

超声雾化萃取大气压光电离质谱法 快速分析烟草化学成分

赵婉¹, 王健², 戚可可¹, 胡永华², 吴刘天¹, 刘成园¹, 潘洋¹

(1. 中国科学技术大学国家同步辐射实验室, 安徽 合肥 230029;

2. 安徽中烟工业有限责任公司技术中心, 安徽 合肥 230088)

摘要:随着烟草工业的发展,对烟草样品进行快速、准确和高灵敏度地分析检测已经成为烟草化学发展的必然趋势和产品研发的现实需求。本工作利用超声雾化萃取大气压光电离质谱(EAPPI-MS)技术,无需样品预处理和色谱分离,对1R5F、3R4F、都宝、七星和王冠5种卷烟烟丝中的化学成分进行直接、快速分析,鉴别出醇、酮、酸、酯、醛、酚、生物碱、氨基酸和萜类等46种物质。与传统的电喷雾电离液相色谱-质谱(LC-ESI-MS)法相比,EAPPI-MS具有无极性歧视、受基质效应影响小等优点,可检测出更加丰富的化学成分。经实验优化后,选取二氯甲烷-甲醇溶液(2:3,V/V)为萃取溶剂,分别分析了5种卷烟烟丝中的主要生物碱、有机酸和酚类的相对含量,并研究了相对含量的差异与烟草品质之间的相关性。根据获取的EAPPI-MS质谱图,借助主成分分析法(PCA)对5种不同种类的卷烟烟丝实现了快速区分。该测试过程简单快速、定性定量准确,可用于烟叶和各种烟草制品化学成分的快速批量化测定。

关键词:萃取;大气压光电离质谱;烟草;化学成分

中图分类号:O657.63;TS411.2

文献标志码:A

文章编号:1004-2997(2021)03-0271-14

doi:10.7538/zpxb.2020.0057

Rapid Analysis of Chemical Components of Tobacco by Extractive Atmospheric Pressure Photoionization Mass Spectrometry

ZHAO Wan¹, WANG Jian², QI Ke-ke¹, HU Yong-hua², WU Liu-tian¹,

LIU Cheng-yuan¹, PAN Yang¹

(1. National Synchrotron Radiation Laboratory,

University of Science and Technology of China, Hefei 230029, China;

2. Center of Technology, China Tobacco Anhui Industrial Co., Ltd., Hefei 230088, China)

Abstract: With the development of the tobacco industry, rapid, accurate, and high sensitive analysis of tobacco samples has become an inevitable trend and a practical need for the development of the tobacco industry. In this paper, extractive atmospheric pressure

收稿日期:2020-05-18;修回日期:2020-07-31

基金项目:安徽中烟工业有限责任公司科技计划项目(2017044)资助

作者简介:赵婉(1993—),女(汉族),河南南阳人,硕士研究生,分析化学专业。E-mail: zw33211@mail.ustc.edu.cn

通信作者:潘洋(1976—),男(汉族),安徽蚌埠人,研究员,从事光电离质谱研究。E-mail: panyang@ustc.edu.cn

胡永华(1971—),男(汉族),安徽安庆人,高级工程师,从事烟草化学研究。E-mail: huhy@mail.ustc.edu.cn

photoionization mass spectrometry (EAPPI-MS) was used to directly and rapidly analyze the chemical components in 5 kinds of tobacco products including 1R5F, 3R4F, Derby, Seven Stars, and Wang Guan. This method did not require sample pretreatment and chromatography separation. The whole detection took only one minute for one sample. 46 kinds of chemical components in tobacco including alcohols, ketones, acids, esters, aldehydes, phenols, alkaloids, amino acids, and terpenoids were identified. Compared with the traditional electrospray ionization (ESI), EAPPI has the advantages of nopolar discrimination and higher tolerance to the complex matrix. More than this, more chemical components can be detected by EAPPI-MS than liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry (LC-ESI-MS). After comparing the extraction capacity of extraction solvents with different polarities, dichloromethane-methanol (2 : 3, V/V) showed a higher extraction effect, which was selected as the optimized extraction solvent. Under optimized parameters, the relative contents of the main alkaloids, organic acids, and phenols in the 5 kinds of tobacco products were analyzed using EAPPI-MS, respectively. Meanwhile, the correlation between the relative contents of tobacco chemicals and tobacco quality was discussed. Overall, different types of tobacco products were unique because of their unique chemical contents. Among these three commercial tobaccos, Derby and Seven Stars were more flavored than Wang Guan. According to the obtained mass spectra of m/z 50-350 using EAPPI-MS, the 5 kinds of tobacco products could be rapidly distinguished using principal component analysis (PCA). EAPPI-MS provides a simple, rapid, and accurate qualitative and quantitative analysis for tobacco chemicals. This method can be used for rapid batch test of chemical components in tobacco leaves and various tobacco products.

Key words: extraction; atmospheric pressure photoionization mass spectrometry (APPI-MS); tobacco; chemical components

烟草作为一种重要的农业产品,化学成分丰富,除含有纤维素、半纤维素、果胶和木质素等生物聚合物外,还有许多生物碱、有机酸类、酚类、酮类、酯类、醚类等非聚合物成分和无机化合物,这些化学成分不仅决定了烟草的外观特征和内在品质,还与烟草制品的口感、刺激性、香气等吸食品质直接相关^[1-6]。因此,对烟草化学成分的分析是一项十分重要的基础性研究工作,也是构筑烟草制品核心技术的关键之一。随着烟草工业的发展,产品研发与维护、质量评价以及工艺研究等均需要以烟草成分的快速、准确分析为基础。

气相色谱(GC)^[7-8]和液相色谱(LC)^[9-10]等色谱分析方法是烟草化学成分分析的重要技术手段,在烟草行业发挥着重要作用,但其分析步骤繁琐,包括待测组分的提取、分离、富集、衍生化等复杂的前处理过程,而

且色谱分析耗时^[7,11-14]。因此,色谱法难以满足烟草行业快速批量化测定烟草化学成分的现实需求。为了克服色谱法的缺点,近红外光谱作为一种快速、无损的分析方法,已经成功地应用于烟草化学成分的快速分析和研究中^[15-17]。然而,使用近红外光谱法分析待测样品前,需要使用大量有代表性的、化学成分含量已知的样品建立模型。由于仪器状态的改变或标准样品的变化,模型需不断更新,而且不同仪器的模型也不相同,这限制了该方法的使用。

在分析化学领域,质谱作为一种普适的、快速的分析手段,具有高灵敏度、高特异性的优点。但是,传统的质谱分析技术常需要与色谱技术相结合才能获得较好的分析测试结果,如气相色谱-质谱(GC-MS)技术^[18-21]和液相色谱-质谱(LC-MS)技术^[22-26]。为得到较高的检测

灵敏度,色谱-质谱联用法依旧无法完全避免提取、分离、富集、衍生化等各种预处理操作,存在操作繁复、耗时等不足。而且 GC-MS 常使用能量 70 eV 的电子轰击电离源(EI),会产生大量的碎片离子,在分析烟草样品等复杂体系时,质谱图较复杂,解析难度较大。常用于 LC-MS 的电喷雾电离源(ESI)仅对极性物质具有较高的电离效率,且受基质效应的影响较大。大气压光电离子源(APPI)是一种由光诱导待测物分子电离的常压软电离技术,与传统的 ESI 离子源相比,APPI 对待测物没有极性歧视,尤其适合 ESI 难以直接电离的各类弱极性和非极性物质的检测,且受基质效应的影响较低^[27-30]。目前,APPI 作为 GC-MS 或 LC-MS 的电离源,已经成功应用于食品、环境、医药和生物等领域的分析研究^[31-35]。此外,有一些研究围绕 APPI 质谱分析技术本身,在不进行色谱分离的情况下直接对待测物进行分析,集样品制备与分析于一体,适合各种复杂体系的快速分析^[36-38]。超声雾化萃取大气压光电离子质谱(EAPPI-MS)是基于 APPI 发展起来的一种新型快速质谱分析技术^[37],该方法利用压电陶瓷片产生的高频振荡,可使复杂基质中的化学成分被快速萃取至溶剂中,含有待分析物的溶剂随即被超声波雾化后进入大气环境,被真空紫外放电灯发出的光(氪灯,光子能量 10.6 eV)电离,产生的离子随后被质谱仪检测和记录。EAPPI-MS 在工作过程中无需对待测物进行分离、富集、衍生化等预处理操作,具有快速、操作简单和灵敏度高等特点。本课题组在前期研究中已成功利用 EAPPI-MS 技术实现了对天然产物、药物、重油、土壤中化学成分的快速分析,并开展了土壤多环芳烃类的定量方法^[37-38]。

本工作拟利用 EAPPI-MS 分析平台对 1R5F、3R4F、都宝、七星和王冠 5 种卷烟烟丝中的醇、酮、酯、醛、酚、酸、生物碱、氨基酸和萜类化合物进行快速全面分析,希望建立一种烟草化学成分快速、准确、高灵敏度的分析方法。

1 实验部分

1.1 主要仪器与装置

LTQ-Orbitrap 高分辨质谱仪、Acclea 1250

高效液相色谱仪;美国 Thermo Fisher 公司产品;402AI 超声雾化器;鱼跃医疗设备供应有限公司产品;PKS106 真空紫外放电灯;德国 Heraeus 公司产品;超纯水仪;美国 Millipore 公司产品;电子天平(千分之一);瑞士 Mettler Toledo 公司产品;KQ-500E 型超声清洗机;昆山超声仪器有限公司产品;离心机;上海迈卓科学仪器有限公司产品;注射器(500 μ L);瑞士 Hamilton 公司产品。

1.2 主要材料与试剂

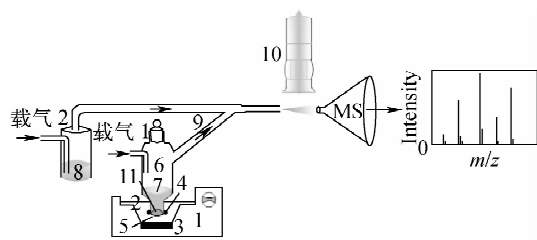
实验用卷烟材料分别为 1R5F、3R4F 标准卷烟和七星、都宝、王冠成品卷烟,均由安徽中烟工业有限责任公司提供。实验前,将卷烟纸和烟丝分离,获得相应的烟丝,每次测试均称取 10 mg 烟丝样品。

甲醇、二氯甲烷、甲苯和甲酸等试剂(HPLC 级);购自美国 J. T. Baker 公司;超纯水:由美国 Milli-Q 超纯水系统制备;液氮(99.8%);购自南京特种气体厂。所有试剂均直接使用,未做进一步纯化处理。

1.3 实验条件

1.3.1 实验装置 实验装置结构示意图示于图 1。该装置主要由超声雾化萃取系统、真空紫外灯和高分辨质谱仪组成^[37]。超声雾化萃取系统包括超声雾化器、超声雾化池和掺杂剂鼓泡器。其中,超声雾化器内部装有超声换能器和耦合水(超纯水),超声换能器工作频率为 $1.7 \text{ MHz} \pm 10\%$;超声雾化池(内径 16 mm,高 55 mm)上部的侧壁上分别设置有载气 1 流入管(内径 2 mm,长 15 mm,深 25 mm)和样品传输管(内径 6 mm,外径 9 mm,长 60 mm),底部用由“O”形圈固定的聚乙烯膜包裹,并置于耦合水中;掺杂剂鼓泡器的侧壁上设置有载气 2 流入管(内径 2 mm,长 15 mm,深 35 mm),顶部设置有与样品传输管相汇合的载气 2 流出管(内径 6 mm,外径 9 mm,长 180 mm),且两管汇合后的传输管出口逐渐缩小至内径为 1.5 mm。真空紫外灯垂直置于汇合传输管与质谱仪接口之间。当打开超声雾化器的工作电源后,超声雾化池中的样品溶液将吸收由超声换能器传递过来的能量,然后雾化成气溶胶,并在载气 1 的帮助下流经样品传输管,并与由载气 2 携带的

气相掺杂剂在传输管汇合处混合,然后进入光电离区域,从而实现掺杂剂辅助的大气压光电离,电离产生的离子随后被质谱检测。由于在大气压下,溶剂与空气都会吸收大量的紫外光,直接光电离的效率很低;而气相掺杂剂(本研究采用甲苯作为掺杂剂)吸收紫外光子能力强,光电离截面大,很容易被电离,并通过电子转移或质子交换反应使样品分子电离,因此使用掺杂剂可以大大提高被分析物的光电离效率。实验过程中,载气1和载气2的流速分别设定为80 mL/min和60 mL/min;样品传输管和载气2流出管使用加热丝加热,且温度均设定为320 ℃,以保证雾化小液滴能在传输管中被充分气化。



注:1. 超声雾化器;2. 耦合水;3. 超声换能器;4. “O”形圈;
5. 聚乙烯薄膜;6. 超声雾化池;7. 萃取溶剂;
8. 掺杂剂鼓泡器;9. 样品传输管;10. 真空紫外灯

图1 超声雾化萃取大气压光电离质谱装置示意图

Fig.1 Schematic setup of EAPPI-MS

1.3.2 EAPPI-MS 分析 先将4 mL不同极性萃取溶剂(甲醇:水=3:1,甲醇,二氯甲烷:甲醇=1:4或二氯甲烷:甲醇=2:3,V/V)加入超声雾化池中,然后投入10 mg烟丝,开启超声雾化器,被雾化的待分析物经真空紫外灯光电离后,进行质谱检测。自超声雾化器开启,连续采集信号60 s,获得平均质谱图。质谱的毛细管温度为275 ℃,毛细管电压为35 V,采集范围为 m/z 50~350,采集速率为1 scan/s,分辨率为60 000 FWHM。质谱的定性分析采用准确相对分子质量(相对偏差的绝对值 $<8 \times 10^{-6}$)、同位素丰度并结合相关文献。为了通过质谱图区分不同类型的烟草制品,将测试得到的质谱数据导入MATLAB软件,进行主成分分析(PCA)。每次测试样品前后均对溶剂进行测试作为背景信号,在样品数据分析前,均先扣

除背景信号。

1.3.3 LC-ESI-MS 分析 为了比较EAPPI-MS与传统LC-ESI-MS的分析能力,取10 mg烟草样品,加入4 mL萃取溶剂,使用超声清洗机超声1 min后,以9 000 r/min离心5 min,取100 μ L上层清液,由高效液相色谱泵进样,然后进行LC-ESI-MS分析。

色谱柱:Accucore Vanquish C18柱(100 mm $\times$ 2.1 mm $\times$ 1.5 μ m);流动相:A为甲醇,B为0.1%甲酸水溶液(体积比);流速为200 μ L/min;柱温为30 ℃;进样量为5 μ L;等度洗脱3 min,流动相配比为90%A-10%B;ESI离子源正离子模式;喷雾电压为3 500 V;气化温度为150 ℃。

2 结果与讨论

2.1 烟草化学成分定性分析结果

首先利用EAPPI-MS方法获得5种卷烟烟丝的质谱图,并对烟草中主要成分的质谱峰进行定性分析。七星卷烟烟丝经超声雾化萃取60 s后,得到的光电离质谱图示于图2(背景信号已扣除)。由于APPI是软电离源,碎片离子很少,因此图2中质谱信号主要是待测物的分子离子峰 M^+ 或准分子离子峰 $[M+H]^+$ [39-40]。

通过查找“中国烟草科学技术数据库”,将EAPPI-MS测试获得的高分辨质谱图中的质荷比(m/z)与特定物质的理论 m/z 进行比对,计算得出相对质量偏差:

$$\text{相对质量偏差}(\times 10^{-6}) = \frac{[(\text{测试 } m/z - \text{理论 } m/z) / \text{理论 } m/z] \times 10^6}{(1)}$$

将相对质量偏差的绝对值低于8 ppm的结果列于表1,使用相对质量偏差代表质量精确度。通过分析和比对,推测和鉴别出醇、酮、酯、醛、酚、酸、生物碱、氨基酸和萜类等46种化合物,基本涵盖了大部分常见的烟草化学成分类别,表明EAPPI-MS对烟草化学成分的定性分析结果具有一定的代表性。除此之外,通过EAPPI-MS获得了其他4种卷烟的质谱图。从质谱图上看,各卷烟制品的质谱峰种类相似,其差异主要表现在化学成分的信号强度上。

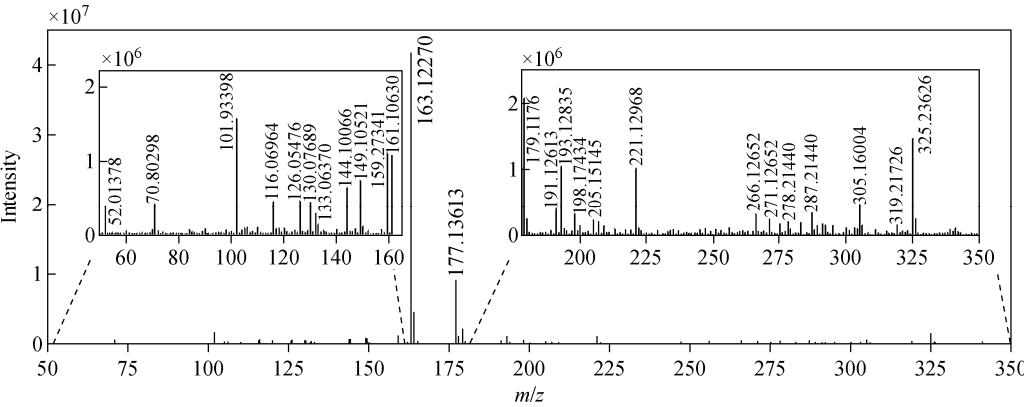


图 2 七星卷烟烟丝的 EAPPI-MS 质谱图

Fig. 2 Mass spectra of Seven Stars using EAPPI-MS

表 1 EAPPI-MS 检测 5 种卷烟烟丝得到的质谱峰定性结果

Table 1 Qualitative results of 5 kinds of tobaccos using EAPPI-MS

类别 Category	测试值 Measured value(m/z)	理论值 Theoretical value(m/z)	分子式 Molecular formula	化合物名称 Compound	离子类别 Ion category	质量精确度 Quality accuracy/10 ⁻⁶
醇类	135.1008	135.1016	C ₆ H ₁₄ O ₃	二丙二醇	[M+H] ⁺	—6.2200
	90.0908	90.0913	C ₄ H ₁₁ NO	二甲氨基乙醇	[M+H] ⁺	—5.6609
	137.0959	137.0961	C ₉ H ₁₂ O	3-苯丙醇	[M+H] ⁺	—1.0212
酮类	143.0807	143.0815	C ₆ H ₁₀ N ₂ O ₂	3,6-二甲基-2,5-哌嗪二酮	[M+H] ⁺	—5.8700
酯类	126.0542	126.0550	C ₆ H ₇ NO ₂	2-吡咯甲酸甲酯	[M+H] ⁺	—6.3500
	197.1525	197.1536	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	乙酸冰片酯/乙酸香叶脂/乙酸 橙花酯/乙酸松油酯/乙酸 芳樟酯/乙酸异龙脑酯	[M+H] ⁺	5.4779
醛类	251.1993	251.2006	C ₁₆ H ₂₆ O ₂	香紫苏内酯	[M+H] ⁺	4.8567
	108.0438	108.0444	C ₆ H ₅ NO	吡啶-2-甲醛	[M+H] ⁺	—5.7400
酚类	95.0485	95.0491	C ₆ H ₆ O	苯酚	[M+H] ⁺	—5.7865
	109.0641	109.0648	C ₇ H ₈ O	甲酚	[M+H] ⁺	—6.0500
	121.0641	121.0648	C ₈ H ₈ O	乙烯基苯酚	[M+H] ⁺	—5.4516
	123.0797	123.0804	C ₈ H ₁₀ O	二甲酚	[M+H] ⁺	—5.3600
	125.0589	125.0597	C ₇ H ₈ O ₂	愈创木酚	[M+H] ⁺	—5.9200
	127.0382	127.0390	C ₆ H ₆ O ₃	焦棓酚	[M+H] ⁺	—6.3760
	137.0959	137.0961	C ₉ H ₁₂ O	2-丙基苯酚	[M+H] ⁺	—1.0212
	165.0900	165.0910	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	丁香酚	[M+H] ⁺	—5.9967
生物碱	137.0701	137.0709	C ₇ H ₈ N ₂ O	2-乙酰基-3-甲基吡嗪	[M+H] ⁺	—5.6176
	137.1066	137.1073	C ₈ H ₁₂ N ₂	3-乙基-2,5-甲基吡嗪	[M+H] ⁺	—5.3243
	147.0908	147.0917	C ₉ H ₁₀ N ₂	麦斯明	[M+H] ⁺	—5.9100
	149.1065	149.1073	C ₉ H ₁₂ N ₂	降烟碱	[M+H] ⁺	—5.300
	157.0752	157.0760	C ₁₀ H ₈ N ₂	2,3'-联吡啶/2,3-二吡啶	[M+H] ⁺	—4.9700
	159.0909	159.0917	C ₁₀ H ₁₀ N ₂	二烯烟碱	[M+H] ⁺	—5.100
	161.1065	161.1073	C ₁₀ H ₁₂ N ₂	去氢新烟碱	[M+H] ⁺	—4.7800
	163.1219	163.1229	C ₁₀ H ₁₄ N ₂	烟碱	[M+H] ⁺	—6.0700
	175.1220	175.1230	C ₁₁ H ₁₄ N ₂	N-甲基去氢新烟碱	[M+H] ⁺	—5.6500
	179.1168	179.1179	C ₁₀ H ₁₄ N ₂ O	(2'S)-尼古丁氧化物	[M+H] ⁺	—5.6900

续表 1

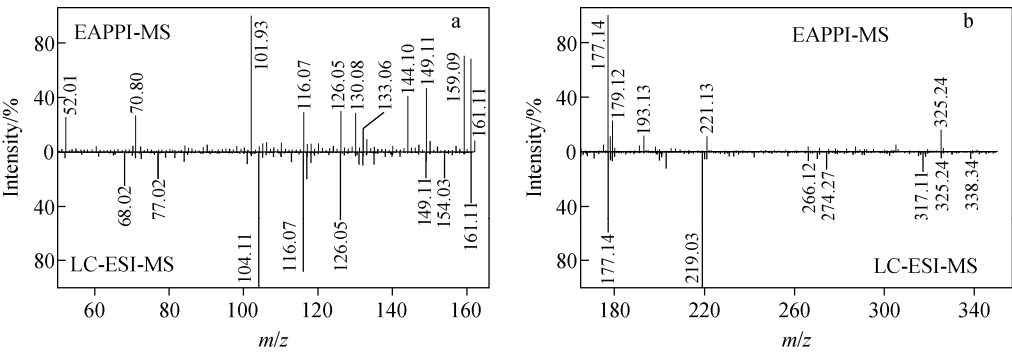
类别 Category	测试值 Measured value(<i>m/z</i>)	理论值 Theoretical value(<i>m/z</i>)	分子式 Molecular formula	化合物名称 Compound	离子类别 Ion category	质量精确度 Quality accuracy/ 10^{-6}
氨基酸	116.0699	116.0706	C ₅ H ₉ NO ₂	脯氨酸	[M+H] ⁺	-5.8600
	118.0855	118.0863	C ₅ H ₁₁ NO ₂	缬氨酸	[M+H] ⁺	-6.4360
	132.1011	132.1019	C ₆ H ₁₃ NO ₂	异亮氨酸	[M+H] ⁺	-6.0559
	148.0596	148.0604	C ₅ H ₉ NO ₄	谷氨酸	[M+H] ⁺	-5.5383
	156.0761	156.0768	C ₆ H ₉ N ₃ O ₂	组氨酸	[M+H] ⁺	-4.2928
	176.0907	176.0917	C ₇ H ₁₃ NO ₄	谷酰胺	[M+H] ⁺	-5.4500
	180.1008	180.1019	C ₁₀ H ₁₃ NO ₂	苯丙氨酸	[M+H] ⁺	-5.8300
	155.1422	155.1430	C ₁₀ H ₁₈ O	芳樟醇	[M+H] ⁺	5.4144
萜类	171.1369	171.1380	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	氧化芳樟醇	[M+H] ⁺	6.0769
	195.1733	195.1743	C ₁₃ H ₂₂ O	香叶基丙酮	[M+H] ⁺	5.3286
	263.2355	263.2369	C ₁₈ H ₃₀ O	金合欢基丙酮	[M+H] ⁺	5.5084
	129.0651	129.0659	C ₅ H ₈ N ₂ O ₂	环(甘氨酸- <i>L</i> -丙氨酸)	[M+H] ⁺	-6.1984
酰胺类	143.0807	143.0815	C ₆ H ₁₀ N ₂ O ₂	丙氨酸酐	[M+H] ⁺	-5.8708
	279.2305	279.2319	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	亚麻酸	[M+H] ⁺	-5.1600
酸类	303.2304	303.2295	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	亚油酸	[M+Na] ⁺	2.8700
	112.0502	112.0505	C ₄ H ₅ N ₃ O	胞嘧啶	[M+H] ⁺	-3.0344
碱基	99.0911	99.0917	C ₅ H ₁₀ N ₂	二甲氨基丙腈	[M+H] ⁺	-6.4587
脂类	98.0595	98.0600	C ₅ H ₇ NO	3,5-二甲基异唑	[M+H] ⁺	-5.6100
	132.0799	132.0808	C ₉ H ₉ N	3-甲基吡啶	[M+H] ⁺	-6.1300
	146.0593	146.0600	C ₉ H ₇ NO	8-羟基喹啉	[M+H] ⁺	-5.0700

2.2 EAPPI-MS 和 LC-ESI-MS 方法的比较

目前,LC-MS 在烟草化学成分分析中得到广泛应用,商用 LC-MS 的电离方式主要是 ESI^[41]。该方法需要先对复杂基质样品进行预处理,再将相对纯净的样品溶液通过注射器导入色谱中,经分离富集后送至质谱的电离区域,样品分子经离子化后被检测分析,操作繁琐且费时。EAPPI-MS 成功地将样品的提取和离

子化结合在一起,使待测物的解吸和电离同步进行,无需样品预处理,大大减少了测试时间,提高了分析效率。为体现 EAPPI-MS 分析烟草样品的优势,以二氯甲烷-甲醇溶液(2 : 3, V/V)为萃取溶剂,使用 EAPPI-MS 对七星卷烟进行分析测试,并与传统 LC-ESI-MS 方法对比,得到的质谱图示于图 3。

通过对比质谱图可以发现,在 *m/z* 50 ~



注:a. *m/z* 50~162;b. *m/z* 165~350

图 3 EAPPI-MS 和 LC-ESI-MS 方法测试七星卷烟的质谱图
Fig. 3 Mass spectra of Seven Stars using EAPPI-MS and LC-ESI-MS

162 范围内, EAPPI-MS 和 LC-ESI-MS 均可检测到脯氨酸(m/z 116.07)、2-吡咯甲酸甲酯(m/z 126.05)、降烟碱(m/z 149.11)和去氢新烟碱(m/z 161.11); EAPPI-MS 可以高灵敏度地检测到二烯烟碱(m/z 159.09), 而 LC-ESI-MS 未检测到。在 m/z 165 ~ 350 范围内, EAPPI-MS 可以高灵敏度地检测到(2'S)尼古丁氧化物(m/z 179.12), 而 LC-ESI-MS 几乎没有检测到。表明 EAPPI-MS 可以检测到更丰富的物质信号。除此之外, 受预处理和色谱分离的影响, LC-ESI-MS 需要消耗较长时间才能完成对单个样品的分析测试, 然而 EAPPI-MS 仅需要 1 min, 节省了分析测试时间。EAPPI-MS 具有较强的抗基质效应干扰能力、无电离极性歧视等特点, 以及直接、快速、高灵敏度的优势, 将会成为烟草样品快速分析的有力工具。

2.3 烟草萃取溶剂的选择

由于烟草样品基质较复杂且成分丰富, 在样品提取时, 不同的萃取液提取效果不同, 因此需要选择合适的萃取溶剂, 以获得更丰富的质谱信号和更高的质谱响应。选取甲醇-水(3:1, V/V)、甲醇、二氯甲烷-甲醇(1:4, V/V)和二氯甲烷-甲醇(2:3, V/V) 4 种不同极性的溶剂作为萃取溶剂, 分别萃取 1R5F、3R4F、七星、都宝和王冠 5 种卷烟烟丝, 在 EAPPI-MS 正离子模式下研究萃取溶剂对烟草化学成分提取和电离效果的影响, 分析比较了烟丝中的烟碱、麦斯明、愈创木酚、亚麻酸、脯氨酸、3,5-二甲基异唑、吡啶-2-甲醛和 3-甲基吡啶在 5 种卷烟烟丝质谱强度的平均值, 结果示于图 4。除了二氯甲烷-甲醇(1:4, V/V) 未提取到愈创木酚外, 4 种萃取溶剂无论是对烟草中含量较高的成分, 如烟碱和 3-甲基吡啶, 还是低含量组分均能有效提取。相比之下, 二氯甲烷-甲醇(2:3, V/V) 对烟草中的生物碱(烟碱和麦斯明)、酚类(愈创木酚)、有机酸(亚麻酸和脯氨酸)、香味成分(3,5-二甲基异唑、吡啶-2-甲醛和 3,5-二甲基异唑)均具有更高的萃取效果。表明二氯甲烷-甲醇(2:3, V/V) 萃取剂更适合于 EAPPI-MS 方法对烟草化学成分的分析, 且适用于多种烟草成分的同时提取和检测。

2.4 不同烟草化学成分分析比较

目前市场上流通的卷烟种类繁多, 不同品

牌的卷烟由于配方和生产工艺的差别在品质方面存在差异, 但因烟草市场体量巨大, 对烟草成分快速、全面分析依然充满挑战。传统的 LC-MS 或 GC-MS 操作繁复费时^[1,42-44], 而 EAPPI-MS 方法可以快速准确分析待测样品, 无需样品预处理, 1 min 即可完成一次样品测试, 适用于大量烟草样品的快速分析。

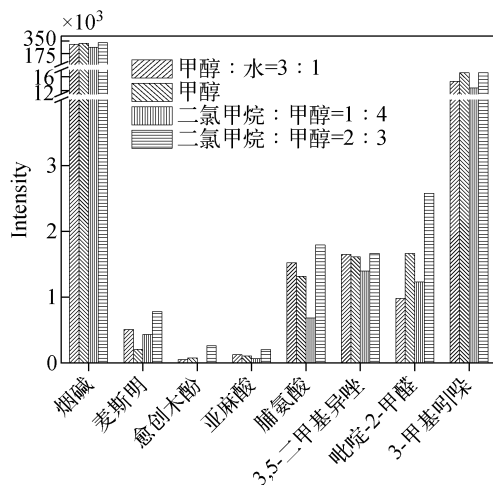


图 4 比较 4 种不同的萃取溶剂提取烟草化学成分的 EAPPI-MS 平均信号强度

Fig. 4 Average EAPPI-MS ion intensities of chemical components in 5 kinds of tobaccos extracted by 4 kinds of extraction solvents

烟草化学成分复杂, 卷烟品质不仅与烟碱、糖、钾等常规成分有关, 还与一些能给人带来良好感官体验的香味成分以及部分有害成分相关^[45]。随着人们健康意识的增强, 低焦油、高香味成了烟草工业对于卷烟品质的指导标准^[46]。为了分析比较不同卷烟化学成分的差异, 使用 EAPPI-MS 方法对烟草中的化学成分做整体评估, 利用质谱信号的强弱比较不同种类卷烟样品中化学成分的含量。本实验使用 EAPPI-MS 方法, 分别对 1R5F、3R4F、都宝、七星和王冠 5 种卷烟烟丝中的主要生物碱、有机酸和酚类的相对含量进行快速检测, 结果示于图 5。

烟草中高含量的生物碱是吸烟者吸食烟草的主要原因。在抽吸卷烟时, 生物碱含量的高低直接影响卷烟的吸味, 是评价烟叶内在品质和可用性的重要指标。生物碱的种类和含量与

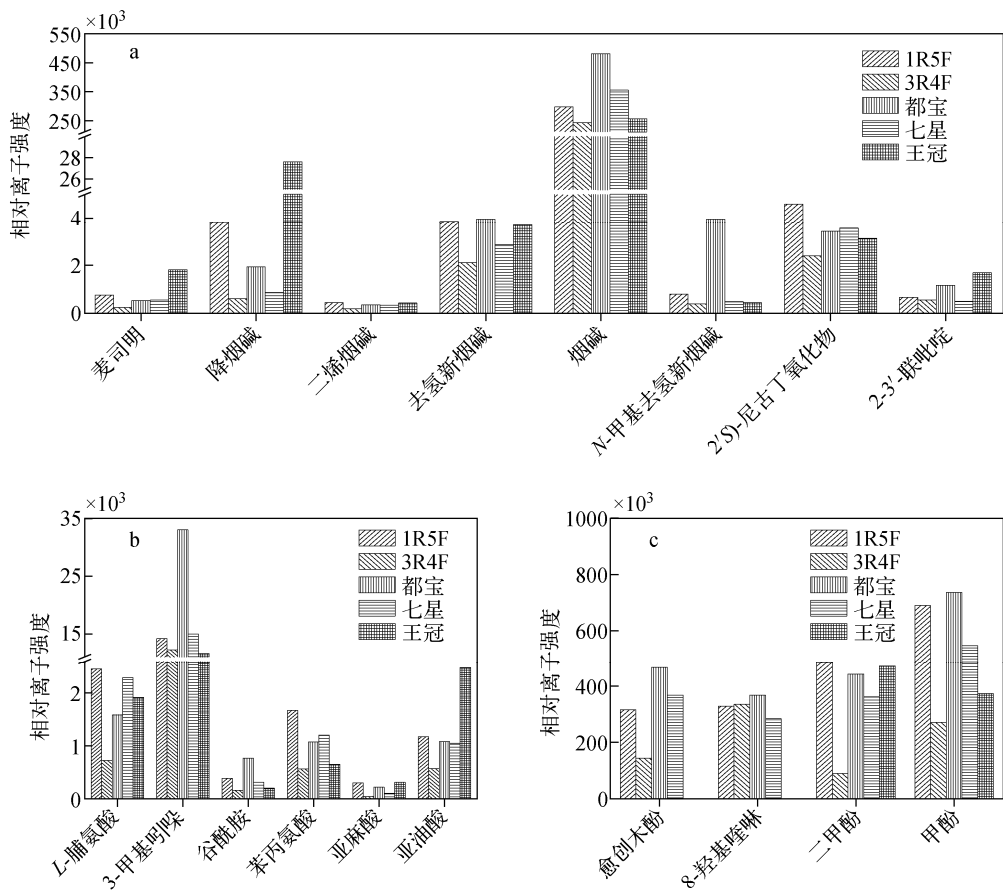


图 5 5 种卷烟烟丝中生物碱(a)、有机酸(b)和酚类化合物(c)的相对含量

Fig. 5 Relative contents of alkaloids (a) , organic acids (b) andphenolics (c) in 5 kinds of tobaccos

烟草品种有关,其中烟碱是烟草中含量最高的生物碱^[47]。在这 5 种卷烟中,1R5F 和 3R4F 属于标准烟,都宝属于由烤烟和白肋烟组成的混合型卷烟,七星属于烤烟,王冠属于雪茄烟。烤烟是目前种植面积最大的烟草种类,国产烟主要以烤烟为主。白肋烟原产于美国,属于一种深褐色晾烟,但与一般晾烟不同的是其叶脉和主茎发白,烟碱含量较高。雪茄经烟草发酵制成,烟碱和焦油大幅下降。如图 5a 所示,都宝卷烟中的烟碱、去氢新烟碱和 N-甲基去氢新烟碱的相对含量较高,这与白肋烟的特性相关。在王冠雪茄中,麦斯明、降烟碱和 2-3'-联吡啶的含量相对较高。降烟碱是烟碱脱去甲基形成的,烟碱转化导致烟碱含量降低,使烟叶香气减少,有害成分亚硝胺增加^[48-50]。降烟碱具有较大的不稳定性,在烟叶调制和陈化过程中易生成麦斯明和吡啶化合物,使烟气具有碱味、鼠臭等异味,烟草品质下降^[51]。

有机酸能够增加烟气的酸性,提高烟气浓度并使其醇和、甜润、舒适^[52]。对烟草中非挥发性有机酸、高级脂肪酸的测定已成为烟草行业质量控制的重要内容。氨基酸是烟叶香气前体物,同时也是美拉德反应前体物,对烟草香味有重要贡献,氨基酸含量增高有利于增加香气和得到适宜的劲头,但含量过高会使香气品质变差,刺激性增强,杂气加重。脯氨酸是非极性氨基酸,是烤烟中含量最高的游离氨基酸,约占总游离氨基酸的 20% 以上;在白肋烟中,脯氨酸的含量并不显著,仅占总游离氨基酸的 4% 左右^[52]。如图 5b 所示,七星卷烟中的 L-脯氨酸含量较高,都宝卷烟中含量最低,这一结果与上述规律基本一致。谷氨酸属于酸性氨基酸,在几乎所有的氨基酸合成过程中做氨基供体,在这 3 种商品烟中,都宝卷烟中的谷氨酸含量最高。苯丙氨酸属于非极性脂肪族氨基酸,是一些酚类化合物(如绿原酸、阿魏酸等)合成过

程中的重要中间产物,这些酚类化合物对烟叶品质、色泽和烟气等有重要影响^[52]。都宝和七星卷烟中的苯丙氨酸含量相差不大,且均高于王冠雪茄,其中七星卷烟中苯丙氨酸的含量相对较高。烟草中的高级脂肪酸也是评价烟草品质的有效指标,但是亚油酸、亚麻酸等不饱和脂肪酸会增加烟草的刺激性^[53]。王冠雪茄中亚油酸、亚麻酸的相对含量较高。

酚类化合物对烟叶色泽、香味、烟气生理强度和烟草品质具有重要影响,其含量与烟草等级正相关^[54-56]。如图 5c 所示,在这 3 种商品化卷烟中,都宝卷烟的酚类含量普遍较高,王冠雪茄由于是经过烟叶发酵后制成的,部分香味物质在制作过程中有所损失,愈创木酚和 8-羟基喹啉均未检测到,而二甲酚的含量较高。甲酚和二甲酚多来自于木质素、纤维素的分解产物^[57]。在抽吸过程中,愈创木酚与口腔唾液蛋白相结合,表现出甜味、温和及增浓效果^[58]。总体而言,不同种类的卷烟因成分含量不同而各具特色,都宝和七星卷烟比王冠雪茄香味成分更丰富。

2.5 主成分分析

为了快速筛查不同品质类型的烟草制品,选取优化后的二氯甲烷-甲醇(2:3,V/V)萃取溶剂,对 1R5F、3R4F、都宝、七星和王冠 5 种不同类型的多批次卷烟进行萃取,通过 EAPPI-MS 检测分析,分别提取 5 种卷烟在 m/z 50~350 范围内的质谱信号进行主成分分析(PCA),结果示于图 6。这 5 种卷烟样品通过

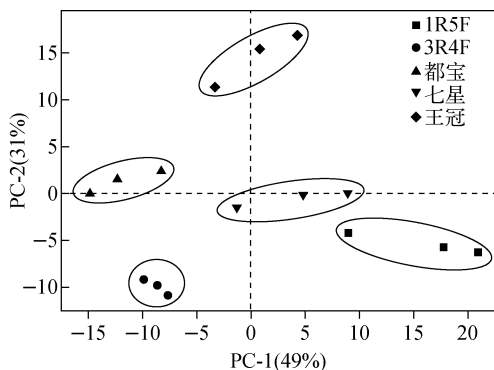


图 6 使用 EAPPI-MS 方法测试 5 种卷烟烟丝的主成分分析结果

Fig. 6 Principal component analysis results of 5 kinds of tobaccos using EAPPI-MS

2 个主成分因子(PC-1 和 PC-2)明显区分,同一种烟草制品数据在图中自成一簇(已分别用圆圈圈出),具有相似的性质,而不同的烟草制品的数据簇之间相隔较远,表明不同的烟草制品之间性质相差较大。PC-1 和 PC-2 的得分总和为 80%,表明主成分提取较完全,可以在很大程度上替代原有的样品信息,说明 EAPPI-MS 法可以有效地对不同种类烟草样品进行快速区分。

3 结论

本文报道了一种烟草化学成分的快速分析方法——萃取大气压光电离质谱。该方法可以对烟草的化学组分快速、准确定性,全面评估烟草中的主要成分及相对含量,快速区分不同类型的烟草制品。由于该方法将萃取和电离过程结合在一起,样品提取和分析同步进行,无需复杂的样品预处理操作,操作简便,分析速度快,1 min 即可完成 1 次测试,满足高通量的检测要求。本方法对待测样品没有极性歧视,尤其适合于弱极性物质的检测。通过对比不同极性溶液萃取结果,优化了适用于烟草体系的二氯甲烷-甲醇(2:3,V/V)萃取溶剂,全面评估烟草中的主要生物碱、有机酸和酚类化合物,并结合 PCA 分析,快速区分了 1R5F、3R4F、都宝、七星和王冠 5 种卷烟。本方法可以快速批量化测定烟草化学成分含量,在烟草品质评价、配方设计以及工艺研究等方面有着广阔的应用前景。

参考文献:

- [1] RODGMAN A, PERFETTI T A. The chemical composition of tobacco and tobacco smoke[M]. Boca Raton: CRC Press, 2013.
- [2] OJA V, HAJALIGOL M R, WAYMACK B E. The vaporization of semi-volatile compounds during tobacco pyrolysis[J]. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, 2006, 76(01): 117-123.
- [3] 史宏志,张建勋. 烟草生物碱[M]. 北京:中国农业出版社,2004.
- [4] 王瑞新. 烟草化学[M]. 北京:中国农业出版社,2003.
- [5] 王冬,张小全,杨铁钊,薛刚,李丽华. 类西柏烷二萜代谢机理及调控研究进展[J]. 中国烟草学报,2014,20(3):113-118.

- WANG Dong, ZHANG Xiaoquan, YANG Tiezhao, XUE Gang, LI Lihua. Progress in research on the metabolic regulation and molecular mechanism of cembranoid diterpenes[J]. *Acta Tabacaria Sinica*, 2014, 20(3): 113-118(in Chinese).
- [6] 徐晓燕,孙五三,王能如. 烟草多酚类化合物的合成与烟叶品质的关系[J]. *中国烟草科学*, 2003,1(1):3-5.
- XU Xiaoyan, SUN Wusan, WANG Nengru. The relationship between the synthesis of tobacco polyphenols and the quality of tobacco leaves[J]. *Chinese Tobacco Science*, 2003, 1(1): 3-5 (in Chinese).
- [7] 张霞,刘志华,杨光宇,杨柳,段沅杏,刘春波,陈永宽,缪明明. 固相萃取富集-气相色谱法测定烟草中的9种有机酸[J]. *分析测试学报*, 2014, 33(5):545-550.
- ZHANG Xia, LIU Zhihua, YANG Guangyu, YANG Liu, DUAN Yuanxing, LIU Chunbo, CHEN Yongkuan, LIAO Mingming. Determination of organic acids in tobacco by solid phase extraction and gas chromatography[J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2014, 33(5): 545-550(in Chinese).
- [8] 蒋健,杨君,黄芳芳,许式强,王晓晴,郑晓,潘再法,王丽丽. 闪蒸-气相色谱指纹图谱及系统聚类分析用于烟用香精香料的测定[J]. *色谱*, 2011, 29(6):549-553.
- JIANG Jian, YANG Jun, HUANG Fangfang, XU Shiqiang, WANG Xiaoqing, ZHENG Xiao, PAN Zaifa, WANG Lili. Flash evaporation-gas chromatographic fingerprints with hierarchical cluster analysis for the determination of cigarette flavors[J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2011, 29(6): 549-553(in Chinese).
- [9] 李响丽,李国智,范多青,杨仁礼,毛多斌. 卷烟主流烟气中8种羰基化合物的超高效液相色谱测定[J]. *分析测试学报*, 2012, 31(1):56-61.
- LI Xiangli, LI Guozhi, FAN Duoqing, YANG Renli, MAO Duobin. Determination of major carbonyls in mainstream cigarette smoke by ultra performance liquid chromatogram[J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2012, 31(1): 56-61 (in Chinese).
- [10] 谭芳,王海明,胡丽,吴访成,万昆. 高效液相色谱法测定烟草中烟碱含量[J]. *宁夏农林科技*, 2012, 53(10):146-147.
- TAN Fang, WANG Haiming, HU Li, WU Fangcheng, WAN Kun. Determination of nicotine content in tobacco by HPLC[J]. *Ningxia Journal of Agriculture and Forestry Science and Technology*, 2012, 53(10): 146-147 (in Chinese).
- [11] DING Y, ZHU L J, LIU S M, YU H Q, DAI Y. Analytical method of free and conjugated neutral aroma components in tobacco by solvent extraction coupled with comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2013, 1 280: 122-127.
- [12] 吴鸣,赵明月,赵晓东,李栋,汤站,李燕垣,王汉珍,刘军. 几种国内外混合型卷烟烟丝中香味物质的分析比较[J]. *中国烟草学报*, 2002, 8(4):1-9.
- WU Ming, ZHAO Mingyue, ZHAO Xiaodong, LI Dong, TANG Zhan, LI Yanhuan, WANG Hanzhen, LIU Jun. A comparison of aroma constituents in cut tobacco of some domestic and foreign blended cigarettes[J]. *Acta Tabacaria Sinica*, 2002, 8(4): 1-9(in Chinese).
- [13] 王冰,夏巧玲,郭吉兆,蔡君兰,王昇,谢复伟. 两种衍生化方法对烟草中多元酸和高级脂肪酸测定的影响[J]. *烟草科技*, 2012(12):56-59.
- WANG Bing, XIA Qiaoling, GUO Jizhao, CAI Junlan, WANG Sheng, XIE Fuwei. Effects of two derivative methods on determination of polybasic acids and higher fatty acids in tobacco[J]. *Tobacco Science & Technology*, 2012(12): 56-59 (in Chinese).
- [14] 李勇,逢涛,宋春满,吴玉萍,刘彦红. 柱后衍生-高效液相色谱法测定烟草中游离氨基酸[J]. *分析试验室*, 2013, 32(5):57-60.
- LI Yong, PANG Tao, SONG Chunman, WU Yuping, LIU Yanhong. Determination of free amino acids in tobacco by high performance liquid chromatography with post column derivatization [J]. *Chinese Journal of Analysis Laboratory*, 2013, 32(5): 57-60(in Chinese).
- [15] 于洁,熊骏威,沙云菲,岳宝华,葛炯. 近红外光谱法快速定量检测青烟叶及烤烟叶中的生物碱[J]. *济南大学学报(自然科学版)*, 2019, 33(2): 150-155.
- YU Jie, XIONG Junwei, SHA Yunfei, YUE Baohua, GE Jiong. Rapid quantitative determina-

- tion of alkaloid in freshand flue-cured tobacco leaves by near-infrared spectroscopy[J]. Journal of University of Jinan(Science and Technology), 2019, 33(2): 150-155(in Chinese).
- [16] 申钦鹏,张涛,刘春波,何沛,王昆森,杨光宇,刘志华. 近红外光谱定量分析技术在烟草和烟气化学成分分析中的研究进展[J]. 广东农业科学, 2015,42(4):77-85.
- SHEN Qinpeng, ZHANG Tao, LIU Chunbo, HE Pei, WANG Kunmiao, YANG Guangyu, LIU Zhihua. Research advances in application of quantitative analysis method of near infrared spectroscopy in chemical components of tobacco and cigarette smoke[J]. Guangdong Agricultural Sciences,2015,42(4): 77-85(in Chinese).
- [17] 张保林,王建民. 红外光谱检测技术在烟草分析中的应用及发展趋势[J]. 河南农业科学,2013, 42(6):1-6.
- ZHANG Baolin, WANG Jianmin. Application and trend of near infrared spectroscopy in tobacco analysis[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2013, 42(6): 1-6(in Chinese).
- [18] 黄志,龙帅,沙云菲,吴达,刘百战. 硅烷化衍生-气相色谱-质谱联用法测定烟草中的游离氨基酸[J]. 分析试验室,2017,36(11):1 341-1 346.
- HUANG Zhi, LONG Shuai, SHA Yunfei, WU Da, LIU Baizhan. Determination of free amino acids in tobacco using silylation derivatization followed by gas chromatography/mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2017, 36(11): 1 341-1 346(in Chinese).
- [19] 刘鸿,张怡春,陆怡峰,史佳沁,顾文博. 气相色谱-串联质谱法测定无烟气烟草中 *N,N*-二甲基亚硝胺[J]. 理化检验(化学分册),2017,53(8): 917-922.
- LIU Hong, ZHANG Yichun, LU Yifeng, SHI Jiaqin, GU Wenbo. GC-MS/MS determination of *n*-nitrosodimethylamine in smokeless tobacco[J]. Physical Testing and Chemical Analysis(Part B: Chemical Analysis), 2017, 53(8): 917-922(in Chinese).
- [20] 杨琳,秦卫普,刘立钧. 气相色谱发展史及气相色谱在烟草化学分析中的应用研究[J]. 环境科学与管理,2018,43(11):46-50.
- YANG Lin, QIN Weipu, LIU Lijun. The history of gas chromatography development and application in tobacco chemical analysis area[J]. Environmental Science and Management, 2018, 43(11): 46-50(in Chinese).
- [21] 杨忠乔,虞爱旭,侯镜德,徐子刚. 气相色谱-质谱联用法分析烟丝中有机酸成分[J]. 分析测试技术与仪器,2003(1):38-42.
- YANG Zhongqiao, YU Aixu, HOU Jingde, XU Zigang. Determination of organic acids in tobacco by gas chromatography/mass spectrometry[J]. Analysis and Testing Technology and Instruments, 2003(1): 38-42(in Chinese).
- [22] 陈辉,邓其馨,刘江生,吴清辉,柯文林,黄胜翰. 液相色谱-串联质谱法测定烟草制品中的羰基化合物[J]. 食品工业,2019,40(1):311-315.
- CHEN Hui, DENG Qixin, LIU Jiangsheng, WU Qinghui, KE Wenlin, HUANG Shenghan. Analysis of selected carbonyl compounds in tobacco samples using liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. The Food Industry, 2019, 40(1): 311-315(in Chinese).
- [23] 董睿,姬厚伟,刘剑,王维维,张丽,叶冲,彭黔荣. 超高效液相色谱在烟草化学分析中的应用[J]. 理化检验(化学分册),2018,54(4):488-496.
- DONG Rui, JI Houwei, LIU Jian, WANG Weiwei, ZHANG Li, YE Chong, PENG Qianrong. Application of ultra-performance liquid chromatography to tobacco chemical analysis[J]. Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis), 2018, 54(4): 488-496 (in Chinese).
- [24] 蒋佳芮,杨文武,张建铎,向海英,曾婉俐,李雪梅. 超高效液相色谱-串联质谱法测定卷烟中果糖、葡萄糖、蔗糖、麦芽糖[J]. 化学分析计量, 2019,28(2):22-27.
- JIANG Jiarui, YANG Wenwu, ZHANG Jianduo, XIANG Haiying, ZENG Wanli, LI Xuemei. Determination of fructose, glucose, sucrose and maltose in cigarettes by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Chemical Analysis and Meterage, 2019, 28(2): 22-27(in Chinese).
- [25] 张廷贵,邓其馨,林艳,周培深,张鼎方,刘江生,刘泽春,许寒春. 液相色谱-串联质谱法同时测定烟草中的肌醇和奎尼酸[J]. 中国测试,2019,45(7):61-66.
- ZHANG Tinggui, DENG Qixin, LIN Yan, ZHOU Peishen, ZHANG Dingfang, LIU Jiangsheng, LIU Zechun, XU Hanchun. Simultane-

- ous determination of inositol and quinic acid in tobacco with liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *China Measurement & Test*, 2019, 45(7): 61-66(in Chinese).
- [26] RAUH M. Steroid measurement with LC-MS/MS in pediatric endocrinology[J]. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2009, 301(1/2): 272-281.
- [27] RAUH M, GROSCHL M, RASCHER W, DORR H G. Automated, fast and sensitive quantification of 17 α -hydroxy-progesterone, androstenedione and testosterone by tandem mass spectrometry with on-line extraction[J]. *Steroids*, 2006, 71(6): 450-458.
- [28] THERON H B, MERWE M J, SWART K J, WESTHUIZEN J H. Employing atmospheric pressure photoionization in liquid chromatography/tandem mass spectrometry to minimize ion suppression and matrix effects for the quantification of venlafaxine and *O*-desmethylenlafaxine [J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2007, 21(10): 1 680-1 686.
- [29] WILKERSON C W, COLBY S M, REILLY J P. Determination of polycyclic aromatic-hydrocarbons using gas-chromatography laser ionization mass-spectrometry with picosecond and nanosecond light-pulse[J]. *Analytical Chemistry*, 1989, 61(23): 2 669-2 673.
- [30] ZIMMERMANN R. Photo ionisation in mass spectrometry: light, selectivity and molecular ions[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2013, 405(22): 6 901-6 906.
- [31] LEMBCKE J, CEGLAREK U, FIEDLER G M, BAUMANN S, LEICHTLE A, THIERY J. Rapid quantification of free and esterified phytosterols in human serum using APPI-LC-MS/MS [J]. *Journal of Lipid Research*, 2005, 46(1): 21-27.
- [32] RAMIREZ C E, WANG C, GARDINALI P R. Fully automated trace level determination of parent and alkylated PAHs in environmental waters by online SPE-LC-APPI-MS/MS[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2014, 406(1): 329-344.
- [33] ITOH N, OTAKE T, AOYAGI Y, MATSUO M, YARITA T. Application of pesticide quantification in unpolished rice by LC-dopant-assisted atmospheric pressure photoionization-MS[J]. *Chromatographia*, 2009, 70(7): 1 073-1 082.
- [34] LI D X, GAN L, BRONJA A, SCHMITZ O J. Gas chromatography coupled to atmospheric pressure ionization mass spectrometry (GC-API-MS): review[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2015, 891(1): 43-61.
- [35] MARCHI I, RUDAZ S, VEUTHEY J L. Atmospheric pressure photoionization for coupling liquid-chromatography to mass spectrometry: a review[J]. *Talanta*, 2009, 78(1): 1-18.
- [36] YRJONEN T, VUORELA H, KAUPPILA T J. Direct analysis of peucedanum palustre samples by desorption atmospheric pressure photoionization-mass spectrometry[J]. *Phytochemistry Letters*, 2017, 20(1): 49-53.
- [37] LIU C Y, YANG J Z, WANG J, HU Y H, ZHAO W, ZHOU Z Y, QI F, PAN Y. Extractive atmospheric pressure photoionization (EAP-PI) mass spectrometry: rapid analysis of chemicals in complex matrices[J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2016, 27(10): 1 597-1 605.
- [38] LIU C, WEN W, SHAO J, ZHAO W, QI K K, YANG J Z, PAN Y. Fast and comprehensive characterization of chemical ingredients in traditional chinese herbal medicines by extractive atmospheric pressure photoionization (EAPPI) mass spectrometry[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2017, 31(18): 1 491-1 499.
- [39] ROBB D B, COVEY T R, BRUINS A P. Atmospheric pressure photoionization: an ionization method for liquid chromatography-mass spectrometry[J]. *Analytical Chemistry*, 2000, 72(15): 3 653-3 664.
- [40] DOUSTY F, O' BRIEN R T, GAHLER R, KERSTEN H, BENTER T. Carbon disulfide as a dopant in photon-induced chemical ionization mass spectrometry[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2013, 27(17): 1 969-1 976.
- [41] YAMASHITA M, FENN J B. Electrospray ion source. another variation on the free-jet theme [J]. *The Journal of Physical Chemistry*, 1984, 88(20): 4 451-4 460.
- [42] 田振锋, 马丽伊, 孔俊, 林作敏, 高芸, 涂五二. 柱后基体分离-高效液相色谱质谱法测定烟草中香味成分[J]. *安徽农业科学*, 2018, 46(21): 178-181.

- TIAN Zhenfeng, MA Liyi, KONG Jun, LIN Zuomin, GAO Yun, GAN Wuer. Determination of aroma components in tobacco by HPLC-MS/MS based on post-column matrix separation technique[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2018, 46(21): 178-181(in Chinese).
- [43] 王晔,孙文梁,苏庆德,刘百战. 溶剂萃取-中心切割多维色谱-质谱法测定烟草主要中性香味成分[J]. 烟草科技, 2013(7): 43-50.
- WANG Hua, SUN Wenliang, SU Qingde, LIU Baizhan. Determination of main neutral aroma components in tobacco by solvent extraction with heart-cut multidimensional gas chromatography-mass spectrometry[J]. Tobacco Science & Technology, 2013(7): 43-50(in Chinese).
- [44] 杨艳芹,袁凯龙,储国海,周国俊,蒋健,程昌合,宋志宇,李祖光,潘远江. 微波辅助-顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法测定不同产地烟草中挥发性成分[J]. 理化检验(化学分册), 2016, 52(8): 894-900.
- YANG Yanqin, YUAN Kailong, CHU Guohai, ZHOU Guojun, JIANG Jian, CHENG Changhe, SONG Zhiyu, LI Zuguang, PAN Yuanjiang. GC-MS determination of volatile components in tobaccos from different growing areas with MAE-HS-SPME[J]. Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis), 2016, 52(8): 894-900(in Chinese).
- [45] 杜咏梅,张建平,王树声,张怀宝,付秋娟,刘洪祥,常爱霞,沈轶,程森,张骏. 主导烤烟香型风格及感官质量差异的主要化学指标分析[J]. 中国烟草科学, 2010, 31(5): 7-12.
- DU Yongmei, ZHANG Jianping, WANG Shusheng, ZHANG Huaibao, FU Qiujuan, LIU Hongxiang, CHANG Aixia, SHEN Yi, CHENG Sen, ZHANG Jun. Major Chemical indices leading the difference among different flavor types and sensory quality grades of flue-cured tobacco[J]. Chinese Tobacco Science, 2010, 31(5): 7-12(in Chinese).
- [46] 刘欣,梁梦洁,张承明,王晋,黄海涛,陈建华,李雪梅,孔维松,杨叶昆,许永,杨光宇,李晶. 在线固相萃取-气相色谱/质谱法测定卷烟主流烟气中烟草特有亚硝胺[J]. 分析科学学报, 2019, 35(5): 597-601.
- LIU Xin, LIANG Mengjie, ZHANG Chengming, WANG Jin, HUANG Haitao, CHEN Jianhua, LI Xuemei, KONG Weisong, YANG Yekun, XU Yong, YANG Guangyu, LI Jing. Determination of tobacco specific *n*-nitrosamines in mainstream cigarette smoke by gas chromatography/mass spectrometry using on-line solid phase extraction[J]. Journal of Analytical Science, 2019, 35(5): 597-601(in Chinese).
- [47] 廉芸芸,王允白,邱军,张忠峰,曹建敏,宁扬,岳山,牛鹏. 不同产区烤烟中主要生物碱含量和组成比例分析[J]. 中国烟草科学, 2008, 29(4): 6-9.
- LIAN Yunyun, WANG Yunbai, QIU Jun, ZHANG Zhongfeng, CAO Jianmin, NING Yang, YUE Shan, NIU Peng. Analysis on major alkaloids contents and constituent proportions of flue-cured tobacco from different tobacco production regions[J]. Chinese Tobacco Science, 2008, 29(4): 6-9(in Chinese).
- [48] 史宏志,李进平, BUSH L P, 张永红,于青. 烟碱转化率与卷烟感官评吸品质和烟气 TSNA 含量的关系[J]. 中国烟草学报, 2005, 11(2): 9-14.
- SHI Hongzhi, LI Jinping, BUSH L P, ZHANG Yonghong, YU Qing. Relationship of percent nicotine conversion with sensory evaluation scores and TSNA contents in cut tobacco and cigarette smoke[J]. Acta Tabacaria Sinica, 2005, 11(2): 9-14(in Chinese).
- [49] 赵晓丹,鲁喜梅,史宏志,曾代龙,杨兴有,王瑞云. 不同烟草类型烟叶中性致香成分和生物碱含量差异[J]. 中国烟草科学, 2012, 33(2): 7-11.
- ZHAO Xiaodan, LU Ximei, SHI Hongzhi, ZENG Dailong, YANG Youxing, WANG Ruiyun. Comparison of composition and contents of neutral aroma components and alkaloids in different types of tobacco[J]. Chinese Tobacco Science, 2012, 33(2): 7-11(in Chinese).
- [50] 史宏志, BUSH L P, KRAUSS M. 烟碱向降烟碱转化对烟叶麦斯明和 TSNA 含量的影响[J]. 烟草科技, 2004(10): 27-30.
- SHI Hongzhi, BUSH L P, KRAUSS M. Effect of nicotine to nornicotine conversion on myosmine and tsna contents in burley tobacco[J]. Tobacco Science & Technology, 2004(10): 27-30(in Chinese).
- [51] 赵勇,宋春满,陈明玮,田丽梅,孙志勇,谭亚玲. 烟草有机酸研究进展[J]. 中国农学通报, 2014, 30(1): 114-123.
- ZHAO Yong, SONG Chunman, CHEN Ming-

- wei, TIAN Limei, SUN Zhiyong, TAN Yaling. Research progress on organic acids in tobacco [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2014, 30(1): 114-123(in Chinese).
- [52] 白宝璋,赵景阳,田文勋,谭桂茹,郭志尧. 烟草旺长期叶片游离氨基酸的含量[J]. 中国烟草, 1995,1(1):9-10.
- BAI Baozhang, ZHAO Jingyang, TIAN Wenxun, TAN Guiru, GUO Zhiyao. The content of free amino acids in tobacco leaves during peak season[J]. China Tobacco, 1995, 1(1): 9-10(in Chinese).
- [53] MENDELL S, BOURLAS E C, DEBARDELE-BEN M Z. Factors influencing tobacco leaf quality: an investigation of the literature[J]. Contributions to Tobacco Research, 1984, 12(3): 153-167.
- [54] 徐晓燕,孙五三,王能如. 烟草多酚类化合物的合成与烟叶品质的关系[J]. 中国烟草科学, 2003,24(1):3-5.
- XU Xiaoyan, SUN Wuer, WANG Nengru. The relationship between the synthesis of tobacco polyphenols and the quality of tobacco leaves[J]. Chinese Tobacco Science, 2003, 24(1): 3-5(in Chinese).
- [55] 者为,杨斯宛,王明锋,段焰青,范多青,夏建军. 烟草和烟气中酚类物质检测技术研究进展[J]. 云南化工,2010,37(5):64-53.
- ZHE Wei, YANG Siwan, WANG Mingfeng, DUAN Yanqing, FAN Duoqing, XIA Jianjun. Development of study on phenolic compounds in tobacco and tobacco smoke[J]. Yunnan Chemical Technology, 2010, 37(5): 64-53(in Chinese).
- [56] 钟庆辉. 烟草芳香吃味化学成分指标的探索[J]. 烟草科技,1981,14(4):21-24.
- ZHONG Qinghui. Exploration of the chemical composition index of tobacco aroma[J]. Tobacco Science & Technology, 1981, 14(4): 21-24(in Chinese).
- [57] 张秋芳,刘奕平,刘波,谢小丹,林培章. 烟草主要酚类物质研究进展[J]. 福建农业学报,2006,21(2):158-163.
- ZHANG Qiufang, LIU Yiping, LIU Bo, XIE Xiaodan, LIN Peizhang. Research progress of main phenolics in tobacco[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2006, 21(2): 158-163(in Chinese).
- [58] 周恒,许自成,赵会纳,朱杰,王得强. 烟草多酚类物质的研究进展[J]. 浙江农业科学,2009(5): 949-1 008.
- ZHOU Heng, XU Zicheng, ZHAO Huina, ZHU Jie, WANG Deqiang. Research progress of tobacco polyphenols[J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 2009(5): 949-1 008(in Chinese).