**鼻烟烟叶挥发性成分的GC-MS分析**

 白玛卓嘎，张成，李瑶瑶，王美辰，次仁格桑，李阳，张强英\*

（西藏大学理学院，西藏自治区拉萨市江苏路36号，850000）

**摘要：**采用挥发性提取器对鼻烟烟叶中的挥发性成分进行了提取和分离，用气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)进行检测，提取并鉴定了50种以上的挥发性组分，并对每种组分进行了定量分析。烟叶中的挥发性组分符合以下规律：总醇类＞总酮类＞总酯类＞总酸类，采用本方法成功建立了检测西藏鼻烟烟叶样品中挥发性组分的方法。

**关键词：**鼻烟；烟叶；挥发性成分；气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)

**Gas Chromatography-Mass Spectrometer (GC-MS) Analysis on the Volatile Components in Tobacco Leaf of Snuff**

BAIMA Zhuoga, ZhANG Cheng, LI Yaoyao, WANG Meicheng，CIREN Gesang，LI Yang and Zhang Qiangying\* (School of Science, Tibet University, Lhasa 850000, China.)

**Abstract:** Volatile components in tobacco leaf of snuff were distilled and separated by volatile extractor, and then detected with Gas Chromatography-Mass Spectrometer (GC-MS) in this work. More than 50 kinds of volatile components were distilled and identified. Each component was carried on the quantitative analysis. The quantity of volatile components in tobacoo follows: total alcohols > total ketones > total esters > total acids. The proposed method was successfully applied to the determination of volatile components in tobacco leaf of Tibetan snuff samples.

**Keywords:** Snuff；Tobacco leaf；Volatile components; Gas Chromatography-Mass Spectrometer

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

作者简介：白玛卓嘎，女（1965-），西藏大学理学院副教授，主要研究方向为有机化学。本论文是西藏大学大学生创新训练项目阶段性成果（项目编号：201610694007）。\*通讯作者：张强英, E-mail: 15089054059@163.com

烟草是我国重要的经济作物之一，其种植面积和总产量均居世界第一位[1]。

烟草及其制品是嗜好性消费品。西藏藏区农牧民有吸鼻烟的嗜好，鼻烟是一种烟草经研磨制成的物质，具有提神醒脑，通七窍，消宿痰，舒经络，驱寒冷、忘疲倦和散风湿等药用价值[2]。在西藏本地，鼻烟主要包含以下四类[3]：烟叶石鼻烟，烟叶藏草药灰鼻烟，烟叶草木灰鼻烟和烟叶粪灰鼻烟，其中，以吸食烟叶石鼻烟最多。烟叶石鼻烟中的岩石成分主要为菱镁矿和角闪石。孙炜[4]等人研究了那曲地区和日喀则市仁布县鼻烟中的岩石全化学成分及鼻烟理化性质，不同产地所含有的化学成分不尽相同。主要含有二氧化硅、铁铝氧化物、氧化钙、氧化镁、氧化钾和氧化钠等。由于鼻烟中含有微粒粉尘，长期吸入微粒状物质，能直接接触呼吸道粘膜，从而引起呼吸道炎症，久而久之，还会引起尘肺病。此外，鼻烟中的烟草组分含有烟碱（尼古丁）和毒性致癌物质（吡啶、糠醛、焦油、甲醛和酚类等），长时间吸食鼻烟者会患有慢性头痛，高血压，慢性鼻炎等病症，并且长时间吸食会成瘾。

 孙炜[4]等人已研究了鼻烟中岩石的全化学分析。国内烟草化学研究基本上以烟草和烟气化学成分分析为中心开展的研究内容，童红武[5]等人采用气相色谱（GC）和气相色谱-质谱（GC-MS）联用检测了烟叶中性挥发性成分，提取并鉴定了数十种烟叶中性挥发性成分，分析出了烟草中57种主要中性挥发性成分的含量。Wu[6]等人采用液液萃取（LLE）结合液相色谱串联质谱(LC-MS)检测技术，提出了一种简单、灵敏检测鼻烟样品中亚硝基肌氨酸NSAR (nitrososarcosine)的方法，检出限可以达27.3 ng g-1，在干鼻烟中检测出了551 ng g-1较高含量的亚硝基肌氨酸，而湿鼻烟中的含量很低。烟叶的种类较多，加之不同地区环境的影响，使得不同烟草制品中的化学成分复杂而且含量悬殊较大。目前国内外对于鼻烟的化学成分的研究仍然存在欠缺，关于鼻烟和烟叶中化学成分分析和评价方面的研究工作报道的较少。

 本工作采用环烷烃对烟叶的挥发性成分进行提取和分离，采用气相色谱仪-质谱联用仪(GC-MS)对提取出的组分进行检测，表征了分离出的各种有机活性成分的结构，并对其含量进行了定量分析与评价。对了解国内各种鼻烟的挥发性成分，烟草及其制品的质量、摄入安全的评价，以及可再生资源的利用方面都具有重要意义。

**1  材料与方法**

**1.1实验仪器及试剂**

 **仪器：**植物样品粉碎机（FZ102型）、挥发性成分提取器、6890-5975C型色谱-质谱联用仪（GC-MS，安捷伦公司）、电子天平、量筒、玻璃棒、圆底烧瓶、烧杯和锥形瓶。

 **试剂：**四种不同品种的烟草样品均购置于拉萨当地（西藏，中国），分别命名为1#、2#、3#和4#。图1是1#号样品的外观图，环己烷试剂购于国药集团化学试剂有限公司（上海，中国），标准物质皆购于Sigma-Aldrich (St. Louis，MO，USA)。

 图1 1#号样品的外观图

**1.2烟草样品的预处理**

 将烟草样品进行干燥处理后，准确称量30.0 g，并用FZ102型植物样品粉碎机将其完全粉碎，过筛（100目）后，保存于封口袋中。

**1.3 烟叶中挥发性成分提取**

 准确称取粉碎后的烟叶样品10 g于烧瓶中，加入40 mL的环己烷，振荡3 h后，采用挥发性成分提取器提取4 h，保持温度在130 oC，提取后的样品浓缩至1 mL。

**1.4 分析鉴定**

**GC-MS条件[7]：**毛细柱HP-5MS (30m×0.25mm×0.25µm)，分流/不分流进样口，温度为260 oC，He气载气；柱流量1.0 mL/min，程序升温: 50 oC (1min)→160 oC（2min）→280 oC (15 min)；离子源：EI电离源；电子能量：70 eV；扫描范围：35~455amu。

**定性分析：**挥发性成分的定性过程，参考文献[8]和文献[9]的方法，是将未知挥发性物质的质谱图与第7版Wiley库 (Wiley, New York, NY)和NIST02 (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg MD)中物质的质谱图进行比较分析，并结合未知物质的质谱图和保留时间与标准物质在相同条件下的质谱图和保留时间相比较，进一步确定未知组分的定性分析。

**定量分析：**挥发性组分的定量分析使用内标法。设所有物质的相对校正因子为1.00 (F=1.00)[10]，将烟叶中含有的所有挥发性组分的含量之和计为100%，利用已知浓度的标准物质在相同的检测条件下所得的相对校正因子从而计算未知组分含量。

**2结果与讨论**

烟叶中主要化学成分的含量对烟叶品质有重要的影响，因此，烟叶化学成分作为衡量烟叶品质的一项重要指标。本工作采用挥发性成分提取器对市场上购买的四种烟草进行了挥发性成分的提取，每种烟叶样品提取后浓缩至一定体积，第1#和2#号样品中提取到的精油为1 mL，第3#号和4#样品提取到的精油分别为0.2 mL和0.5 mL，采用GC-MS分析方法对其中含有的挥发性成分进行鉴定。四种原料烟叶中的挥发性成分如表1所示，可以看见，四种烟叶原料中分别检测到14种、29种、24种和27种挥发性组分。原料烟叶含有酮类、醇类、酸类、酯类和烯烃类等挥发性成分，其中，主要组分均为叶绿醇，分别占94.3%、88.5%、79.5%和50.8%，而其它挥发性成分含量差别较为明显。表2是四种烟叶原料中总酮类、总酯类、总酸类和总醇类的含量。

表1 烟叶中挥发性成分相对百分含量（%）

Tab.1 The relative percentage of volatile components in tobacco leaf

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 保留时间 | 成分 | CAS | 相对百分含量 % |
| 1# | 2# | 3# | 4# |
| 2.78 | 甲苯 | 108-88-3 | 0.28 | 0.38 | 0.31 | 1.84 |
| 3.53 | 2,4-二甲基-1-庚烯 | 19549-87-2 | - | 0.04 | - | 0.23 |
| 5.66 | 1,1-二甲基-2-正丙基环己烷 | 81983-71-3 | - | - | - | 0.02 |
| 6.33 | 1-十四烯 | 1120-36-1 | - | - | - | 0.22 |
| 8.41 | 2-苯基-2-丁烯醛 | 4411-89-6 | - | - | - | 0.07 |
| 8.75 | 2-Isopropyl-5-methyl-1-heptanol | 91337-07-4 | - | - | - | 0.52 |
| 9.15 | 尼古丁 | 54-11-5 | - | 0.5 | 0.13 | 0.45 |
| 9.24 | 茄酮 | 54868-48-3 | 0.13 | 0.49 | 1.01 | - |
| 9.48 | β-大马酮 | 23726-93-4 | 0.1 | - | - | 0.08 |
| 9.74 | α-大马酮 | 35044-68-9 | - | - | 0.11 | - |
| 9.95 | 3,7,11-三甲基-1-十二醇 | 6750-34-1 | - | - | - | 0.18 |
| 10 | β-二氢紫罗兰酮 | 17283-81-7 | - | - | - | 0.91 |
| 10.01 | 香叶基丙酮 | 689-67-8 | 0.06 | 0.09 | 0.33 | 0.64 |
| 10.36 | β-紫罗兰酮 | 14901-07-6 | - | 0.09 | 0.22 | - |
| 10.42 | β-紫罗酮 | 79-77-6 | - | - | - | 0.09 |
| 10.68 | α-依兰二烯 | 31983-22-9 | - | - | - | 0.32 |
| 10.81 | 1H-Benzocycloheptene | 3853-83-6 | - | 0.04 | - | - |
| 10.95 | 叔十六硫醇 | 25360-09-2 | - | - | - | 0.45 |
| 11.13 | 橙花叔醇 | 7212-44-4 | - | - | - | 0.14 |
| 11.15 | 假紫罗兰酮 | 3548-78-5 | - | - | - | 0.29 |
| 10.36 | ALPHA-大马酮 | 35044-68-9 | 0.06 | - | - | - |
| 11.15 | 4,7,9-[巨豆三烯-3-酮](http://www.anychem.com/dict/detail/FbjyYr.html) | 38818-55-2 | 0.14 | 0.13 | 0.38 | 0.5 |
| 11.31 | 肉豆蔻醛 | 124-25-4 | - | 0.05 | 0.08 | - |
| 11.34 | [Β-瑟林烯](http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_CN_CB41175260.htm) | 17066-67-0 | - | 0.04 | - | - |
| 11.52 | 3,7,11-三甲基-1-十二烷醇 | 6750-34-1 | - | 0.19 | - | - |
| 11.79 | 1-十六烷醇 | 36653-82-4 | - | - | 0.13 | - |
| 11.79 | 金钟柏醇 | 29484-47-7 | - | - | - | 0.34 |
| 11.84 | 绿花白千层醇 | 552-02-3 | - | - | - | 0.92 |
| 12.09 | 棕榈醛 | 629-80-1 | - | 0.23 | 0.45 | - |
| 12.23 | 2,10-二甲基-6-亚甲基十一烷 | 33717-93-0 | - | 0.17 | - | - |
| 12.23 | 2-己基-1-癸醇 | 2425-77-6 | - | - | 0.26 | - |
| 12.4 | [3,7,11-三甲基-1-十二烷醇](http://www.hxchem.net/products/prodsearch.php?id=6750-34-1) | 6750-34-1 | - | - | - | 1.27 |
| 12.52 | 环氧柏木烷 | 29597-36-2 | - | 0.1 | 0.12 | - |
| 12.57 | 5-十九碳烯 | NA | 0.2 | - | - | - |
| 12.66 | Isoamobrox | 100679-85-4 | - | 0.03 | - | - |
| 12.92 | Thujopsene-(12) | NA | - | 0.09 | - | - |
| 12.92 | Farnesyl bromide | 6874-67-5 | - | - | 0.2 | - |
| 12.2 | 5-十九碳烯 | NA | 0.2 | - | - | - |
| 13.05 | 叶绿醇 | 102608-53-7 | 94.3 | 88.5 | 79.5 | 50.8 |
| 13.08 | 植酮 | 502-69-2 | - | 1.07 | 0.98 | 12.2 |
| 13.12 | Murolan-3,9(11)-diene-10-peroxy | NA | - | - | - | 0.44 |
| 13.4 | 正十九烷 | 629-92-5 | - | - | 0.38 | - |
| 13.55 | 香紫苏醚 | NA | - | 0.24 | - | - |
| 13.58 | 法尼基丙酮 | 1117-52-8 | - | 0.81 | - | 4.19 |
| 13.64 | 1,13-十四碳二烯-3-酮 | 58879-40-6 | - | - | 0.3 | - |
| 13.64 | 1,3,6,10,14-Hexadecapentaene,3,7,11,15-tetramethyl-,(3E,6E,10E) | 77898-97-6 | - | - | - | 0.27 |
| 13.74 | 异植物醇 | 505-32-8 | - | - | 0.12 | 0.42 |
| 13.83 | 棕榈酸 | 57-10-3 | - | - | 0.74 | - |
| 13.89 | 亚麻酸甲酯 | 301-00-8 | - | - | - | 13.1 |
| 14.06 | 二十烷 | 112-95-8 | - | - | 0.19 | - |
| 13.64 | 1,13-十四碳二烯-3-酮 | 58879-40-6 | 0.47 | 0.14 | - | - |
| 13.74 | 3,5,11,15-四甲基已烯-1-醇 | NA | - | 0.1 | - | - |
| 14.62 | 西柏烯 | 1898-13-1 | - | 0.51 | - | - |
| 14.62 | Verticiol | 70000-19-0 | - | - | 1.14 | - |
| 14.71 | 氧甲氢龙 | 53-39-4 | - | 0.47 | - | - |
| 14.06 | 棕榈酸 | 57-10-03 | 0.42 | - | - | - |
| 14.32 | 3,7,13-三甲基-10-(2-丙基)-2,6,11-环十四碳三烯-1,13-二醇 | 7220-78-2 | 0.18 | - | 0.35 | - |
| 14.87 | 孕烯醇酮 | 145-13-1 | 1.08 | - | 1.38 | - |
| 14.92 | 美替诺龙 | 153-00-4 | 0.38 | - | - | - |
| 14.93 | 7α(H),21β(H)-30去甲何帕烷 | 53584-60-4 | - | 0.1 | - | - |
| 14.81 | 植物醇 | 150-86-7 | - | 1.03 | - | - |
| 15.03 | 脱氢表雄甾酮 | 53-43-0 | 0.19 | - | - | - |
| 15.3 | 二十二烷 | 629-97-0 | - | 0.06 | - | - |
|

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 15.4 | 香紫苏醇 | 515-03-7 | 0.17 |

 | 香紫苏醇 | 515-03-7 | - | 0.17 | 0.17 | - |
| 15.75 | 3,7,13-三甲基-10-(2-丙基)-2,6,11-环十四碳三烯-1,13-二醇 | 7220-78-2 | - | 0.14 | - | - |

**2.1酮类**

酮类物质对烟香起着重要的作用。酮类物质因具有明显的致香作用，能够赋予烟气不同的烟草香特征，从而保证卷烟的香韵风格，突出卷烟清甜香韵，维持烟气浓郁醇清的香气。四种烟叶原料中均检测到9种以上的酮类物质，其中包括：茄酮、大马酮、香叶基丙酮、巨豆三烯酮、孕烯醇酮等，与文献[7]报道的酮类物质含量分布一致。从表2中可见，4#烟叶原料中的总酮类物质含量最高，占总挥发性成分的19.0%，是其它烟叶样品酮类含量的3-7倍。

**2.2酯类**

酯类挥发性物质对烟草香气和气味有着重要的影响，内酯类成分可赋予卷烟烟气清甜和凉香味道，起到消除刺激的作用。四种烟叶样品中仅2#和4#样品中检测到酯类物质，分别是氧甲氢龙和甲酯，其它样品中均未检出。但4#样品中酯类物质的量是1#样品含量的28倍，其原因可能是烟草存放时间的不同和生长的地理位置和环境因素导致的。

**2.3酸类**

烟叶原料中的酸性成分对烟气吸味和香气特征具有重要的贡献。合适剂量的酸类物质可以增加烟草制品的口感，但高浓度的酸却表现出刺激味。四种烟叶样品中仅1#和3#烟叶样品中检测到棕榈酸，其含量均小于1%，其它样品均未检出。

**2.4醇类**

醇类物质是烟气香味的重要来源之一。四种烟叶样品中检测到的醇类物质主要包括：叶绿醇、香紫苏醇、1-十六烷醇、2-己基-1-癸醇和异植物醇等，其中叶绿醇含量最高。4种烟叶样品中的醇类物质的含量在55.5-96.2%之间，均高于其它组分。1#样品中醇类物质含量最高，醇类物质的含量高达96.2%，4#样品含量最低。烟草中醇类化合物是烟草香气来源的前驱体，能赋予烟草特别的香味。

**2.5 其它组分**

 烟叶中其它组分主要含有：甲苯、尼古丁、烷烃和烯烃类物质。其中备受关注的是尼古丁，它是一类有害物质，会使人上瘾或者产生依赖性，大剂量的尼古丁还能引起呕吐以及恶心，严重时会导致人死亡。仅1#烟叶中未检测到尼古丁，其它烟草样品中均不同程度的检测到尼古丁的存在，其含量仅占挥发性成分的0.13-0.50%之间。因此，烟叶的挥发性成分分析对评价烟草制品的质量和安全具有重要意义。

表2 烟叶原料中的主要酮类、酯类、酸类和醇类成分含量（%）

Tab.2 The content of total alcohols, total ketones, total esters and total acids in raw Tobacco leaf (%)

|  |  |
| --- | --- |
| 成分含量（%） | 样品 |
| 1# | 2# | 3# | 4# |
| 酮类 | 2.61 | 3.10 | 5.24 | 19.0 |
| 酯类 | - | 0.47 | - | 13.1 |
| 酸类 | 0.42 | - | 0.74 | - |
| 醇类 | 96.2 | 90.6 | 83.1 | 55.5 |
| 其它 | 0.48 | 2.30 | 1.33 | 3.35 |

综上所述，挥发性组分的含量基本符合以下规律：总醇类＞总酮类＞总酯类＞总酸类。四种烟草与已发表文献中烟叶的成分和含量具有一致性[11]，但某些成分和含量具有一定的差别。其中1#样品的差别最大，所鉴定出的化学成分较少，并且化学成分的类型差别也较大。2#、3#和4#样品与文献中报道的化学成分基本一致，但组分含量较少。原因可能来源于：烟草存放时间长短；烟草的生长环境差异；烟草品种的不同；烟草干燥处理工艺的差异。

**3 结论**

 本文通过气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)对西藏鼻烟烟叶中的挥发性成分进行了分析，提取并鉴定了50种以上的挥发性组分，不同烟叶的挥发性组分不尽相同，烟叶中的挥发性组分符合以下规律：总醇类＞总酮类＞总酯类＞总酸类。本工作对了解西藏鼻烟的质量和评价烟草制品的安全性和可再生资源性具有重要的指导意义。

**参考文献**

[1] 李春丽，毛绍春. 烟叶化学成分及分析. 昆明：云南大学出版社[M]. 2007.

[2] 张文杰. 鼻烟杂谈[J]. 烟草科技,1990(04): 46-48. ZHANG Wenjie. Snuff gossip[J]. Tobacco Science & Technology, 1990(04): 46-48.

[3] 孙炜. 江孜县吸鼻烟者100例调查报告[J]. 西藏医药，1979(01):50-58. SUN Wei. 100 cases report of Suction snuff in JiangZi county[J]. Tibetan Medicine, 1979(01):50-58.

[4] 孙炜，卓玛，白珍，等. 鼻烟对呼吸道及全身的危害[J]. 青岛医学院学报, 1981(02):74-78. SUN Wei, ZHUO Ma and BAI Zhen, et al. Snuff on respiratory and systemic risks[J]. Acta Academiae Medicinae Qingdao Universitatis, 1981(02):74-78.

[5] 童红武，方意，周博，等. 烟叶中性挥发性成分的GC和GC-MS分析[J]. 安徽农业科学，2007,35(18)：5465-5468. TONG Hongwu, Fang Yi，ZHOU Bo, et al. GC and GC-MS analysis on the neutral volatile components in tobacco leaf[J]. Journal of Anhui Agricultural Science, 2007, 35(18): 5465-5468.

[6] Wu, J., Determination of N-nitrososarcosine in tobacco and smokeless tobacco products using isotope dilution liquid chromatography tandem mass spectrometry. Analytical Methods, 2012. 4(10): 3448-3452.

[7] 杨蕾，杨清，李勇. 基于烟叶挥发性成分分析的卷烟叶组配方设计[J]. 烟草科技, 2010(8):10-17. YANG Lei, YANG Qing and LI Yong. Design of cigarette B lend based on analysis of volatile components in tobacco leaf[J]. Tobacco Science & Technology, 2010(8):10-17.

[8] Chung, H.Y., Volatile components in crabmeats of charybdis feriatus. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999. 47(6): 2280-2287.

[9] Stanfill, S.B., Concentrations of nine alkenylbenzenes, coumarin, piperonal and pulegone in Indian bidi cigarette tobacco. Food and Chemical Toxicology, 2003. 41(2): 303-317.

[10] Cai, J., Liu, B and Su, Q. Comparison of simultaneous distillation extraction and solid-phase microextraction for the determination of volatile flavor components. Journal of Chromatography A, 2001. 930(1): 1-7.

[11] 王树会，李天福，冉邦定. K326和云烟85不同部位烟叶挥发性成分分析[J]. 烟草科技, 2005(4)：35-37. WANG Shuhui, LI Tianfu and RAN Bangding. Analysis of volatile components in tobacco leaves from different stalk positions of cultivars, K326 and Yunyan 85[J]. Tobacco Science & Technology, 2005(4): 35-37.