合物鉴定结果，2所选择化合物的提取离子（XIC）谱图，3化合物质谱图，4实测碎片离子（上），理论碎片离子（下），±5ppm范围显示窗口，5所选离子的质量偏差（理论质量数对比实际测得质量数）

烟油中未知物的非靶向筛查

对于非靶向的筛查，试验流程是先使用EI进行全扫描，然后进行解卷积和谱库搜索。

为了增加未知物鉴定可信度，还可以使用正化学源和负化学源（PCI和NCI）进行进一步确认。

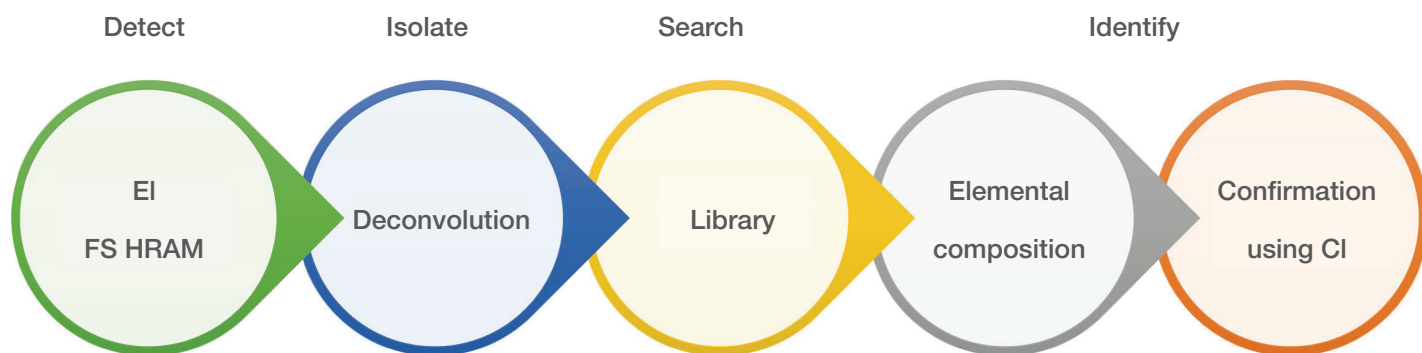


图3 Exactive GC Orbitrap电子烟油非靶向筛查工作流程：EI全扫描获取高分辨数据；解卷积和谱库搜索鉴定化合物；化学电离源（CI）进一步确认结果

检测：电子轰击离子化，全扫描

采集全扫描（EI模式）数据，示例如图4

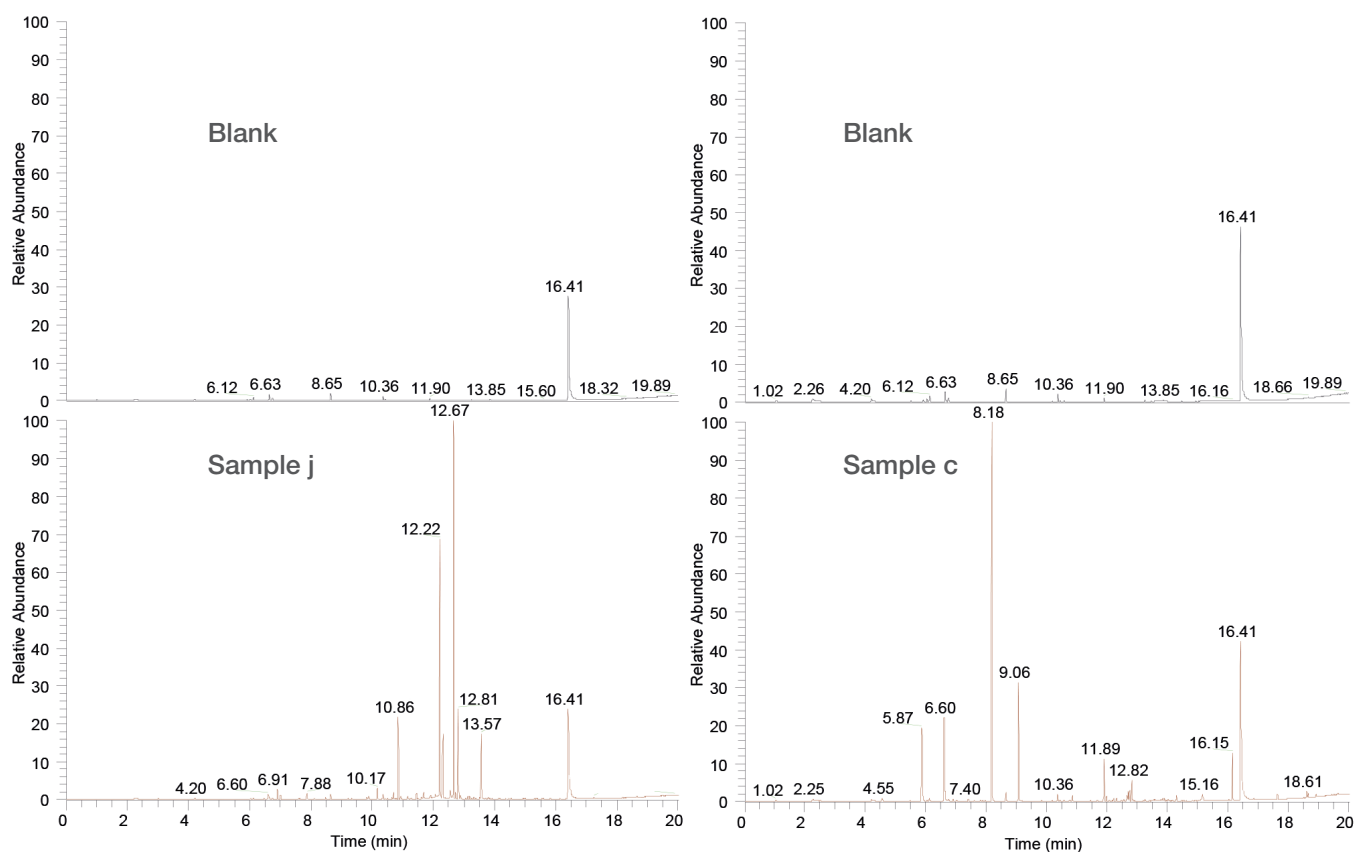


图4 样品j（柠檬味）（左下）和样品c（品牌风味）（右下）的GC-MS总离子流图（TICs，根据响应强度最高的样品归一化视图），和对应的空白样品。为方便比较，样品和空白的丰度已归一化。RT=16.4 min处为内标物8-羟基喹啉。

分离、搜索、鉴定：解卷积

TraceFinder软件中可插入解卷积功能，把共流出的化合物解析为纯净的谱图，继而进行谱库检索。

图5种是样品j（柠檬味）中的4-异丙基甲苯的解卷积结果。

使用解卷积插件分析得出的主要化合物见表5。

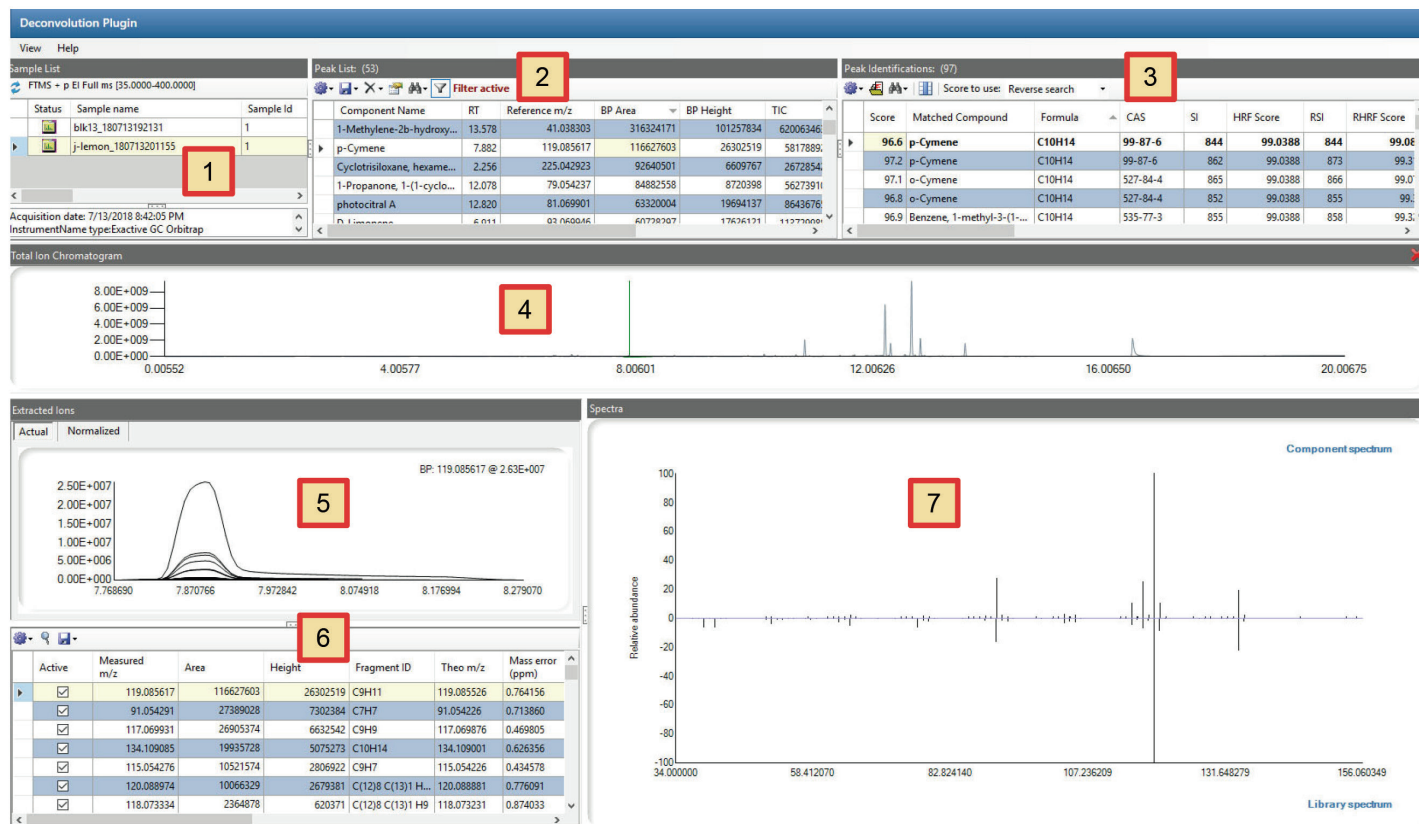


图5.样品j（柠檬味）中的4-异丙基甲苯的解卷积结果视图。1 样品列表；2解卷积峰列表；3选中组分的峰识别和谱库搜索结果；4总离子流图（TIC）；5识别组分的离子叠加图；6谱库搜索结果得分最高的质谱图中的碎片离子列表；7解卷积得到的质谱图（上）与谱库中的质谱图（下）

表5 电子烟中主要检出化合物, 包括样品描述, 主要检出的化合物, 实测和理论的基峰质荷比, 基峰的质量偏差 (ppm), 测出化合物的精确质量和CAS号, 保留时间, 鉴定得分SI (search index score), HRF (High-resolution Filtering score) 和RSI (reverse index score)

Sample / description	Compounds detected	Formula	Base peak			Exact mass (m/z)	CAS No.	RT(min)	Identification scores			
			Measured (m/z)	Theoretical (m/z)	Mass accuracy (ppm)				SI	HRF	RSI	
a	Flavorless	2,2,4-trimethyl-1,3-Dioxolane	C ₆ H ₁₂ O ₂	101.05974	101.05974	0.3	116.08373	1193-11-9	3.1	808	87	810
		1,3-Dioxolane, 2-ethyl-4-methyl-	C ₆ H ₁₂ O ₂	87.04409	87.04406	0.4	116.08373	4359-46-0	4.3	838	85	841
b	Flavored (branded)	Butanoic acid, ethyl ester	C ₆ H ₁₂ O ₂	43.05413	43.05423	2.2	116.08373	105-54	4.5	809	86	810
		Ethyl maltol	C ₇ H ₈ O ₃	140.04663	140.04680	1.2	140.04734	4940-11-8	15.1	890	100	940
		Vanillin	C ₈ H ₈ O ₃	151.03903	151.03897	0.0	152.04734	121-33-5	18.9	878	94	886
c	Flavored (branded)	n-Amyl isovalerate	C ₁₀ H ₂₀ O ₃	70.07770	70.07770	0.0	172.14633	25415-62-7	8.2	829	86	859
		2-Pentyl acetate	C ₇ H ₁₄ O ₂	43.01774	43.01784	2.4	130.09938	626-38-0	5.8	874	83	899
		Acetic acid, pentyl ester	C ₇ H ₁₄ O ₂	43.01774	43.01784	2.4	130.09938	628-63-7	6.6	840	77	880
		2,3-Nonanedione	C ₉ H ₁₆ O ₂	43.05412	43.05423	2.3	156.11503	6175-23-1	9.1	764	68	839
		Eugenol	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164.08296	164.08318	1.3	164.08373	97-53-0	16.2	856	99	878
		Ethyl vanillin	C ₉ H ₁₀ O ₃	137.02341	137.02332	0.6	166.06299	121-32-4	18.6	818	91	837
d	Flavored (vanilla)	Piperonal	C ₈ H ₆ O ₃	149.02318	149.02332	1.0	150.03169	120-57-0	16.7	875	66	875
		Vanillin	C ₈ H ₈ O ₃	151.03905	151.03897	0.5	152.04734	121-33-5	18.9	876	92	878
e	Flavored (mint)	(±)-Menthol	C ₁₀ H ₂₀ O	81.06996	81.06988	1.7	156.15142	15356-70-4	11.8	807	95	808
		D-menthone	C ₁₀ H ₁₈ O	139.11166	139.11174	0.6	154.13577	1196-31-2	10.1	785	93	843
		(±)-Menthol	C ₁₀ H ₂₀ O	81.06996	81.06988	1.1	156.15142	15356-70-4	11.4	823	93	824
		DL-menthone	C ₁₀ H ₁₈ O	112.08820	112.08827	0.6	154.13577	89-80-5	10.4	795	92	851
		Eucalyptol	C ₁₀ H ₁₈ O	93.07005	93.06988	1.9	154.13577	470-82-6	7.0	783	86	783
f	Flavored (branded)	Propyl pyruvate	C ₆ H ₁₀ O ₃	43.05417	43.05423	1.4	130.06299	20279-43-0	12.7	761	95	904
		cis-Verbenol	C ₁₀ H ₁₆ O	79.05421	79.05423	0.2	152.12012	18881-04-4	12.2	728	84	728
		Butanoic acid, ethyl ester	C ₆ H ₁₂ O ₂	43.05417	43.05423	1.4	116.08373	105-54	4.6	813	89	814
		Nicotine	C ₁₀ H ₁₄ N ₂	84.08093	84.08078	1.9	162.11570	54-11-5	13.8	872	98	873
g	Flavorless	Nicotine	C ₁₀ H ₁₄ N ₂	84.08093	84.08078	1.9	162.11570	54-11-5	13.8	872	98	873
h	Flavored (lemon)	Nicotine	C ₁₀ H ₁₄ N ₂	84.08093	84.08078	1.9	162.11570	54-11-5	13.8	879	99	880
		Piperonal	C ₈ H ₆ O ₃	149.02333	149.0233	0.1	150.03169	120-57-0	16.7	880	98	881
		Butanoic acid, ethyl ester	C ₆ H ₁₂ O ₂	43.05412	43.05423	2.4	116.08373	105-54	4.6	882	91	882
i	Flavored (strawberry)	Cinnamic acid, methyl ester, (E)-	C ₁₀ H ₁₀ O ₂	131.04919	131.04914	0.4	162.06808	1754-62-7	15.5	859	97	878
		γ-Decalactone	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	85.02843	85.02841	0.3	170.13068	706-14-9	16.0	801	95	807
		Butanoic acid, ethyl ester	C ₆ H ₁₂ O ₂	43.05415	43.05423	1.7	116.08373	105-54	4.6	814	86	815
		Ethyl 2-methylbutanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂	102.06757	102.06753	0.4	130.09938	7452-79-1	4.8	786	89	809
		Photocitral B	C ₁₀ H ₁₆ O	137.09610	137.09609	0.1	152.12012	6040-45-5	12.7	671	99	921
j	Flavored (lemon)	cis-Verbenol	C ₁₀ H ₁₆ O	79.05424	79.05423	0.1	152.12012	1845-30-3	12.2	827	88	828
		cis-Geraniol	C ₁₀ H ₁₈ O	93.06995	93.06985	0.8	154.13577	106-25-2	13.6	742	79	743
		p-Cymene	C ₁₀ H ₁₄	119.08562	119.08553	0.8	134.10955	99-87-6	7.9	862	100	873

定性和确证：使用CI软电离源获得分子离子

EI采集到的数据可以使用更具针对性和选择性的化学电离源（CI）来进一步确认。图6中展示了使用EI、PCI和NCI采集的样品j的总离子流图。

图7中是保留时间12.2min峰的EI和PCI质谱图，EI质谱图的NIST谱库搜索结果如图8，展示了得分最高的结果为cis-verbenol。

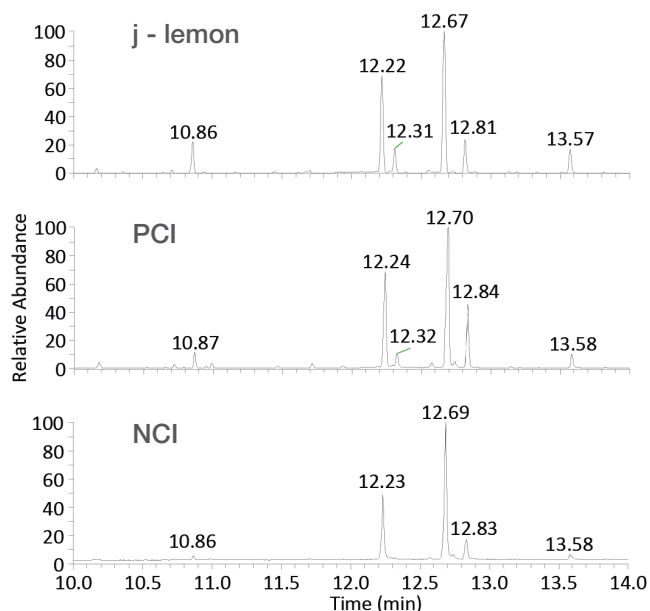


图6 样品j（柠檬味）的EI、PCI和NCI的总离子流图

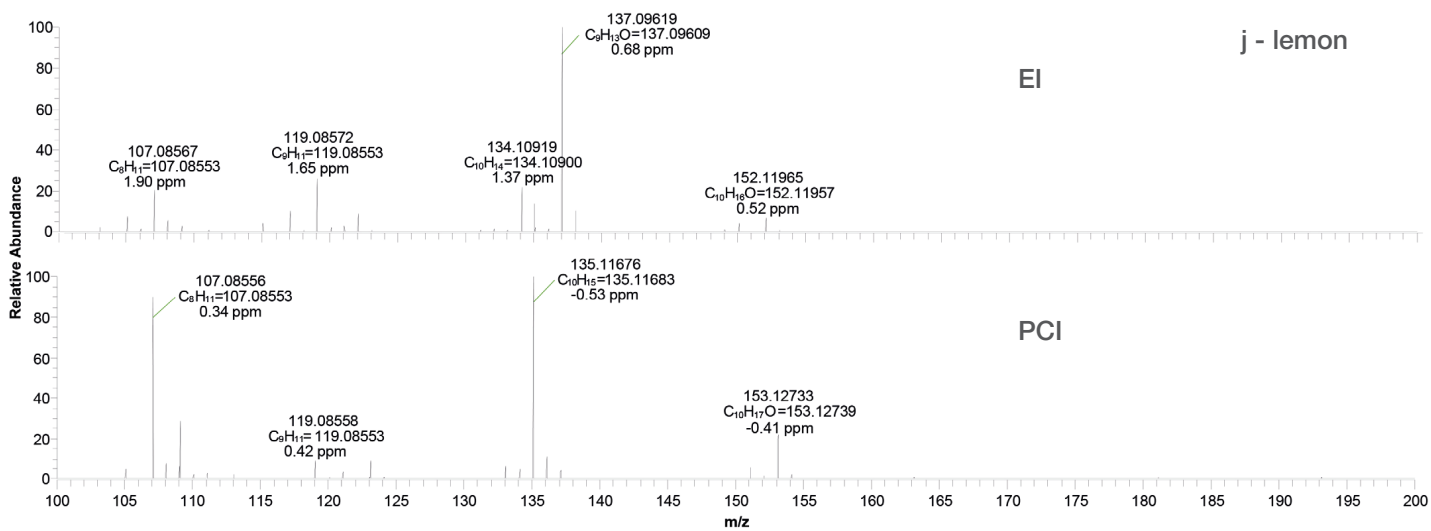


图7 样品保留时间12.2min峰的EI和PCI质谱图，标注中为实测质量数、元素组成以及理论质量数和质量偏差（ppm）。

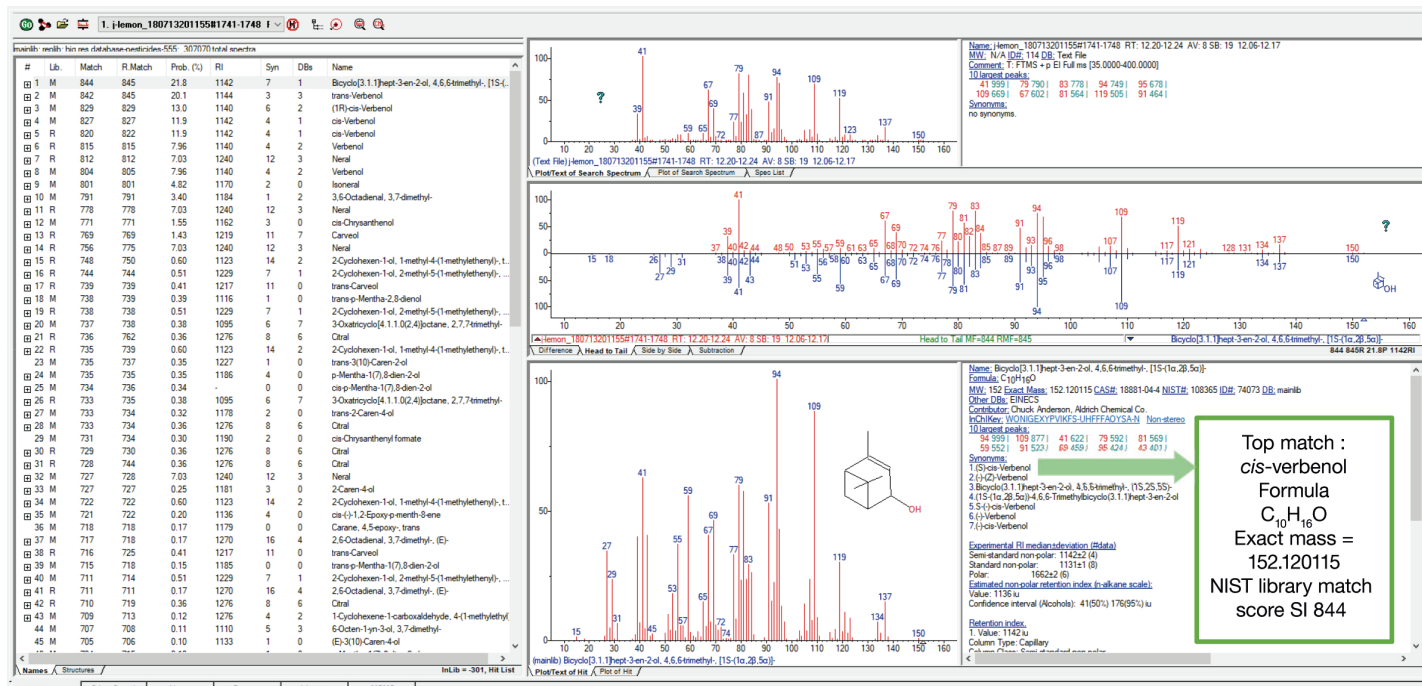


图8 EI采集12.2min峰NIST谱库搜索结果，首位匹配cis-verbenol

当使用甲烷作为反映气采集PCI数据，会得到[M+H]⁺，[M+C₂H₅]⁺和[M+C₃H₅]⁺三个加和离子，图9中为12.2min峰用PCI进行确认的结果，在扣除过背景的谱图中可以看到[M+H]⁺，[M+C₂H₅]⁺和[M+C₃H₅]⁺离子。

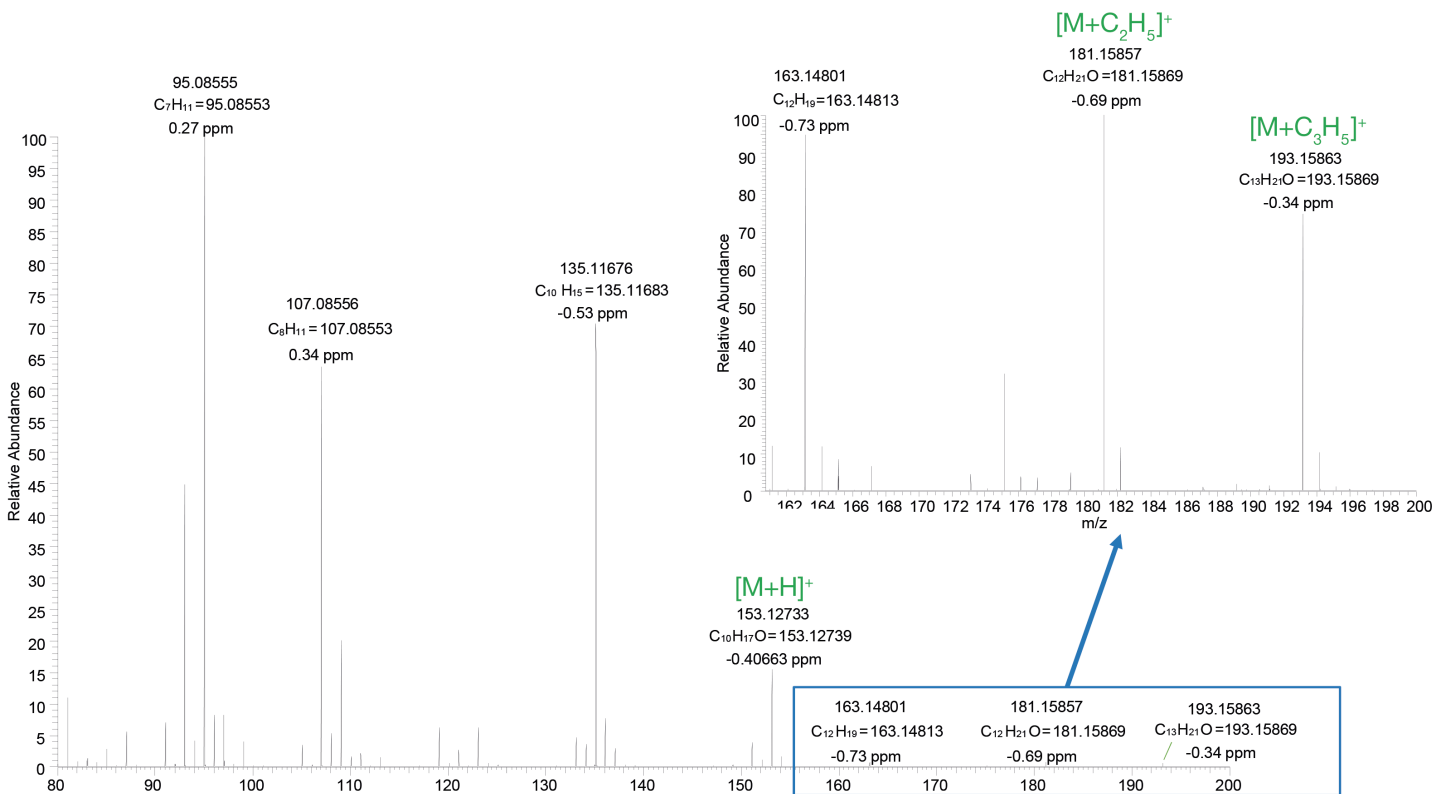


图9 12.2min峰 (cis-verbenol) 的PCI确认质谱图。放大[M+H]⁺，[M+C₂H₅]⁺和[M+C₃H₅]⁺加和离子峰。标注中为实测质量数、元素组成以及理论质量数和偏差 (ppm)。

总结

- 采用GC-Orbitrap GC-MS系统结合易用的软件和自动化的解卷积流程分析电子烟油中的成分。
- TraceFinder软件中的高效峰识别和解卷积算法以及谱库搜索在电子烟油样品的非靶向筛查分析中带来可靠的鉴定结果。
- 通过快速的EI和CI切换 (<5min) 可以快速获得更有针对性的CI数据, 获得更具置信度的结果。使用甲烷做反应气, PCI模式下采集到三个主要的加和峰, 使用更软性的NCI模式获得主要碎片离子信息。
- 在难以获得标准品的情况下, 可以使用自建的化合物数据库配合Exactive GC Orbitrap独有的高分辨率和亚ppm级的质量精确度来获得额外的判定依据。
- 使用TriPlus RSH平台SPME Arrow达到简单自动的电子烟油样品前处理流程。

应用文献

1. Barrington-Trimis, J.L.; Samet, J.M.; McConnell, R. Flavorings in electronic cigarettes: an unrecognized respiratory health hazard, JAMA 2014, 12, 2493-2394.
2. Harmful and Potentially Harmful Constituents in Tobacco Products and Tobacco Smoke: Established List under the U.S Food and Drug Administration. [Online]
<https://www.fda.gov/tobacco-products/products-ingredients-components/harmful-and-potentially-harmful-constituents-hphcs> (accessed Apr 29, 2019).
3. Guidance for Industry: Reporting Harmful and Potentially Harmful Constituents in Tobacco Products and Tobacco Smoke Under Section 904(a) (3) of the Federal Food, Drug, and Cosmetic Act, DRAFT GUIDANCE. [Online] <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/reporting-harmful-and-potentially-harmful-constituents-to-bacco-products-and-tobacco-smoke-under> (accessed Apr 29, 2019).
4. Guidance for Industry: Premarket Tobacco Product Applications for Electronic Nicotine Delivery Systems under section 910 of the Federal Food, Drug, and Cosmetic Act (the FD&C Act) DRAFT GUIDANCE. [Online] <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/premarket-tobacco-product-applications-electronic-nicotine-delivery-systems-ends> (accessed Apr 29, 2019).
5. The Tobacco Products Directive (2014/14/EU). https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/tobacco/docs/dir_201440_en.pdf (accessed Nov 15, 2018).
6. World Health Organisation Framework Convention on Tobacco Control signed in Geneva on 21 May 2003. <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42811/9241591013.pdf;sequence=1> (accessed Nov 15, 2018).
7. E-cigarettes: regulations for consumer products. Medicines and Healthcare products Regulatory Agency. <https://www.gov.uk/guidance/e-cigarettes-regulations-for-consumer-products> (accessed Nov 15, 2018).
8. Kremser, A.; Jochmann, M.A.; Schimdt, Systematic comparison of static and dynamic headspace sampling techniques for gas chromatography. T.C. Anal. Bioanal. Chem, 2016, 408, 943-952.



赛默飞
官方微信

热线 800 810 5118
电话 400 650 5118
www.thermofisher.com

Thermo Fisher
SCIENTIFIC

使用GC-Orbitrap-MS高分辨质谱对电子烟油中尼古丁成分进行定量分析

作者

Jane Cooper,¹ Chris Allen,² and Cristian Cojocariu¹
¹Thermo Fisher Scientific, Runcorn, UK ²Broughton
Nicotine Services, Earby, UK

介绍

电子烟出现于2007年，作为传统香烟的替代品之一，其使用在全世界有显著的增速。电子烟油(e-liquid)可能含有尼古丁，这是一种非常容易上瘾且在高剂量时有毒的物质，摄入尼古丁可能会增加心脏病发作的风险，并可能影响生殖健康。研究表明，尼古丁会影响吸烟者的注意力和记忆力，尤其是青少年。

为保护人们的健康，并履行欧盟根据《世界卫生组织烟草控制框架公约》承担的义务，烟草产品指令2014/14/EU (TPD)第20条第4款，包含含有尼古丁的电子香烟和再填充容器，药品和保健产品管理局(MHRA)负责执行第20条的大部分规定，明确规定尼古丁含量的限制不超过20毫克/毫升。

现有的电子烟油的定量分析多采用液相色谱和气相色谱技术，仪器配置为GC-FID、LC-UV以及质谱。但是这些方法的灵敏度和选择性不能满足定量分析需求。高分辨率和极高的质量精度使得GC-Orbitrap成为电子烟油定性定量分析的不二选择。

关键词

精确质量数 电子烟 烟油 气相色谱 气质联用
定量分析 气相 高分辨率 Orbitrap质谱 尼古丁

本实验通过对电子烟油中尼古丁的定量分析展现了Exactive GC Orbitrap高分辨质谱系统的高灵敏度和高质量精度。

实验

标准品与样品

本地购买尼古丁含量为0, 6, 12mg/mL的无香和有香的电子烟油用于实验分析。同样, 也分析了尼古丁含量为0mg/mL的“shortfill”无尼古丁添加烟油, shortfill”无尼古丁添加的烟油, 因其不含有尼古丁, 因此购买量不受法规限制, 单次购买量可大于10ml。“shortfill”这类烟油是一种烟油的稀释剂, 消费者在购买了该产品后, 需要另行购买尼古丁油, 在使用前, 由使用者自行进行添加勾兑。在英国, 这类零尼古丁添加的烟油不受TPD法规管制。

电子烟油的尼古丁定量分析采用分流/不分流进样。取50uL烟油样品使用乙腈做溶剂稀释至5mL (LC/MS级别), 混匀, 取100uL烟油稀释液及50uL内标物 (0.1mg/mL, 8-羟基喹啉), 直接于GC进样瓶中以乙腈为溶剂稀释至1mL上机测试。

校准曲线: 尼古丁浓度范围46ng/mL至13792ng/mL, 溶剂为乙腈, 尼古丁标品为LGC (特丁顿, 英国) 认证烟油标准物质, 内标物 (8-羟基喹啉) 浓度5000ng/mL。

仪器及方法

所有试验中采用Thermo Scientific™ Exactiv GC Orbitrap质谱仪联用Thermo Scientific™ TRACE 1310 气相色谱搭载Thermo Scienti_c™ TriPlus RSH 自动进样器并配备了Thermo Scientific™即插式分流/不分流进样口。

色谱柱采用Thermo Scientific™ TG-WaxMS 30 m x 0.25 mm i.d. x 0.25 μm (P/N 26088-1420)。

使用FC43 (CAS311-89-7) 对质谱系统进行调谐和校正, 耗时 < 1.5min, 调谐结果质量精度 < 0.5ppm。质谱系统使用电子电离源 (EI) 模式, 在60,000分辨率下进行全扫描分析 (m/z200 FWHM)。仪器详细参数见表1和表2。

表1. 气相色谱和进样参数

TRACE 1310 GC 气相色谱参数				
进样体积 (μl)	1.0			
衬管	Thermo Scientific™ LinerGOLD™ 4 mm i.d. 78.5 mm length (P/N 453A1255-UI)			
进样口温度 (°C)	260			
载气 (mL/min)	He, 1.2			
进样模块及模式	分流不分流进样口, 分流模式			
分流比	10:1			
吹扫流量 (mL/min)	5.0			
色谱柱	TG-WaxMS 30 m x 0.25 mm i.d. x 0.25 μm film capillary column (Thermo Scientific™ TraceGOLD™ GC Column) (P/N 26088-1420)			
柱温箱条件	RT(min)	升温速率 (°C/min)	目标温度 (°C)	保持时间 (min)
初始温度	0	-	40	3.00
终止温度	3.00	13	250	6.00
运行时间	25	-	-	-

表2. 质谱参数

Exactive GC Orbitrap 质谱参数	
传输线温度(°C):	250
电离方式:	EI
离子源温度(°C):	230
电力能量(eV):	70
采集模式:	Full-scan
扫描范围(Da):	75-500
分辨率:	60,000 FWHM at m/z 200

数据处理

使用Thermo Scientific™ TraceFinder软件进行数据处理。该软件集成仪器控制、方法开发和定性定量数据处理为一体, 同时也包含高分辨数据解卷积和谱库搜索匹配功能。

结果与讨论

本实验验证了高分辨Orbitrap-GC/MS技术对电子烟油中尼古丁的定量分析能力，方案采用液体进样，优化得到本方案的仪器参数，分辨率、仪器灵敏度及线性范围。

在使用TraceFinder软件建立尼古丁的定量分析工作流程时，需要先建立一个数据库（CDB），将所需的化合物信息进行汇总，见表2.图3为尼古丁的定性定量离子的提取离子色谱图叠加谱图。

色谱结果

按照表1的色谱条件，目标物获得了良好的色谱分离结果。

尼古丁和内标物8-羟基喹啉的总离子流图（TIC）见图1。

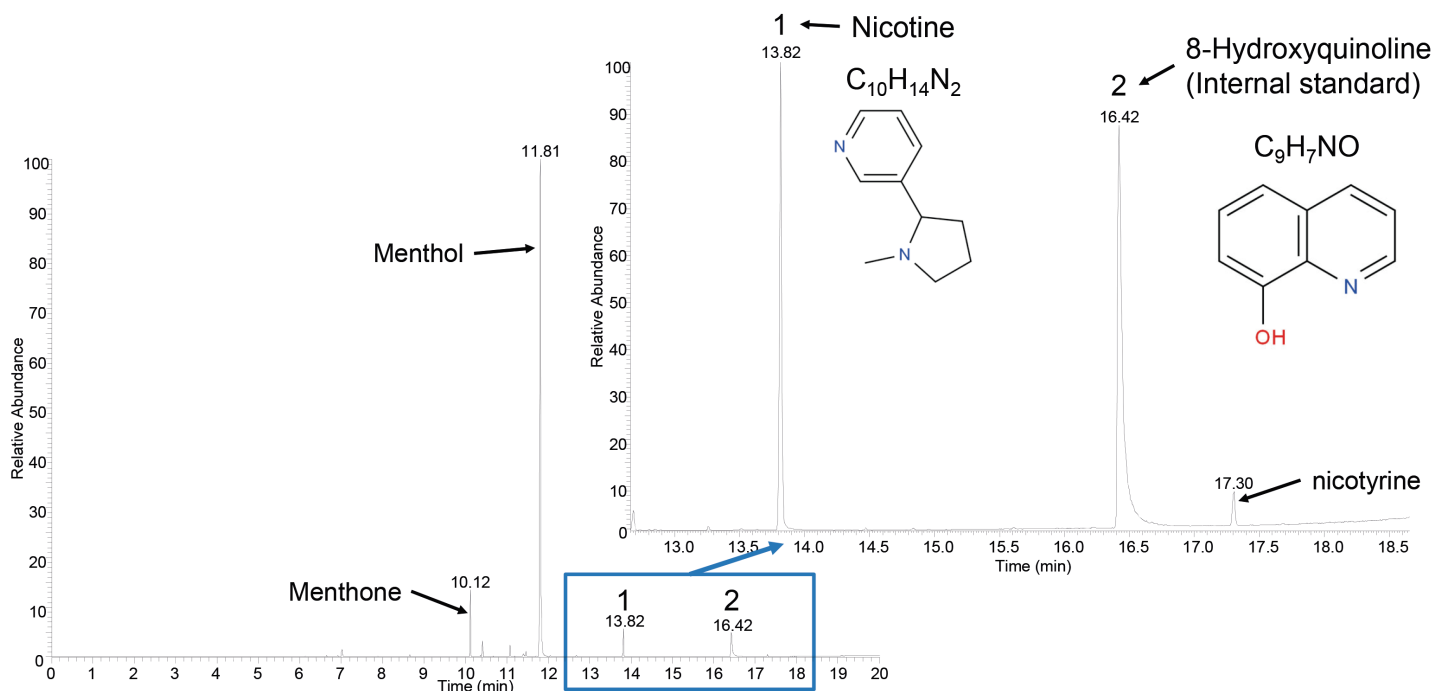


图 1. [1] 尼古丁 和 [2]8- 羟基喹啉（内标物）总离子流（TIC）特征谱图，尼古丁浓度 13,792 ng/mL，8- 羟基喹啉浓度 5000 ng/mL。保留时间在 12.12,11.81 和 17.30 的色谱峰，以及其他的色谱峰的定性结果均在扣除基质背景后按照 NIST 谱库中最高匹配度给出了定性结果

Compound Database - e-cig SSL*							
Compound Name	Peak Label	Peak Workflow	Associated Target Peak	m/z	Retention Time (min)	RT Window (sec)	Target Ratio
8-hydroxy quinoline	T1: 145.05219	TargetPeak		145.05219	16.42	30.00	15
8-hydroxy quinoline	T1C1: 117.05731	Confirming	T1: 145.05219	117.05731	16.42	30.00	15
8-hydroxy quinoline	T1C2: 89.03863	Confirming	T1: 145.05219	89.03863	16.42	30.00	15
Nicotine	T1: 84.08083	TargetPeak		84.08083	13.80	30.00	15
Nicotine	T1C1: 133.07614	Confirming	T1: 84.08083	133.07614	13.80	30.00	15
Nicotine	T1C2: 161.10740	Confirming	T1: 84.08083	161.10740	13.80	30.00	15

图 2. 尼古丁和 8- 羟基喹啉的 CDB 数据库，包含详细的定性定量特征离子（m/z），保留时间（RT），保留窗口以及特征离子比率

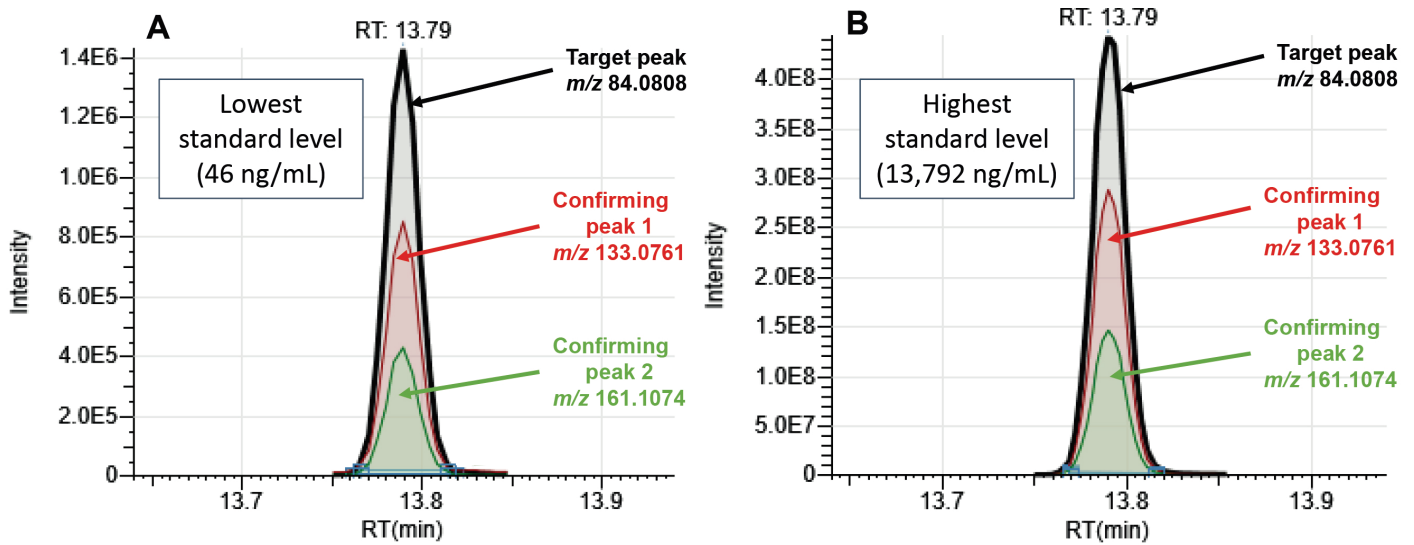


图 3 尼古丁的定性和定量离子提取离子流图 (EICs) 【A】为标曲浓度的低浓提取离子流图叠加谱图 (46 ng/mL), 【B】为标曲浓度高浓提取离子流图叠加谱图 (13792 ng/mL)

定量及灵敏度

本文使用Exactive GC Orbitrap GCMS系统进行了尼古丁的定量方法学验证, 包括系统灵敏度、线性相关系数, 峰面积重现性。此外, 还对目标化合物在线性浓度范围内的质量准确性进行了测试。线性范围在46-13792ng/mL范围内, 测试了11个浓度级别 (相当于电子烟油样品中0.046-13.79mg/mL的含量)。数据采用全扫描方式, 数据的保留时间漂移窗口 ± 0.5 min, 质量准确度允许范围 ± 5 ppm, 定性定量离子比率偏差范围 $\pm 15\%$ 。全扫描采集方式获得的数据可满足已知物

定量分析, 以及对未知物组分进行探索和进行进一步的数据挖掘工作。在46ng/ml浓度下, 尼古丁物质具有良好的检出能力 (该浓度相当于烟油中0.046mg/ml浓度)。

质量精度

质谱的质量精度和色谱的稳定性是实现电子烟油中尼古丁成分准确定量的先决条件。图4给出了在校正浓度范围内高浓度的尼古丁碎片离子的质量精度, 每一个离子碎片离子的质量精度均 < 1 ppm。

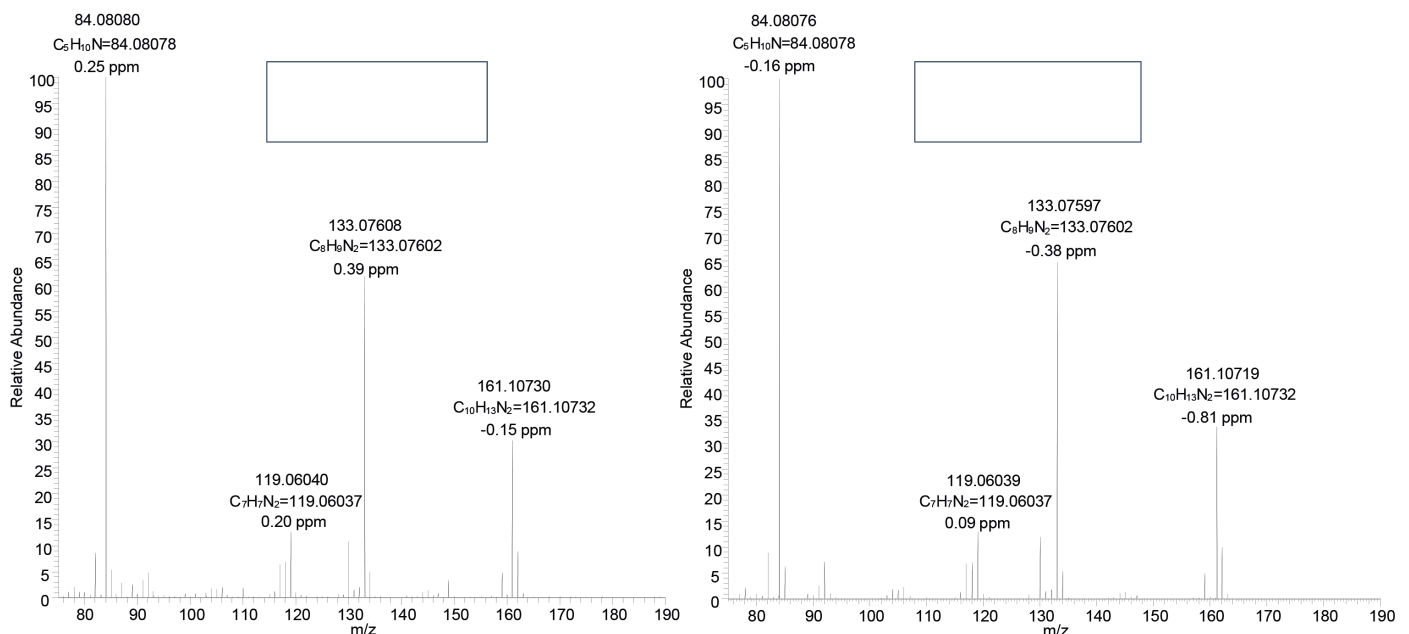


图 4, 尼古丁的低浓度 (46ng/mL) 和高浓度 (13792ng/mL) 质谱图质谱图中每一个离子碎片的质量精度均小于 1ppm, 注释内容分别是测量质量数、元素组成、理论质量数以及质量精度 (ppm)。

基质中尼古丁峰面积重现性

测定尼古丁在基质中的重现性，对准确定量尼古丁含量十分重要，本方案测试了两种烟油基质，使用6mg/mL添加浓度，重复进样三次，获得重现性数据，见表3，定量离子的峰面积重现性为3.7%至3.9%。

线性结果

内标法建立11个级别的线性结果（46-13792ng/mL），使用1/X权重因子，如图5A，获得完美的线性相关系数内标曲线（内标物8-羟基喹啉），内标物峰面积重现性RSD5.33%，尼古丁11个点的线性相关系数 R^2 为0.9991，峰面积重现性RSD4.4%，标曲上每个点的回读值偏差。图5B为尼古丁的标准曲线及线性相关系数（ R^2 ）以及峰面积重现性。

表3. 两种电子烟油样品尼古丁含量的重现性（n=3），添加浓度为6mg/mL，f代表有香味烟油，g代表无香味烟油。含量结果使用内标法计算获得。

Nicotine results summary						
Sample:	f			g		
Replicate number	Peak area	RT (min)	Conc. (mg/mL)	Peak area	RT (min)	Conc. (mg/mL)
1	227988757	13.78	5.523	274002489	13.78	7.053
2	234018241	13.77	5.619	290141336	13.77	7.422
3	245967546	13.77	5.463	29386353	13.77	7.297
Average	235991515	13.77	5.535	285993392	13.77	7.257
Std dev	9150386	0.006	0.079	10547493	0.006	0.1877
%RSD	3.88	0.042	1.422	3.69	0.042	2.59
Claimed (mg/mL)			6.00			6.00
% of claimed			92.25			120.96

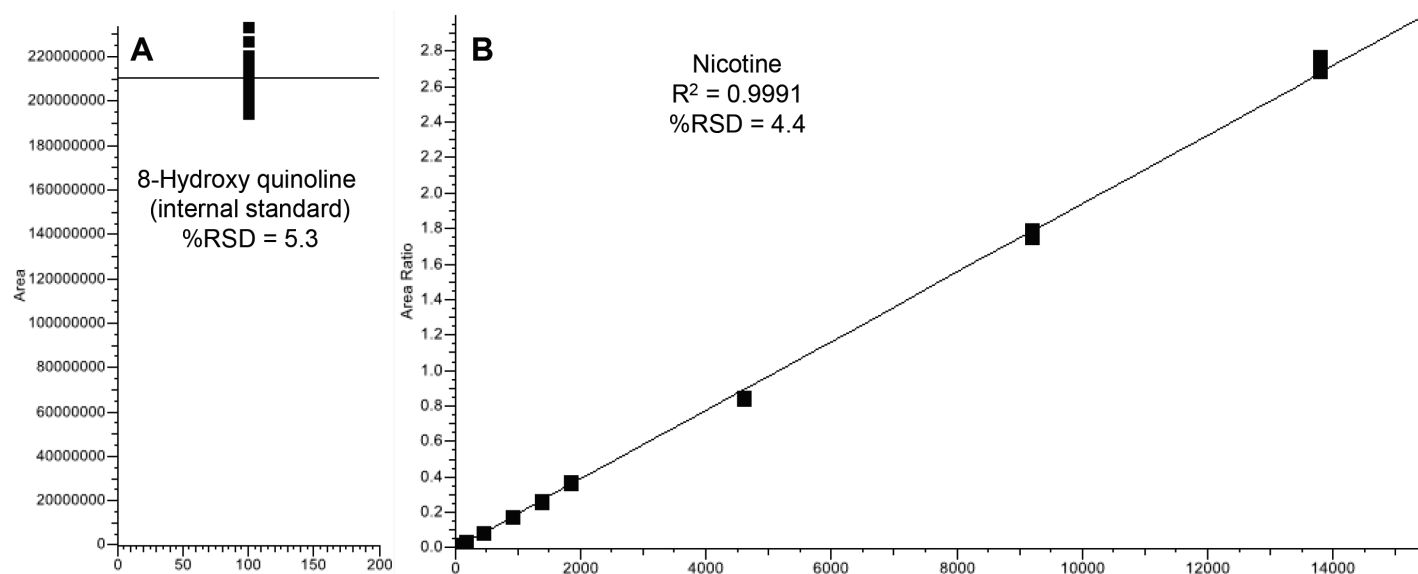


图 5. (A) 8-羟基喹啉峰面积重现性（内标物）(B) 尼古丁内标曲线，浓度范围为 46 to 13,792 ng/mL 的 11 点标曲，每个浓度点进样两次取平均

电子烟油样品中尼古丁的定量分析

本方案中一共对10个电子烟油样本进行了处理及分析，分析结果见表6A，样品的定量分析均采用内标法定量，在每个样品中均添加了内标物，使用内标曲线对尼古丁含量进行了校准。对三种标注含有尼古丁成分的烟油进行了测试，标注结果与测试结果的对比见图6B。测试结果显示，电子烟油中的尼古丁含量的实测值与说明书中的标注含量差异很大，测试结果表明，尼古丁含量的实测值与标注含量之间的含量偏差在-8%到+21%之间。

A

Sample	Description	Declared nicotine concentration (mg/mL)	Nicotine concentration (mg/mL)
a	Flavorless	0	<0.046
b	Flavored (branded)	0	<0.046
c	Flavored (branded)	0	<0.046
d	Flavored (vanilla)	0	<0.046
e	Flavored (mint)	0	<0.046
f	Flavored (branded)	6	5.5
g	Flavorless	6	7.3
h	Flavored (lemon)	12	12.2
i	Flavored (strawberry)	0	<0.046
j	Flavored (lemon)	0	<0.046

B

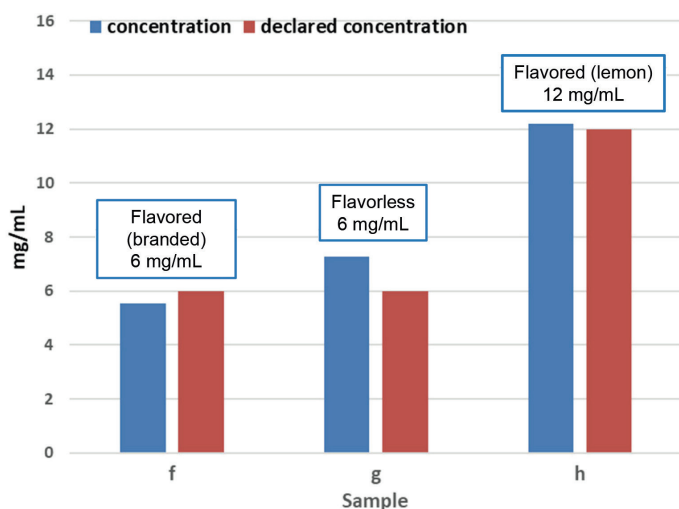


图 6.(A) 电子烟油中尼古丁实测含量，(B) 三个标注含有尼古丁的烟油中尼古丁的测试含量和标注含量对比

结论

- 该研究表明，Orbitrap GC-MS技术具有高分辨率和高质量精度的优势，是电子烟油定量分析的不二选择
- 使用液体进样对尼古丁进行目标物定量分析：线性相关系数 $R^2=0.999$ ，峰面积重现性 $RSD\%=4.4\%$ ，11个点的标准曲线浓度范围在46 至13,792 ng/mL之间（相当于烟油中尼古丁含量0.046 - 13.79 mg/mL）；全谱中各离子碎片质量数的质量精度均< 1ppm（低浓度与高浓度下均适用）
- 对种市售的电子烟油中尼古丁含量进行了定量分析，其中包含有香及无香的烟油十个烟油样品中，有2个零尼古丁的“shortfill”烟油稀释液，其余8个测试的烟油样品尼古丁标注含量为0,6,12mg/mL。在样本选择时，尼古丁的标注含量相同的情况下，又选择了不同香味的样本进行多因素的考察比对。对含有尼古丁的样品进行重现性测试，结果显示，峰面积重现性 $RSD < 3\%$ ，具有良好的重现性。

参考文献

1. United States Department of Health and Human Services. How Tobacco Smoke Causes Disease: The Biology and Behavioral Basis for Smoking-Attributable Disease: a report of the Surgeon General. Centers for Disease, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, USA, 2010.
2. Goriounova, N.A.; Mansvelter, H.D. Short-and Long-Term Consequences of Nicotine Exposure during Adolescence for Prefrontal Cortex Neuronal Network Function. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, v.2(12), 2012.
3. World Health Organization Framework Convention on Tobacco Control signed in Geneva on 21 May 2003. [Online] <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42811/9241591013.pdf;sequence=1> (accessed Nov 15, 2018).
4. The Tobacco Products Directive (2014/14/EU). [Online] https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/tobacco/docs/dir_201440_en.pdf (accessed Nov 15, 2018).
5. E-cigarettes: regulations for consumer products. Medicines and Healthcare products Regulatory Agency. [Online] <https://www.gov.uk/guidance/e-cigarettes-regulations-for-consumer-products> (accessed Nov 15, 2018).
6. Flora, J. W.; Wilkinson, C. T.; Sink, K. M.; McKinney, D. L.; Miller, J. H. Nicotine-related impurities in e-cigarette cartridges and refill e-liquids. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 2016, 39(17-18), 821–829.
7. Liu, X.; Joza, P.; Rickert, B. Analysis of nicotine and nicotine-related compounds in electronic cigarette liquids and aerosols by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Beiträge zur Tabakforschung International/Contributions to Tobacco Research* 2017, 27(7), 154–167.
8. Aszyk, J.; Kubica P., Kot-Wasik, A.; Namiéśnik, J.; Wasik, A. Comprehensive determination of flavouring additives and nicotine in e-cigarette refill solutions. Part I: liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis. *Journal of Chromatography A* 2017, 1519, 45–54.
9. Herrington, B. J. S.; Myers, C.; Rigdon, A. Analysis of Nicotine and Impurities in Electronic Cigarette Solutions and Vapor. Restek, State College, PA, USA, 2015
10. CORESTA Recommended Method No. 62). Determination of Nicotine in Tobacco and Tobacco Products by Gas Chromatographic Analysis. 2005. [Online] <https://www.coresta.org/determination-nicotine-tobacco-and-tobacco-products-gas-chromatographic-analysis-29185.html> (accessed Dec 19, 2018).
11. Ghalop, V.V.; Kosmider, L.; Halquist, M.S. A Standardized Approach to Quantitative Analysis of Nicotine in e-Liquids Based on Peak Purity Criteria using High-Performance Liquid Chromatography. *Journal of Analytical Methods in Chemistry* 2018, Article ID 1720375.
12. Cooper, J.; Allen, C.; Cojocariu, C. Comprehensive chemical characterization of e-cigarette liquids using high resolution Orbitrap GC-MS. Thermo Scientific Application Note 10708, March 2019.
13. Davis, B.; Dang, M.; Kim, J.; Talbot P. Nicotine concentrations in electronic cigarette refill and do-it-yourself fluids. *Nicotine & Tobacco Research* 2015, 17(2), 134–141.
14. Trehy, M. L.; Ye, W.; Hadwiger, M. E. et al. Analysis of electronic cigarette cartridges, refill solutions, and smoke for nicotine and nicotine related impurities. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 2011, 34(14), 1442–1458.



热线 800 810 5118
电话 400 650 5118
赛默飞
官方微信 www.thermofisher.com

ThermoFisher
SCIENTIFIC