

超高效液相色谱 – 三重四极杆质谱联用技术检测测定烟气中 8 种 N- 亚硝胺

LCMSMS-160

摘要: 本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱和三重四极杆质谱联用技术同时测定烟气中 8 种 N- 亚硝胺的方法。使用超高效液相色谱在 6.5 min 内实现快速分离, 三重四极杆质谱进行定量分析, 可快速、准确地测定烟气中的 N- 亚硝胺。本文对 8 种物质的线性关系、重复性、检出限和定量限及加标回收率进行了验证。结果表明, 8 种 N- 亚硝胺类的线性良好, 相关系数均大于 0.999, 定量限为 0.16 µg/L~2.88 µg/L。仪器的重复性良好, 不同浓度混合标准溶液连续进样 6 次, 保留时间和峰面积相对标准规偏差分别在 0.35 % 和 4 % 以下。采样滤膜经过前处理后获得的空白基质加标, 回收率在 92.8 %~120 % 之间。

关键词: N- 亚硝胺烟气超高效液相色谱三重四极杆质谱

卷烟烟气中的挥发性亚硝胺是从亚硝基氨基酸脱羧形成。由于亚硝胺类物质具有潜在的致癌作用, 给吸烟者的健康造成危害。烟气中挥发性 N- 亚硝胺含量的测定已经引起人们越来越多的关注。含氮的杂环化合物中 N- 亚硝胺 (N-nitrosamines) 主要包括亚硝基二甲胺 (N-nitrosodimethylamine, NDMA), 亚硝基乙胺 (N-nitrosomethylethylamine, NMEA), 亚硝基二乙胺 (N-nitrosodiethylamine, NDEA), 亚硝基二丙胺 (N-nitrosodi-n-propylamine, NDPA), 亚硝基吗啉 (N-nitromorpholine, NMor), 亚硝

基吡咯烷 (N-nitrosopyrrolidne, NPyr), 亚硝基哌啶 (N-nitrosopiperidine, NPip) 和亚硝基酰胺 (N-nitrosodi-n-butylamide, NDBA) 等。最近的研究表明使用高效液相色谱串联质谱法 (HPLC-MS/MS) 可以监测饮用水中 N- 亚硝胺, 但是 HPLC-MS/MS 技术检测烟气中挥发性 N- 亚硝胺的方法鲜有报道。在本文中, 通过优化色谱和质谱条件, 实现直接快速测定烟气中 8 种 N- 亚硝胺化合物包括 NDMA、NMEA、NDEA、NDPA、NMor、NPyr、NPip 和 NDBA。

实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用系统, 包括 LC-30AD×2(输液泵), SIL-30AC (自动进样器), CTO-30AC (柱温箱), CBM-20A(系统控制器), DGU-20A₂(在线脱气机), LCMS-8050 (三重四极杆液质) 和 LabSolutions Ver 5.60 SP2(工作站)。

1.2 分析条件

液相色谱条件

流动相: A 相: 水; B 相: 甲醇

流速: 0.4 mL/min

色谱柱: Inertsil Sustain C18(3.0 mm I.D.×100 mm L., 3µm)

柱温: 40°C

洗脱方式: 梯度洗脱, 初始浓度为 B 相 40 %, 时间程序见表 1

表1 梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
3.00	Pumps	Pump B Conc.	90
4.50	Pumps	Pump B Conc.	90
4.70	Pumps	Pump B Conc.	40
6.50	Controller	Stop	

进样量: 15 µL

质谱条件
 分析仪器：LCMS-8050
 离子源：APCI(+)
 离子源接口电压：4.0 kV
 雾化气及干燥气：氮气 3.0 L/min、5.0 L/min
 碰撞气：氩气

源温：200°C
 脱溶剂管温度：250°C
 加热模块温度：300°C
 检测器电压：1.86kV
 扫描模式：多反应监测 (MRM)
 驻留时间及延迟时间：10 ms、3 ms

表2 8 种 N-亚硝胺的 MRM 参数

名称	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
NMor	59-89-2	117.10	45.10*	-12.0	-21.0	-18.0
			56.00	-12.0	-17.0	-22.0
NDMA	62-75-9	75.10	41.00*	-13.0	-15.0	-16.0
			39.10	-13.0	-23.0	-15.0
NPyr	930-55-2	101.10	42.15*	-11.0	-28.0	-15.0
			55.05	-18.0	-17.0	-23.0
NMEA	10595-95-6	89.10	61.10*	-15.0	-13.0	-24.0
			43.10	-15.0	-13.0	-16.0
NDEA	55-18-5	103.10	75.00*	-11.0	-12.0	-13.0
			47.05	-11.0	-17.0	-18.0
NPip	100-75-4	115.10	69.10*	-12.0	-15.0	-30.0
			41.10	-12.0	-22.0	-17.0
NDPA	621-64-7	131.10	89.10*	-14.0	-10.0	-16.0
			43.10	-14.0	-13.0	-18.0
NDBA	924-16-3	159.10	103.10*	-11.0	-11.0	-19.0
			41.10	-11.0	-12.0	-16.0

*表示定量离子

1.3 标准溶液的配制及样品前处理

标准溶液配制：将所购买的 2 mg/mL 亚硝胺混标用 40 % 甲醇稀释，配制标准溶液浓度系列。

前处理步骤：将采样滤膜剪碎后，加入 40 mL 二氯甲烷，超声提取 30 min，取 1 mL 旋转蒸干后，用 1 mL 40 % 甲醇重新溶解，采用分散 SPE 的方法 (50 mg PSA, 50 mg GCB, 50 mg C18) 对样品进行前处理，5000 rpm 离心 5 分钟，过滤后上机分析。

结果讨论

2.1 标准样品一级质谱图和产物离子扫描质谱图

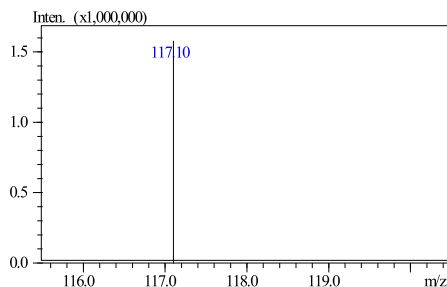


图1 NMor 的一级质谱图

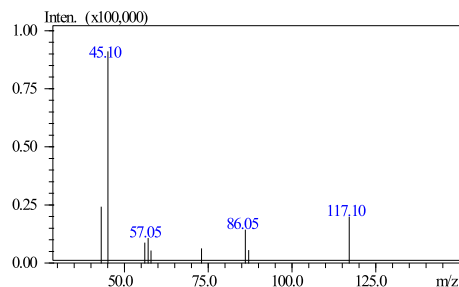


图2 产物离子扫描质谱图 (CE 值 -25 V)

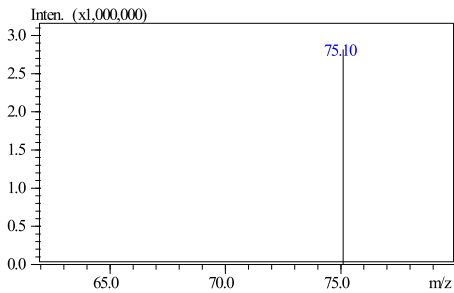


图3 NDMA 的一级质谱图

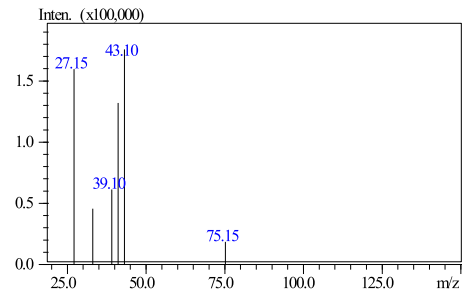


图4 产物离子扫描质谱图 (CE 值-35V)

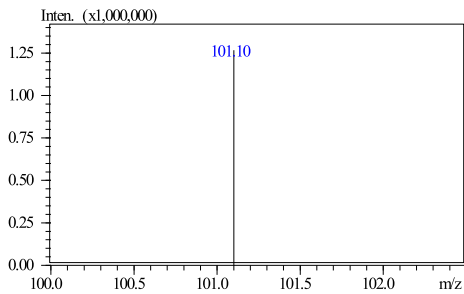


图5 NPyrr的一级质谱图

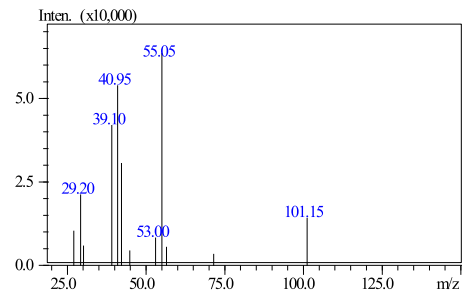


图6 产物离子扫描质谱图 (CE 值-30V)

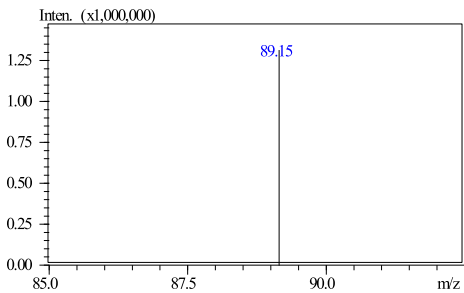


图7 NDEA的一级质谱图

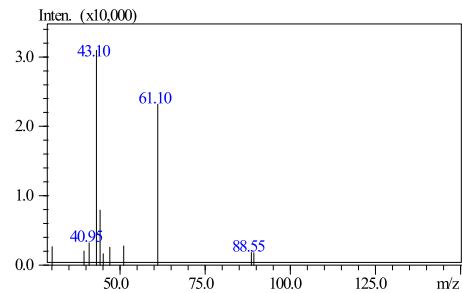


图8 产物离子扫描质谱图 (CE 值-20V)

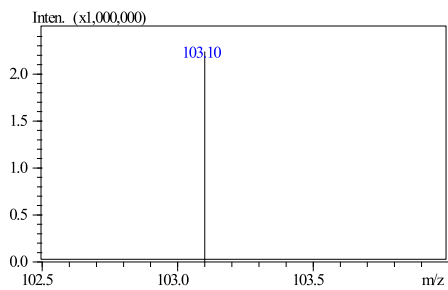


图9 NDEA 的一级质谱图

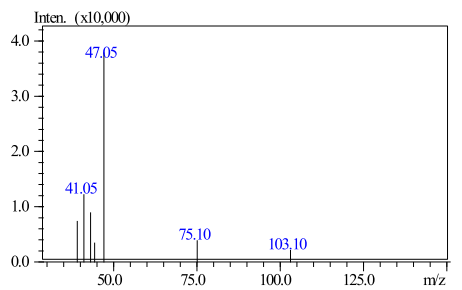


图10 产物离子扫描质谱图 (CE 值-25V)

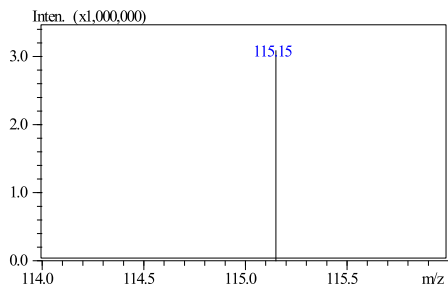


图11 NPip的一级质谱图

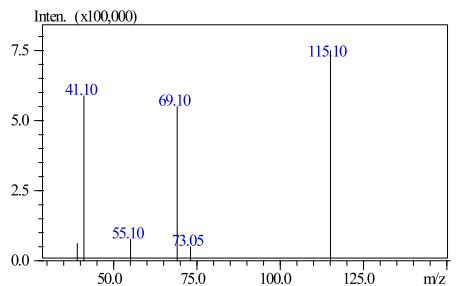


图12 产物离子扫描质谱图 (CE 值-20V)

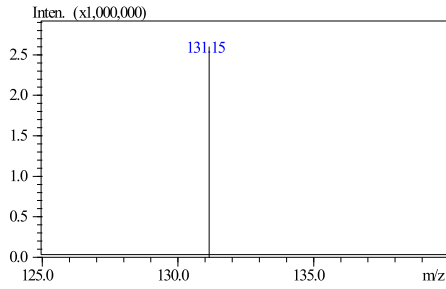


图13 NDP A的一级质谱图

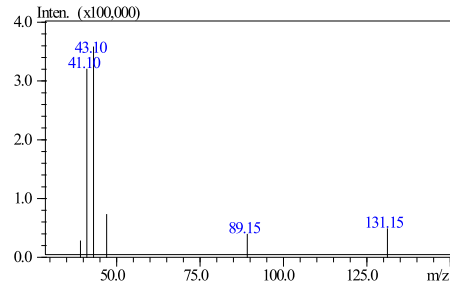


图14 产物离子扫描质谱图 (CE 值-20 V)

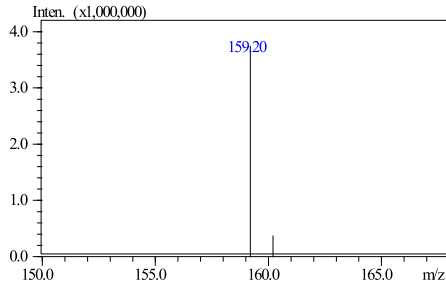


图15 NDB A的一级质谱图

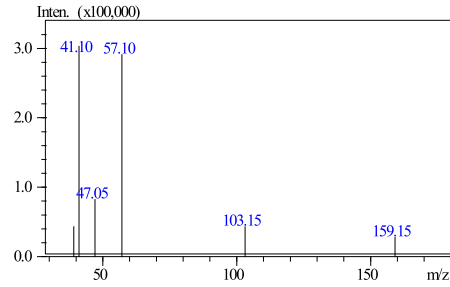


图16 产物离子扫描质谱图 (CE 值-20 V)

2.1 标准品的 MRM 色谱图

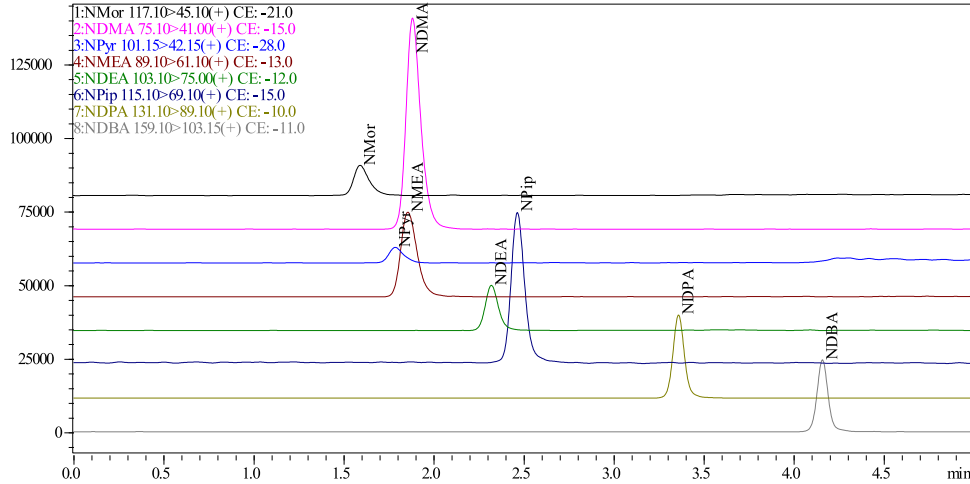


图17 10 μ g/L 8 种 N-亚硝胺标准品色谱图

2.2 线性关系

将浓度为 0.5, 1.0, 2.0, 10, 20, 50 和 100 μ g/L NMor 和 NPy 的标准工作液, 浓度为 0.1, 0.2, 1.0, 2.0, 10, 20, 50 和 100 μ g/L NDMA, NMEA, NDPA 和 NDBA 的混合标准工作液, 浓度为 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 10, 20, 50, 100 μ g/L NDEA 和 NPip 的混合标准工作液, 按 1.2 中的分析条件进行测定, 以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 外标法制作校准曲线, 如图 18~25 所示, 线性方程、线性范围和相关系数见表 3。

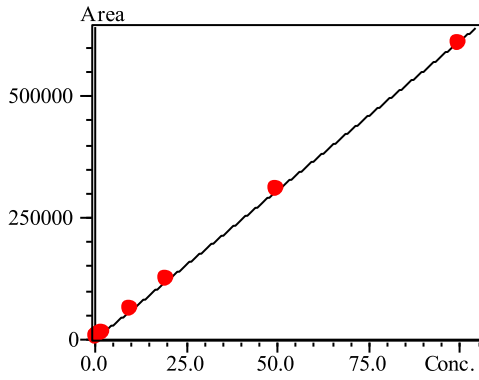


图 18 NMor 标准曲线

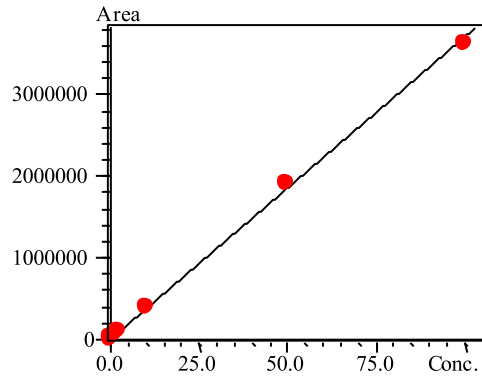


图 19 NDMA 标准曲线

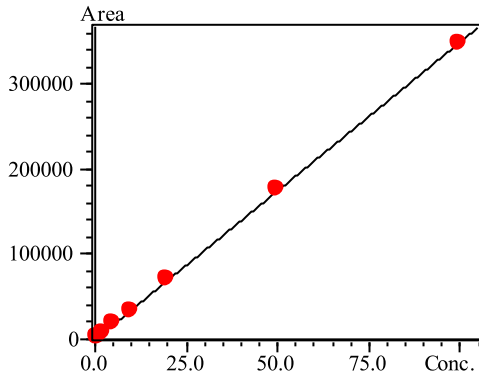


图 20 NPyr 标准曲线

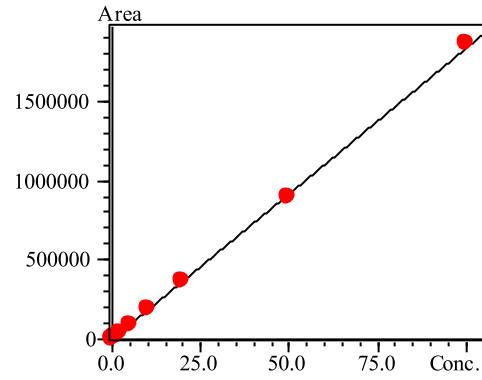


图 21 NMEA 标准曲线

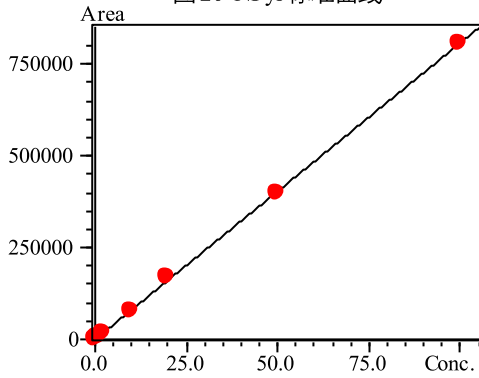


图 22 NDEA 标准曲线

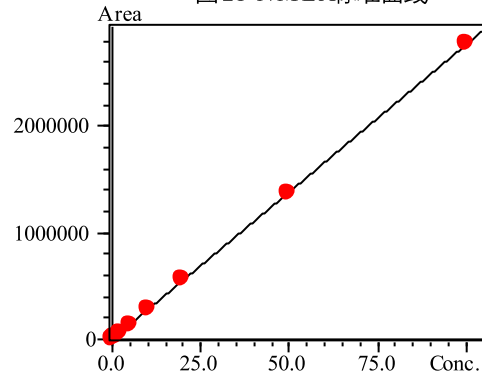


图 23 NPip 标准曲线

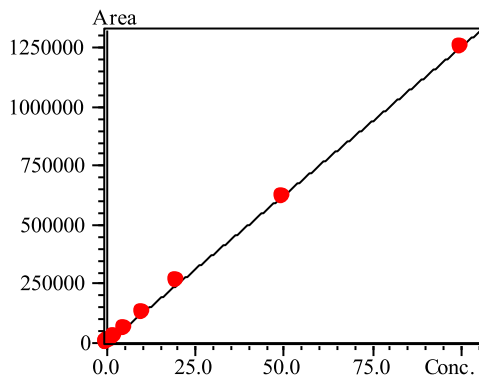


图 24 NDPA 标准曲线

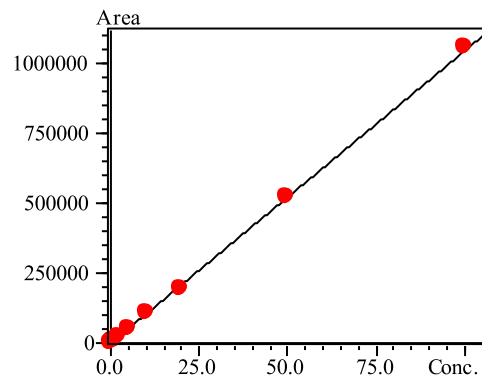


图 25 NDDBA 标准曲线

表3 8种N-亚硝胺化合物的校准曲线参数

编号	名称	校准曲线	线性范围 (ug/L)	相关系数 r
1	NMor	$Y = (6141.89)X + (-27.2972)$	0.5~100	0.9998
2	NDMA	$Y = (36983.9)X + (9088.95)$	0.1~100	0.9994
3	NPyr	$Y = (3499.20)X + (-368.377)$	0.5~100	0.9995
4	NMEA	$Y = (18335.8)X + (163.516)$	0.1~100	0.9997
5	NDEA	$Y = (8079.51)X + (-293.089)$	0.2~100	0.9997
6	NPip	$Y = (27621.1)X + (769.640)$	0.2~100	0.9998
7	NDPA	$Y = (12538.6)X + (-387.889)$	0.1~100	0.9998
8	NDBA	$Y = (10426.5)X + (-528.636)$	0.1~100	0.9996

2.3 重复性实验

配制如表4浓度的混合标液,平行测试6次。NMor和NPyr级别1为2 mg/L,级别2为10 mg/L,级别3为50 mg/L; NDMA, NMEA, NDPA, NDBA级别1为0.2 mg/L,级别2为2 mg/L,级别3为50 mg/L; NDEA和NPip级别1为0.5 mg/L,级别2为5 mg/L,级别3为50 mg/L。8种目标化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在0.01~0.33%和0.72~3.62%之间,仪器精密度良好。

表4 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

样品名称	RSD% (级别1)		RSD% (级别2)		RSD% (级别3)	
	R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
NMor	0.21	3.29	0.10	3.11	0.03	1.64
NDMA	0.12	2.27	0.03	0.90	0.04	0.82
NPyr	0.28	3.02	0.16	2.53	0.08	1.06
NMEA	0.33	3.62	0.07	1.82	0.07	0.72
NDEA	0.26	2.84	0.07	2.52	0.05	1.97
NPip	0.12	2.78	0.04	1.85	0.04	1.59
NDPA	0.10	3.34	0.06	2.12	0.02	1.25
NDBA	0.08	2.35	0.02	2.55	0.01	1.09

2.4 灵敏度

配制如表4浓度的混合标样7份,直接进样分析,根据HJ 168-2010规定对上述测定结果剔除离群值后将各自的7次测定结果计算其标准偏差S,此时检出限MDL=3.14×S,定量限LOQ=4×MDL,测定结果如表5所示。

表5 8种N-亚硝胺的检出限和定量限

No.	名称	浓度 (ug/L)	标准偏差(S)	检出限(ug/L)	定量限(ug/L)
1	NMor	0.5	0.03145	0.10	0.40
2	NDMA	0.1	0.00486	0.02	0.08
3	NPyr	0.5	0.02795	0.09	0.36
4	NMEA	0.1	0.00405	0.01	0.04
5	NDEA	0.2	0.01552	0.05	0.20
6	NPip	0.2	0.01122	0.04	0.16
7	NDPA	0.1	0.00611	0.02	0.08
8	NDBA	0.1	0.00854	0.03	0.12

2.5 基质加标实验

在按照 1.3 中样品制备方法，采样滤膜处理后获得的空白基质中添加混合标样，加标含量如表 6，各平行 3 次，回收率测试结果见表 6。采样滤膜的色谱图如图 26 所示，加标样品色谱图如图 27 所示。

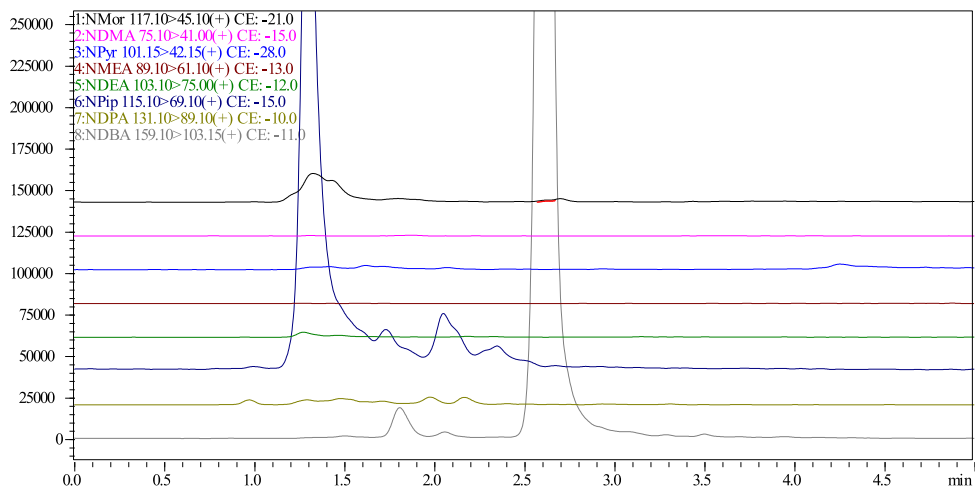


图 26 采样滤膜处理后空白基质色谱图

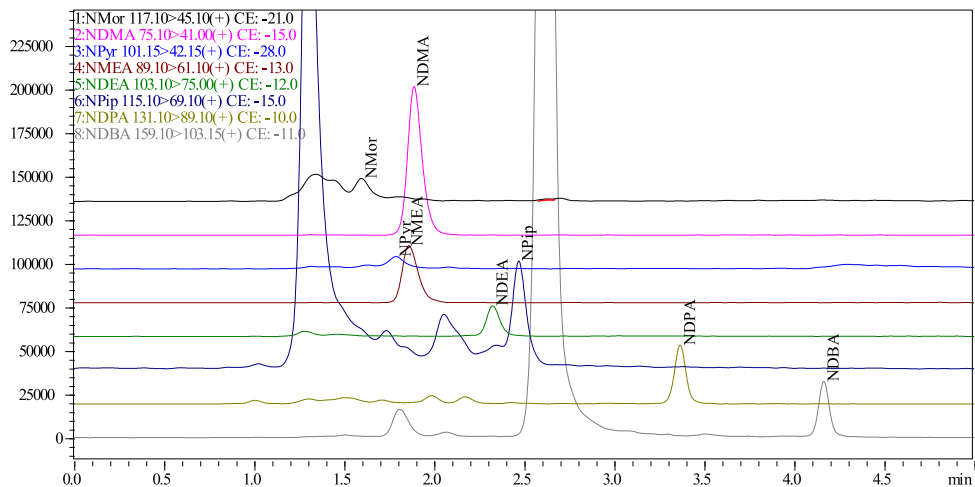


图 27 基质加标 10µg/L 色谱图

表6 加标样的回收率结果 (n=3)

样品名称	回收率 (%)		
	1 u g/L	10 u g/L	50 u g/L
NMor	96.3%	86.1%	92.8%
NDMA	112%	120%	117%
NPyr	119%	94.7%	111%
NMEA	101%	106%	110%
NDEA	109%	104%	112%
NPip	94.5%	97.2%	108%
NDPA	113%	116%	113%
NDBA	105%	104%	120%

■ 结论

本文建立了超高效液相色谱 – 三重四极杆质谱联用技术同时测定烟气中 8 种 N- 亚硝胺的方法。仪器的重复性良好，不同浓度混合标准溶液连续进样 6 次，保留时间和峰面积相对标准规偏差分别在 0.35 % 和 4 % 以下。8 种 N- 亚硝胺类的线性良好，相关系数均大于 0.999，定量限为 0.08 $\mu\text{g/L}$ ~0.40 $\mu\text{g/L}$ 。采样滤膜经过前处理后获得的空白基质加标，回收率在 92.8 %~120 % 之间。本法简单、快速、准确，能满足测定烟气中 8 种 N- 亚硝胺的需求。