



杨晓,何熙芳,霍燕,等. 3种嘌呤生物碱在卷烟烟气中转移行为研究[J]. 轻工学报,2026,41(2):107-115.
YANG X, HE X F, HUO Y, et al. Study on the transfer behavior of three purine alkaloids in cigarette smoke[J].
Journal of Light Industry, 2026, 41(2): 107-115. DOI: 10.12187/2026.02.010

3种嘌呤生物碱在卷烟烟气中转移行为研究

杨晓^{1,2}, 何熙芳², 霍燕³, 田雨³, 张文娟¹, 李炎强¹, 郝菊芳⁴, 白新亮⁵

1. 中国烟草总公司郑州烟草研究院, 河南 郑州 450001;
2. 河南新桥烟草科技服务有限公司, 河南 郑州 450001;
3. 山西昆明烟草有限责任公司, 山西 太原 030006;
4. 中国烟草总公司职工进修学院, 河南 郑州 450008;
5. 山西省烟草质量监督检测站, 山西 太原 030000

摘要:【目的】探究3种嘌呤生物碱的裂解规律及其在卷烟烟气中的转移行为。【方法】通过热裂解-气相色谱/质谱联用(Py-GC/MS)技术研究可可碱、茶碱、咖啡因的热裂解行为,建立适用于卷烟主流烟气中3种生物碱的超高液相色谱-高分辨质谱联用(UPLC-HRMS)技术的半定量分析方法,优化前处理条件并测定生物碱在卷烟烟气中的转移率。【结果】在300℃和600℃的热解温度范围内,3种生物碱均以原型转移为主,当裂解温度升至900℃时,其裂解程度显著增强,含量明显下降,且在热裂解过程中没有多环芳烃类物质生成;当萃取溶剂为NaOH溶液(pH值为11.9),萃取方式为回流萃取,萃取时间为4.0h,测试方法为UPLC-HRMS,3种生物碱的加标回收率最高,满足半定量分析技术要求;可可碱、茶碱、咖啡因在卷烟主流烟气中的转移率分别为0.21%、0.74%、0.10%,其中茶碱的转移率最高。【结论】基于3种嘌呤生物碱的高温转移规律构建的烟草复杂基质中痕量生物碱的分析技术体系,可为烟草制品的质量控制与健康风险评估,以及高沸点香料成分的烟气转移行为研究提供参考。

关键词: 卷烟;生物碱;热裂解;超高液相色谱-高分辨质谱联用技术;转移行为

中图分类号: TS411 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096-1553(2026)02-0107-09

0 引言

可可(*Theobroma cacao* L.)是梧桐科可可属的多年生常绿小乔木,生长于南北纬10°以内的热带范围内,是重要经济作物之一^[1]。可可豆是可可树的种子,收割采摘后,经发酵、烘焙、粗磨、风选、研磨、碱化、压榨等工序处理后,可制备具有重要工业

价值的可可粉、可可脂和可可液等产品^[2],不仅是制作巧克力、糖果、冰淇淋等食品的重要原料^[3],还广泛应用于化妆品、医药等行业^[4]。现代分析技术已从可可豆及其制品中鉴定出600多种特征性风味化合物,主要包括醛类、酮类、酯类、吡嗪、呋喃、噻唑、有机酸等化合物^[5]。自1932年英美烟草公司将可可粉纳入卷烟添加剂名录后,可可源香料已成为

收稿日期:2025-02-20;修回日期:2025-05-18;出版日期:2026-04-15

基金项目:河南省自然科学基金项目青年科学基金项目(242300420578)

作者简介:杨晓(1992—),男,河南省驻马店市人,中国烟草总公司郑州烟草研究院助理研究员,博士,主要研究方向为烟用香精香料。E-mail:yangxiao_ztri@foxmail.com

通信作者:白新亮(1987—),女,山西省太原市人,山西省烟草质量监督检测站高级工程师,主要研究方向为卷烟及烟气相关化学成分。E-mail:baixinliang35@163.com

烟草工业不可或缺的香精组分^[6]。菲莫国际烟草公司的配方分析数据显示,超过80%的卷烟料液配方中含有可可源香料,其使用量稳居配方组分的前十位^[6]。

当前研究主要聚焦于可可的挥发性香味成分分析^[7-8]及可可粉的质量控制^[9-11]。在烟草化学领域,学者们重点探索了可可源香料的制备工艺^[6]及其对卷烟增香提质的应用效果,发现它能赋予卷烟类似白肋烟、可可香、烘烤香等特征香气^[12]。可可源香料中还蕴含可可碱(3,7-二甲基黄嘌呤)、咖啡因(1,2,7-三甲基黄嘌呤)、茶碱(1,3-二甲基黄嘌呤)等具有生理活性的嘌呤生物碱。这类化合物受限于低溶解性和高沸点的物理特性,制约了其可萃取性及挥发性,故其定量分析通常依赖于兼具高效目标物富集能力的前处理技术与高灵敏度的分析仪器。在焦油等复杂基质体系中,基质抑制效应可导致目标化合物的仪器响应信号减弱^[13],同时前处理过程的吸附竞争效应亦会造成目标物回收率降低,这或可解释目前鲜见相关烟气转移行为系统研究的现状。可可碱可与烟草制品中的烟碱协同影响大脑中枢神经系统,令人愉悦振奋,协调改善烟草吸味^[6,14-15]。因此,研究可可碱及类似生物碱的烟气转移行为将弥补上述研究中缺失的一环。

基于此,本研究以可可碱为代表的嘌呤生物碱类化合物为研究对象,探究其在模拟卷烟抽吸条件下的原型转移规律,并在烟丝中添加这些生物碱制备卷烟样品,通过筛选不同前处理方法,利用超高效液相色谱-高分辨质谱联用(UPLC-HRMS)技术进行含量测定,获得嘌呤生物碱类化合物在卷烟主流烟气中的转移行为数据,以期为此类高沸点、极低溶解度的香料在烟草复杂基质的转移行为分析提供技术参考。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

可可碱(纯度>99%),北京伊诺凯科技有限公司;茶碱(纯度>99%),上海麦克林生化科技股份有限公司;咖啡因(纯度>96.1%),坛墨质检科技股份

有限公司;氢氧化钠(纯度>98%),阿法埃莎(中国)化学有限公司;甲醇(色谱级),默克股份有限公司;无水乙醇(色谱级),阿拉丁试剂(中国)有限责任公司;剑桥滤片(直径44 mm),德国Borgwaldt公司;有机相微孔滤膜(0.22 μm,尼龙)、水相微孔滤膜(0.22 μm,聚醚砜),天津津腾公司;一次性无菌注射器(2.5 mL),河南曙光健士医疗器械集团股份有限公司;烟支空筒((52 mm烟支+30 mm醋纤滤嘴)×圆周24.5 mm)、未加香烟丝,山西昆明烟草有限责任公司。

1.2 主要仪器与设备

AB204-S型分析天平,瑞士METTLER TOLEDO公司;TSX型变频超低温冰箱,美国Thermo Scientific公司;DF-101S集热式磁力搅拌器,巩义市瑞力仪器设备有限公司;EGA/PY-3030D型热裂解仪,日本Frontier Lab公司;8890-5977B型气相色谱-质谱联用(GC-MS)仪,美国安捷伦公司;Q-Exactive型高分辨质谱仪(配备Ultimate 3000型液相色谱),美国Thermo Fisher公司;SM450型吸烟机,英国Cerulean公司。

1.3 实验方法

1.3.1 热裂解分析 1)样品制备。分别称取可可碱、茶碱、咖啡因样品各0.01 g加入10 mL容量瓶中,用无水乙醇配制质量浓度为1 mg/mL的溶液,待用。

2)热裂解条件。分别取1 μL可可碱、茶碱、咖啡因溶液置于热裂解仪中,快速升温至300 ℃、600 ℃进行热裂解;分别取5 μL可可碱、茶碱、咖啡因溶液置于热裂解仪中,快速升温至900 ℃进行热裂解。热裂解环境为空气,将热裂解产物由载气He导入GC-MS仪中进行分析。

3)分析条件。GC条件:DB-5MS毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm);载气为高纯氦气;进样口温度为280 ℃;分流比为50:1;色谱柱流量为1.0 mL/min;升温程序为初始温度40 ℃,保持3 min,以10 ℃/min的速率升温至240 ℃,保持15 min,然后以20 ℃/min的速率升温至280 ℃,保持15 min。

MS条件:电子轰击(EI)电离源;电子能量为

70 eV;传输线温度为 280 ℃;离子源温度为 230 ℃;溶剂延迟 4.5 min;质量扫描范围为 29~450 amu;扫描方式为全扫描。

定性定量条件:使用 NIST 20 谱库对热裂解产物进行检索,保留匹配度大于 80%的化合物,采用峰面积归一化法定量。

1.3.2 工作曲线建立 参考文献[15]建立标准工作曲线。

NaOH 溶液 A 制备:准确称取 2.0 g 的 NaOH,用一定量的蒸馏水溶解并定容至 1.0 L,得质量浓度为 2 g/L 的 NaOH 溶液;取 16 mL NaOH 溶液定容至 100 mL,得到 pH 值为 11.9 的 NaOH 溶液 A。

标准储备溶液制备:称取 0.100 0 g 可可碱(精确至 0.000 1 g),先用少量 2 g/L 的 NaOH 溶液溶解,再用甲醇稀释并定容至 100 mL;称取 0.050 0 g 茶碱(精确至 0.000 1 g),用甲醇溶解并定容至 100 mL;称取 0.050 0 g 咖啡因(精确至 0.000 1 g),用甲醇溶解并定容至 100 mL。将上述标准储备溶液储存至-18 ℃冰箱中,待用。

标准工作溶液制备:分别移取 10 μL 的 3 种标准储备溶液于 10 mL 容量瓶中,用 NaOH 溶液 A 稀释并定容混匀后,逐级稀释得到 6 级混合标准工作溶液,其质量浓度见表 1。

1.3.3 卷烟加香 取烟丝质量 1%的 3 种标准储备溶液,用 10 mL 体积分数为 95%的乙醇溶液稀释后,用喉头喷管均匀喷洒在已平衡 48 h(温度(22±1) ℃,相对湿度(60±3)%)的烟丝上;加香后的烟丝样品继续平衡 48 h 后,使用填烟器将加香烟丝制成烟支,挑选质量在(0.85±0.05) g 范围内的烟支,在此基础上利用吸阻测试仪,挑选吸阻为 1033±50 的烟支,继续平衡 48 h 后备用。空白对照卷烟用体积分数为 95%的乙醇溶液,采用相同方式加香。

表 1 标准工作溶液的质量浓度

Table 1 Mass concentrations of standard working solutions

目标物	μg/mL					
	1 级	2 级	3 级	4 级	5 级	6 级
可可碱	0.001 0	0.005 0	0.010 0	0.100 0	0.500 0	1.000 0
茶碱	0.000 5	0.002 5	0.005 0	0.050 0	0.250 0	0.500 0
咖啡因	0.000 5	0.002 5	0.005 0	0.050 0	0.250 0	0.500 0

1.3.4 前处理方法优化 取重量与吸阻合格的空白卷烟,以 ISO 模式抽吸,使用 44 mm 的剑桥滤片捕集主流烟气,得到空白剑桥滤片,每张剑桥滤片捕集 5 支卷烟。

在一片空白剑桥滤片中注射 3 种标准储备溶液各 100 μL,在温度 22 ℃、相对湿度 60%的房间内密闭平衡 12 h,优化前处理方法。

萃取溶剂:考查对比水、乙醇、甲醇及 NaOH 溶液 A 的回收率,确定最佳萃取溶剂。

萃取方式:考查对比 40 ℃水浴振荡、40 ℃超声萃取、低共熔溶剂法、索氏萃取及回流萃取的回收率,确定最佳萃取方式。

萃取时间:考查对比 0.5 h、2.0 h、4.0 h、6.0 h、8.0 h 的回收率,确定最佳萃取时间。

加香卷烟前处理流程:每样均取 60 支,抽吸结束后,将捕集了加香卷烟主流烟气的剑桥滤片剪碎,转移至 250 mL 平底烧瓶中,加入 100 mL 的 NaOH 溶液 A 和转子,连接回流装置,于磁力搅拌器上保持微沸状态,油浴加热回流 4 h。结束后静置冷却至室温,取上清液过 0.22 μm 微孔滤膜,转移至色谱瓶中,待 UPLC-HRMS 分析。

1.3.5 仪器条件 1) UPLC 条件:ACQUITY UPLC BEH C18 色谱柱(2.1 mm×100 mm×1.7 μm);柱温为 40 ℃;自动进样器温度为 10 ℃;流动相 A 为体积分数 0.01%甲酸水溶液,B 为无水乙腈;流速为 0.2 mL/min;进样量为 1 μL;流动相梯度洗脱程序见表 2。

2) MS 条件:电离方式为电喷雾正离子模式(ESI);离子喷雾电压为 3.5 kV;离子化温度为 320 ℃;辅助加热气(GS)为 45 psi;气帘气(CUR)为 15 psi;检测方式为目标选择离子扫描模式(Targeted-SIM);质量扫描范围为 181~195 amu。

表 2 流动相梯度洗脱条件

Table 2 Mobile phase gradient elution conditions

时间/min	流速/(mL·min ⁻¹)	A 相/%	B 相/%
0	0.2	93	7
6.00	0.2	87	13
6.10	0.2	75	25
10.00	0.2	75	25
10.10	0.2	93	7
15.00	0.2	93	7

1.3.6 转移率计算 转移率计算公式为

$$T = \frac{m_1 - m_0}{m \times R} \times 100\%$$

式中, T 为主流烟气转移率/%, m_1 为加香卷烟主流烟气中各生物碱的质量/ μg , m_0 为空白对照卷烟主流烟气中各生物碱的质量/ μg , m 为各种生物碱的添加量/ μg , R 为各生物碱的加标回收率。

1.4 数据处理

使用 Microsoft Office Excel 2019 处理数据, 利用 Origin 2018 制图。

2 结果与分析

2.1 3种生物碱的热裂解分析

3种生物碱在不同温度下热裂解产物的总离子流图如图1所示, 分析结果见表3—表5。由图1、

表3—表5可知, 3种生物碱的主要热裂解产物是含氮化合物, 其种类随裂解温度的升高呈先增加后减少的趋势。3种生物碱在300℃和600℃下主要是原型转移, 含量都在98%以上; 当裂解温度为900℃时, 裂解程度增加, 相对含量都有所降低。此外, 在热裂解过程中, 都没有产生多环芳烃, 因此在卷烟中添加可可碱等化合物不会显著改变烟气中多环芳烃的相对含量, 这与 M. Paschke 等^[16] 的研究结果较一致。

在900℃下, 可可碱与茶碱的主要裂解产物为氧化亚氮、异氰酸甲酯、取代咪唑类等小分子含氮化合物, 主要来源于嘌呤环的碎裂; 而在该温度下有较多咖啡因会转化为另一种结构相似的杂环分子(1,4-Dimethyl-4,5,7,8-tetrahydro imidazo-[4,5-E]-1,4-diazepin-5,8(6H)-dione), 该杂环化合物与

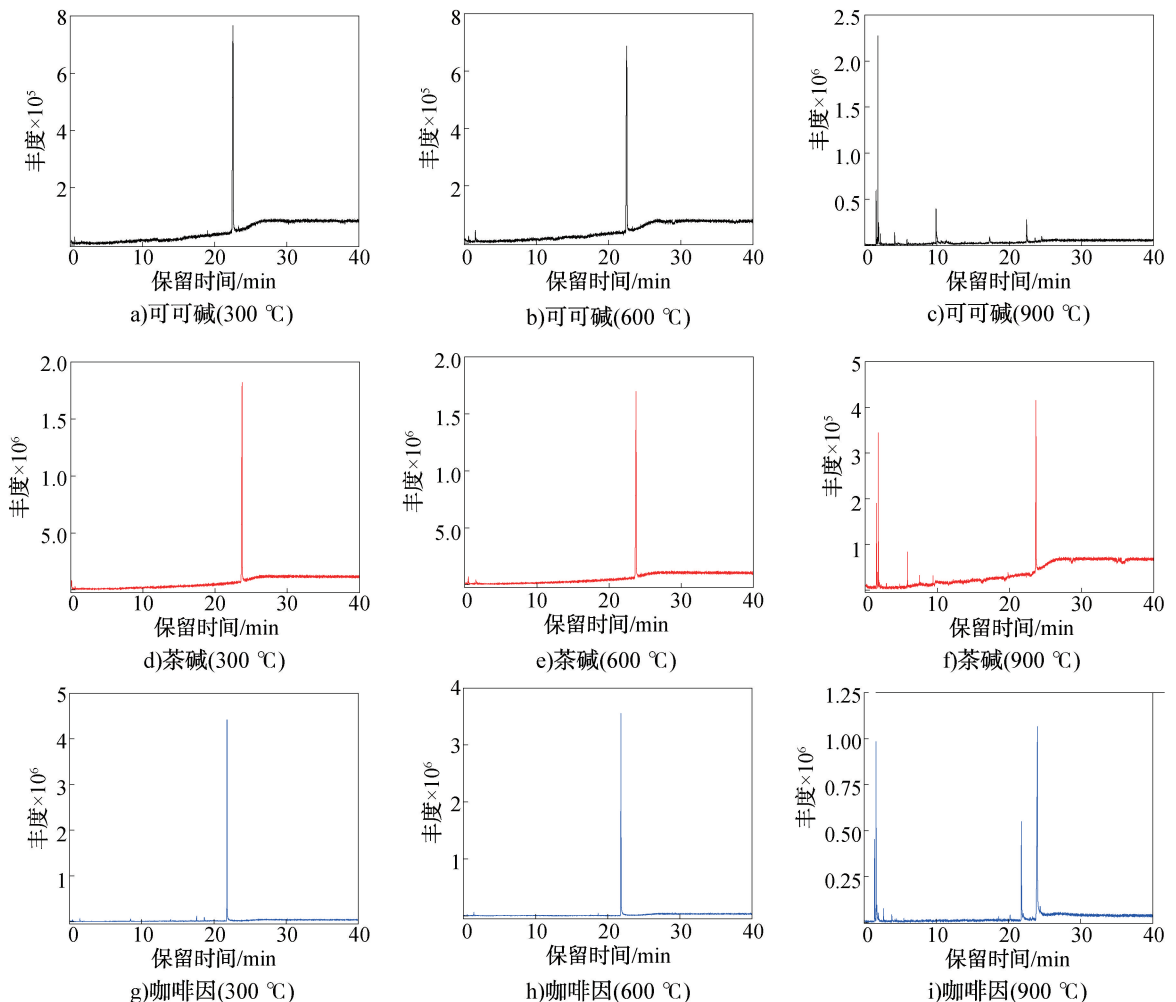


图1 3种生物碱在不同温度下热裂解产物的总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatograms of pyrolysis products of three alkaloids at different temperatures

母体分子具有显著的结构相似性,推测其可能是因为咖啡因分子中 N1 位甲基在高温条件下发生了迁移。

2.2 测试方法及前处理方法优化分析

2.2.1 测试方法选择

常见的生物碱检测方法有

表 3 可可碱在不同温度下的热裂解产物

Table 3 Pyrolysis products of theobromine at different temperatures

保留时间/min	化合物	峰面积占比/%		
		300 °C	600 °C	900 °C
1.57	氧化亚氮	—	1.80	14.28
1.65	2-丁烯	—	—	1.45
1.81	甲胍	—	—	38.16
1.92	丙烯腈	—	—	4.18
2.17	丙腈	—	—	1.87
4.14	吡嗪	—	—	4.46
9.88	2-甲基咪唑	—	—	12.34
10.68	4-甲基咪唑	—	—	1.97
11.26	2,4-二甲基咪唑	—	—	2.02
17.30	4-甲基-1H-咪唑-2-甲腈	—	—	4.37
22.42	可可碱	99.58	98.08	12.38
24.51	2,4,7(1H,3H,8H)-蝶啶三酮	—	—	2.54

注:—表示未检出,下同。

表 4 茶碱在不同温度下的热裂解产物

Table 4 Pyrolysis products of theophylline at different temperatures

保留时间/min	化合物	峰面积占比/%		
		300 °C	600 °C	900 °C
1.56	氧化亚氮	—	1.02	16.13
1.64	2-丁烯	—	—	2.95
1.80	异氰酸甲酯	—	—	24.22
7.53	苯乙烯	—	—	1.56
23.65	茶碱	99.68	98.97	55.13

表 5 咖啡因在不同温度下的热裂解产物

Table 5 Pyrolysis products of caffeine at different temperatures

保留时间/min	化合物	峰面积占比/%		
		300 °C	600 °C	900 °C
1.44	氧化亚氮	0.60	0.92	7.29
1.66	异氰酸甲酯	—	—	16.33
1.77	丙烯腈	—	—	1.44
21.81	咖啡因	99.39	99.07	14.13
24.03	1,4-Dimethyl-4,5,7,8-tetrahydroimidazo[4,5-E]-1,4-diazepin-5,8(6H)-dione	—	—	60.79

LC 法^[17-18]、GC-MS 法^[19]、薄层色谱法^[20]、LC-MS 法等^[21-22]。基于实验室现有仪器条件,本研究选择了 GC-MS、HPLC-UV 及 UPLC-HRMS 法。虽然已有文献报道 GC-MS 和 HPLC-UV 法可分离鉴定可可碱、茶碱及咖啡因,但在实际检测结果中未检测到目标物的特征色谱峰,这可能是因为:1)生物碱类化合物在卷烟中的含量极低(0.19 mg/支)^[23],接近常规检测方法的定量限;2)生物碱类化合物具有高沸点(>600 °C)特征,导致其在 GC-MS 系统中的热脱附效率不足;3)烟草基质中存在烟碱、新烟草碱、假木贼碱等 50 余种结构类似物^[17],引发色谱共流出或共洗脱现象;4)可可源香料与烟草组分间存在显著的基质效应差异^[24],进一步加剧对目标物信号的抑制。而 UPLC-HRMS 法具有检测灵敏度高、选择性好、抗干扰能力强等特点,适用于各种基质中生物碱的测定。故选择 UPLC-HRMS 法作为生物碱类化合物的测试方法。

2.2.2 萃取溶剂选择 不同萃取溶剂对 3 种生物碱的萃取效果如图 2 所示。由图 2 可知,当水、乙醇、甲醇为萃取溶剂时,主流烟气中各生物碱的回收率较低。NaOH 溶液 A 对卷烟主流烟气颗粒物中的生物碱萃取效果较好,这可能是因为 3 种生物碱在水中的溶解度随 pH 值的增加而增加^[25],故选用 NaOH 溶液 A 作为生物碱类化合物的萃取溶剂。

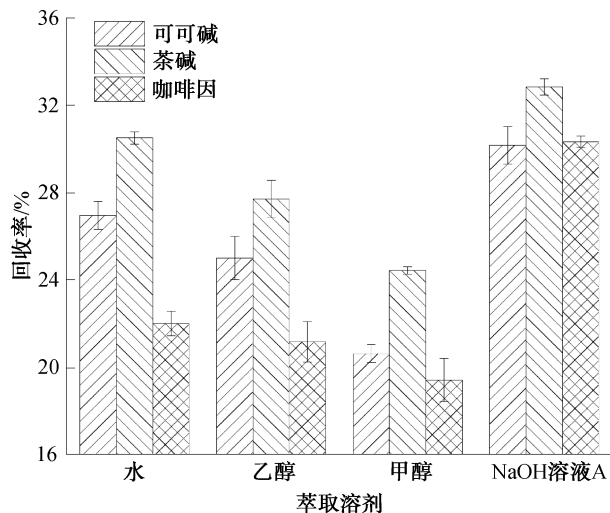


图 2 不同萃取溶剂对 3 种生物碱的萃取效果
Fig. 2 Effect of different extraction solvents on the extraction of three alkaloids

2.2.3 萃取方式选择 不同萃取方式对3种生物碱的萃取效果如图3所示。由图3可知,当萃取方式为40℃水浴振荡、40℃超声萃取、低共熔溶剂法(乙二醇与氯化胆碱的物质的量之比为1:1)时,主流烟气中各生物碱的回收率较低,仅有30%~42%,索氏萃取和110℃回流萃取的回收率则可达到70%~82%。这可能是因为生物碱的溶解度会随温度的升高而增大^[26],这2种萃取方式的提取温度较高,有利于生物碱的溶出。考虑到回流萃取的回收率更高,故选择回流萃取作为生物碱类化合物的萃取方式。

2.2.4 萃取时间选择 不同萃取时间对3种生物碱的萃取效果如图4所示。由图4可知,萃取时间为4.0 h时,各生物碱的回收率均达最大值,且随着萃取时间的延长,回收率反而略有下降。因此,萃取时间选定为4.0 h。

综上所述,可采用UPLC-HRMS法,在萃取溶剂为pH=11.9的NaOH溶液、萃取方式为回流萃取、萃取时间为4.0 h的条件下测试3种生物碱的回

收率。该方法的加标回收率范围为82.06%~86.10%,足以满足卷烟主流烟气中颗粒物中生物碱类化合物的半定量分析的技术要求。

2.3 3种生物碱标准工作曲线分析

3种生物碱标准工作曲线拟合结果见表6。由表6可知,各生物碱在相应质量浓度范围内工作曲线线性关系良好,相关系数(R^2)均大于0.999 0,检出限(LOD)为0.014~0.027 $\mu\text{g}/\text{mL}$,定量限(LOQ)为0.047~0.089 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

2.4 3种生物碱在主流烟气中的转移率分析

3种生物碱在主流烟气中的转移率范围为0.10%~0.74%,其中,可可碱的转移率为0.21%,茶碱的转移率为0.74%,咖啡因的转移率为0.10%,茶碱的转移率最高。本实验测得的3种生物碱转移率较低,可能是由于香料的添加量较少,加香过程中的香料损耗和抽吸时卷烟滤嘴的截留,使部分热裂解产物挥发进入空气形成侧流烟气,仅有少量热裂解产物进入主流烟气,进而导致转移率较低^[27-28]。

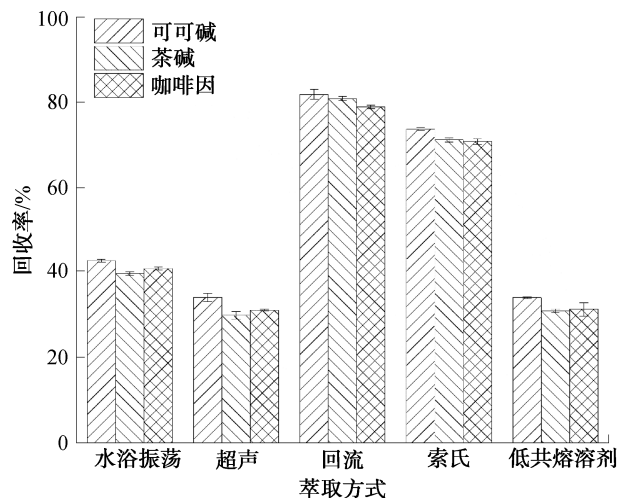


图3 不同萃取方式对3种生物碱的萃取效果
Fig. 3 Effect of different extraction methods on the extraction of three alkaloids

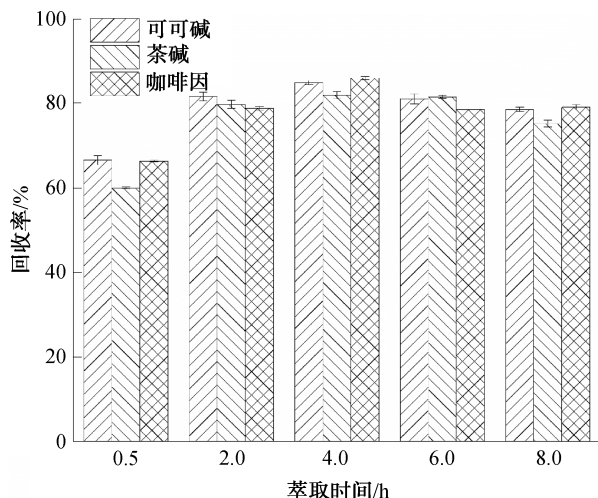


图4 不同萃取时间对3种生物碱的萃取效果
Fig. 4 Effect of different extraction time on the extraction of three alkaloids

表6 3种生物碱标准工作曲线拟合结果
Table 6 Fitting results of standard working curves of three alkaloids

生物碱	线性范围/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	回归方程	R^2	$LOD/(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	$LOQ/(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$
可可碱	0.010~10.000	$y=3.32148 \times 10^6 x + 679221$	0.9992	0.027	0.089
茶碱	0.005~5.000	$y=4.87788 \times 10^6 x + 192462$	0.9993	0.018	0.060
咖啡因	0.005~5.000	$y=6.25481 \times 10^6 x + 226513$	0.9993	0.014	0.047

3 结论

本文以3种嘌呤生物碱为研究对象,初步探讨了热裂解规律,建立了3种生物碱在主流烟气粒相物中的半定量分析方法并分析了其在卷烟主流烟气中的转移行为。

1)通过Py-GC/MS分析鉴定可可碱、茶碱、咖啡因的热裂解产物,在300℃和600℃下,3种生物碱主要是原型转移,当裂解温度为900℃时,裂解程度增加,含量都有所降低,且在热裂解过程中都没有产生多环芳烃。

2)确定了3种生物碱的测试方法和萃取方法:萃取溶剂为pH=11.9的NaOH溶液,萃取方式为回流萃取,萃取时间为4.0h,测试方法为UPLC-HRMS法,该方法的加标回收率范围为82.06%~86.10%,可满足卷烟主流烟气粒相物中生物碱类化合物的半定量分析的技术要求。

3)建立了3种生物碱的标准工作曲线,相关系数均大于0.9990,线性关系良好。3种生物碱在主流烟气中的转移率为0.10%~0.74%,茶碱转移率(0.74%)高于可可碱(0.21%)和咖啡因(0.10%)。

本文构建的分析方法可为烟草制品中痕量生物碱的监测提供可靠技术手段,有助于优化可可源香料的配方设计与工艺控制,也可推广应用于其他高沸点香料成分的转移行为研究。同时,研究结果为评估可可碱等添加剂在吸烟过程中的释放行为及其潜在健康风险提供了科学依据,为推动烟草行业精细化调控与安全性评价提供了参考。

参考文献:

[1] 朱永兴,姜爱芹.咖啡、可可和茶的全球发展比较研究[J].茶叶科学,2010,30(6):493-500.
ZHU Y X, JIANG A Q. Comparison on the development of coffee, cocoa and tea of the world[J]. Journal of Tea Science, 2010, 30(6):493-500.

[2] BEG M S, AHMAD S, JAN K, et al. Status, supply chain and processing of cocoa: A review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2017, 66:108-116.

[3] 刘显希,刘明学.可可的种植·加工与产品发展[J].安徽农业科学,2014,42(22):7541-7544.
LIU Y X, LIU M X. The production, processing and

development of cocoa[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2014, 42(22):7541-7544.

[4] 祝运海.中国可可产业发展战略研究[J].饮料工业,2014,17(5):47-51.
ZHU Y H. Development strategy study on China cocoa industry[J]. The Beverage Industry, 2014, 17(5):47-51.

[5] CRAFACK M, KEUL H, ESKILDSEN C E, et al. Impact of starter cultures and fermentation techniques on the volatile aroma and sensory profile of chocolate[J]. Food Research International, 2014, 63:306-316.

[6] 钱蕾.定向酶解可可粉制备烟用香精及其应用[D].上海:上海应用技术大学,2022.
QIAN L. Preparation and application of tobacco flavor from directional enzymatic hydrolysis cocoa powder[D]. Shanghai:Shanghai Institute of Technology, 2022.

[7] 潘文建,刘城市,杨海玉,等.SPME等技术在可可提取物上的应用[J].广东化工,2023,50(13):86-89.
PAN W J, LIU C S, YANG H Y, et al. The SPME technique in the application of cocoa extract[J]. Guangdong Chemical Industry, 2023, 50(13):86-89.

[8] 冒德寿,苏勇,曲荣芬,等.搅拌棒吸附萃取-热脱附/气相色谱-质谱法分析可可提取物的挥发性成分[J].香料香精化妆品,2012(6):5-9,13.
MAO D S, SU Y, QU R F, et al. Analysis of volatile constituents from cocoa extract (*Theobromacaca* L) by using stir bar sorptive extraction-thermal desorption/gas chromatography-mass spectrometry[J]. Flavour fragrance cosmetics, 2012(6):5-9,13.

[9] 李兆阶,姚婧媛,林祖权.我国可可加工行业现状分析与产品质量管理建议[J].轻工标准与质量,2022(4):60-62.
LI Z J, YAO J Y, LIN Z Q. Present situation analysis of cocoa processing industry in China and suggestions on product quality management[J]. Standard & Quality of Light Industry, 2022(4):60-62.

[10] 张雅莉,韩建勋,宋薇,等.基于UPLC-Q-TOF MS/MS技术的可可粉中掺入可可壳定量检测方法研究[J].质谱学报,2022,43(1):121-130.
ZHANG Y L, HAN J X, SONG W, et al. Research on quantitative determination of the cocoa shell content in cocoa powder products by UPLC-Q-TOF MS/MS[J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2022, 43(1):121-130.

[11] 王海璐,李兆阶,熊薇,等.我国可可产业现状和质量研究[J].食品工业,2022,43(12):157-162.
WANG H L, LI Z J, XIONG W, et al. A study on the status and quality of the cocoa industry in China[J]. The Food Industry, 2022, 43(12):157-162.

[12] 王学娟,周叶燕,孙胜南,等.可可粉、可可壳的致香成分分析及卷烟应用效果比较[J].香料香精化妆品,2016(1):22-27.

- WANG X J, ZHOU Y Y, SUN S N, et al. Comparative analysis of aromatic components in cocoa powder, cocoa shell and their application effects in cigarette[J]. *Flavour Fragrance Cosmetics*, 2016(1): 22-27.
- [13] 陈伟祥, 翟大成, 徐万超, 等. 分子印迹固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定雪茄烟叶中4种烟草特有亚硝胺[J]. *化学分析计量*, 2024, 33(11): 46-51.
- CHEN W X, ZHAI D C, XU W C, et al. Determination of 4 tobacco specific nitrosamines in cigar tobacco leaves by molecular imprinted solid phase extraction ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chemical Analysis and Meterage*, 2024, 33(11): 46-51.
- [14] 杨珊. 可可粉的质量标准研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2013.
- YANG S. Study on the quality standard of cocoa powder [D]. Wuhan: Hubei University of Chinese Medicine, 2013.
- [15] FITSCHEN M, INTORP M, 李栋, 等. 用高效液相色谱法测定可可粉、料液、烟草制品中的可可碱[J]. *烟草科技*, 2000(4): 28-29.
- FITSCHEN M, INTORP M, LI D, et al. Determination of theobromine in cocoa powder, feed liquid and tobacco products by HPLC[J]. *Tobacco Science & Technology*, 2000, 33(4): 28-29.
- [16] PASCHKE M, HUTZLER C, HENKLER F, et al. Oxidative and inert pyrolysis on-line coupled to gas chromatography with mass spectrometric detection: On the pyrolysis products of tobacco additives [J]. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 2016, 219(8): 780-791.
- [17] 林雨晟, 金洪石, 张皓楠, 等. 高效液相色谱同时检测不同类型烟叶中的多种生物碱含量[J]. *中国烟草科学*, 2021, 42(3): 83-89.
- LIN Y S, JIN H S, ZHANG H N, et al. Simultaneous determination of alkaloids in different types of tobacco by HPLC[J]. *Chinese Tobacco Science*, 2021, 42(3): 83-89.
- [18] 刘昕, 吴建铭. 高效液相色谱法同时检测茶叶提取物中9种儿茶素类和3种生物碱类化合物[J]. *香料香精化妆品*, 2024(1): 114-118.
- LIU X, WU J M. Simultaneous determination of nine catechins and three alkaloids in tea extracts by HPLC [J]. *Flavour Fragrance Cosmetics*, 2024(1): 114-118.
- [19] 蒋薇, 姚力文, 许志刚, 等. 不同可可含量巧克力中咖啡因和可可碱的差异性分析[J]. *食品安全导刊*, 2023, (34): 47-51.
- JIANG W, YAO L W, XU Z G, et al. Difference analysis of caffeine and theobromine in chocolate with different cocoa content [J]. *China Food Safety Magazine*, 2023, (34): 47-51.
- [20] 张凤, 迟逸仙, 张景如, 等. 茶叶中咖啡因含量的薄层色谱扫描测定方法的建立[J]. *食品科技*, 2011, 36(2): 265-269.
- ZHANG F, CHI Y X, ZHANG J R, et al. TLC scanning method for determination of caffeine in tea [J]. *Food Science and Technology*, 2011, 36(2): 265-269.
- [21] 翟金晓, 高中勇, 赛雅雯, 等. 液相色谱-串联质谱法同时测定饮料中的咖啡因、茶碱和可可碱[J]. *中国卫生检验杂志*, 2020, 30(2): 144-147.
- ZHAI J X, GAO Z Y, SAI Y W, et al. Simultaneous determination of caffeine, theophylline and theobromine in drinks by liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2020, 30(2): 144-147.
- [22] 赵舰, 贺丽迎, 覃梅, 等. 超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法检测呕吐物中生物碱[J]. *中国工业医学杂志*, 2024, 37(6): 559-565.
- ZHAO J, HE L Y, QIN M, et al. Detection of alkaloids in vomit by ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole/electrostatic field orbital trap high resolution mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of Industrial Medicine*, 2024, 37(6): 559-565.
- [23] SOKOL N A, KENNEDY R D, CONNOLLY G N. The role of cocoa as a cigarette additive: Opportunities for product regulation [J]. *Nicotine & Tobacco Research*, 2014, 16(7): 984-991.
- [24] SONG S, ASHLEY D L. Sample purification for the analysis of caffeine in tobacco by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 1998, 814(1/2): 171-180.
- [25] POBUDKOWSKA A, DOMAŃSKA U, KRYSKA J A. The physicochemical properties and solubility of pharmaceuticals-Methyl xanthines [J]. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, 2014, 79: 41-48.
- [26] 钟嘉伦. 可可豆和玛咖中功效成分的提取、合成、分离技术以及理化性质研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2019.
- ZHONG J L. Study on extraction, synthesis, separation techniques and physicochemical properties of bioactive components in cocoa and maca [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2019.
- [27] 韩路, 楚文娟, 胡少东, 等. 两种加香方式下7种葡萄糖苷配基在烟气中的裂解转移规律[J]. *食品与机械*, 2022, 38(2): 16-20, 26.
- HAN L, CHU W J, HU S D, et al. Study on pyrolysis transfer rules of seven aglycones in flue gas under two kinds of flavoring methods [J]. *Food & Machinery*, 2022, 38(2): 16-20, 26.
- [28] 张改红, 石栋栋, 杜帅, 等. 百里香酚- β -D-葡萄糖苷的合成及转移率研究[J]. *中国烟草学报*, 2024, 30(4): 1-9.
- ZHANG G H, SHI D D, DU S, et al. Synthesis and transfer rate of thymol- β -D-glucopyranoside [J]. *Acta Tabacaria Sinica*, 2024, 30(4): 1-9.

Study on the transfer behavior of three purine alkaloids in cigarette smoke

YANG Xiao^{1,2}, HE Xifang², HUO Yan³, TIAN Yu³, ZHANG Wenjuan¹,
LI Yanqiang¹, HAO Jufang⁴, BAI Xinliang⁵

1. Zhengzhou Tobacco Research Institute of CNTC, Zhengzhou 450001, China;

2. Henan Xinqiao Tobacco Service & Technology Co., Ltd., Zhengzhou 450001, China;

3. Shanxi Kunming Tobacco Co., Ltd., Taiyuan 030006, China;

4. Staff Development Institute of CNTC, Zhengzhou 450008, China;

5. Shanxi Tobacco Quality Supervision and Inspection Station, Taiyuan 030000, China

Abstract: **[Objective]** To investigate the pyrolysis characteristics of three purine alkaloids and their transfer behaviors in cigarette smoke. **[Methods]** The pyrolysis behaviors of theobromine, theophylline, and caffeine were investigated by pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry (Py-GC/MS) hyphenation. A semi-quantitative analytical method using ultra-high performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry (UPLC-HRMS) was established for the semi-quantitative determination of the three alkaloids in mainstream cigarette smoke, and the pretreatment conditions were optimized to determine the transfer rates of the alkaloids in mainstream cigarette smoke. **[Results]** In the pyrolysis temperature range of 300 °C and 600 °C, the three alkaloids were predominantly transferred in their original form; however, when the pyrolysis temperature increased to 900 °C, their pyrolysis extent was significantly enhanced and their contents decreased markedly, and no polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) were generated during pyrolysis. The highest spiked recoveries of the three alkaloids were obtained under the following optimized conditions: extraction solvent: NaOH solution (pH value 11.9), extraction method: reflux extraction, extraction time: 4.0 h, and detection method: UPLC-HRMS, which met the technical requirements of semi-quantitative analysis. The transfer rates of theobromine, theophylline, and caffeine in mainstream cigarette smoke were 0.21%, 0.74%, and 0.10%, respectively, with theophylline having the highest transfer rate. **[Conclusion]** Based on the high-temperature transfer characteristics of the three purine alkaloids, an analytical technology system for trace alkaloids in complex tobacco matrices was constructed. This system can provide a reference for the quality control of tobacco products, their health risk assessment, as well as the study on the smoke transfer behaviors of high-boiling-point flavor components.

Key words: cigarette; alkaloids; pyrolysis; ultra-high performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry; transfer behavior

[责任编辑:杨晓娟 贾学伟]