

引用格式:

彭振兴, 郭东锋, 王正刚, 姚忠达, 张福建, 牛慧伟. 双水相-SPE-TFA-GC/MS 测定烟草中糖苷类潜香物质方法的建立[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2020, 46(3): 291–296.

PENG Z X, GUO D F, WANG Z G, YAO Z D, ZHANG F J, NIU H W. Determination of glycosides in tobacco by aqueous two-phase-SPE-TFA-GC/MS[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2020, 46(3): 291–296.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



双水相-SPE-TFA-GC/MS 测定烟草中 糖苷类潜香物质方法的建立

彭振兴¹, 郭东锋¹, 王正刚¹, 姚忠达¹, 张福建¹, 牛慧伟^{2*}

(1.安徽中烟工业有限责任公司, 安徽 合肥 230088; 2.中国烟草总公司职工进修学院, 河南 郑州 450000)

摘 要:建立了双水相-固相萃取(SPE)-三氟乙酰衍生化(TFA)-GC/MS 测定烟草中糖苷类潜香物质的方法:烟草样品通过微波双水相提取、0.45 μm 膜过滤后得到的糖苷粗提物, 过 HP-20 SPE 小柱, 再依次经过正戊烷-二氯甲烷和甲醇洗脱, 洗脱液经浓缩至干燥后得到的糖苷精提物, 通过三氟乙酰胺(MBTFA)衍生化, 采用葡萄糖苷标准物及 NIST 谱库比照定性, 并与内标 2-硝基苯- β -D-葡萄糖苷的衍生化产物面积比进行定量分析, 可测定烟草中 18 种糖苷类潜香物质。利用该方法测定烤烟 K326、白肋烟 Kenek、香料烟 Basma 的糖苷类潜香物质, 共测得 18 种糖苷类香味成分, 糖苷包括 14 种葡萄糖苷、1 种芸香糖苷和 3 种巢菜糖苷, 苷元包括脂肪醇、芳香族化合物、降异戊二烯类、倍半萜类多酚类化合物; 烤烟中糖苷类潜香物含量最高, 香料烟中含量最低。

关 键 词:烟草; 糖苷; 固相萃取; 衍生化; 气相色谱-质谱

中图分类号: S572.01 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2020)03-0291-06

Determination of glycosides in tobacco by aqueous two-phase-SPE-TFA-GC/MS

PENG Zhenxing¹, GUO Dongfeng¹, WANG Zhenggang¹, YAO Zhongda¹, ZHANG Fujian¹, NIU Huiwei^{2*}

(1.China Tobacco Anhui Industrial Co. Ltd, Hefei, Anhui 230088, China; 2.Staff Development Institute of China National Tobacco Corporation, Zhengzhou, Henan 450000, China)

Abstract: Aqueous two-phase solid-phase extraction (SPE)-TFA trifluoroacetylation (TFA)-GC/MS was developed for determination of glycosides in tobacco. The sample was extracted by microwave two-phase extraction, and separated by 0.45 μm membrane, and then by HP-20 SPE column, which was eluted by N-pentane dichloromethane and methanol, the eluent was collected, concentrated and dried to obtain the glycoside extract. The acetylation of trifluoroacetamide (MBTFA) was used as a derivatization method, the quality of the derivative was compared with the certified reference material of glucoside and the NIST spectrum library, and the area ratio of the derivative to the internal standard of 2-nitrobenzene- β -D-glucoside was quantitatively analyzed, by which 18 glycosides in tobacco were identified. The method was applied to the determination of flue-cured tobacco(K326), burley tobacco(Kenek) and oriental tobacco (Basma), and 18 glycoside flavor components were identified. The glycoside types include 14 glucosides, 1 rutin, and 3 nesterosides; and the aglycone types include aliphatic alcohols, aromaticity, norisoprenoids, sesquiterpenoids, and polyphenols. The content of glycosides in flue-cured tobacco was the highest, and in oriental tobacco the lowest.

收稿日期: 2020-02-26

修回日期: 2020-04-28

基金项目: 安徽中烟工业有限责任公司科技项目(2018js018)

作者简介: 彭振兴(1986—), 男, 山东郓城人, 硕士, 农艺师, 主要从事烟草化学研究, pzhx2008@163.com; *通信作者, 牛慧伟, 硕士, 农艺师, 主要从事烟草化学和生理生化研究, niuhuiwei1986@163.com

Keywords: tobacco; glycoside; solid-phase extraction; derivatization; gas chromatography-mass spectrometer

烟草中的糖苷是一类由单糖或低聚糖的羟基氨基硫羟基和另一分子中的半缩醛羟基等失水而产生的化合物^[1],是烟叶生长过程中形成的次级代谢产物^[2]。糖苷相对分子质量较大,沸点较高,香气较少或本身没有香气,但在卷烟燃吸过程中经高温加热或燃烧裂解能释放出香气香味^[3-4]。GREEN等^[5]发现,烟草中的非挥发性香气前体以糖苷形式存在,水解释放出 3-羟基二氢大马酮和 3-酮基紫罗兰醇等香气物质。用气相色谱法、高效液相色谱法对烤烟中的香气成分及糖苷成分进行分析,但一次只能分离鉴定出很少几种成分^[6-12]。烟草中糖苷类物质含量较低,且与水溶性糖、游离态香味物质、生物碱和色素等的性质相近^[13-17],较难获得纯净的标准样品。刘百战等^[18]用甲醇提取烟样中糖苷成分,采用非离子型大孔树脂(AB-8),选用乙醚-正己烷萃取,使烟草中的糖苷与可溶性糖、氨基酸、有机酸、游离香味成分分离。田振峰等^[19]用甲醇连续超声萃取,再用正己烷-乙醚萃取后得到含糖苷类物质的溶液,用二氯甲烷萃取,经酸洗、碱洗,得到有机层,干燥后即得糖苷精提物。胡雅琴等^[20]用甲醇重复提取烟样,过 DM-401 层析柱,且用二氯甲烷萃取,采用蒸馏萃取(SDE)法分离烟草样品中的香味成分。笔者尝试建立双水相提取-固相萃取(SPE)-三氟乙酰衍生化(TFA)-GC/MS 的方法,测定烟草中糖苷类潜香物质,并对糖苷类香气成分进行分析,为进一步明确烟草中糖苷类潜香物质成分、提高烟草香味品质提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂和仪器

甲醇、正戊烷、二氯甲烷、吡啶溶剂购自 Sigma-Aldrich,均为色谱纯;硫酸铵、碳酸钾、磷酸氢二钾、氯化钠等购自国药集团,均为分析纯;衍生化试剂三氟乙酰胺(MBTFA)购自 Pierce (Rockford, IL);糖苷标准物质购自 Sigma-Aldrich。

主要仪器:5973N型气相色谱质谱仪(Agilent);HP-20 SPE固相萃取小柱(北京绿百草科技发展有限公司);Milli-Q系统(Millipore, Bedford);超声波

发生仪(BRANSON);微波反应器(Sairem)。

1.1.2 烟叶原料

2018年,采集云南玉溪烤烟K326的C3F、湖北恩施白肋烟Kenek中部叶、云南保山香料烟Basma中部叶样品,烘干后粉碎过孔径0.25 mm筛,低温密封储存。

1.2 烟叶糖苷测定方法的建立

1.2.1 微波辅助双水相提取

准确称取0.5 g烟叶粉末,加入10 mL甲醇中,超声溶解30 min,离心,取上清,加入由甲醇与K₂HPO₄(质量比为20:11)组成的双水相体系,微波反应器中火作用2 min后,静置冷却,取上相,过0.45 μm膜,制得糖苷粗提物。

1.2.2 固相萃取

将5 mL糖苷粗提物加到HP-20 SPE小柱上,以0.5 mL/min流速缓慢通过小柱,依次用20 mL超纯水、15 mL正戊烷-二氯甲烷洗脱,洗脱速度1.0 mL/min,最后用20 mL甲醇洗脱,洗脱速度为2.0 mL/min,收集甲醇洗脱液,浓缩至干,得糖苷精提物。

1.2.3 衍生化试剂的选择及其反应条件的优化

选择MBTFA作为衍生化试剂,比较不同反应温度(40、50、60、70 ℃)、不同反应时间(30、40、50、60、70 min)、不同试剂用量(100、200、300、400 μL)对衍生化结果的影响。

1.2.4 GC/MS 分析

用5973N型气相色谱质谱仪,对衍生化的物质进行气相色谱-质谱联用分析测定。色谱柱为DB-5 MS柱(长30 m、孔径0.25 mm、膜厚0.25 μm)。程序升温:起始温度120 ℃,保持1 min,以3 ℃/min升至220 ℃,再以5 ℃/min升至280 ℃,保持10 min。进样量1.0 μL,分流比10:1,进样口温度240 ℃。质谱条件:离子源温度230 ℃,四级杆温度150 ℃,离子化方式EI,电子能量70 eV,全扫描,质量范围40~600 amu。苷元采用标准物质及NIST谱库比照定性,定量采用与内标2-硝基苯-β-D-葡萄糖苷的衍生化产物面积比来计算(假定响应系数相等)。

2 结果与分析

2.1 衍生化反应优化条件

MBTFA衍生化条件优化试验结果见图1。反应温度从40℃提高到60℃,衍生化产物的峰面积随着温度的升高而增加,温度继续升高到70℃时,峰面积反而有所减小。反应时间30~60 min时,衍生化产

物的峰面积随着时间的延长而增加,继续延长反应时间,峰面积无变化。MBTFA的用量从100 μL增加到400 μL,结果最低用量即能达到良好的衍生化效果,增加衍生化试剂用量对于衍生化效率无明显影响,反而会增加GC/MS分析的基质背景,影响目标物的定性定量。

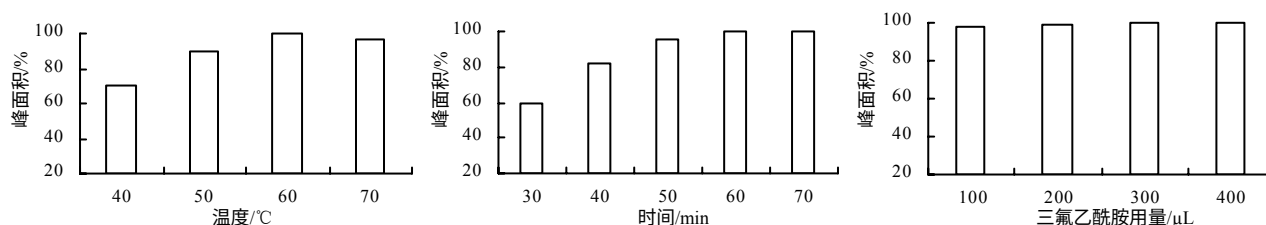


图1 不同温度、时间、试剂用量下衍生化产物的峰面积

Fig.1 Peak area of derivatives under different temperatures, reaction times, and MBTFA amounts

综上,选择衍生化反应条件为:100 μL MBTFA试剂,在温度60℃水浴条件下,衍生化反应60 min,即可完成衍生化。

图2为糖苷精提物经三氟乙酰衍生化后的GC/MS图谱。从图中可以看出,各目标物分离良好,通过与标准物质及标准谱图(NIST)对比,共定性鉴定出烟草中18种糖苷键合态香味成分,包括14种葡

萄糖苷(β -D-吡喃葡萄糖苷)、1种芸香糖苷(α -L-吡喃鼠李糖- β -D-吡喃葡萄糖苷)和3种巢菜糖苷(α -L-吡喃阿拉伯糖- β -D-吡喃葡萄糖苷)。EI质谱分析结果见表1,可明确其苷元类型为脂肪醇、芳香族化合物、降异戊二烯类、倍半萜类和多酚类化合物。

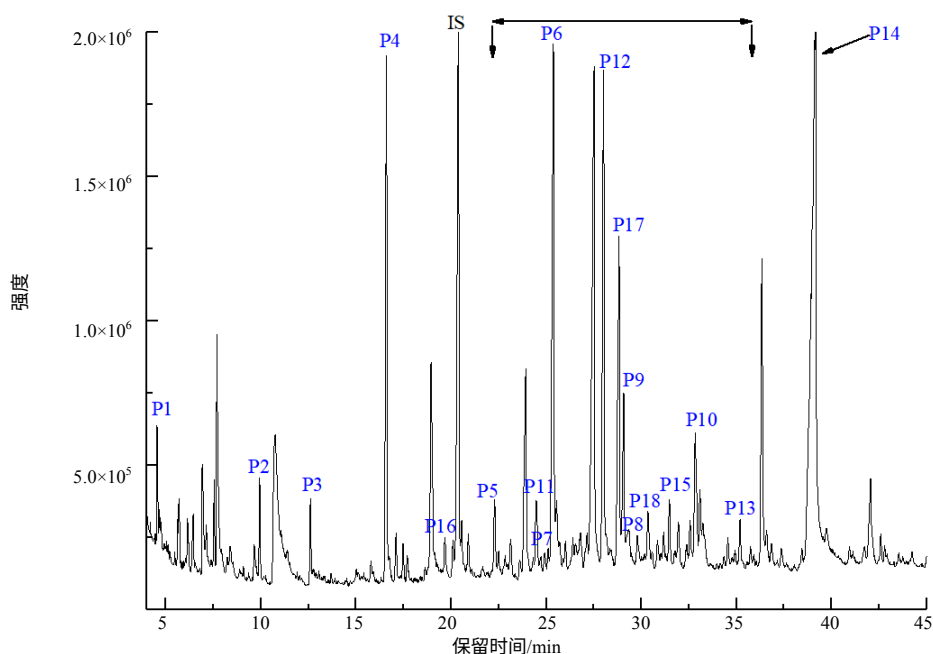


图2 烟叶糖苷衍生化产物的气相色谱质谱图谱

Fig.2 Typical GC/MS separation of TFA glycosidic extracts from tobacco

TFA衍生化产物的EI质谱数据分为糖元和苷元2个部分进行解析,其中苷元部分离子丰度普遍比

糖元部分强,并且这两部分的碎片离子之间没有交叉和干扰,这也使糖苷结构的定性更加简单。

表 1 烟草中糖苷类潜香物的定性分析

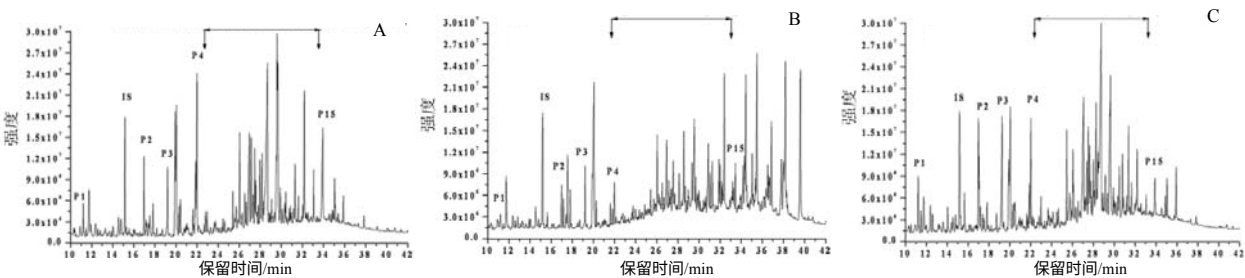
Table 1 Glycosides qualitative identification for TFA derivatives from flue-cured tobacco						
糖苷类别	序号	物质	相对保留 时间/min	EI 质谱碎片		定性
				糖元	苷元	
葡萄糖苷(β -D-吡喃葡萄糖苷)	P1	3-甲基-丁醇	0.22	547(3),319(21),265(8),193(6),177(4)	71(100), 69(39),70(4),72(4)	A
	P2	苯甲醇	0.49	319(2),205(1),193(4),177(1)	91(100),92(17),108(2),107(3)	A
	P3	苯乙醇	0.62	319(12),265(1),205(1),193(2),177(3)	105(100),104(42),91(33),106(19)	A
	P4	4-羟基-苯乙醇	0.82	319(28),265(1),205(2),193(2),177(5)	217(100),216(51),203(24),218(13)	A
	P5	3-羟基-7,8-二氢- β -紫罗兰醇	1.10	547(1),319(51),265(2),205(2),193(10)	159(100),173(83),131(24),145(21)	B
	P6	3-氧代- α -紫罗兰醇	1.35	319(23),265(1),205(3),193(6),177(4)	108(100),109(19),135(18),91(18)	B
	P7	布鲁门醇 C	1.26	319(90),265(6),205(10),193(18),177(14)	151(100),191(54),133(40),135(31)	B
	P8	布鲁门醇 A	1.54	319(30),265(2),205(3),193(12),177(7)	124(100),150(58),151(19),207(17)	B
	P9	3,5,5-三甲基-4-4-羟基-2-环己烯-1-酮	1.62	319(46),265(3),205(7),193(14),177(15)	164(100),149(60),109(52),108(34),135(28),165(13)	B
	P10	3-羟基-5,6-环氧- β -紫罗兰醇	1.60	319(21),265(4),193(12),177(6)	208(100),125(72),209(45),109(30)	B
	P11	日齐素	1.32	547(1),319(89),205(8),193(30),177(6)	143(100),131(48),105(40),187(32)	B
	P12	3 β -羟基-螺岩兰草酮	1.41	319(32),265(2),205(7),193(9),177(20)	176(100),109(85),218(70),108(61)	B
	P13	3 β -羟基-索拉那斯酮	1.70	319(19),265(2),205(3),193(8),177(6)	121(100),176(23),218(13),122(6)	B
	P14	莨菪亭	1.92	319(11),205(3),193(14),177(11)	192(100),193(14),177(11),164(7)	A
芸香糖苷(α -L-吡喃鼠李糖- β -D-吡喃葡萄糖苷)	P15	日齐素	1.63	435(18),319(5),265(4),205(6),193(4),177(2)	143(100),131(48),105(40),187(32)	B
巢菜糖苷(α -L-吡喃阿拉伯糖- β -D-吡喃葡萄糖苷)	P16	3-甲基-丁醇	0.93	421(3),319(13),278(4),193(25),165(4)	71(100), 69(63),70(8),72(4)	A
	P17	苯甲醇	1.38	421(2),319(4),278(2),193(16),165(1)	91(100),92(13),107(12),108(7)	A
	P18	苯乙醇	1.50	421(3),319(13),278(4),193(25),165(4)	105(100),104(42),91(34),109(22)	A

相对保留时间为相对内标物 2-硝基苯- β -D-葡萄糖苷的 TFA 衍生化产物；定性依据：A 为标准物质；B 为文献和谱库定性。

2.2 双水相-SPE-TFA-GC/MS 法测定烟叶糖苷类潜香物成分

运用建立的方法对烤烟、白肋烟、香料烟样品进行测试分析，GC/MS谱图结果见图3。可以看出，

3种烟叶样品都检测到18种糖苷类潜香物成分，且分离良好；定量结果表明，各组分RSD均小于10%，重现性较好。



A 烤烟；B 香料烟；C 白肋烟。

图 3 烟叶样品糖苷衍生化产物的气相色谱质谱图谱

Fig.3 GC/MS separation of TFA glycosidic extracts from different types of tobaccos

烟叶糖苷的定量测定结果见表 2。烤烟和白肋烟中糖苷类成分含量较香料烟的高，烤烟烟叶中含量较高的糖苷有 4-羟基苯乙醇-3-O-葡萄糖苷、3 β -羟基-螺岩兰草酮-3-O-葡萄糖苷和东莨菪苷等，白

肋烟烟叶中含量较高的糖苷有 3-甲基-丁醇-3-O-葡萄糖苷、苯甲醇-3-O-葡萄糖苷和苯乙醇-3-O-葡萄糖苷等。主成分分析结果表明，烤烟总糖苷含量与 P4 号、P12 号、P15 号、P14 号 4 种糖苷显著

相关，白肋烟总糖苷含量与 P6 号、P7 号、P9 号、P10 号、P17 号 5 种糖苷显著相关，而香料烟总糖苷含量与 18 种糖苷没有显著相关性，表明通过糖苷成分分析可以有效区分 3 种不同类型的烟叶。

表 2 不同类型烟草的糖苷的相对含量
Table 2 Relative concentrations of glycoside compounds in three types of tobaccos

糖苷类物质序号	相对含量/(mg·kg ⁻¹)		
	烤烟	白肋烟	香料烟
P1	33.02±1.27	64.07±3.01	7.39±0.43
P2	57.64±3.11	99.35±4.28	33.32±1.56
P3	39.15±3.20	63.52±5.51	31.28±2.12
P4	184.15±10.81	79.17±3.36	26.96±1.67
P5	45.18±4.62	91.87±6.83	21.08±3.22
P6	514.42±19.78	664.33±18.77	179.69±7.48
P7	282.11±10.93	346.33±16.21	164.56±6.06
P8	36.18±2.85	75.51±2.78	21.24±1.17
P9	175.88±7.60	280.73±13.31	32.13±2.07
P10	26.21±2.55	134.33±8.26	16.38±1.71
P11	18.72±0.64	15.56±1.17	1.68±0.08
P12	122.31±6.09	24.00±1.63	9.14±0.69
P13	16.99±1.29	15.86±1.25	2.27±0.22
P14	660.31±38.60	141.38±3.81	4.16±0.37
P15	33.24±2.19	8.02±0.37	2.06±0.11
P16	2.06±0.18	3.71±0.29	0.62±0.04
P17	168.28±10.15	279.34±15.54	85.82±6.69
P18	16.59±1.55	25.71±1.53	12.77±0.66

3 结论

建立的双水相提取-固相萃取SPE-三氟乙酰衍生化TFA-GC/MS方法，能检测出烟草中18种糖苷类潜香物质，包括14种葡萄糖苷(β-D-吡喃葡萄糖苷)、1种芸香糖苷(α-L-吡喃鼠李糖-β-D-吡喃葡萄糖苷)和3种巢菜糖苷(α-L-吡喃阿拉伯糖-β-D-吡喃葡萄糖苷)，并明确了苷元类型包括脂肪醇、芳香族化合物、降异戊二烯类、倍半萜类以及多酚类化合物。

运用该方法对烤烟K326、白肋烟Kenek、香料烟Basma烟叶中18种糖苷类潜香物组分进行测定分析，结果表明，烤烟中多酚类以及倍半萜系类糖苷含量明显高于其他烟叶，白肋烟中含量较高的糖苷则为降异戊二烯类糖苷，而香料烟中芳香族苷元所占比例最大，烤烟中糖苷类潜香物含量最高，香料烟中含量最低。

参考文献:

[1] 吴新华, 朱瑞芝, 倪朝敏, 等. 烟草中糖苷类香味前体物质研究进展[J]. 云南化工, 2009, 36(1): 62-65. WU X H, ZHU R Z, NI C M, et al. Research advance of glycosides from tobacco as flavor precursors[J]. Yunnan Chemical Technology, 2009, 36(1): 62-65.

[2] 王彩霞, 魏远方, 贾峰, 等. 不同产区烟叶生长后期糖苷态致香成分总量的动态变化[J]. 烟草科技, 2018, 51(1): 33-42. WANG C X, WEI Y F, JIA F, et al. Dynamic variations of aglycon aroma components and contents in tobacco leaves from different producing areas at later growth stage[J]. Tobacco Science & Technology, 2018, 51(1): 33-42.

[3] LOUGHRIN J H, HAMILTON-KEMP T R, BURTON H R, et al. Glycosidically bound volatile components of *Nicotiana sylvestris* and *N. suaveolens* flowers[J]. Phytochemistry, 1992, 31(2): 1537-1540.

[4] 王林, 朱金峰, 许自成, 等. 烟草中糖苷类物质研究进展[J]. 中国农业科技导报, 2015, 17(1): 65-70. WAGN L, ZHU J F, XU Z C, et al. Advances in glycosides in tobacco[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2015, 17(1): 65-70.

[5] GREEN C R, COBLY D A, COOPER P J, et al. Advances in analytical methodology of leaf and smoke[J]. Rec Adv Tob Sci, 1980, 6: 123-183.

[6] 吴新华, 王凯, 任卓英, 等. UPLC-ESI-MS/MS 法快速测定烟草中几种潜香物质[J]. 香料香精化妆品, 2010(1): 1-5. WU X H, WAGN K, REN Z Y, et al. Analysis of aroma precursors in tobacco by UPLC-ESI-MS/MS[J]. Flavour Fragrance Cosmetics, 2010(1): 1-5.

[7] 蔡凯, 赵会纳, 潘文杰, 等固相萃取/衍生化气相色谱-质谱法鉴定烟草中 4 种苯丙烷类糖苷[J]. 分析实验室, 2014, 33(2): 133-137. CAI K, ZHAO H N, PAN W J, et al. Identification of 4 phenylpropanoid glycosides in tobacco using solid-phase extraction-gas chromatography/mass spectrometry with derivatization[J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2014, 33(2): 133-137.

[8] 苏菲, 周海燕, 魏跃伟, 等. 不同类型烟草游离态和糖苷结合态中性香气成分含量比较[J]. 河南农业大学学报, 2012, 46(6): 601-608. SU F, ZHOU H Y, WEI Y W, et al. Comparison of contents of neutral aroma components in different types of tobacco in free and glycoside bound state[J]. Journal of the Henan Agricultural University, 2012, 46(6): 601-608.

[9] KILIC A, KOLLMANNSSBERGER H, NITZ S. Glycosidically bound volatiles and flavor precursors in *Laurus nobilis* L[J]. Journal of Agricultural and Food

- Chemistry, 2005, 53(6): 2231–2235.
- [10] VOIRIN S G, BAUMES R L, SAPIS J C, et al. Analytical methods for monoterpene glycosides in grape and wine II. Qualitative and quantitative determination of monoterpene glycosides in grape[J]. Journal of Chromatography A, 1992, 595(1/2): 269–281.
- [11] VOIRIN S G, BAUMES R L, GUNATA Y Z, et al. Analytical methods for monoterpene glycosides in grape and wine I. XAD-2 extraction and gas chromatographic-mass spectrometric determination of synthetic glycosides[J]. Journal of Chromatography A, 1992, 590: 313–328.
- [12] WAHLBERG I. Carotenoid-Derived Aroma Compounds in Tobacco[M]. Washington DC: American Chemical Society, 2001: 131–144.
- [13] BURTON H R, KASPERBAUER M J. Changes in chemical composition of tobacco lamina during senescence and curing. 1. Plastid pigments[J]. Journal of Agricultural Food Chemistry, 1985, 33(5): 879–883.
- [14] AULDRIDGE M E, MCCARTY D R, KLEE H J. Plant carotenoid cleavage oxygenases and their apocarotenoid products[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2006, 9(3): 315–321.
- [15] SKOUROUMOUNIS G K, MASSY-WESTROPP R A, SEFTON M A, et al. Precursors of damascenone in fruit juices[J]. Tetrahedron Letters, 1992, 33: 3533–3536.
- [16] ZOOK M, HOHN T, BONNEN A, et al. Characterization of novel sesquiterpenoid biosynthesis in tobacco expressing a fungal sesquiterpene synthase[J]. Plant Physiology, 1996(112): 311–318.
- [17] CHONG J, BALTZ R, SCHMITT C, et al. Down-regulation of a pathogen-responsive tobacco UDP- Glc: Phenylpropanoid glucosyltransferase reduces scopoletin glucoside accumulation, enhances oxidative stress, and weakens virus resistance[J]. The Plant Cell, 2002, 14(5): 1093–1107.
- [18] 刘百战, 徐玉田, 孙哲建, 等. 加料前后烟草中游离及糖苷结合态香味成分的分析研究[J]. 中国烟草学报, 1998, 4(1): 1–8.
- LIU B Z, XU Y T, SUN Z J, et al. Studies on the free and glycoside-bound aroma components of tobacco during casing process[J]. Acta Tabacaria Sinica, 1998, 4(1): 1–8.
- [19] 田振峰, 瞿先中, 方鼎, 等. 烟叶调制过程中糖苷类香味前体的含量变化研究[C]//中国烟草学会工业委员会. 2005 年烟草化学学术研讨会论文集. 北京: 中国烟草学会, 2005: 35–47.
- TIAN Z F, QU X Z, FANG D, et al. Changes of glycosides and aroma precursors in tobacco leaves during curing[C]//Industrial Committee of China Tobacco Society, Proceedings of the 2005 symposium on Tobacco Chemistry. Beijing: China Tobacco Society, 2005: 35–47.
- [20] 胡雅琴, 蔡继宝, 朱晓兰, 等. 两步同时蒸馏萃取同时分离游离态和结合态香味成分[C]//中国烟草学会工业委员会 2005 烟草化学学术研讨会论文集. 北京: 中国烟草学会, 2005: 131–143.
- HU Y Q, CAI J B, ZHU X L, et al. Two-step simultaneous distillation and extraction of aroma components in the same, simultaneous separation of free and combined state [C]//Industrial Committee of China Tobacco Society. Proceedings of the 2005 Symposium on Tobacco Chemistry. Beijing: China Tobacco Society, 2005: 131–143.

责任编辑: 罗慧敏

英文编辑: 罗 维