



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102253159 B

(45) 授权公告日 2014. 02. 12

(21) 申请号 201110095372. 3

(22) 申请日 2011. 04. 15

(73) 专利权人 中国烟草总公司郑州烟草研究院  
地址 450001 河南省郑州市高新区枫杨街 2 号

(72) 发明人 刘绍锋 颜权平 王洪波 张晓兵  
谢复炜 刘惠民

(74) 专利代理机构 郑州中民专利代理有限公司  
41110

代理人 姜振东

(51) Int. Cl.

G01N 30/88 (2006. 01)

(56) 对比文件

朱忠 等. 《中上部不同成熟度烤烟烟叶与主要化学成分和香味物质组成关系的研究》. 《中国烟草学报》. 2008, 第 14 卷 (第 1 期),

审查员 瓮龙明

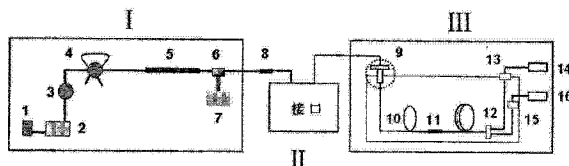
权利要求书2页 说明书6页 附图9页

(54) 发明名称

一种多维色谱联用技术分析烟草香味成分的方法

(57) 摘要

一种利用多维色谱联用技术分析烟草香味成分的方法, 包括以下步骤: 1、烟草香味成分的提取; 2、烟草香味成分的液相色谱-毛细管气相色谱/质谱在线分离分析: A、烟草香味成分的正相液相色谱分离; B、液相色谱流出组份分别储存在接口多位阀定量环中; C、待液相色谱流出组份收集完毕, 通过控制联用仪器接口中的十通阀; 使得储存在多位阀定量环中的馏分在载气推动下, 分别进入 GC/MS 进行分离分析。其突出优点是: 能够将烟草香味成分用液相色谱进行预先分离, 并在线联用接口, 将分离好的组份分别储存在定量环中, 然后各组份按沸点不同分别进 GC/MS 做准确性定量分析。不仅具有较好的正交分离性, 且具有更高的色谱峰容量和更好的分辨率, 操作步骤简单。



1. 一种利用多维色谱联用技术分析烟草香味成分的方法,其特征在于:所述的多维色谱联用技术是液相色谱-气相色谱/质谱在线联用技术,该方法包括以下步骤:

(1) 烟草香味成分的提取;

(2) 烟草香味成分的液相色谱-毛细管气相色谱/质谱在线分离分析:

A、烟草香味成分的正相液相色谱分离;

B、液相色谱流出组份分别储存在接口多位阀定量环中;

C、待液相色谱流出组份收集完毕,通过控制联用仪器接口中的十通阀;使得储存在多位阀定量环中的馏分在载气推动下,分别进入气相色谱/质谱联用仪进行分离分析;

所述液相色谱分离条件为:

色谱柱:氨基分析柱 250mm×1.0mm i. d×5 μ m. ;

流动相 A :正己烷;流动相 B :二氯甲烷/乙腈 66:34, v/v

洗脱梯度: 时间 min	0	5	6	45	50
流动相 A V/V	90%	90%	0%	0%	90%

进样体积:1 μ L

流动相流速:30 μ L/min

柱温:30℃

检测波长:254nm;

所述气相色谱/质谱联用分离分析条件为:

预柱:15m×0.53mm i. d.

分析柱:DB-5MS 30m×0.53mm i. d. ×0.50 μ m d. f.

进样口:冷柱头进样口

进样口压力:15.45 psi

电磁阀压力:14.78 psi

电磁阀切换时间:18min

进样速度:0.75 μ L/s

载气:氦气

第一维色谱柱流量:4 mL/min

第二维色谱柱流量:6 mL/min

限流管:2.9m×0.20mm i. d.

升温程序:60℃ 保持 18min,5℃ /min 升到 280℃ 保留 10min,

电离电压:70ev

定性定量分析:选择化合物的特征离子为定量离子,以其定量离子面积和内标定量离子面积比计算其相对含量。

2. 根据权利要求1所述的利用多维色谱联用技术分析烟草香味成分的方法,其特征在于:所述的烟草为烟叶或卷烟烟丝。

3. 根据权利要求1所述的利用多维色谱联用技术分析烟草香味成分的方法,其特征在于:烟草香味成分的提取是同时蒸馏萃取或是加速溶剂萃取。

4. 根据权利要求1所述的利用多维色谱联用技术分析烟草香味成分的方法,其特征在于:所述的多位阀是六位阀或是八位阀。

5. 根据权利要求 1 所述的利用多维色谱联用技术分析烟草香味成分的方法,其特征在于:所述的正相液相色谱分离选用氨基柱、氰基、硅胶或醇基极性分析柱。

## 一种多维色谱联用技术分析烟草香味成分的方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及烟草复杂体系分离分析方法,具体指一种多维色谱在线联用技术分离分析烟草香味成分,该方法利用样品前处理技术提取烟草香味成分,然后对提取的烟草香味成分做液相色谱-毛细管气相色谱/质谱在线联用分离分析,实现了对烟草香味成分在线、高效分离,并高灵敏检测的目的。

### 背景技术

[0002] 烟草中的化学成分相当复杂,且许多成分含量甚微。到目前为止,从烟草中已分离出上千种挥发性、半挥发性有机物。其中对卷烟吸食品质有重要影响的香味成分基本上都包含在这些挥发性、半挥发性有机物当中。由于这些挥发性、半挥发性香味成分中含有酸类、醇类、醛类、酮类、酯类、吡啶类、吡嗪类等不同结构、不同极性、甚至是不同酸碱性的化合物。因此它们被认为是烟草复杂体系中最难分离分析的一类烟草化学成分。

[0003] 早期烟草中的挥发性成分、半挥发性香味成分的分析工作,由于分离、纯化、鉴定上的困难,能分析鉴定的种类有限,对于许多微量成分的分析就更加困难。二十世纪五十年代以前,烟草及烟气组成的分离鉴定方法集中在经典的化学方法上,即将经过结晶或蒸馏的烟叶或卷烟烟气粒相物的馏出物分出中性馏分(脂肪烃、多环苯烃、酯类等)、酸性馏分(酸和酚)和碱性馏分(胺、生物碱等)。20世纪50年代后,气相色谱技术迅速发展,毛细管气相色谱仪及GC/MS联用技术在烟草中的挥发性、半挥发性成分分析中应用广泛,在了解烟草香味物质的组成和含量方面开展了大量工作。

[0004] 进入21世纪,多维色谱联用技术也已被用于烟草挥发性、半挥发性香味成分的定性定量分析。2004年,路鑫等应用GC/MS和GC×GC/TOFMS仪器对烟气粒相物中的中性馏分进行了表征。初步鉴定出1800多种烃类化合物,包括脂肪族链烃、芳烃和萜烯化合物。其中鉴定出重要萜烯类化合物的数目超过100种。2006年,李莉建立了GC×GC-TOFMS用于烟草中挥发性、半挥发性酸性成分和碱性成分的定量定性分析方法。很显然,多维色谱联用技术在解决烟草复杂体系的分离分析方面发挥了重要作用,大大提高了定性定量的准确性。然而,对全二维GC×GC-TOFMS来说,由于仪器价格过于昂贵,限制了它的推广使用。

[0005] 2009年,作者所在的实验室首次建立了液相色谱-气相色谱离线联用技术分离分析烟草挥发性、半挥发性成分的方法。在此基础上,通过引入液相色谱-毛细管气相色谱/质谱在线联用接口,研制出液相色谱-毛细管气相色谱/质谱在线联用仪器,并用于分离分析烟草香味成分。

### 发明内容

[0006] 本发明的目的正是针对现有技术中所存在的离线联用时操作步骤过于繁琐等不足,通过液相色谱-毛细管气相色谱/质谱在线联用而提供一种分离分析烟草香味成分的新方法。

[0007] 本发明的目的是通过以下技术方案来实现的:

[0008] 本发明的利用多维色谱联用技术分析烟草香味成分的方法包括以下步骤：

[0009] (1) 烟草香味成分的提取；

[0010] (2) 烟草香味成分的液相色谱 - 毛细管气相色谱 / 质谱在线分离分析：

[0011] A、烟草香味成分的正相液相色谱分离；

[0012] B、液相色谱流出组份分别储存在接口多位阀定量环中；

[0013] C、待液相色谱流出组份收集完毕，通过控制联用仪器接口中的十通阀；使得储存在多位阀定量环中的馏分在载气推动下，分别进入气相色谱 / 质谱联用仪进行分离分析。

[0014] 在本发明中，所述的烟草可以为烟叶，也可以是卷烟烟丝。

[0015] 步骤 (1) 中所述烟草香味成分的提取可以是同时蒸馏萃取，也可以是加速溶剂萃取。

[0016] 所述的多维色谱技术是液相色谱 - 气相色谱 / 质谱联用技术。所述的联用是指在线联用。

[0017] 所述的多位阀可以是六位阀，也可以是八位阀。

[0018] 所述的正相液相色谱分离可以选用氨基柱，也可以采用氰基、硅胶或醇基极性分析柱。

[0019] 所述液相色谱分离条件为：

[0020] 色谱柱：氨基分析柱 (250mm×1.0mm i. d×5 μ m.)；

[0021] 流动相 A：正己烷；流动相 B：二氯甲烷 / 乙腈 (66:34, v/v)

[0022] 洗脱梯度：时间(min)                      0            5            6            45            50

[0023]            流动相 A (V/V)                      90%    90%    0%    0%    90%

[0024] 进样体积：1 μ L

[0025] 流动相流速：30 μ L/min

[0026] 柱温：30℃

[0027] 检测波长：254nm。

[0028] 所述气相色谱 / 质谱联用分离分析条件为：

[0029] 预柱：15m×0.53mm i. d.

[0030] 分析柱：DB-5MS (30m×0.53mm i. d. ×0.50 μ m d. f.)

[0031] 进样口：冷柱头进样口

[0032] 进样口压力：15.45 psi

[0033] 电磁阀压力：14.78 psi

[0034] 电磁阀切换时间：18min

[0035] 进样速度：0.75 μ L/s

[0036] 载气：氦气

[0037] 第一维色谱柱流量：4 mL/min

[0038] 第二维色谱柱流量：6 mL/min

[0039] 限流管：2.9m×0.20mm i. d.

[0040] 升温程序：60℃ (保持 18min)5℃ /min 升到 280℃ (保留 10min)

[0041] 电离电压：70ev

[0042] 定性定量分析：选择化合物的特征离子为定量离子，以其定量离子面积和内标定

量离子面积比计算其相对含量。

[0043] 本发明的突出优点在于：能够将烟草香味成分用液相色谱进行预先分离，并在线联用接口，将分离好的组份分别储存在定量环中，然后各组份按沸点不同分别进 GC/MS 做准确定性定量分析。很明显，本发明通过液相色谱-毛细管气相色谱在线联用接口，实现了烟草香味成分的在线分析，避免了离线联用时操作过于繁琐的缺点。

#### 附图说明

[0044] 图 1 为本发明方法的分离过程示意图。

[0045] I，液相色谱；II，接口；III，气相色谱/质谱；1. 流动相储液瓶；2. 泵；3. 限流阀；4. 进样器；5. 液相色谱柱；6. DAD 检测器；7. 液相色谱工作站；8. 二通连接器；9. 冷柱头进样口；10. 预柱；11. 石英接头；12. 微流控制模块；13. FID 检测器；14. 色谱工作站；15. MS 检测器；16. 气质工作站。

[0046] 图 2 为本发明方法的接口结构示意图。

[0047] 图 3 为在线联用仪器的液相色谱分离谱图。

[0048] 图 4 在线联用仪器的 GC/MS 分析谱图 A 组（第 1 次收集，定量环-1）。

[0049] 图 5 在线联用仪器的 GC/MS 分析谱图 B 组（第 1 次收集，定量环-2）。

[0050] 图 6 在线联用仪器的 GC/MS 分析谱图 C 组（第 1 次收集，定量环-3）。

[0051] 图 7 在线联用仪器的 GC/MS 分析谱图 D 组（第 1 次收集，定量环-4）。

[0052] 图 8 在线联用仪器的 GC/MS 分析谱图 E 组（第 1 次收集，定量环-5）。

[0053] 图 9 在线联用仪器的 GC/MS 分析谱图 F 组（第 1 次收集，定量环-6）。

[0054] 图 10 在线联用仪器的 GC/MS 分析谱图 G 组（第 1 次收集，定量环-7）。

[0055] 图 11 在线联用仪器的 GC/MS 分析谱图 H 组（第 1 次收集，定量环-8）。

[0056] 图 12 在线联用仪器的 GC/MS 分析谱图 I 组（第 2 次收集，定量环-1）。

[0057] 图 13 在线联用仪器的 GC/MS 分析谱图 J 组（第 2 次收集，定量环-2）。

[0058] 图 14 在线联用仪器的 GC/MS 分析谱图 K 组（第 2 次收集，定量环-3）。

[0059] 图 15 在线联用仪器的 GC/MS 分析谱图 L 组（第 2 次收集，定量环-4）。

[0060] 图 16 在线联用仪器的 GC/MS 分析谱图 M 组（第 2 次收集，定量环-5）。

[0061] 图 17 在线联用仪器的 GC/MS 分析谱图 N 组（第 2 次收集，定量环-6）。

[0062] 图 18 在线联用仪器的 GC/MS 分析谱图 O 组（第 2 次收集，定量环-7）。

#### 具体实施方式

[0063] 本发明结合附图、实施例作进一步描述，但并不限制本发明：

[0064] 实施例卷烟烟丝碎末

[0065] 提取卷烟烟丝碎末香味成分

[0066] 同时蒸馏萃取装置一端接盛有 25 克烟丝碎末、350mL 水和 90g 氯化钠的 1000mL 平底烧瓶，使用可控制电压的电炉进行加热。同时蒸馏萃取装置的另一端接盛有 45mL 二氯甲烷的 100mL 烧瓶，该端在水浴锅上加热，水浴温度为 60℃。萃取完成后，加入 9g 无水硫酸钠，干燥过夜。后将萃取液浓缩至 2mL。

[0067] 、卷烟烟丝香味成分的液相色谱-毛细管气相色谱/质谱在线分离分析过程如图

1、图 2 所示：

[0068] (1) 烟草香味成分经液相色谱分离后,通过控制联用仪器接口 II (如图 2) 中的 8- 位阀 ;使得液相色谱流出组份分别储存在 8- 位阀的不同定量环中 ;

[0069] (2) 待液相色谱流出组份收集完毕,通过控制联用仪器接口 II (如图 2) 中的十通阀 ;使得储存在 8- 位阀定量环中的馏分在载气推动下,分别进入气相色谱 / 质谱联用仪进行分离分析 ;

[0070] (3) 当 8- 位阀中的八根定量环一次无法将液相色谱流出组份全部收集完时,待第一次收集的馏分分别进气相色谱 / 质谱联用仪分离分析后,可以进行第二次收集并进行气相色谱 / 质谱分离分析。

[0071] 在线联用仪器液相色谱分离条件 :

[0072] 色谱柱 :氨基分析柱 (250mm×1.0mm i. d×5 μ m.) ;

[0073] 流动相 A :正己烷 ;流动相 B :二氯甲烷 / 乙腈 (66:34, v/v)

[0074] 洗脱梯度 : 时间 (min)                    0        5        6        45        50

[0075]            流动相 A (V/V)                    90%    90%    0%    0%    90%

[0076] 进样体积 :1 μ L

[0077] 流动相流速 :30 μ L/min

[0078] 柱温 :30℃

[0079] 检测波长 :254nm

[0080] 在线联用仪器接口参数 :

[0081] 8- 位阀定量环体积 :60 μ L

[0082] 在线联用仪器 GC/MS 分离分析条件 :

[0083] Agilent6890-5973 气质联用仪配备 Agilent 专利技术 7890A 微板流路控制装置。

[0084] 预柱 :15m×0.53mm i. d.

[0085] 分析柱 : DB-5MS (30m×0.53mm i. d. ×0.50 μ m d. f.)

[0086] 进样口 :冷柱头进样口

[0087] 进样口压力 :15.45 psi

[0088] 电磁阀压力 :14.78 psi

[0089] 电磁阀切换时间 :18min

[0090] 进样速度 :0.75 μ L/s

[0091] 载气 :氦气

[0092] 第一维色谱柱流量 :4 mL/min

[0093] 第二维色谱柱流量 :6 mL/min

[0094] 限流管 :2.9m×0.20mm i. d.

[0095] 升温程序 :60℃ (保持 18min)5℃ /min 升到 280℃ (保留 10min)

[0096] 电离电压 :70ev

[0097] 定性定量分析 :

[0098] 选择化合物的特征离子为定量离子,以其定量离子面积和内标定量离子面积比计算其相对含量。

[0099] (4) 烟丝香味成分分离分析过程 :

[0100] 烟草碎末提取物经液相色谱分离后,分两次收集,得到15组组份,分别为A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L, M, N, O。谱图见附图3。

[0101] 对收集得到的15组组份,在载气推动下,分别进GC/MS做详细分析。气质分析谱图见图4-图18。

[0102] (5) 烟丝香味成分定性分析结果:

[0103]

物质名称	保留时间 (min)	匹配度	所属组份
2-己酮	18.085	90	K
3-庚酮	18.526	86	G
6-甲基-2-庚酮	18.686	80	G
2-庚酮	18.698	86	G
1,2,5,5-四甲基-1,3-环戊二烯	18.881	81	A
1,3-Cyclopentadiene, 5-(1,1-dimethylethyl)-	18.886	81	A
1,3-cyclopentadiene, 5,5-dimethyl-2-ethyl-	18.892	80	A
3-庚醇	19.024	82	G
3,4,4-三甲基-2-环戊烯-1-酮	19.304	85	A
2,6-二甲基吡啶	21.198	80	E
1-(1-Methyl-2-cyclopentenyl) ethanone	21.261	84	A
2-环己烯-1-醇	21.822	91	J
3-糠醇	21.822	90	L, M
2-乙酰呋喃	22.818	91	E, F, G
2,5-己二酮	24.082	85	J, K, L
环己酮	24.208	85	L, M
2-乙基-5-甲基-呋喃	24.282	82	K
2-蒎烯	24.368	87	A
2-环戊烯-1-酮	24.546	82	J, K, L, M
2-环己烯-1-酮	25.141	86	H
5-甲基-糠醇	26.863	93	L
2-正戊基呋喃	27.589	82	A
6-甲基-5-庚烯-2-酮	27.91	90	H
2-乙酰-5-甲基呋喃	29.964	95	A
对甲基苯酚	29.985	90	K
苯甲醇	31.137	95	L, M
2,3-二氢-1H-吡啶	31.149	80	G
异佛尔酮	31.732	92	B
邻甲基苯酚	31.818	90	L
顺- $\alpha$ , $\alpha$ -5-三甲基-5-乙烯基四氢化呋喃-2-甲醇	31.933	86	E
苯乙酮	32.093	90	B, C
2-乙酰吡咯	32.127	94	K
间甲基苯酚	32.419	91	N
茴品油烯	32.711	95	A
愈创木酚	33.214	93	K
芳樟醇	33.249	88	E
苯乙醇	34.53	99	K, L
1-乙烯基-4-甲氧基苯	35.921	93	A
1-乙烯基-4-甲氧基苯	36.15	87	B
2,4-二甲基苯酚	36.928	87	M
3-甲基苯乙酮	37.397	85	E
3-羟基-苯甲醛	37.752	85	K
$\alpha$ -松油醇	37.929	90	F
3,6-二甲基-2,3,3a,4,5,7a-四氢苯并呋喃	38.513	86	I
1H-Indene, 2,3-dihydro-1,1,4,7-tetramethyl-	38.587	91	A
2,3-二氢苯并呋喃	39.503	85	O
1,2,3,4-四氢-1,1,6-三甲基萘	41.946	95	A
吡啶	42.347	97	J
4-乙烯基愈创木酚	42.787	95	M
三醋酸甘油酯	43.514	85	I
茄酮	44.04	95	A, B, C, D, E, F, G, H
大马酮	45.07	99	A, B, C, D, E, F, G, H
$\beta$ -大马酮	46.151	86	A
4-(2,6,6-三甲基-1,3-环己二烯-1-基)-2-丁酮	46.163	80	G
4-硝基-苯酚	46.981	91	K
香叶基丙酮	47.823	95	H, I
beta-紫罗兰酮	49.15	70	I
5-甲基-4-己烯-3-酮	49.665	79	E
2H-Inden-2-one, 1,4,5,6,7,7a-hexahydro-7a-methyl-, (s)-	49.694	89	K
二氢猕猴桃内酯	50.901	96	G



2,3- 联吡啶	51.198	95	L
巨豆三烯酮 A	51.382	93	E
巨豆三烯酮 B	52.011	99	E
巨豆三烯酮 C	54.173	93	E
母菊莫	54.23	86	A
3- 羟基- $\beta$ - 大马酮	54.321	96	M, N
巨豆三烯酮 D	54.579	99	E
2-Cyclohexen-1-one, 4-(3-hydroxy-1-butenyl)-3, 5, 5-trimethyl-	54.655	78	L
6- 甲基喹啉	54.998	80	D
5- 苄醇	56.005	80	E
6,10,14- 三甲基-2- 十五烷酮	59.902	62	E
Cyclohexene, 5-methyl-3-(1-methylethenyl)-, trans-(-)-	60.004	91	I
1,3- 二甲基-1H- 咪唑	60.085	70	H
邻苯二甲酸二异丁酯	60.794	91	B
(E, E)-7, 11, 15-Trimethyl-3-methylene-hexadeca-1, 6, 10, 14-tetraene	62.247	90	A
金合欢基丙酮	64.351	97	F, G, H, I, J
十六酸甲酯	64.511	97	A, B
3- (4,8,12-Trimethyltridecy) furan	65.084	93	A
亚麻酸甲酯	68.181	93	A
亚麻酸乙酯	68.187	85	B
octadecanoic acid, methylester	68.77	80	A

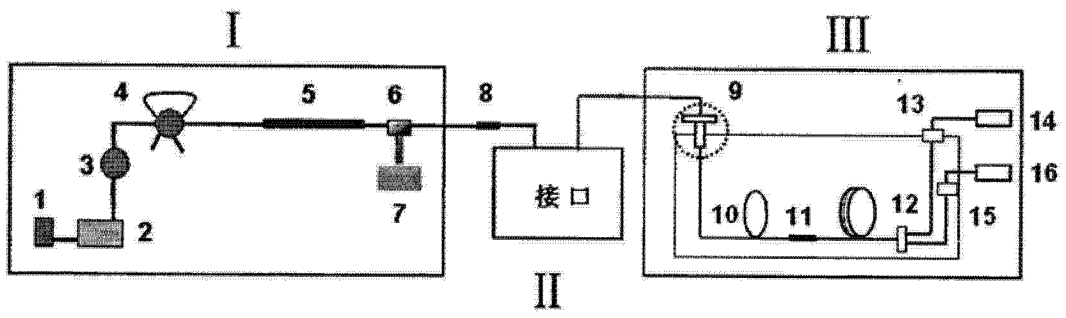


图 1

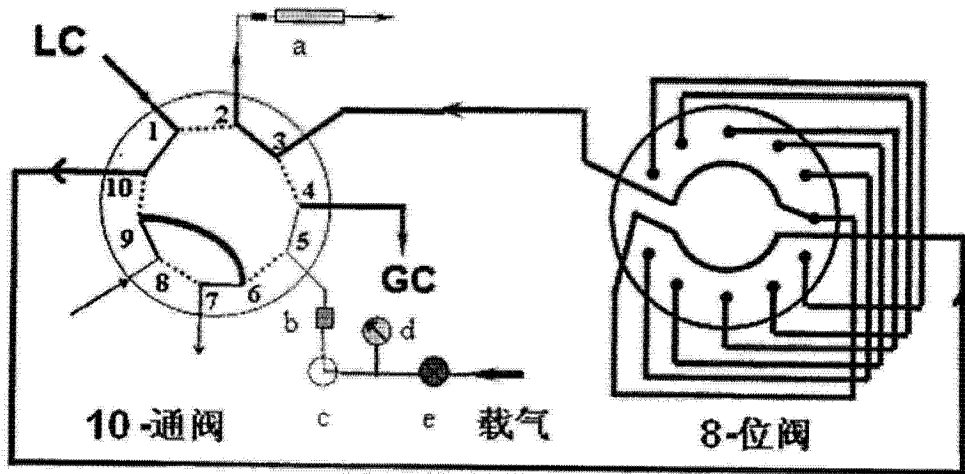


图 2

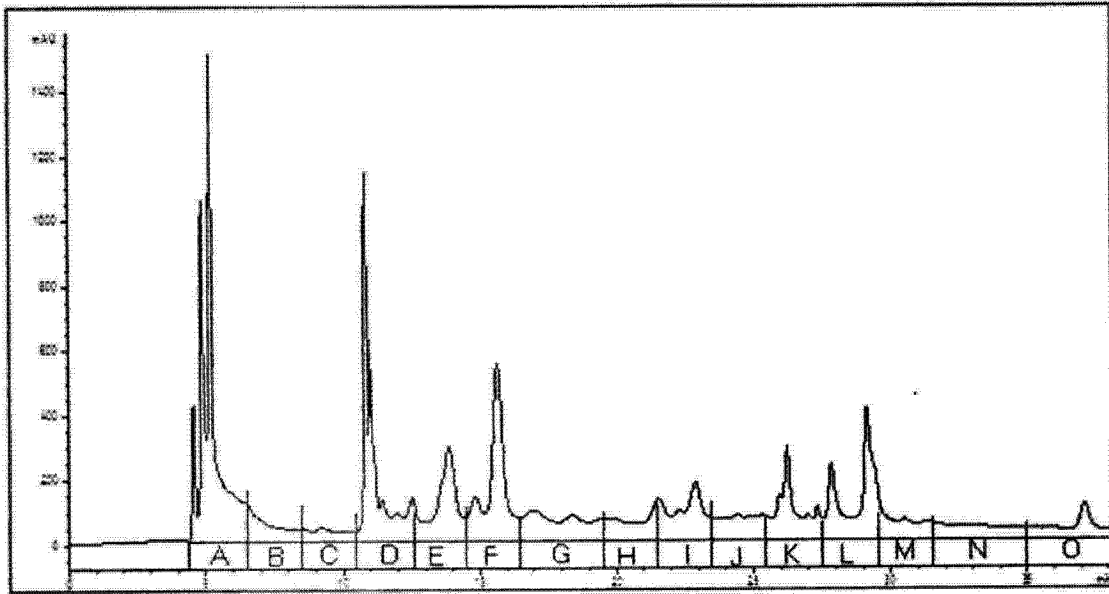


图 3

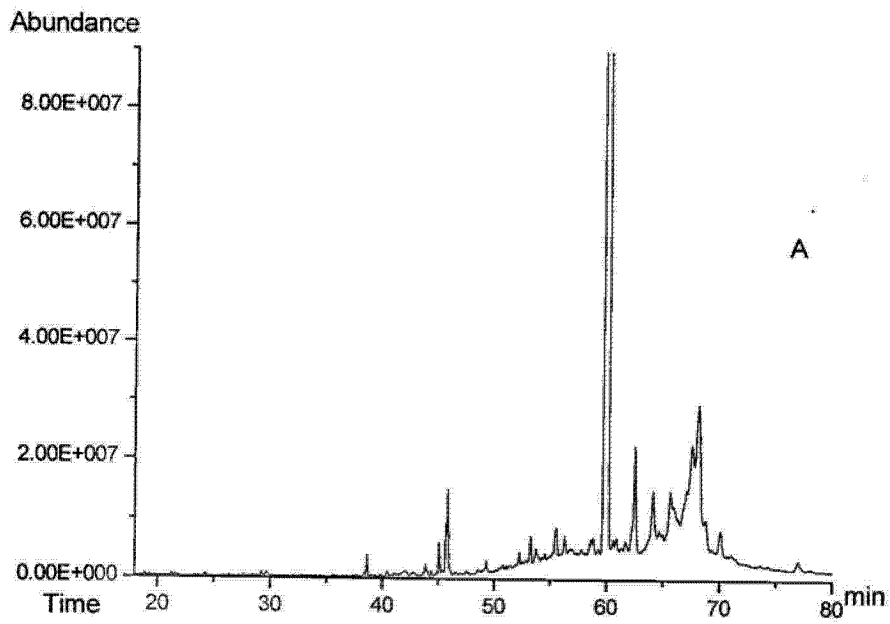


图 4

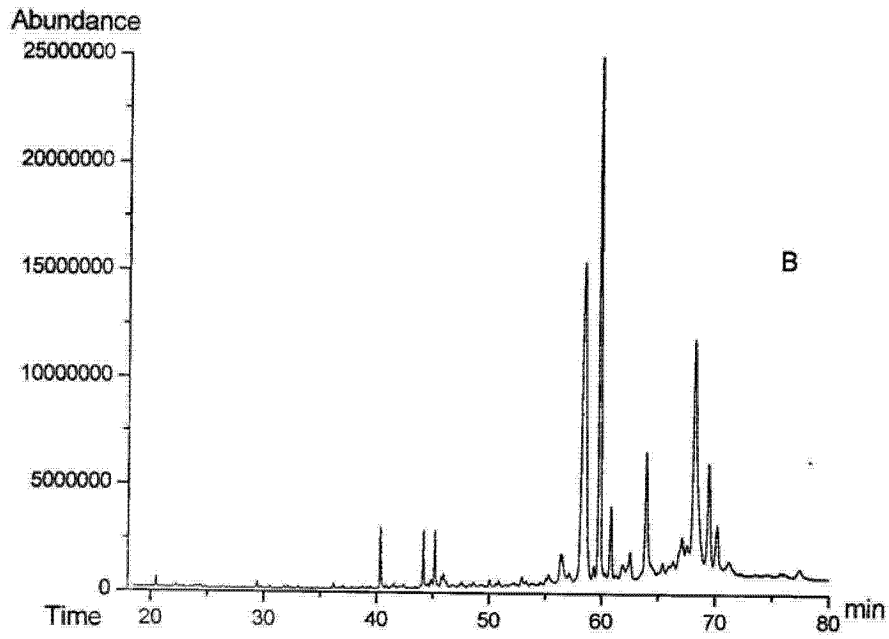


图 5

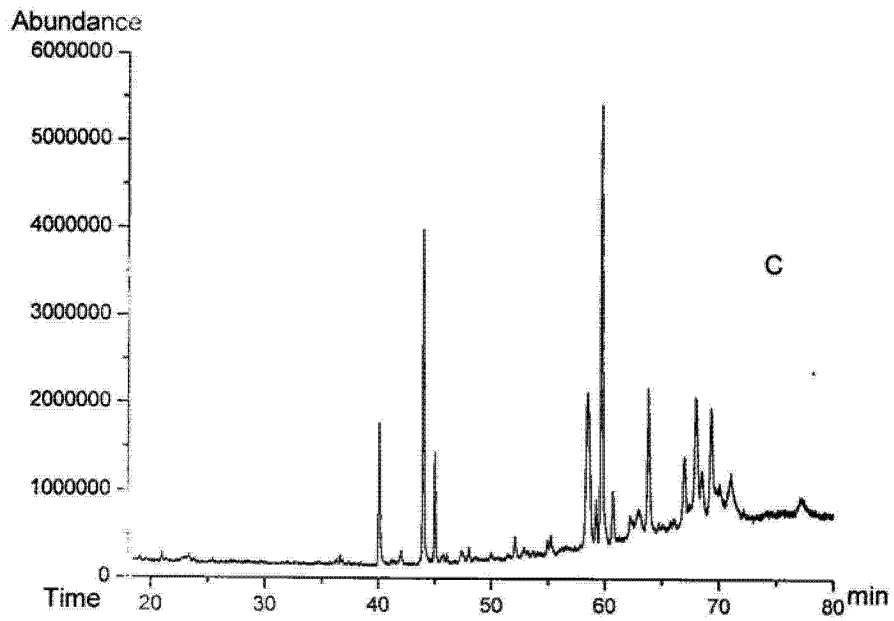


图 6

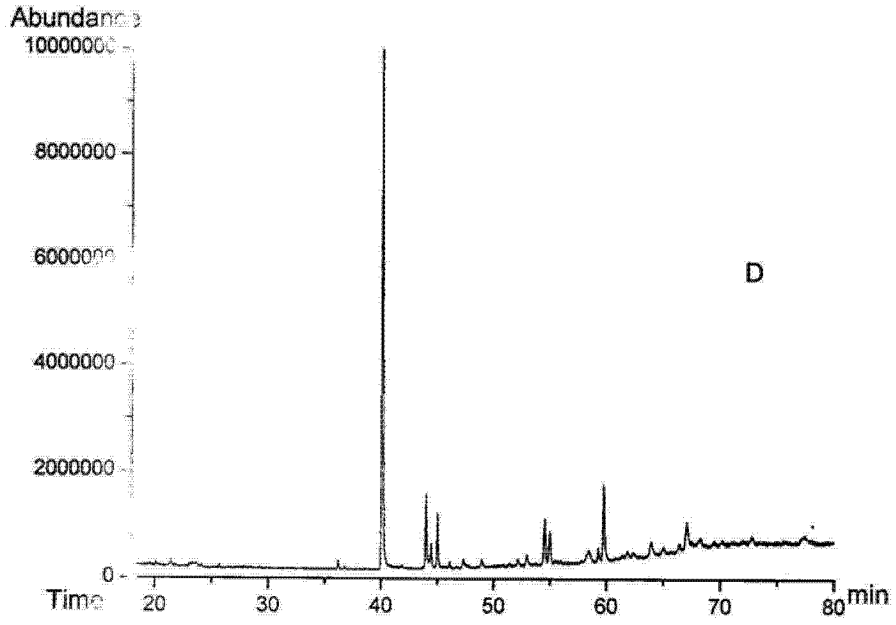


图 7

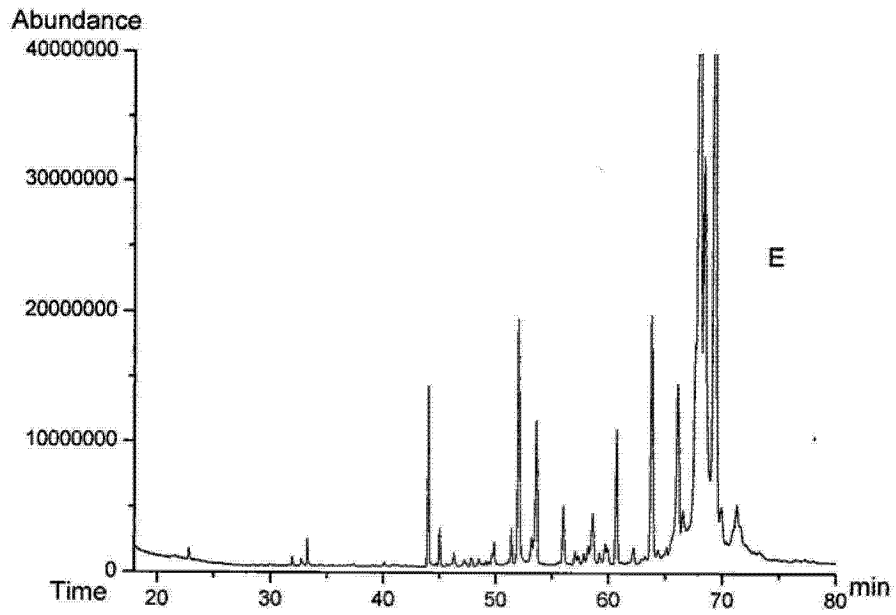


图 8

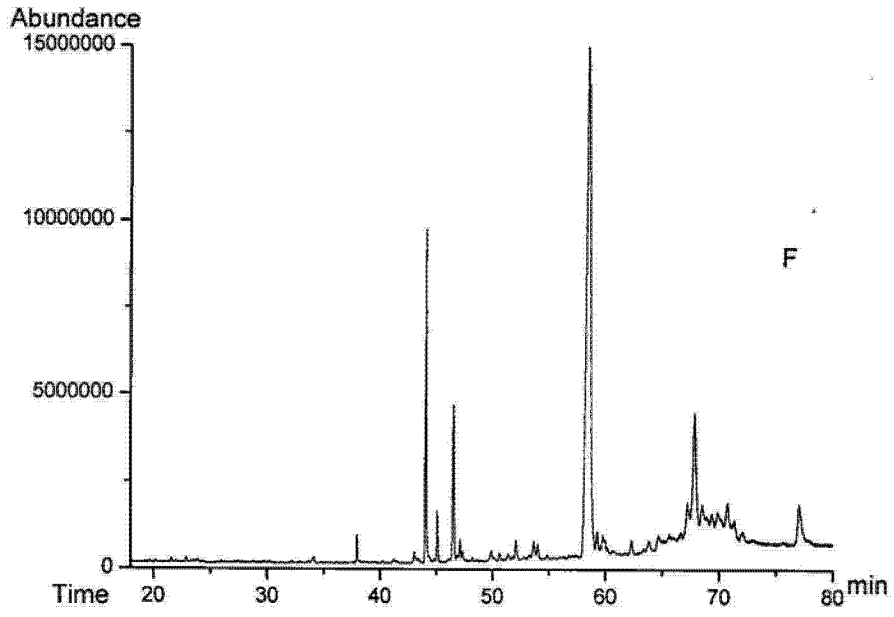


图 9

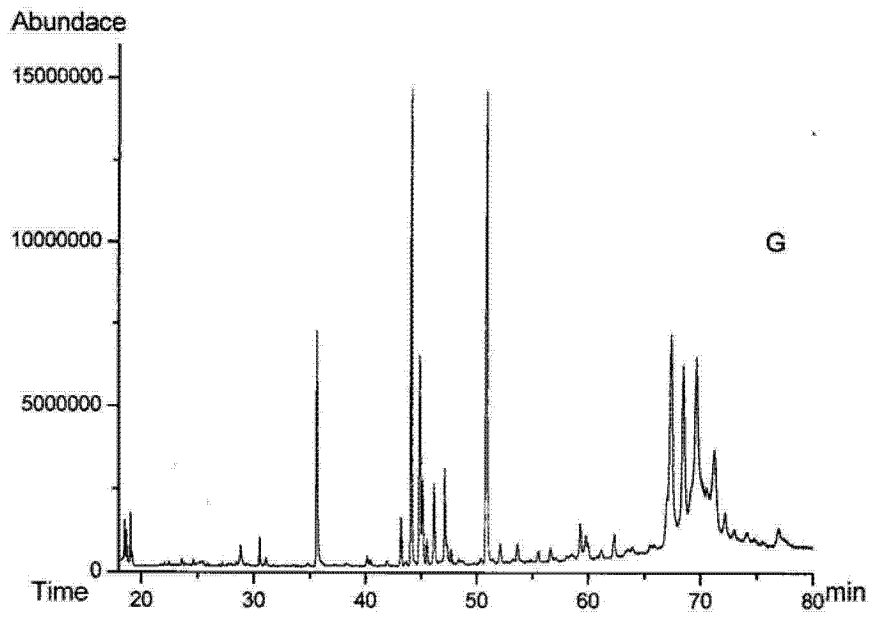


图 10

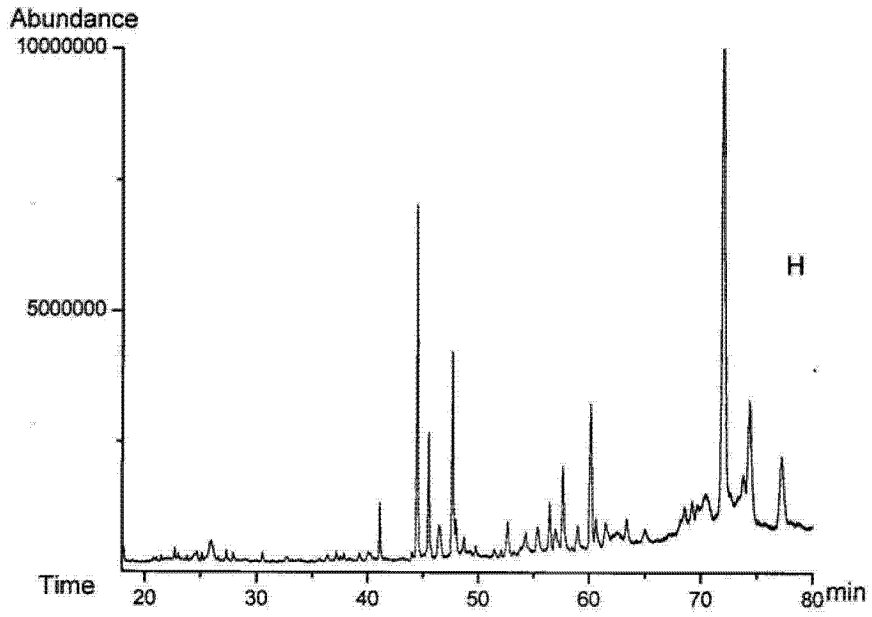


图 11

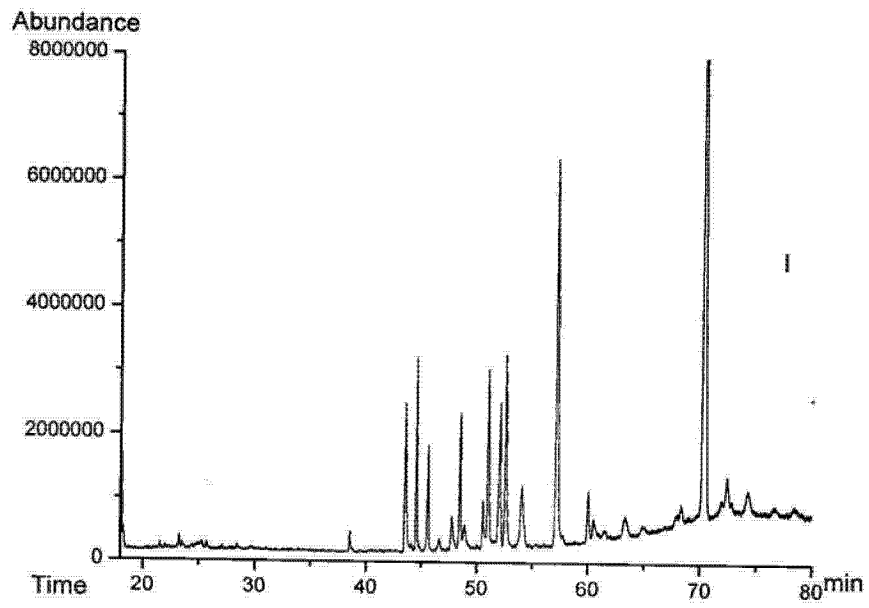


图 12

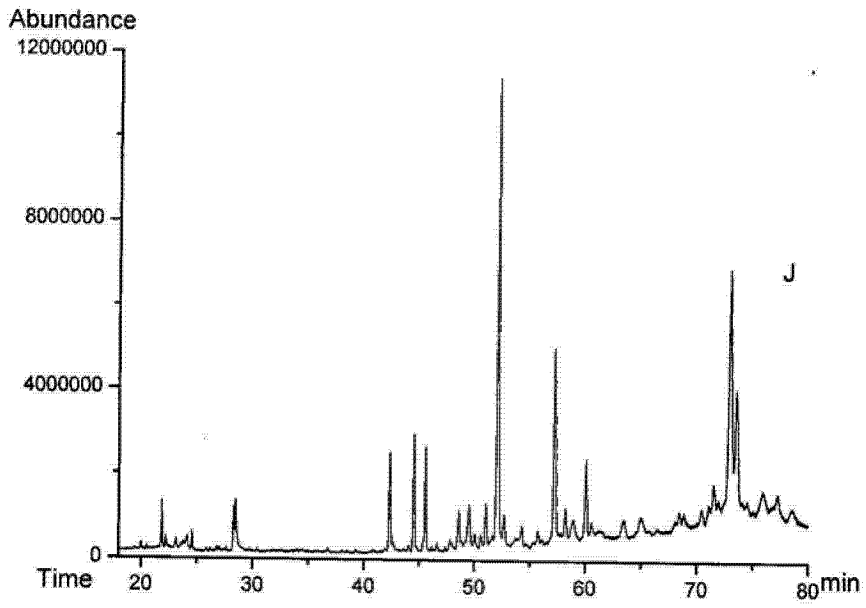


图 13

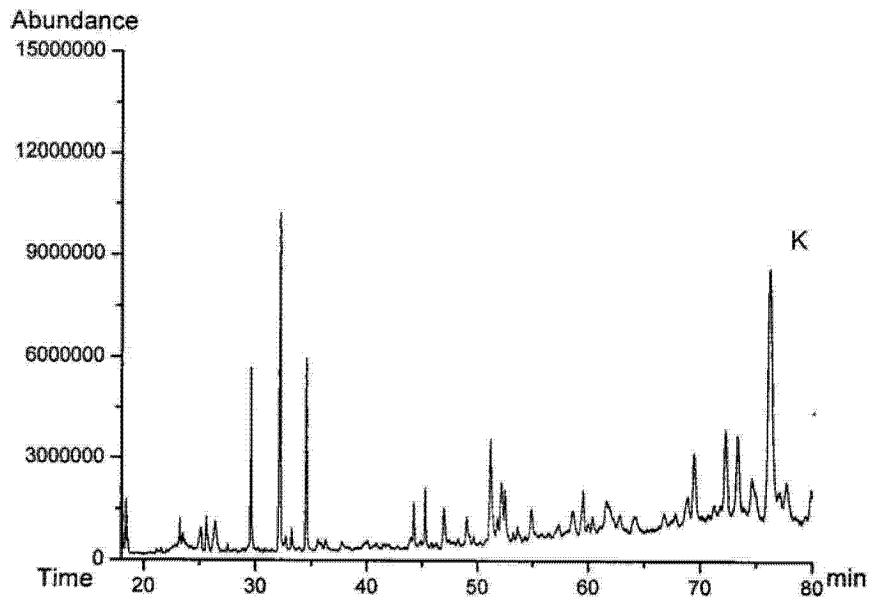


图 14



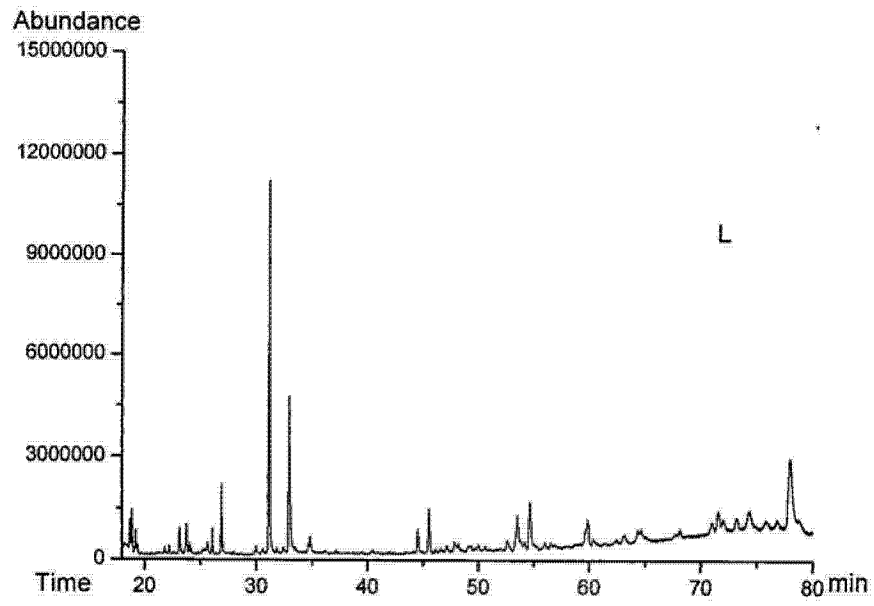


图 15

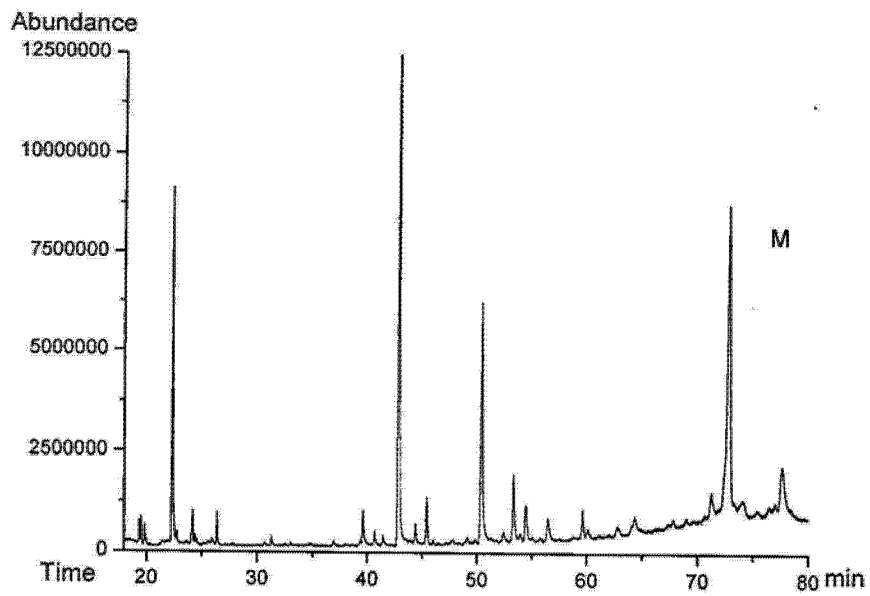


图 16

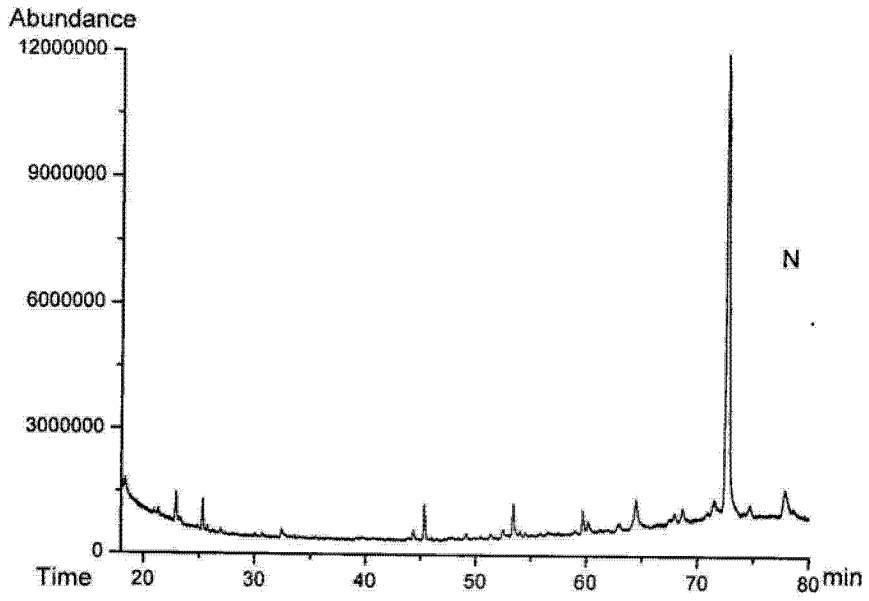


图 17

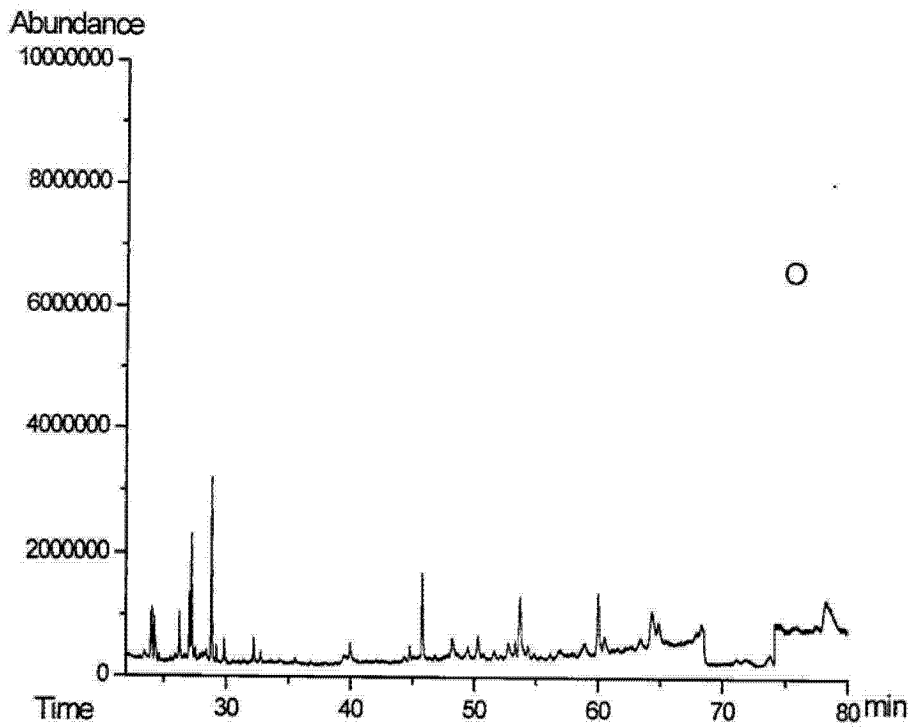


图 18