

高效液相色谱-分段检测法同时测定烟草中 14种多酚类化合物

欧阳璐斯, 赖燕华, 王 予, 陶 红, 黄翼飞*

(广东中烟工业有限责任公司技术中心, 广东 广州 510385)

摘要: 利用高效液相色谱-二极管阵列检测器(HPLC-DAD), 建立了同时分析烟草中新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、东莨菪苷、咖啡酸、七叶亭、对香豆酸、阿魏酸、莨菪亭、7-羟基香豆素、芦丁、槲皮苷、山奈酚-3-O-芸香糖苷和槲皮素 14 种多酚化合物的方法。称取 0.02 g 烟末, 加入 5 mL 50% 甲醇, 超声萃取 30 min, 取上清液过水相滤膜后, 采用 Agilent SB-C₁₈柱(3.0 mm × 150 mm, 1.8 μm)进行分离, 以 0.05 mol/L 磷酸二氢钾水溶液和甲醇为流动相, 采用分段式检测, 获得 14 种多酚类化合物在各自最佳检测波长下的信号, 实现了良好分离。结果表明, 14 种多酚类化合物的色谱峰面积与其质量浓度呈良好的线性关系, 相关系数 $r^2 > 0.9997$, 检出限为 0.01~0.15 μg/mL, 定量下限为 0.03~0.50 μg/mL, 日内相对标准偏差(RSD)为 0.70%~3.6%, 日间 RSD 为 4.0%~6.4%, 加标回收率为 95.2%~109%。该方法具有良好的灵敏度、精密度和回收率, 适合于烟草样品中多种多酚类化合物的同时测定。

关键词: 高效液相色谱; 二极管阵列检测器; 分段检测; 烟草; 多酚

中图分类号: O657.7; TS41 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2021)03-0411-06

Simultaneous Determination of Fourteen Polyphenols in Tobacco by Piecewise Detection Based on Liquid Chromatography

OUYANG Lu-si, LAI Yan-hua, WANG Yu, TAO Hong, HUANG Yi-fei*

(Technology Centre, China Tobacco Guangdong Industrial Co. Ltd., Guangzhou 510385, China)

Abstract: A high performance liquid chromatography with diode array detector(HPLC-DAD) was developed for the simultaneous determination of 14 polyphenols, including neochlorogenic acid, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, scopolin, caffeic acid, esculetin, *p*-coumaric acid, ferulic acid, scopoletin, 7-hydroxycoumarin, rutin, quercitrin, kaempferol 3-O-β-rutinoside and quercetin. 0.02 g tobacco powder sample was ultrasonically extracted with 5 mL of 50% methanol for 30 min, and then the supernatant was put to pass through an aqueous phase filtration membrane. 14 polyphenols were separated at their optimal detection wavelengths on an Agilent SB-C₁₈ column(3.0 mm × 150 mm, 1.8 μm), with 0.05 mol/L potassium dihydrogen phosphate aqueous solution and methanol as mobile phases. There existed good linear relationships between peak areas and mass concentrations of the analytes, with their correlation coefficients(r^2) larger than 0.9997. The limits of detection and limits of quantitation were in the ranges of 0.01-0.15 μg/mL and 0.03-0.50 μg/mL, while the intra-day and inter-day relative standard deviations(RSD) were 0.70%-3.6% and 4.0%-6.4%, respectively. The spiked recoveries ranged from 95.2% to 109%. The proposed method could be applied to the simultaneous determination of a variety of polyphenols in tobacco and cigarettes with good sensitivity, precision and recovery.

Key words: high performance liquid chromatography; diode array detector; piecewise detection; tobacco; polyphenols

多酚是烟草中一类重要的化合物, 含量高达 5%^[1]。多酚类物质在烟草中以糖苷和酯的形式存在, 主要分为单宁类(绿原酸)、香豆素类(莨菪灵、莨菪亭、七叶亭)和黄酮类(芸香苷)等, 其中绿原酸、

收稿日期: 2020-06-30; 修回日期: 2020-08-03

基金项目: 广东中烟工业有限责任公司资助项目(粤烟工[2017]科字第9号)

*通讯作者: 黄翼飞, 硕士, 高级工程师, 研究方向: 烟草化学, E-mail: huangyf@gdzygy.com

芸香苷和茛菪亭是烟草中最主要的酚类物质, 绿原酸占总多酚的 75%~95%^[2], 其为烟草特征香味物质的前体物^[3-4]。其他含量低的多酚类化合物在烟草品质鉴定与改善方面也有辅助影响。另一方面, 卷烟烟气中含有的简单酚(如儿茶酚、对苯二酚等二羟基苯化合物)^[5]也属于多酚, 对卷烟烟气有害成分释放量有显著影响。多酚化合物含量受烟叶的种类、成熟度和加工方法等因素的影响^[6]。因此, 多酚化合物对烟草的生长发育、调制特性、烟叶色泽、烟气香吃味和烟气生理强度等起着重要作用^[7-12]。烟草多酚类物质的准确测定, 对评价烟草品质、指导卷烟配方设计具有重要意义。

烟草中有些多酚的分子量较大且不易挥发, 常采用高效液相色谱(HPLC)进行测定, 检测器多选择紫外检测器(UV)、二极管阵列检测器(DAD)或三重四极杆质谱仪(MS/MS)^[13-16]。其中, UV检测器的灵敏度较好, 但无法灵活地实现多个化合物在不同波段下的检测; HPLC-MS/MS法的灵敏度高, 但需使用同位素内标, 提高了实验成本; HPLC-DAD法的实验成本较低, 且便于在各化合物的较大吸收处进行检测, 获得较佳的检测灵敏度。

国内外应用HPLC检测烟草中多酚类物质已多有报道, 检测指标以绿原酸、芸香苷和茛菪亭等含量高的多酚化合物为主^[17-18]。近几年报道的方法逐步将新绿原酸、隐绿原酸、七叶亭、咖啡酸、山奈酚-3-芸香糖等作为分析指标, 但仍有一些质量分数较低的多酚类物质被忽略。由于烟草中某些多酚化合物含量低, 易受其他物质干扰, 因此选择各目标物的最大吸收波长作为检测波长。DAD检测器可实现多个化合物在不同波段下的检测, 而且可以更直观地呈现各目标物在最佳检测波长下的色谱峰, 大大提高工作效率。本研究采用HPLC-DAD分段式检测建立了烟草中14种多酚类物质的同时测定方法, 为同时检测烟叶中多种多酚类化合物提供方法参考。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent 1200 高效液相色谱仪、Agilent SB-C₁₈柱(3.0 mm×150 mm×1.8 μm, 美国 Agilent 公司); BT25S 电子天平(感量: 0.01 mg, 最大量程: 21 g, 德国赛多利斯科学仪器有限公司)。

新绿原酸(纯度 99.2%)、隐绿原酸(纯度 99.5%)(德国 Phytolab 公司); 绿原酸(纯度≥95.0%)、咖啡酸(纯度 98.0%)、七叶亭(纯度 98.0%)、对香豆酸(纯度≥98.0%)、茛菪亭(纯度≥99.0%)、槲皮苷(纯度 96.0%)、山奈酚-3-O-芸香糖苷(纯度≥98.0%)(美国 Sigma-Aldrich 公司); 东茛菪苷(纯度 99.8%, 美国 International Laboratory 公司); 阿魏酸(纯度 98.0%, 加拿大 TRC 公司)、7-羟基香豆素(纯度 99.5%, 美国 ChemService 公司)、芦丁(三水合物, 纯度 96.6%, 德国 Dr. Ehrenstorfer 公司)、槲皮素(二水合物, 纯度 97.0%, 德国 HWI Analytik GMBH 公司); 甲醇(纯度 99.9%, 色谱纯, 德国 Merck KGaA 公司); 磷酸二氢钾(美国 Aladdin 试剂公司); Milli-Q 超纯水(由 Millipore 超纯水机制备)。

1.2 溶液配制

混合标准储备液: 称量约 120 mg 新绿原酸、800 mg 绿原酸、180 mg 隐绿原酸、100 mg 东茛菪苷、20 mg 咖啡酸、33 mg 茛菪亭、450 mg 芦丁、20 mg 山奈酚-3-O-芸香糖苷以及 10 mg 的七叶亭、对香豆酸、阿魏酸、槲皮苷、7-羟基香豆素和槲皮素, 置于 50 mL 棕色容量瓶中, 加入 50% 甲醇溶解并定容至刻度, 作为混合标准储备液。

系列混合标准溶液: 分别准确移取 50、100、200、400、800 μL 混合标准储备液至 100 mL 棕色容量瓶中, 用水稀释至刻度, 作为系列混合标准溶液。

1.3 样品处理

准确称取 0.02 g 烟末(精确至 0.000 1 g), 置于 10 mL 具塞玻璃管中, 加入 5 mL 50% 甲醇, 超声萃取 30 min, 取上清液过 0.22 μm 水相滤膜, 转移至色谱瓶, 进样分析。

1.4 色谱条件

Agilent SB-C₁₈柱(3.0 mm×150 mm, 1.8 μm); 柱温: 16 °C; 进样量: 5 μL; 流动相: 0.05 mol/L 磷酸二氢钾水溶液(A)和甲醇(B); 流速: 0.16 mL/min。梯度洗脱程序为: 0~10 min, 3%~38% B; 10~25 min, 38%~47% B; 25~28 min, 47%~47.8% B; 28~47 min, 47.8%~80% B; 47~50 min,

80%~3% B; 50~66 min, 3% B。

2 结果与讨论

2.1 流动相的选择

由于多酚类物质中的酚羟基易氧化和电离, 以甲醇-水作为流动相时的分离效果差^[19]。以甲醇-水为流动相, 考察了不添加以及分别以乙酸或 KH_2PO_4 为添加剂时的效果。通过实验也发现, 新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸在流动相不加添加剂的情况下色谱峰拖尾严重; 以乙酸为添加剂, 分别采用 93% 水-4.5% 甲醇-2.5% 乙酸和 10% 水-88% 甲醇-2% 乙酸为流动相体系时, 可实现绿原酸、隐绿原酸、咖啡酸和东莨菪苷 4 种成分的最佳分离; 以 KH_2PO_4 为添加剂时, 采用 0.05 mol/L KH_2PO_4 和甲醇为流动相体系, 可实现 14 种多酚类化合物的基线分离。因此, 实验选择以 0.05 mol/L KH_2PO_4 和甲醇为流动相。

2.2 柱温的选择

考察了柱温(10~45 °C)对 14 种多酚化合物分离效果的影响。结果表明, 当柱温为 20~35 °C 时, 阿魏酸与莨菪亭、7-羟基香豆素与芦丁的分离效果不理想; 当柱温升至 45 °C 时, 阿魏酸与莨菪亭、7-羟基香豆素与芦丁实现了基线分离, 但绿原酸出峰位置有 1 个分裂峰, 可能是由于温度太高导致绿原酸发生反应产生其他物质所致。柱温高于 20 °C 时, 分离效果不好; 但温度过低时, 易析出晶体堵塞柱子造成漏液。经过反复实验, 最终确定柱温为 16 °C, 14 种多酚化合物可获得良好分离。

2.3 检测波长的选择

采用二极管阵列检测器在 190~550 nm 波长范围内扫描 14 种多酚单标的光谱图。结果显示, 新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、东莨菪苷、咖啡酸、七叶亭、对香豆酸、阿魏酸、莨菪亭、7-羟基香豆素、芦丁、槲皮苷、山奈酚-3-O-芸香糖苷和槲皮素的吸收波长分别为 324、326、326、340、316、348、290、314、344、324、356、348、350、372 nm。若选择文献报道的 328 nm^[12]、340 nm^[11] 等单一检测波长, 有些目标物无响应或响应很弱, 导致检测灵敏度降低。为此, 本研究根据各目标物的保留时间和最大吸收波长, 采用分段检测法进行测定(见表 1)。

表 1 分段检测时间表
Table 1 Time schedule of piecewise detection

No.	Compound	Retention time (min)	Maximum absorption wavelength (nm)	Segmented time (min)	Test wavelength (nm)	Reference wavelength (nm)
1	Neochlorogenic acid(新绿原酸)	18.333	324	0	324	425
2	Chlorogenic acid(绿原酸)	19.639	326	19.1	326	425
3	Cryptochlorogenic acid(隐绿原酸)	20.507	326			
4	Scopolin(东莨菪苷)	21.761	340	21.3	320	425
5	Caffeic acid(咖啡酸)	22.439	316			
6	Esculetin(七叶亭)	24.913	348	24.0	348	435
7	<i>p</i> -Coumaric acid(对香豆酸)	26.140	290	25.6	290	415
8	Ferrucic acid(阿魏酸)	27.173	314			
9	Scopoletin(莨菪亭)	31.042	344	29.6	344	425
10	7-Hydroxycoumarin(7-羟基香豆素)	31.913	324			
11	Rutin(芦丁)	38.872	356	34.0	356	455
12	Quercitrin(槲皮苷)	43.427	348	40.0	350	460
13	Kaempferol 3-O- β -rutinoside(山奈酚-3-O-芸香糖苷)	44.160	350			
14	Quercetin(槲皮素)	48.547	372	45.0	372	465

图 1 给出了 14 种多酚化合物混合标准品在上述分段式检测条件下的色谱图。与 328 nm^[12] 检测波长相比, 7 号峰(对香豆酸)、14 号峰(槲皮素)的信号增强最明显, 这是由于对香豆酸(最大吸收波长 290 nm)和槲皮素(最大吸收波长 372 nm)在 328 nm 的吸收较弱所致。4 号峰(东莨菪苷)、5 号峰(咖啡酸)、6 号峰(七叶亭)、8 号峰(阿魏酸)、9 号峰(莨菪亭)、11 号峰(芦丁)、12 号峰(槲皮苷)、13 号峰(山奈酚-3-O-芸香糖苷)的信号均不同程度增强。与 340 nm^[11] 检测波长相比, 除 4 号峰(东莨菪苷)外, 其他目标物的信号均明显增强。因此, 选择分段式检测, 可实现 14 种多酚类化合物的良好分离和

测定。

2.4 提取溶剂与提取时间的选择

多酚类物质在极性有机溶剂中具有较大的溶解度,因此本实验考察了不同比例(30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%)甲醇/水为提取剂时对烟草中含量较高的多酚化合物(新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、东莨菪苷、咖啡酸、莨菪亭、芦丁和山奈酚-3-O-芸香糖苷)提取效果的影响。结果表明,甲醇比例从30%增至40%时,上述化合物的提取效率显著提高;当甲醇比例增至50%~60%时,提取效果最佳;甲醇比例增至70%后,提取效率逐渐下降。为减少有机溶剂用量,最终选择50%甲醇为提取剂。

实验还对提取时间(10、20、30、40、50 min)进行了考察,结果发现,超声时间大于30 min后,多酚的提取量均趋于稳定。因此,本实验选择提取时间为30 min。

在上述实验条件下,得到烟草样品的色谱图如图2所示,14种多酚化合物分离良好。

2.5 标准曲线、检出限及相对标准偏差

采用本方法对14种多酚类化合物混合标准溶液进行HPLC分析,以目标化合物的色谱峰面积与其质量浓度进行线性回归,得到回归方程及其相关系数;对最低质量浓度的混合标准溶液平行测定3次,以所得结果标准偏差的3倍为方法检出限(LOD),以所得结果标准偏差的10倍为定量下限(LOQ)。结果表明,14种目标物在一定质量浓度范围内与其响应呈良好线性关系,相关系数 $r^2 > 0.9997$; LOD为0.01~0.15 $\mu\text{g/mL}$, LOQ为0.03~0.50 $\mu\text{g/mL}$ 。

采用本方法对同一烟草样品连续进样分析5 d,每天测定5次,所有样品测定结果的日内相对标准偏差(RSD)和日间RSD均不大于6.4%。对同一个烟草样品进行加标回收实验,分别向4组样品加入终浓度为0、5、15、30 $\mu\text{g/mL}$ 的14种多酚类化合物混合标准溶液,每组重复测定3次,计算得平均回收率为95.2%~109%。方法满足检测要求,可用于烟草样品中多酚类物质的测定。

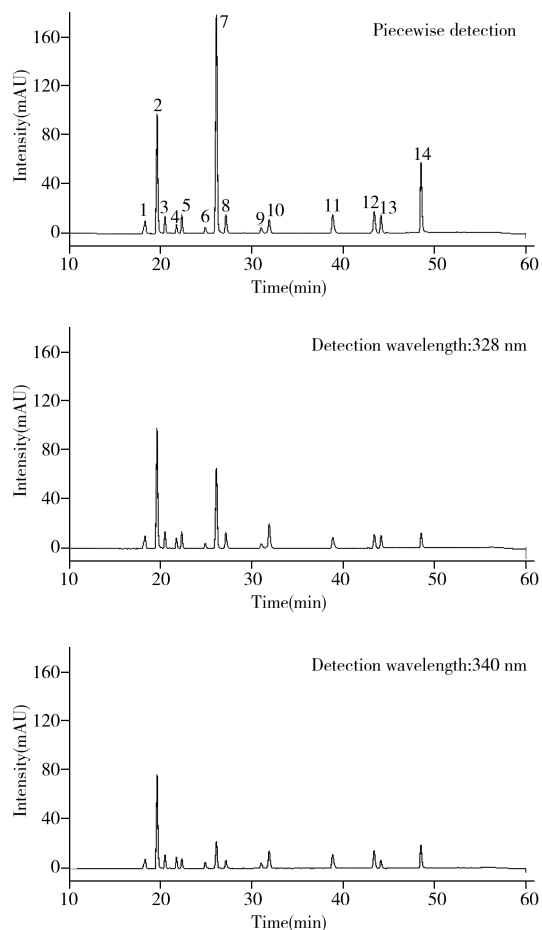


图1 多酚化合物混合标准品在不同检测波长下的色谱图
Fig. 1 Chromatograms of the mixed standard for 14 polyphenols with different detection wavelength

the peak numbers denoted were the same as those in Table 1

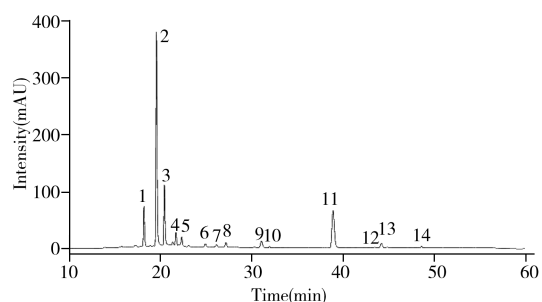


图2 烟草样品的色谱图

Fig. 2 Chromatogram of the tobacco sample
the peak numbers denoted were the same as those in Table 1

表2 多酚化合物的线性关系、检出限、定量下限、回收率和相对标准偏差

Table 2 Linear relations, LODs, LOQs, recoveries and relative standard deviations of polyphenols

Compound	Linear range ($\mu\text{g/mL}$)	r^2	LOD ($\mu\text{g/mL}$)	LOQ ($\mu\text{g/mL}$)	Recovery (% , $n = 3$)	Intra-day RSD(% , $n = 5$)	Inter-day RSD(% , $n = 5$)
Neochlorogenic acid	1.18 ~ 8.85	0.999 92	0.09	0.31	109	1.6	4.0
Chlorogenic acid	7.87 ~ 125.88	0.999 89	0.15	0.50	100	1.6	5.3
Cryptochlorogenic acid	1.81 ~ 29.04	0.999 91	0.04	0.15	97.3	1.4	5.6
Scopolin	1.06 ~ 16.96	0.999 92	0.03	0.11	101	2.0	4.0

(续表2)

Compound	Linear range ($\mu\text{g/mL}$)	r^2	LOD ($\mu\text{g/mL}$)	LOQ ($\mu\text{g/mL}$)	Recovery (% , $n=3$)	Intra-day RSD(% , $n=5$)	Inter-day RSD(% , $n=5$)
Caffeic acid	0.21~3.36	0.999 97	0.03	0.10	97.0	0.70	4.9
Esculetin	0.23~3.68	0.999 91	0.05	0.17	96.3	3.1	4.8
<i>p</i> -Coumaric acid	0.25~4.00	0.999 89	0.04	0.13	97.2	2.7	5.2
Ferric acid	0.24~3.84	0.999 90	0.04	0.13	96.7	3.4	5.1
Scopoletin	0.33~5.28	0.999 96	0.01	0.03	97.7	1.4	6.4
7-Hydroxycoumarin	0.19~3.04	0.999 93	0.06	0.21	103	2.5	4.9
Rutin	1.79~28.63	0.999 76	0.05	0.17	100	1.8	5.3
Quercitrin	0.20~3.20	0.999 92	0.03	0.10	98.6	3.6	4.8
Kaempferol 3-O- β -rutinoside	0.20~3.22	0.999 95	0.02	0.06	99.3	2.3	4.4
Quercetin	0.26~4.16	0.999 92	0.03	0.10	95.2	3.1	4.0

2.6 实际样品测定

应用本方法对6个市售卷烟样品进行分析, 每个样品平行测定2次(见表3)。结果显示, 6个样品中14种多酚化合物的含量差异较大, 根据含量数量级可分为3类:

(1) mg/g 级: 绿原酸的含量最高, 为3.828 3~9.251 6 mg/g ; 其次为芦丁, 含量为2.825 9~6.412 6 mg/g ; 新绿原酸、隐绿原酸的含量分别为0.794 8~1.628 9 mg/g 和1.215 7~2.505 2 mg/g ;

(2) $10^2 \mu\text{g/g}$ 级: 东莨菪苷(524.1~994.0 $\mu\text{g/g}$)、山奈酚-3-O-芸香糖苷(295.3~525.7 $\mu\text{g/g}$)、莨菪亭(233.8~358.4 $\mu\text{g/g}$)、咖啡酸(103.3~248.6 $\mu\text{g/g}$);

(3) $10^1 \mu\text{g/g}$ 级: 槲皮素(31.5~96.5 $\mu\text{g/g}$)、七叶亭(10.2~32.0 $\mu\text{g/g}$)、对香豆酸(0~38.2 $\mu\text{g/g}$)、阿魏酸(0~45.1 $\mu\text{g/g}$)、7-羟基香豆素(0~42.6 $\mu\text{g/g}$)、槲皮苷(0~37.9 $\mu\text{g/g}$)。

以上结果表明, 新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、东莨菪苷、咖啡酸、莨菪亭、芦丁和山奈酚-3-O-芸香糖苷是烟草中含量较高的8种多酚化合物; 其余6种多酚化合物在部分卷烟样品中含量极低或无法检出。

表3 烟草样品中多酚类物质的平均含量($\mu\text{g/g}$)

Table 3 Average contents of the polyphenols in tobacco samples($\mu\text{g/g}$)

Compound	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	Sample 5	Sample 6
Neochlorogenic acid	1 290.3	1 628.9	1 303.0	794.8	1 216.0	1 099.6
Chlorogenic acid	7 156.1	9 251.6	7 120.5	3 828.3	6 772.2	6 247.9
Cryptochlorogenic acid	1 883.4	2 505.2	1 954.1	1 215.7	1 821.1	1 622.5
Scopolin	859.4	994.0	893.3	524.1	899.5	755.2
Caffeic acid	181.5	248.6	174.6	103.3	197.7	165.1
Esculetin	11.5	29.3	10.2	17.5	30.1	32.0
<i>p</i> -Coumaric acid	29.1	15.3	27.6	-*	-	38.2
Ferric acid	37.6	-	45.1	-	25.4	-
Scopoletin	280.4	265.4	358.4	233.8	333.7	315.1
7-Hydroxycoumarin	20.0	42.6	16.3	-	23.4	25.7
Rutin	4 776.1	6 412.6	5 431.9	2 825.9	4 938.7	4 928.0
Quercitrin	-	37.5	19.4	22.4	-	37.9
Kaempferol 3-O- β -rutinoside	363.1	525.7	449.7	295.3	359.7	390.9
Quercetin	46.2	96.5	31.5	64.3	44.2	36.0

* not detected

3 结论

本文建立了HPLC-DAD分段检测法同时测定卷烟中14种多酚类化合物含量的分析方法。该方法样品和试剂用量少, 前处理简单, 与传统的单一检测波长相比, 分段检测具有数据图谱直观、专属性强、工作效率高等优点, 方法学指标较好, 适合于烟草样品中多种多酚化合物的同时测定。若要探明多酚化合物与感官风格品质的关系, 则需在本方法基础上进行大量的样品测试和数据分析。

参考文献:

- [1] Han F G. *Tobacco Chemistry*. Beijing: China Agriculture Press(韩富根. 烟草化学. 北京: 中国农业出版社), **2010**.
- [2] Williamson R E, Gwynn G R. *Crop Sci.*, **1982**, 22(1): 144 – 146.
- [3] Zhuang Y D, Zhang Y, Wang F, Shao X G. *Tob. Sci. Technol.* (庄亚东, 张映, 王芳, 邵学广. 烟草科技), **2004**, (1): 23 – 26.
- [4] Yan X F, Han J F. *Acta Agric. Boreali – Sin.* (阎新甫, 韩锦锋. 华北农学报), **1987**, 2(2): 31 – 38.
- [5] Zhao R F, Li F, Hu J. *Anal. Methods*, **2020**, (3): 2421 – 2424.
- [6] Liu Y, Yin Q S, Song J Z, Cai X J, Zhang Y L. *Tob. Sci. Technol.* (刘阳, 尹启生, 宋纪真, 蔡宪杰, 张艳玲. 烟草科技), **2007**, (8): 32 – 35.
- [7] Xu X Y, Sun W S, Wang N R. *Chin. Tob. Sci.* (徐晓燕, 孙五三, 王能如. 中国烟草科学), **2003**, (1): 3 – 5.
- [8] Zhu X Q, Xu X Y, Huang Y D. *J. Anhui Agric. Sci.* (朱小茜, 徐晓燕, 黄义德. 安徽农业科学), **2005**, 33(8): 1910 – 1911.
- [9] Yu C F, Zhang J S, Yan H Y, Liu Y F, Jia Y H. *J. Henan Agric. Sci.* (于存峰, 张峻松, 闫洪洋, 刘艳芳, 贾玉红. 河南农业科学), **2008**, (4): 10 – 13.
- [10] Zhang Q F, Liu Y P, Liu B, Xie X D, Lin P Z. *Fujian J. Agric. Sci.* (张秋芳, 刘奕平, 刘波, 谢小丹, 林培章. 福建农业学报), **2006**, (2): 158 – 163.
- [11] Gu J P, Zeng X D, Kong B, Mao Y A, Liu W, Wei W Z. *Chromatographia*, **2010**, 71: 769 – 774.
- [12] Xi Y X, Song J Z, Yang J, Liu Y, Guo W M. *Tob. Sci. Technol.* (席元肖, 宋纪真, 杨军, 刘阳, 过伟民. 烟草科技), **2011**, (2): 70 – 74.
- [13] YC/T 202 – 2006. Determination of Chlorogenic Acid, Anisodamine and Rutin in Tobacco and Tobacco Products. Chinese Tobacco Industry Standards(烟草及烟草制品多酚类化合物绿原酸、苜蓿亭和芸香苷的测定. 中国烟草行业标准).
- [14] Chen S L, Huang M Y, Lin Y, Tao H, Hu Y L, Ye W M, Li G K. *Chin. J. Anal. Chem.* (陈森林, 黄曼艳, 林云, 陶红, 胡玉玲, 叶为民, 李攻科. 分析化学), **2019**, 47(5): 725 – 730.
- [15] Wang J, Huang H T, Liu X, Xu Y, Li X M, Yang Y K, Yang G Y, Kong W S, Li J. *Tob. Sci. Technol.* (王晋, 黄海涛, 刘欣, 许永, 李雪梅, 杨叶昆, 杨光宇, 孔维松, 李晶. 烟草科技), **2018**, 51(11): 66 – 72.
- [16] Liu P P, Lu Z S, Luo C P, Li Z F, Zhai N, Zheng Q X, Lu P, Cao P J, Zhou H N, Chen Q S. *Tob. Sci. Technol.* (刘萍萍, 卢紫舒, 罗朝鹏, 李泽锋, 翟姐, 郑庆霞, 卢鹏, 曹培健, 周会娜, 陈千思. 烟草科技), **2019**, 52(6): 42 – 50.
- [17] Shifflett J R, Watson L, McNally D J, Bezabeh D Z. *Beitr. zur Tabakforsch. Int. /Contrib. Tob. Res.*, **2017**, 27(8): 195 – 207.
- [18] Xie F W, Yu A J, Hou D K, Liu H M, Ding L, Zhang S S. *Am. J. Anal. Chem.*, **2011**, 2: 929 – 933.
- [19] Xiang G, Yang L, Zhang X, Ren Z Y, Wu Y Q, Miao M M. *Chin. J. Spectrosc. Lab.* (向刚, 杨柳, 张霞, 任卓英, 吴亿勤, 缪明明. 光谱实验室), **2009**, 26(3): 621 – 630.

(责任编辑: 丁 岩)