

# 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,<sup>1</sup> Chris Allen,<sup>2</sup> and Cristian Cojocariu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Thermo Fisher Scientific, Runcorn, UK

<sup>2</sup>Broughton 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100 $\mu$ L烟油样品, 混匀后再取混合液50 $\mu$ L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10 $\mu$ g/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  $\mu$ m (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

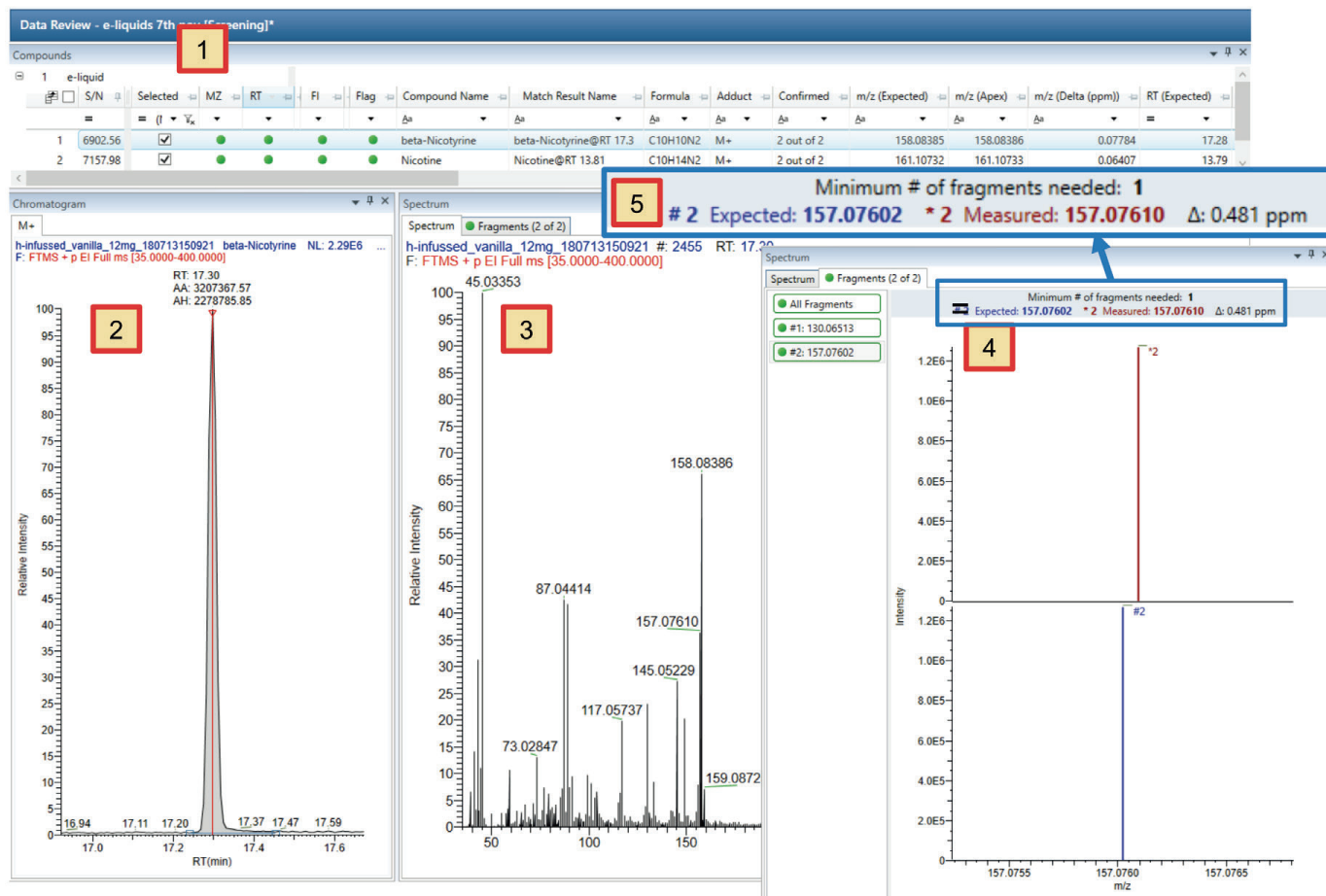


图2.h样品（香草）的靶向筛查结果：1基于碎片离子（±5ppm范围内）的化合物鉴定结果，2所选择化合物的提取离子（XIC）谱图，3化合物质谱图，4实测碎片离子（上），理论碎片离子（下），±5ppm范围显示窗口，5所选离子的质量偏差（理论质量数对比实际测得质量数）

## 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。

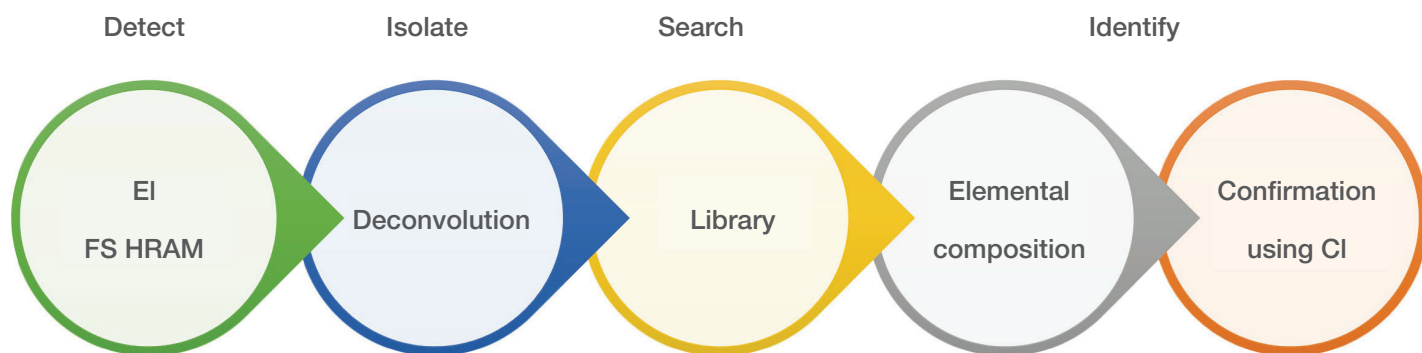


图3 Exactive GC Orbitrap电子烟油非靶向筛查工作流程：EI全扫描获取高分辨数据；解卷积和谱库搜索鉴定化合物；化学电离源（CI）进一步确认结果

### 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

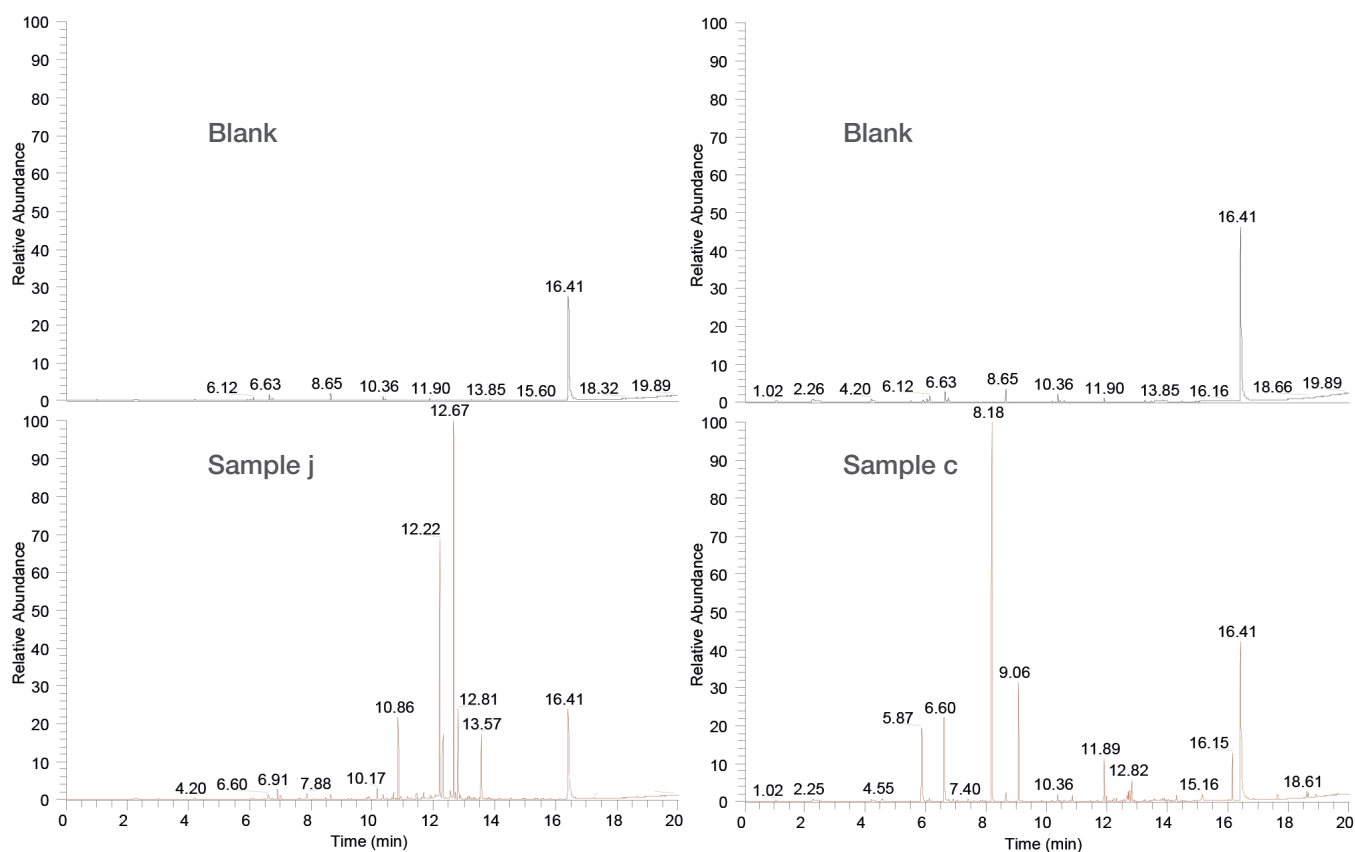


图4 样品j（柠檬味）（左下）和样品c（品牌风味）（右下）的GC-MS总离子流图（TICs，根据响应强度最高的样品归一化视图），和对应的空白样品。为方便比较，样品和空白的丰度已归一化。RT=16.4 min处为内标物8-羟基喹啉。

## 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。

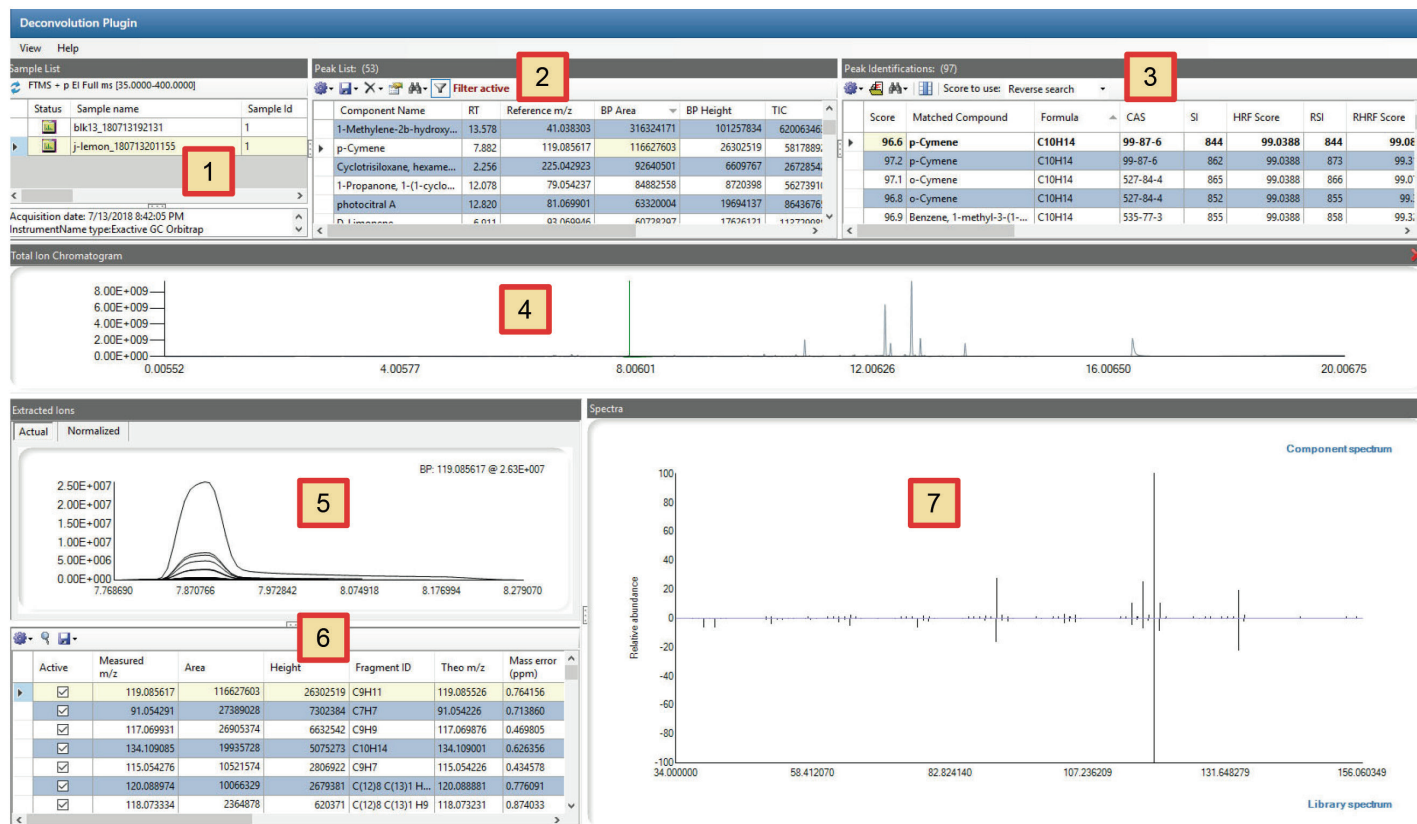


图5.样品j（柠檬味）中的4-异丙基甲苯的解卷积结果视图。1 样品列表；2解卷积峰列表；3选中组分的峰识别和谱库搜索结果；4总离子流图（TIC）；5识别组分的离子叠加图；6谱库搜索结果得分最高的质谱图中的碎片离子列表；7解卷积得到的质谱图（上）与谱库中的质谱图（下）

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 <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	101.05974	101.05974	0.3	116.08373	1193-11-9	3.1	808	87	810
		1,3-Dioxolane, 2-ethyl-4-methyl-	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	87.04409	87.04406	0.4	116.08373	4359-46-0	4.3	838	85	841
b	Flavored (branded)	Butanoic acid, ethyl ester	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	43.05413	43.05423	2.2	116.08373	105-54	4.5	809	86	810
		Ethyl maltol	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	140.04663	140.04680	1.2	140.04734	4940-11-8	15.1	890	100	940
		Vanillin	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	151.03903	151.03897	0.0	152.04734	121-33-5	18.9	878	94	886
c	Flavored (branded)	n-Amyl isovalerate	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O <sub>3</sub>	70.07770	70.07770	0.0	172.14633	25415-62-7	8.2	829	86	859
		2-Pentyl acetate	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	43.01774	43.01784	2.4	130.09938	626-38-0	5.8	874	83	899
		Acetic acid, pentyl ester	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	43.01774	43.01784	2.4	130.09938	628-63-7	6.6	840	77	880
		2,3-Nonanedione	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	43.05412	43.05423	2.3	156.11503	6175-23-1	9.1	764	68	839
		Eugenol	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	164.08296	164.08318	1.3	164.08373	97-53-0	16.2	856	99	878
		Ethyl vanillin	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	137.02341	137.02332	0.6	166.06299	121-32-4	18.6	818	91	837
d	Flavored (vanilla)	Piperonal	C <sub>8</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	149.02318	149.02332	1.0	150.03169	120-57-0	16.7	875	66	875
		Vanillin	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	151.03905	151.03897	0.5	152.04734	121-33-5	18.9	876	92	878
e	Flavored (mint)	(±)-Menthol	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O	81.06996	81.06988	1.7	156.15142	15356-70-4	11.8	807	95	808
		D-menthone	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	139.11166	139.11174	0.6	154.13577	1196-31-2	10.1	785	93	843
		(±)-Menthol	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O	81.06996	81.06988	1.1	156.15142	15356-70-4	11.4	823	93	824
		DL-menthone	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	112.08820	112.08827	0.6	154.13577	89-80-5	10.4	795	92	851
		Eucalyptol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	93.07005	93.06988	1.9	154.13577	470-82-6	7.0	783	86	783
f	Flavored (branded)	Propyl pyruvate	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	43.05417	43.05423	1.4	130.06299	20279-43-0	12.7	761	95	904
		cis-Verbenol	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	79.05421	79.05423	0.2	152.12012	18881-04-4	12.2	728	84	728
		Butanoic acid, ethyl ester	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	43.05417	43.05423	1.4	116.08373	105-54	4.6	813	89	814
		Nicotine	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub>	84.08093	84.08078	1.9	162.11570	54-11-5	13.8	872	98	873
g	Flavorless	Nicotine	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub>	84.08093	84.08078	1.9	162.11570	54-11-5	13.8	872	98	873
h	Flavored (lemon)	Nicotine	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub>	84.08093	84.08078	1.9	162.11570	54-11-5	13.8	879	99	880
		Piperonal	C <sub>8</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	149.02333	149.0233	0.1	150.03169	120-57-0	16.7	880	98	881
		Butanoic acid, ethyl ester	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	43.05412	43.05423	2.4	116.08373	105-54	4.6	882	91	882
i	Flavored (strawberry)	Cinnamic acid, methyl ester, (E)-	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	131.04919	131.04914	0.4	162.06808	1754-62-7	15.5	859	97	878
		γ-Decalactone	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	85.02843	85.02841	0.3	170.13068	706-14-9	16.0	801	95	807
		Butanoic acid, ethyl ester	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	43.05415	43.05423	1.7	116.08373	105-54	4.6	814	86	815
		Ethyl 2-methylbutanoate	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	102.06757	102.06753	0.4	130.09938	7452-79-1	4.8	786	89	809
		Photocitral B	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	137.09610	137.09609	0.1	152.12012	6040-45-5	12.7	671	99	921
j	Flavored (lemon)	cis-Verbenol	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	79.05424	79.05423	0.1	152.12012	1845-30-3	12.2	827	88	828
		cis-Geraniol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	93.06995	93.06985	0.8	154.13577	106-25-2	13.6	742	79	743
		p-Cymene	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	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。

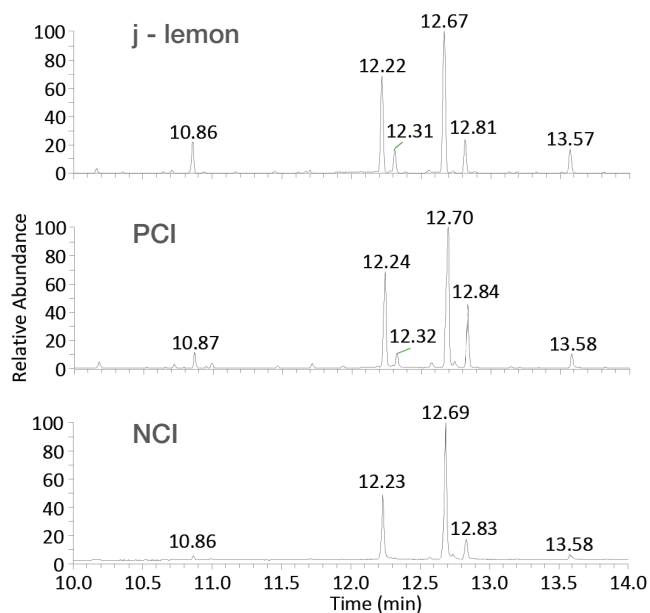


图6 样品j（柠檬味）的EI、PCI和NCI的总离子流图

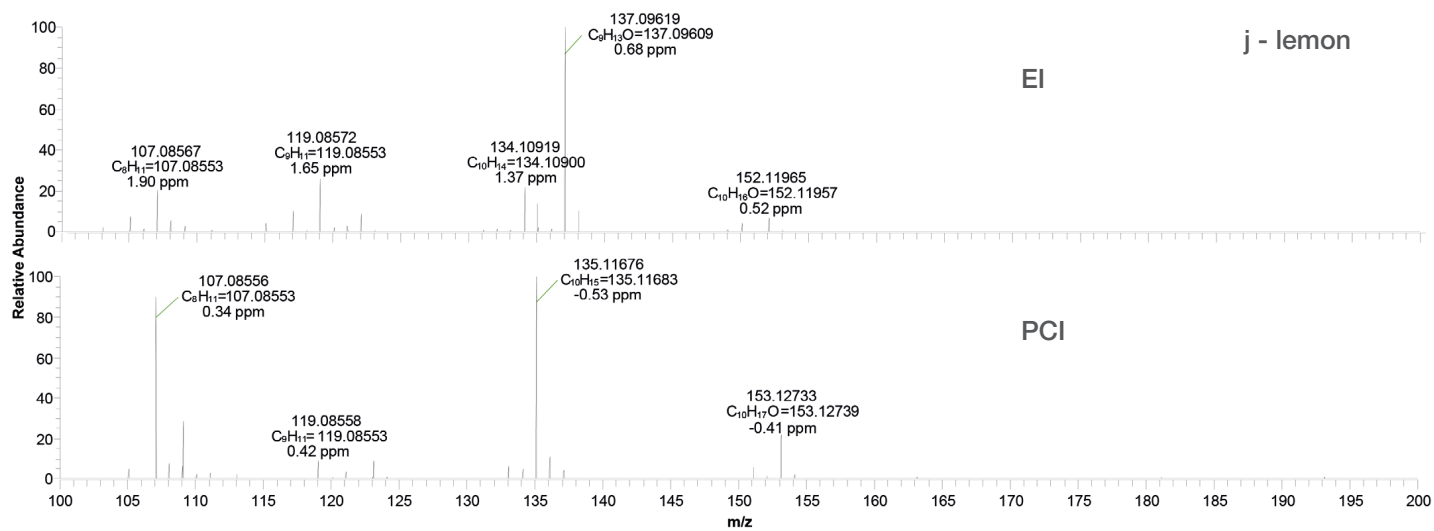


图7 样品保留时间12.2min峰的EI和PCI质谱图，标注中为实测质量数、元素组成以及理论质量数和质量偏差（ppm）。



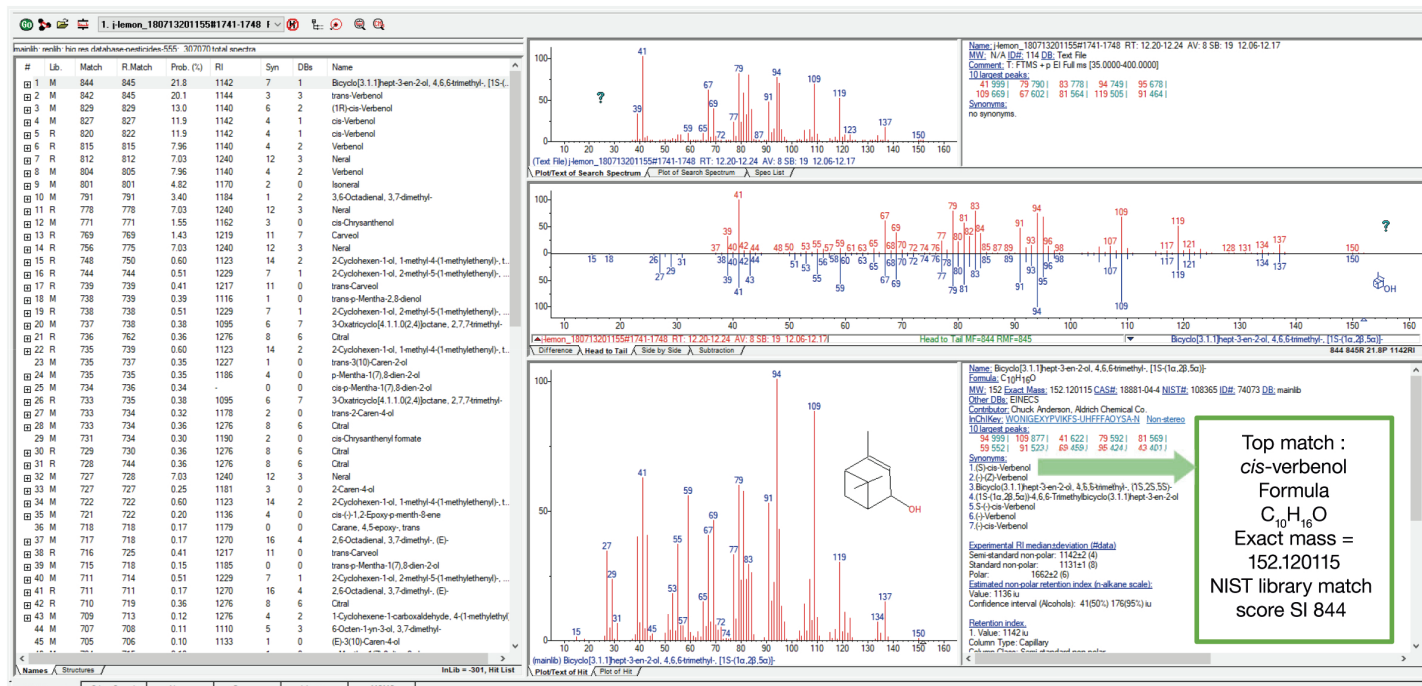


图8 EI采集12.2min峰NIST谱库搜索结果，首位匹配cis-verbenol

当使用甲烷作为反映气采集PCI数据，会得到[M+H]<sup>+</sup>，[M+C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup>和[M+C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup>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]<sup>+</sup>，[M+C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup>和[M+C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup>离子。

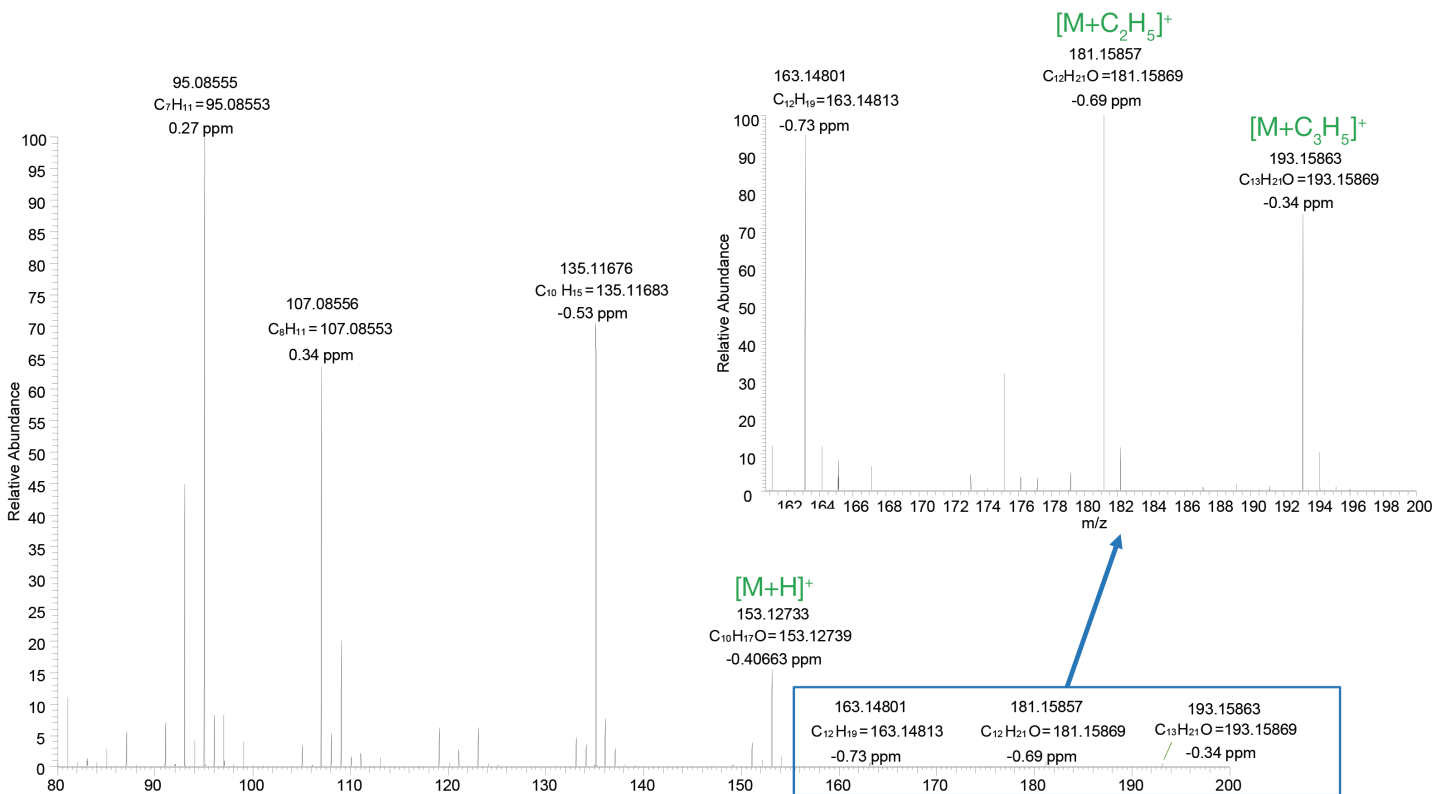


图9 12.2min峰 (cis-verbenol) 的PCI确认质谱图。放大[M+H]<sup>+</sup>，[M+C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup>和[M+C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup>加和离子峰。标注中为实测质量数、元素组成以及理论质量数和偏差 (ppm)。

## 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-tobacco-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](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](http://www.thermofisher.com)

**Thermo Fisher**  
SCIENTIFIC