

气质联用测定卷烟主流烟气中的 3-羟基吡啶

王加忠, 赖东辉, 蔡元青, 毛寒冰, 魏建科, 罗熹, 包亮, 云雪, 蒋惠智, 刘剑*

(贵州中烟工业有限责任公司技术中心, 贵州贵阳 550009)

摘要 [目的] 研究卷烟主流烟气颗粒物中 3-羟基吡啶含量, 为卷烟感官评吸提供参考。[方法] 采用 N-甲基-N-三甲基硅烷三氟乙酰胺(MSTFA)-气相色谱-质谱分析化学手段, 建立了 3-羟基吡啶快速、高效、可靠的分析方法。该方法是用剑桥滤片采集卷烟烟气颗粒物加内标(苯酚-D5)后用三氯甲烷进行超声萃取, 衍生化后的萃取液进行气相色谱-质谱联用(GC-MS)分析。[结果] 3-羟基吡啶衍生物能在较短时间内出峰, 色谱峰型较好, 检出限(3S/N)为 31 ng/支, 加标回收率在 97.3%~98.1%, 测定值的相对标准偏差(n=6)在 1.5%~2.9%。[结论] 该方法适用于卷烟主流烟气中 3-羟基吡啶的快速分析。

关键词 3-羟基吡啶; 气相色谱-质谱; 主流烟气; 衍生化

中图分类号 TS41⁺1 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2017)12-0064-03

Determination of Pyridin-3-ol in Mainstream Smoke of Cigarettes by GC-MS

WANG Jia-zhong, LAI Dong-hui, CAI Yuan-qing, LIU Jian* et al (Technology Center, China Tobacco Guizhou Industrial Co., Ltd., Guiyang, Guizhou 550009)

Abstract [Objective] To study the content of pyridin-3-ol in the particulate phase of mainstream cigarette smoke and provide reference for cigarette sensory evaluation. [Method] A rapid, efficient and reliable method for the determination of pyridin-3-ol was established by adopting N-methyl-N-(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (MSTFA) Silanization-GC-MS. The method is to use the Cambridge filter collection cigarette smoke particulate and adding internal standard (Phenol-D5) after extracted ultrasonically with chloroform, derivatization and extraction liquid after GC-MS analysis. [Result] The results showed that; The pyridin-3-ol derivatives can be produced in a short period of time, good chromatographic peak type, detection limit (3S/N) of the method found was 31 ng/cig, values of recovery found by standard addition method were in the range of 97.3%-98.1%, and values of RSD's (n=6) were found in the range of 1.5%-2.9%. [Conclusion] This method is suitable for the rapid analysis of pyridin-3-ol in mainstream cigarette smoke.

Key words Pyridin-3-ol; Gas chromatography-mass spectrometry; Mainstream cigarette smoke; Derivatization

3-羟基吡啶是一种对眼睛、呼吸系统和皮肤具有刺激性的物质^[1], 对卷烟感官评吸有一定影响。因此, 准确测定卷烟主流烟气中的 3-羟基吡啶的释放量具有重要意义。文献报道, 测定食品蔬菜中代谢残留的羟基吡啶类化合物应用最广泛的是气相色谱-质谱联用(GC-MS)方法^[2-3]。在合成过程中羟基吡啶类化合物也有用液相色谱-质谱串联来跟踪监测的^[4]。对于卷烟主流烟气中 3-羟基吡啶的测定, 目前尚鲜见报道, 笔者对此进行探索并建立测定方法。

1 材料与与方法

1.1 材料 TriplusRSH-Trace1310-ISQ LT 型气相色谱-质谱联用仪; CERULEAN-SM450 型直线吸烟机; METTLER TOLEDO-ML204 型电子天平; BINDER FED260 型恒温箱; KQ-500DE 型超声波清洗仪; 直径 44 mm 剑桥滤片(Borgwaldt 公司); 3R4F 标准卷烟(Reference cigarette 12/2006)、其他卷烟均为市售。

标准储备液: 1.0 mg/mL, 称取 3-羟基吡啶(98%, 百灵威)约 100 mg(精确至 0.0001 g)于 50 mL 烧杯中, 用三氯甲烷溶解后, 定容于 100 mL 棕色容量瓶中。内标标准储备液: 1.0 mg/mL, 称取苯酚-D₅(98%, Dr. Ehrenstorfer GmbH)50 mg(精确至 0.0001 g)置于 50 mL 容量瓶中, 以三氯甲烷定容。N-甲基-N-三甲基硅烷三氟乙酰胺(MSTFA)(98.5%, REGIS 公司); 其他有机溶剂均为分析纯试剂。

1.2 卷烟的抽吸及处理 按 GB/T 5606.1-2004^[5]的方法

挑选卷烟烟支, 将所选卷烟于温度(22±2)℃和相对湿度(60±5)%条件下平衡 48 h 后, 按照平均重量±20 mg 分选; 利用直线型吸烟机在 ISO 抽吸模式抽吸卷烟。用直径 44 mm 剑桥滤片捕集 2 支卷烟的主流烟气颗粒物, 将滤片置于 50 mL 三角瓶中, 准确加入 25 μL 内标储备液和 25 mL 三氯甲烷, 室温下超声萃取 20 min, 静置 5 min。移取萃取液 1.0 mL 和 30 μL MSTFA 于棕色色谱瓶中, 压盖后置于 50℃恒温箱内保持 15 min。取出色谱瓶按照 GC-MS 工作条件进行测定。

1.3 仪器工作条件 色谱条件: TG-5MS(30 m×0.25 mm, 0.25 μm)毛细管色谱柱; 进样口温度 200℃; 载气为氦气(浓度不小于 99.999%), 流量 1.2 mL/min, 恒流模式; 分流进样, 分流比为 10:1; 进样量 1 μL。程序升温: 初始温度 80℃, 以 12℃/min 升温至 200℃, 保持 5 min。

质谱条件: 电子轰击离子源(EI); 离子源温度 240℃, 传输线温度 230℃; 溶剂延迟 3 min; 扫描方式为全扫描(Scan)和选择离子监测(SIM)模式。内标和 3-羟基吡啶衍生物的保留时间和特征离子见表 1。标样 3-羟基吡啶衍生物选择离子流色谱图见图 1a, 卷烟主流烟气颗粒物样品(参比卷烟 3R4F)衍生物的全扫描总离子流色谱图和选择离子流色谱图分别见图 1b 和图 1c。

2 结果与分析

2.1 试验条件的优化

2.1.1 提取条件的选择。 MSTFA 属硅烷化试剂的一种, 遇水及质子性溶剂迅速反应分解, 因此分别考察了二氯甲烷、三氯甲烷、正己烷、甲苯 4 种非质子性溶剂的萃取效率。结

作者简介 王加忠(1986—), 男, 山东潍坊人, 助理工程师, 硕士, 从事烟草化学分析。* 通讯作者, 高级工程师, 博士, 从事烟草及烟气化学分析研究。

收稿日期 2017-04-13

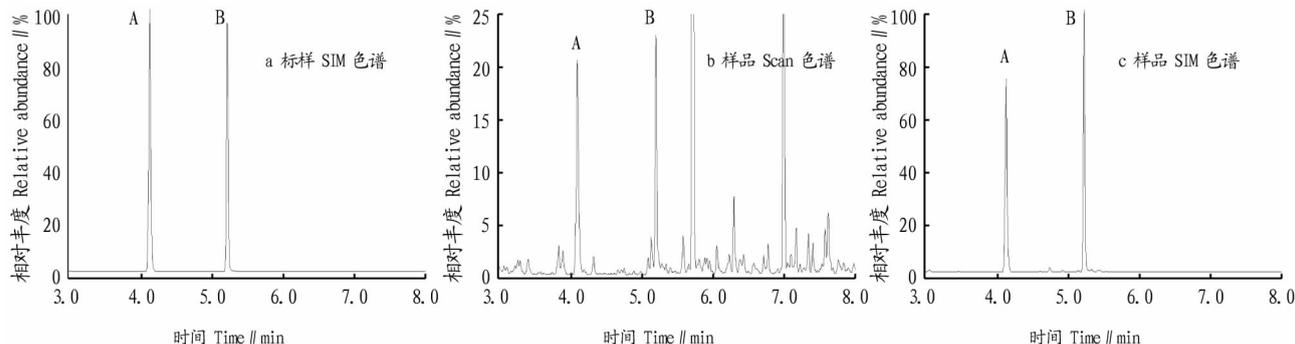
表 1 内标及 3-羟基吡啶衍生物的质谱参数

Table 1 MS parameters of IS and pyridin-3-ol derivatives

化合物 Compound	保留时间 Retention time//min	反向匹配度 Reverse matching degree	质荷比 Mass-to-charge ratio(m/z)	
			定量离子 Quantitative ion	定性离子 Qualitative ion
IS	4.14	—	156	171
3-三甲基硅氧基吡啶 Pyridin-3-ol derivatives	5.23	899	152	167

注:反向匹配度数值来自参比卷烟 3R4F

Note: Reverse matching degree is from reference cigarette 3R4F



注:A. IS; B. 3-三甲基硅氧基吡啶

Note: A. IS; B. Pyridin-3-ol derivatives

图 1 内标和 3-羟基吡啶衍生物色谱

Fig. 1 TIC chromatograms of IS and pyridin-3-ol derivatives

果表明,正己烷、甲苯的萃取效率相对偏低,三氯甲烷的萃取效率最高,因此选择三氯甲烷为萃取溶剂。该试验考察了超声时间分别为 5、10、15、20、30 和 60 min 对卷烟主流烟气中 3-羟基吡啶萃取效率的影响。结果表明,超声 15 min 内萃取不完全,20 min 后结果趋于稳定。

2.1.2 色谱柱和衍生化条件的选择。卷烟主流烟气中组分复杂且 3-羟基吡啶极性较强,对色谱柱要求较高。试验发现,使用强极性的 HP-INNOWAX (30.00 m × 0.25 mm, 0.25 μm) 色谱柱对未经衍生化的样品进行气相色谱分析,其峰型较差,信号强度响应较低且 3-羟基吡啶与杂质峰不易分离。样品衍生化后经 TG-5MS (30.00 m × 0.25 mm, 0.25 μm) 和 Elite-624 (60 m × 0.32 mm, 1.8 μm) 2 根不同色谱柱分析。结果发现,2 根色谱柱对样品分离效果都较好,信号强度高,色谱峰峰型尖锐,但 Elite-624 分析时间较长,目标物出峰时间为 18.85 min,而 TG-5MS 色谱柱在 5.23 min 便可出峰。试验选择 TG-5MS 色谱柱为分析柱。

酚羟基检测方法中已报道的衍生化方法以硅烷化为主,使用的硅烷化试剂主要有 BSA 和 MSTFA^[6-7]。在检出限以及回收率方面,使用 MSTFA 的效果均好于 BSA,因此,该试验采用 MSTFA 进行衍生(图 2)。MSTFA 用量的选择:分别加入 5、10、20、30、40 和 50 μL MSTFA,50 °C 下反应 15 min,然后进行 GC-MS 分析,当加入 30 μL 时 3-羟基吡啶衍生物含量已达到最高值,因此确定衍生化试剂为 30 μL。衍生化温度的选择:分别准确吸取 1.0 mL 相同样品溶液于 2.0 mL 棕色色谱瓶中,加入 30 μL MSTFA,压盖混匀,分别置于 30、40、50、60 和 70 °C 条件下反应 15 min,然后进行 GC-MS 分析,结果发现 50 °C 以上时,测得目标物含量最高,因此衍生化温度选择 50 °C。

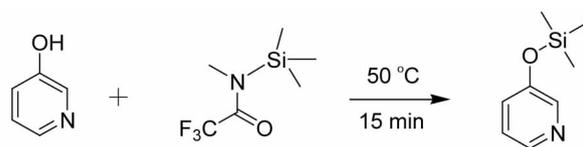


图 2 3-羟基吡啶衍生化反应

Fig. 2 Derivatization reaction diagram of pyridin-3-ol

2.2 标准工作曲线和检测限、定量限 为了评价测定方法的分析特性,采用内标法定量,将 5 个不同浓度的标准工作溶液分别进行 GC-MS 分析,并用 3-羟基吡啶衍生物色谱峰的面积对其浓度进行回归分析,得回归方程为 $Y = 1.587x - 0.008$,相关参数如下:线性范围 0.02 ~ 10.00 μg/mL,相关系数 0.998 9。将最低浓度的标准溶液稀释 5 倍后平行测定 5 次,所得测定结果标准偏差的 3 倍和 10 倍分别作为测定方法的检测限(0.031 μg/支)和定量限(0.104 μg/支)。结果表明,3-羟基吡啶的检测限在 ng 级的水平,远远低于卷烟烟气中 3-羟基吡啶的含量。

2.3 方法的回收率和精密度试验 选取卷烟样品,以 6 次测定的平均值为 3-羟基吡啶的原含量,在抽吸后的滤片中分别加入低、中、高 3 个浓度水平的 3-羟基吡啶,按照衍生化试验条件测定卷烟样品中 3-羟基吡啶的回收率和精密度。结果显示(表 2),3-羟基吡啶的平均回收率在 97.3% ~ 98.1%,RSD 在 1.5% ~ 2.9%。

2.4 不同方法样品分析 按试验方法测定了 11 种不同品牌卷烟主流烟气中 3-羟基吡啶的释放量。1[#]~7[#]为烤烟型卷烟,8[#]~10[#]为混合型卷烟。由表 3 可见,11 种卷烟主流烟气中 3-羟基吡啶含量范围 16.3 ~ 39.6 μg/支。

3 结论

该试验对卷烟主流烟气颗粒物进行衍生化处理,建立一

种3-羟基吡啶的GC-MS分析方法。该方法分析时间短,目标物在5.23 min便可出峰,整个样品的分析时间为15

min,方法检测结果稳定性、重复性好,准确性和精确度高,适用于卷烟主流烟气中3-羟基吡啶的检测。

表2 精密度和回收率试验结果(n=6)

Table 2 Results of tests for precision and recovery

化合物 Compound	释放量 Release amount μg/支	加标量 Addition amount μg/支	测定总量 Total determination μg/支	回收率 Recovery %	RSD %
3-羟基吡啶 Pyridin-3-ol	31.2	15.0	45.8	97.3	2.4
		30.0	60.5	97.6	1.5
		60.1	90.1	98.1	2.9

表3 11种卷烟中3-羟基吡啶的测定结果

Table 3 Determination results of pyridin-3-ol in eleven cigarettes

样品编号 Sample No.	3-羟基吡啶 Pyridin-3-ol μg/支	样品编号 Sample No.	3-羟基吡啶 Pyridin-3-ol μg/支
3R4F	31.2	6 [#]	17.4
1 [#]	18.7	7 [#]	19.1
2 [#]	21.7	8 [#]	35.4
3 [#]	22.2	9 [#]	32.2
4 [#]	16.3	10 [#]	39.6
5 [#]	18.0		

参考文献

[1] 谢剑平. 烟草与烟气化学成分[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010: 753.

- [2] 郝力力, 李锐, 贺亮. 气相色谱-串联质谱法测定鱼肉中毒死砒及其代谢产物3,5,6-三氯-2-羟基吡啶的残留量[J]. 理化检验(化学分册), 2015, 51(9): 1247-1251.
- [3] 谢娟, 王颜红, 王世成, 等. GC-MS法测定蔬菜中3,5,6-三氯-2-羟基吡啶[J]. 食品科学, 2010, 31(24): 277-280.
- [4] 张越, 杜红霞, 吴渊, 等. LC-MS/MS在2-甲基-3-羟基吡啶合成中的应用[J]. 河北工业科技, 2009, 26(2): 69-71, 76.
- [5] 国家烟草专卖局, 中国烟草总公司郑州烟草研究所. 卷烟第1部分: 抽样: GB/T 5606.1—2004[S]. 北京: 中国标准出版社, 2005.
- [6] BARR D B, NEEDHAM L L. Analytical methods for biological monitoring of exposure to pesticides: A review[J]. Journal of chromatography B, 2002, 778(1/2): 5-29.
- [7] 滕宝祺, 李欣昕, 冯芳. 衍生化技术在酚类化合物分析中的研究进展[J]. 北方药学, 2012, 9(5): 32-34.

(上接第30页)

现象, 穗粒数、千粒重、结实率降低, 产量下降, 但能提高稻米的碾米品质、蒸煮食味品质; 施氮量过高, 株高变高、穗长变长, 穴穗数、穗粒数降低, 产量下降, 并出现倒伏现象, 同时抗病力下降^[4-6]。适当地施用磷肥可提高穴穗数、穗粒数、结实率, 促进产量增加; 适当地施用钾肥可提高绥粳4号穴穗数、结实率、千粒重, 促进绥粳4号产量增加; 适当地施用磷肥、钾肥均有利于提高稻米的出糙率、整精米率、胶稠度, 对稻米品质的提高有一定的促进作用^[7]。基施氮肥比例、施氮量对实收产量、食味评分的影响均大于施磷量与施钾量, 说明与磷、钾相比氮是影响绥粳4号生产更为关键的因素。

3.2 基施氮肥比例、氮、磷、钾的施入量与绥粳4号品质的关系 基施氮肥比例过大, 有提高绥粳4号稻米碾米品质、蒸煮食味品质的作用, 后氮前移使稻米垩白粒率、垩白度、直链淀粉含量降低; 施氮量过高, 稻米出糙率、整精米率、胶稠度降低, 垩白粒率、垩白度增加, 透明度下降, 直链淀粉含量提高, 稻米蒸煮食味下降^[8-11]; 适当地施用磷肥、钾肥均有利于提高稻米的出糙率、整精米率和胶稠度, 对绥粳4号稻米品质的提高有一定的促进作用。

3.3 基施氮肥比例、氮、磷、钾的施入量与绥粳4号品质的回归方程 基施氮肥比例、氮、磷、钾对绥粳4号品质效应进行回归分析, 其方程:

$$Y = 64.28 + 0.26X_1 + 0.12X_2 + 0.14X_3 + 0.11X_4 - 0.005X_1^2 - 0.0007X_2^2 - 0.0009X_3^2 - 0.001X_4^2 + 0.0006X_1X_2 + 0.0002X_1X_4 + 0.0002X_2X_4 - 0.0001X_3X_4$$

当食味评分达到最高值83.1时, 绥粳4号的基施氮肥比例、施氮量、施磷量、施钾量分别为35.7%、112.8 kg/hm²、70.8 kg/hm²、51.7 kg/hm²。

3.4 基施氮肥比例与氮、磷、钾的施入量间互作对绥粳4号品质的影响 基施氮肥比例与氮、磷、钾的施入量间互作对绥粳4号品质影响由大到小依次为基施氮肥比例与氮、磷、钾互作, 基施氮肥比例与磷、钾互作, 基施氮肥比例与氮、磷互作, 基施氮肥比例与氮、钾互作, 氮、磷、钾互作。

参考文献

- [1] 邹德堂. 黑龙江省稻米品质性状的主成分分析[J]. 东北农业大学学报, 2008, 39(3): 17-21.
- [2] 赵锦洛, 张云江, 王继馨, 等. 日本北海道优质稻米最新栽培技术[J]. 黑龙江农业科学, 2002(3): 49-51.
- [3] 孙伟晶, 王伯伦, 陈从斌. 不同施氮水平对水稻产量及品质的影响[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(20): 9411-9413.
- [4] 张晓萍, 王良, 颜素勤. 不同区域水稻精确施氮试验研究[J]. 上海农业科技, 2010(2): 50-51.
- [5] 付立东, 王宇, 隋鑫, 等. 氮素基肥与穗肥不同施入比例对超级稻生育及产量的影响[J]. 作物杂志, 2010(5): 34-38.
- [6] 王宇, 鲁奕双, 付立东, 等. N素基肥与穗肥不同比例对水稻群体指标的影响[J]. 北方水稻, 2008, 38(5): 23-27.
- [7] 梁国斌, 莫亿伟, 柳敏, 等. 施氮对水稻植株和颖果发育及稻米品质的影响[J]. 西北植物学报, 2008, 28(9): 1794-1802.
- [8] 黄尚宁, 黄俊, 刘甫清, 等. 水稻不同时期施肥比例与产量比较试验[J]. 广西农学报, 2010, 25(5): 7-9.
- [9] 朱晓彦. 水稻穗肥施用期对产量形成、氮素吸收及稻米品质的影响[D]. 扬州: 扬州大学, 2003.
- [10] 白成科, 段俊, 李桂双. 水稻各生育期追肥水平对稻米品质的影响[J]. 种子, 2003(5): 68-70.
- [11] 侯桂芬, 孙海燕, 潘丰, 等. 水稻配方施肥肥效试验[J]. 吉林农业, 2013(4): 65.