

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2022.90025

烟草及其制品中游离烟碱的测定方法研究进展

Research progress on the determination of free-base nicotine
in tobacco and tobacco products

张 浩 韩书磊 陈 欢 侯宏卫 胡清源

ZHANG Hao HAN Shu-lei CHEN Huan HOU Hong-wei HU Qing-yuan

(国家烟草质量监督检验中心烟草生物学效应重点实验室, 河南 郑州 450001)

(China National Tobacco Quality Supervision and Test Centre, Key Laboratory of

Tobacco Biological Effects, Zhengzhou, Henan 450001, China)

摘要:综述了近 30 年烟草及其制品中游离烟碱含量测定方法的研究进展,包括溶剂萃取法、顶空固相微萃取法、核磁共振法、Henderson-Hasselbalch 法和光谱法等,总结了各个方法的优缺点,并展望了烟草及其制品中游离烟碱含量检测方法未来的研究方向。

关键词:游离烟碱;溶剂萃取法;顶空固相微萃取法;核磁共振法;Henderson-Hasselbalch 法;光谱法

Abstract: The research progress on determination of free-base nicotine in tobacco and tobacco products in the past 30 years was reviewed and discussed, including solvent extraction method, headspace solid-phase microextraction method, ^1H NMR, Henderson-Hasselbalch method and spectroscopy method, etc. Advantages and limitations of each method were summarized and discussed and the development in this field was prospected.

Keywords: free-base nicotine; solvent extraction method; headspace solid-phase microextraction method; ^1H NMR; Henderson-Hasselbalch method; spectroscopy method

烟碱($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2$)是烟草中最重要、含量最高的生物碱^[1],一般占烟草中生物碱总量的 95% 以上,是烟草及烟草制品重要的品质要素和标签^[2]。它是一种弱二级碱,

由一个吡啶环和一个吡咯环构成,最多能与两个质子结合,形成质子化烟碱^[3]。在烟草及烟草制品中,大部分烟碱都与有机酸的质子结合,以质子化形态存在,而游离烟碱量则比较少,其含量会随着碱性增强而增加,图 1 展示了 3 种形态间的相互转化^[4-5]。

研究表明,烟碱形态对烟草制品及其烟气/气溶胶理化性质(如气溶胶粒径分布^[6-8]、烟碱气相分布^[9]等)、感官效果^[10]、烟碱释放^[11]、吸收^[12-15]和代谢^[16]等具有重要影响。从以万宝路为代表的传统卷烟加入氨等碱性物质以调节烟气烟碱形态到以 JUUL 为代表的电子烟以烟碱苯甲酸盐等烟碱复合盐代替纯烟碱,烟碱形态的改变带来了产品革命,并深刻影响着烟草科技的发展方向^[17-18]。随着烟碱盐在电子烟等新型烟草制品中的广泛应用,烟草及烟草制品中游离烟碱的测定受到人们的广泛关注。游离烟碱的测定是研究游离烟碱与质子化烟碱理化性质和生理效应差异的基础,是近几年的研究热点。烟草及烟草制品中总烟碱的测定方法比较成熟,而游离烟碱和质子化烟碱的测定相对较少,并且尚无标准方法,准确测定烟草及烟草制品中的游离烟碱对烟草制品质量评价和吸食品质的控制具有重要的理论意义和实用价值。因此,归纳总结国内外近 30 年的相关文献,分析各方法的优缺点,并对该领域以后的发展进行展望,旨在为不同形态烟碱相关研究应用提供参考。

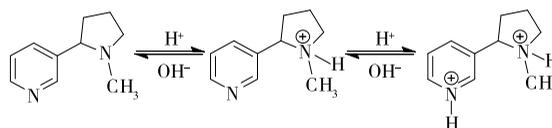


图 1 烟碱各形态的转化

Figure 1 Transformation of various forms of nicotine

基金项目:中国烟草总公司重大专项项目(编号:110202101018 [XX-04],110202001007[XX-03]);国家烟草质量监督检验中心烟草控制框架公约科技项目(编号:552018AQ0090)

作者简介:张浩,男,国家烟草质量监督检验中心在读硕士研究生。

通信作者:韩书磊(1983—),男,国家烟草质量监督检验中心高级工程师,博士。E-mail: hsl1983@163.com

胡清源(1965—),男,国家烟草质量监督检验中心研究员,博士。E-mail: huqy1965@163.com

收稿日期:2021-09-28

1 溶剂萃取法

目前,溶剂萃取法是测定烟草及烟草制品中游离烟碱含量相关研究最多、应用最广泛的一种方法。其原理是根据游离烟碱与质子化烟碱在有机相和水相中的溶解度差异,用有机溶剂将游离烟碱萃取出来并进行检测。根据样品制备过程的差异,可将溶剂萃取法分为烟草/烟液和烟气/气溶胶两种基质。

1.1 烟草/烟液基质中的测定

对于烟草/烟液基质,样品不需要经过抽吸,可直接对样品进行游离烟碱测定。对于烟草基质,卢斌斌等^[19]研究了烟叶中游离烟碱的萃取条件,与三氯甲烷振荡萃取和三氯甲烷索式提取相比,水—三氯甲烷萃取法更接近真实值,所以确定采用水、三氯甲烷依次萃取和气相色谱—氢火焰离子化检测器法(GC-FID)分析烟草中游离烟碱。杜珊等^[20]采用同样的方法,同时在烟草本底中加烟碱标样测定游离烟碱回收率,发现测定结果偏低。可能由于烟草中存在的弱酸弱碱性成分,使萃取液呈弱酸性,烟碱由游离态转变为结合态,从而导致回收率偏低。

除了使用 GC-FID 进行检测,殷全玉等^[21]在溶剂萃取后,根据烟碱在 259 nm 处有特征吸收,用紫外分光光度计来测定烟草游离烟碱含量。先用三氯甲烷萃取样品中的烟碱,再用 H₂SO₄ 和中性水分别萃取待测液,用紫外分光光度计测定总烟碱和质子化烟碱量,二者之差即为游离烟碱量。李维莉等^[22]虽然同样使用紫外分光光度计进行测定,但萃取和测定方法有一定的差别,其先用水—三氯甲烷依次萃取烟样,萃取出游离烟碱,分别测定溶液在 236, 259, 282 nm 下的吸光值,直接计算出游离烟碱量。该方法的测定结果与采用气相色谱无显著差异,是一种简便有效,适用于普通实验室操作的游离烟碱测定方法,但紫外分光光度法对烟碱的特异性相对较差,因此可能具有一定的局限性。

对于烟液基质,El-Hellani 等^[23]基于“游离烟碱有选择地从有机溶剂甲苯中提取出来”的假设,采用水和甲苯组成的溶剂体系萃取电子烟烟液中的游离烟碱。先将烟液经水稀释后,使用甲苯依次萃取两次,取有机相进行气相色谱—质谱联用法(GC-MS)分析。李剑政等^[24]使用超纯水—二氯甲烷依次萃取,以超高效合相色谱—二极管阵列检测器法(UPC²-DAD)测定电子烟烟液中的游离烟碱含量。与液相色谱法相比,超高效合相色谱作为分析手段更加快速、高效、绿色环保,但仪器普及率相对较低。Gholap 等^[25]研究发现甲苯的萃取率比正己烷高 87% 左右,在二次萃取后,甲苯对游离烟碱的萃取率几乎达到 98%,因此,选用甲苯作为萃取有机相,可以更好地

萃取游离烟碱。但是烟液中的香精容易与甲苯相互作用,影响甲苯对烟碱的萃取。卢乐华等^[26]研究发现,相比于正己烷和甲苯,二氯甲烷的单次萃取效率最高,疏水性和灵敏度较好,使用二氯甲烷进行萃取可以避免多次萃取所导致的测定结果偏差。

1.2 烟气/气溶胶基质中游离烟碱的测定

对于烟气/气溶胶基质,样品需要经过抽吸过程,捕集烟气/气溶胶后,才能进行后续的测定。捕集过程普遍使用剑桥滤片进行,其对卷烟主流烟气中烟碱的捕集率在 99% 以上,因此,分析主流烟气中的游离烟碱就往往转化为分析剑桥滤片上截留的游离烟碱^[27]。

在卷烟主流烟气中的游离烟碱测定方面,卢斌斌等^[28]使用三氯甲烷—中性水依次萃取剑桥滤片,取有机相进行 GC-FID 分析,研究发现,采用三氯甲烷萃取滤片上的烟碱,再用中性水反萃有机相,然后测定有机相中的游离烟碱,这样得出的数据更接近真实值。张红等^[29]研究发现,中性水对烟碱形态平衡影响较小,在三氯甲烷—中性水体系中,游离烟碱几乎全部保留在三氯甲烷中。El-Hellani 等^[23]研究发现,剑桥滤片上的碱性硅硼酸盐会将电子烟气溶胶中的质子化烟碱转化为游离态烟碱,因此,使用石英滤片捕集电子烟气溶胶中的总颗粒物,再用水—甲苯依次萃取后,取有机相进行 GC-MS 分析。

总之,溶剂萃取法的关键是样品前处理,比较关键的影响因素是有机溶剂和滤片的选择,而萃取完成后的检测方法以 GC-FID 和 GC-MS 最为常见。有机溶剂主要有二氯甲烷^[24,26]、三氯甲烷^[19-22,28-29]、甲苯^[23,25]等,而滤片主要包括剑桥滤片^[28]和石英滤片^[23]。对于萃取溶剂的选择,不同基质所选用有机溶剂存在差异:烟草和卷烟烟气普遍使用三氯甲烷作为萃取溶剂,对于电子烟烟液及其气溶胶,单次萃取时二氯甲烷的萃取效率最高^[26],而两次萃取时选用甲苯的研究较多,但相对耗时耗力^[23,25]。对于滤片的选择,卷烟烟气普遍使用剑桥滤片,但有研究^[23]显示,剑桥滤片中的碱性硅硼酸盐会将电子烟气溶胶中的质子化烟碱转化为游离烟碱,改变了气溶胶中烟碱的形态,因此,石英滤片可能是更优选择。溶剂萃取法对试验仪器要求较低且方法简单且成本较低,但某些烟碱盐既溶于水又溶于部分有机溶剂,在水中稀释的烟液是弱酸或弱碱的混合物,根据酸碱平衡原理,在有机溶剂提取一次游离烟碱后,游离烟碱和质子化烟碱之间的平衡可能会发生变化,产生更多的游离烟碱,这就使测得的游离烟碱的含量可能会比实际值偏大^[30]。

2 固相微萃取法

固相微萃取技术最初应用于环境化学分析,现已逐

步扩展到食品、天然产物、临床化学、生物化学等诸多领域^[31]。顶空固相微萃取(HS-SPME)集萃取和浓缩为一体,适用于烟草及烟草制品中存在的各种生物碱,游离烟碱就是其中的一种^[32-33]。在顶空萃取模式中,萃取过程分为两个步骤:一是游离烟碱从液相扩散到气相;二是游离烟碱从气相转移到萃取固定相^[31]。

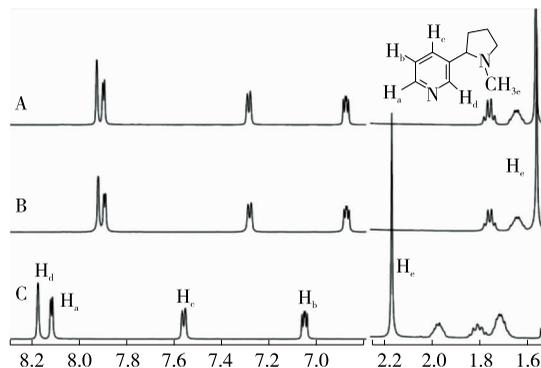
Pankow 等^[34]利用不同形态烟碱挥发性差异,用聚四氟乙烯气体采样袋收集主流烟气,采用热解吸法和 GC-MS 进行分析。但是,使用气袋捕集主流烟气的提取过程较为繁琐,并且容易使目标化合物在气袋上沉积,这可能导致待测物回收率低,且方法重复性不好。Watson 等^[35]对 Pankow 的方法进行改进,用剑桥滤片代替气体采样袋捕集主流烟气颗粒物,放入 20 mL 瓶中,平衡后,用固相微萃取纤维提取顶空中的游离烟碱,并用 GC-MS 进行定量分析。Bao 等^[36]在试验中先用玻璃纤维滤片收集卷烟主流烟气颗粒物,将滤片分成两半,一半用于测定水分和总烟碱量,另一半用 HS-SPME 分析游离烟碱含量,发现通过水分校正因子可以减少水分含量对测试结果的影响。Tang 等^[37]建立了顶空固相微萃取-气相色谱/质谱联用直接定量分析烟叶中游离烟碱的方法,该方法将单个样品 0.2 g 加入 20 mL 瓶中,加入 2 μ L 内标溶液,密封后在 30 $^{\circ}$ C 下放置至少 2 h,然后进行顶空萃取,GC-MS 分析。研究了样品形态、固相微粒纤维类型、预平衡温度、预平衡时间、萃取温度和萃取时间等分析方法的最佳条件。

HS-SPME 法具有样品处理简单、无溶剂对样品的干扰、测定过程简单、结果准确度高等优点,适用于烟草或烟气中游离烟碱含量测定^[37]。但是 HS-SPME 技术基于颗粒物、顶空和固相微萃取纤维中游离烟碱浓度之间的平衡,鉴于游离烟碱的极性、半挥发性和酸碱性质,平衡温度、基质成分(如水)、及萃取纤维的类型、预平衡时间、萃取时间等对测定精密度和准确度都有显著影响,需深入考察操作条件和样品基体效应,并对操作条件进行规范^[36,38]。

3 ^1H NMR 法

核磁共振是鉴定有机化合物结构的一种重要手段,可以提供化学位移 δ 、耦合常数 J 和各种核的信号强度比 3 种信息。游离烟碱与质子化烟碱的核磁共振氢谱信息略有不同,根据游离烟碱与质子化烟碱中氢化学位移的不同,可以得出不同类型样品中游离烟碱的含量信息^[39]。由图 2 可知,与游离烟碱相比,质子化烟碱的氢化学位移显著增大,样品中游离烟碱比例可根据不同形态烟碱 H_c 与芳香族质子 $\text{H}_a \sim \text{H}_d$ 化学位移的差异计算得出(见图 2)。

Pankow 等^[41]使用 ^1H NMR 的方法分析了一种高甘油加热卷烟(Eclipse)气溶胶中的游离烟碱,研究发现甘



A. 加入 1 倍摩尔比叔丁胺的电子烟液 B. 未添加酸或碱的电子烟液 C. 加入 5 倍摩尔比醋酸的电子烟液

图 2 1,2-丙二醇和丙三醇配制的电子烟烟液中烟碱氢的化学位移随酸碱添加而发生变化的 ^1H NMR 谱图^[40]

Figure 2 ^1H NMR spectra showing the chemical shift changes for nicotine in a propylene glycol + glycerol (PG + GL) stock mixture with the addition of acid and base, independently

油含量高使得无需添加溶剂即可获得清晰的图谱,但是对于传统卷烟、雪茄等产生的烟气颗粒物,这种方法还需要进一步开发。Barsanti 等^[39]研究发现在分析游离烟碱含量时,卷烟烟气颗粒物的黏度对图谱的获取会产生一定影响,在升温至 40 $^{\circ}$ C,并用氘代二甲亚砜溶解时,能够得到更清晰的图谱, ^1H NMR 技术在表征卷烟烟气颗粒物中的游离烟碱方面有重要潜力。

Dell 等^[40]采用 ^1H NMR 法测定电子烟烟液中的游离烟碱,将电子烟烟液样品放入精密核磁共振插件中,氘代二甲亚砜作为锁定溶剂放入核磁共振管中。使用 TXI 探针,在 40 $^{\circ}$ C 下运行,以增加分子翻滚速率,从而改善垫片。施加 ZG 30 脉冲,收集 16 次扫描,弛豫延迟 3 s,实际光谱大小 65 536,谱宽 9 000 Hz,激发偏置 3 600 Hz,总试验时间为 2 min。该研究使用了 600 MHz 的核磁共振系统,但也有可能适用于更低场的核磁共振仪。通过比较游离烟碱和质子化烟碱标准的甲基和芳香族质子在甘油/丙二醇和商用电子烟烟液之间的相对化学位移差异,计算游离烟碱比例。然而,由于烟碱芳香族质子的 $\Delta\delta$ 不一致,可能是由于乙酸与烟碱的吡啶氮形成了络合物,用该方法计算的加热卷烟(IQOS)气溶胶的 δ 值不准确。因此, Meehan-Atrash 等^[42]在采用 ^1H NMR 法直接测定加热卷烟(IQOS)气溶胶中的游离烟碱时,用烟碱甲基质子的绝对化学位移计算游离烟碱比例,同时采用 HS-SPME 对 ^1H NMR 的测定结果进行验证。研究结果表明, IQOS 气溶胶中几乎不存在游离烟碱,并且

^1H NMR 法与 HS-SPME 测定结果差别不大。

^1H NMR 法一般用于电子烟烟液、气溶胶和烟气中游离烟碱测定,优点是在测定电子烟烟液中的游离烟碱时不需要对其进行稀释,可以有效避免外加溶剂对样品产生影响,同时减少萃取所需时间,更方便、快捷。但是,对于烟气或气溶胶基质,需要对捕集的粒相物进行稀释,这样就失去了 ^1H NMR 法不改变样品的优势^[30,41]。并且电子烟烟液是几种化学物质的混合物,考虑到分析的复杂性,需要对烟碱- CH_3 峰与调味剂峰的重叠、选择性、分辨率、测定限等参数进行详细的测试^[25]。因此,虽然 ^1H NMR 法的前景看好,但仍需进一步研究以解决这些问题。

4 Henderson-Hasselbalch 法

Morie^[43]提出根据酸碱平衡理论来计算在不同 pH 时烟气中游离烟碱与质子化烟碱的比例。计算结果显示,只有当 $\text{pH} > 6.0$ 时,烟碱才能以游离态存在; $\text{pH} > 7.4$ 时,游离烟碱比例上升至 30%; $\text{pH} > 7.8$ 时,游离烟碱的比例为 50%左右,而实际混合型卷烟烟气的 pH 大约在 5.2~6.2,计算得到的游离烟碱含量在 0.22%~2.17%^[3]。

美国疾病控制预防中心(USCDC)所建立的 Henderson-Hasselbalch 法(HH 法),将烟草提取液或电子烟烟液用定量水稀释,测定 pH 和总烟碱,根据 25 °C 下烟碱在纯水中的解离常数 pK_a 代入方程,计算出游离烟碱比例^[44]。这种方法已经应用到很多研究中,可以简单地计算出游离烟碱的比例,它给出了游离烟碱测量的相对标准度^[45]。Richter 等^[44,46-47]采用 HH 方程法测定无烟气烟草中的游离烟碱含量,通过测定无烟气烟草和去离子水混合的 pH、总烟碱和 pK_a 值,将其代入 HH 方程[见式(1)]来计算游离态烟碱与质子化烟碱的比例。

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{[\text{Nic}]}{[\text{NicH}^+]}$$
 (1)

HH 法可以快速测定游离烟碱含量,在无烟气烟草的游离烟碱测定中应用较为广泛,但是其游离烟碱的测定结果也受到少数学者的质疑。因为 HH 方程只在单一碱及其共轭酸的纯稀水溶液中有效,正确使用 HH 方程来估算烟草制品提取物中的游离烟碱,要求烟草提取物中不存在其他酸、碱和盐,这在大多数情况下显然是不存在的^[46]。萃取液中的离子强度会影响溶液 pH,而温度等则会影响烟碱的解离常数,这些都会对方程计算的准确性产生影响^[46]。同时烟草制品中含有多种调味剂,这些调味剂有可能会改变萃取液的酸碱性,从而使 pH 不能准确预测游离烟碱的比例^[25]。并且关于烟气 pH 的测定,现在并没有统一的标准,不同测定方法的测定结果各不

相同,通过 pH 计算出的游离烟碱含量也会产生差异^[48]。

5 光谱法

光谱法是近年来发展的用于测定电子烟烟液中游离烟碱含量的方法,该方法是基于显色分子选择性地与游离烟碱反应显色的原理,指示体系中的游离烟碱含量,曾用于测定烟草中的烟碱含量^[49]。

黄延俊等^[50]通过在电子烟烟液中加入水溶性指示剂茜素红 S(ARS)来测定游离烟碱含量。由于 ARS 的酸度比有机酸低,不与有机酸竞争叔胺,只能与游离烟碱相互作用,在其儿茶酚羟基去质子化后,ARS 从淡黄色变为粉红色,并且测得 ARS 与烟碱的结合常数为 $1.08 \times 10^6 \text{ L/mol}$,游离烟碱的含量可以通过测定吸收光谱来实现。黄延俊等^[51]选取与 ARS 结构相似但吸电子能力不同的溴甲酚绿(BCG)和氯酚红(CPR),比较不同显色分子与烟碱的亲和对电子烟烟液游离烟碱测定结果的影响。研究发现,光谱法与 ^1H NMR 法具有较好的相关性,并且 CPR 比 BCG 更适合作为指示剂。

光谱法可以更加方便快捷地测定电子烟烟液中的游离烟碱,减少了萃取游离烟碱的过程,只需要对电子烟烟液进行稀释,但是避免不了外加溶液对原溶液的影响。同时电子烟烟液中有有机酸或其他酸性成分的不同是否会影显示色分子与游离烟碱的结合等问题,还需要进一步探究。

综上,游离烟碱测定方法的研究见表 1。

6 总结与展望

近年来,虽然关于游离烟碱的分析测定方法的研究已经取得一定的进展,但这几种方法都有各自的优势和局限性:① 溶剂萃取法目前应用较多,成本低,但是操作繁琐耗时较长,并且外加溶剂容易导致酸碱平衡的变化,影响测定的准确性;② 固相微萃取法主要应用于烟气或气溶胶中,不需要外加溶剂从而可以反映真实状态,但是在操作过程中影响因素较多,需要严格控制相关试验条件;③ ^1H NMR 法可以直接测定游离烟碱,方便、快捷,但会存在基质干扰,并且仪器成本较高,普适性较差;④ HH 法通过总烟碱含量和 pH 来计算游离烟碱含量,但是这种方法存在一定误差,而且准确测定烟草和烟气/气溶胶 pH 也是一大难题;⑤ 光谱法可以避免萃取产生的误差,但是稀释剂和指示剂都可能影响原溶液的酸碱平衡,亦会产生测试误差。

随着越来越多样品前处理和检测方法的出现,测定烟草及烟草制品中游离烟碱的含量方法可以有更多的选择,但是,如何在不改变原有状态或对原状态影响可以忽

表 1 烟草及烟草制品中游离烟碱测定方法总结[†]

Table 1 Summary of determination methods of free-base nicotine in tobacco and tobacco products

样品	前处理方法	检测方法	参考文献
烟叶	溶剂萃取(中性水—三氯甲烷)	GC-FID	[19]
烟叶	溶剂萃取(水—三氯甲烷)	GC-FID	[20]
烟叶	溶剂萃取(三氯甲烷—硫酸溶液—中性水)	UV-VIS	[21]
烟叶	溶剂萃取(中性水—三氯甲烷)	GC-MS	[52]
烟叶	溶剂萃取(蒸馏水—三氯甲烷—酸液)	UV-VIS	[22]
烟叶	溶剂萃取(异丙醇)	GC-FID	[53]
烟叶	溶剂萃取(中性水—三氯甲烷)	GC-FID	[54]
电子烟烟液	溶剂萃取(中性水—甲苯)	GC-MS	[23]
电子烟烟液	溶剂萃取(超纯水—二氯甲烷)	UPC ² -DAD	[24]
电子烟烟液	溶剂萃取(水—甲苯)	HPLC-DAD	[25]
电子烟烟液	溶剂萃取(中性水—二氯甲烷)	GC-MS	[26]
卷烟烟气	溶剂萃取(三氯甲烷—中性水)	GC-FID	[28]
卷烟烟气	溶剂萃取(三氯甲烷—中性水)	GC-FID	[29]
烟叶	顶空固相微萃取(PDMS/DVB)	GC-MS	[55]
烟叶	顶空固相微萃取(PDMS/DVB)	GC-MS	[37]
卷烟烟气	顶空固相微萃取(CAR/PDMS)	GC-MS	[35]
卷烟烟气	顶空固相微萃取(PDMS-DVB)	GC-MS	[38]
卷烟烟气	顶空固相微萃取(CAR/PDMS, PDMS/DVB)	GC-MS	[36]
卷烟烟气	顶空固相微萃取(PDMS/DVB)	GC-MS	[56]
加热卷烟气溶胶	顶空固相微萃取(PDME/DVB)	GC-MS	[42]
加热卷烟气溶胶	收集气溶胶粒相物, 加入 D ₂ O	¹ H NMR	[40]
卷烟烟气	收集管收集烟气粒相物, D ₂ O 作为锁定溶剂	¹ H NMR	[39]
电子烟烟液/气溶胶	DMSO-d ₆ 作为锁定溶剂	¹ H NMR	[41]
加热卷烟气溶胶	样品收集时加入 < 0.01 mg DSS, 核磁共振管中含有 500 μL DMSO-d ₆ + 0.05% 四甲基硅烷	¹ H NMR	[42]
电子烟烟液	DMSO-d ₆ 作为锁定溶剂	¹ H NMR	[25]
无烟气烟草	pH 计测定 pH	HH 方程	[44]
无烟气烟草	加拿大卫生部官方法 T-310, 测定全烟草 pH 值	HH 方程	[46]
无烟气烟草	pH 计测量 5, 15, 30, 60 min 的 pH 值并取平均值	HH 方程	[47]
电子烟烟液	电子烟烟液稀释 10 倍, 测定 pH	HH 方程	[25]
电子烟烟液	加入水溶性指示剂 ARS	UV-VIS	[50]
电子烟烟液	加入水溶性指示剂 BCG 和 CPR	UV-VIS	[51]

[†] GC-FID: 气相色谱—氢火焰离子化检测器; UPC²: 超高效合相色谱; GC-MS: 气相色谱—质谱检测器; UPC²-DAD: 超高效合相色谱—二极管阵列检测器; HPLC-DAD: 高效液相色谱—二极管阵列检测器; UV-VIS: 紫外分光光度计; ¹H NMR: 核磁共振氢谱; HH 方程: Henderson-Hasselbalch 方程; DMSO-d₆: 氘带二甲亚砜; DSS: 3-(三甲基硅基)-1-丙磺酸钠盐; ARS: 茜素红 S; BCG: 溴甲酚绿; CPR: 氯酚红。

略的情况下, 高效、低成本地准确测定游离烟碱含量是今后的研究方向。

参考文献

- [1] 王瑞新. 烟草化学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 67-68.
WANG Rui-xin. Nicotine chemistry[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2003: 67-68.
- [2] 史宏志, 张建勋. 烟草生物碱[M]. 北京: 中国农业出版社, 2004: 7-27.
SHI Hong-zhi, ZHANG Jian-xun. Tobacco alkaloid[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2004: 7-27.
- [3] 王裔耿, 秦云华, 陆舍铭, 等. 主流烟气总粒相物中游离烟碱测定方法综述[J]. 云南化工, 2007(4): 59-62.
WANG Yi-geng, QIN Yun-hua, LU She-ming, et al. Review of determination methods of free-base nicotine in total particulate matter of mainstream smoke[J]. Yunnan Chemical Technology, 2007(4): 59-62.
- [4] 烟草种植编写组编写. 烟草化学与分析[M]. 北京: 中国财政经

- 济出版社, 1992: 17-19.
- Prepared by the Tobacco Cultivation Writing Group. Tobacco chemistry and analysis[M]. Beijing: China Financial and Economic Publishing House, 1992: 17-19.
- [5] 韩富根. 烟草化学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2010: 88-89.
HAN Fu-gen. Nicotine chemistry [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2010: 88-89.
- [6] POURCHEZ J, PARISSÉ S, SARRY G, et al. Impact of power level and refill liquid composition on the aerosol output and particle size distribution generated by a new-generation e-cigarette device [J]. Aerosol Science and Technology, 2018, 52(4): 359-369.
- [7] OLDHAM M J, ZHANG J, RUSYNIAK M J, et al. Particle size distribution of selected electronic nicotine delivery system products [J]. Food and Chemical Toxicology, 2018, 113: 236-240.
- [8] SON Y, MAINELIS G, DELNEVO C, et al. Investigating e-cigarette particle emissions and human airway depositions under various e-cigarette-use conditions [J]. Chemical Research in Toxicology, 2020, 33(2): 343-352.
- [9] PANKOW J F. A consideration of the role of gas/particle partitioning in the deposition of nicotine and other tobacco smoke compounds in the respiratory tract [J]. Chemical Research in Toxicology, 2001, 14(11): 1 465-1 481.
- [10] FERRIS WAYNE G. Brand differences of free-base nicotine delivery in cigarette smoke: The view of the tobacco industry documents [J]. Tobacco Control, 2006, 15(3): 189-198.
- [11] WYRZYKOWSKI D, HEBANOWSKA E, NOWAK-WICZK G, et al. Thermal behaviour of citric acid and isomeric aconitic acids [J]. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2011, 104(2): 731-735.
- [12] TAKANO M, NAGAIHIRO M, YUMOTO R. Transport mechanism of nicotine in primary cultured alveolar epithelial cells [J]. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2016, 105(2): 982-988.
- [13] TAKANO M, KAMEI H, NAGAIHIRO M, et al. Nicotine transport in lung and non-lung epithelial cells [J]. Life Sciences, 2017, 188: 76-82.
- [14] BOWEN A X C. Nicotine salt formulations for aerosol devices and methods thereof: US 09215895[P]. 2015-12-22.
- [15] O'CONNELL G, PRITCHARD J D, PRUE C, et al. A randomised, open-label, cross-over clinical study to evaluate the pharmacokinetic profiles of cigarettes and e-cigarettes with nicotine salt formulations in US adult smokers [J]. Intern Emerg Med, 2019, 14(6): 853-861.
- [16] HWA Jung B, CHUL Chung B, CHUNG S J, et al. Different pharmacokinetics of nicotine following intravenous administration of nicotine base and nicotine hydrogen tartarate in rats [J]. Journal of Controlled Release, 2001, 77(3): 183-190.
- [17] HENNINGFIELD J, PANKOW J, GARRETT B. Ammonia and other chemical base tobacco additives and cigarette nicotine delivery: Issues and research needs [J]. Nicotine & Tobacco Research, 2004, 6(2): 199-205.
- [18] HARVANKO A M, HAVEL C M, JACOB P, et al. Characterization of nicotine salts in 23 electronic cigarette refill liquids [J]. Nicotine Tob Res, 2020, 22(7): 1 239-1 243.
- [19] 卢斌斌, 谢剑平, 刘惠民. 烟草中游离烟碱与其 pH 值之间的关系 [J]. 烟草科技, 2003(6): 6-10.
LU Bin-bin, XIE Jian-ping, LIU Hui-min. Relationship between free nicotine in tobacco and its pH value [J]. Tobacco Science & Technology, 2003(6): 6-10.
- [20] 杜珊, 吴寅初, 姚忠达. 烟草中游离烟碱水萃取体系定量分析方法 [J]. 安徽大学学报(自然科学版), 2006(5): 91-94.
DU Shan, WU Yin-chu, YAO Zhong-da. Study on quantitative analysis method of free nicotine in tobacco by aqueous extraction system [J]. Journal of Anhui University (Natural Sciences), 2006(5): 91-94.
- [21] 殷全玉, 杨铁钊, 郭宝银, 等. 紫外分光光度法测定烟草中的游离烟碱 [J]. 中国烟草科学, 2008, 29(6): 20-22.
YIN Quan-yu, YANG Tie-zhao, GUO Bao-yin, et al. Determination of free-base nicotine in tobacco by ultraviolet spectrophotometry [J]. Chinese Tobacco Science, 2008, 29(6): 20-22.
- [22] 李维莉, 马银海, 段姚俊, 等. 紫外分光光度法测定烟草中的游离烟碱 [J]. 安徽农业科学, 2012, 40(6): 3 600-3 601.
LI Wei-li, MA Yin-hai, DUAN Yao-jun. Determination of free-base nicotine in tobacco by ultraviolet spectrophotometry [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2012, 40(6): 3 600-3 601.
- [23] EL-HELLANI A, EL-HAGE R, BAALBAKI R, et al. Free-base and protonated nicotine in electronic cigarette liquids and aerosols [J]. Chem Res Toxicol, 2015, 28(8): 1 532-1 537.
- [24] 李剑政, 郭文, 万吉纯. 超高效液相色谱测定电子烟油和气溶胶中游离态和质子化尼古丁含量 [J]. 科技与创新, 2020(4): 139-140.
LI Jian-zheng, GUO Wen, WAN Ji-chun. Determination of free-base and protonated nicotine in e-liquids and aerosols by Ultra-high performance combined phase chromatography [J]. Science and Technology & Innovation, 2020(4): 139-140.
- [25] GHOLAP V V, HEYDER R S, KOSMIDER L, et al. An Analytical perspective on determination of free base nicotine in e-liquids [J]. J Anal Methods Chem, 2020, 2 020: 6178570.
- [26] 卢乐华, 茹洁雄, 李祥林, 等. 电子烟液中游离态和质子态烟碱的测定及分布 [J]. 烟草科技, 2021, 54(8): 36-44.
LU Le-hua, RU Jie-xiong, LI Xiang-lin, et al. Determination and distribution of free-base and protonated nicotine in e-liquids [J]. Tobacco Science & Technology, 2021, 54(8): 36-44.
- [27] 张槐苓, 葛翠英, 穆怀静. 烟草分析与检验 [M]. 郑州: 河南科学技术出版社, 1994: 271-272.
ZHANG Huai-ling, GE Cui-ying, MU Huai-jing. Tobacco analysis and testing [M]. Zhengzhou: Henan Science and Technology Press, 1994: 271-272.
- [28] 卢斌斌, 谢剑平, 刘惠民. 卷烟烟气 pH 与烟气总颗粒物中游离烟碱的关系 [J]. 中国烟草学报, 2005(6): 7-16.
LU Bin-bin, XIE Jian-ping, LIU Hui-min. Relationship between free-base nicotine in total particulate matter and pH of cigarette smoke [J]. Acta Tabacaria Sinica, 2005(6): 7-16.
- [29] 张红, 朱瑞芝, 孟昭宇, 等. 卷烟主流烟气中游离烟碱的测定

- 及分布分析[J]. 理化检验: 化学分册, 2014, 50(11): 1 444-1 447.
- ZHANG Hong, ZHU Rui-zhi, MENG Zhao-yu, et al. Determination and distribution of free-base nicotine in cigarette mainstream smoke[J]. *Physical Testing and Chemical Analysis Part B: Chemical Analysis*, 2014, 50(11): 1 444-1 447.
- [30] GHOLAP V V, KOSMIDER L, GOLSHABI L, et al. Nicotine forms: Why and how do they matter in nicotine delivery from e-cigarette? [J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2020, 17(12): 1 727-1 736.
- [31] 傅若农. 固相微萃取 (SPME) 近几年的发展[J]. *分析实验室*, 2015, 34(5): 602-620.
- FU Ruo-nong. The development of solid phase microextraction (SPME) in recent years [J]. *Chinese Journal of Analysis Laboratory*, 2015, 34(5): 602-620.
- [32] 张凤梅, 蒋薇, 刘春波, 等. HS-SPME-GC-MS/MS 法测定不同吸烟者唾液中的 7 种生物碱[J]. *烟草科技*, 2018, 51(7): 46-53.
- ZHANG Feng-mei, JIANG Wei, LIU Chun-bo, et al. Headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography tandem mass spectrometry for determining 7 alkaloids in saliva from smokers[J]. *Tobacco Science & Technology*, 2018, 51(7): 46-53.
- [33] YANG S S, SMETENA I J C. Determination of tobacco alkaloids using solid phase microextraction and GC-NPD [J]. *Chromatographia*, 1998, 47(7): 443-448.
- [34] PANKOW J F, TAVAKOLI A D, LUO W, et al. Percent free base nicotine in the tobacco smoke particulate matter of selected commercial and reference cigarettes[J]. *Chemical Research in Toxicology*, 2003, 16(8): 1 014-1 018.
- [35] WATSON C H, TROMMEL J S, ASHLEY D L. Solid-Phase Microextraction-based approach to determine free-base nicotine in trapped mainstream cigarette smoke total particulate matter[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52(24): 7 240-7 245.
- [36] BAO M, JOZA P, RICKERT W S, et al. An improved headspace solid-phase microextraction method for the analysis of free-base nicotine in particulate phase of mainstream cigarette smoke[J]. *Anal Chim Acta*, 2010, 663(1): 49-54.
- [37] TANG L, YANG H W, HE L, et al. Direct analysis of free-base nicotine in tobacco leaf by headspace solid-phase micro-extraction combined with gas chromatography/mass spectrometry[J]. *Accredit Qual Assur*, 2019, 24(5): 341-349.
- [38] LAUTERBACH J H, BAO M, JOZA P J, et al. Free-base nicotine in tobacco products Part I: Determination of free-base nicotine in the particulate phase of mainstream cigarette smoke and the relevance of these findings to product design parameters [J]. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2010, 58(1): 45-63.
- [39] BARSANTI K C, LUO W, ISABELLE L M, et al. Tobacco smoke particulate matter chemistry by NMR[J]. *Magn Reson Chem*, 2007, 45(2): 167-170.
- [40] DUELL A K, PANKOW J F, PEYTON D H. Free-base nicotine determination in electronic cigarette liquids by ¹H NMR spectroscopy[J]. *Chem Res Toxicol*, 2018, 31(6): 431-434.
- [41] PANKOW J F, BARSANTI K C, PEYTON D H. Fraction of free-base nicotine in fresh smoke particulate matter from the eclipse "cigarette" by ¹H NMR spectroscopy[J]. *Chemical Research in Toxicology*, 2003, 16(1): 23-27.
- [42] MEEHAN-ATRASH J, DUELL A K, MCWHIRTER K J, et al. Free-base nicotine is nearly absent in aerosol from IQOS heat-not-burn devices, as determined by ¹H NMR spectroscopy[J]. *Chem Res Toxicol*, 2019, 32(6): 974-976.
- [43] MORIE G P. Fraction of protonated and unprotonated nicotine in tobacco smoke at various pH values[J]. *Tob Sci*, 1972, 16: 167.
- [44] RICHTER P, SPIERTO F W. Surveillance of smokeless tobacco nicotine, pH, moisture, and unprotonated nicotine content[J]. *Nicotine Tob Res*, 2003, 5(6): 885-889.
- [45] Notice regarding requirement for annual submission of the quantity of nicotine contained in smokeless tobacco products manufactured, imported, or packaged in the United States. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Department of Health and Human Services. Notice[J]. *Federal register*, 1999, 64(55): 14 085-14 096.
- [46] LAUTERBACH J H, BAO M, JOZA P J, et al. Free-base nicotine in tobacco products Part II: Determination of free-base nicotine in the aqueous extracts of smokeless tobacco products and the relevance of these findings to product design parameters [J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2011, 59(1): 8-18.
- [47] LAWLER T S, STANFILL S B, ZHANG L, et al. Chemical characterization of domestic oral tobacco products: Total nicotine, pH, unprotonated nicotine and tobacco-specific N-nitrosamines [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2013, 57: 380-386.
- [48] 李国政, 邱建华, 周浩, 等. 卷烟烟气 pH 值研究进展[J]. *食品与机械*, 2017, 33(5): 216-219.
- LI Guo-zheng, QIU Jian-hua, ZHOU Hao, et al. Advantage of pH value in cigarette smoke [J]. *Food & Machinery*, 2017, 33(5): 216-219.
- [49] 徐茂田, 祁瑞芳, 高秋梅. 溴甲酚绿光度法测定烟草中的烟碱[J]. *理化检验*, 1998(2): 78-81.
- XU Mao-tian, QI Rui-fang, GAO Qiu-mei. Photometric determination of nicotine in tobacco by bromocresol green[J]. *Physical Testing and Chemical Analysis*, 1998(2): 78-81.
- [50] HUANG Y J, DENG Q X, LAN H Q, et al. Colorimetric assay for the rapid determination of free-base nicotine in e-liquid[J]. *Analytical Methods*, 2020, 12(2): 193-199.
- [51] 黄延俊, 方钺中, 张廷贵, 等. 光谱法测定电子烟液中的游离烟碱[J]. *烟草科技*, 2021, 54(8): 45-51, 86.
- HUANG Yan-jun, FANG Zheng-zhong, ZHANG Ting-gui, et al. Spectroscopic determination of free-base nicotine in e-liquids[J]. *Tobacco Science & Technology*, 2021, 54(8): 45-51, 86.
- [52] 卢丽娟, 张弘韬, 周浩, 等. 烟草中游离态烟碱的测定[J]. *安徽农业科学*, 2009, 37(36): 7 946-7 947, 7 956.
- LU Li-juan, ZHANG Hong-tao, ZHOU Hao, et al. Determination on free nicotine in tobacco[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2009, 37(36): 7 946-7 947, 7 956.

(下转第 252 页)