

全新一代超高效液相色谱三重四极杆质谱测定电子烟液中4种烟草特有亚硝胺

孙银 祝翔 李向军 徐牛生
赛默飞世尔科技(中国)有限公司

关键词

三重四极杆液质联用 电子烟 烟草特有亚硝胺 烟碱

摘要

本文基于赛默飞全新一代超高效液相色谱串联三重四极杆质谱平台，建立了针对电子烟烟油中四种烟草特有亚硝胺的超高效液相色谱串联三重四极杆质谱分析方法。方法选用PFP柱(Thermo Scientific™ Hypersil PFP, 150x2.1mm, 2.6μm)，以乙腈(0.1%醋酸)-水(10 mM醋酸铵)为流动相进行梯度洗脱，流速0.3 mL/min，柱温45 °C。采用ESI源，正模式采集，扫描方式为选择反应检测(SRM)。结果表明：在基质条件下，四种烟草特有亚硝胺在0.01-20ng/mL范围内的线性相关系数均大于0.995；在1.0 ng/mL添加水平下连续进样6针，四烟草特有亚硝胺的RSD均小于2.6%。该方法对电子烟烟油基质样品的灵敏度和重现性结果良好。适用于电子烟烟油中四种烟草特有亚硝胺的检测。

1. 引言

电子烟是通过雾化等手段，将含有尼古丁的烟液等变成蒸汽后，让用户吸食的一类可充电的电子产品，有着与卷烟一样的外观、烟雾、味道和感觉。电子烟烟油主要由丙二醇(Propanediol)、尼古丁(Nicotine)、蔬菜甘油(Vegetable Glycerin)以及调味剂或香精等物质组成。目前为止，对电子烟中各种化学物质组成的研究还相对不足，且在电子烟液调制过程中，添加从烟草中提取出来的尼古丁时，可能会引入大量的烟碱类化合物，也令电子烟的健康性饱受质疑。

烟草生物碱的组成和含量对烟草感官和安全性具有重要影响。烟草中的烟碱可直接刺激人体中枢神经，产生生理反应。烟草生物碱在烟草调制、加工等过程中易代谢为降生物碱，进而与亚硝酸盐形成有致癌性的烟草特有亚硝胺(TSNAs)。随着人们对吸烟与健康问题的日益关注，对其进行准确检测对于电子烟的危害研究已经十分必要。电子烟烟油样品基质相对复杂、基质干扰严重，给定量分析带来一定的难度。本文基于赛默飞全新一代液相色谱串联三重四极杆质谱平台，建立测定电子烟烟油中TSNAs的超高效液相色谱-串联质谱分析方法。该方法专属性强、简单快捷、重复性好且成本低，可以满足对电子烟烟油中4种TSNAs的检测需求。

2. 实验部分

2.1 仪器与试剂

2.1.1 Thermo Scientific™ Vanquish™超高效液相色谱仪

Thermo Scientific™ TSQ三重四极杆质谱仪

2.1.2 乙腈(质谱纯, 美国Thermo Fisher公司); 水(质谱纯, 美国Thermo Fisher公司); 乙酸(质谱纯, 美国Thermo Fisher公司); 乙酸铵(质谱纯, 美国Thermo Fisher公司);

2.2 标准品信息及溶液配制

2.2.1 4种烟草特有亚硝胺信息

表1 4种烟草特有亚硝胺

化合物名称	英文名称	CAS号	分子式	精确分子量
N-亚硝基降烟碱 (NNN)	N-Nitrosornicotine	80508-23-2	C ₉ H ₁₁ N ₃ O	177.09021
4-(N-甲基-N-亚硝基氨基)-1-(3-吡啶基)-1-丁酮 (NNK)	4-(N-Nitrosomethyl amino)-1-(3-Pyridyl)-1-Butanone	64091-91-4	C ₁₀ H ₁₃ N ₃ O ₂	207.10078
N-亚硝基新烟草碱 (NAT)	(R,S)-N-Nitroso Anatabine	887407-16-1	C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O	189.09021
N-亚硝基假木贼碱 (NAB)	(S)-N-Nitroso Anabasine	1133-64-8	C ₁₀ H ₁₃ N ₃ O	191.10586

2.2.2 标准品

4种烟草特有亚硝胺标准品储备液制备:

NNN, Dr.E, 称取10.0mg标品, 溶于1.0mL乙腈中, 得10.0mg/mL标准品储备液;

NNK, LGC, 称取2.0mg标品, 溶于1.0mL乙腈中, 得2.0mg/mL标准品储备液;

NAT, TRC, 直接溶于1.0mL乙腈中, 得5.0mg/mL标准品储备液;

NAB, TRC, 直接溶于1.0mL乙腈中, 得5.0mg/mL标准品储备液;

2.2.3 混合储备液: 精确吸取相应标准品溶液, 用乙腈稀释配置成100µg/ml的混合储备液。

2.2.4 标准曲线: 称取1.0 g的电子烟液样品于15 mL的离心管中, 用0.1mol/L的醋酸铵溶液定容至10 mL刻度, 剧烈震荡混匀, 用于制备系列标准曲线溶液: 0.01、0.05、0.1、0.5、1.0、5.0、10和20 ng/mL。

2.3 色谱条件:

色谱柱: Thermo Scientific™HypersilGOLD™ (PFP, 2.6µm, 150 x 2.1mm);

柱温: 45°C;

进样量: 10 µL;

流动相: A为水 (含10mM乙酸铵), B为乙腈 (含0.1%乙酸), 梯度洗脱程序见下面表2

表2 梯度洗脱程序

时间	A%	B%	流速mL/min
0.0	90	10	0.3
2.0	70	30	0.3
4.0	40	60	0.3
6.0	0	100	0.3
8.0	0	100	0.3
8.1	90	10	0.3
11.0	90	10	0.3

2.4 质谱条件:

可加热电喷雾电离源 (HESI), 正离子扫描模式; 扫描方式: 选择反应监测SRM; 离子传输管温度: 320 °C; 鞘气压力35 arb; 辅助气压力10 arb; 离子源温度: 350 °C; 碰撞气压力: 1.5 mTorr; 选择反应监测离子对信息见表3。

表3 4种烟草特有亚硝胺质谱采集参数

化合物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (V)	Tube Lens (V)
NNN	178.0	147.9*	10	30
	178.0	120.0	19	30
	178.0	105.0	20	30
NNK	208.2	121.9*	12	38
	208.2	106.0	22	38
	208.2	79.0	39	38
NAT	190.2	160.0*	10	34
	190.2	78.9	29	34
	190.2	106.0	17	34
NAB	192.2	162.0*	11	35
	192.2	133.0	22	35
	192.2	106.0	33	35

标* 的子离子为定量离子

3. 实验结果与讨论

3.1 色谱图

采用上述仪器方法，即使在电子烟烟液基质中4种烟草特有亚硝胺均可获得良好的色谱峰形。图1为基质中4种烟草特有亚硝胺（5.0 ng/mL）的色谱图。

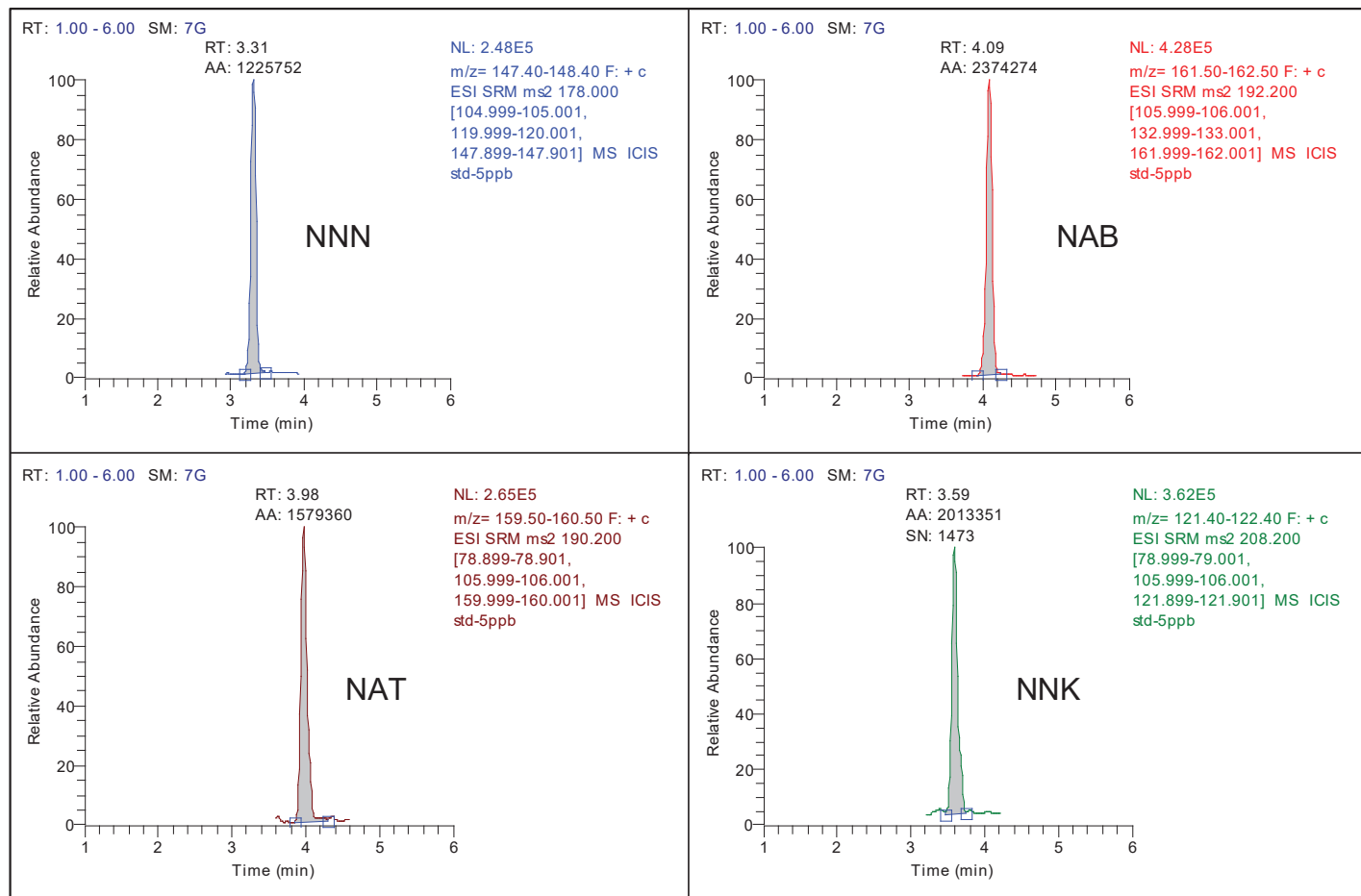


图1 4种烟草特有亚硝胺色谱图

3.2 线性范围

采用上述仪器方法，利用电子烟液基质建立标准曲线，对电子烟液中四种烟草特有亚硝胺的线性范围、线性相关系数、LOQ等参数进行考查，结果见表4，化合物标准曲线图见图2。结果发现，四种化合物的线性相关系数R²均大于0.99，线性关系良好。

表4 4种烟草特有亚硝胺的保留时间，线性，相关系数及LOQ

化合物名称	保留时间 (min)	线性范围 (ng/mL)	线性方程	相关系数 (R ²)	LOQ (ng/g)
NNN	3.31	0.01-20	Y=2.482e+05*X+4.013e+04	0.9986	0.005
NNK	3.60	0.01-20	Y=3.952e+05*X+9.018e+04	0.9993	0.005
NAT	3.97	0.01-20	Y=2.854e+05*X+5.670e+04	0.9990	0.005
NAB	4.10	0.01-20	Y=4.446e+05*X+1.114e+05	0.9996	0.005

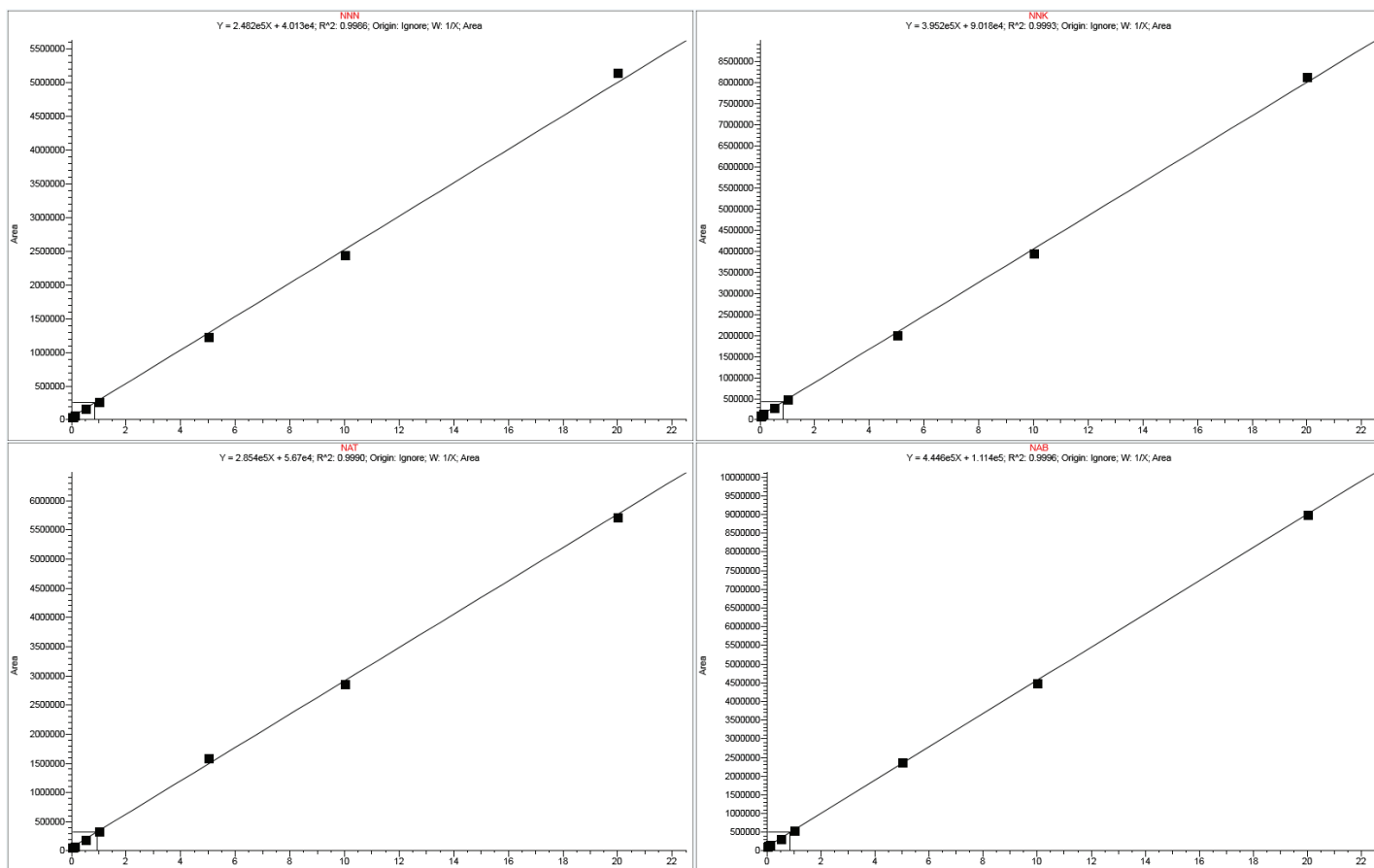


图2 4种烟草特有亚硝胺标准曲线

3.2 基质样品稳定性测试

以添加水平为1.0 ng/mL混标的基质溶液连续进样6针(如图3), 考察仪器稳定性, 实验结果见表6, 4种烟草特有亚硝胺重复进样6针的峰面积相对标准偏差RSD%均小于2.6%, 表明仪器的稳定性良好。

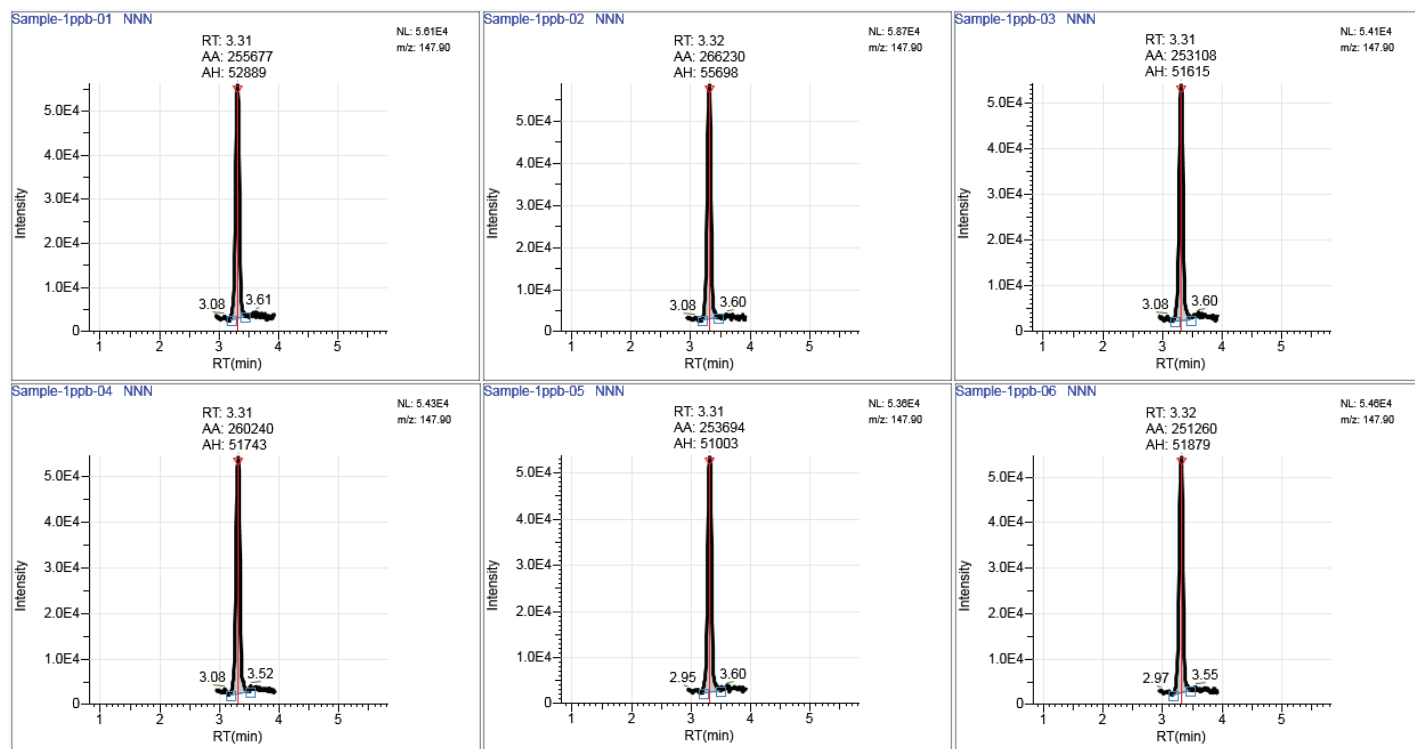


图3 1.0 ng/mL NNN提取离子流图

表6 电子烟液中4种烟草特有亚硝胺的峰面积重现性

化合物名称	#1	#2	#3	#4	#5	#6	RSD%
NNN	255677	266230	253108	260240	253694	251260	2.18
NNK	442680	451204	443854	439899	427731	426291	2.22
NAT	321542	325733	313592	319263	327656	315818	1.71
NAB	524123	519716	496629	518032	536612	511056	2.58

4. 总结

本文建立了超高效液相色谱串联三重四极杆质谱法分析4种电子烟液中中特有亚硝胺的检测方法。由实验结果可以看出，基于全新一代Thermo Scientific™ TSQ 液质联用平台建立的检测方法不仅具有优异的灵敏度和非常宽的线性范围，同时具备良好的重现性，可用于电子烟以及烟草中四种特有亚硝胺的分析检测。



赛默飞
官方微信

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

Thermo Fisher
SCIENTIFIC