

LC-MS/MS 测定电子烟雾化物中非挥发性有机酸

LCMSMS-722

摘要： 本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪与三重四极杆质谱仪联用检测电子烟雾化物中非挥发性有机酸的方法。该方法可有效应对将在 2022 年 10 月 1 日实施的 GB 41700-2022《电子烟》国家标准中规定的电子烟雾化物中 6 种非挥发性有机酸的检测。

关键词： 电子烟 三重四极杆液质联用仪 有机酸

技术特点：

- ❖ 可应对电子烟强制国家标准（GB 41700-2022）。
- ❖ 6 种有机酸在色谱柱上分离良好。

电子烟通常也被称为尼古丁电子传递系统 (Electronic Nicotine - Delivery System, ENDS)，主要由电池（供电系统）、雾化器（雾化系统）和液体（电子烟雾化液）三个部分组成，使用时通过电池提供能量加热雾化器，使电子烟雾化液气溶胶化产生可供使用者吸入的蒸气。电子烟强制国家标准（GB 41700-2022）于 2022 年 10 月 1 日正式实施。其中对允许使用的 101 种

雾化物添加剂的最大添加量进行了限制。

柠檬酸、苹果酸等非挥发性有机酸都是生产中常用的添加剂，因此本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪与三重四极杆质谱仪联用检测电子烟雾化物中非挥发性有机酸的方法。该方法能有效地检测电子烟雾化物中非挥发性有机酸的含量。

实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津超高效液相色谱仪 LC-30AD 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用系统。具体配置为：

| | | | |
|--------|------------------------|--------|-----------------------|
| 系统控制器： | CBM-20A | 脱气机： | DGU-20A _{5R} |
| 输液泵： | LC-30AD×2 | 自动进样器： | SIL-30AC |
| 柱温箱： | CTO-20AC | 质谱仪： | LCMS-8045 |
| 色谱工作站： | LabSolutions Ver.5.113 | | |

1.2 分析条件

液相色谱条件 -1

色谱柱： Shim-pack GIST-HP 150 mm×2.1 mm I.D., 3.0 μm (P/N 227-30765-04); 岛津（上海）实验器材有限公司

流动相： A-5 mM 甲酸铵水溶液；B- 甲醇

流速： 0.3 mL/min

进样体积： 10 μL

R3 清洗液： 水：甲醇：乙腈：异丙醇=1：1：1：1
(含 0.5% 甲酸)

洗脱方式： 梯度洗脱，B 相初始浓度为 30%，
时间程序见表 1。

柱温： 35°C

洗针方式： 清洗泵 (R3) →清洗口 (R0)

表 1 梯度洗脱时间程序

| Time(min) | Module | Command | Value |
|-----------|---------|---------|-------|
| 3.00 | Pump | B.Conc | 90 |
| 5.00 | Pump | B.Conc | 90 |
| 5.10 | Pump | B.Conc | 30 |
| 10.00 | Control | Stop | |

质谱条件 -1

| | | | |
|---------|-----------|--------|-------------|
| 离子化模式： | ESI- | 接口电压： | -3.5 kV |
| 雾化气流速： | 3.0 L/min | 接口温度： | 350 °C |
| 加热模块温度： | 450 °C | 干燥气流速： | 3 L/min |
| D L 温度： | 300 °C | 加热气流速： | 17 L/min |
| MRM 参数： | 见表 2 | 扫描模式： | 多反应监测 (MRM) |

表 2 MRM 参数

| No. | 名称 | 前体离子 | 产物离子 | Q1 Pre Bias(V) | CE(V) | Q3 Pre Bias(V) |
|-----|------|--------|--------|----------------|-------|----------------|
| 1 | 乙酰丙酸 | 115.10 | 71.00* | 12.0 | 12.0 | 14.0 |
| | | | 97.00 | 12.0 | 11.0 | 10.0 |
| 2 | 苯甲酸 | 121.20 | 77.00* | 13.0 | 12.0 | 14.0 |
| | | | 121.20 | 13.0 | 0 | 14.0 |

* 代表定量离子对。

液相色谱条件 -2

色 谱 柱： Shim-pack GIST-HP 150 mm×2.1 mm I.D., 3.0 μm
 (P/N 227-30765-04); 岛津 (上海) 实验器材有限公司

流 动 相： A-0.2% 甲酸水溶液; B-0.1% 甲酸乙腈

流 速： 0.3 mL/min 柱 温： 35°C

进 样 体 积： 2 μL 洗 针 方 式： 清洗泵 (R3) →清洗口 (R0)

R3 清 洗 液： 水: 甲醇: 乙腈: 异丙醇 =1: 1: 1: 1 (含 0.5% 甲酸)

洗 脱 方 式： 梯度洗脱, B 相初始浓度为 2%, 时间程序见表 3。

表 3 梯度洗脱时间程序

| Time(min) | Module | Command | Value |
|-----------|---------|---------|-------|
| 2.30 | Pump | B.Conc | 2 |
| 3.50 | Pump | B.Conc | 95 |
| 6.00 | Pump | B.Conc | 95 |
| 6.10 | Pump | B.Conc | 2 |
| 10.00 | Control | Stop | |

质谱条件 -2

| | | | |
|---------|-----------|--------|-------------|
| 离子化模式： | ESI- | 接口电压： | -2.6 kV |
| 雾化气流速： | 3.0 L/min | 接口温度： | 350 °C |
| 加热模块温度： | 500 °C | 干燥气流速： | 5 L/min |
| D L 温度： | 250 °C | 加热气流速： | 15 L/min |
| MRM 参数： | 见表 4 | 扫描模式： | 多反应监测 (MRM) |

表 4 MRM 参数

| No. | 名称 | 前体离子 | 产物离子 | Q1 Pre Bias(V) | CE(V) | Q3 Pre Bias(V) |
|-----|---------|--------|--------|----------------|-------|----------------|
| 1 | DL- 酒石酸 | 148.90 | 87.00* | 15.0 | 13.0 | 18.0 |
| | | | 73.00 | 15.0 | 15.0 | 14.0 |

| | | | | | | |
|---|-----|--------|---------|------|------|------|
| 2 | 苹果酸 | 132.90 | 115.00* | 14.0 | 14.0 | 12.0 |
| | | | 71.00 | 14.0 | 15.0 | 14.0 |
| 3 | 乳酸 | 89.30 | 43.05* | 15.0 | 12.0 | 17.0 |
| | | | 45.05 | 19.0 | 13.0 | 16.0 |
| 4 | 柠檬酸 | 191.00 | 111.05* | 20.0 | 11.0 | 21.0 |
| | | | 87.05 | 19.0 | 17.0 | 17.0 |

* 代表定量离子对

1.3 标准溶液制备

用纯水配置浓度约为 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 单标对照品储备液，随后用纯水将标准品储备液溶液配制为一定浓度的混合对照品溶液，再稀释成不同浓度的混合标准溶液。

1.4 样品前处理

称取 0.10 g 雾化物于 50 mL 具盖离心管中，精确至 0.1 mg，10 mL 10% 甲醇水溶液，以 2000 r/min 涡旋振荡 20 min。取萃取溶液稀释 20 倍，采用有机相滤膜过滤于色谱瓶中待测。

■ 结果与讨论

2.1 典型图谱

六种有机酸的 MRM 谱图如下图所示。

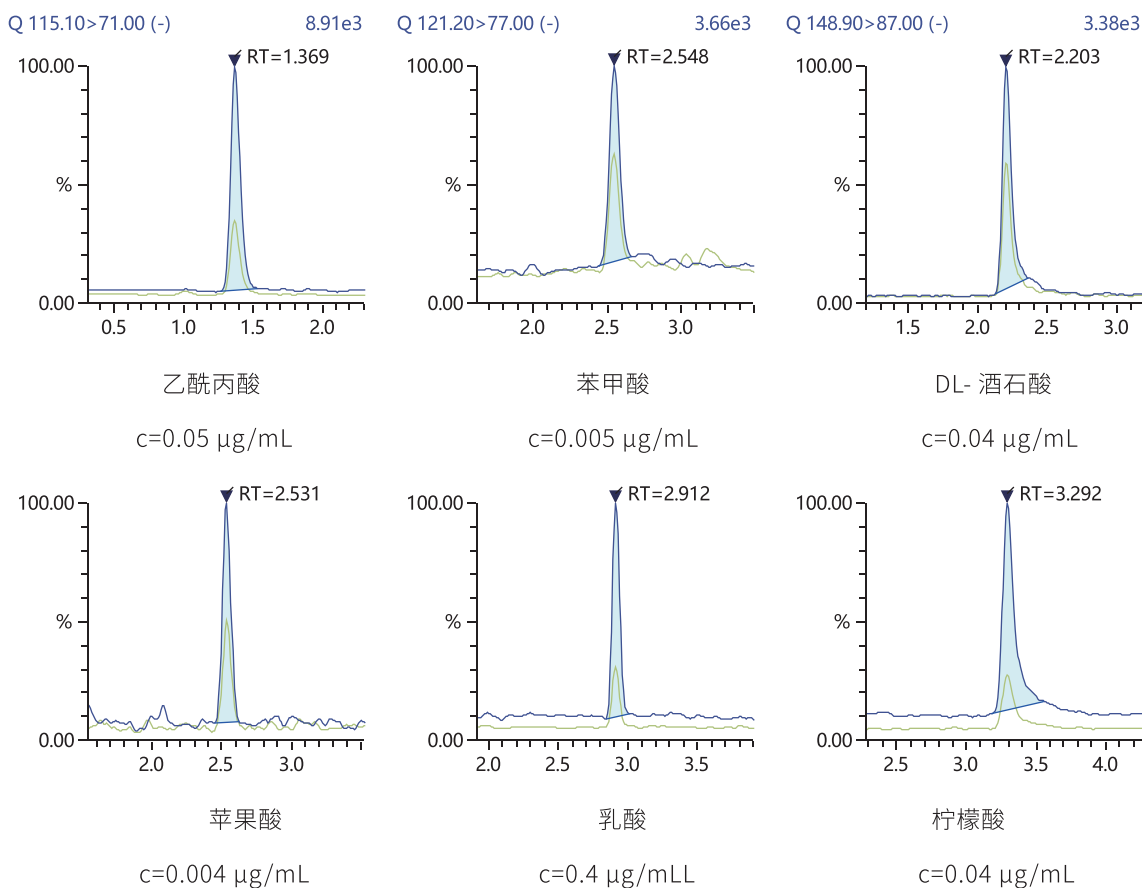


图 1 6 种有机酸标准 MRM 色谱图

2.2 校准曲线

按照 1.3 项下配制方法，配制校准曲线。以化合物浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，进行线性回归分析，6 种有机酸在指定浓度内线性良好，相关系数均大于 0.995。曲线结果如下图 2，线性方程及相关系数如下表 5 所示。

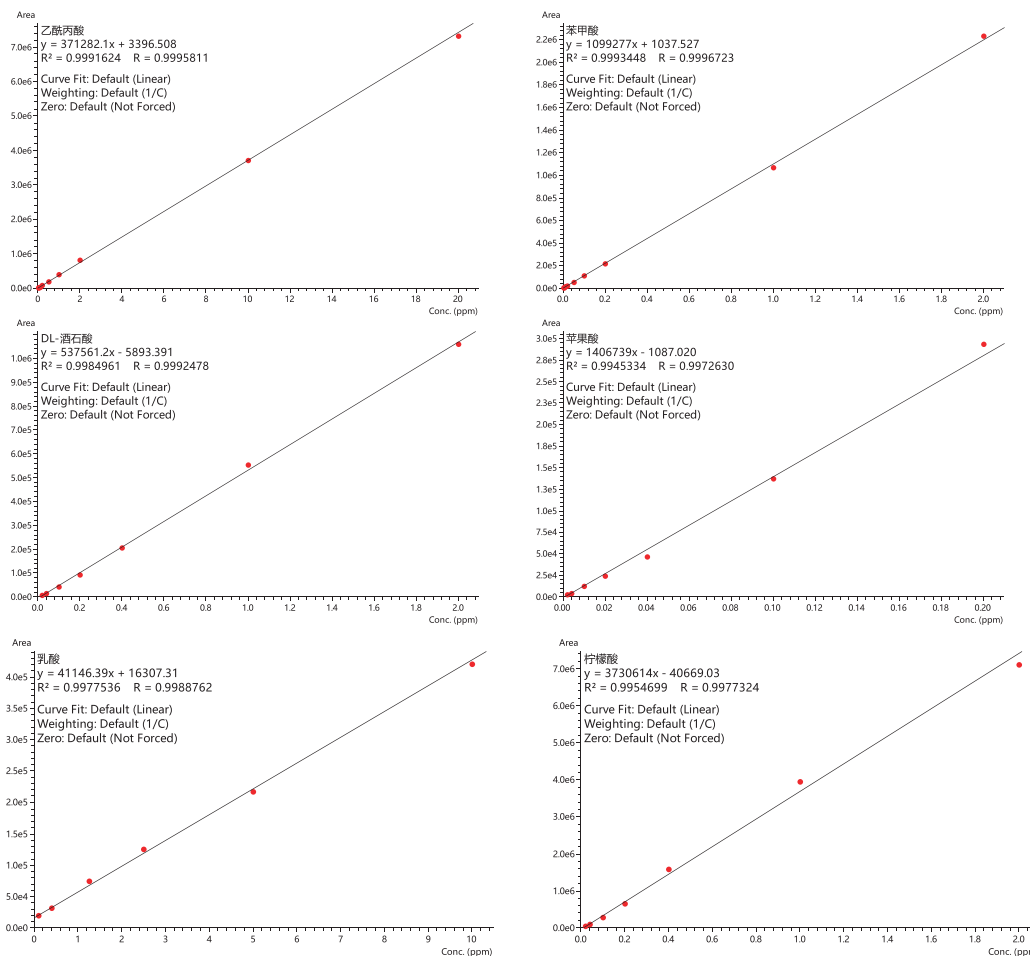


图 2 标准曲线结果

表 5 6 种有机酸校准曲线参数

| No. | 目标物 | 线性范围 ($\mu\text{g/ml}$) | 相关系数 (r) |
|-----|--------|------------------------------|-----------------|
| 1 | 乙酰丙酸 | 0.02 ~ 20 | 0.9996 |
| 2 | 苯甲酸 | 0.002 ~ 2 | 0.9997 |
| 3 | DL-酒石酸 | 0.02 ~ 2 | 0.9992 |
| 4 | 苹果酸 | 0.002 ~ 1 | 0.9972 |
| 5 | 乳酸 | 0.1 ~ 10 | 0.9989 |
| 6 | 柠檬酸 | 0.02 ~ 2 | 0.9977 |

2.3 重复性实验

分别取不同浓度混合标准溶液，连续进样 6 次，考察分析方法保留时间和峰面积重复性，结果见表 6。6 种有机酸的保留时间的 RSD 为 0.05 ~ 0.77%，峰面积的 RSD 为 0.51 ~ 9.15%，方法重复性良好，仪器精密性良好。

表 6 重复性实验测试结果 (n=6)

| No. | 化合物 | 样品浓度 (µg/mL) | 峰面积 RSD (%) | 保留时间 RSD (%) |
|-----|---------|--------------|-------------|--------------|
| 1 | 乙酰丙酸 | 0.05 | 4.68 | 0.05 |
| | | 1.0 | 0.51 | 0.06 |
| | | 10.0 | 0.71 | 0.07 |
| 2 | 苯甲酸 | 0.005 | 8.16 | 0.08 |
| | | 0.1 | 1.37 | 0.04 |
| | | 1.0 | 0.85 | 0.71 |
| 3 | DL- 酒石酸 | 0.04 | 3.81 | 0.77 |
| | | 0.2 | 2.33 | 0.24 |
| | | 1.0 | 0.29 | 0.24 |
| 4 | 苹果酸 | 0.004 | 9.15 | 0.67 |
| | | 0.02 | 1.63 | 0.30 |
| | | 0.1 | 0.77 | 0.28 |
| 5 | 乳酸 | 0.4 | 3.43 | 0.41 |
| | | 2.5 | 1.35 | 0.33 |
| | | 10.0 | 0.98 | 0.22 |
| 6 | 柠檬酸 | 0.04 | 3.67 | 0.34 |
| | | 0.2 | 1.67 | 0.43 |
| | | 1.0 | 0.56 | 0.34 |

2.4 样本加标回收率实验

取某样本, 按 1.4 中的前处理方法进行处理, 向样品中添加不同浓度的加标量, 每个浓度重复 3 次, 进行加标回收率实验。表 7 为实验结果, 6 种有机酸的平均回收率为 89.9 ~ 113.7%, RSD 为 0.46 ~ 3.75%。

表 7 6 种有机酸加标回收结果 (n=3)

| No. | 化合物 | 样品浓度 (µg/mL) | 添加浓度 (µg/mL) | 平均回收率 (%) | 相对标准偏差 RSD% |
|-----|---------|--------------|--------------|-----------|-------------|
| 1 | 乙酰丙酸 | 6.3 | 1.0 | 98.1 | 2.13 |
| | | | 5.0 | 92.1 | 1.17 |
| | | | 10.0 | 89.9 | 2.95 |
| 2 | 苯甲酸 | N.D. | 0.1 | 110.2 | 0.64 |
| | | | 0.5 | 103.8 | 0.74 |
| | | | 1.0 | 102.4 | 0.46 |
| 3 | DL- 酒石酸 | N.D. | 0.1 | 97.8 | 1.69 |
| | | | 0.2 | 98.5 | 0.56 |
| | | | 0.4 | 98.5 | 1.77 |
| 4 | 苹果酸 | N.D. | 0.01 | 94.8 | 1.75 |
| | | | 0.02 | 97.0 | 2.52 |
| | | | 0.04 | 92.9 | 3.75 |

| | | | | | |
|---|-----|------|-----|-------|------|
| 5 | 乳酸 | 2.8 | 1.0 | 106.1 | 2.71 |
| | | | 2.0 | 105.3 | 1.51 |
| | | | 4.0 | 97.6 | 0.64 |
| 6 | 柠檬酸 | N.D. | 0.1 | 95.8 | 0.75 |
| | | | 0.2 | 104.3 | 0.77 |
| | | | 0.4 | 113.7 | 0.74 |

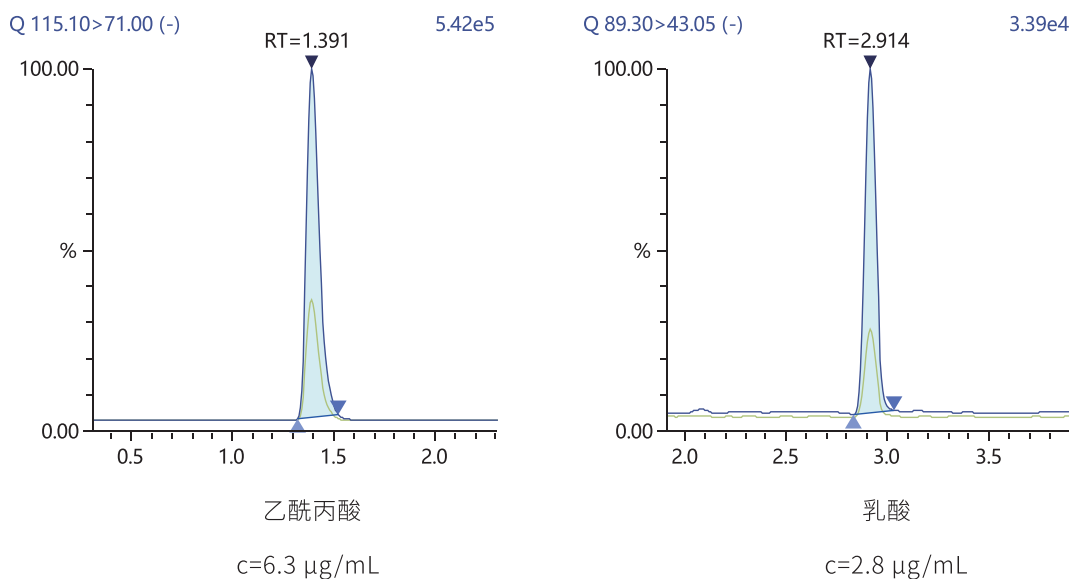


图3 样本中检出的乙酰丙酸和乳酸色谱图

■ 结论

本文利用岛津公司的 LCMS-8045 三重四极杆液质联用仪，建立了对电子烟雾化物添加剂中非挥发性有机酸的测定方法。该方法采用两个液相方法进行分析。方法采用外标法定量，6 种有机酸在指定浓度范围内相关系数均大于 0.995；重复性实验中，对不同浓度的标准溶液重复进样 6 次，保留时间的 RSD 为 0.05 ~ 0.77%，峰面积的 RSD 为 0.51 ~ 9.15%，仪器精密度良好；加标回收实验中，分别考察了 3 个不同浓度的加标量，平均回收率为 89.9 ~ 113.7%，RSD 为 0.46 ~ 3.75%。该方法能满足国家强制标准 GB 41700-2022 《电子烟》检测电子烟雾化物中非挥发性有机酸的含量要求。

岛津应用云

