

固相萃取-气相色谱-质谱法测定卷烟主流烟气中 4 种芳香胺化合物

侯宏卫,唐纲岭,胡清源,庞永强,边照阳

(中国烟草总公司郑州烟草研究院,国家烟草质量监督检验中心,河南 郑州 450001)

摘要:采用氘代-1-氨基萘作为内标,利用剑桥滤片捕集肯塔基参比卷烟(1R5F,2R4F)烟气,经盐酸超声,二氯甲烷、正己烷萃取,盐酸三甲胺和五氟丙酸酐衍生化,固相萃取仪萃取洗脱纯化后,使用气相色谱-质谱(GC/MS)建立卷烟主流烟气中 4 种芳香胺化合物的测定方法。4 种芳香胺化合物的变异系数均小于 5%,回收率在 89.8%~106.0%之间,检测限在每支卷烟 0.03~0.07 ng 之间。该方法具有良好的重复性、准确性,适用于卷烟烟气总粒相物中芳香胺的定量分析。

关键词:氘代-1-氨基萘;芳香胺;固相萃取;气相色谱-质谱法;卷烟主流烟气

中图分类号:O 658; O 657.63 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-2997(2008)03-147-06

Analysis of Aromatic Amine in Cigarette Mainstream Smoke by Solid-Phase Extraction and GC/MS

HOU Hong-wei, TANG Gang-ling, HU Qing-yuan, PANG Yong-qiang, BIAN Zhao-yang

(China National Tobacco Quality Supervision & Test Center,

Zhengzhou Tobacco Research Institute of CNTC, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: D-1-Naphthylamine as internal standard, four aromatic amines (1-naphthylamine, 2-naphthylamine, 3-aninobiphenyl, 4-aninobiphenyl) in cigarette mainstream smoke were analyzed by GC/MS, through hydrochloric acid ultrasound, methylene dichloride and *n*-hexane extraction, trimethylamine hydrochloride and pentafluoropropionic anhydride derivation, solid-phase extraction wash and purification process. The RSDs of four aromatic amines are less than 5%, and the recovery are 89.8%-106.0%. The limits of detection of four aromatic amines are 0.03-0.07 ng/cig. The method is accuracy, reproducibility and suits for analysis of four aromatic amines.

Key words: D-1-naphthylamine; aromatic amine; solid-phase extraction; GC/MS; cigarette mainstream smoke

卷烟主流烟气中 4 种芳香胺化合物分别为:
1-氨基萘、2-氨基萘、3-氨基联苯、4-氨基联苯,其
结构式示于图 1。

由于烟气成分的复杂性和芳香胺类物质在
其中的超低含量,如何快速、完全地收集烟气,排
除大量的干扰物质,准确测定主流烟气中的芳香

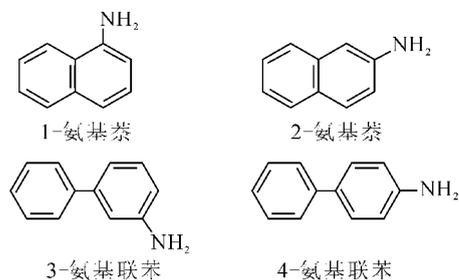


图 1 卷烟主流烟气中 4 种芳香胺化合物的结构式

Fig. 1 Structural formulas of four aromatic amines in cigarette mainstream smoke

胺类物质是一项极富挑战性的工作。1969 年, Masuda 等^[1]利用气相色谱-火焰离子检测器分离鉴定出卷烟主流烟气中的 1-氨基萘和 2-氨基萘。1996 年, Longo 等^[2]利用五氟丙酸酐衍生技术测定了痕量芳香胺物质; Knize 等^[3]采用高效液相色谱分析了食品中的杂环芳香胺; Forehand 等^[4]在纯化过程中使用了同时蒸馏萃取法分析了卷烟粒相物中的芳香胺; 2003 年, Brede 等^[5]使用固相萃取衍生-气质联用法分析了食品中的芳香胺; Smith 等^[6]使用固相萃取法分析了卷烟主流烟气中的芳香胺; 2006 年, 陈章玉等^[7]使用在线固相萃取富集和高效液相色谱法测定了卷烟主流烟气中的几种芳香胺(苯胺、对甲基苯胺、2,4-二甲基苯胺、1-萘胺、2-萘胺和 4-氨基联苯)。

国际上参加 CORESTA 特种分析物共同实验的 13 家实验室,基本上都采用 SIM(选择离子监测)模式和气相色谱-质谱联用法对肯塔基参比卷烟(1R5F、2R4F)进行分析^[8],但得到的 4 种芳香胺含量却各不相同。因此,完善测定卷烟主流烟气中 4 种芳香胺化合物含量的气相色谱-质谱方法非常迫切。

本工作拟采用氘代-1-氨基萘作为内标,利用肯塔基参比卷烟(1R5F、2R4F)建立固相萃取-气相色谱-质谱联用法测定卷烟主流烟气中 4 种芳香胺,同时考察样品纯化前后加入内标对 4 种芳香胺含量的影响,为卷烟主流烟气中芳香胺化合物的分析提供依据。

1 实验部分

1.1 主要仪器与装置

Agilent 6890N-5975B MSD 色谱-质谱联用

仪;美国 Agilent 公司产品;赛多利斯电子分析天平;德国 Sartorius 公司产品,最大称量 220 g,可读性 0.1 mg;RM 200 型 20 孔道转盘吸烟机;德国 Borgwaldt 公司产品,配备有 CO 自动分析仪;ASPEC XL4 固相萃取仪;美国 Gilson 公司产品;Turbo Vap II 旋转蒸发仪;美国 Zymark 公司产品。

1.2 主要材料与试剂

Florisil 固相萃取柱(500 mg, 3 mL);美国 Agilent 公司产品;剑桥滤片($\varphi=92$ mm);德国 Borgwaldt 公司产品;肯塔基参比卷烟(1R5F、2R4F);购自美国 Arista 实验室;苯、丙酮、正己烷、二氯甲烷均为 J T Baker 色谱纯试剂;无水硫酸钠、盐酸、氢氧化钠均为 Merck 农残级试剂;1-氨基萘、2-氨基萘、3-氨基联苯、4-氨基联苯、氘代-1-氨基萘、盐酸三甲胺、五氟丙酸酐均为 Fluka 农残级试剂。

1.3 实验条件

1.3.1 色谱条件 色谱柱:弹性石英毛细管柱(HP-35MS 30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m);程序升温:60 $^{\circ}$ C 保持 2 min,以 10 $^{\circ}$ C \cdot min⁻¹升至 140 $^{\circ}$ C,再以 4 $^{\circ}$ C \cdot min⁻¹升至 190 $^{\circ}$ C,最后以 30 $^{\circ}$ C \cdot min⁻¹升至 280 $^{\circ}$ C,保持 20 min;进样口温度 280 $^{\circ}$ C;无分流进样;进样体积 1.0 μ L。

1.3.2 质谱条件 电子轰击(EI)离子源;电子能量 70 eV;传输线温度 280 $^{\circ}$ C;离子源温度 230 $^{\circ}$ C;采样方式:SIM;采样离子:1-氨基萘、2-氨基萘;289;3-氨基联苯、4-氨基联苯;315;内标:氘代-1-氨基萘;296。

1.4 芳香胺标准溶液的预处理

取芳香胺标准系列溶液各 1 mL,分别加入 80 μ L 盐酸三甲胺和 40 μ L 五氟丙酸酐中,摇匀后静置 40 min。将酰化后的芳香胺标准系列溶液移至固相萃取仪,用 2.5 mL 洗脱液洗脱,收集所有洗脱液。将盛有所有洗脱液的浓缩瓶连接到旋转蒸发仪上,在 60 $^{\circ}$ C 高纯氮气保护下旋转蒸发,浓缩至约 1 mL,待 GC/MS 分析用。

1.5 烟气样品的分析

1.5.1 实验方案 实验方案 1:内标的加入时间为加入 200 mL 5% 盐酸,超声波萃取 30 min,静置数分钟后;实验方案 2:内标的加入时间为加入 80 μ L 盐酸三甲胺和 40 μ L 五氟丙酸酐衍生试剂前。用肯塔基参比卷烟(1R5F、2R4F)同时进行实验 1 和实验 2,实验 1 和 2 中的 3 个抽吸轮次分别在不同周次进行,每一个抽吸轮次的样品有 5 个平行,其抽吸方案示于图 2。

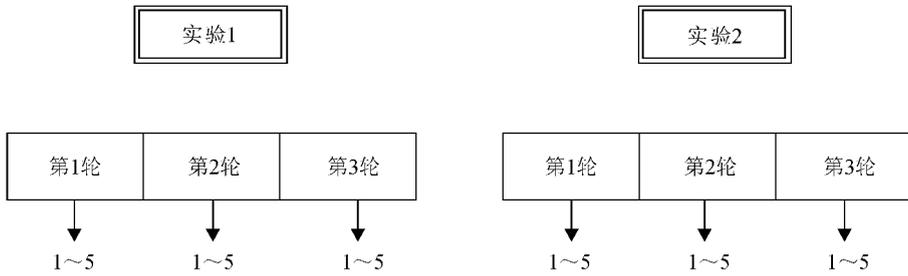


图2 测定肯塔基参比卷烟(1R5F、2R4F)主流烟气中4种芳香胺化合物的抽吸方案

Fig. 2 Experiment plans of four aromatic amines of KY1R5F and KY2R4F in cigarette mainstream smoke

1.5.2 烟气总粒相物的收集 所用卷烟实验前在 $(22 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、相对湿度 $(60 \pm 2)\%$ 的条件下平衡48 min,然后经重量及吸阻分选,挑出均匀一致的实验烟支。使用RM 200型20孔道转盘吸烟机吸烟,每口抽吸2 s,体积35 mL,每口间隔58 s,环境温度 $(22 \pm 2)^\circ\text{C}$,相对湿度 $(60 \pm 5)\%$ 。按GB/T19609标准的要求收集20支卷烟的总粒相物。

1.5.3 烟气样品的预处理、衍生化、固相萃取

将滤片放入250 mL锥形瓶中,加入200 mL 5%盐酸,超声波萃取30 min,静置数分钟。准确移取100 mL萃取液到250 mL分液漏斗中,用150 mL二氯甲烷分3次洗涤,弃去有机相,水相用固体氢氧化钠调节pH值12~13。用150 mL正己烷分3次萃取,萃取液加无水硫酸钠(约30 g)干燥过夜,加入80 μL 盐酸三甲胺和40 μL 五氟丙酸酐(40%)酰化至少40 min,然后在高纯氮气保护下60 $^\circ\text{C}$ 旋转蒸发浓缩至约3 mL。将样品浓缩液移至固相萃取仪萃取洗脱,洗脱过程为:用3 mL正己烷润洗固相萃取柱(500 mg,3 mL Florisil),然后向固相萃取柱中加入2.5 mL浓缩液,用2 mL洗脱液(V(正己烷):V(苯):V(丙酮)=5:4:1)洗脱,洗脱速度为2 mL \cdot min $^{-1}$ 。在高纯氮气保护下旋转蒸发浓缩至约0.5 mL,用气相色谱-质谱分析。

2 结果与讨论

2.1 工作曲线与检测限

为了评价该测定方法的分析特性,将不同浓度的芳香胺化合物混合标样分别进行GC/MS分析,并用各种芳香胺化合物色谱峰与内标峰面积比值对其相应芳香胺化合物含量进行回归分析,得回归方程及其相关参数列于表1。产生3倍噪声信号时,单位时间内进入检测器的组分为检测限。结果表明,在卷烟烟气中芳香胺化合物的含量范围内,检测器响应与这4种芳香胺化合物的浓度呈明显的线性关系。4种芳香胺化合物的检测限均在ng级水平,远远低于卷烟烟气中这些成分的实际含量。

2.2 回收率

采用标样加入法测定方法的回收率,即在捕集有已知芳香胺含量卷烟烟气的滤片上,加入一定量的芳香胺化合物混合标样,而后进行萃取、衍生化和GC/MS分析,并根据测定量、加入量和原含量计算回收率。由表2可知,采用实验方案1测定卷烟主流烟气中的芳香胺化合物,4种芳香胺的回收率在89.8%~106.0%之间;采用实验方案2测定卷烟主流烟气中的芳香胺化合物,4种芳香胺的回收率在88.9%~107.1%之间。

表1 4种芳香胺化合物的回归方程、相关系数及检测限

Table 1 Regression equations, coefficient and the detection limits of four aromatic amines

芳香胺	含量范围/ng	回归方程	相关系数	检测限/(ng/支)
1-氨基萘	38.412~576.18	$y = 0.0025x - 0.0187$	0.9998	0.04
2-氨基萘	37.316~559.74	$y = 0.0023x + 0.0125$	0.9823	0.03
3-氨基联苯	9.408~141.12	$y = 0.0031x - 0.0362$	0.9976	0.07
4-氨基联苯	7.84~117.6	$y = 0.0031x - 0.0296$	0.9914	0.07

注:y为各种芳香胺化合物色谱峰与内标峰面积比值;x为样品中4种芳香胺化合物含量

表 2 4 种芳香胺化合物的回收率测试结果

Table 2 Recovery rates of four aromatic amines

实验方案	样品	芳香胺	样品含量/(ng/支)	加入量/(ng/支)	测定量/(ng/支)	回收率/%
实验 1	1R5F	1-氨基萘	4.3	4.8	8.92	96.3
		2-氨基萘	2.72	4.66	6.98	91.4
		3-氨基联苯	1.27	1.17	2.51	106
		4-氨基联苯	1.02	0.98	1.9	89.8
	2R4F	1-氨基萘	10.55	9.6	20.68	105.5
		2-氨基萘	7.91	9.329	16.95	96.9
		3-氨基联苯	2.18	2.35	4.56	101.3
		4-氨基联苯	1.76	1.96	3.62	94.9
实验 2	1R5F	1-氨基萘	3.76	4.8	8.47	98.1
		2-氨基萘	1.94	4.66	6.58	99.6
		3-氨基联苯	1.72	1.17	2.76	88.9
		4-氨基联苯	1.38	0.98	2.43	107.1
	2R4F	1-氨基萘	8.64	9.6	18.11	98.6
		2-氨基萘	8.48	9.329	18.3	105.3
		3-氨基联苯	2.94	2.35	5.34	102.1
		4-氨基联苯	2.52	1.96	4.37	94.4

2.3 重复性

在两个实验方案的 3 个轮次中,同种卷烟样品平行测定 5 次,所有测定结果的变异系数均小于 5%。

从测定结果来看,固相萃取-气相色谱-质谱联用法中的两个方案都具有较高的检测灵敏度和良好的重复性、准确性,适用于卷烟烟气总粒相物中芳香胺的定量分析。

2.4 肯塔基参比卷烟烟气中 4 种芳香胺测定结果的分析

参比 1R5F 卷烟烟气中 4 种芳香胺的测定结果列于表 3。实验 1 中 3 个轮次的烟气中 4 种芳香胺测定结果变异系数在 1.80~6.88 之间;实验 2 中 3 个轮次的烟气中 4 种芳香胺测定结果变异系数在 1.21~5.37 之间。参比 2R4F 卷烟烟气中 4 种芳香胺的测定结果列于表 4。实验 1 中 3 个轮次的烟气中 4 种芳香胺测定结果变异系数在 0.52~3.81 之间;实验 2 中 3 个轮次的烟气中 4 种芳香胺测定结果变异系数在 0.87~3.94 之间。

表 3 1R5F 卷烟烟气中 4 种芳香胺的测定结果

Table 3 The result of four aromatic amines contents in KY1R5F cigarette mainstream smoke

	实验 1				实验 2			
	1-氨基萘 /(ng/支)	2-氨基萘 /(ng/支)	3-氨基联苯 /(ng/支)	4-氨基联苯 /(ng/支)	1-氨基萘 /(ng/支)	2-氨基萘 /(ng/支)	3-氨基联苯 /(ng/支)	4-氨基联苯 /(ng/支)
第 1 轮	4.25	2.78	1.29	1.07	3.67	1.78	1.71	1.4
第 2 轮	4.27	2.95	1.34	1.06	3.64	1.98	1.75	1.31
第 3 轮	4.13	2.57	1.23	1.01	3.92	1.86	1.72	1.39
平均值 \bar{x}	4.22	2.77	1.29	1.05	3.74	1.87	1.73	1.37
标准偏差 s	0.08	0.19	0.06	0.03	0.15	0.10	0.02	0.05
RSD%	1.80	6.88	4.28	3.07	4.11	5.37	1.21	3.61

表 4 2R4F 卷烟烟气中 4 种芳香胺的测定结果

Table 4 The result of four aromatic amines contents in KY2R4F cigarette mainstream smoke

	实验 1				实验 2			
	1-氨基萘 /(ng/支)	2-氨基萘 /(ng/支)	3-氨基联苯 /(ng/支)	4-氨基联苯 /(ng/支)	1-氨基萘 /(ng/支)	2-氨基萘 /(ng/支)	3-氨基联苯 /(ng/支)	4-氨基联苯 /(ng/支)
第 1 轮	10.75	8.15	2.24	1.85	8.74	6.24	2.6	2.11
第 2 轮	11.19	8.17	2.22	1.78	8.79	6.18	2.51	2.03
第 3 轮	11.23	8.71	2.24	1.87	8.89	6.31	2.48	1.95
平均值 \bar{x}	11.06	8.34	2.23	1.83	8.81	6.24	2.53	2.03
标准偏差 s	0.27	0.32	0.01	0.05	0.08	0.07	0.06	0.08
RSD%	2.41	3.81	0.52	2.58	0.87	1.04	2.47	3.94

实验 1 中的 1R5F 卷烟的主流烟气,1-氨基萘在 4 种芳香胺的总量中占 45%、2-氨基萘占 30%、3-氨基联苯占 14%、4-氨基联苯占 11%;而 2R4F 卷烟,1-氨基萘占 46%、2-氨基萘占 36%、3-氨基联苯占 10%、4-氨基联苯占 8%。实验 2 中的 1R5F 卷烟,1-氨基萘占 43%、2-氨基萘占 21%、3-氨基联苯占 20%、4-氨基联苯占 16%;而 2R4F 卷烟,1-氨基萘占 45%、2-氨基萘占 32%、3-氨基联苯占 13%、4-氨基联苯 10%。

内标的加入时间应该选择在处理样品最开始一步,如果内标加入的时间靠后,一般会导致结果偏低。但是,与实验 1 相比较,在实验 2 中占芳香胺总量 75% 的 1-氨基萘、2-氨基萘含量有所降低,而 3-氨基联苯和 4-氨基联苯的含量却有所增加。实验 1 和实验 2 方案的差别,仅仅是内标加入时间的不同,其原因可能在于样品纯化过程。进一步分析发现,实验 1 中,1R5F 和 2R4F 卷烟烟气中 4 种芳香胺占芳香胺总量的百分数与 2006 年参加 CORESTA 特种分析物共同实验的 13 家实验室测定的结果相吻合^[8]。综合考虑认为,固相萃取-气相色谱-质谱联用法中的实验方案 1 更适用于卷烟烟气总粒相物中芳香胺物质的定量分析。

针对卷烟主流烟气中 4 种芳香胺化合物,最理想的内标物应该是其相应的氘代化合物。采用内标法定量时,内标物的选择是一项十分重要的工作。理想地说,内标物应当是一个能得到纯样的已知化合物,能以准确、已知的量加到样品中去,应当与被分析的样品组分有基本相同或尽可能一致的物理化学性质(如化学结构、极性、挥发度及在溶剂中的溶解度等)、色谱行为和响应特征,最好是被分析物质的一个同系物。同时,在色谱分析条件下,内标物必须能与样品中各组

分充分分离。但是,本方法比较关心 4 种芳香胺化合物在一个复杂前处理过程中所得到的回收率,因此在这种过程中使用很容易被完全回收的氘代-1-氨基萘作内标,来定量分析卷烟主流烟气中的 4 种芳香胺化合物。

与采用气相色谱法(GC)、高效液相色谱法(HPLC)、气相色谱-质谱联用法(GC/MS)测定芳香胺化合物比较,本方法针对烟气成分的复杂性和芳香胺类物质在其中的超低含量,操作方法简单,能够快速、完全收集烟气,排除大量的干扰物质,选择性强,准确测定主流烟气中的芳香胺类物质,具有较高的检测灵敏度、回收率和良好的重复性、再现性。

3 结 论

采用氘代-1-氨基萘作为内标,利用剑桥滤片捕集肯塔基参比卷烟(1R5F、2R4F)烟气,经盐酸超声,二氯甲烷、正己烷萃取,盐酸三甲胺和五氟丙酸酐衍生化,固相萃取仪萃取洗脱纯化后,使用 GC/MS 定量分析了卷烟主流烟气中的 1-氨基萘、2-氨基萘、3-氨基联苯、4-氨基联苯,建立了固相萃取-气相色谱-质谱联用测定卷烟主流烟气中 4 种芳香胺化合物的方法。该方法测定 4 种芳香胺化合物的变异系数均小于 5%,回收率在 89.8%~106.0%之间,检测限在 0.03~0.07 ng/支卷烟之间。该方法具有灵敏度高、选择性强、排干扰能力大的优点,适用于卷烟烟气总粒相物中芳香胺的定量分析。

参考文献:

- [1] MASUDA Y, HOFFMANN D. Determination of 1-naphthylamine and 2-naphthylamine in cigarette smoke [J]. Anal Chem, 1969, 41: 650-652.

- [2] LONGO M, CAVALLARO A. Determination of aromatic amines at trace levels by derivatization with heptafluorobutyric anhydride and gas chromatography-electron-capture negative-ion chemical ionization mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 1996, 753(1): 91-100.
- [3] KNIZE M G, SALMON C P, HOPMANS E C, et al. Analysis of foods for heterocyclic aromatic amine carcinogens by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography [J]. Journal of Chromatography A, 1997, 763(1/2): 179-185.
- [4] FOREHAND J B, DOOLY G L, MOLDOVEANU S C. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons, phenols and aromatic amines in particulate phase cigarette smoke using simultaneous distillation and extraction as a sole sample clean-up step [J]. Journal of Chromatography A, 2000, 898(1): 111-124.
- [5] BREDE C, SKJEVRAK I, HERIKSTAD H. Determination of primary aromatic amines in water food stimulant using solid-phase analytical derivatization followed by gas chromatography coupled with mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2003, 983(1/2): 35-42.
- [6] SMITH C J, DOLLY G Y, MOLDOVEANU S C. New technique using solid-phase extraction for the analysis of aromatic amines in mainstream cigarette smoke [J]. Journal of Chromatography A, 2003, 991(1): 99-107.
- [7] 陈章玉, 杨光宇, 缪明明, 等. 在线固相萃取和高效液相色谱法测定卷烟主流烟气中几种芳胺[J]. 分析化学, 2006, 34(5): 679-682.
- [8] INTORP M, PURKIS S, WHITTAKER M, et al. Determination of "Hoffmann Analytes" in cigarette mainstream smoke. CORESTA Congress, Paris, October 15-20, 2006[C]. Paris: CORESTA, 2006.

仪器信息网新闻栏目改版:升级打造全新版“资讯中心”

始终密切关注分析测试及仪器行业动态和发展的仪器信息网“新闻”栏目(<http://www.instrument.com.cn/news/>),从开办之初就受到各方好评。而栏目的健康发展,更离不开广大用户的热心支持。为了将最新的行业发展动态及时传递给用户、方便用户,使本栏目达到更好的信息、资源共享效果,本网对“新闻”栏目进行了全面改版升级,推出了“资讯中心”栏目。用户只要点击仪器信息网首页导航栏中的“新闻”栏目,或者点击首页右侧“业界要闻”栏目的“更多要闻”,都可进入“资讯中心”。

近日推出的“资讯中心”栏目下设 6 个子栏目:业界要闻、展商动态、热点应用、专题资讯、人物专访、专家视点。

1. 业界要闻:共包括国内聚焦、环球风云、政策法规、技术前沿、市场风向、行业百态、展会信息、协会专栏、本网速递等 9 个版块,分类较原来更加具体合理,使用户在查找新闻时更加方便、迅捷。

2. 展商动态:包括新品发布、产品促销、代理合作、交流合作、展会信息、讲座培训、获奖风采、销售亮点、迁址信息、其他信息等 10 个板块,把原来混乱的展商新闻分门别类,更加规范。

3. 热点应用、专题资讯及人物专访:对行业内近期发生的重要事件、重要采访对象及时采访、报道、更新。

4. 专家视点:本网最新推出的栏目,将对分析测试及仪器行业等科技界知名专家的重要论述、观点予以报道,并希望为中国仪器行业的发展提供可行借鉴、参考。本网热诚希望分析测试及仪器行业专家积极参与!

新版“资讯中心”使网上新闻资讯更集中、更系统、更鲜明,并加入了图片焦点新闻,使页面更加生动,给大家提供全面方便的阅读感受,界面更加美观。

“资讯中心”于 4 月 1 日已正式上线,欢迎广大网友提出宝贵意见。