ICS 67.060

X 28

|  |
| --- |
|  |

DB45

广西壮族自治区地方标准

DB 45/T XXXXX—XXXX

|  |
| --- |
|  |

烟叶表面高级脂肪烃的测定

气相色谱质谱法

Determination of long chain aliphatic hydrocarbon in Tobacco leaf surface by GC/MS

|  |
| --- |
|  |
|  |

XXXX - XX - XX发布

XXXX - XX - XX实施

广西壮族自治区市场监督管理局  发布

前  言

本标准按照GB/T 1.1—2009《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写》给出的规则起草。

本标准由广西烟叶标准化技术委员会提出。

本标准起草单位：广西中烟工业有限责任公司。

本标准主要起草人：。

烟叶表面高级脂肪烃的测定 气相色谱质谱法

1. 范围

本标准规定了烟叶表面高级脂肪烃的气相色谱质谱测定方法。

本标准适用于烟叶表面中高级脂肪烃的测定。

1. 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法。

YC/T 31 烟草及烟草制品 试样的制备和水分测定 烘箱法

1. 原理

试样干燥粉碎过筛后，经二氯甲烷超声提取，用硅胶固相萃取柱净化，气相色谱-质谱联用法进行测定，内标法定量。

1. 试剂与材料

以下所用的试剂，除特别注明外均为分析纯试剂，水为符合GB/T 6682规定的一级水。

正己烷：色谱纯。

二氯甲烷：色谱纯。

高级脂肪烃，纯度≥98 %，参见附录A。

n-C30D62（内标）:100 μg/mL。准确称量C30D62 0.1 g，用正己烷溶解定容至1000 mL。

* 1. 标准溶液
     1. 标准储备液

分别准确称取各种高级脂肪烃标准样品（精确至0.0001 g）（4.3），用正己烷（4.1）配制标准储备液。标准储备液各物质浓度均为1000 μg/mL，于0 ℃～4 ℃条件下避光保存，有效期6个月。

* + 1. 标准工作溶液

分别移取一定体积的标准储备液（4.5.1），准确加入内标溶液（4.4）后，使用正己烷（4.1）稀释定容，配制浓度为5.0、10.0、20.0、50.0、100.0、500.0 μg/mL的各高级脂肪烃系列标准溶液，内标浓度为50 μg/mL，于0 ℃～4 ℃条件下避光保存，有效期3个月。

1. 仪器与设备

气相色谱-质谱联用仪：具有选择离子监测功能。

分析天平：感量0.01 mg。

超声波清洗器：超声功率不低于420W。

Si固相萃取小柱，500 mg。

有机相滤膜，0.45 μm。

氮吹仪。

烘箱，鼓风式，控温精度±1 ℃，温度均匀度±1 ℃。

粉碎机

筛网孔径0.45 mm（40目）

硅胶干燥器

1. 试样制备与保存

烟叶样品用软毛刷刷去烟叶上的细土和沙粒，去梗，将烟叶剪成片或切成丝，在烘箱（5.7）中于40 ℃下干燥4 h，用粉碎机（5.8）将其粉碎，过40 目筛（5.9），取有代表性样品，装入洁净干燥容器中，密封保存。

水分的测定参见YC/T 31。

1. 测定步骤
   1. 试样处理

准确称取试样1 g（精确至0.1mg），加入内标溶液（4.4）500 μL，加入40 mL二氯甲烷（4.2），超声（5.3）提取40 min，合并二氯甲烷提取液，氮吹（5.6）至0.5 mL，过固相萃取小柱（5.5），用正己烷（4.1）洗脱，共分2 次，每次用量1.5 mL，洗脱液经氮吹（5.6）至 1 mL左右，过滤膜（5.5），进GC/MS分析。

* 1. 测定
     1. 色谱条件

色谱柱：非极性弹性毛细管柱或等效柱，30 m×0.25 mm×0.25 μm，固定相（推荐）：（5 %苯基）-甲基聚硅氧烷。

进样口温度：280 ℃。

载气：氦气（纯度≥99.999 %），恒流流速：1.0 mL/min。

进样量：1 μL，分流进样（分流比为10:1）。

升温程序：初始温度35 ℃，保持2 min，以5 ℃/min的速率升至200 ℃；再以2 ℃/min的速率升至250 ℃；然后以5 ℃/min的速率升至320 ℃保持10 min。

* + 1. 质谱条件

传输线温度：320 ℃。

电离方式：电子轰击源（EI）。

电源能量：70 eV。

电离源温度：300 ℃，四级杆温度：150 ℃。

质谱扫描方式：选择离子监测（SIM），各化合物定量及定性离子参见附录A。

溶剂延迟：4 min。

* 1. 标准工作曲线的制作

按照GC/MS测试条件分别分析标准工作溶液（4.5.2），横坐标为各高级脂肪烃峰面积与内标物峰面积比值，纵坐标为各高级脂肪烃的浓度和内标物浓度的比值，建立标准工作曲线，工作曲线线性相关系数R2﹥0.99。标准工作溶液色谱图示例参见附录B中图B.1。

* 1. 样品测定

按照GC/MS测试条件测定试样（7.1），每个试样平行测定两次。同时每批样品做一组空白。典型样品色谱图示例可参见附录B中图B.2。

1. 定性确证

在7.2仪器条件下，试样待测液和标准品的选择离子色谱峰在相同保留时间处（±0.05min）出现，并且对应质谱碎片离子的质荷比与标准品一致。各高级脂肪烃的保留时间、定性离子和定量离子参见附录A。

1. 结果计算和表达

每个高级脂肪烃对内标物的相对响应因子按式（1）计算：

** ………………………（1）

式中：

*f* —— 每个高级脂肪烃对内标物的相对响应因子；

*AIS* —— 标准工作溶液中内标物的峰面积或峰高；

*ci* —— 标准工作溶液中高级脂肪烃*i*的浓度，单位为微克每毫升（μg/mL）；

*Ai* —— 标准工作溶液中高级脂肪烃*i*的峰面积或峰高；

*cIS* —— 标准工作溶液中内标物的浓度，单位为微克每毫升（μg/mL）；

以干基计高级脂肪烃的含量，以毫克每千克（mg/kg）表示，按式（2）计算：

** …………………………（2）

式中：

 —— 试样中高级脂肪烃的含量，单位为毫克每千克，mg/kg；

*A* —— 试样洗脱液中高级脂肪烃*i*的峰面积或峰高；

*mIS* —— 试样中内标物的质量，单位为微克（μg）；

*f* —— 高级脂肪烃对内标物的相对响应因子；

*AS* —— 试样中内标物的峰面积或峰高；

*m* —— 试样的质量，单位为克（g）。

 —— 试样的水分含量，%（质量分数）。

以两次平行测定结果的算术平均值为最终测定结果，精确至0.1 mg/kg。

1. 方法的检出限、定量限

本方法的检出限和定量限结果如表1所示。

表1 英文名称、CAS号、检出限和定量限

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 序号 | 中文名称 | 英文名称 | CAS号 | 检出限(mg/kg) | 定量限(mg/kg) |
| 1 | 正二十七烷 | n-heptacosane | 593-49-7 | 0.019 | 0.064 |
| 2 | 正二十八烷 | n-octacosane | 630-02-4 | 0.015 | 0.049 |
| 3 | 正二十九烷 | n-nonacosane | 630-03-5 | 0.015 | 0.056 |
| 4 | 正三十烷 | n-triacontane | 638-68-6 | 0.015 | 0.056 |
| 5 | 正三十一烷 | n-hentriacontane | 630-04-6 | 0.015 | 0.056 |
| 6 | 正三十二烷 | n-dotriacontane | 544-85-4 | 0.019 | 0.056 |
| 7 | 正三十三烷 | n-tritriacontane | 630-05-7 | 0.015 | 0.049 |
| 8 | 内标（C30D62） | Triacontane-d62 | 93952-07-9 | / | / |

1. 试验报告

试验报告应说明：

——样品编号和样品信息；

——参照本标准所使用的试验方法；

——测定结果，包括各单次测定结果及其平均值；

——在本标准规定的分析步骤的差异；

——在试验中观察到的异常现象；

——试验日期；

——测定人员。

1. （规范性附录）  
   高级脂肪烃及内标物信息

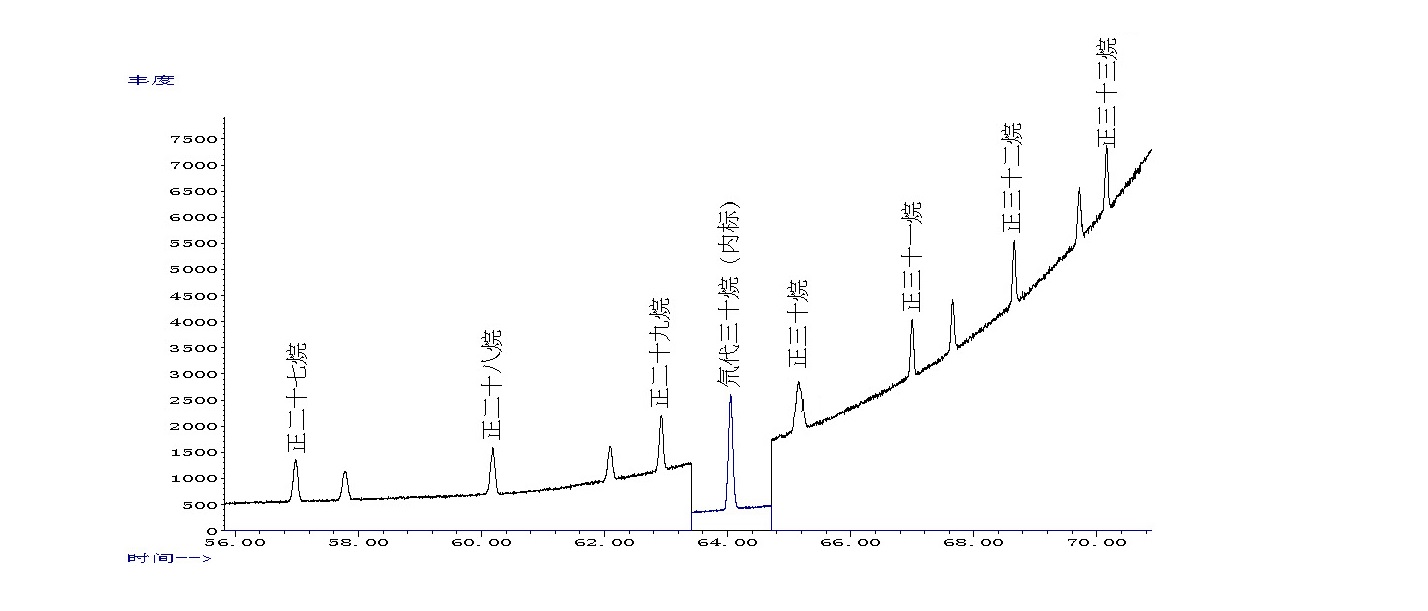
高级脂肪烃及内标物信息见表B.1。

* 1. 高级脂肪烃及内标物的保留时间及定量定性离子

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 序号 | 化合物名称 | 保留时间（min） | 定量离子（m/z） | 定性离子（m/z） |
| 1 | 正二十七烷 | 56.98 | 197 | 239、225、267 |
| 2 | 正二十八烷 | 60.18 | 197 | 225、239、267 |
| 3 | 正二十九烷 | 62.94 | 197 | 225、239、267 |
| 4 | 正三十烷 | 65.21 | 197 | 225、239、267 |
| 5 | 正三十一烷 | 67.00 | 197 | 225、239、267 |
| 6 | 正三十二烷 | 68.66 | 197 | 253、239、267 |
| 7 | 正三十三烷 | 70.15 | 197 | 253、127、281 |
| 8 | 氘代三十烷 | 64.05 | 242 | 258、46、281 |

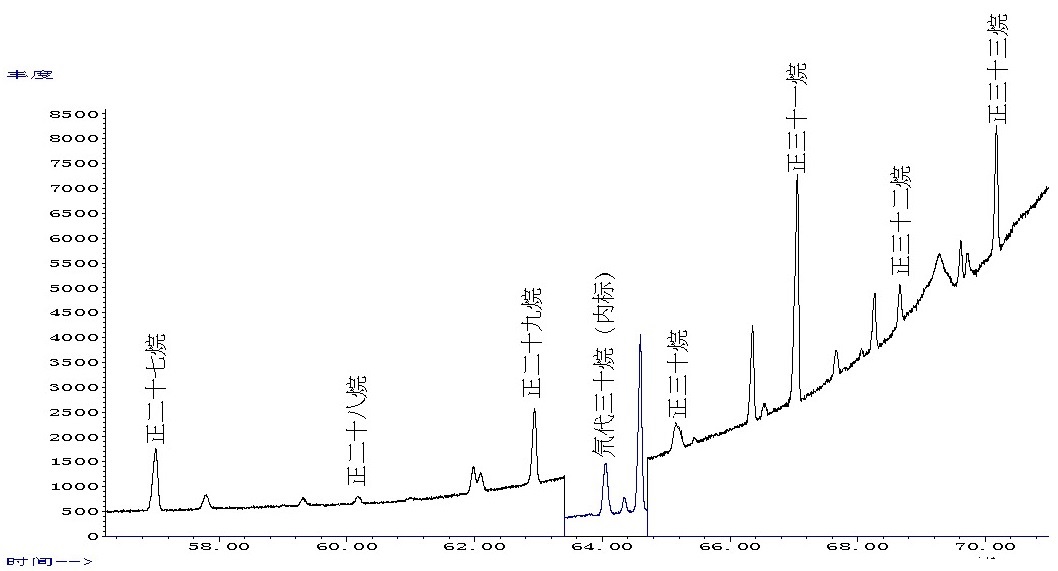
1. （资料性附录）  
   色谱图示例
   1. 标准工作溶液选择离子色谱示例图

标准工作溶液选择离子色谱图如图B.1所示。



* 1. 标准工作溶液选择离子色谱图
  2. 典型样品选择离子色谱图示例图

典型样品选择离子色谱图如图B.2所示。



* 1. 典型样品选择离子色谱图

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_