

全自动固相萃取-气相色谱-串联质谱法测定 卷烟主流烟气中的 3 种多环芳烃

边照阳, 唐纲岭*, 陈再根, 庞永强, 姜兴益, 胡清源

(国家烟草质量监督检验中心, 河南 郑州 450001)

摘要: 以全自动固相萃取技术净化主流烟气萃取液,建立了卷烟主流烟气中苯并[a]芘、苯并[a]蒽和蒽 3 种多环芳烃的气相色谱-串联质谱(GC-MS/MS)测定方法。以吸烟机抽吸卷烟,并以剑桥滤片捕集卷烟主流烟气,然后以含氘代苯并[a]芘内标的环己烷溶液萃取滤片,萃取液经全自动固相萃取仪净化后以 GC-MS/MS 分离检测。结果表明,苯并[a]芘、苯并[a]蒽和蒽的检出限分别为 0.05、0.16 和 0.23 ng/cig,回收率为 91.5%~102.1%,相对标准偏差(RSD)均小于 5%。该方法的自动化程度高、操作简便、检出限低、重复性好,适用于卷烟主流烟气中苯并[a]芘、苯并[a]蒽和蒽 3 种多环芳烃释放量的检测。

关键词: 气相色谱-串联质谱; 全自动固相萃取; 多环芳烃; 卷烟主流烟气

中图分类号: O658

文献标识码: A

文章编号: 1000-8713(2011)10-1031-05

Determination of three polycyclic aromatic hydrocarbons in mainstream cigarette smoke by automated solid phase extraction system-gas chromatography- tandem mass spectrometry

BIAN Zhaoyang, TANG Gangling*, CHEN Zaigen,

PANG Yongqiang, JIANG Xingyi, HU Qingyuan

(China National Tobacco Quality Supervision & Test Center, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: A simple method for the analysis of benzo[a]pyrene, benzo[a]anthracene and chrysene in mainstream cigarette smoke using automated solid phase extraction (SPE) system-gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS) was developed. After being smoked in the ISO mode, the Cambridge filter pad was used to collect mainstream cigarette smoke, and then extracted by 40 mL cyclohexane containing deuterated benzo[a]pyrene as the internal standard. The extract was cleaned-up by an automated PrepLinc SPE-AccuVap system, and then detected using GC-MS/MS. The detection limits for benzo[a]pyrene, benzo[a]anthracene and chrysene were 0.05, 0.16, and 0.23 ng/cig, respectively. The recoveries were ranged from 91.5% to 102.1% with the relative standard deviations (RSDs) less than 5%. This method was proved to be simple, sensitive, and suitable for the determination of benzo[a]pyrene, benzo[a]anthracene and chrysene in mainstream cigarette smoke.

Key words: gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS); automated solid phase extraction (SPE); polycyclic aromatic hydrocarbons; mainstream cigarette smoke

卷烟烟气的组成十分复杂,已经鉴定出的 5 千余种化学成分中约有 100 余种为有害和致癌成分,以苯并[a]芘(benzo[a]pyrene)、苯并[a]蒽(benzo[a]anthracene)和蒽(chrysene)为代表性的多环芳

烃均属于完全致癌的化合物,其中苯并[a]芘是国家烟草专卖局重点关注的 7 种烟气有害物之一。由于烟气中的苯并[a]芘、苯并[a]蒽和蒽含量较低,一般在每支卷烟的烟气中含量仅为几至几十纳克,

* 通讯联系人: 唐纲岭,硕士,高级工程师,主要从事烟草化学、烟草质量检验研究。Tel: (0371) 67672613, E-mail: tglctc@163.com.

基金项目: 中国烟草总公司郑州烟草研究院自立项目(No. 502008CZ0360)。

收稿日期: 2011-04-29

因此,如何有效去除卷烟烟气复杂基质的干扰,准确和快速地测定卷烟烟气中的苯并[a]芘、苯并[a]蒎和蒎是卷烟烟气的研究重点。

从样品前处理过程看,卷烟烟气中的苯并[a]芘、苯并[a]蒎和蒎测定方法的净化方法有液-液萃取^[1]、固相萃取(SPE)^[1-3]和凝胶渗透色谱(GPC)^[4]等,以具有操作简便、高效、节省溶剂等优点的固相萃取技术为主;其中周仕禄等^[5]采用程序升温汽化大体积(PTV)进样,史佳沁等^[6]对SGE公司MDS6890多维气相色谱系统的中点限流器进行改进,都提供了固相萃取后洗脱液无需浓缩直接以GC-MS检测的方法,以简化步骤,提高效率;但PTV进样技术不是检测方法的主流技术,史佳沁等改进的设备也未商品化,故通用性稍差。

从检测仪器上看,卷烟主流烟气中的多环芳烃的分析多采用高效液相色谱(HPLC)^[2,4]和气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)^[1,3-5,7-9]。HPLC法的前处理比较繁琐,检测灵敏度较低,重复性稍差;GC-MS法一般用含内标的正己烷或环己烷等有机溶剂浸提烟气总粒相物,萃取液用硅胶固相萃取柱净化,洗脱液经浓缩后进行GC-MS分析,以选择离子监测(SIM)模式定量。与HPLC法相比,GC-MS法具有操作简便快捷、回收率高、灵敏度高、重复性好以及定量准确等优点,但样品前处理过程中需要繁琐的固相萃取过程及浓缩过程,费时费力,且对焦油含量小于1 mg/cig卷烟的主流烟气中多环芳烃的GC-MS检测中发现,苯并[a]芘的含量多低于1 ng/cig,此时苯并[a]芘的GC-MS色谱峰偏低,信噪比(S/N)小于10,定量时误差较大。

气相色谱-串联质谱(GC-MS/MS)是一种用于复杂基质中痕量挥发性和半挥发性有机化合物定性、定量分析的仪器,已越来越广泛地应用于环境科学研究工作中。由于其基线噪声趋于零,故具有更高的灵敏度和更低的检出限,可有效增加对复杂基质中待测目标物检测的选择性,对超痕量分析具有更高的可靠性,已被用于生物样品、水、橄榄油等基质中的农药残留^[10-12]、多环芳烃^[12,13]等成分的测定。

目前以GC-MS/MS对卷烟烟气中的多环芳烃进行检测未见文献报道。本文旨在简化样品前处理步骤、提高检测的灵敏度,采用PrepLinc全自动样品前处理技术平台,以GC-MS/MS为分离检测平台,测定了卷烟主流烟气中以苯并[a]芘、苯并[a]蒎和蒎为代表的多环芳烃,对卷烟产品中有害成分研究工作的深入开展提供技术支持。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与材料

气相色谱-三重四极杆质谱联用仪(TSQ Quantum GC,美国Thermo Fisher Scientific公司); PrepLinc SPE和AccuVap系统(美国J2 Scientific公司); 500 mg/30 mm 硅胶SPE小柱(美国Agilent公司); RM-200 转盘式吸烟机(德国Borgwaldt公司)。苯并[a]芘、苯并[a]蒎、蒎及氘代苯并[a]芘(d12-benzo[a]pyrene)标准品购自德国DR公司,环己烷为色谱纯(美国J T Baker公司)。

1.2 标准工作液的配制

内标母液:以环己烷作为溶剂配制质量浓度为130 mg/L的d12-苯并[a]芘溶液。

内标添加溶液:移取2.5 mL内标母液,以环己烷稀释定容至50 mL,得质量浓度为6.5 mg/L的内标添加溶液。标准溶液及样品溶液中都添加50 μ L的内标添加溶液。

标准混合母液 I:准确称取0.010 0 g的苯并[a]芘、0.015 0 g的苯并[a]蒎、0.020 0 g的蒎,用甲苯溶解并定容至50 mL,得质量浓度分别为200 mg/L的苯并[a]芘、300 mg/L的苯并[a]蒎和400 mg/L的蒎混合母液 I。

标准混合母液 II:准确移取0.25 mL的混合母液 I,用环己烷稀释并定容至50 mL,得质量浓度分别为1 mg/L的苯并[a]芘、1.5 mg/L的苯并[a]蒎、2 mg/L的蒎混合母液 II。

标准混合母液 III:准确移取5 mL的混合母液 II,用环己烷稀释并定容至50 mL,得质量浓度分别为0.1、0.15和0.2 mg/L的苯并[a]芘、苯并[a]蒎和蒎混合母液 III。

标准工作溶液:分别准确移取0.2、0.4和0.8 mL的标准混合母液 III和0.2、0.4和0.6 mL的标准混合母液 II,置于10 mL具塞刻度玻璃试管中,再准确加入50 μ L的内标添加溶液,然后加入环己烷至6 mL刻度线,混匀,即得各级标准工作溶液。

1.3 样品前处理方法

根据ISO 8243-2006^[14]选取样品烟支,按照ISO 3402-1999^[15]平衡烟支。

采用ISO标准抽吸模式(ISO 3308-2000^[16])抽吸卷烟,以剑桥滤片捕集主流烟气中的苯并[a]芘、苯并[a]蒎和蒎,然后将抽吸20支卷烟得到的剑桥滤片放入锥形瓶中,加入50 μ L的内标添加溶液,再加入40 mL环己烷。将锥形瓶置于振荡器上,以200 r/min的速度振荡60 min,静置待用。

取 10 mL 提取溶液,在 PrepLinc 系统上自动进行 SPE 净化和浓缩定容操作。仪器条件为:硅胶 SPE 小柱以 10 mL 环己烷活化(速率为 50 mL/min),自动取 10 mL 样品提取液上柱(速率为 3 mL/min),然后用 20 mL 环己烷淋洗小柱(速率为 3 mL/min),再用 20 mL 空气将管路中的溶液排入到浓缩模块(速率为 7.5 mL/min);洗脱液在 AccuVap FLXTM 模块进行浓缩,用近干方式浓缩并定容到 1.5 mL 后,转移到色谱样品瓶中,待 GC-MS/MS 分析。

1.4 GC-MS/MS 条件

DB-5MS 毛细管色谱柱: 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm; 进样口温度: 280 °C; 进样量: 1 μL, 不分流进样; 载气: 氦气(He), 恒流流速为 1.2 mL/min; 程序升温: 初始温度为 150 °C, 以 6 °C/min 升至 260 °C, 保持 6 min, 然后以 50 °C/min 升至 280 °C, 保持 20 min; 传输线温度: 280 °C; 溶剂延迟: 12 min; 质谱离子源: Close 电子轰击(EI)离子源, 温度 250 °C; 发射电流 25 μA; 碰撞气压力 0.1995 Pa(1.5 mTorr); 选择反应监测(SRM)扫描模式, 其他质谱条件见表 1。

表 1 3 种多环芳烃的部分质谱检测条件
Table 1 Some MS parameters for the three polycyclic aromatic hydrocarbons

Compound	Parent ion (<i>m/z</i>)	Product ion (<i>m/z</i>)	Collision energy/ eV
Benzo [a] anthracene	228	226*	30
	228	202	20
Chrysene	228	226*	30
	228	202	20
Benzo [a] pyrene	252	250*	30
	252	226	20
d12-Benzo [a] pyrene	264	260	40

* Quantitative ion.

2 结果与讨论

2.1 样品前处理条件的优化

对于卷烟主流烟气中苯并 [a] 芘、苯并 [a] 蒽和屈的分析, 由于其含量较低, 无论使用 HPLC 还是 GC-MS, 都必须经过分离净化、富集的过程, 以提高检测灵敏度。PrepLinc 样品前处理平台是将待处理样品放到指定样品区域, 然后按照预设的程序自动完成上样、SPE 净化、洗脱液浓缩定容等步骤, 无需人工干预, 自动化程度高。因此, 本文选择 PrepLinc 样品前处理平台完成样品萃取、浓缩和定容过程, 并对前处理条件进行了优化。

固相萃取过程各个步骤的速率由文献报道值及 PrepLinc 仪器的常用值确定, 但试验发现, 柱活化过程中环己烷的速率过低时, 固相萃取小柱不能完全

透明, 未完全活化; 提高环己烷速率至 50 mL/min, 活化效果较好。

为确定适当的洗脱溶剂体积, 选择一个卷烟样品, SPE 小柱分别经不同体积的环己烷洗脱, 然后进行测定(见表 2)。结果显示, 20 mL 的环己烷已能将目标物洗脱完全; 再增加洗脱溶剂的体积, 测定结果几乎没有变化, 故将洗脱体积选择为 20 mL。

表 2 洗脱体积的优化
Table 2 Optimization of elution volume

Elution volume/ mL	Benzo [a] pyrene/ (ng/cig)	Benzo [a] anthracene/ (ng/cig)	Chrysene/ (ng/cig)
10	9.25	15.67	19.34
20	9.65	16.37	20.74
30	9.60	16.31	20.81
40	9.69	16.28	20.70

2.2 GC-MS/MS 条件的优化

由于多环芳烃的结构非常稳定, 有些结构必须使用较高的碰撞能量才能进行有效的碎裂^[3]。通过子离子二级扫描优化碰撞能量确定每个化合物的 SRM 质谱条件, 母离子、子离子和碰撞能量见表 1。在该条件下, 3 种多环芳烃的 SRM GC-MS/MS 色谱图见图 1。

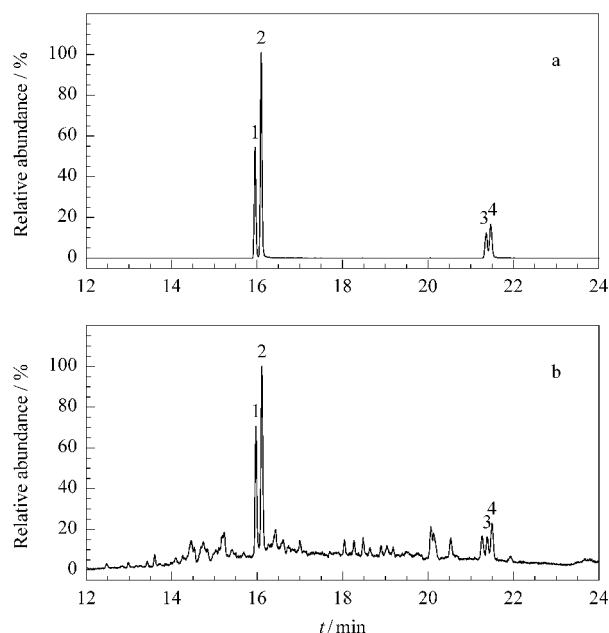


图 1 (a) 3 种多环芳烃混合标准溶液及 (b) 实际样品的 GC-MS/MS 色谱图

Fig. 1 GC-MS/MS chromatograms of (a) a mixed standard solution of three polycyclic aromatic hydrocarbons and (b) a real sample

Peak identifications: 1. benzo [a] anthracene; 2. chrysene; 3. d12-benzo [a] pyrene; 4. benzo [a] pyrene.

2.3 标准曲线与检出限

按 1.4 节所述实验条件, 将 6 种浓度的标准工

作溶液进行 GC-MS/MS 分析,各指标浓度最终换算为每支卷烟主流烟气中多环芳烃化合物的质量。以目标物和内标的色谱峰面积比对其相应质量浓度进行回归分析,得到标准曲线及其回归方程、相关系数;以 $S/N = 3$ 确定检出限(LOD),以 $S/N = 10$ 确定

定量限(LOQ),结果如表 3 所示。从表 3 和图 1 可知,3 种多环芳烃得到较好的分离,并且均具有很好的线性,检出限和定量限都比较低,满足定量检测要求,尤其对低焦油卷烟的主流烟气中 3 种多环芳烃的检测比 GC-MS 更具有优势。

表 3 卷烟主流烟气中 3 种多环芳烃的标准曲线、相关系数、检出限和定量限
Table 3 Regression equations, correlation coefficients, limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) of the 3 PAHs in mainstream cigarette smoke

Compound	Retention time/min	Regression equation ¹⁾	Correlation coefficient	LOD ²⁾ /(ng/cig)	LOQ ³⁾ /(ng/cig)
Benzo [a] anthracene	15.97	$Y = 0.1183X + 0.0053$	0.9999	0.16	0.54
Chrysene	16.11	$Y = 0.1702X - 0.0286$	0.9995	0.23	0.76
Benzo [b] pyrene	21.51	$Y = 0.1486X - 0.1014$	0.9996	0.05	0.17

1) Y : the ratio of the peak area of the analyte to the peak area of the internal standard; X : mass concentration of the analyte, ng/cig. 2) $S/N = 3$. 3) $S/N = 10$.

2.4 回收率和精密度试验

采取标样加入法,将高、中、低不同质量浓度水平的标准溶液加入到载有主流烟气总颗粒物(TPM)的剑桥滤片上,再按 1.3 节和 1.4 节所述条件进行测定,每个样品测定 6 次,回收率及日内精密度测定结果见表 4。结果表明,方法的回收率的范围为 91.5%~102.1%,相对标准偏差(RSD)均小于 5%,说明本方法的回收率较高,重复性较好。

2.5 实际样品分析

实验采用 ISO 标准抽吸模式抽吸 40 个不同品牌的卷烟样品,主流烟气中 3 种 PAHs 的分析结果见表 5。

由表 5 可以看出,苯并 [a] 芘的含量为 0.57 ~

表 4 3 种多环芳烃的回收率和重复性($n=6$)

Table 4 Recoveries and their relative standard deviations (RSDs) for the 3 PAHs ($n=6$)

Compound	Background/ (ng/cig)	Added/ (ng/cig)	Found/ (ng/cig)	Recovery/ %	RSD/ %
Benzo [a] pyrene	5.52	2.91	8.44	100.2	3.7
	5.52	6.79	12.45	102.1	2.8
	5.52	9.70	15.18	99.6	3.2
Benzo [b] anthracene	6.77	4.31	10.75	92.3	4.9
	6.77	10.05	15.97	91.5	3.8
	6.77	14.36	19.97	91.9	3.4
Chrysene	11.28	6.69	17.72	96.3	3.8
	11.28	15.62	26.24	95.8	3.1
	11.28	22.31	32.56	95.4	2.8

16.93 ng/cig,苯并 [b] 蒽的含量为 6.22 ~ 25.59 ng/

表 5 40 个不同品牌卷烟样品的主流烟气中 3 种多环芳烃的释放量
Table 5 Three PAH yields from the main stream smoke of 40 cigarette brands

Sample	Benzo [a] pyrene	Benzo [b] anthracene	Chrysene	Sample	Benzo [a] pyrene	Benzo [b] anthracene	Chrysene
1	11.11	15.99	18.76	21	10.19	14.40	18.48
2	7.86	11.82	16.83	22	9.70	13.21	17.53
3	8.02	10.49	15.08	23	12.15	18.39	20.77
4	5.65	6.22	12.25	24	13.12	20.03	22.00
5	11.78	17.01	19.57	25	10.62	14.56	17.73
6	11.65	17.39	19.23	26	11.99	17.43	20.32
7	12.89	18.36	22.57	27	8.89	11.44	15.88
8	12.07	17.04	20.87	28	5.52	6.77	11.28
9	10.39	14.77	18.71	29	10.55	13.95	17.24
10	11.62	16.85	19.77	30	10.31	15.15	18.21
11	10.56	13.51	19.13	31	8.91	11.19	15.87
12	9.67	13.15	16.55	32	11.59	16.65	20.36
13	9.29	12.00	15.93	33	11.43	16.31	19.31
14	7.05	7.49	13.17	34	16.93	25.59	27.04
15	11.57	16.91	19.83	35	12.58	18.39	21.75
16	9.09	12.85	17.46	36	13.62	19.45	22.21
17	10.70	15.06	19.13	37	11.61	17.01	19.94
18	12.61	18.26	20.99	38	9.06	12.10	16.11
19	10.77	14.82	18.24	39	7.32	8.62	13.45
20	10.38	12.90	18.08	40	0.57	0.78	1.35

cig, 蒎的含量为 11.28 ~ 27.04 ng/cig。

3 结论

本文采用全自动固相萃取技术净化萃取液,以高灵敏度的 GC-MS/MS 分析测定卷烟主流烟气中苯并 [a] 芘、苯并 [a] 蒎和蒎 3 种多环芳烃。结果表明,该法的样品前处理自动化程度高、操作简便,检出限较低,能满足低焦油卷烟的检测要求,且该法回收率高,重复性好,适用于卷烟主流烟气中苯并 [a] 芘、苯并 [a] 蒎和蒎这 3 种多环芳烃释放量的检测。

参考文献:

- [1] Liu J F, Yu X, Liu D H, et al. Chinese Journal of Chromatography (刘建福, 喻昕, 刘德华, 等. 色谱), 2002, 20(2): 187
- [2] Liu S M, Ding B, Tong H W, et al. Acta Tabacaria Sinica (刘少民, 丁斌, 董红武, 等. 中国烟草学报), 2007, 13(1): 15
- [3] Zhou S L, Xiao X Z, Xu K L, et al. Acta Tabacaria Sinica (周仕禄, 肖协忠, 许锴霖, 等. 中国烟草学报), 2006, 12(3): 53
- [4] Zhou S L, Xu K L, Dong Y Z, et al. Chinese Tobacco Science (周仕禄, 许锴霖, 董永智, 等. 中国烟草科学), 2007, 28(2): 19
- [5] Shi J Q, Liu B Z, Xie W Y. Chinese Journal of Chromatography (史佳沁, 刘百战, 谢雯燕. 色谱), 2010, 28(6): 623
- [6] Health Canada. Determination of Benzo [a] pyrene in Mainstream Tobacco Smoke. (2007-11-28) [2011-05-16]. http://www.hc-sc.gc.ca/hc-ps/tobac-tabac/legislation/reg/indust/method/_main-principal/benzo01-eng.php
- [7] CORESTA Recommended Method N° 58
- [8] GB/T 21130-2007
- [9] He Z H, Lian W L, Jiang L M, et al. Journal of Hunan University of Arts and Science: Natural Science Edition (何智慧, 练文柳, 蒋腊梅, 等. 湖南文理学院学报: 自然科学版), 2009, 21(1): 42
- [10] Wang Y F, Chen X H, Fu X H. Chinese Journal of Chromatography (王玉飞, 陈晓红, 傅小红. 色谱), 2007, 25(1): 112
- [11] Shen W J, Yu K Y, Gui Q W, et al. Chinese Journal of Chromatography (沈伟健, 余可垚, 桂茜雯, 等. 色谱), 2009, 27(4): 391
- [12] Ballesteros E, Sánchez A G, Martos N R. J Chromatogr A, 2006, 1111(1): 89
- [13] Ming H, Wang Y W. Thermo Scientific Application Note: CM0039 (明红, 王勇为. 赛默飞世尔科技应用资料: CM0039). [2011-05-16]. <http://www.thermo.com.cn/Resources/201003/311636734.pdf>
- [14] International Organization for Standardization (ISO). ISO 8243: Cigarettes—Sampling. Geneva: ISO, 2006
- [15] International Organization for Standardization (ISO). ISO 3402: Tobacco and Tobacco Products—Atmosphere for Conditioning and Testing. Geneva: ISO, 1999
- [16] International Organization for Standardization (ISO). ISO 3308: Routine Analytical Cigarette-Smoking Machine—Definitions and Standard Conditions. Geneva: ISO, 2000