

电喷雾萃取电离质谱在线检测卷烟主流烟气

崔华鹏¹, 于永杰¹, 陈黎¹, 樊美娟¹, 谢复炜¹, 张兴磊², 刘坤³

(1. 中国烟草总公司郑州烟草研究院, 河南 郑州 450001;

2. 东华理工大学分析测试研究中心, 江西 南昌 330013;

3. 江西省精密仪器工程研究中心, 江西 南昌 330013)

摘要: 卷烟主流烟气是组成复杂、动态变化的气溶胶。在烟气捕集和处理过程中, 具有活性的烟气成分会发生变化, 从而使常规的离线分析方法无法准确地反映烟气的化学组成。本研究建立了一种用于卷烟主流烟气在线检测的电喷雾萃取电离质谱(EESI-MS)方法。通过单通道吸烟机对卷烟进行抽吸, 卷烟主流烟气无需预处理而被直接引入 EESI-MS 仪中, 得到其质谱图。在优化的工作条件下, 通过碰撞诱导解离(CID)实验对烟气中的烟碱进行了定性分析。将该方法用于卷烟逐口抽吸时主流烟气的连续检测, 结果显示, 主流烟气的总离子(m/z 50~400)信号强度和烟碱离子(m/z 163)信号强度均随卷烟抽吸口数的增加而升高, 这反映出卷烟主流烟气随烟支长度的释放规律。此外, 对不同品牌卷烟的主流烟气进行 EESI-MS 在线检测, 通过主成分分析(PCA)表明, 该方法可以实现主流烟气的快速区分; 通过聚类分析表明, 该方法可以对主流烟气进行快速聚类和衡量其相似性。

关键词: 电喷雾萃取电离源(EESI); 卷烟主流烟气; 烟碱; 主成分分析(PCA); 聚类分析

中图分类号: O657.63 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-2997(2015)05-0114-07

doi: 10.7538/zpxb.2016.37.02.0114

Online Analysis of Mainstream Cigarette Smoke by Extractive Electrospray Ionization Mass Spectrometry

CUI Hua-peng¹, YU Yong-jie¹, CHEN Li¹, FAN Mei-juan¹,
XIE Fu-wei¹, ZHANG Xing-lei², LIU Kun³

(1. Zhengzhou Tobacco Research Institute of CNTC, Zhengzhou 450001, China;

2. Analysis and Test Research Center, East China Institute of Technology, Nanchang 330013, China;

3. Jiangxi Precision Instrument Engineering Research Center, Nanchang 330013, China)

Abstract: Mainstream cigarette smoke (MCS) is very complex and highly dynamic aerosol. Some substances in smoke are highly reactive, resulting in a continuously changing mixture during smoke processing of trapping and separation. Because the conventional off-line methods can alter the smoke composition, an online method of extractive electrospray ionization mass spectrometry (EESI-MS) was established for analyzing of

收稿日期: 2015-04-14; 修回日期: 2015-05-26

基金项目: 郑州烟草研究院院长科技发展基金项目(322013CA0300)资助

作者简介: 崔华鹏(1984—), 男(汉族), 山东人, 工程师, 从事在线质谱技术研究。E-mail: cuihuapeng516@163.com

通信作者: 谢复炜(1973—), 男(汉族), 河南人, 研究员, 从事烟草分析化学研究。E-mail: xiefuwe@ sina.com

MCS. The MCS, generated by a single channel smoking machine, was directly introduced into EESI-MS without sample preparation, and the mass spectrum was obtained. MS was operated at collision induced dissociation (CID) mode for qualitative analysis of nicotine. This method was applied for the MCS monitoring on a puff-by-puff basis, and the results showed that the signal intensity of total ions (m/z 50-400) and ion of nicotine (m/z 163) increased with puffs, which indicated the trend of MCS emissions with the length of cigarette. Then, EESI-MS was used for analyzing of MCS of various cigarette brands. The result of principal component analysis (PCA) indicated that the EESI-MS method could be applied to differentiate MCS of various cigarette brands, the clustering analysis showed that the EESI-MS method could be applied to cluster the MCS of various cigarette brands and measure their similarity.

Key words: extractive electrospray ionization (EESI); mainstream cigarette smoke (MCS); nicotine; principal component analysis (PCA); clustering analysis

卷烟烟气是卷烟燃烧时形成的复杂混合物,由主流烟气和侧流烟气组成。卷烟主流烟气是烟支在吸燃时形成的气溶胶通过烟柱从烟蒂末端吸出的烟气^[1],其中的许多化学成分对卷烟的香气以及人体的健康都有着重要的影响。如,主流烟气中的某些醛、酮类化合物是重要的香味物质,对卷烟的感官质量有重要作用;而稠环芳烃类、亚硝胺类物质则是典型的有害物质,对人体的健康危害较大^[2-3]。因此,卷烟主流烟气分析一直是烟草化学研究的热点。

目前,卷烟主流烟气的研究通常采用离线分析方法,即首先对烟气样品进行预处理(如捕集、分离、衍生等),然后进入气相色谱-质谱(GC/MS)、液相色谱-质谱(LC/MS)等仪器完成分析^[4-7]。这些离线方法的分析准确、重复性好,能够实现卷烟主流烟气中气相成分和粒相成分的分析。然而,烟气样品的离线处理常常会使某些具有活性的烟气成分发生变化,从而无法准确地反映主流烟气化学成分的实际情况。因此,对卷烟主流烟气进行在线分析,以准确地反映其化学成分组成及变化过程,对深入研究卷烟的抽吸过程和主流烟气的释放行为具有重要的意义。

近年来,以软电离技术为核心的在线质谱分析技术在有机物快速检测和监测方面取得了较大的进展。质谱的软电离技术将有机物分子电离成分子离子或准分子离子,极少形成碎片离子,从而使谱图简单、易于解析,并且

可以快速地获得有机物的分子质量信息和强度信息,完成定性和定量分析。Wang等^[8]将分子离子反应质谱与吸烟机连接,建立了一种在线检测卷烟烟气 Hoffman 名单中有害挥发性有机物的方法,实现了卷烟主流烟气中 20 多种有害挥发性有机物的实时分析;Zimmermann等^[9-10]将研制的新型光电离源与飞行时间质谱结合,用于卷烟逐口抽吸时主流烟气的在线表征和主成分分析;Jiang等^[11-12]建立了一种用于烟气气相成分在线检测的大气压化学电离质谱方法,实现了环境烟气中 3-乙烯基吡啶的定量检测,并对卷烟主流烟气的气相成分进行在线检测和表征。目前,这些方法多用于检测卷烟烟气的气相部分,而很少涉及卷烟烟气的粒相部分。

Cooks 发展了电喷雾解吸电离 (DESI),即在常压下对固体表面上的痕量待测物直接离子化^[13],实现了无需样品预处理的常压快速质谱分析,从此在国际上掀起了基于直接离子化技术的快速质谱分析研究热潮。之后,研究者相继开发了表面解吸常压化学电离源 (DAPCI)^[14]、实时直接分析源 (DART)^[15] 和电喷雾萃取电离 (EESI)^[16] 等。DAPCI 结合了 APCI 和 DESI 的优点,通过空气或水等试剂离子实现了粉末和固体表面有机物的直接电离;DART 结合了热解析技术,利用激发中性或惰性气体形成的亚稳态原子对固体样品表面有机物进行直接电离;EESI 电离源由电喷雾通道和样品通道两部分组成,通过电喷雾通道产生的电喷雾离子对

样品进行电离。因 EESI 源提高了对复杂基体的承受能力,可直接用于气体、液体、气溶胶和固体样品的分析^[17-20]。不同于 DAPCI、DART 等大气压电离源,EESI 源通过电喷雾酸性甲醇或水制备的初级离子,能将带电液滴与烟气的溶胶在空间内进行碰撞融合,发生电荷转移,继而发生去溶作用,得到烟气的溶胶中有机物的离子。因此,EESI 在烟气的溶胶的电离过程中,兼具了溶剂萃取和电离两部分作用,可得到烟气的组分更全面的离子信息。卷烟烟气作为一种气相成分和粒相成分共存的气溶胶样品,特别适合采用 EESI 源对其电离,并由质谱分析。

本研究将 EESI 源与离子阱质谱相结合,拟建立 EESI-MS 在线分析系统,并将其与单通道吸烟机相连接,研究卷烟逐口抽吸时主流烟

气化学成分及烟碱的变化趋势,通过主流烟气 EESI-MS 数据的主成分分析(PCA)和聚类分析,实现对不同品牌的卷烟进行快速区分。

1 实验部分

1.1 装置与仪器

本研究的实验装置主要包括单通道吸烟机、EESI 源、MS 及相关组件,其示意图示于图 1。LTQ-XL-MS 线性离子阱质谱仪:美国 Finnigan 公司产品,配有 Xcalibur 数据处理系统;单通道吸烟机:郑州嘉德科技有限公司产品,通过电磁阀 1、聚四氟乙烯管与进样锥口相连,高纯氮气通过电磁阀 2 连接于聚四氟乙烯管;EESI 源:由样品通道(进样锥口)和电喷雾组件构成,电喷雾组件包括注射器、流动注射泵、石英毛细管和不锈钢管等^[21]。

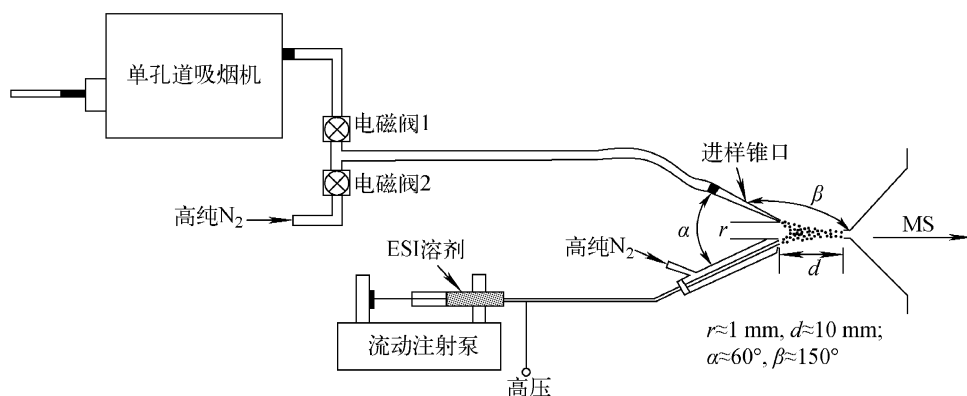


图 1 电喷雾萃取电离质谱在线检测卷烟主流烟气的装置示意图

Fig. 1 Schematic diagram of EESI-MS for online analysis mainstream cigarette smoke

1.2 试剂与卷烟样品

烟碱(纯度 > 98%):美国 Sigma-Aldrich 公司产品;甲醇(色谱纯):德国 Merck 公司产品;卷烟样品 A、B、C、D:购于当地超市。

1.3 实验方法

1.3.1 单通道吸烟机与 EESI-MS 的实验条件

单通道吸烟机采用 ISO 标准抽吸条件:钟形曲线抽吸,每口抽吸容量 35 mL,抽吸持续时间 2 s,抽吸间隔 60 s。对 EESI 源的工作条件进行优化,优化后,EESI 源的溶剂管路和样品通道间的角度与距离,以及两者与质谱仪入口的角度和距离示于图 1。电喷雾试剂为甲醇;电喷雾电压 5 kV,雾化气为氮气(纯度 99.999%),

压力为 0.8 MPa;电喷雾溶剂流速 10 $\mu\text{L}/\text{min}$;烟气流速 17.5 mL/s。正离子检测模式,离子传输管温度 400 $^{\circ}\text{C}$,离子质量数扫描范围为 m/z 50~400;碰撞诱导解离(CID)实验中,碰撞气为氦气,碰撞能量为 40%。

1.3.2 主流烟气 EESI-MS 在线检测的步骤

卷烟抽吸和烟气进样的时序示于图 2。卷烟抽吸前,电磁阀 1 关闭,电磁阀 2 开启;吸烟机按钟形曲线在 2 s 内完成卷烟抽吸,此时电磁阀 1 开启,电磁阀 2 关闭,吸烟机将主流烟气排出,烟气经管路进入 EESI 源发生电离,并由质谱完成检测;烟气进样结束后,电磁阀 1 关闭,电磁阀 2 开启,高纯氮气对管路进行吹扫,

56 s 后吸烟机进行下一口抽吸,依次循环,完成整支卷烟的抽吸。

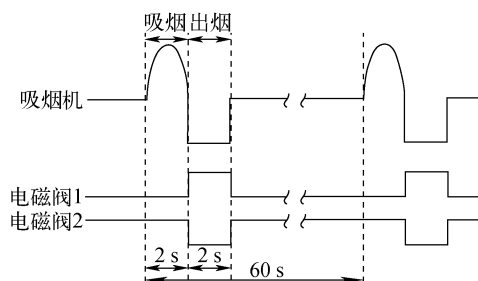


图2 卷烟抽吸和烟气进样的时序图

Fig. 2 Sequential chart of cigarette smoking and smoke sampling

2 结果与讨论

2.1 卷烟主流烟气的 EESI-MS 在线检测

在优化的工作条件下,将 EESI-MS 法用于卷烟主流烟气的在线检测,典型卷烟主流烟气的质谱图示于图 3。在 m/z 50~400 范围内,谱图信息丰富,信号强度较高的质谱峰多集中于 m/z 100~250 范围内,其中 m/z 163 的质谱峰具有最高的信号强度。在 m/z 300~400 范围内,也可以观察到明显的质谱峰,表明 EESI 源能够电离分子质量相对较大的烟气化学成分,EESI-MS 法适合卷烟烟气的在线检测。

烟碱是卷烟烟气的标志性化合物,是评价卷烟烟气的重要指标。在图 3 中, m/z 163 质谱峰的信号强度最高,推测其为烟碱(相对分子质量为 162)的准分子离子峰。对 m/z 163 离子进

行 CID 实验,得到其二级质谱图,主要碎片离子峰为 m/z 163、132、120、106、84,示于图 4a;进一步对丰度最高的碎片离子 m/z 132 进行 CID 实验,得到三级质谱图,其碎片离子峰为 m/z 117、115,示于图 4b。由此,可以判定 m/z 163 离子为烟碱的准分子离子 $[M+H]^+$ 。其中, m/z 132 和 m/z 106 可能是 $[M+H]^+$ 分别失去 CH_3NH_2 和 $CH_3CH=NCH_3$ 形成的; m/z 120 是 $[M+H]^+$ 失去 $CH_3CH_2CH_2$ 形成的; m/z 84 是 $[M+H]^+$ 失去 C_5NH_5 形成的; m/z 117 和 m/z 115 是 m/z 132 失去 CH_3 和 NH_3 形成的^[22]。

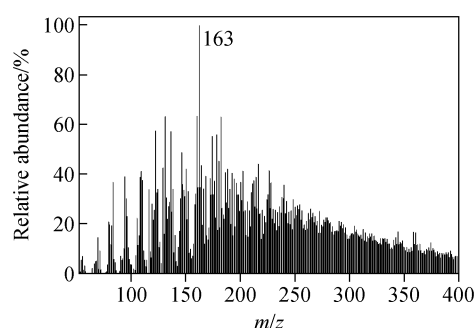
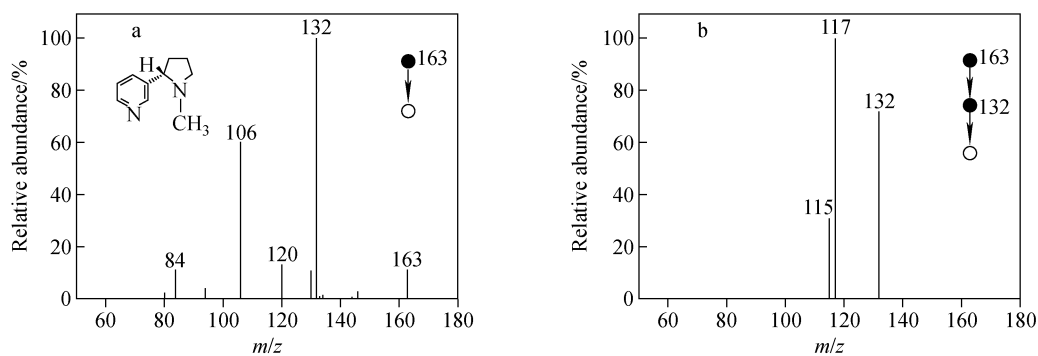


图3 典型卷烟主流烟气的 EESI-MS 质谱图
Fig. 3 EESI-MS spectrum of typical mainstream cigarette smoke

2.2 卷烟逐口抽吸主流烟气的在线检测

单通道吸烟机与 EESI-MS 相结合的在线分析系统,因具有较快的检测速度,能够对卷烟主流烟气进行逐口检测。为了提高仪器的稳定性和降低烟气在管路中的残留,按一定时序对电磁阀 1 和电磁阀 2 进行自动切换控制,以完



注:a. m/z 163 离子的二级质谱图; b. m/z 163 离子的三级质谱图

图4 EESI-MS 检测卷烟主流烟气的多级质谱图

Fig. 4 Multiple-stage mass spectrometry of mainstream cigarette smoke by EESI-MS

成烟气的进样和管路的吹扫。采用单通道吸烟机对卷烟样品进行逐口抽吸,抽吸口数为7口,主流烟气由 EESI-MS 检测,得到的卷烟逐口抽吸主流烟气在 m/z 50~400 范围的全扫描总离子流图示于图 5。随着卷烟抽吸口数的增加,每一口主流烟气经 EESI-MS 检测的总离子流呈增加的趋势。这可能是由于卷烟在燃烧过程中,烟支长度逐渐减小,主流烟气的化学成分在卷烟烟丝上的吸附也逐渐减小,并且空气对卷烟主流烟气的稀释程度也逐渐减小,从而使经过滤嘴的主流烟气化学成分的浓度增加^[10]。

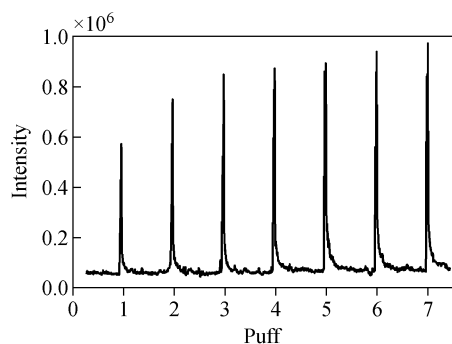


图 5 卷烟逐口抽吸时主流烟气的全扫描总离子流图

Fig. 5 Total ion chromatograms of the full scan in puff-by-puff mainstream cigarette smoke

将建立的 EESI-MS 方法用于主流烟气中烟碱的连续检测,与图 5 相似,随着卷烟抽吸口数的增加,烟碱的单口释放量呈递增的趋势,示于图 6。

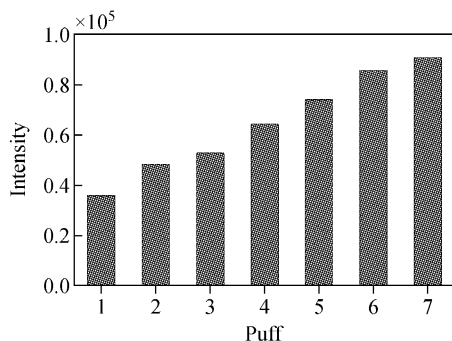


图 6 卷烟逐口抽吸时烟碱的离子信号强度

Fig. 6 Ion signal intensity of nicotine in puff-by-puff mainstream cigarette smoke

2.3 质谱数据的主成分分析和聚类分析

卷烟主流烟气的化学成分复杂,对于不同品牌的卷烟,其主流烟气化学成分的组成和比例存在差异。利用离线分析方法对烟气化学组分进行定性和定量分析费时费力,且无法反映新鲜烟气的化学组成。在线质谱检测结合化学计量学方法,为快速表征和区分卷烟烟气的化学成分提供了可能。PCA 分析能够将复杂数据降维,排除噪音和冗余,找到影响数据的最主要因素。采用 EESI-MS 方法对 4 种不同品牌卷烟逐口抽吸的主流烟气进行检测,获得主流烟气的质谱图,分别测试 4 支卷烟,以第 3 口主流烟气为代表,将质谱数据导出,进行 PCA 分析,并将 2 个主成分方向上的得分及载荷结果以图的形式显示。为减小样品测量中质谱信号响应的变化,质谱数据在 PCA 分析前均进行了标准化处理。2 个主成分包含了原样本中 89.1% 的信息,卷烟 A 的测试样本为 1~4,卷烟 B 的测试样本为 5~8,卷烟 C 的测试样本为 9~12,卷烟 D 的测试样本为 13~16,示于图 7。结果显示,通过 EESI-MS 法获得的卷烟主流烟气质谱图结合 PCA 分析,可以快速区分不同品牌卷烟的主流烟气。

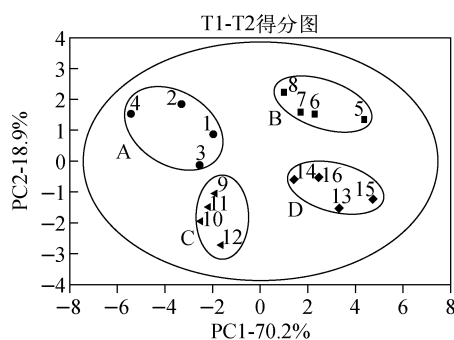


图 7 4 种不同品牌卷烟主流烟气 EESI-MS 质谱图的主成分分析结果

Fig. 7 PCA results of the EESI-MS data of mainstream cigarette smoke with four various cigarette brands

采用相似度对 4 种卷烟主流烟气的质谱数据进行聚类分析,其结果示于图 8。4 种卷烟主流烟气整体上可以分为两类,其中卷烟 A 与卷烟 C、卷烟 B 与卷烟 D 的主流烟气化学成分较为接近。进一步的聚类分析结果表明,卷烟 A、

B、C、D 各具有自身的主流烟气化学成分特征,其结果与 PCA 分析的结果较为一致。

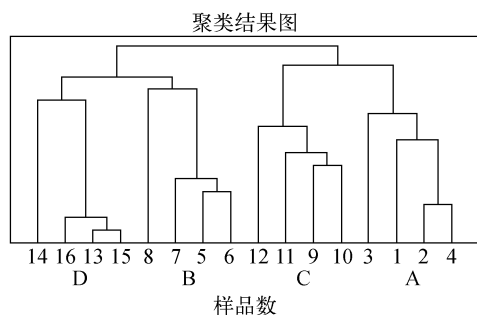


图 8 4 种不同品牌卷烟主流烟气 EESI-MS 质谱图的聚类分析结果

Fig. 8 Clustering analysis of the EESI-MS data of mainstream cigarette smoke with four various cigarette brands

3 结论

本研究将单通道吸烟机与 EESI-MS 相结合,建立了针对卷烟主流烟气的在线检测方法。将卷烟主流烟气直接引入 EESI-MS 仪中完成检测,获得了卷烟主流烟气的质谱图。通过对卷烟逐口抽吸时主流烟气的在线检测,研究主流烟气化学成分和烟碱随抽吸口数的变化趋势,并结合 PCA 分析和聚类分析完成了不同品牌卷烟主流烟气的快速表征和区分。本工作为深入研究新鲜烟气的化学成分、剖析不同卷烟主流烟气的差异提供了一种快速有效的在线检测方法。

参考文献:

- [1] RICHARD R B, CHRISTOPHER J P. The origins and properties of environmental tobacco smoke[J]. *Environmental International*, 1990, 16(3): 231-245.
- [2] HOFFMANN D, HOFFMANN I, KARAM E B. The less harmful cigarette: A controversial issue. a tribute to Ernst L. Wynder[J]. *Chemical Research in Toxicology*, 2001, 14(7): 767-790.
- [3] HYODO T, MINAGAWA K, INOUE T, et al. Estimation of mouth level exposure to smoke constituents of cigarettes with different tar levels using filter analysis[J]. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2013, 67(3): 486-498.
- [4] XIONG W, HOU H W, JIANG X Y, et al. Simultaneous determination of four tobacco-specific N-nitrosamines in mainstream smoke for Chinese Virginia cigarettes by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and validation under ISO and "Canadian intense" machine smoking regimes[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2010, 674(1): 71-78.
- [5] JENS S, OLIVER K, ANDREAS L, et al. Analysis of primary aromatic amines in the mainstream waterpipe smoke using liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2011, 1 218(33): 5 628-5 637.
- [6] UCHIYAMA S, TOMIIAWA T, INABA Y, et al. Simultaneous determination of volatile organic compounds and carbonyls in mainstream cigarette smoke using a sorbent cartridge followed by two-step elution[J]. *Journal of Chromatography A*, 2013, 1 314(11): 31-37.
- [7] BROKL M, BISHOP L, WRIGHT C G, et al. Multivariate analysis of mainstream tobacco smoke particulate phase by headspace solid-phase micro extraction coupled with comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2014, 1 370: 216-229.
- [8] WANG H Y, XIE W Y, CHEN M, et al. Determination of hazardous volatile organic compounds in the Hoffmann list by ion-molecule reaction mass spectrometry[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2012, 26 (16): 1 841-1 848.
- [9] THOMAS A, STEFAN M, THORSTEN S, et al. Puff-by-puff resolved characterization of cigarette mainstream smoke by single photon ionization (SPI)-time-of-flight mass spectrometry (TOFMS): Comparison of the 2R4F research cigarette and pure Burley, Virginia, Oriental and Maryland tobacco cigarettes[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2006, 572(2): 219-229.
- [10] THOMAS A, RICHARD R B, ZIMMERMANN R. Characterization of puff-by-puff resolved cigarette mainstream smoke by single photon ionization-time-of-flight mass spectrometry and principal component analysis[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(6): 2 055-2 061.

- [11] JIANG C Y, SUN S H, ZHANG Q D, et al. Application of direct atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry for on-line analysis of gas phase of cigarette mainstream smoke[J]. *International Journal of Mass Spectrometry*, 2013, 353(11): 42-48.
- [12] JIANG C Y, SUN S H, ZHANG Q D, et al. Fast determination of 3-ethenylpyridine as a marker of environmental tobacco smoke at trace level using direct atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry[J]. *Atmospheric Environment*, 2013, 67: 1-7.
- [13] TAKATS Z, WISEMAN J M, GOLOGAN B, et al. Mass spectrometry sampling under ambient conditions with desorption electrospray ionization [J]. *Science*, 2004, 306(5 695): 471-473.
- [14] CHEN H, ZHENG J, ZHANG X, et al. Surface desorption atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry for direct ambient sample analysis without toxic chemical contamination[J]. *Journal of Mass Spectrometry*, 2007, 42(8): 1 045-1 056.
- [15] CODY R B, LARAMEE J A, DURST H D. Versatile new ion source for the analysis of materials in open air under ambient conditions[J]. *Analytical Chemistry*, 2005, 77 (8): 2 297-2 302.
- [16] 陈焕文, 胡斌, 张燮. 复杂样品质谱分析技术的原理与应用[J]. *分析化学*, 2010, 38(8): 1 069-1 088.
- CHEN Huanwen, HU Bin, ZHANG Xie. Fundamental principles and practical applications of ambient ionization mass spectrometry for direct analysis of complex samples[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2010, 38(8): 1 069-1 088(in Chinese).
- [17] CHEN H W, ARNO W, ZHANG W H, et al. Rapid in vivo fingerprinting of nonvolatile compounds in breath by extractive electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2007, 46(4): 580-583.
- [18] CHEN H W, VENTER A, COOKS R G. Extractive electrospray ionization for direct analysis of undiluted urine, milk and other complex mixtures without sample preparation[J]. *Chemical Communications*, 2006, 19(19): 2 042-2 044.
- [19] ZHU L, GERARDO G, CHEN H W, et al. Real-time, on-line monitoring of organic chemical reactions using extractive electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2008, 22 (19): 2 993-2 998.
- [20] GU H W, YANG S P, LI J Q, et al. Geometry-independent neutral desorption device for the sensitive EESI-MS detection of explosives on various surfaces[J]. *Analyst*, 2010, 135(4): 779-788.
- [21] 李雪, 陈焕文, 傅家谟, 等. 电喷雾萃取电离质谱法检测 1-羟基芘[J]. *分析化学*, 2012, 40(5): 768-772.
- LI Xue, CHEN Huanwen, FU Jiamo, et al. Detection of 1-hydroxypyrene by extractive electrospray ionization mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2012, 40(5): 768-772(in Chinese).
- [22] DING J H, YANG S P, LIANG D P, et al. Development of extractive electrospray ionization ion trap mass spectrometry for in vivo breath analysis[J]. *Analyst*, 2009, 134 (10): 2 040-2 050.