

# 高效液相色谱法测定卷烟主流烟气中巴豆醛<sup>\*</sup>

张怀辉<sup>1,2</sup>, 杨式华<sup>2</sup>, 徐济仓<sup>2</sup>, 曹秋娥<sup>1</sup>

(1. 云南大学 化学科学与工程学院, 云南 昆明 650091; 2. 云南瑞升烟草技术有限公司, 云南 昆明 650106)

**摘要:**建立了高效液相色谱测定卷烟主流烟气中巴豆醛的方法。通过使用处理过的剑桥滤片(滴加酸性的2,4-二硝基苯肼乙腈溶液)对主流烟气中的巴豆醛进行捕集和衍生化,捕集到的巴豆醛衍生物用2%吡啶-乙腈溶液萃取,萃取液经Novapak C<sub>18</sub>柱(waters, 3 mm × 150 mm, 4.5 μm)分离,二极管阵列检测器于波长365 nm处检测。方法的检出限为10 μg · L<sup>-1</sup>,加标回收率为97.76%,相对标准偏差(RSD)为2.93%,线性范围0.64~10.22 μg · mL<sup>-1</sup>,相关系数(*R*<sup>2</sup>)0.9999。方法具有简单、灵敏、准确等特点。使用该方法测定了国内7个品牌卷烟主流烟气中巴豆醛的含量,结果满意。

**关键词:**巴豆醛;卷烟主流烟气;2,4-二硝基苯肼;高效液相色谱法

**中图分类号:**O 657.7    **文献标识码:**A    **文章编号:**0258 - 7971(2009)S1 - 0305 - 05

巴豆醛是呼吸道纤毛毒素,它与氰化氢一起被人体吸入后,抑制了肺排泄物的清除,从而引起肺部疾病<sup>[1]</sup>。D. Hoffman 和 S. S. Hecht 在《烟草致癌物和致突变物研究进展》一书中对烟气主要有害成分作了归纳,巴豆醛是其中之一<sup>[2]</sup>。随着消费者对吸烟与健康的日益关注,国家烟草专卖局将包含巴豆醛在内的7种主要有害成分用于表征卷烟烟气的安全性<sup>[3]</sup>。因此,对卷烟主流烟气中巴豆醛的快速、准确测定非常必要。目前其主要的检测方法有气相色谱法和高效液相色谱法等<sup>[4~8]</sup>,但这些方法存在色谱条件复杂,重现性不理想,前处理繁杂<sup>[6~8]</sup>等问题,对准确定量存在一定的局限性。

本文应用处理过的剑桥滤片(滴加酸性的2,4-二硝基苯肼-乙腈溶液)捕集卷烟主流烟气中的巴豆醛,生成的巴豆醛腙用2%的吡啶乙腈溶液萃取后使用高效液相色谱对其进行测定。方法具有简单、准确的特点。使用该方法测定了国内7个不同品牌卷烟主流烟气中巴豆醛的含量,结果满意。该方法的建立为卷烟有害成分巴豆醛(国家烟草专卖局确定的7种主要有害成分之一)的准确测定提供了一种选择。

## 1 实验部分

**1.1 仪器设备及试剂** 配备二极管阵列检测器(Waters 996 PDA, 美国)的高效液相色谱仪(Waters Alliance 269, 美国);吸烟机(CERULEAN SM410, 英国);超声波发生仪(Elma TRANSSON-IC T890/H, 德国);恒温恒湿箱(WTC binder, 德国);剑桥滤片(Whatman, 英国);AB204-S型电子天平(瑞士METTLER TOLEDO公司, 感量0.1 mg);13 mm × 0.45 μm针筒式微孔滤膜过滤器(天津腾达过滤器件厂);喉头喷雾器(TH72-HTPWQ1, 上海)。

巴豆醛(丁烯醛)-DNPH衍生物标品(纯度99%, Chem Service);乙腈(色谱纯, Merck);高纯水(购自昆明物理研究所, 18 k)。

2% (体积分数) 吡啶的乙腈溶液。

高氯酸(60%~62%)(天津市西青鑫源化工厂);2,4-二硝基苯肼(DNPH)(上海化学试剂公司, 使用前需进行空白检验);吡啶(上海化学试剂公司);以上试剂均为分析纯。

高氯酸溶液(1.82 mol · L<sup>-1</sup>): 100 mL 棕色容

\* 收稿日期: 2009-01-08

基金项目: 云南省烟草公司资助项目(2001PY001)。

作者简介: 张怀辉(1978-), 男, 云南人, 硕士生, 主要从事现代仪器分离分析方面的研究。

通讯作者: 曹秋娥, 女, 湖南人, 教授, 主要从事现代仪器分离分析方面的研究。

量瓶(A级)内加入50 mL水,再加入20 mL高氯酸(60%~62%),用水定容。

高氯酸-水乙腈混合溶液( $0.046 \text{ mol L}^{-1}$ ):取1.82 mol  $\text{L}^{-1}$ 高氯酸溶液2.5 mL于100 mL棕色容量瓶(A级)中,用1:1( $V/V$ )的水/乙腈溶液定容。

DNPH衍生化溶液( $75 \text{ mmol L}^{-1}$ ):准确称取7.5 g的DNPH,加入到含约300 mL乙腈的500 mL棕色容量瓶内(A级),然后再加入22.5 mL 1.82 mol  $\text{L}^{-1}$ 的高氯酸溶液,振荡至DNPH晶体溶解,用乙腈定容。

**1.2 捕集滤片及卷烟样品的准备** 捕集滤片:取剑桥滤片若干,分别在每个滤片上均匀滴加2 mL DNPH( $75 \text{ mmol L}^{-1}$ )溶液,置于干燥器中干燥后备用。

卷烟样品:将卷烟样品置于温度( $22 \pm 1$ )、湿度( $60 \pm 2\%$ )的恒温恒湿箱中平衡48 h,平衡好的卷烟样品按GB/T 19609—2004进行挑选后备用。

**1.3 卷烟样品的测定** 在卷烟抽吸前往备用的捕集滤片上喷洒1 mL  $0.046 \text{ mol L}^{-1}$ 高氯酸-水-乙腈溶液,每个样品使用一个滤片。在温度22

( $\pm 1$ )、60%( $\pm 2\%$ )湿度的环境下用吸烟机抽吸卷烟<sup>[5]</sup>,同时捕集主流烟气,每个孔道抽吸2支卷烟。每次抽吸容量为35 mL,抽吸持续时间为2 s,抽吸频率为每隔60 s抽吸1次,卷烟抽吸结束后,空吸2次。取出捕集滤片,转移至50 mL锥形瓶中,用25 mL移液管准确加入2%(体积分数)吡啶的乙腈溶液25 mL,室温下超声萃取15 min,放置30 min后取适量萃取液用0.45  $\mu\text{m}$ 微量样品过滤器过滤后转移到2 mL色谱进样瓶中进行高效液相色谱测定。

在每次试验时,均进行空白试验。即取同样烟支,不点燃,按1.3方法进行空白试验,得到环境空气空白值,在最后的测定结果中进行空白扣除。

**1.4 色谱条件** 色谱柱:Waters Novapak C<sub>18</sub>柱( $3.9 \text{ mm} \times 150 \text{ mm}$ );流速: $1.0 \text{ mL min}^{-1}$ ;柱温:30;进样量:10  $\mu\text{L}$ ;流动相A为乙腈,流动相B为0.5%甲酸;梯度洗脱程序:0~10 min,42%A线性变化至49%;10~18 min,49%A保持不变;18~19 min,49%A线性变化至100%;19~25 min,100%A线性变化至42% A。检测波长:365 nm。典型的样品色谱图见图1(b)。

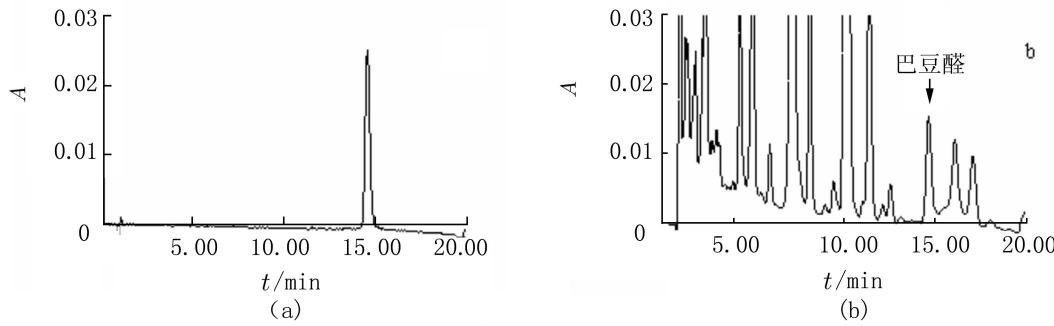


图1 (a) 巴豆醛-DNPH衍生物标品和(b)卷烟样品的色谱图

Fig. 1 Chromatograms of crotonaldehyde 2,4-dinitrophenylhydrazone standard (a) and cigarette sample (b)

## 2 结果与讨论

### 2.1 前处理方法优化

**2.1.1 不同DNPH浓度对吸收效果的影响** 表1列出了在相同条件下,不同DNPH衍生化试剂浓度对巴豆醛测定结果的影响。从表中可以看出,随着DNPH浓度的增加,巴豆醛含量明显增加,当DNPH浓度达到50~100 mmol  $\text{L}^{-1}$ 时,巴豆醛含量变化不明显。DNPH浓度为75 mmol  $\text{L}^{-1}$ 时测得

的巴豆醛含量最高,因此本试验采用浓度为75 mmol  $\text{L}^{-1}$ 的DNPH衍生化试剂。

**2.1.2 不同萃取溶剂用量对巴豆醛萃取效果的影响** 表1列出了在相同条件下,不同萃取溶液量对巴豆醛萃取效率的影响,萃取溶剂为2%(体积分数)吡啶乙腈溶液(溶液中的吡啶对巴豆醛衍生物具有稳定作用<sup>[7]</sup>)。从表中可以看出,随着萃取溶剂量的增加,巴豆醛测定值也略有增加,萃取溶剂量为25 mL时,萃取出的巴豆醛含量达到30.74  $\mu\text{g}$

·支<sup>-1</sup>,溶剂量增加到 50 mL 后巴豆醛含量没有增加.因此本试验使用 25 mL 萃取溶剂进行萃取.

2.1.3 其他条件的优化 干燥状态下捕集滤片上的 DNPH 是不能与巴豆醛发生腙化反应的,需要使滤片湿润后才能反应(一般情况下在捕集滤片上喷 1 mL 溶液即可<sup>[7]</sup>,过多会使滤片的通透性降低,从而在抽吸过程中引起滤片穿滤).比较了在备用捕集滤片上分别喷洒乙醇、乙腈、DNPH 溶液、0.182 mol L<sup>-1</sup>高氯酸溶液、0.046 mol L<sup>-1</sup>高氯酸-水乙腈( $V/V = 1/1$ )等不同溶液对巴豆醛捕集和衍生化效果的影响,结果显示喷洒 1 mL 0.046 mol L<sup>-1</sup>高氯酸-水乙腈( $V/V = 1/1$ )溶液时,测得的巴豆醛含量最高,因此本试验选择往备用的捕集滤片上喷洒 0.046 mol L<sup>-1</sup>高氯酸-水乙腈( $V/V = 1/1$ )溶液.

$V = 1/1$ )溶液 1 mL,之后立即将滤片放在吸烟机上进行卷烟抽吸.

表 1 衍生化试剂浓度和萃取溶剂用量对巴豆醛测定结果影响

Tab. 1 The effect of different concentrations of derivatization reagent and different amount of extraction solvent

$c(\text{DNPH})/(\text{mmol L}^{-1})$	(巴豆醛)/ $(\mu\text{g} \cdot \text{支}^{-1})$	$V(\text{萃取溶剂})/(\text{mL})$	(巴豆醛)/ $(\mu\text{g} \cdot \text{支}^{-1})$
25	17.26	10	26.87
50	29.81	20	27.31
75	31.14	25	30.74
100	27.01	50	29.69

表 2 巴豆醛的标准曲线和重现性

Tab. 2 The Standard curve and reproducibility of Crotonaldehyde

回归方程	$R^2$	线性范围/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	检出限/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$ ( $S/N = 3$ )	重现性/ $(\mu\text{g} \cdot \text{支}^{-1})$	RSD/ %
$y = 1.98 \times 10^5 x + 4.12 \times 10^2$	0.9999	0.64 ~ 10.22	10	29.25, 28.03, 29.64, 28.34, 30.30	2.93

$Y$ —积分峰面积,  $X$ —巴豆醛含量.

2.1.4 色谱条件优化 为了分离多个羰基化合物,文献报道方法<sup>[6~8]</sup>均使用了复杂的流动相(包括使用水/乙腈/四氢呋喃/异丙醇混合溶液).经过反复的试验,发现使用乙腈和 0.5 % 的甲酸水溶液进行梯度洗脱就能够很好地分离巴豆醛腙.

2.2 巴豆醛腙的稳定性 将卷烟样品按 1.3 方法处理,考察了处理完后立即测定和室温放置 5, 12, 24, 48 h 后测定,以观察巴豆醛腙在萃取溶液中的稳定性.5 次测定结果的 RSD 为 0.58 %,表明溶液中的巴豆醛腙在室温下具有较好的稳定性,处理好的样品在 2 d 之内进行检测不影响分析结果.

2.3 工作曲线 准确称取一定量的巴豆醛-DNPH 衍生物,用 2 % (体积分数) 吡啶的乙腈溶液配制成标样母液,稀释为(以巴豆醛-DNPH 衍生物中巴豆醛含量计算) 0.64, 1.28, 2.56, 5.11, 10.22  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的系列标准溶液,在高效液相色谱上进行分析,外标法制作工作曲线.回归方程、相关系数、线性范围及检出限如表 2 所列,从表中可以看出,在线性范围内,相关系数( $R^2$ )达到了 0.9999,方程具有良好的相关性,典型的标准色谱图见图

1(a).通过对标准溶液的不断稀释,以进样 5  $\mu\text{L}$ ,信噪比大于 3 作为衡量标准,巴豆醛的检出限(以巴豆醛-DNPH 衍生物中的巴豆醛量计算)为 10  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ .

2.4 重现性和回收率 取卷烟样品按 1.3 方法测定主流烟气中巴豆醛含量,平行测定 5 次,测定结果见表 2. 从表中可以看出,5 次测定结果的相对标准偏差(RSD)为 2.93 %,说明本方法具有较好的重现性.

采用标准加入法测定回收率,在处理好的滤片上滴加 1 mL 不同浓度的巴豆醛-DNPH 衍生物标准品后,立即置于吸烟机上按 1.3 方法抽吸卷烟并测定,同时对卷烟样品进行测定,根据卷烟中巴豆醛含量、实际加入量和测定量计算回收率,结果列于表 3 中.5 次测定的平均回收率达 97.76 %,表明方法具有较高的回收率.

2.5 与其他测定方法的比较 按 1.3 所述的方法和国内最新文献报道的方法<sup>[7]</sup>分别对同一品牌不同批次卷烟样品主流烟气中的巴豆醛进行测定,测定数据列于表 4 中. 从表中可以看出,对于相同的

卷烟样品,按照本文优化的方法检测出的巴豆醛含量,均高于使用文献报道方法<sup>[7]</sup>进行测定的结果。

表3 巴豆醛的回收率

Tab. 3 The recovery of crotonaldehyde

编 号	样品含量/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{支}^{-1}$ )	加入量/ $\mu\text{g}$	测定量/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{支}^{-1}$ )	回收率/ %
1	29.12	10	67.49	92.5
2	29.12	20	79.19	104.75
3	29.12	30	87.66	98.07
4	29.12	40	95.94	94.25
5	29.12	50	107.86	99.24

表4 不同方法测定的巴豆醛含量(单位: $\mu\text{g}\cdot\text{支}^{-1}$ )

Tab. 4 Contents of different methods(unit:  $\mu\text{g}$  per cigarette)

编号	本文方法	文献方法 <sup>[7]</sup>
1	23.55	15.05
2	24.78	16.84
3	23.44	16.32
4	25.53	14.99
5	25.02	12.01

表5 卷烟样品主流烟气中巴豆醛含量的测定结果

Tab. 5 Results of crotonaldehyde in mainstream smoke of different brands (unit:  $\mu\text{g}$  per cigarette)

类型	编号	焦油含量/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{支}^{-1}$ )	巴豆醛含量/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{支}^{-1}$ )
烤烟型	1 <sup>#</sup>	17	21.80
	2 <sup>#</sup>	15	23.66
	3 <sup>#</sup>	15	26.17
混合型	4 <sup>#</sup>	15	24.21
	5 <sup>#</sup>	14	20.15
	6 <sup>#</sup>	17	25.79
	7 <sup>#</sup>	8	11.87

2.6 卷烟样品测定 按照1.3所述的方法对国内7个不同品牌卷烟主流烟气中的巴豆醛进行测定,卷烟类型、对应的焦油量和测定结果列于表5中。从表中可以看出,卷烟主流烟气中巴豆醛释放量与

烤烟类型关系不大,与卷烟的焦油量有关,焦油量高的卷烟一般情况下主流烟气中巴豆醛释放量也高,低焦油卷烟巴豆醛含量较低(如7#卷烟)。

### 3 结 论

本文建立了卷烟主流烟气中巴豆醛(国家烟草专卖局确定的7种有害成分之一)的准确测定方法,优化了前处理条件,与最新的文献报道方法<sup>[7]</sup>进行了比较,并应用该方法测定了国内7个不同品牌卷烟主流烟气中的巴豆醛含量。结果显示,本文方法具有简单、灵敏、准确等特点,对于相同的卷烟样品,该方法下测出的巴豆醛含量均高于使用文献报道方法<sup>[7]</sup>测出的结果。本方法适用于卷烟主流烟气中巴豆醛的准确测定。

### 参考文献:

- [1] 国家环境保护局有毒化学品管理办公室. 化学品毒性法规环境数据手册[M]. 北京:中国环境科学出版社, 1992.
- [2] Hoffmann D. Tobacco smoke components. Bei Zur Tab Int, 1998, 23(1): 49-52.
- [3] 谢剑平. 降低卷烟烟气中有害成分的技术研究[C]// 卷烟烟气分析、卷烟纸、醋纤丝束共同实验暨检测技术国际研讨会资料汇编, 2003, 1-33.
- [4] Miyake ,Takashi ,Yashuhara ,et al , Gas Chromatographic analysis of acrolein as 1 - methyl - 2 - pyrazoline in cigarette smoke[J]. Kankyo Kagaku ,1995 ,5 (3) :569-73.
- [5] DONG Ji-zhou , Serbanc Moldoveanu. Gas chromatography - mass spectrometry of carbonyl compounds in cigarette mainstream smoke after derivation with 2,4 - dinitrophenylhydrazine[J]. Journal of chromatography , 2004 ,1027:25-35.
- [6] 谢复炜,吴鸣,王升,等. 卷烟主流烟气中主要羰基化合物的改进分析方法[J]. 中国烟草学报, 2006, 12 (5) :15-24.
- [7] 黄云,王裔耿,缪明,等. 快速分离柱高效液相色谱法测定卷烟主流烟气中的主要羰基化合物[J]. 色谱, 2007 ,25 (2) :230-233.
- [8] 徐济仓,候英,杨式华,等. 高效液相色谱法测定卷烟主流烟气中的低分子醛酮类化合物[J]. 环境化学, 2006 ,25 (6) :678-682.

## Determination of crotonaldehyde in mainstream smoke by high performance liquid chromatography

ZHANG Huai-hui<sup>1,2</sup>, YANG Shi-hua<sup>2</sup>, XU Ji-cang<sup>2</sup>, CAO Qiu-e<sup>1</sup>

(1. School of Chemistry Science and Engineering, Yunnan University, Kunming 650091, China;

2. Yunnan Reascend Tobacco Technology (Group) Co. Ltd, Kunming 650106, China)

**Abstract:** The determination of crotonaldehyde in mainstream smoke by high performance liquid chromatography was investigated. The cigarette smoke was collected using a Cambridge filter treated with acidic solution of 2,4 - dinitrophenylhydrazine. Crotonaldehyde - DNPH was extracted from the Cambridge filter with 25 mL of 2 % pyridine acetonitrile solution. Crotonaldehyde - DNPH in samples was separated on Nova-pak C<sub>18</sub> column (waters 3.9 mm × 15 mm, 4.5 μm) and determined by diode array detector at 365 nm. The detection limit was 10 μg L<sup>-1</sup>, the recovery was 97.76 %, the relative standard deviation (RSD) was 2.93 %, the linear range was 0.64—10.22 μg mL<sup>-1</sup> and the correlation coefficient ( $R^2$ ) was 0.999 9. The method is simple, sensitive and accurate. Seven brands of cigarette were determined and the results were content.

**Key words:** crotonaldehyde; mainstream smoke; 2,4 - dinitrophenylhydrazine; high performance liquid chromatography

\* \* \* \* \*

(上接第 304 页)

## Corrosion inhibition of *Neosinocalamus affinis* leaves extractive for steel in HCl solution

LI Xiang-hong, FU Hui, XIAO Xu-ping

(Department of Fundamental Courses, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China)

**Abstract:** Solid extractive from *Neosinocalamus affinis* leaves was investigated as an excellent environmentally - friendly plant inhibitor. The inhibition effect of the plant extractive on the corrosion of cold rolled steel (CRS) in 1.0 mol/L HCl has been studied by weight loss and Tafel polarization methods. The results show that the *Neosinocalamus affinis* leaves extractive is a good inhibitor in three mineral acids for CRS, and the adsorption of the plant inhibitor on the CRS surface follows the Langmuir adsorption isotherm equation. Polarization curves show that the plant inhibitor is a mixed - type inhibitor in hydrochloric acid. The experimental data have been treated with Van't Hoff and Arrhenius equations. The adsorption heat  $H^0$  and apparent activation energy  $E_a$  are also calculated, and the inhibitive mechanism is discussed in detail according to the parameters.

**Key words:** steel; acid; *Dendrocalamus latifcorus Munro*; inhibitor; adsorption