

中心切割反相/反相二维液相色谱-串联质谱法 测定烟叶潜香类糖苷

陈 敏,董惠忠,沈世豪,王天南,汪阳忠,吴 达,刘百战

(上海烟草集团有限责任公司技术中心,上海 200082)

摘要:为解决烟叶潜香类糖苷含量低、基质干扰严重、难以准确测定的问题,本研究建立了中心切割反相/反相二维液相色谱-串联质谱法定量检测烟叶中3种潜香类糖苷。样品前处理简单,仅需提取后直接上样,方法的日内和日间重复性相对标准偏差(RSD)分别为1.0%~3.2%和2.8%~8.4%,可以满足大量烟叶样品的日常检测需求。对烤烟、白肋烟、香料烟、晒烟等不同类型烟叶进行测定,结果表明,不同类型烟叶还原糖含量与潜香类糖苷呈正相关。对不同香型、不同产地的157个烤烟样品的糖苷含量进行分析,结果表明,烤烟糖苷含量不仅受还原糖的影响,还可能受类胡萝卜素、成熟期温度等多种因素的影响。

关键词:中心切割反相/反相二维液相色谱-串联质谱;烟叶;糖苷;烤烟

中图分类号:O657.63 **文献标志码:**A **文章编号:**1004-2997(2021)06-1175-08

doi:10.7538/zpxb.2020.0076

Determination of Three Glycosides in Tobacco Using Heart-Cutting Rp/Rp Two Dimensional Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

CHEN Min, DONG Hui-zhong, SHEN Shi-hao, WANG Tian-nan,
WANG Yang-zhong, WU Da, LIU Bai-zhan

(Technological Center, Shanghai Tobacco Group Co., Ltd., Shanghai 200082, China)

Abstract: A method for glycosides detection in tobacco leaves by heart-cutting Rp/Rp two-dimensional liquid chromatography-tandem mass spectrometry was established. Three glycosides were determined, including 3-oxo-7,8-dihydro- α -ionol- β -D-glucopyranoside, 3-oxo- α -ionol- β -D-glucopyranoside and 3-hydroxy- β -dihydro-damascone- β -D-glucopyranoside. Only extraction and filtration were required in sample pretreatment. The RSDs of intra-day and inter-day were in the range of 1.0%-3.2% and 2.8%-8.4%, respectively, which showed good reproducibility. Since sample pretreatment was very simple, the method was quite suitable for daily detection. Different types of tobacco were determined, including Virginian-type tobacco, Burley tobacco, oriental tobacco and sun-cured tobacco. The results revealed that glycosides in flue-cured and fresh Virginian-type tobacco were significantly higher than other types, which agreed well with

previous reported articles. 157 kinds of Virginian-type tobacco samples from different regions were monitored and investigated. Among the factors, which influenced contents of glucosides in Virginian-type tobacco, sugar was no longer the major one, catabolite of carotenoids (C13-isoprenol glucosides) and temperature were also considered an important factor in our study.

Key words: heart-cutting Rp/Rp two dimensional liquid chromatography-tandem mass spectrometry; tobacco leaves; glycosides; flue-cured tobacco

糖苷是烟草致香中一类重要的前体物质,是指由单糖或低聚糖的 R—OH、R₂—NH、RSH 和另一分子中的半缩醛羟基等基因形成的化合物。烟叶中糖苷类成分复杂,包括潜香糖苷类和多酚糖苷类^[1]。离线分离制备实验表明,潜香类糖苷含量(10⁻⁶ g/g)远低于多酚类糖苷(10⁻² g/g),多酚类糖苷背景干扰大,且二者分离难度大,目前尚无准确、快速测定烟草潜香类糖苷的报道。通过离线制备色谱研究发现,烟草潜香类糖苷主要包括 3-氧代-7,8-二氢- α -紫罗兰醇- β -D-吡喃葡萄糖苷、3-氧代- α -紫罗兰醇- β -D-吡喃葡萄糖苷和 3-羟基- β -二氢-大马酮- β -D-吡喃葡萄糖苷等,在卷烟燃吸时裂解成 3-氧代- α -紫罗兰醇和巨豆三烯酮,对烟草吸味具有较大贡献^[2]。因此,开发准确、快速的烟叶潜香类糖苷测定技术,对评价烟叶品质具有重要意义。

目前,用于检测烟草中糖苷含量的方法包括气相色谱-质谱法(GC-MS/MS)^[3-4]、高效液相色谱-质谱法(HPLC-MS/MS)^[5-6]、电喷雾电离质谱法(ESI-MS)^[7]、超临界流体色谱法(SFC)^[8]等。王燕等^[9]利用热重、红外检测器的 GC-MS/MS 联用仪对 3-氧代- α -紫罗兰醇- β -D-吡喃葡萄糖苷进行分析,发现在 265 °C 条件下,糖苷可迅速反应生成大量巨豆三烯酮。GC-MS/MS 法检测烟草糖苷的优点在于选择性好、仪器分辨率高、适于分析热稳定的小分子化合物,但缺点是化合物定性困难、无法同时准确区分烟草中不同糖苷物质。李苇苇等^[10]采用反相高效液相色谱-质谱法(RPLC-MS/MS)分析烟草提取液中 5 种糖苷类化合物,通过分析相对分子质量和碎片离子结构,获得待测物分子结构,但该方法须反复制备,前处理繁琐。LC-MS/MS 法检测烟草糖苷的优点在于效率高、应用范围广,但缺点是耗时较长、前处理较

繁冗^[11-13]。

二维液相色谱技术分析复杂基质样品具有极高的灵敏度和选择性^[14],现已被广泛用于检测烟气中烟草特有的亚硝胺(TSNAs)^[15-16]、烟叶农药残留^[17]、烟叶香味成分前体物等方面^[17-20]。

本研究拟采用二维液相色谱法测定烟叶潜香类糖苷,样品经第一维液相色谱有效分离后,目标组分经稀释后中心切割至捕集柱,阀转动后目标组分洗脱至第二维进一步分离分析,最后进入三重四极杆质谱多反应监测模式(MRM)分析。由于两维采用不同的流动相和色谱柱,且中心切割能够有效去除大部分干扰成分,可显著提高目标物灵敏度。将该方法应用于不同类型、不同产地烟叶样品中 3 种糖苷的测定,并分析糖苷含量与烟叶品质的内在关系。

1 实验部分

1.1 仪器与装置

中心切割二维色谱由 Agilent 1290 液相色谱、Agilent 1260 四元泵、Agilent 1260 单泵和六通阀构成;均为美国 Agilent 公司产品;API 4000 三重四极杆质谱仪:美国 AB Sciex 公司产品;电子天平(感量 0.000 1 g):瑞士 Mettler Toledo 公司产品;SW12H 超声仪:瑞士 Sono Swiss 公司产品;Milli-Q 纯水仪:美国 Millipore 公司产品。第一维液相色谱柱 CAPCELL PAK MG III C18(2.0 mm×50 mm×3 μ m),第二维液相色谱柱 Welch Ultimate XB C18(2.1 mm×200 mm×3 μ m),捕集柱(C18 柱)Thermo Scientific Acclaim Polar Advantage II(4.6 mm×10 mm×5 μ m):均为安谱公司产品。

1.2 材料与试剂

烤烟烟末(0.42 mm,40 目):上海烟草集团有限责任公司产品;乙腈、甲酸、甲醇:色谱

纯,德国 Merck 公司产品;0.22 μm 有机相滤膜:安谱公司产品。

1.3 实验条件

1.3.1 样品预处理 称取 0.5 g 烟末(精确至 0.1 mg)于 20 mL 离心管中,加入 10 mL 纯乙腈,30 $^{\circ}\text{C}$ 超声萃取 20 min,以 2 000 r/min 离心 3 min,取上清液,过 0.22 μm 有机相滤膜。

1.3.2 色谱条件 中心切割二维液相色谱-串联质谱进样量为 2 μL ,柱温均为 30 $^{\circ}\text{C}$ 。第一维反相液相色谱中,流动相 A 为 0.1% 甲酸水溶液,B 为 0.1% 甲酸甲醇溶液;梯度洗脱程序:0~3 min(95% A),3~20 min(95%~25% A),20~20.1 min(25%~5% A),20.1~25 min(5% A),25~26 min(5%~95% A),26~50 min(95% A);流速 0.2 mL/min。第二维反相

液相色谱中,流动相 C 为 0.1% 甲酸水溶液,D 为 0.1% 甲酸乙腈溶液;梯度洗脱程序:0~20 min(95% C),20~40 min(95%~60% C),40~40.1 min(60%~5% C),40.1~45 min(5% C),45~45.1 min(5%~95% C),45.1~50 min(95% C),流速 0.4 mL/min。六通阀切割时间为 16~18 min,此时补液流路为水,流速 1 mL/min,其他时间流速 0.1 mL/min。

1.3.3 质谱条件 电喷雾离子源(ESI),正离子多反应监测模式扫描;喷雾电压(ion-spray voltage)5 500 V;雾化气 Gas1 压强 413.7 kPa;辅助雾化气 Gas2 压强 344.7 kPa;气帘气(curtain gas)压强 137.9 kPa;离子源温度 300 $^{\circ}\text{C}$;去簇电压 60 V;检测时间 20 ms;糖苷检测离子对列于表 1。

表 1 糖苷检测的离子对

Table 1 Ion pairs of mentioned glycoside detection

化合物 Compound	母离子 Parent ion $[M+H]^+$ (m/z)	离子对 Ion pair (m/z)	碰撞能 Collision energy/V
3-氧代-7,8-二氢- α -紫罗兰醇- β -D-吡喃葡萄糖苷 (糖苷 A)	373.2	373.2/211.3 373.2/193.2*	10 15
3-氧代- α -紫罗兰醇- β -D-吡喃葡萄糖苷 (糖苷 B)	371.2	371.2/209.2 371.2/191.1*	10 15
3-羟基- β -二氢-大马酮- β -D-吡喃葡萄糖苷 (糖苷 C)	371.2	371.2/209.2 371.2/191.1*	10 15

注:*表示定量离子对

2 结果与讨论

2.1 中心切割二维液相色谱-串联质谱系统的建立

本研究建立的中心切割二维液相色谱检测装置示于图 1。第一维色谱系统(1D)利用 C18 柱对样品基质分离除杂,将目标馏分经中心切割至第二维色谱柱内收集保留,再利用第二维色谱系统(2D)分离后进行定量检测。同时,在分析过程中通过六通阀切换,达到理想的分离纯化效果。

烟叶糖苷的化学结构复杂,标准样品难以获得,因此,采用易获得的芸香苷标样代替。由于烟叶潜香类糖苷与芸香苷的极性相似,在反相液相色谱上的保留时间接近^[22]。采用芸香

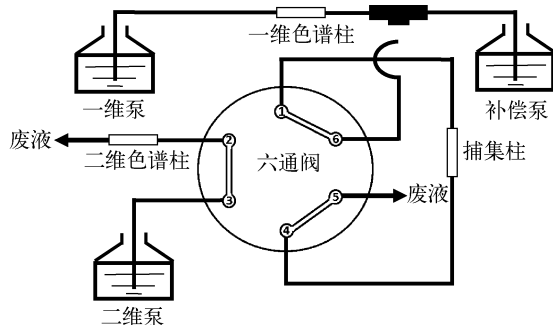
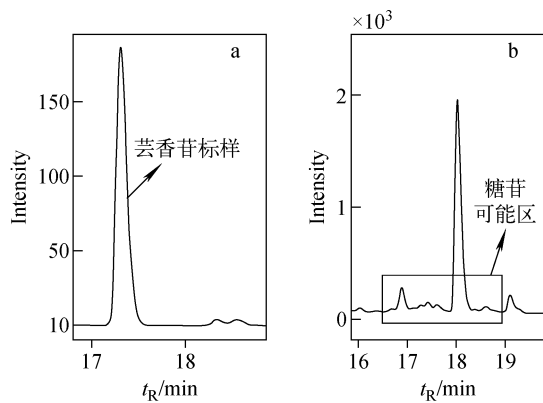


图 1 中心切割反相/反相二维液相色谱系统
Fig. 1 Heart-cutting Rp/Rp two dimensional liquid chromatography system

苷标样对糖苷可能流出的区域进行标记,在此基础上确定二维切割时间,将烟叶潜香类糖苷

转移至第二维反相液相色谱进一步分离。芸香苷的一维液相色谱紫外吸收图示于图 2, 保留时间为 17.3 min, 推测烟叶糖苷可能在附近共流出。

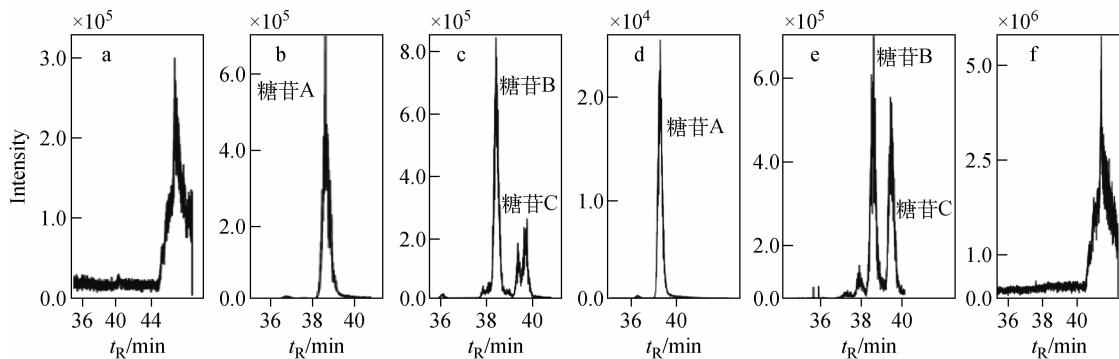
以芸香苷保留时间为基准, 分别将二维切割时间设置为 15~16 min、16~17 min、17~18 min、18~19 min。馏分经过补液稀释后在捕集柱上富集, 通过阀转动, 被第二维流动相分离后进入 MRM 模式。第一维不同切割时间的糖苷 MRM 谱图示于图 3。第一维切割 15~16 min、18~19 min 馏分中均无 3 种糖苷目标物; 第一维切割 16~17、17~18 min 馏分中, 3 种糖苷均有信号。因此确定第一维馏分切割时间为 16~18 min。



注: a. 芸香苷标样; b. 烟叶样品

图 2 一维液相色谱的紫外吸收谱图

Fig. 2 UV absorption spectra in the first dimensional chromatography



注: a. 15~16 min; b. c. 16~17 min; d. e. 17~18 min; f. 18~19 min

图 3 不同切割时间的第一维馏分经第二维分离后进入质谱的 MRM 图

Fig. 3 MRM diagrams of glycoside mentioned

in the first dimensional step during different elution times

2.2 方法重复性

对实际样品中糖苷 A、B 和 C 进行日内、日间重复性考察, 结果列于表 2。结果表明, 日内重复性相对标准偏差 (RSD) 在 1.0%~3.2% 之间, 日间重复性 RSD 在 2.8%~8.4% 之间, 能够满足日常检测需求。

2.3 不同类型烟叶样品考察

本实验测定了不同类型的烟叶样品, 结果列于表 3。可见, 白肋烟中糖苷含量很低, 烤后烟叶和青烟叶中糖苷含量较高, 与文献^[21]报道一致。香料烟、晒红烟、晒黄烟中糖苷的相对含量约为烤烟的 10%~20%, 这可能由于白肋烟、晒烟在晾晒调制过程中糖苷发生了降解。

表 2 实际样品测定中方法重复性考察 ($n=3$)

Table 2 Repeatability in real samples ($n=3$)

化合物 Compound	重复性相对标准偏差 Repeatability RSD/%	
	日内 Intra-day	日间 Inter-day
	糖苷 A	3.2
糖苷 B	3.7	4.6
糖苷 C	1.0	8.4

烤烟、白肋烟、香料烟、晒烟等不同类型烟叶的还原糖含量差异显著, 烤烟还原糖含量显著高于晾晒烟, 葡萄糖含量一般在 10% 以上。因此, 烤烟中类胡萝卜素降解产物 3-氧代- α -紫罗兰醇、3-羟基- β -二氢大马酮、3-氧代-7,8-二

表 3 不同类型烟叶中糖苷的相对含量(峰面积)

Table 3 Relative content (peak area) of detected glycosides in different tobacco leaves

类型 Type	相对含量 Relative content/ $\times 10^4$		
	糖苷 A Glycoside A	糖苷 B Glycoside B	糖苷 C Glycoside C
白肋烟	8.5	8.9	6.3
	5.1	6.5	5.4
	4.7	5.3	3.4
	5.7	6.7	4.3
	1.5	3.4	2.0
香料烟	170	360	340
	150	330	310
	33	110	95
	270	1300	410
晒黄烟	200	680	650
晒红烟	150	550	480
烤后烟叶	1100	6700	3000
	1400	6100	2600
	1300	7600	3100
	1400	6200	2700
青烟叶	1200	6700	3000
	1200	7200	3100

氢- α -紫罗兰醇在 C13-降异戊二烯醇的糖苷含量最高。白肋烟调制过程中,烟叶水分和晾房温湿度适宜,调制周期长,烟叶酶活性维持时间长,糖分呼吸消耗多,还原糖消耗量大,因此白肋烟中糖和糖苷含量最低,该结果与文献^[21-22]报道一致。

香料烟、晒烟烟叶中的还原糖含量介于烤烟与白肋烟之间,潜香糖苷含量也介于二者之间。因此,不同类型烟叶中还原糖含量越高,则糖苷含量越高。

2.4 不同香型、产地样品的糖苷含量分析

对来自不同产地的 157 个烟叶样品进行测试,以中间香型样品为基准进行归一化,将清香型、浓香型和中间香型样品取均值进行分析,结果示于图 4。可以发现,不同香型的样品中,清香型样品的糖苷 A 含量较高,浓香型样品的糖苷 B 和糖苷 C 含量相对较高,中间香型烟叶样品各组分含量处于二者之间。

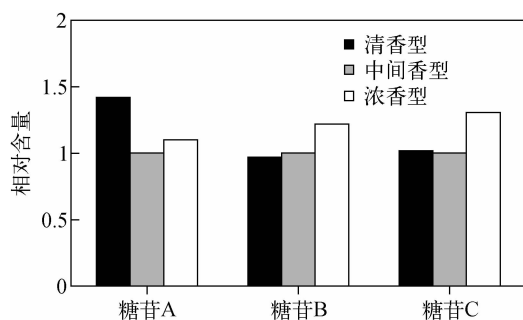
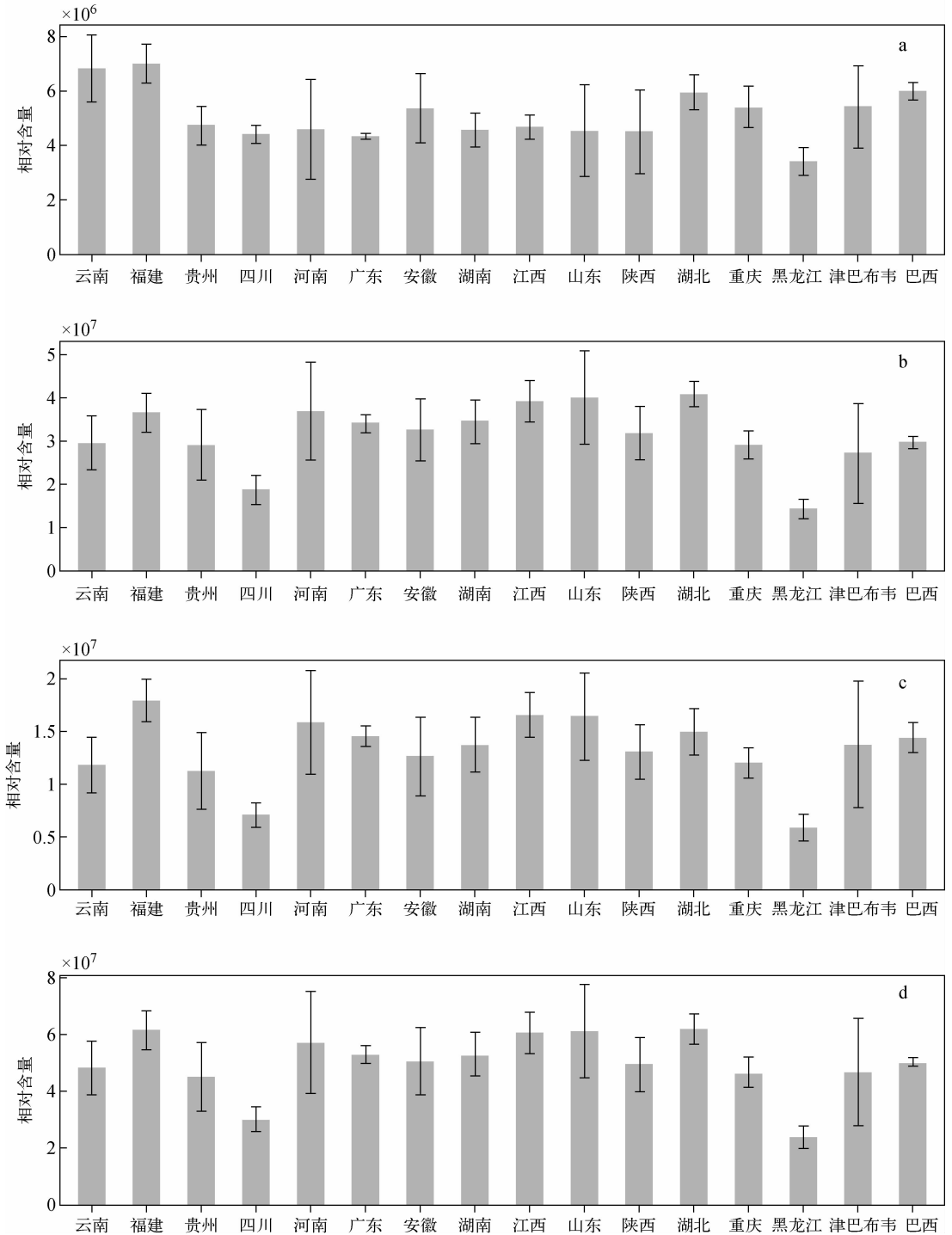


图 4 不同香型烟叶样品中糖苷的相对含量
Fig. 4 Relative contents of glycosides in different tobacco samples

不同产地烤烟的糖苷相对含量均值示于图 5。糖苷 A,糖苷 B 和糖苷 C 含量有明显差异,总体上糖苷 B 和糖苷 C 含量较高,变化规律相似,糖苷 A 含量略低。从糖苷总量看,糖苷总量较低的为黑龙江、四川,糖苷总量较高的为河南、山东,糖苷总量中等的为福建、云南、贵州。



注: a. 3-氧代-7,8-二氢- α -紫罗兰醇- β -D-吡喃葡萄糖苷;

b. 3-氧代- α -紫罗兰醇- β -D-吡喃葡萄糖苷; c. 3-羟基- β -二氢-大马酮- β -D-吡喃葡萄糖苷; d. 糖苷总量

图5 不同产地烤烟糖苷的相对含量均值

Fig. 5 Average relative contents of glycosides from different regions

3 结论

本研究建立了中心切割反相/反相二维液相色谱-串联质谱法测定烟叶中潜香类糖苷含

量,具有样品前处理简单、仪器自动运行、重复性好、检测结果稳定可靠,适用于大批量烟叶样品的日常检测。

参考文献:

- [1] QU J, WANG Y, LUO G, WU Z. Identification and determination of glucuronides and their aglycones in *Erigeron breviscapus* by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2001, 928(2): 155-162.
- [2] 谢媛媛,冯燕燕,苏加坤,罗娟敏,王义明,郭磊,蔡继宝,罗国安. 不同传统香型及产地的上部复烤烟叶中多酚类成分含量比较分析[J]. 中国烟草学报,2017,24(3):62-74.
XIE Yuanyuan, FENG Yanyan, SU Jiakun, LUO Juanmin, WANG Yiming, GUO Lei, CAI Jibao, LUO Guoan. Comparative analysis of polyphenols in redried upper tobacco leaves with different flavor styles and from different production areas[J]. Acta Tabacaria Sinica, 2017, 24(3): 62-74(in Chinese).
- [3] 陈振玲,张浩博,周宛虹,沙云菲,刘百战,罗国安. 烟草中 3-氧代- α -紫罗兰醇- β -D-吡喃葡萄糖苷的分离鉴定及其热解产物分析[J]. 烟草科技, 2008,7(1):28-31.
CHEN Zhenling, ZHANG Haobo, ZHOU Wanhong, SHA Yunfei, LIU Baizhan, LUO Guoan. Isolation and identification of 3-oxo- α -ionol- β -D-glucopyranoside from tobacco and analysis of its pyrolytic products[J]. Tobacco Science & Technology, 2008, 7(1): 28-31(in Chinese).
- [4] 王彩霞,魏远方,贾峰,宋海龙,徐翠莲,刘卫群. 不同产区烟叶生长后期糖苷态致香成分总量的动态变化[J]. 烟草科技,2018,51(1):33-42.
WANG Caixia, WEI Yuanfang, JIA Feng, SONG Hailong, XU Cuilian, LIU Weiqun. Dynamic variations of aglycon aroma components and contents in tobacco leaves from different producing areas at later growth stage[J]. Tobacco Science & Technology, 2018, 51(1): 33-42(in Chinese).
- [5] 苏菲,周海燕,魏跃伟,宋莹丽,穆文静,吴疆,史宏志. 不同类型烟草游离态和糖苷结合态中性香气成分含量比较[J]. 河南农业大学学报, 2012,46(6):601-608.
SU Fei, ZHOU Haiyan, WEI Yuewei, SONG Yingli, MU Wenjing, WU Jiang, SHI Hongzhi. Comparison of contents of free and glycosidic neutral aroma components in four different tobacco types[J]. Journal of Henan Agricultural University, 2012, 46(6): 601-608(in Chinese).
- [6] 王林,朱金峰,许自成,吴彦辉,张景华. 烟草中糖苷类物质研究进展[J]. 中国农业科技导报, 2015,17(1):65-70.
WANG Lin, ZHU Jinfeng, XU Zicheng, WU Yanhui, ZHANG Jinghua. Research progress on tobacco glycoside substances[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2015, 17(1): 65-70(in Chinese).
- [7] 吴新华,朱瑞芝,任卓英,王凯,牟定荣,魏万之,缪明明. 超高效液相色谱-电喷雾串联质谱法分离鉴定烟草中 5 种糖苷类香味前体物质[J]. 色谱,2009,27(6):820-824.
WU Xinhua, ZHU Ruizhi, REN Zhuoying, WANG Kai, MOU Dingrong, WEI Wanzhi, MIU Mingming. Separation and identification of 5 glycosidic flavor precursors in tobacco by ultra performance liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2009, 27(6): 820-824(in Chinese).
- [8] 王林,许自成. 河南烤烟糖苷类物质鉴定及品质调控措施研究[D]. 郑州:河南农业大学,2016.
- [9] 王燕,刘志华,刘春波,陈永宽,蒋丽红,王亚明. 烟草中两种紫罗兰醇葡萄糖苷衍生物分离鉴定及热分析研究[J]. 分析测试学报,2012,31(1):22-28.
WANG Yan, LIU Zhihua, LIU Chunbo, CHEN Yongkuan, JIANG Lihong, WANG Yaming. Isolation, identification and thermal decomposition behavior of two ionol glucopyranosides in tobacco[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2012, 31(1): 22-28(in Chinese).
- [10] 李苇苇,戴云辉,吴名剑,陈晓青. 烟草中 5 种糖苷类化合物的液相色谱-质谱联用分析[J]. 分析测试学报,2009,28(12):1 428-1 432.
LI Weiwei, DAI Yunhui, WU Mingjian, CHEN Xiaoqing. Investigation of five glycosides in tobacco by liquid chromatography-mass spectrometry[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2009, 28(12): 1 428-1 432(in Chinese).
- [11] FU L, LIU X, HU J, ZHAO X, WANG H, WANG X. Application of dispersive liquid-liquid microextraction for the analysis of triazophos and carbaryl pesticides in water and fruit juice samples[J]. Analytica Chimica Acta, 2009, 632(2): 289-295.
- [12] BOONCHIANQMA S, NQEONTAE W, SRI-

- JARANAI S. Determination of six pyrethroid insecticides in fruit juice samples using dispersive liquid-liquid microextraction combined with high performance liquid chromatography[J]. *Talanta*, 2012, 88: 209-215.
- [13] TAYLOR M J, MELTON L M, SHARP E A, WATSONA J E. A liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry method for the determination of multiple pesticide residues involved in suspected poisoning of non-target vertebrate wildlife, livestock and pets[J]. *Analytical Methods*, 2012, 5(1): 248-259.
- [14] WANG S, ZHOU L, WANG Z, SHI X, XU G. Simultaneous metabolomics and lipidomics analysis based on novel heart-cutting two-dimensional liquid chromatography-mass spectrometry[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2017, 966: 34-40.
- [15] SHAO X, CHEN M, WU D, LIU B, ZHANG X, CHEN C. Establishment of a two-dimensional liquid chromatography-tandem mass spectrometry system for detection of four tobacco-specific *N*-nitrosamines[J]. *Anal Methods*, 2017, 9(5): 761.
- [16] CHEN M, DONG H, SHEN S, WANG J, WU D, LIU B. Quantitative method for analysis of tobacco-specific *N*-nitrosamines in mainstream cigarette smoke by using heart-cutting two-dimensional liquid chromatography with tandem mass spectrometry[J]. *J Sep Sci*, 2017, 40: 1920-1927.
- [17] 陈敏,王轩堂,吴达,戚大伟,罗辰,刘百战,张祥民. 中心切割二维液相色谱串联质谱法分析烟草农残研究[J]. *中国烟草科学*, 2017, 38(6): 41-47.
- CHEN Min, WANG Xuantang, WU Da, QI Dawei, LUO Chen, LIU Baizhan, ZHANG Xiangmin. Analysis of pesticide residues in tobacco using heart-cutting two dimensional liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Chinese Tobacco Science*, 2017, 38(6): 41-47 (in Chinese).
- [18] QI D, FEI T, LIU H, YAO H, WU D, LIU B. Development of multiple heart-cutting two-dimensional liquid chromatography coupled to quadrupole-orbitrap high resolution mass spectrometry for simultaneous determination of aflatoxin b1, b2, g1, g2, and ochratoxin a in snus, a smokeless tobacco product[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2017, 65(45): 9923.
- [19] CHEN M, YAN G, WANG X, HUANG Z, SHAO X, WU D, ZHANG X, LIU B. Investigating the proteomic expression profile of tobacco (*nicotiana tabacum*) leaves during four growth stages using the iTRAQ method[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2019, 411(2): 403-411.
- [20] LIN H, WANG Y, WANG T, WU D, LI G, DENG C. Combined analysis of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol and cotinine in urine by heart cutting two-dimensional-LC-MS/MS[J]. *Separation Science Plus*, 2018, 1(12): 776-784.
- [21] JASSBI A R, ZARE S, ASADOLLAHI M, SCHUMAN M C. Ecological roles and biological activities of specialized metabolites from the genus *nicotiana*[J]. *Chemical Reviews*, 2017, 117(19): 12227-12280.
- [22] 陈振玲,张浩博,周宛虹,沙云菲,刘百战,罗国安. 烟草中 3-氧代- α -紫罗兰醇- β -D-吡喃葡萄糖苷的分离鉴定及其热解产物分析[J]. *烟草科技*, 2008(7): 28-31.
- CHEN Zhenling, ZHANG Haobo, ZHOU Wanhong, SHA Yunfei, LIU Baizhan, LUO Guoan. Isolation and identification of 3-oxo- α -ionol- β -D-glucopyranoside from tobacco and analysis of its pyrolytic products[J]. *Tobacco Science & Technology*, 2008(7): 28-31 (in Chinese).

(收稿日期:2020-07-02;修回日期:2020-12-23)