

超高效液相色谱法测定烟草西柏三烯二醇

付秋娟, 杜咏梅*, 刘新民, 张怀宝, 王爱华, 刘翠翠, 牛焕杰, 冯迪

(中国农业科学院烟草研究所, 青岛 266101)

摘要:建立了超高效液相色谱-紫外检测(UPLC-UV)外标法定量测定烟草 α 和 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇的方法。烟草样品以乙酸乙酯为萃取剂,液料比为50:1,在超声频率45 kHz,提取温度为25~30 °C,提取时间10 min条件下进行目标化合物提取,提取液经氮气吹干,用流动相溶解,以ACQUITY UPLC BEH C18(2.1 mm×50 mm, 1.7 μ m)为分离色谱柱,以70%乙腈为流动相,流速为0.3 mL/min,柱温为35 °C,在波长为200 nm条件下进行检测。结果表明, α 和 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇线性范围分别为12.14~194.2、6.229~99.67 μ g/mL,仪器检出限分别为0.1166、0.1495 μ g/mL,方法定量限分别为33.8、49.8 μ g/g,在3个加标浓度下,平均回收率分别在96.7%~98.8%、96.2%~98.4%,方法重现性相对标准偏差分别为3.46%、3.11%。本方法与行业标准相比,对烟草西柏三烯二醇的测定结果无显著差异。该方法操作简单、溶剂用量少,检测周期短,精密度和准确度均较高,适用于烟草 α 和 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇批量检测。

关键词:超高效液相色谱;烟草; α 和 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇

中图分类号:TS41+1

文章编号:1007-5119(2017)03-0067-07

DOI:10.13496/j.issn.1007-5119.2017.03.012

Determination of Cembratriene-diol in Tobacco by Ultra Performance Liquid Chromatography

FU Qiujuan, DU Yongmei*, LIU Xinmin, ZHANG Huaibao, WANG Aihua, LIU Cuicui, NIU Huanjie, FENG Di
(Tobacco Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Qingdao 266101, China)

Abstract: A quantitative method using ultra performance liquid chromatography (UPLC) with UV detector was developed for the determination of α and β -2,7,11-Cembratriene-4,6-diol of tobacco. Ethyl acetate was used as solvent for extraction with a liquid-material ratio of 50:1. The ultrasonic frequency used was 45 kHz and the temperature of extraction was room temperature above 25 °C. The time of extraction was 10 min. The extracts obtained with above experiment conditions were dried by nitrogen and dissolved with mobile phases and the target compounds were separated on an ACQUITY UPLC BEH C18 column using acetonitrile-water (70:30) as mobile phase by gradient elution. The flow rate was set at 0.3 mL/min, the column temperature was 35 °C and quantitative wavelength of UV detector was set at 200 nm. The results indicated that the calibration curves of α and β -2,7,11-Cembratriene-4,6-dio were linear in the range of 12.14-194.2 μ g/mL and 6.229-99.67 μ g/mL respectively. The limits of detection (LOD, $S/N=3$) were 0.1166 and 0.1495 μ g/mL respectively, and the limits of quantification (LOQ, $S/N=10$) were 33.8 μ g/g and 49.8 μ g/g respectively. The average recoveries of standard addition of samples were 96.7%-98.8% and 96.2%-98.4% respectively at three spiked concentration levels, and the relative standard deviations (RSDs) of reproducibility of the method were 3.46% and 3.11% respectively. There was no significant difference in the measurement results of tobacco samples between this method and the tobacco industry-standard method. The method was simple, sensitive and accurate, and was suitable for large scale determination of α and β -2,7,11-Cembratriene-4,6-dio in tobacco.

Keywords: ultra-performance liquid chromatography; tobacco; α and β -2,7,11-Cembratriene-4,6-diol

西柏三烯二醇属西柏烷型二萜化合物,西柏烷型二萜最早于1951年发现于松属植物和烟草,随后从海洋生物中发现了大量该类化合物,目前分离

得到的该类化合物均具有较好的细胞毒和抗肿瘤活性^[1-3]。烟草西柏三烯二醇是烟草腺毛分泌物的主要化学成分,占其腺毛分泌物的60%以上^[4-6],该化

合物不仅是卷烟香气成分的重要前体物质,还具有抑制肿瘤细胞生长、抑制前列腺素合成、抑制尼古丁感受以及神经保护剂等多种生物活性^[4-10]。在烟草生产过程中,生态条件和栽培、调制措施对西柏三烯二醇含量的影响,以及烟草西柏三烯二醇遗传基础、生物调控技术,一直是烟草科研工作者关注的热点^[4,10-12]。

烟草西柏三烯二醇有两个异构体,分别为 α 和 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇^[4-9]。烟草 α 和 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇检测一般采用GC-MS法^[5,10,13],GC-MS法也是目前烟草西柏三烯二醇检测的行业推荐标准方法^[13],该方法需经过复杂的衍生化反应,衍生化试剂成本较高,且容易造成色谱柱污染。刘清梁^[14]研究了以20R人参皂苷Rh2为内标,应用高效液相色谱-紫外法半定量烟草 α 和 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇的方法,但该方法并未对样品前处理方法(提取溶剂、料液比、提取时间、提取温度)进行系统考察。何峰^[15]优化了液相色谱法测定 α 和 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇的条件,但样品前处理较为繁琐,需经过复杂的浸提、液液分配、柱层析等程序。本研究为克服气质联用法检测烟草西柏三烯二醇过程中衍生化反应存在的弊端,研究建立超高效液相色谱分离并检测 α 和 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇的仪器条件及样品前处理条件,为烟草西柏三烯二醇的高效检测提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料、仪器和试剂

烟草材料:烟花、鲜烟叶样品冷冻干燥,烤后烟叶50℃烘干,干燥后的样品粉碎,过60目筛,4℃冷藏,备用。

仪器:超高效液相色谱仪,配置紫外可见检测器(H-Class,Waters公司);WD-12水浴氮吹仪(杭州奥盛);KQ-500DA型数控超声波清洗器(昆山舒美);TDZ 5-WS台式低速离心机(湖南湘仪)。

试剂: α 和 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇(本实验室从烟花中分离获得,根据行业标准推荐方法

(GC-FID)测定其纯度为95%)。甲醇、乙腈(色谱纯,MERCK公司),甲醇、乙醇、乙腈、正己烷、乙酸乙酯、二氯甲烷、石油醚(分析纯,国药),水为超纯水。

1.2 标准溶液配制

分别准确称取 α 和 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇0.1245 g、0.06229 g,用无水乙醇溶解,转移至100 mL容量瓶中并定容,配制成 α 和 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇的标准储备溶液。分别精确吸取以上标准储备溶液0.5、1、2、4、6、7、8 mL放入50 mL容量瓶中,用70%的乙腈定容,获得 α 和 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇标准工作溶液,4℃下冷藏待用。

1.3 色谱条件

色谱柱:BEH C18(2.1 mm×50 mm,1.7 μ m);流动相:70%的乙腈,等度洗脱;流速:0.3 mL/min;柱温:35℃,检测波长:200 nm。

1.4 样品制备

称取一定质量(0.025、0.05、0.1、0.15、0.2、0.3、0.4 g,精确至0.001 g)的烟草粉末样品,放入20 mL带有聚四氟乙烯密封盖的离心玻璃管中,准确加入5 mL提取溶剂(甲醇、乙醇、乙腈及其水溶液,乙酸乙酯、二氯甲烷、石油醚、正己烷),旋紧密封盖,放入恒温超声提取仪中,在超声频率为45 kHz,一定温度(20、30、40、50℃)时间(10、20、30、40 min)条件下进行目标化合物提取。提取完成后,待提取液冷却至室温,在3000 r/min条件下离心10 min。

对于以甲醇、乙醇、乙腈及其水溶液作为提取溶剂获得的提取液,精确移取上清液用流动相稀释后,过0.22 μ m滤膜,待测。

对于以乙酸乙酯、二氯甲烷、石油醚、正己烷作为提取剂获得的提取液,精确移取上清液1 mL,在氮气保护条件下吹干,再用2 mL流动相溶解后,过0.22 μ m滤膜,待测。

2 结果

2.1 吸收波长、色谱柱、流动相、流速及柱温条件

吸收波长选择：根据 α 和 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇标准溶液在 190~300 nm 波长范围的光谱扫描结果 (图 1), 在波长 200 nm 处, 西柏三烯二醇有最大吸收, 因此, 选择 200 nm 作为检测波长。

色谱柱选择：本研究参考前人的研究结果, 选择 C18 色谱柱分离目标化合物, 在超高效液相色谱柱 BEH C18 (2.1 mm \times 50 mm, 1.7 μ m) 为分离柱条件下, 目标化合物获得较好分离 (图 2)。

流动相选择：考察了不同浓度甲醇、乙腈水溶液 (60%、65%、70%、75%、80%) 作流动相对目标化合物保留时间、分离效果的影响, 发现以甲醇-水、乙腈-水作流动相均能使 α 和 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇及其与杂质峰获得较好分离。综合考虑流动相的本底吸收以及对目标化合物保留时间、色谱柱压力的影响, 选择 70% 的乙腈作为流动相, 等度条件下即可使目标化合物获得较好分离。

流动相流速选择：考察了流动相流速在 0.3、0.4、0.5 mL/min 条件下 α 和 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇保留时间以及与杂质峰的分离情况, 综合考虑流动相流速对目标化合物保留时间、分离效果、色谱柱压力及流动相消耗量的影响, 选择流动相的最佳流速为: 0.3 mL/min。

柱温选择：考察了色谱柱温度在 30、35、40 $^{\circ}$ C 条件下, α 和 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇保留时间及分离效果的差异, 发现色谱柱温度对目标化合物保留时间及分离效果影响较小。选择色谱柱温条件为 35 $^{\circ}$ C。

基于以上色谱条件 α 和 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇的混合标准溶液及烟草样品色谱图见图 2, 由图 2 可以看出, α 和 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇出峰时间较短, 且获得较好分离。

2.2 样品前处理条件选择

2.2.1 提取溶剂选择 考察了极性溶剂 (甲醇、乙醇、乙腈及其水溶液)、弱极性溶剂及非极性溶剂 (乙酸乙酯、二氯甲烷、石油醚、正己烷) 提取对目标

化合物测定的影响。研究发现, 用 65%~100% 范围的乙醇、甲醇、乙腈溶液及弱极性溶剂均能将西柏三烯二醇提取出来, 但是, 用极性较大的溶剂提取后进样测定, 获得的液相色谱图杂峰较多, 且杂峰响应远高于目标化合物 (图 3) 用乙酸乙酯、石油醚、二氯甲烷、正己烷等弱极性溶剂作为提取溶剂, 提取液在氮气保护下吹干, 再用流动相溶解后进样分析, 获得的液相色谱图杂峰较少且杂峰响应较低 (图 2)。

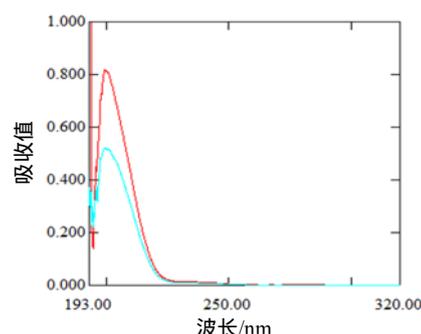


图 1 α 、 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇标准溶液在 190~300 nm 吸收光谱图

Fig. 1 The absorption spectrum of α and β -2,7,11-Cembratriene-4,6-diol standard solution in 190~300 nm

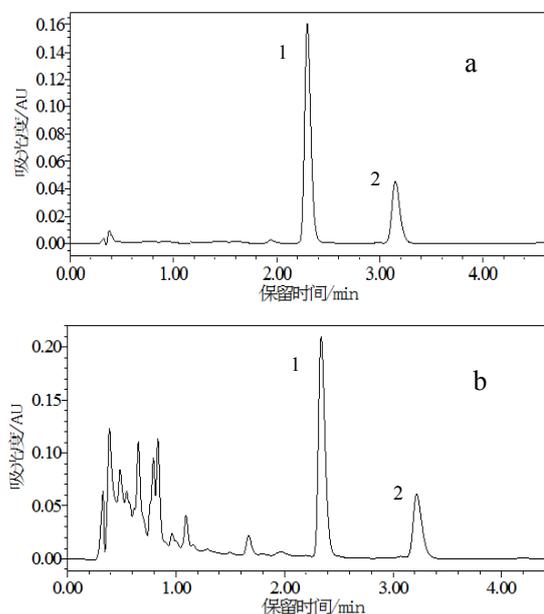


图 2 α 、 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇标准溶液 (a) 和烟草样品 (b) 色谱分离图 (峰 1: α -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇, 峰 2: β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇)

Fig. 2 Chromatograms of α and β -2,7,11-Cembratriene-4,6-diol of compounds standards (a) and tobacco sample (b), (Peak 1: α -2,7,11-Cembratriene-4,6-diol, Peak 2: β -2,7,11-Cembratriene-4,6-diol)

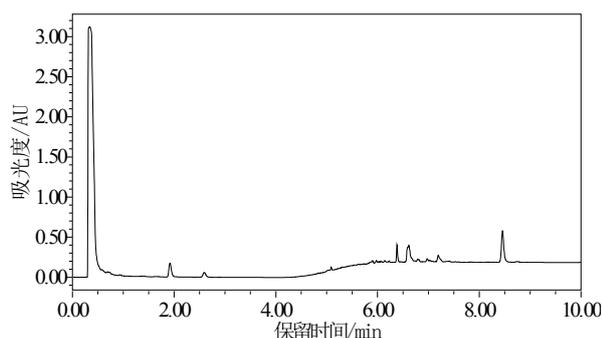


图3 以甲醇为提取溶剂获得的西柏三烯二醇色谱分离图
Fig. 3 Chromatograms of α and β -2,7,11-Cembratriene-4,6-diol obtained with methanol as the extraction solution

本研究进一步对乙酸乙酯、石油醚、二氯甲烷、正己烷的提取效果进行了比较研究(表1),由表1看出,乙酸乙酯对西柏三烯二醇的提取效果最好,其次是二氯甲烷,正己烷、石油醚对西柏三烯二醇的提取效果较差。这可能与烟草西柏三烯二醇的极性有关,西柏三烯二醇为弱极性化合物,在弱极性溶剂中溶解性更好。因此,本研究选择乙酸乙酯作为烟草西柏三烯二醇的提取溶剂。

表1 不同提取溶剂对西柏三烯二醇提取率的影响($n=3$)
Table 1 Effects of different extraction solvents on extraction efficiencies of α and β -2,7,11-Cembratriene-4,6-diol %

提取溶剂	α -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇	β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇
乙酸乙酯	0.893 a	0.65 a
二氯甲烷	0.853 b	0.62 b
正己烷	0.807 c	0.58 c
石油醚	0.760 d	0.54 d

注:同列数据后小写字母不同表示5%显著水平。下同。

2.2.2 料液比选择 以乙酸乙酯为提取溶剂,室温(25℃)下提取20 min条件下,研究了料液比对测定结果的影响(表2),由表2看出,料液比对西柏三烯二醇提取效率影响显著,在料液比200~100:2范围内,西柏三烯二醇测定结果显著较高。综合考虑称样误差及溶剂用量,选择称样0.1 g,加入5 mL提取溶剂,料液比为100:2,作为提取条件。

2.2.3 提取温度选择 以乙酸乙酯为提取溶剂,在提取时间20 min条件下,考察了提取温度对西柏三烯二醇测定结果的影响(表3),由表3看出,在25~50℃范围内,提取温度对西柏三烯二醇影响不

大。这可能与西柏三烯二醇存在于烟草表面,较易萃取有关。本研究选择25~30℃室温条件作为目标化合物提取的温度条件。

2.2.4 提取时间选择 以乙酸乙酯为提取溶剂,室温条件(25℃)下,考察了提取时间对西柏三烯二醇测定结果的影响(表4),由表4看出,在10~30 min范围内,提取时间对西柏三烯二醇影响不大。这可能与西柏三烯二醇存在于烟草表面,且易提取有关。因此,选择目标化合物的提取时间为10 min。

表2 不同料液比对西柏三烯二醇提取率的影响($n=3$)

称样量/g	液料比	α -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇	β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇
0.025	200:1	(0.89±0.02) a	(0.65±0.02) a
0.05	100:1	(0.89±0.02) a	(0.64±0.01) a
0.1	100:2	(0.89±0.02) a	(0.65±0.01) a
0.15	100:3	(0.86±0.03) b	(0.63±0.02) b
0.2	100:4	(0.86±0.02) b	(0.62±0.02) b
0.3	100:6	(0.83±0.05) c	(0.60±0.04) bc
0.4	100:8	(0.80±0.03) c	(0.54±0.05) c

表3 不同提取温度对西柏三烯二醇测定结果的影响($n=3$)

提取温度/℃	α -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇	β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇
25	(0.88±0.03) a	(0.64±0.02) a
30	(0.87±0.02) a	(0.64±0.02) a
40	(0.88±0.02) a	(0.63±0.03) a
50	(0.86±0.03) a	(0.64±0.02) a

表4 不同提取时间对西柏三烯二醇测定结果的影响($n=3$)

提取时间/min	α -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇	β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇
10	(0.88±0.02) a	(0.64±0.02) a
20	(0.89±0.02) a	(0.63±0.03) a
30	(0.88±0.03) a	(0.64±0.03) a

2.3 方法学考察

2.3.1 工作曲线、检出限及方法定量下限 将西柏三烯二醇标准工作溶液分别进样3 μ L,分别获得 α 和 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇浓度(Y)与峰面积(X)的线性回归方程: $Y=13900X-96.2$ 、 $Y=9940X+90.5$,方程决定系数 R^2 均为0.9999,在质量浓度12.14~194.2、6.229~99.67 μ g/mL范围内, α 和

β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇质量浓度与峰面积线性关系良好(图4、图5)。

以信噪比(S/N)为3计算的 α 和 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇的仪器检出限分别为0.12、0.15 $\mu\text{g/mL}$ ，以信噪比(S/N)为10计算的方法定量下限分别为33.8和49.8 $\mu\text{g/g}$ 。

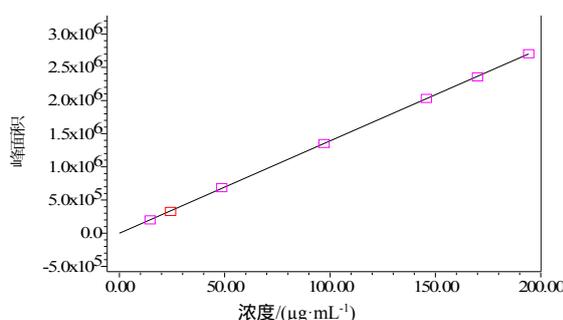


图4 α -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇含量标准曲线

Fig. 4 α -2,7,11-Cembratriene-4,6-diol standard curve

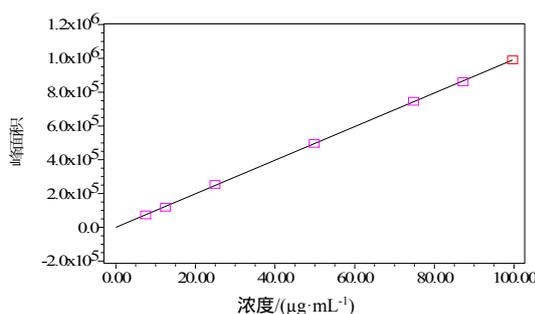


图5 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇含量标准曲线

Fig. 5 β -2,7,11-Cembratriene-4,6-diol standard curve

2.3.2 回收率及精密度试验 在本试验条件下，进行了烟草样品(α 和 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇含量本底值分别为0.89、0.64 mg)加标回收率试验(表5)，在设定的3个加标浓度下，每一加标量进行6次回收率重复试验，由表5看出， α 和 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇加标回收率分别在94.9%~101.3%、

94.4%~99.8%范围内，平均值分别为96.7%~98.8%、96.2%~98.4%，RSD在1.82%~2.27%、1.88%~2.16%范围内。本方法回收率较高，且较稳定，符合定量分析要求。

2.3.3 方法重现性 选择同一份烟草样品，运用本方法连续6天测定的样品中 α -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇含量分别为0.676%、0.618%、0.655%、0.679%、0.667%、0.673%、相对标准偏差为3.46%， β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇含量分别为0.366%、0.341%、0.359%、0.374%、0.365%、0.366%、0.348%，相对标准偏差为3.11%，方法的重现性较好，符合定量分析要求。

2.4 本方法与行业标准方法比较

2.4.1 系统误差比较 取9份不同烟草样品(检测样品为随机选取，烟花、青烟叶、烤后烟叶没有对应性，非同株烟叶或同一品种)，分别用行业标准^[13]和本方法检测样品中目标化合物含量，并将两种方法的测定结果进行 t 配对检验，结果见表6。由表6看出，本方法与行业标准对目标化合物的测定结果差异不显著，两种方法没有系统误差。

2.4.2 样品前处理及分析时间比较 表7分别列出了本方法与行业标准方法测定 α 和 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇前处理过程及分析时间差异。由表7看出，相对行业标准方法，本方法所用萃取剂的体积是行业标准方法的1/10，并在样品处理过程中节约了60 min的衍生化反应时间，同时，还节约了衍生化反应加热过程所需的能源；超高效液相色谱分析一个样品时间仅用8 min，是行业标准方法分析时间的1/5。

表5 α 和 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇回收率和精密度

Table 5 Recoveries and RSDs of α and β -2,7,11-Cembratriene-4,6-diol($n=6$)

添加量/mg	回收率/%							平均	RSD/%
	重复								
	1	2	3	4	5	6			
α -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇	0.3035	98.1	95.6	98.8	100.6	100.3	99.4	98.8	1.82
	0.6070	97.8	99.3	96.6	95.5	97.1	94	96.7	1.84
	1.2140	94.3	97.7	101.3	96.7	97.1	96.8	97.3	2.27
β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇	0.1557	97.4	96.6	99.8	95.6	101.3	99.4	98.4	2.16
	0.3115	95.8	97.3	95.6	99.5	95.1	99.5	97.1	1.97
	0.6229	97.3	93.7	94.4	96.7	96.1	98.8	96.2	1.88

表6 本方法与行业标准测定 α 和 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇结果差异($n=3$)
Table 6 Difference in measurement results of α and β -2,7,11-Cembratriene-4,6-diol between this method and the standard method

烟草样品	α -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇		β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇		%
	行业标准	本方法	行业标准	本方法	
烟花	2.032	2.525	1.239	1.458	
烟花	1.879	1.935	1.087	1.069	
烟花	1.888	1.840	1.005	1.057	
青烟叶	0.250	0.239	0.126	0.145	
青烟叶	0.195	0.213	0.137	0.142	
青烟叶	0.098	0.086	0.067	0.051	
烤后烟	0.570	0.522	0.562	0.520	
烤后烟	0.641	0.610	0.535	0.544	
烤后烟	0.020	0.025	0.011	0.016	
t 值	0.8250		1.0083		
P 值	0.3866		0.3428		

表7 本方法与行业标准方法样品前处理及分析时间比较

Table 7 Comparison of sample treatment and analysis time on this method and the standard method

检测方法	萃取剂用量/mL	萃取时间/min	浓缩时间/min	衍生化时间/min	分析时间/min
行业标准	50	10	5~8	60	40
本方法	5	10	5~8	0	8

3 讨论

以甲醇、乙醇、乙腈及以上三种溶剂 65%以上水溶液提取烟草样品中的西柏三烯二醇,虽然能实现对目标化合物的高效提取,但根据相似相容原理,以上提取溶剂极性较大,获得提取液中极性化合物杂质较多,从而使获得样品色谱图杂峰较多。烟草西柏三烯二醇为弱极性化合物,以弱极性的乙酸乙酯作为提取溶剂,不仅可以实现对目标化合物的高效提取,获得的样品提取液在氮气保护下吹干,再用流动相溶解后进样分析,提取液中非极性化合物如茄尼醇等在 70%的乙腈流动相中的溶解度较低,从而使获得的色谱分离图杂峰较少,谱图较为干净。

烟草西柏三烯二醇为热稳定性相对较差的化合物^[4,15],本研究应用液相色谱法测定烟草西柏三烯二醇,相对于行业标准采用的气质联用方法,更适合于热稳定性较差的化学成分分析。

在烟叶烘烤过程中,西柏三烯二醇降解产生茄酮等致香成分^[4,11],因此,同一品种烤后烟叶西柏三烯二醇含量相对鲜烟叶较低。本研究所测烤后烟叶样品含量高于鲜烟叶,主要是由于选择样品的品种差异造成的。

4 结论

本研究建立了超高效液相色谱测定烟草 α 和 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇的样品前处理方法及仪器条件。本方法克服了传统气质联用法样品前处理过程中所需的衍生化反应程序复杂、操作周期长、检测成本高且易造成色谱柱污染等弊端。在实际样品测定中,本方法与目前行业推荐标准方法相比,测定结果不存在系统误差。因此,该方法操作步骤简单、检测周期短,精密度和准确度均较高,适用于烟草 α 和 β -2,7,11-西柏三烯-4,6-二醇的方法批量检测。

参考文献

- [1] 任晋,苏亚伦.西松烷型大环二萜类化合物研究进展[J].中草药,2014,45(20):2997-3007.
- [2] 李国强,张艳玲,林文翰.西松烷二萜类海洋活性成分研究进展[J].中国海洋大学学报,2006,36(3):370-376.
- [3] 黄建设,龙丽娟,张德.海洋天然产物及其生理活性的研究进展[J].海洋通报,2001,20(4):83-91.
- [4] 韩锦峰,张志勇,刘华山,等.烟草腺毛及其分泌物西柏三烯醇类物质的研究进展[J].中国烟草学报,2013,19(5):118-124.

- [5] SEVERSON R F, ARRENDALE R F, CHORTYK O T, et al. Quantitation of the major cuticular components from green leaf of different tobacco types[J]. J Agric Food Chem, 1984, 32(3): 566-570.
- [6] JOHNSON A W, SEVERSON R F, HUDSON J, et al. Tobacco leaf trichomes and their exudates[J]. Tob Sci, 1985, 29: 67-72.
- [7] SEVERSON R F, JOHNSON A W, JACKSON D M. Cuticular constituents of tobacco: factors affecting their production and their role in insect and disease resistance and smoke quality [J]. Rev Adv TobSci, 1985, 11: 105-174.
- [8] OLSSON E, HOLTH A, KUMLINE, et al. Structure-related inhibiting activity of some tobacco cembranoids on the prostaglandin synthesis in vitro[J]. Planta Med, 1993, 59(4): 293-295.
- [9] YAN N, DU Y M, LIU X M, et al. Chemical structures, biosynthesis, bioactivities, biocatalysis and semisynthesis of tobacco cembranoids: An overview[J]. Industrial Crops and Products, 2016(83): 66-80.
- [10] 贾春晓, 何峰, 马宇平, 等. 西柏烯类化合物研究进展[J]. 轻工学报, 2016, 31(1): 46-54.
- [11] 王冬, 张小全, 杨铁钊, 等. 类西柏烷二萜代谢机理及调控研究进展[J]. 中国烟草学报, 2014, 20(3): 113-118.
- [12] 王冬, 张小全, 彭玉富, 等. 昼夜温差和光照强度对烟草西柏三烯二醇的合成及 CYC-1、CYP71D16 基因表达的影响[J]. 华北农学报, 2014, 29(5): 150-155.
- [13] 国家烟草专卖局. YC/T 470-2013, 烟草及烟草制品西柏烷二萜醇的测定(气相色谱-质谱联用法)[S]. 北京: 中国标准出版社, 2013.
- [14] 刘清梁. 烟叶中重要化合物测定方法的研究[D]. 南京: 南京理工大学, 2009.
- [15] 何峰. 西柏三烯二醇的分离纯化及热裂解和烟草中 HPLC 分析方法研究[D]. 郑州: 0 郑州轻工业学院, 2015.

《烟草科技》2017年第6期目次

烟草酪氨酸转氨酶基因家族分析.....	赵影影, 王姗姗, 张剑锋, 等	1
烟支霉变微生物的鉴定及其生物学特性分析.....	李跃锋, 王锐亮, 陈河祥, 等	9
温度和品种抗性对烟草青枯病潜育期的影响.....	何永宏, 曾乙心, 刘林, 等	16
肿瘤柄中倍半萜类化合物对番茄斑萎病毒的抑制活性分析.....	赵立华, 董家红, 苏晓霞, 等	21
烟秆生物炭对烤烟根系生长的影响及其作用机理.....	陈懿, 陈伟, 高维常, 等	26
基于猪口腔黏膜模型的口含烟碱渗透速率的影响因素.....	艾明欢, 陈超英, 郑赛晶, 等	33
HS-GC/MS法测定烟用水基胶中挥发性有机物.....	刘珊珊, 刘岩顺, 李中皓, 等	40
造纸法再造烟叶主要工艺过程中的阳离子含量.....	李国政, 周浩, 陈芝飞, 等	47
硅烷化-GC/MS联用测定卷烟主流烟气中7种酚类化合物.....	王加忠, 刘剑, 罗熹, 等	53
基于片烟干燥动力学的REA模型与薄层干燥模型的对比.....	陈国钦, 李巧灵, 陈河祥, 等	61
基于生命周期评价的卷烟碳足迹分析.....	李斌, 魏可承, 易锦满, 等	68
基于计算流体力学的高大空间温湿度控制模型的建立.....	李浩亮, 徐晓军, 赵志伟, 等	73
YB418型双铝包异型包装机内衬纸切割装置的设计.....	苏琦, 吴建军	81
烟草叶绿体基因工程研究进展.....	张剑锋, 李阳, 金静静, 等	88