

烟草及烟草制品中脱氧果糖嗪含量分析

作者

中国烟草总公司郑州烟草研究院, 河南郑州 450001

..... 卢斌斌 李鹏 谢剑平 宗永立

作者简介

卢斌斌(1976-), 硕士, 中国烟草总公司郑州烟草研究院工程师, 主要从事香精香料合成及分析工作。

E-mail: lubb@ztri.com.cn

摘要

对烟草及烟草制品中的脱氧果糖嗪测定方法进行研究, 确定采用超声波提取, 以蒸馏水为提取溶剂测定烟草及烟草制品中的脱氧果糖嗪含量, 方法的重复性好(RSD 小于 5%)、回收率高(大于 91%)。采用该方法检测了包括烤烟、白肋烟、香料烟在内的 20 种烟叶样品和 25 种卷烟烟丝样品, 结果显示在 20 种烟叶样品中均未检测到脱氧果糖嗪的存在, 国产卷烟基本无脱氧果糖嗪的存在或含量极低, 而一些进口混合性卷烟则有较高含量的脱氧果糖嗪。

关键词

烟草 卷烟 脱氧果糖嗪 高效液相色谱

Analysis of Deoxyfructosazine in Tobacco and Cigarettes

LU Binbin LI Peng XIE Jianping ZONG Yongli

(Zhengzhou Tobacco Research Institute of CNTC, Zhengzhou 450001, China)

Abstract The determination method of deoxyfructosazine in tobacco and cigarettes was studied and supersonic extraction-high performance liquid chromatography method was developed. The recovery of the DOF was more than 91% and the relative standard deviation was not more than 5%. This method was applied to the determination of the DOF in 20 kinds of tobacco leaves and 25 cigarettes. The results showed that DOF were not exist in tobacco leaves, and the same result was found in domestic cigarette. But the DOF contents in some import blended cigarettes were much higher.

Key words tobacco cigarette deoxyfructosazine HPLC

脱氧果糖嗪(Deoxyfructosazine, 简称 DOF)属于多羟基烷基吡嗪类化合物, 是棕色化反应的重要中间

体, 作为一类有效的烟用香原料, 早已被广泛应用于卷烟的加香加料^[1], 它有如下两个异构体(见图 1)。

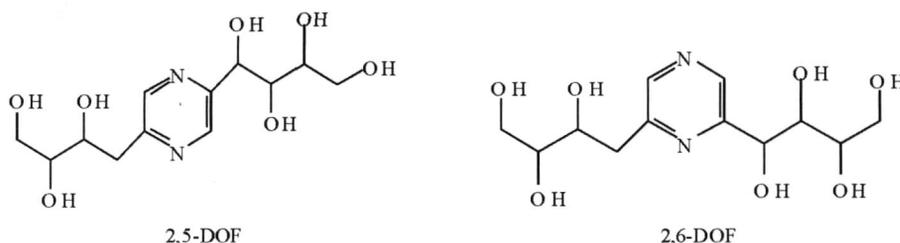


图 1 脱氧果糖嗪两种异构体的结构式

国外对脱氧果糖嗪的研究开始于 20 世纪初, 70 年代研究最多, 包括烟草中脱氧果糖嗪的定性定量研究、棕色化反应中脱氧果糖嗪的分析鉴定研究、立体

结构研究和加香加料作用研究等。根据日本烟草公司和美国雷诺公司^[1]的工作人员所给出的数据来看, 2,5-脱氧果糖嗪在烤烟中的含量为 0.029%, 2,6-脱氧果糖嗪在烤烟中的含量为 0.033%。

资料显示^[2-3], 脱氧果糖嗪及其异构体早在 70

收稿日期: 2008-07-29

年代就被应用于国外烟草公司的卷烟产品中,如 Philip Morris 公司、Brown & Williamson 公司等,并且在美国、欧洲和日本均有多项关于脱氧果糖嗪应用于烟用加香加料技术的专利。1978年,日本的河本正彦和土田信^[2]申请了关于应用脱氧果糖嗪及其异构体改善卷烟香味的专利。该专利分别采用果糖和甲酸铵、葡萄糖和氨气、葡萄糖和甲酸铵、果糖和碳酸铵以及葡萄糖和氨水反应来制备脱氧果糖嗪及多羟基烷基吡嗪类化合物,并对得到的几种多羟基烷基吡嗪类化合物在白肋烟、烟草薄片和膨胀烟丝组成的叶组配方上的应用进行了研究,结果发现添加脱氧果糖嗪可以改善该配方的香气、吃味,减小刺激。1994年美国雷诺公司的 Shu Chikuen 等人^[3]申请了烟草处理过程的专利。该专利指出,在烟草的处理过程中同时加入一些氨的弱酸盐和糖类(葡萄糖、果糖、半乳糖等)会对烟草的吃味起改良作用。

资料调研结果表明国外对脱氧果糖嗪类化合物的研究比较活跃,但是出于商业原因,详细的公开性科研报道比较少见。国内至今尚未开展此项技术的系统研究。

1 材料与与方法

1.1 材料、试剂和仪器

盐酸、乙醇(分析纯),乙腈(色谱纯);2,5-脱氧果糖嗪、2,6-脱氧果糖嗪(标样);BS200S型电子天平(梅特勒,0.0001g);超声波清洗仪;旋转振荡仪;HPLC1100(带紫外检测器,美国安捷仑科技有限公司);德国 Bruker Esquire 3000 高效液相色谱-质谱仪(HPLC/MS)。

1.2 样品处理与分析

将烟叶和卷烟烟丝在40℃下烘干,粉碎后过40目筛,放入密封袋中。按国标方法测定烟末的含水率。

准确称取2g烟末置入250mL的圆底烧瓶中,准确加入20mL提取溶剂,超声波提取60min,取上层清液用0.2μm滤膜过滤,取滤液进行高效液相色谱分析。HPLC条件如下:ZORBAX NH2柱:5μm,4.6×250mm,紫外检测器:275nm,柱温:25℃,流动相:80%乙腈+20%超纯水,流速:1mL/min。

2 结果与讨论

2.1 烟草及烟草制品中脱氧果糖嗪提取方法研究

将振荡提取、超声波提取、加热提取三种提取方式以及采用水、乙醇两种不同提取溶剂的测定结果进行比较,结果见表1。

表1 不同提取方法测定某卷烟样品中脱氧果糖嗪含量(%)

提取方式 提取溶剂	震荡提取				超声波提取				沸水提取			
	15	30	60	120	15	30	60	120	15	30	60	120
水	0.11	0.19	0.28	0.38	0.15	0.24	0.39	0.36	0.07	0.11	0.25	0.32
乙醇	0.03	0.08	0.13	0.12	0.03	0.09	0.11	0.13	0.05	0.12	0.15	0.18

从表1可以清楚地看出,以水为提取溶剂、超声波提取的效率较其它几种方法高,提取时间短。

2.2 烟草及烟草制品中脱氧果糖嗪测定方法重复性及回收率测定

对以水为提取溶剂、超声波提取烟草及烟草制

品中脱氧果糖嗪方法的重复性和回收率进行了测定。重复性实验选取了2个进口混合型卷烟烟丝样品,每个样品重复测定5次,测定结果见表2;回收率实验选取2个卷烟烟丝样品采用标准加入法测定,结果见表3。

表2 卷烟烟丝样品中脱氧果糖嗪含量测定方法的重复性

样品名称	样品质量/g	2,5-脱氧果糖嗪/%	2,6-脱氧果糖嗪/%	相对标准偏差
1	5.0072	0.022	0.017	2,5-脱氧果糖嗪:2.03%
	4.9986	0.021	0.017	2,6-脱氧果糖嗪:2.63%
	5.0060	0.022	0.017	
	4.9973	0.022	0.016	
	4.9979	0.022	0.017	
2	5.0066	0.0066	0.0020	2,5-脱氧果糖嗪:3.35%
	5.0025	0.0071	0.0020	2,6-脱氧果糖嗪:4.40%
	5.0010	0.0071	0.0018	
	4.9936	0.0067	0.0019	
	4.9993	0.0069	0.0019	

表3 卷烟和烟草样品中脱氧果糖嗪含量测定方法的回收率

样品名称	添加量/μg		测定结果/μg		回收率/%	
	2,5-DOF	2,6-DOF	2,5-DOF	2,6-DOF	2,5-DOF	2,6-DOF
(1)	0	0	19.22	16.45		
	28.25	12.31	47.08	27.67	98.6	91.2
(2)	0	0	-	-		
	28.25	12.31	29.83	11.91	105.6	96.8

注:(1)为混合型卷烟烟丝样品,(2)为烤烟型卷烟烟丝样品

“0”表示未添加的空白样,“-”表示未检出

从表2和表3的测定结果可以看出,采用该方法测定卷烟中脱氧果糖嗪含量具有操作简单、重复性好、回收率高的优点,因此最终确定采用超声波以水为提取剂结合高效液相色谱测定烟草及烟草制品中的脱氧果糖嗪含量。

2.3 烟草及烟草制品中脱氧果糖嗪含量测定结果

采用该方法对表4的烟叶样品进行分析测定,但结果与 Robert A. Heckman 等人^[1]在上世纪80年代报道的结果存在较大差异。文献报道2,5-脱氧果糖嗪和2,6-脱氧果糖嗪在烤烟中的含量应分别为0.029%和0.033%,但在实验中所测定的20多种烟草样品,这其中包括巴西、津巴布韦以及加拿大的烟草样品,还有国内有代表性的烤烟(大理C₃L、B₂F,福建B₂L等)和白肋烟样品(云南中部),都没有发现脱氧果糖嗪的存在,但该测定方法的重复性和回收率都很好,且报道烟叶中脱氧果糖嗪含量的文献都来源于70年代日本的Tsuchida^[1]。因此我们推断可能是由于当时的分析方法局限性导致结果有误,实际上烟草样品中并不含脱氧果糖嗪或含量低于检测器的检测限。

表4 脱氧果糖嗪分析用单料烟样品名单

烟叶类型	产地	等级	年份	
烤烟	大理	C3L	2001	
	大理	B2F	2001	
	福建	B2L	2002	
	云南	B2F	2001	
	玉溪	X1F	2001	
	玉溪	B2F	2001	
	玉溪	C3F	2001	
	江西	X2V	2002	
	湖北	C3F	2002	
	贵州	X2F	2001	
	湖北	C2L	2002	
	加拿大烤烟			2000
	津巴布韦			2001
香料烟	保山		2001	
	新疆		2001	
白肋烟	巴西白肋	MBF	2002	
	四川奉节		2002	
	云南	中部	2002	
	湖北	中三	2002	
	湖北	上三	2002	

同时用该分析方法对20种有代表性的国产卷烟(烤烟型:15种,混合型:5种)和常见的5种进口卷烟进行了分析鉴定。结果见表5。

表5 卷烟脱氧果糖嗪含量分析结果

样品名称	2,5-脱氧果糖嗪/%	2,6-脱氧果糖嗪/%
中华	-	-
芙蓉王	-	-
红梅	-	-
大红鹰	-	-
云烟	-	-
南京	-	-
红塔山	-	-
红河	-	-
帝豪	-	-
白沙	-	-
牡丹	-	-
哈德门	-	-
金芒果	-	-
利群	-	-
红旗渠	-	-
金桥	0.0029%	-
都宝	0.0031%	0.0019%
杭州	-	-
中南海	低于检测限	-
羊城	-	-
HILTON	-	-
MILD SEVEN	-	-
555	0.0058%	-
MARLBORO	0.022%	0.017%
CAMEL	0.0068%	0.0018%

从表5结果可以看出,国产烤烟型卷烟中不含脱氧果糖嗪,部分国产混合型卷烟含有少量的脱氧果糖嗪,而国外一些著名的卷烟品牌中却含有大量的脱氧果糖嗪,尤其是在MARLBORO卷烟烟丝中

的含量达到了 200 mg/kg 以上。

近几年来,关于烟草及烟草制品中脱氧果糖嗪的分析也时有报道,一些国内烟草公司的技术人员认为烟叶或卷烟烟丝中含有一定量的脱氧果糖嗪,甚至有些报道称^[4]在一些国产烤烟型卷烟烟丝中脱氧果糖嗪含量高达 300 ~ 500 $\mu\text{g/g}$,因此采用报道中以甲醇为提取剂索氏提取 2 h 的方法对所测定的三种卷烟烟丝样品进行提取,用 HPLC 方法测定其

中的脱氧果糖嗪含量,液相色谱图见图 2。

从图 2 中可以看出,在标样的保留时间段烟丝样品也出现一个小峰,为确定该峰是否为脱氧果糖嗪,项目组对样品进行 LC-MS 鉴定,该峰的质谱图及二级质谱图见图 3,将其与图 4 和图 5 脱氧果糖嗪的质谱图进行对比,可以看出该质谱图与脱氧果糖嗪的质谱图差异很大,因而排除该峰是脱氧果糖嗪的可能性。

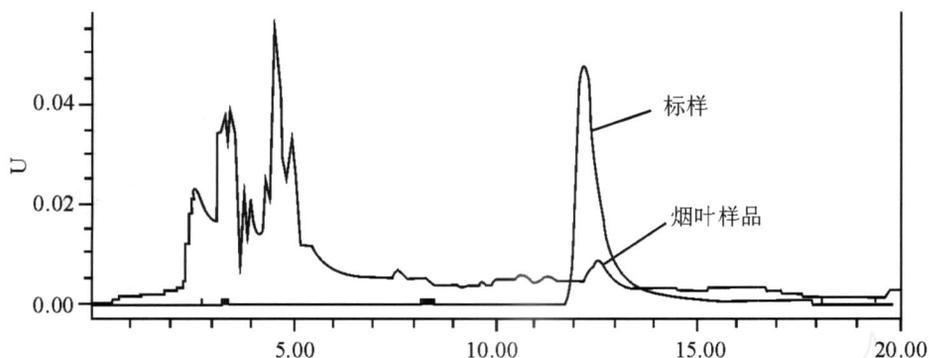


图 2 烟丝样品中脱氧果糖嗪测定高效液相色谱图

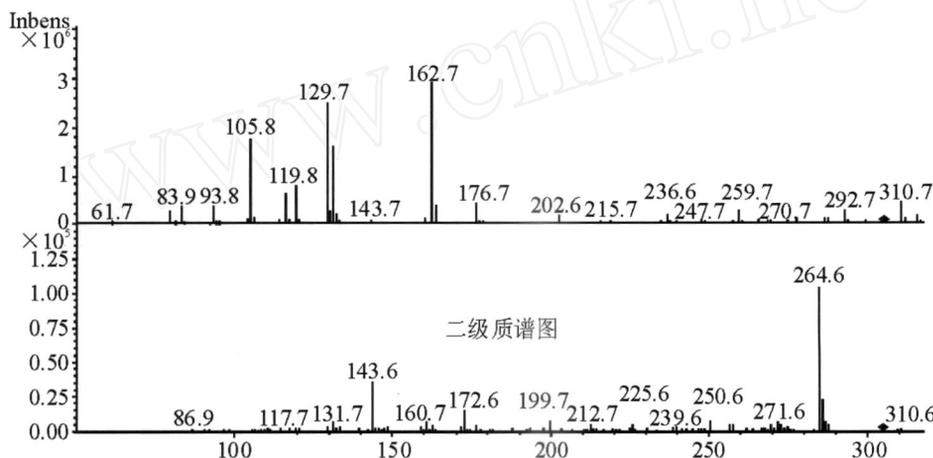


图 3 烟丝样品中和脱氧果糖嗪保留时间重叠的峰质谱图

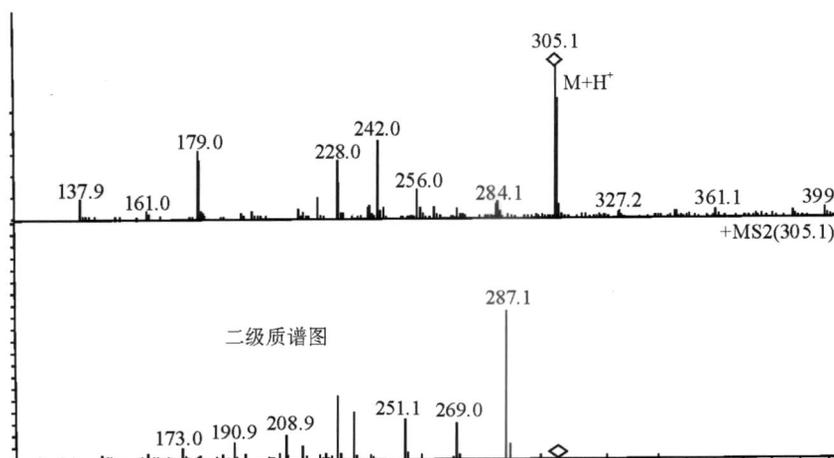


图 4 2,6-脱氧果糖嗪质谱图

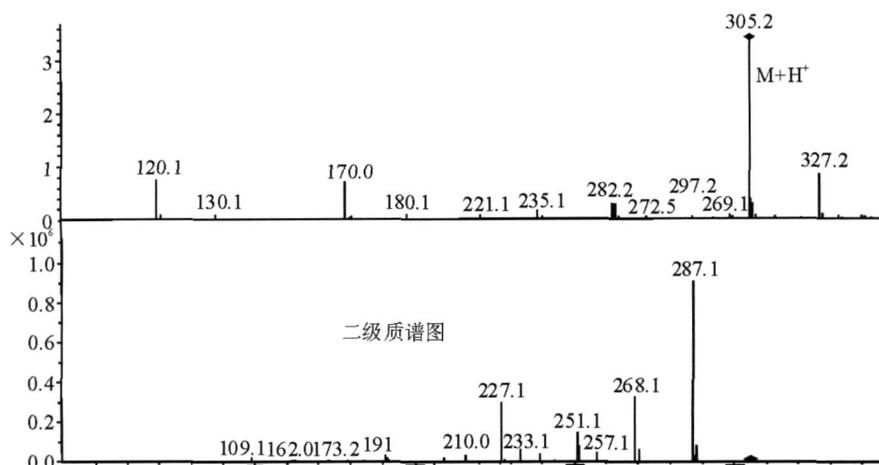


图5 2,5-脱氧果糖嗪质谱图

3 结论

建立了烟草及卷烟烟丝中脱氧果糖嗪的测定方法,该方法前处理简单,重复性好,回收率高。对国内外烟草及卷烟烟丝的测定表明,国产烤烟型卷烟中不含脱氧果糖嗪,部分国产混合型卷烟含有少量的脱氧果糖嗪,而国外一些著名的卷烟品牌中却含有大量的脱氧果糖嗪,这一发现对揭示国外烟草公司的加香加料核心技术,提高我国烟草行业香精香料技术水平具有重要的参考价值。

参考文献

- [1] Robert A. Heckman, Michael F. Dube, Dwo Lynn, et al. The role of tobacco leaf precursors in cigarette flavor[J]. REC. ADV. TOB. SCI., 1981, 1: 107-153.
- [2] 重松仁, 河本正彦, 土田 信. 卷烟香味改良法:JP, 公开特許公報, 昭 53-90401[P]. 1978-1-6.
- [3] Shu Chikuen, Brian M. Lawrence, Joyce R. Durham, and Dwo Lynn. Tobacco treatment process:US, 5 370 139[P]. 1994-12-06.
- [4] 樊瑛, 孟昭宇, 陆舍铭, 等. 固相萃取-高效液相色谱法测定烟草中的两种多羟基吡嗪异构体[J]. 分析试验室, 2007, (12): 35-38.

(上接第4页)

方差分析结果表明, A、B 因素对产品得率有极显著影响 ($F > F_{0.01(3, 3)}$), 而 C、D 影响不显著 ($F < F_{0.05(3, 3)}$), 即在试验选择的水平范围内, 蒸馏压力和蒸馏温度的影响最大, 刮膜转速影响次之, 物料流量影响最小。蒸馏压力的影响从感官上也能观察到, 压力低于 3.5 Pa 时轻组分精油的蒸出的量明显增加, 由于设备的缘故, 试验选择 3 Pa 压力, 这与理论上压力和温度的影响相吻合。综合分子蒸馏正交试验的极差和方差分析结果可以得出最佳工艺条件为: 蒸馏压力 3.0 Pa、蒸馏温度 110 °C、物料流量 2 mL/min、刮膜转速 480 r/min。

3 结论

1) 超临界流体萃取制得的玫瑰粗油, 由于含蜡量较高需要对其精制。采用分子蒸馏法纯化玫瑰精油, 避免了高温不良影响, 得到颜色淡黄、香气浓烈的玫瑰精油。

2) 分子蒸馏过程中, 蒸馏压力、温度、物料流量和刮膜转速都对精油得率有一定影响。采用正交优化试验发现: 蒸馏压力和蒸馏温度影响最大, 刮膜

转速影响次之, 物料流量影响最小。

3) 分子蒸馏法提纯玫瑰精油的最佳工艺条件: 蒸馏压力 3.0 Pa、蒸馏温度 110 °C、物料流量 2 mL/min、刮膜转速 480 r/min, 精油得率可达 20.6%。

4) 采用 MD-S80 型刮膜式分子蒸馏装置提纯玫瑰精油, 蒸馏温度低, 产品不易分解变质; 蒸馏过程中条件易控制, 操作简便, 分离效率高, 容易实现工业化生产。

参考文献

- [1] 林进能. 天然食用香料生产与应用[M]. 北京: 轻工业出版社, 1991.
- [2] 陈文伟, 陈 钢, 高荫楠. 分子蒸馏的应用研究进展[J]. 西部粮油科技, 2003, 28(5): 35-37.
- [3] Jura Lutisan, Cvengros. Mean free path molecules on molecular distillation[J]. The Chemical Engineering Journal, 1995, 56: 39.
- [4] Teramoto M. Extraction of ethyl and methyl esters of polyunsaturated fatty acids with aqueous silver nitrate solution[J]. Ind. Eng. Chem. Res., 1994, 33: 341-345.
- [5] Jura Lutisan, Mirosław Micro, Jan Cvengros. The influence of entrainment separator on the process of molecular distillation [J]. Separation Science and Technology, 1998, 33(1): 83.