

烟草中非挥发性有机酸的 甲酯化条件优化及定量分析*

张迎春¹ 蔡冰² 郭国宁² 李丹² 王承明^{1*}

1. 华中农业大学食品科学技术学院/农业部食品安全评价重点开放实验室, 武汉 430070;

2. 湖北中烟工业有限责任公司烟用植物应用研究重点实验室, 武汉 430070

摘要 采用气相色谱-质谱法对15个不同产区的烟丝中苹果酸、富马酸、油酸等8种非挥发性有机酸进行定量分析并对甲酯化时间和甲酯化试剂的用量进行优化。试验表明, 烟丝中非挥发性有机酸甲酯化的最佳条件为: 酯化时间50 min, 温度70℃, 酯化试剂为 $V_{\text{三氟化硼}} : V_{\text{甲醇}} = 3 : 7$, 在此条件下非挥发性有机酸的回收率为79.50%~101.35%, 相对标准偏差为3.34%~7.32%。

关键词 烟草; 非挥发性有机酸; 气相色谱-质谱; 甲酯化

中图分类号 Q 657.63 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2010)06-0788-06

有机酸是烟草的重要组成成份, 含量约10%~16%, 对卷烟的香气和吃味具有重要影响^[1-2]。烟草中高分子质量的非挥发性有机酸不但可以中和烟气, 减少刺激性, 而且可显著增强吃味^[3], 如非挥发性有机酸中的亚油酸、亚麻酸是构成烤烟、香料烟香气的重要组成部分之一^[4-6]。Korte等^[7]、Qiu等^[8]研究表明, 非挥发性有机酸可以减轻烟气刺激, 并能增加烟气中的香气浓度。

烟草中非挥发性有机酸的测定, 常用气相色谱法, 如鲁喜梅等^[9]、杨式华等^[10]、李国栋等^[11]均通过GC/MS对有机酸进行定性和定量分析, 该方法在进样分析前需要对有机酸进行甲酯化或硅烷化衍生处理^[12-13], 其中衍生化条件直接影响对有机酸的准确分析。目前关于烟丝甲酯化分析的报道中, 大部分对烟丝进行甲酯化后直接进样分析, 未考虑到甲酯化条件(如甲酯化时间和甲酯化试剂用量)对定量分析的影响, 如杨式华等^[10]、刘百战等^[14]在对非挥发性有机酸的研究中未对甲酯化条件进行优化。

笔者在对烟丝中非挥发性有机酸分析时采用 $\text{BF}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ 为酯化试剂, 对烟草中的有机酸进行一次酯化, 用正己烷萃取, 生成的有机酸酯进行GC/MS分析, 并对甲酯化条件、甲酯化试剂的比例、甲酯化时间进行优化^[15]。结果显示, 此方法不仅缩短了酯化时间^[16], 而且快速、准确, 适用于烟草

中非挥发性有机酸的常规分析, 同时对不同烟丝中非挥发性有机酸进行定量分析, 为卷烟的品质控制以及烟丝中非挥发性有机酸含量变化与感官舒适度的相关性研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1) 试验样品。烟草样品为15个不同产地的烟丝, 产区分别编号为1#湖北房县, 2#巴西, 3#美国, 4#津巴布韦, 5#湖北恩施, 6#重庆红岩, 7#云南楚雄, 8#云南大理, 9#云南玉溪, 10#河南许昌, 11#安徽皖南, 12#安徽南陵, 13#云南曲靖, 14#湖北恩施, 15#安徽。

2) 标样与试剂。苹果酸、富马酸、柠檬酸、十四酸、亚油酸、油酸、己二酸(内标)、乙酸苯乙酯(内标)等购于国药试剂有限公司。正己烷、甲醇为色谱纯, 三氟化硼为分析纯, 购于国药试剂有限公司。

3) 试验仪器。AE163电子天平, 瑞士Mettler公司产品; Varian3800/2200 GC/MS联用仪, 美国瓦里安公司产品; 恒温水浴锅, 金坛市杰瑞尔电器公司产品。

1.2 试验方法

1) 样品前处理。称取已烘干的烟丝0.50 g, 过孔径0.25 mm筛, 加入甲醇和三氟化硼($V_{\text{三氟化硼}}$:

收稿日期: 2010-01-08; 修回日期: 2010-06-29

* 国家烟草专卖局2007年重大专项基金项目(110200701003)资助

** 通讯作者. E-mail: cmwang@mail.hzau.edu.cn

张迎春, 男, 1984年生, 硕士研究生. 研究方向: 天然产物化学. E-mail: yingchun2004111@webmail.hzau.edu.cn

$V_{\text{甲醇}}=3:7$)10 mL,己二酸(7 mg/mL)为内标,100 μL ,70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴加热回流 50 min,取出静置 5 min,加入少量的无水碳酸钠,振荡,加入 2 mL 正己烷萃取 2 min,再加入正己烷 3 mL 继续萃取 2 min,冷却至室温,取 1.5 mL 正己烷萃取液过 0.45 μm 微孔滤膜,进样分析。

2)GC/MS 条件。仪器类型,GC(Varian3800)/MSD(2200);色谱柱,预柱为 D-60 石英毛细管柱(2 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm);分析柱,CP-5 石英毛细管柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm);进样方式,恒流模式;分流比,10:1;进样量,1.0 μL ;进样温度,250 $^{\circ}\text{C}$;载气为氦气(纯度为 99.999%),流速 1.0 mL/min。升温程序为:50 $^{\circ}\text{C}$,2 min;4 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 100 $^{\circ}\text{C}$ 停留 1 min;8 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 150 $^{\circ}\text{C}$ 停留 2 min;5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 280 $^{\circ}\text{C}$ 停留 6 min。电离方式,电子轰击(EI);电离能量,70 eV;质量数范围,35~350 amu;溶剂延迟,2.0 min;离子源温度,230 $^{\circ}\text{C}$;传输线温度,260 $^{\circ}\text{C}$;离子阱温度,200 $^{\circ}\text{C}$ 。

2 结果与讨论

2.1 定性分析

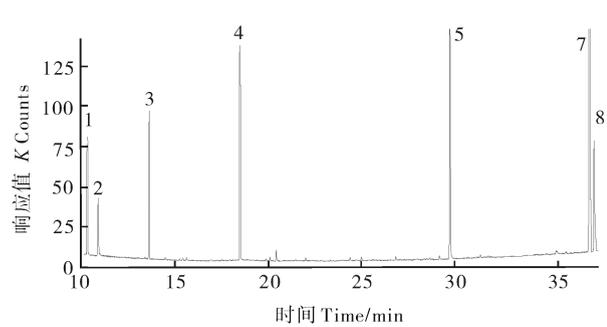
采用 NIS98 和 Wiley 谱库检索并结合标样和目标物的特征质谱碎片对非挥发性有机酸进行定性,共鉴定 8 种非挥发性有机酸。各非挥发性有机酸的保留时间和特征离子峰见表 1。

表 1 非挥发性有机酸的保留时间和特征离子¹⁾

Table 1 Retention time and characteristic ion of non-volatile organic acids

序号 No.	有机酸 Organic acid	保留时间 Retention time/min	特征离子峰 Characteristic ion
1	苹果酸 Malic acid	10.326	233
2	富马酸 Fumaric acid	10.877	113
3	柠檬酸 Citric acid	13.620	273
4	十四酸 Tetradecanoic acid	29.734	285
5	十六酸 Hexadecanoic acid	33.201	313
6	亚油酸 Linoleic acid C _{18:2}	37.210	337
7	油酸 Oleic acid C _{18:1}	37.330	339
8	十八酸 Octadecanoic acid	37.818	341
9	己二酸* Hexanedioic acid	18.481	275

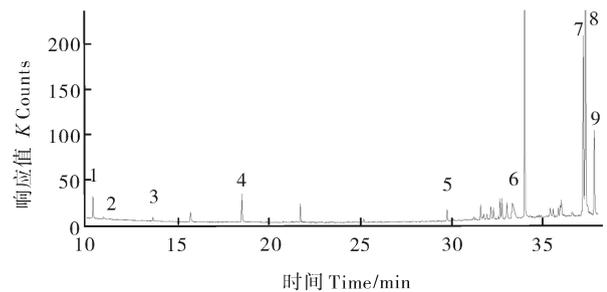
1) * 表示内标物 Internal standard.



1. 苹果酸 Malic acid; 2. 富马酸 Fumaric acid; 3. 柠檬酸 Citric acid; 4. 己二酸 Hexanedioic acid; 5. 十四酸 Tetradecanoic acid; 7. 亚油酸 Linoleic acid C_{18:2}; 8. 油酸 Oleic acid C_{18:1}.

图 1 有机酸标样的 GC/MS 总离子流色谱图

Fig. 1 GC/MS chromatogram of non-volatile organic acids



1. 苹果酸 Malic acid; 2. 富马酸 Fumaric acid; 3. 柠檬酸 Citric acid; 4. 己二酸 Hexanedioic acid; 5. 十四酸 Tetradecanoic acid; 6. 十六酸 Hexadecanoic acid; 7. 亚油酸 Linoleic acid C_{18:2}; 8. 油酸 Oleic acid C_{18:1}; 9. 十八酸 Octadecanoic acid.

图 2 烟丝中非挥发性有机酸总离子流色谱图

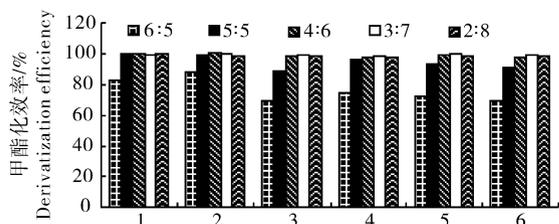
Fig. 2 Chromatogram of non-volatile organic acids in tobacco

2.2 试验参数优化

非挥发性有机酸定量分析的准确性,关键在于样品前处理过程中对非挥发性有机酸的酯化程度。甲酯化反应中甲醇处于沸腾状态有利于提高酯化效率,但温度过高易使脂肪酸甲酯分解,因此,试验时酯化温度定为 70 $^{\circ}\text{C}$ 。以不参与反应的乙酸苯乙酯为内标(特征离子峰为 104,质量浓度为 10 mg/mL),各有机酸甲酯化产物峰面积与乙酸苯乙酯峰面积的比值为衍生化效率。试验中考察了三氟化硼和甲醇的体积比以及时间对苹果酸、富马酸、柠檬酸、十四酸、亚油酸和油酸等 6 种有机酸标样甲酯化程度的影响。

1) 试验参数优化。称取已烘干的烟丝 0.50 g (4[#]产区的烟丝,过 0.25 mm 筛),共 5 份,分别加入 6:4、5:5、4:6、3:7、2:8 等不同体积比的三

氟化硼和甲醇共 10 mL, 乙酸苯乙酯 50 μL , 70 $^{\circ}\text{C}$ 下进行甲酯化, 操作同本文“1.2”1), 结果见图 3。



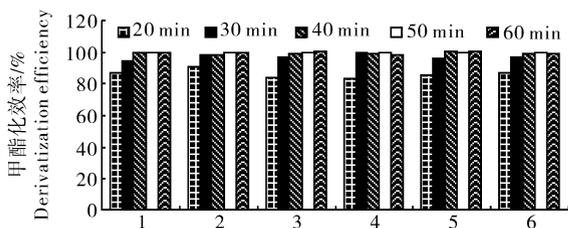
1~6: 表示苹果酸、富马酸、柠檬酸、十四酸、亚油酸、油酸 1, 2, 3, 4, 5, 6 shows malic acid, fumaric acid, citric acid, tetradecanoic acid, linoleic acid $\text{C}_{18:2}$, oleic acid $\text{C}_{18:1}$ respectively.

图 3 三氟化硼和甲醇体积比对有机酸酯化效率的影响

Fig. 3 Influence of the volume proportion of boron trifluoride to methanol on derivatization of organic acids

酯化试剂比例变化时的甲酯化效率是指各有机酸甲酯化产物的峰面积与内标峰面积的比值与三氟化硼: 甲醇(V/V) = 3 : 7 时各酸的酯化物峰面积与内标峰面积的比值之比。由图 3 可知, $V_{\text{三氟化硼}} : V_{\text{甲醇}} = 3 : 7$ 时, 甲酯化效率最高。

甲酯化条件为三氟化硼: 甲醇(V/V) = 3 : 7, 水浴 70 $^{\circ}\text{C}$, 甲酯化时间分别为 20、30、40、50 和 60 min, 结果见图 4。



1~6: 表示苹果酸、富马酸、柠檬酸、十四酸、亚油酸、油酸 1, 2, 3, 4, 5, 6 shows malic acid, fumaric acid, citric acid, tetradecanoic acid, linoleic acid $\text{C}_{18:2}$, oleic acid $\text{C}_{18:1}$ respectively.

图 4 甲酯化时间对有机酸酯化效率的影响

Fig. 4 Influence of time on derivatization of organic acids

当甲酯化时间变化时的甲酯化效率是指各有机酸甲酯化产物的峰面积与内标峰面积的比值与 50 min 时各酸的酯化物峰面积与内标峰面积的比值之比。图 4 显示, 甲酯化时间为 50 min 时, 酯化效率最高。因此, 甲酯化最佳条件是时间 50 min, 温度 70 $^{\circ}\text{C}$, 三氟化硼: 甲醇(V/V) = 3 : 7。

2) 甲酯化产物的稳定性。取 4 $^{\#}$ 样品甲酯化溶液(样品冷藏), 每次进样前取出, 室温放置 30 min, 再进样分析。每隔 8 h 进样 1 次, 共进样 5 次。表 2 是非挥发性有机酸甲酯化产物峰面积与内标物峰面积的比值。结果显示, 所测得的 6 种非挥发性有机

酸甲酯化产物峰面积与内标峰面积的比值的相对标准偏差为 1.90%~9.77%, 结果显示甲酯化产物比较稳定。

表 2 衍生化产物的稳定性测定¹⁾

Table 2 Stability test of derivatization products

有机酸 Organic acid	1	2	3	4	5	RSD/%
苹果酸 Malic acid	0.675	0.701	0.698	0.687	0.615	5.21
富马酸 Fumaric acid	0.197	0.185	0.204	0.239	0.212	9.77
柠檬酸 Citric acid	0.836	0.913	0.103	0.925	0.867	4.82
十四酸 Tetradecanoic acid	0.397	0.402	0.369	0.386	0.412	4.18
亚油酸 Linoleic acid $\text{C}_{18:2}$	6.241	6.826	6.372	6.192	6.303	3.99
油酸 Oleic acid $\text{C}_{18:1}$	7.390	7.458	7.396	7.102	7.386	1.90

1) 1~5 分别表示测定的次数。1, 2, 3, 4, 5 shows the frequency of metered, respectively.

2.3 烟丝定量分析

1) 标准曲线。称取不同质量的有机酸, 置于 25 mL 容量瓶中, 甲醇定容, 摇匀, 得有机酸混合标样, 表 3 是有机酸混合标样的纯度和质量浓度。

表 3 有机酸纯度和质量浓度

Table 3 Purity and concentration of organic acids

有机酸 Organic acid	纯度/% Purity	质量浓度/(mg/mL) Concentration
苹果酸 Malic acid	≥ 98	4.1
富马酸 Fumaric acid	≥ 98	0.3
柠檬酸 Citric acid	≥ 98	2.0
十四酸 Tetradecanoic acid	≥ 98	0.4
亚油酸 Linoleic acid $\text{C}_{18:2}$	≥ 99	2.0
油酸 Oleic acid $\text{C}_{18:1}$	≥ 99	2.0
己二酸 Hexanedioic acid	≥ 98	7.0

分别移取上述有机酸混合标样溶液 0.5、1.0、2.0、3.0、5.0、7.0 mL 置于 10 mL 容量瓶中(编为 1~6 号), 各加入 50 μL 己二酸, 甲醇定容, 得到 6 个不同质量浓度的有机酸混合标准溶液(表 4)。分别取 1.5 mL 溶液, 在最佳甲酯化条件下进行甲酯化。取 1.5 mL 正己烷萃取液过 0.45 μm 微孔滤膜, 进样分析。

经 GC/MS 分析后, 根据有机酸标样峰面积与内标物峰面积比, 以及各标样与各有机酸的浓度比值, 由 Excel 按照最小二乘法得到各有机酸的标准曲线及相关系数。由表 5 可知, 在所测得的质量浓度范围内, 所得到的有机酸标准曲线线性关系较好。

表 4 有机酸标准溶液的质量浓度¹⁾

Table 4 Standard solution concentration of organic acids

有机酸 Organic acid	mg/mL					
	1	2	3	4	5	6
苹果酸 Malic acid	0.205	0.41	0.82	1.23	2.05	2.87
富马酸 Fumaric acid	0.015	0.03	0.06	0.09	0.15	0.21
柠檬酸 Citric acid	0.10	0.20	0.40	0.60	1.00	1.40
十四酸 Tetradecanoic acid	0.02	0.04	0.08	0.12	0.20	0.28
亚油酸 Linoleic acid C _{18:2}	0.10	0.20	0.40	0.60	1.00	1.40
油酸 Oleic acid C _{18:1}	0.10	0.20	0.40	0.60	1.00	1.40

1)1~6;样品编号 Number of samples.

表 5 有机酸标样的线性回归方程和相关系数

Table 5 Regression analysis on calibration and correlation coefficient

有机酸 Organic acid	线性回归方程 Regression analysis on calibration	相关系数 R ² Correlation coefficient
	苹果酸 Malic acid	Y=0.432 9X+1.210 6
富马酸 Fumaric acid	Y=2.541 0X+0.139 1	0.999 6
柠檬酸 Citric acid	Y=0.500 6X+0.379 6	0.999 4
十四酸 Tetradecanoic acid	Y=1.992 0X+0.302 9	0.999 2
亚油酸 Linoleic acid C _{18:2}	Y=4.166 3X-0.040 1	0.999 3
油酸 Oleic acid C _{18:1}	Y=3.619 0X-0.022 9	0.998 9

2)方法的重复性和回收率试验。在相同的条件下对 4[#]产区烟丝进行 5 次平行测定,计算 5 次测定

表 6 方法的重现性试验

Table 6 Precision test

有机酸 Organic acid	1 ¹⁾ /(mg/g)	2/(mg/g)	3/(mg/g)	4/(mg/g)	5/(mg/g)	RSD/%
苹果酸 Malic acid	4.873	4.865	4.724	4.528	5.032	3.93
富马酸 Fumaric acid	0.067	0.063	0.059	0.069	0.071	7.32
柠檬酸 Citric acid	0.306	0.295	0.321	0.311	0.284	4.72
十四酸 Tetradecanoic acid	0.158	0.163	0.169	0.147	0.151	5.63
亚油酸 Linoleic acid C _{18:2}	1.174	1.098	1.164	1.179	1.201	3.34
油酸 Oleic acid C _{18:1}	2.445	2.249	2.438	2.324	2.521	4.51

1)1,2,3,4,5 分别表示测定的次数。1,2,3,4,5,shows the frequency of metered, respectively.

的相对标准偏差(表 6 中数据为 5 次平行试验中各酸的含量,单位:mg/g)。结果显示,所测的 6 种有机酸的相对标准偏差为 3.93%~7.32%,这说明方法的重现性较好。

取 1.0 mL 有机酸混合标样置于待萃取烟丝中,所选取的烟丝样品为烟厂提供的 4[#]产区的烟丝。在最佳甲酯化条件下,对加标样与未加标样的样品平行处理 3 次并进行 GC/MS 分析,计算测定结果的平均值(见表 7)。

表 7 回收率试验

Table 7 Results of the recovery of the method(n=3)

有机酸 Organic acid	样品值/mg Sample value	加入量/mg Addition	测定值/mg Determination value	回收率/% Recovery
苹果酸 Malic acid	4.873	4.100	8.746 0	94.46
富马酸 Fumaric acid	0.067	0.086	0.151 0	97.67
柠檬酸 Citric acid	0.306	2.000	1.896 0	79.50
十四酸 Tetradecanoic acid	0.158	0.400	0.538 5	95.13
亚油酸 Linoleic acid C _{18:2}	1.174	2.000	3.201 0	101.35
油酸 Oleic acid C _{18:1}	2.445	2.000	4.372 0	96.35

结果显示,对 4[#]产区烟丝进行回收率试验时,其加标回收率范围在 79.50%~101.35%之间,由于烟草样品中非挥发性有机酸的含量较少,故认定该测定结果比较准确,适合非挥发性有机酸的定量。

取 4[#]有机酸标准溶液 1 mL 进行三甲基硅烷化,重复进样 10 次,得到标准偏差(S_d),按 3S_d 和 10S_d 计算方法的检测限和定量限(表 8)。

表 8 方法的检出限和定量限¹⁾

Table 8 Detection limit and quantitation limit of method

有机酸 Organic acid	检出限(LOD) Detection limit		定量限(LOD) Quantitation limit	
	ng/L	μg/g	ng/L	μg/g
苹果酸 Malic acid	0.51	1.37	1.53	3.69
富马酸 Fumaric acid	0.48	0.07	2.02	7.61
柠檬酸 Citric acid	0.72	0.14	0.61	1.59
十四酸 Tetradecanoic acid	0.08	0.09	0.09	0.15
软脂酸 Hexadecanoic acid	0.08	0.10	0.09	0.21
亚油酸 Linoleic acid C _{18:2}	0.06	0.09	0.17	0.39
油酸 Oleic acid C _{18:1}	0.23	0.19	0.09	0.63
十八酸 Octadecanoic acid	0.57	0.12	0.18	0.32

1)检测限(LOD)等于 3 倍标准偏差;定量限(LOQ)等 10 倍标准偏差。LOD equal to 3 time standard deviation, LOQ equal to 3 time standard deviation.

表 8 表明,在烟丝有机酸成分的含量范围内,检

测器响应与这 8 种有机酸的浓度呈明显的线性关系,而且其检测限远远低于烟丝中所要测的有机酸的含量。

3)不同产地烟丝中有机酸的含量。试验中,共对 8 种非挥发性机酸进行了定量分析。表 9 结果显

示,不同产地和等级的烟丝中有机酸的含量差异明显,如测得的苹果酸最大含量为 9[#]产区(C3F)12.021 mg/g,最小含量为 6[#]产区(B3F)2.441 mg/g;亚油酸最大含量为 4[#]产区(US-B1)3.603 mg/g,最小含量为 5[#]产区(C3F)0.093 mg/g。

表 9 烟丝中有机酸的含量

Table 9 Content of the non-volatile organic acids in tobacco

样品编号 Sample number	等级 Grade	苹果酸 Malic acid	富马酸 Fumaric acid	柠檬酸 Citric acid	十四酸 Tetradeconic acid	亚油酸 Linoleic acid C _{18:2}	油酸 Oleic acid C _{18:1}	软脂酸 Hexadecan- oic acid	硬脂酸 Octadecoi- c acid
1 [#]	L10T	11.439	0.223	0.365	0.012	0.980	2.096	1.923	1.273
2 [#]	B3F	4.802	0.147	1.549	0.119	0.481	1.551	1.259	1.406
3 [#]	C3FL	4.873	0.067	1.306	0.158	1.171	2.445	1.775	2.034
4 [#]	US-B1	6.967	0.012	2.111	0.239	3.603	2.436	2.851	0.973
5 [#]	C3F	6.868	0.060	1.574	0.017	0.093	0.276	0.921	0.479
6 [#]	B3F	2.441	0.095	1.081	0.141	3.179	1.002	2.074	0.257
7 [#]	B2LH	8.266	0.205	1.487	0.126	0.685	2.099	0.534	0.494
8 [#]	X2LH	5.783	0.006	0.402	0.049	0.459	1.474	1.825	1.091
9 [#]	C3F	12.021	0.062	0.290	0.200	2.543	2.741	1.569	0.672
10 [#]	BL2	5.969	0.132	1.260	0.015	0.812	1.513	0.793	0.079
11 [#]	X2FA	5.195	0.030	1.072	0.012	0.453	2.966	1.113	1.131
12 [#]	B1F	10.048	0.135	4.639	0.124	0.973	0.389	0.886	0.799
13 [#]	B2F	5.022	0.044	5.730	0.013	0.798	1.292	0.266	1.332
14 [#]	C3L	8.114	0.085	7.907	0.037	1.061	1.933	1.683	0.509
15 [#]	B3FL	7.833	0.094	0.947	0.187	1.756	2.871	1.201	1.026

3 讨 论

液相色谱、质谱、液质、毛细管气相色谱、离子色谱等先进技术的相继开发和应用,对烟草组分的分析产生了巨大的推动作用,烟草中有机酸的分析一般要先对样品进行前处理,再结合 GC、GC/MS 或其他手段进行分析。烟草前处理的方法一般用有机溶剂对样品进行萃取,然后直接进仪器分析或是对萃取液进行衍生化或甲酯化后再进仪器分析,样品前处理对化学成分都有不同程度的影响。不管采取何种处理方法,都有一定局限性。

本文简化了烟草中非挥发有机酸的分析方法,使之更方便和快速。对甲酯化条件进行了优化研究,结果表明甲酯化最佳条件是:酯化时间 50 min,温度 70 °C,酯化试剂 V_{三氟化硼}:V_{甲醇}=3:7。

笔者对烟丝酯化条件的单因素试验进行了分析,为了使烟丝酯化条件更加准确,有待于进一步的正交试验。本研究采用有机溶剂进行提取有机酸,还有待用固相微萃取等方法对有机溶剂提取有机酸的优劣进行验证。对目前常用分析方法的改进,开发新的分析方法,使以后烟丝中有机酸的成分分析更加方便、快捷,是后续研究的重点。

参 考 文 献

- [1] 易娇,尹笃林,廉世勋.反相 HPLC 法同时测定烟草中的 6 种有机酸[J].烟草化学,2006(7):36.
- [2] DAVIS D L, NIELSEN M T. Tobacco—production, chemistry and technology[M]. Oxford:Blackwell Science Limited,1999.
- [3] 赵铭钦,刘国顺,于建春.香料烟陈化过程中烟叶有机酸含量变化特点研究[J].华中农业大学学报,2006,25(2):17-20.
- [4] 申进朝,洗可法.烟草中有机酸分析研究进展[J].烟草科技,2003(8):29.
- [5] 闫克玉.烟草化学[M].郑州:郑州大学出版社,2002:287.
- [6] WANG B X, YANG S H, CHEN G H. Simultaneous determination of non-volatile, semivolatle, and volatile organic acids in tobacco by SIM-scan mode GC-MS[J]. Gas Chromatography, 2008,31:721-726.
- [7] KORTE W D. Alternate procedure for the preparation and separation of benzyl derivatives of organic acids [J]. Chromatography A,1981,21:214.
- [8] QIU J S. Statistics aided optimization for HPLC analysis of organic acids in tobacco [J]. Chromatography A,1999(11):153.
- [9] 鲁喜梅,谢复炜.卷烟主流烟气总颗粒物中挥发性和半挥发性有机酸的分析[J].烟草化学,2006(6):24-27.
- [10] 杨式华,王保兴,许国旺,等.烟草中挥发性和非挥发性有机酸的快速测定[J].分析科学学报,2008(2):167-172.

- [11] 李国栋,于建军,董顺德,等.河南烤烟化学成分与烟气成分的相关性分析[J].烟草科技,2001(8):28-30.
- [12] YADAV R. Study of cigarette smoke aerosol using time of flight mass spectrometry[J]. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis,2004,72:17-25.
- [13] 陈章玉,罗莉莉,武怡,等.烟气中有机酸的分析[J].色谱,2001(4):374-377.
- [14] 刘百战,徐亮,胡便霞,等.卷烟中非挥发性有机酸及某些高级脂肪酸的分析[J].烟草科技,2000,14(1):25-26.
- [15] 郭磊,谢复炜,刘惠民,等.乌梅浸膏中挥发性、半挥发性和非挥发性有机酸的分析[J].中国烟草学报,2007(12):33-37.
- [16] 于建军,李琳,王豹祥,等.晒红烟自然陈化过程中非挥发性有机酸及高级脂肪酸含量的变化[J].安徽农业科学,2006,34(3):502-504.

Methyl Esterification Optimization and Quantitative Analysis of the Non-Volatile Organic Acids in Tobacco

ZHANG Ying-chun¹ CAI Bing² GUO Guo-ning² LI Dan² WANG Cheng-ming¹

1. Key Laboratory of Food Safety Evaluation, Ministry of Agriculture /
College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;
2. Key Laboratory of Applied Research on Natural Plant for Tobacco,
China Tobacco Hubei Industrial LLC, Wuhan 430070, China

Abstract Eight kinds of non-volatile organic acids including malic acid, fumaric acid, 9-octadecenoic acid and so on in cut tobacco from fifteen different planting areas were determined by GC/MS. The methyl esterification conditions of non-volatile organic acids were optimized. The results showed that the optimal time, temperature of methyl esterification was 50 min and 70 °C. The optimal volume proportion of boron trifluoride to methanol, RSD of the method, the recovery of non-volatile organic acid was 3 : 7, 3.34%—7.32%, and 79.50%—101.35%, respectively.

Key words tobacco; non-volatile organic acid; GC-MS; esterification

(责任编辑:陆文昌)