• 研究论文 •

谱图检索结合二级质谱定性分析烟草中挥发性成分

吴丽君^a 段 佳^a 李倩倩^a 曹金莉^b 刘 玮^a 闵顺耕^{*,a}

(^a 中国农业大学理学院应用化学系 北京 100193)

(^b 云南省烟草公司大理州公司 云南 671000)

摘要 采用同时蒸馏萃取法提取烟叶中的挥发性成分, 利用气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)分离测定, 通过谱库检索和匹配度定性结合色谱保留指数方法鉴定烟叶中挥发性成分, 并引入离子阱二级质谱对谱库检索匹配度差距小、含量低、背景干扰大的物质准确定性。采用谱图检索结合二级质谱定性共鉴定 144 个化合物, 其中 104 个化合物在烟草挥发性成分的文献中已有报道, 报道中有 9 个化合物是通过二级质谱定性, 其余 40 个化合物还未见报道。结果表明, 离子阱二级质谱定性的引入提高了对未知化合物定性的准确性和可靠性, 适合于烟叶这类复杂植物体系的化学组分研究。

关键词 同时蒸馏萃取; 烟叶; 挥发性成分; 离子阱二级质谱

Identification of the Volatile Components in Tobacco by Gas Chromatograph Coupled with Ion Trap Tandem Mass Spectrometry

Wu, Lijun^a Duan, Jia^a Li, Qianqian^a Cao, Jinli^b Liu, Wei^a Min, Shungeng^{*,a}

(^a Department of Applied Chemistry, College of Science, China Agricultural University, Beijing 100193)

(^b Tobacco Corporation of Yunnan Dali, Yunnan 671000)

Abstract The volatile components in tobacco leaves were extracted by simultaneous distillation and extraction (SDE), and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The volatile components in tobacco leaves were identified by library searching and spectral matching combined with retention index. Ion trap tandem mass spectrometry was introduced to identify some components which had tiny difference of library matching, low concentration, and complex matrix. 144 components were identified by library searching, spectral matching and ion trap tandem mass spectrometry in this paper. And 104 volatile components have been reported, 9 of them were identified by ion trap tandem mass spectrometry, the other 40 components have not been reported in the literature. So ion trap tandem mass spectrometry is the precise and reliable method to identify some unknown components, and is suitable for separation and identification of complex system.

Keywords simultaneous distillation and extraction; tobacco; volatile components; ion trap tandem mass spectrometry

烟叶挥发性成分是衡量其质量的重要指标^[1], 是烟叶的重要组成部分, 对烟的吃味具有决定作用^[2]。烟草中的挥发性、半挥发性致香成分提取通常采用溶剂萃

取^[3]、水蒸汽蒸馏萃取^[4]、同时蒸馏萃取^[5~7]、超临界流体萃取^[8]、固相微萃取^[9]、液相微萃取^[10]、顶空分析^[11]、吹扫-捕集^[12]等方法, 其中同时蒸馏萃取和减压蒸馏萃

* E-mail: minsng@263.net

Received May 2, 2011; revised October 10, 2011; accepted November 28, 2011.

Project supported by Tobacco Corporation of Yunnan Dali (No. 09YN016).

云南省烟草公司(No. 09YN016)资助项目。

取两种方法应用较为普遍^[13]。

烟叶和烟气中已被鉴定的化学成分有 6600 种, 其中, 烟叶中有 3800 种, 烟气中有 3900 种, 烟气中独有的有 2800 种。这些化学成分中约有三分之一与烟叶和烟气的香味有不同程度的关系, 有些香气明显, 有些较弱, 有些是产生致香物质的前体物和中间产物, 有些起和顺烟气, 增加香气效果的作用^[14]。烤烟中重要的香味物质包括: 新植二烯、巨豆三烯酮、二氢猕猴桃内脂、茄酮、乙酸吡咯、糖醇、 β -大马酮、异佛尔酮、二氢化异佛尔酮、 β -紫罗兰酮、香叶基丙酮、 β -二氢大马酮、 β -苯乙酮、芳樟醇、苯甲醇、6-甲基-5-庚烯-2-酮、苯甲醛、糖醛等^[15], 气相色谱-质谱联用仪适用于烟草挥发性成分的分和鉴定^[16]。

气相色谱-质谱法进行挥发性成分的鉴定主要通过谱图匹配度定性、保留指数定性以及准确质量定性三种方法。具有高的正匹配度和逆匹配度的谱库检索定性结果可信, 并可利用标准物进一步确证^[17]。但烟叶中挥发性成分复杂、含量差异较大, 尽管优化过提取和分离条件, 仍然会有重叠峰的出现, 因此仅利用谱库检索和匹配度来定性是不可靠的, 需要对谱图进行解卷积扣背景的处理, 再利用谱库搜索, 以提高谱库检索的准确性^[18,19]。烟叶挥发性成分中的同分异构体结构相似、质谱图差别小、准确质量相同, 文献报道利用保留指数进行定性, 具有较好的准确性和重现性^[20]。准确质量测定能够提供元素组成、质量准确值等化合物信息, 缩小谱库检索范围, 增加谱库检索的可靠性^[21]。

二级质谱逐渐应用于混合物结构鉴定^[22~24], 此方法具有独特的优势, 可以准确定性谱库检索匹配度差距小, 含量低, 背景干扰大的物质, 且在烟草中挥发性成分的鉴定还鲜有报道。本文采用同时蒸馏萃取法提取烟叶中的挥发性成分, GC/MS 分离, NIST 谱库鉴定挥发性成分^[25]的结构, 并引入二级质谱对部分难定性的峰进行了定性鉴定, 取得了满意的结果。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

选取云南省红大(B2F, C3F, C2L, X2F)烟叶, 烘干去梗粉碎, 过 60 目筛作为待测样品。

试剂: 二氯甲烷(天津, 99.5%色谱纯)、碳氢化合物校准标样(北京)、无水硫酸钠(北京, 分析纯)、氯化钠(北京, 分析纯)。

仪器: 同时蒸馏萃取装置(郑州)、天平(梅特勒 AB204-S), Varian 431GC-200MS, NIST2008 谱图库。

1.2 实验过程

1.2.1 提取方法

称取 20 g 粉碎烟样, 置于 1000 mL 烧瓶中, 加 350 mL 饱和氯化钠水溶液, 混合均匀, 取萃取液二氯甲烷 40 mL 置于 100 mL 烧瓶中, 分别连接在同时蒸馏萃取装置上。1000 mL 烧瓶用可调电炉加热至沸腾, 100 mL 烧瓶用 60 °C 水浴加热, 调整仪器装置高度, 使水和二氯甲烷液面平衡, 同时蒸馏萃取 2 h, 萃取液收集于三角瓶中。之后换上装有 200 mL 蒸馏水的烧瓶和 10 mL 二氯甲烷的烧瓶同时蒸馏提取 15 min 后收集, 将两次收集液合并。然后定容至 50 mL, 吸取 1 μ L 进气相色谱-离子阱质谱测定。

1.2.2 分离条件

GC 条件: 色谱柱: DB-5MS (30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μ m)熔融石英毛细管柱; 载气: He, 1.0 mL/min; 进样口温度: 280 °C; 起始柱温为 60 °C, 保持 2 min, 以 4 °C/min 的速率升至 135 °C, 再以 2 °C/min 的速率升至 175 °C, 最后以 5 °C/min 的速率升至 250 °C, 保持 2 min; 分流进样, 分流比: 10 : 1; 进样量: 1 μ L。

MS 条件: 溶剂延迟 5 min; 传输线温度: 250 °C; 离子阱温度: 220 °C; 腔体温度: 40 °C; 扫描质量数范围: 50~350 (amu)。

2 结果与讨论

2.1 NIST 谱库检索和匹配度定性结果

烟末挥发性成分的 GC/MS 总离子流图(图 1)所示, 扫描时间 60 min, 识别 400 多个色谱峰, 得到的质谱图通过 NIST 库检索对未知化合物定性。在总离子流图(图 1)中化合物 1 (17.762 min)的峰相对含量较高, 对其质谱图进行检索(图 2A), 正匹配度和逆匹配度都在 900 以上的化合物为烟碱(图 2B), 俗称尼古丁, 依据谱库检索和匹配度定性确定此峰对应的化合物为烟碱, 裂解情况如图 2C。由于烟草中挥发性成分十分复杂, 数量较多, 且相对含量差别也较大, 要完全将所有化合物都准确定性还存在一定困难。本文通过谱库检索, 结合物质的结构和性质, 以及参考化合物色谱保留指数, 定性正匹配度和逆匹配度都在 800 以上的化合物 144 个, 其中 95 个化合物在烟草挥发性成分的文献中已有报道, 另外 40 个化合物在烟叶挥发性成分的文献中尚未见报道, 结果见表 1, 还需进一步确证。另外有 9 个化合物结构需二级质谱进一步确认。

图 1 烟叶中挥发性成分总离子流图

Figure 1 The total ion chromatogram of the volatile components in cut tobacco

图 2A 化合物 1 的质谱图

Figure 2A The mass spectrum of component 1

图 2B 尼古丁标准质谱图

Figure 2B The standard mass spectrum of nicotine

图 2C 尼古丁的主要裂解

Figure 2C Fragmentation mechanisms of nicotine

2.2 二级质谱定性结果

烟叶中的挥发性成分复杂, 有些峰在谱库检索中出现多种结构的匹配度差距很小的现象, 导致定性有多种可能性, 如图 3A, 此质谱图(7.138 min)检索出现很多匹配度相近的化合物, 在正匹配度和逆匹配度 800~860 之间共有 30 个化合物, 无法确定准确的结构. 采用二级质谱对质荷比(m/z) 105 的离子加大轰击电压, 得二级质谱图 3B, 有 m/z 105, 77 的离子碎片, 说明有苯环, 且 m/z 105 的离子很稳定, 再根据谱库检索以及其他信息初步确定该化合物是苯甲酰甲酸, 裂解情况如图 3C. 类似的还有 5.507 min 的峰, 通过二级质谱鉴定该化合物

表 1 烟叶中挥发性成分
Table 1 Volatile components in tobacco leaves

保留时间	CAS 号	英文名	分子式(结构式*)
5.037 ^a	106-42-3	<i>p</i> -xylene	C ₈ H ₁₀
5.240 ^a	930-60-9	4-Cyclopenten-1,3-dione	C ₅ H ₄ O ₂
5.407 ^b	25414-22-6	2-Methoxyfuran	C ₅ H ₆ O ₂
5.488 ^a	629-20-9	1,3,5,7-Cyclooctatetraene	C ₈ H ₈
5.507 ^c	108-38-3	<i>m</i> -Xylene	C ₈ H ₁₀ ( )
5.579 ^a	1120-72-5	2-Methyl-cyclopentanone	C ₆ H ₁₀ O
5.701 ^b	15877-57-3	3-Methyl-1-pentanal	C ₆ H ₁₂ O
5.817 ^a	1192-62-7	Ethanone, 1-(2-furanyl)-	C ₆ H ₆ O ₂
6.146 ^b	3760-54-1	1-Formylpyrrolidine	C ₅ H ₉ NO
6.328 ^b	104-93-8	4-Methylanisole	C ₈ H ₁₀ O
6.478 ^a	3208-16-0	2-Ethylfuran	C ₆ H ₈ O
6.724 ^a	3857-25-8	(5-Methyl-2-furyl)methanol	C ₆ H ₈ O ₂
6.775 ^a	110-86-1	Azabenzene	C ₅ H ₅ N
6.796 ^a	928-68-7	2-Heptanone, 6-methyl-	C ₈ H ₁₆ O
6.879 ^b	103-65-1	<i>N</i> -Propylbenzene	C ₉ H ₁₂
7.038 ^a	620-02-0	2-Furancarboxaldehyde, 5-methyl-	C ₆ H ₆ O ₂
7.054 ^b	526-73-8	1,2,3-Trimethylbenzene	C ₉ H ₁₂
7.138 ^c	611-73-4	Benzoylformic acid	C ₈ H ₆ O ₃ ( )
7.350 ^a	22122-36-7	3-Methyl-2(5 <i>H</i>)-Furanone	C ₅ H ₆ O ₂
7.365 ^a	108-95-2	Phenol	C ₆ H ₆ O
7.572 ^c	110-93-0	6-Methyl-5-hepten-2-one	C ₈ H ₁₄ O ( )
7.676 ^a	22607-16-5	1,5-Heptadiene-3,4-diol, 2,5-dimethyl-	C ₉ H ₁₆ O ₂
7.733 ^a	3777-69--3	2-Pentylfuran	C ₉ H ₁₄ O
7.908 ^a	98-86-2	Acetophenone	C ₈ H ₈ O
8.144 ^a	500-22-1	3-Pyridinecarboxaldehyde	C ₆ H ₅ NO
8.200 ^b	24524-58-1	Bicyclo[3.1.0]hexane,6-isopropylidene	C ₉ H ₁₄
8.252 ^a	1003-29-8	2-Pyridinecarboxaldehyde	C ₅ H ₅ NO
8.332 ^a	4313-03-5	2,4-Heptadienal, (<i>E,E</i>)-	C ₇ H ₁₀ O
8.459 ^a	100-44-7	Benzyl chloride	C ₇ H ₇ Cl
8.619 ^b	62458-20-2	4,5-Bismethylene-1,3-dioxolan-2-one	C ₅ H ₄ O ₃
8.705 ^a	104-76-7	2-Ethylhexanol	C ₈ H ₁₈ O
8.784 ^b	766-90-5	Cis-beta-methylstyrene	C ₉ H ₁₀
8.869 ^b	32936-74-6	3-cyclobutene-1,2-dione	C ₄ H ₂ O ₂
8.953 ^a	100-51-6	Benzyl alcohol	C ₇ H ₈ O
9.166 ^a	2051-49-2	Hexanoic acid, anhydride	C ₁₂ H ₂₂ O ₃
9.263 ^a	122-78-1	Benzeneacetaldehyde	C ₈ H ₈ O
9.458 ^a	2082-59-9	Anhydride	C ₁₀ H ₁₈ O ₃
9.547 ^a	42739-26-4	Sorbic Acid Vinyl Ester	C ₈ H ₁₀ O ₂
9.672 ^a	1072-83-9	Ethanone, 1-(1 <i>H</i> -pyrrol-2-yl)-	C ₆ H ₇ NO
9.910 ^a	63169-61-9	2-Methylpentanoic anhydride	C ₁₂ H ₂₂ O ₃
9.991 ^a	104-87-0	<i>p</i> -Tolualdehyde	C ₈ H ₈ O

续表

保留时间	CAS 号	英文名	分子式(结构式*)
10.020 ^a	95-71-6	1,4-Benzenediol, 2-methyl-	C ₇ H ₈ O ₂
10.117 ^a	3212-68-8	2,4-Dimethyl-1-penten-3-one	C ₇ H ₁₂ O
10.404 ^c	102-27-2	N-Ethyl-3-methylaniline	C ₉ H ₁₃ N ( )
10.697 ^a	78-70-6	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-	C ₁₀ H ₁₈ O
10.805 ^b	6004-38-2	4,7-Methano-1H-indene, octahydro-	C ₁₀ H ₁₆
11.035 ^a	350-03-8	Ethanone, 1-(3-pyridinyl)-	C ₇ H ₇ NO
11.145 ^a	60-12-8	Phenylethyl Alcohol	C ₈ H ₁₀ O
11.294 ^b	38484-59-2	Furan, tetrahydro-2,5-dimethyl-, trans-	C ₆ H ₁₂ O
11.335 ^b	1192-58-1	N-Methylpyrrole-2-carboxaldehyde	C ₆ H ₇ NO
11.873 ^a	57283-79-1	(R,S)-5-Ethyl-6-methyl-3E-hepten-2-one	C ₁₀ H ₁₈ O
12.054 ^a	1125-21-9	2,6,6-Trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione	C ₉ H ₁₂ O ₂
12.102 ^b	75156-66-0	9-Methylene-tricyclo[4.2.1.1(2,5)]decane	C ₁₁ H ₁₆
12.226 ^a	17587-33-6	2,6-Nonadienal, (E,E)-	C ₉ H ₁₄ O
12.304 ^a	577-16-2	2'-Methylacetophenone	C ₉ H ₁₀ O
12.519 ^a	100-51-6	Benzyl alcohol	C ₇ H ₈ O
12.571 ^a	13679-56-6	2-Butanone, 4-(5-methyl-2-furanyl)-	C ₉ H ₁₂ O ₂
12.814 ^a	877-65-6	Benzenemethanol, 4-(1,1-dimethylethyl)-	C ₁₁ H ₁₆ O
12.893 ^c	5323-87-5	3-Ethoxy-2-cyclohexen-1-one	C ₈ H ₁₂ O ₂ ( )
13.034 ^a	1604-34-8	6,10-Dimethyl-2-undecanone	C ₁₃ H ₂₆ O
13.238 ^a	619-55-6	p-Tolylamide	C ₈ H ₉ NO
13.422 ^a	106-48-9	4-Chlorophenol	C ₆ H ₅ ClO
13.472 ^a	29812-79-1	Hydroxylamine, O-decyl-	C ₁₀ H ₂₃ NO
13.487 ^a	98-55-5	3-Cyclohexene-1-methanol, π,π-4-trimethyl-	C ₁₀ H ₁₈ O
13.637 ^a	116-26-7	1,3-Cyclohexadiene-1-carboxaldehyde, 2,6,6-trimethyl-	C ₁₀ H ₁₄ O
13.747 ^a	460-01-5	2,6-Dimethyl-1,3,5,7-octatetraene, E,E-	C ₁₀ H ₁₄
14.001 ^b	529-20-4	2-Methylbenzaldehyde	C ₈ H ₈ O
14.429 ^a	20189-42-8	3-Ethyl-4-methyl-pyrrole-2,5-dione	C ₇ H ₉ NO ₂
14.900 ^a	106-25-2	(2Z)-3,7-Dimethyl-2,6-octadien-1-ol (Nerol)	C ₁₀ H ₁₈ O
15.680 ^a	104-55-2	3-Phenylpropenal (Cinnamaldehyde)	C ₉ H ₈ O
15.743 ^a	65901-90-8	3-Methyl-4-methylamino-1,2,4-triazole-5-thiol	C ₄ H ₈ N ₄ S
16.213 ^a	120-72-9	Indole	C ₈ H ₇ N
16.337 ^c	490-03-9	2-Hydroxy-6-(isopropyl)-3-methylcyclohex-2-en-1-one	C ₁₀ H ₁₆ O ₂ ( )
16.671 ^a	7786-61-0	4-Hydroxy-3-methoxystyrene	C ₉ H ₁₀ O ₂
16.741 ^b	6421-88-1	2-(4-Aminophenoxy)ethanol	C ₈ H ₁₁ NO ₂
16.913 ^a	475-03-6	Naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-1,1,6-trimethyl-	C ₁₃ H ₁₈
17.762 ^a	54-11-5	Pyridine,3-(1-methyl-2-pyrrolidinyl)-,(S)-(Nicotine)	C ₁₀ H ₁₄ N ₂
18.015 ^a	31499-72-6	4-(2,2,6-Trimethyl-5-cyclohexen-1-yl)-2-butanone (Dihydro-α-ionone)	C ₁₃ H ₂₂ O
18.358 ^b	259-79-0	Biphenylene	C ₁₂ H ₈
18.756 ^a	23726-93-4	(E)-1-(2,6,6-trimethyl-1,3-cyclohexadien-1-yl)-2-buten-1-one (beta-damascenone)	C ₁₃ H ₁₈ O
19.197 ^a	30364-38-6	1,1,6-Trimethyl-1,2-dihydro-naphthalene	C ₁₃ H ₁₆

续表

保留时间	CAS 号	英文名	分子式(结构式*)
19.285 ^b	563-16-6	3,3-Dimethylhexane	C ₈ H ₁₈
19.332 ^b	5732-00-3	2-(1,3-Butadienyl)mesitylene	C ₁₃ H ₁₆
19.511 ^a	38818-55-2	4,7,9-Megastigmatrien-3-one (Megastigmatrienone)	C ₁₃ H ₁₈ O
19.525 ^a	626-43-7	3,5-Dichloroaniline	C ₆ H ₅ Cl ₂ N
19.747 ^a	63435-25-6	Benzene, 2-(2-butenyl)-1,3,5-trimethyl-	C ₁₃ H ₁₈
20.354 ^a	532-12-7	Pyridine, 3-(3,4-dihydro-2H-pyrrol-5-yl)-	C ₉ H ₁₀ N ₂
20.507 ^a	14901-07-6	3-Buten-2-one, 4-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-	C ₁₃ H ₂₀ O
20.986 ^a	3796-70-1	(5 <i>E</i>)-6,10-Dimethyl-5,9-undecadien-2-one (Geranylacetone)	C ₁₃ H ₂₂ O
21.196 ^b	42775-77-9	Naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-6-propyl-	C ₁₃ H ₁₈
21.524 ^b	585-74-0	3'-Methylacetophenone	C ₉ H ₁₀ O
21.862 ^b	77503-87-8	2,4,4-Trimethyl-3-[(1 <i>E</i>)-3-oxo-1-butenyl]-2,5-cyclohexadien-1-One(2,3-dehydro-4-oxo- π ionone)	C ₁₃ H ₁₆ O ₂
22.290 ^a	487-19-4	1-Methyl-2-(3-pyridyl)pyrrole (B-nicotyrine)	C ₁₀ H ₁₀ N ₂
22.361 ^a	23267-57-4	4-(2,2,6-Trimethyl-7-oxabicyclo[4.1.0]hept-1-yl)-3-buten-2-one	C ₁₃ H ₂₀ O ₂
22.493 ^a	56052-61-0	4-(2,6,6-Trimethyl-2-cyclohexen-1-ylidene)-2-butanone	C ₁₃ H ₂₀ O
22.626 ^c	4363-93-3	4-Quinolinecarboxaldehyde	C ₁₀ H ₇ NO ( )
22.644 ^b	82391-05-7	4,4,5,8-Tetramethylchroman-2-ol	C ₁₃ H ₂₀ O ₂
23.116 ^b	19687-22-0	2,4,6-Tris(1,1-dimethylethyl)-4-methylcyclohexa-2,5-dien-1-one	C ₁₉ H ₃₂ O
23.238 ^a	69855-48-7	1-Methyl-4-(methylsulfonyl)bicyclo[2.2.2]octane	C ₁₀ H ₁₈ O ₂ S
23.846 ^a	57878-30-5	5-Hydroxy-3-methyl-1-indanone	C ₁₀ H ₁₀ O ₂
24.315 ^a	17092-92-1	(2,6,6-Trimethyl-2-hydroxycyclohexylidene)acetic acid lactone	C ₁₁ H ₁₆ O ₂
24.405 ^c	581-50-0	2,3'-Dipyridyl	C ₁₀ H ₈ N ₂ ( )
24.767 ^a	5835-18-7	1,3,7,7-Tetramethyl-9-oxo-2-oxabicyclo[4.4.0]decane	C ₁₃ H ₂₂ O ₂
24.918 ^b	N [#] : 284404	1-Hydroxy-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene-8-carboxaldehyde	C ₁₁ H ₁₂ O ₂ ( )
26.196 ^a	38818-55-2	4,7,9-Megastigmatrien-3-one (Megastigmatrienone)	C ₁₃ H ₁₈ O
26.561 ^a	102488-09-5	(2 <i>E</i>)-1-(3-Hydroxy-2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-2-buten-1-one (3-hydroxy- π damascone)	C ₁₃ H ₂₀ O ₂
26.826 ^c	55591-08-7	1-Naphthalenol, 1,2,3,4-tetrahydro-2,5,8-trimethyl-	C ₁₃ H ₁₈ O ( )
27.023 ^b	29812-79-1	Hydroxylamine, O-decyl-	C ₁₀ H ₂₃ NO
27.522 ^a	3031-15-0	1,2,3,4-Tetramethylnaphthalene	C ₁₄ H ₁₆
27.600 ^a	102488-09-5	(2 <i>E</i>)-1-(3-Hydroxy-2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-2-buten-1-one (3-hydroxy- π damascone)	C ₁₃ H ₂₀ O ₂
27.841 ^a	8013-90-9	4-(2,6,6-Trimethyl-2(1)-cyclohexen-1-yl)-3-buten-2-one (Ionone)	C ₁₃ H ₂₀ O
28.163 ^a	38818-55-2	4,7,9-Megastigmatrien-3-one (megastigmatrienone)	C ₁₃ H ₁₈ O
28.262 ^b	93-07-2	3,4-Dimethoxybenzoic acid	C ₉ H ₁₀ O ₄
28.872 ^b	148-97-0	<i>N</i> -Nitroso- <i>N</i> -phenylhydroxylamine	C ₆ H ₆ N ₂ O ₂
29.124 ^b	22868-60-6	Furan-2-carboxaldehyde, 5-(1-piperidyl)-	C ₁₀ H ₁₃ NO ₂
29.407 ^a	3031-15-0	1,2,3,4-Tetramethylnaphthalene	C ₁₄ H ₁₆
30.184 ^b	5732-00-3	2-(1,3-Butadienyl)mesitylene	C ₁₁ H ₁₀

续表

保留时间	CAS 号	英文名	分子式(结构式*)
30.806 ^a	3031-15-0	1,2,3,4-Tetramethylnaphthalene	C ₁₄ H ₁₆
32.202 ^b	2765-11-9	Pentadecanal	C ₁₅ H ₃₀ O
33.995 ^b	84944-48-9	3,3,4,5,7-Pentamethylindan-1,2-dione	C ₁₄ H ₁₆ O ₂
34.054 ^a	1620-98-0	3,5-Di-tert-butyl-4-hydroxybenzaldehyde	C ₁₅ H ₂₂ O ₂
34.226 ^a	20490-42-0	1,4-Naphthalenedione, 2,3,6-trimethyl-	C ₁₃ H ₁₂ O ₂
35.203 ^a	85-01-8	Phenanthrene	C ₁₄ H ₁₀
35.343 ^b	1196-72-1	2-Ureidophenol	C ₇ H ₈ N ₂ O ₂
35.560 ^b	32623-17-9	4-Pentenoicacid,4-(4-methylphenyl)-,ethyl ester	C ₁₄ H ₁₈ O ₂
35.706 ^b	4676-39-5	3,4-Methylenedioxyphenyl acetone	C ₁₀ H ₁₀ O ₃
36.103 ^a	54878-25-0	(2 <i>R</i> ,6 <i>R</i>)-6,10-dimethyl-2-prop-1-en-2-yl-spiro[4.5]dec-9-en-8-one (Solavetivone)	C ₁₅ H ₂₂ O
37.453 ^b	N [#] :140056	Cadala-1(10),3,8-triene	C ₁₅ H ₂₂ ( )
37.647 ^a	504-96-1	7,11,15-trimethyl-3-methylidene-hexadec-1-ene (Neophytadiene)	C ₂₀ H ₃₈
38.493 ^a	84-69-5	Diisobutyl phthalate	C ₁₆ H ₂₂ O ₄
39.899 ^b	629-92-5	Nonadecane	C ₁₉ H ₄₀
40.701 ^a	112-39-0	Methyl hexadecanoate	C ₁₇ H ₃₄ O ₂
41.541 ^a	84-74-2	Dibutyl phthalate	C ₁₆ H ₂₂ O ₄
42.397 ^a	26549-04-2	[4a <i>S</i> ,(+)]-1,2,3,4,4a,4ba,5,6,7,8,10,10aα-Dodecahydro-4aβ,7β-dimethyl-1-methylene-7α-vinylphenanthrene	C ₁₉ H ₂₈
42.795 ^a	7220-78-2	12-Isopropyl-1,5,9-trimethyl-4,8,13-cyclotetradecatriene-1,3-diol	C ₂₀ H ₃₄ O ₂
43.920 ^a	1898-13-1	(1 <i>S</i> ,2 <i>E</i> ,7 <i>E</i> ,11 <i>E</i>)-2,4(18),7,11-Cembratraene (Cembrene)	C ₂₀ H ₃₂
44.297 ^a	465-39-4	14,15-beta-epoxy-3-beta-hydroxy-5-beta-bufa-20,22-dienolide (Resibufogenin)	C ₂₀ H ₃₄ O ₄
44.377 ^a	57988-82-6	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,2'-(1,2-ethanediyl)bis[6,6-dimethyl]-	C ₂₀ H ₃₀
44.552 ^a	7220-78-2	12-Isopropyl-1,5,9-trimethyl-4,8,13-cyclotetradecatriene-1,3-diol	C ₂₀ H ₃₄ O ₂
44.634 ^a	26549-04-2	[4a <i>S</i> ,(+)]-1,2,3,4,4a,4ba,5,6,7,8,10,10aα-Dodecahydro-4aβ,7β-dimethyl-1-methylene-7α-vinylphenanthrene	C ₁₉ H ₂₈
45.209 ^a	301-00-8	Methyl linolenate	C ₁₉ H ₃₂ O ₂
51.285 ^b	119-47-1	2,2'-Methylenebis(6- <i>tert</i> -butyl-4-methylphenol)	C ₂₃ H ₃₂ O ₂
52.760 ^b	56862-62-5	10-Methylnonadecane	C ₂₀ H ₄₂
53.318 ^b	27554-26-3	1,2-Benzenedicarboxylic acid diisooctyl ester (Diisooctyl phthalate)	C ₂₄ H ₃₈ O ₄

^a 为正匹配度和逆匹配度都在 800 以上且已有文献报道, ^b 为正匹配度和逆匹配度都在 800 以上, ^c 为通过二级质谱鉴定的化合物且已有文献报道。CAS 登录号, 是某种化合物唯一的数字识别号码, 没有 CAS 号的化合物用 N[#](NIST 号)。*部分结构指列出了由二级质谱定性所得结果以及没有 CAS 号的物质。

为间二甲苯。

图 4A 的质谱图(7.572 min), 由于背景干扰影响谱库检索的灵敏度, 无法确定检索结果。加大电压轰击 m/z 108 的离子, 得二级质谱图 4B, 有 m/z 93 的离子碎片。再根据谱库检索对照, 初步确认该化合物为具有新鲜清香香气的甲基庚烯酮, 裂解情况如图 4C。类似的还有 10.404, 22.626, 26.826 min 的峰, 通过二级质谱分别鉴定化合物为 *N*-乙基-3-甲基苯胺, 4-甲醛喹啉, 1,2,3,4-四氢-2,5,8-三甲基-1-萘酚。

图 5A 的质谱图(16.337 min), 由于背景扣除后只有

高质量数离子 m/z 168, m/z 126 的信息, 离子碎片信息少, 利用谱库检索会有很多高匹配度的相似化合物结构, 直接定性较为困难, 甚至会导致定性错误; 加大轰击电压测定 m/z 168 和 m/z 126 的离子的二级质谱, 得二级质谱图 5B, 得知 m/z 126 离子很稳定, 有 m/z 109、 m/z 80 的离子碎片, 同时从一级质谱中(图 5A)得到低质量数碎片离子 m/z 55, m/z 69, m/z 80 及其丰度逐渐减小与地奥酚标准质谱图较为一致, 谱库检索认为该化合物为地奥酚, 裂解情况如图 5C, 且已有文献报道^[19]。类似的还有 12.893, 24.405 min 的峰, 通过二级质谱分别鉴定化

图 3A 化合物 2 的质谱图

Figure 3A The mass spectrum of component 2

图 3B 化合物 2 的二级质谱图

Figure 3B MS/MS spectrum of component 2

图 3C 苯甲酰甲酸的主要裂解

Figure 3C Fragmentation mechanisms of benzoylformic acid

图 4A 化合物 3 的质谱图

Figure 4A The mass spectrum of component 3

图 4B 化合物 3 的二级质谱图

Figure 4B MS/MS spectrum of component 3

图 4C 甲基庚烯酮的主要裂解

Figure 4C Fragmentation mechanisms of 6-methyl-5-hepten-2-one

图 5A 化合物 4 的质谱图

Figure 5A The mass spectrum of component 4

合物为 3-乙氧基-2-环己烯-1-酮, α,β' -联吡啶。

根据二级质谱检索定性共有 9 个化合物, 且都有文献报道, 见表 1 中上标 c 为二级质谱检索定性的物质。因此对于含量低、背景干扰大、谱库检索正匹配度和逆匹配度都在 800 以下的难以获得可靠检索结果的峰进行定性的物质, 结合二级质谱进行定性可以获得满意的结果, 提高了谱库检索结果的可靠性。

图 5B 化合物 4 的二级质谱图

Figure 5B MS/MS spectrum of component 4

图 5C 地奥酚的主要裂解

Figure 5C Fragmentation mechanisms of 2-hydroxy-6-(isopropyl)-3-methylcyclohex-2-en-1-one

4 结论

本文利用同时蒸馏萃取法处理烟叶样品, 提取烟叶挥发性成分, 然后采用 GC/MS 分离并测定挥发性成分, 在总离子流图中能识别 400 多个色谱峰, 但烟草中挥发性成分非常复杂, 含量相差较大, 导致部分谱图背景干扰很大, 采用常规谱库检索和匹配度的高低不易准确性。本文针对难定性的成分引入二级质谱进行定性, 二级质谱的引入对于准确性谱库检索匹配度差距小, 含量低, 背景干扰大的物质提供重要依据。根据物质的结构和性质, 结合 NIST2008 谱库检索和色谱保留指数以及二级质谱定性, 本文共鉴定 144 个化合物, 其中 104 个化合物在烟草挥发性成分的文献中已有报道, 报道中有 9 个化合物是结合二级质谱信息定性, 还有 40 个化合物还未见报道, 需做进一步确证。

综上, 利用离子阱二级质谱, 对难定性的化合物加大电压轰击使其产生更多离子碎片信息, 再利用谱库检索和匹配度以及其他相关信息定性, 提高了对未知化合物定性的准确性和可靠性。

References

- Jing, Y.-Q.; Gong, C.-R.; Zhang, Y.-H. *Chin. Tobacco Sci.* **2005**, (2), 44 (in Chinese).
(景延秋, 宫长荣, 张月华, 中国烟草科学, **2005**, (2), 44.)
- Huang, L.-F.; Wu, M.-J.; Sun, X.-J.; Zhong, K.-J.; Guo, Z.-M.; Dai, Y.-H.; Huang, K.-L.; Guo, F.-Q. *J. Central South Univ. Technol.* **2007**, 14, 504.
- Sun, K.-J.; Wang, M.-L.; Shen, Y.; Liu, B.-Z. *Chin. Tobacco Sci.* **2007**, 28(2), 23 (in Chinese).
(孙凯健, 王美琳, 沈轶, 刘百战, 中国烟草科学, **2007**, 28(2), 23.)
- Irvine, W. J.; Saxby, M. *J. Phytochemistry* **1969**, 8, 473
- Salom'e, T.; Ad'elio, M.; Arminda, A.; L'ucia, S. *Anal. Chim. Acta* **2007**, 584, 439.
- Zhu, X.-L.; Gao, Y.; Chen, Z.-Y.; Su, Q.-D. *Chromatographia* **2009**, 69, 735.
- Zagustina, N. A.; Krikunova, N. I.; Kulikova, A. K.; Misharina, T. A.; Romanov, M. E.; Ruzhitsky, A. O.; Terenina, M. B.; Veprizky, A. V.; Zhukov, V. G.; Popova, V. O. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **2010**, 85, 320.
- Fu, Y.-X.; Xu, Y.-J.; Chen, B.; Li, Y.; Luo, L.-P. *Chin. J. Anal. Chem.* **2009**, 37(5), 745 (in Chinese).
(付宇新, 徐元君, 陈滨, 丽艳, 罗丽萍, 分析化学, **2009**, 37(5), 745.)
- John, E.; Bunch, T.; Jeffrey, C. *J. Agric. Food Chem.* **1997**, 45, 844.
- Sun, S.-H.; Xie, J.-P.; Xie, F.-W.; Zong, L.-Y.; Xie, F.-W. *J. Chromatogr. A* **2008**, 1179, 89.
- Huang, C.-X.; Wang, Z.-W.; Liu, Y.; Wang, S.-F. *Chin. J. Anal. Chem.* **2008**, 36, 1396 (in Chinese).
(黄崇杏, 王志伟, 刘杨, 王双飞, 分析化学, **2008**, 36, 1396.)
- Xu, W.-L.; Zhao, Y.-R.; Wang, W.-L. *Chem. Res.* **2006**, 17, 92 (in Chinese).
(徐伟玲, 赵云荣, 王文领, 化学研究, **2006**, 17, 92.)
- Li, X.-F.; Duan, Q.-Y. *Sciencepaper Online* **2008**, 3, 672 (in Chinese).
(李小福, 殷全玉, 中国科技论文在线, **2008**, 3, 672.)
- Zhao, M.-Q. *Cigarette Perfumer Science*, Science Press, Beijing, **2008**, pp. 72~73 (in Chinese).
(赵铭钦, 卷烟调香学, 科学出版社, 北京, **2008**, pp. 72~73.)
- Li, H.-F.; Zhong, K.-J.; Lu, X.; Bai, C.-M.; Huang, J.-G.; Lu, H.-L.; Ma, C.-F.; Zhu, S.-K.; Kong, H.-W.; Zhao, M.-Y.; Xie, J.-P.; Niu, S.; Xu, G.-W. *Acta Chim. Sinica* **2006**, 64, 1897 (in Chinese).
(李海锋, 钟科军, 路鑫, 白长敏, 黄建国, 鹿洪亮, 马晨菲, 朱书奎, 孔宏伟, 赵明月, 谢剑平, 牛森, 许国旺, 化学学报, **2006**, 64, 1897.)
- Su, Y.; Liao, Y.-X.; Guo, Y.-L. *Acta Chim. Sinica* **2007**, 65(14), 1377 (in Chinese).
(苏越, 廖远熹, 郭寅龙, 化学学报, **2007**, 65(14), 1377.)
- Li, Y.; Pang, T.; Guo, Z.-M.; Li, Y.-L.; Wang, X.-L.; Deng,

- J.-H.; Zhong, K.-J.; Lu, X.; Xu, G.-W. *Talanta* **2010**, *81*, 650.
- 18 Huang, L.-F.; Zhong, K.-J.; Sun, X.-J.; Wu, M.-J.; Huang, K.-L.; Liang, Y.-Z.; Guo, F.-Q.; Li, Y.-W. *Anal. Chim. Acta* **2006**, *575*, 236.
- 19 Peng, F.-M.; Sheng, L.-Q.; Liu, B.-Z.; Tong, H.-W.; Liu, S.-M. *J. Chromatogr. A* **2004**, *1040*, 1.
- 20 Liang, S.; Li, Y.-W.; Zhao, C.-X.; Liang, Y.-Z. *J. Instrument. Anal.* **2008**, *27*, 84 (in Chinese).
(梁晟, 李雅文, 赵晨曦, 梁逸曾, 分析测试学报, **2008**, *27*, 84.)
- 21 Wang, C.-Z.; Su, Y.; Guo, Y.-L. *Chin. J. Org. Chem.* **2009**, *29*, 948 (in Chinese).
(王呈仲, 苏越, 郭寅龙, 有机化学, **2009**, *29*, 948.)
- 22 Liu, S.-H.; Lu, S.-S.; Su, Y.; Guo, Y.-L. *Chromatographia* **2011**, *74*, 497.
- 23 Wang, C.-Z.; Su, Y.; Wang, H.-Y.; Guo, Y.-L. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2011**, *22*, 1839.
- 24 Wang, H.-Y.; Guo, Y.-L. *Anal. Lett.* **2004**, *37*(10), 2151.
- 25 Xu, Y.-J.; Bai, C.-M.; Zhong, K.-J.; Huang, J.-G.; Tang, W.-Y.; Lu, X.; Xu, G.-W. *Chin. J. Anal. Chem.* **2006**, *34*, 382 (in Chinese).
(许燕娟, 白长敏, 钟科军, 黄建国, 唐婉莹, 路鑫, 许国旺, 分析化学, **2006**, *34*, 382.)

(A1105024 Zhao, X.)