

烟草酶解液参与制备的热反应香精香气成分分析

曾世通¹, 李鹏¹, 孙世豪¹, 卢斌斌¹, 吴鹏勃², 张兴², 张玉玉^{2*}

(1. 中国烟草总公司郑州烟草研究院, 郑州 450001; 2. 北京工商大学食品学院, 北京 100048)

摘要: **目的** 研究烟草酶解液参与制备的热反应香精的香气成分。**方法** 以甘氨酸与木糖的美拉德反应液为对照, 采用固相微萃取(solid-phase micro extraction, SPME)法和同时蒸馏萃取(simultaneous distillation extraction, SDE)法提取, 气相色谱-质谱联用技术对其进行分离鉴定。**结果** 烟草酶解液参与制备的热反应香精中共鉴定出 34 种挥发性风味化合物, 包括 20 种杂环类、4 种酸类、3 种酮类、3 种醇类、2 种醛类、1 种酚类和 1 种烃类化合物。其中, 杂环化合物的相对质量分数最高, 且糠醛的相对质量分数最高为 32.483%, 含量为 4.799 $\mu\text{g/g}$ 。美拉德反应对照液中共鉴定出 11 种挥发性风味成分, 包括 7 个杂环类、1 个酸类、1 个醛类、1 个酚类和 1 个烃类化合物。**结论** 与反应对照液相比, 热反应烟草香精的制备过程中产生了更多的挥发性香味成分, 尤其是杂环类化合物, 不仅对烟草风味具有良好的修饰作用, 亦为卷烟香精的重要组成成分。

关键词: 烟草酶解液; 热反应香精; 香气成分; 气相色谱-质谱联用法

Aroma compounds in the thermal reaction flavorings of tobacco enzymatic hydrolysate

ZENG Shi-Tong¹, LI Peng¹, SUN Shi-Hao¹, LU Bin-Bin¹, WU Peng-Bo²,
ZHANG Xing², ZHANG Yu-Yu^{2*}

(1. Zhengzhou Tobacco Research Institute, China Tobacco Company, Zhengzhou 450001, China;
2. School of Food and Chemical Engineering, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the volatiles in the thermal reaction flavoring made by tobacco enzymatic hydrolysate. **Methods** The volatiles were extracted by solid-phase micro extraction (SPME) and simultaneous distillation extraction (SDE), and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The Maillard reaction solution reacted by the glycine and xylose, was used to be the contrast solution. **Results** A total of 34 volatile compounds were identified in the thermal reaction flavoring made by tobacco enzymatic hydrolysate, including 20 heterocyclics, 4 acids, 3 ketones, 3 alcohols, 2 aldehydes, 1 phenolic and 1 hydrocarbon compounds. The relative content of heterocyclics was the highest. The relative content of furfural was the highest extracted by SDE (32.483%, 4.799 $\mu\text{g/g}$). A total of 11 volatiles were identified in the contrast solution of Maillard reaction, including 7 heterocyclics, 1 acids, 1 aldehydes, 1 phenolic and 1 hydrocarbon compounds. **Conclusion** More volatiles, especially the heterocyclic compounds, are generated during the preparation of the thermal reaction flavoring of tobacco, which having a major effect on tobacco flavor modification and also being an important component of cigarette flavor.

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(31401604)

Fund: Supported by the Yough Fund Project of National Natural Science Foundation of China (31401604)

*通讯作者: 张玉玉, 博士, 讲师, 主要研究方向为香料化学。E-mail: zhangyy2@163.com

*Corresponding author: ZHANG Yu-Yu, Lecturer, Beijing Technology and Business University, No.11, Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100048, China. E-mail: zhangyy2@163.com

KEY WORDS: tobacco enzymatic hydrolysate; thermal reaction flavorings; aroma compounds; gas chromatography-mass spectroscopy

1 引言

烟草是我国重要的经济作物之一, 我国的烟草种植面积和总产量均居世界第一位, 但每年约有 25% 的废次烟末因无法利用而浪费^[1]。烟草中含有丰富的蛋白质和还原糖, 优质烤烟中蛋白质含量约为 6%~9%, 还原糖含量为 14%~18%^[2], 白肋烟中蛋白质含量则高达 20.48%^[3]。将烟草酶解, 提取出可溶性蛋白质、肽、氨基酸和还原糖, 在一定条件下发生美拉德(Maillard)反应, 可以用来制备烟用香精, 提升烟草的香气品质, 弥补因降焦减害带来的香味不足^[4]。

目前, 同时蒸馏萃取(simultaneous distillation extraction, SDE)和固相微萃取(solid phase micro extraction, SPME)结合气相色谱-质谱联用技术(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)是常用的挥发性风味成分的提取和分析方法^[5-8]。文冬梅等^[5]采用同时蒸馏萃取-气相色谱-质谱技术分析了 4 种牌号烟末中主要挥发性风味物质的组成; 张献忠^[6]采用水蒸气蒸馏和同时蒸馏萃取法, 结合 GC-MS 技术提取分析了废次烟末中的挥发性香气成分; Brokl 等^[9]采用 HS-SPME-GC×GC 分析烟草烟雾中的挥发性化合物。

美拉德反应是产生香味物质的重要手段和途径, 在制备热反应香精中得到了广泛应用^[4,8,10]。为研究烟草酶解液参与制备的热反应香精的香气组成, 本文采用 SPME 法和 SDE 法, 提取烟草酶解液参与制备的热反应香精中的香气成分, 结合气-质联用技术进行定性和定量分析, 旨在为烟草的综合利用及烟用香精的制备提供理论基础。

2 材料与amp;方法

2.1 材料、试剂与仪器

云南烟草(云南烟农提供)。

纤维素酶(20000 U/g, 食品级)、碱性蛋白酶(200000 U/g, 食品级)(南宁庞博生物工程有限公司); 木糖(食品级)、甘氨酸(食品级)(冀州市华阳化工有限责任公司); 去离子水(实验室自制); C6~C30 正构烷

烃混标(色谱纯)、无水硫酸钠(分析纯)、二氯甲烷(分析纯)(国药集团化学试剂有限公司); 氮气(纯度 99.9%)、氦气(纯度 99.999%)(北京氦普北分气体工业有限公司)。

A-100S 旋转蒸发仪(日本 EYELA 公司); 同时蒸馏萃取装置(定制加工)(北京玻璃仪器厂); 75 μm CAR/PDMS 纤维萃取头、手动 SPME 进样器(美国 Supelco 公司); 6890N-5973i 气相色谱-质谱联用仪(配有液体自动进样器、吹扫捕集器、二维气相色谱)(美国 Agilent 公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 烟草热反应香精的制备

将烟叶抽去烟梗粉碎, 过 40 目筛, 得烟草粉末。取 10 g 烟草粉末, 按照料液比 1:10(样品:去离子水, *m:V*)加入去离子水, 浸泡 12 h, 再同时加入烟草粉质量 0.5% 的纤维素酶和 0.5% 的碱性蛋白酶, 50 °C 进行酶解 8 h, 离心分离, 取上清液, 得烟草酶解液。取烟草酶解液 50 mL, 加入 3% 的甘氨酸和 3% 的木糖, 在 100 °C 条件下反应 4 h, 得热反应烟草香精样品。

取烟草酶解液 50 mL, 加入 3% 的甘氨酸和 3% 的木糖, 在 100 °C 条件下热反应 4 h, 得反应对照液。

2.2.2 SPME 法萃取热反应香精中的挥发性成分^[11]

称取 10.0 g 热反应烟草香精样品, 置于 30 mL 样品瓶中, 用聚四氟乙烯隔垫密封, 60 °C 水浴条件下平衡 30 min, 插入在气相色谱进样口老化过的 SPME 萃取纤维头, 顶空萃取 60 min, 然后将萃取纤维头在气相色谱进样口解吸 5 min, 进行 GC-MS 分析。

2.2.3 SDE 法提取热反应香精中的挥发性成分^[12]

称取 150 g 热反应烟草香精样品或反应对照液, 置于 1000 mL 单口圆底烧瓶中, 按照料液比 1:3(样品:去离子水, *m:V*)加入 450 mL 去离子水, 磁力搅拌子, 搅拌均匀, 置于同时蒸馏萃取装置的轻相端, 油浴加热(130±1) °C; 量取 50 mL 重蒸二氯甲烷置于 100 mL 圆底烧瓶中, 加入沸石, 置于同时蒸馏萃取装置的重相端, 水浴加热(45±1) °C; 从第一次回流开始计时, 连续提取 4 h 后, 收集二氯甲烷萃取液, 并加入适量干燥的无水硫酸钠, 置于-18 °C 冰箱中过夜, 然后进行过滤, 将滤液旋蒸浓缩至 6 mL, 再进行氮气吹浓

缩至 0.5 mL, 得样品 SDE 提取浓缩液, 密封后-18 °C 冷冻保存, 待气质联机分析。

2.2.4 GC-MS 测定条件^[13]

色谱条件: 色谱柱: DB-WAX 毛细管柱(30 m×250 μm, 0.25 μm); 进样口温度: 250 °C; 升温程序: 初始温度 35 °C(保留 1 min), 以 4 °C/min 升至 220 °C(保留 5 min); 载气为 He, 流速为 1.1 mL/min, 进样量为 1.0 μL, 分流比为 20:1(SPME 采用不分流进样)。

质谱条件: 电子电离(electron ionization, EI)离子源; 离子源温度: 230 °C; 四极杆温度: 150 °C; 电子能量: 70 eV; 扫描方式: 全扫描; 质量扫描范围 m/z 20~350。溶剂延迟 5 min(SPME 无溶剂延迟); 调谐文件为标准调谐。

2.3 数据处理

2.3.1 定性分析

对检测结果的定性分析, 以计算机检索 NIST11 谱库为基础, 结合人工图谱解析和计算的保留指数与文献值的对比共同确定, 保留指数根据式(1)计算^[7,12]。

$$I = 100 \times \left[n + \frac{1gt'(i) - 1gt'(n)}{1gt'(n+1) - 1gt'(n)} \right] \quad (1)$$

式中: n 和 $n+1$ 分别为未知化合物色谱峰流出前后的正构烷烃碳原子数; $t'(n)$ 和 $t'(n+1)$ 为相应的正构烷烃色谱峰的保留时间; $t'(i)$ 为待测组分色谱峰的保留时间 $t'(n+1) > t'(i) > t'(n)$ 。

2.3.2 定量分析

采用气相色谱峰面积归一化法和内标法进行定

量分析, 得各挥发性成分的相对质量分数及其在样品中的含量。

以二氯甲烷为溶剂, 加入内标正十三烷, 认定内标因子为 1, 计算其他挥发性成分的浓度^[14]。将内标配成二氯甲烷溶液, 浓度为 $C=0.015$ mg/mL。将样品 SDE 提取浓缩液与正十三烷内标液按 1:1($V:V$)的比例混合, 得混合进样液, 取混合进样液溶液 1 μL 进行气相色谱分析, 使内标物的峰面积与样品中大部分挥发性成分的峰面积在同一数量级^[15]。样品质量 m_1 中各组分浓度 m (g/g)的计算公式为:

$$m = V_{1s} \times V_s \times (A_s \times C_i) / (A_i \times m_1) \quad (2)$$

其中: m 为样品中各组分浓度(g/g); m_1 为样品质量(g); C_i 为内标物浓度(g/mL); A_i 为内标物峰面积; A_s 为各组分峰面积; V_{1s} 为混合进样液中内标与样品的体积比; V_s 为样品的体积(mL)。

3 结果与讨论

3.1 SPME 和 SDE 法提取风味物质的比较

以经过预实验优化的 SPME 和 SDE 萃取条件, 及优化的 GC-MS 分析条件, 采用 75 μm CAR/PDMS 纤维萃取头的固相微萃取装置, 萃取烟草酶解液参与制备的热反应香精样品和反应对照液中的挥发性成分, 并进行 GC-MS 分析, 相应的总离子流色谱图分别如图 1、图 2 所示; 采取同时蒸馏萃取法, 以二氯甲烷为溶剂进行萃取 4 h, 所得萃取液经浓缩后进行 GC-MS 分析, 得到的总离子流色谱图分别如图 3、图 4 所示。

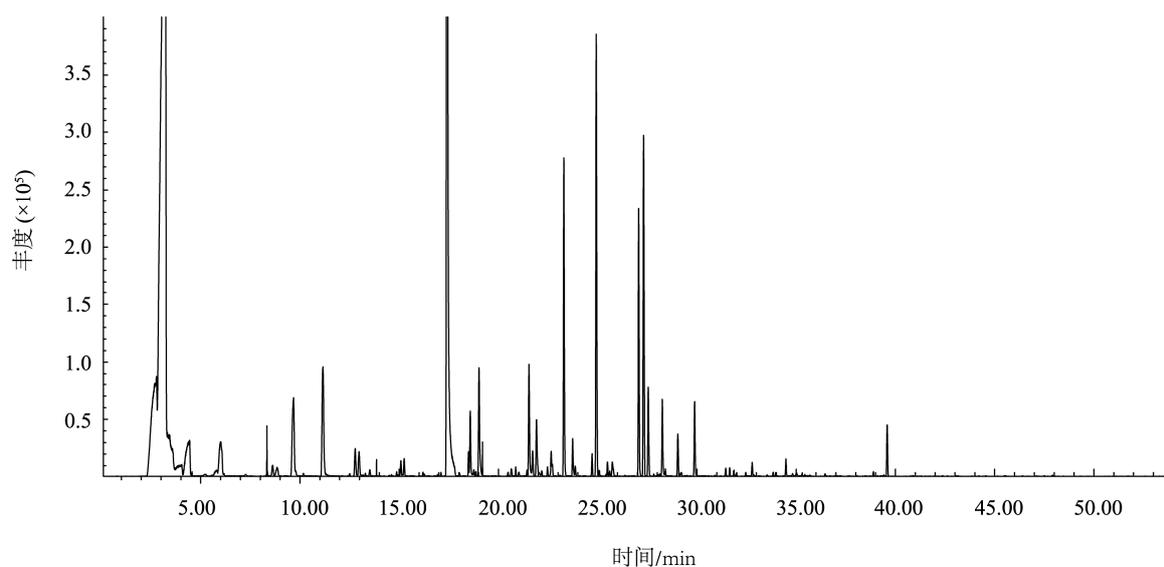


图 1 SPME 法萃取热反应烟草香精得到的总离子流色谱图

Fig. 1 TIC of volatile compounds in the thermal reaction flavoring of tobacco by SPME

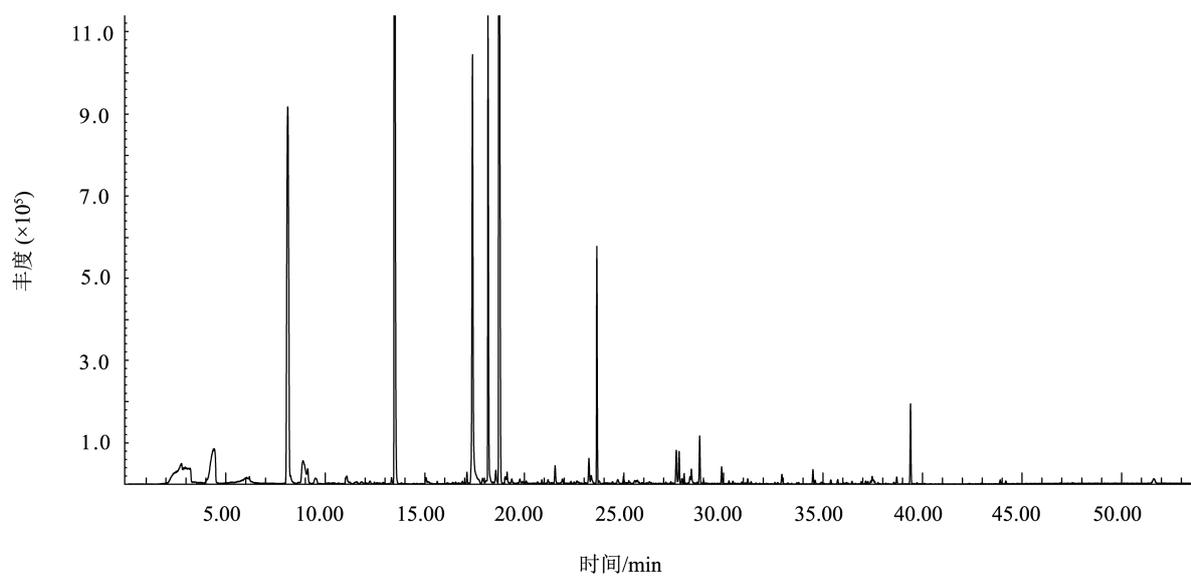


图 2 SPME 法萃取反应对照液得到的总离子流色谱图

Fig. 2 TIC of volatile compounds in the contrast solution of Maillard reaction by SPME

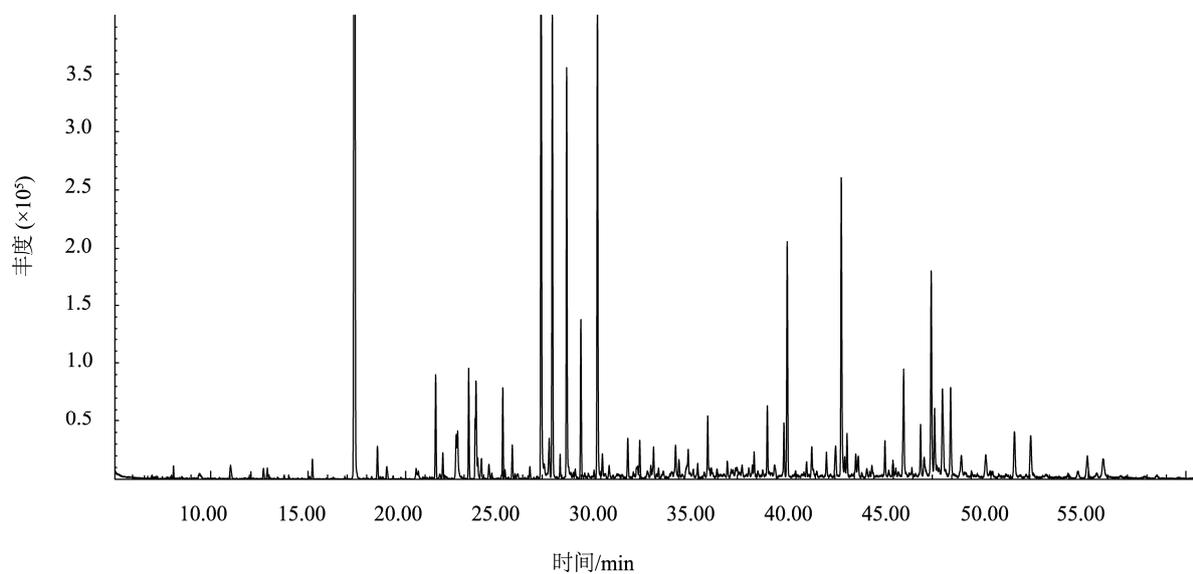


图 3 SDE 法萃取热反应烟草香精得到的总离子流色谱图

Fig. 3 TIC of volatile compounds in the thermal reaction flavoring of tobacco by SDE

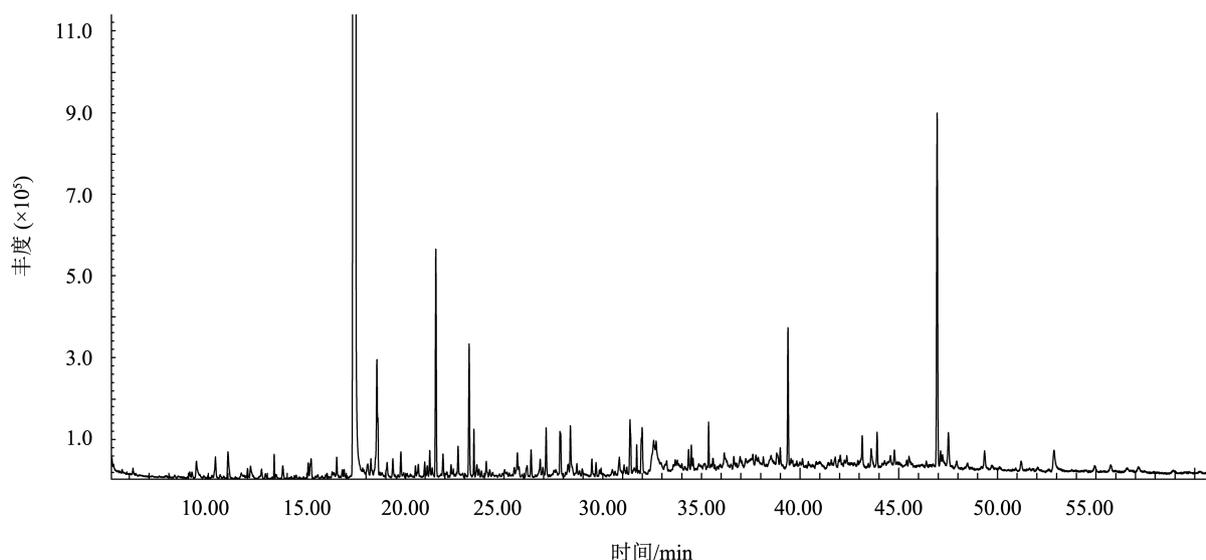


图4 SDE法萃取反应对照液得到的总离子流色谱图

Fig. 4 TIC of volatile compounds in the contrast solution of Maillard reaction by SDE

烟叶酶解液参与制备的热反应香精风味成分的GC-MS鉴定结果如表1、表2所示。从表1、表2可以看出,采用SPME和SDE两种挥发性成分的提取方法结合GC-MS分析,从热反应烟草香精中共鉴定出34种挥发性风味成分,包括醛类2个、酮类3个、酸类4个、醇类3个、酚类1个、烃类1个和杂环类20个。其中,吡嗪、2-甲基吡嗪、糠醛、2-乙酰基呋喃、苯甲醛、2-甲基丙酸、糠醇、异戊酸、3-乙酰基吡啶、烟碱、苯甲醇、苯乙醇、二氢猕猴桃内酯等22个化合物在SPME和SDE两种提取方法中均有检测到。反应对照液中共鉴定出11种挥发性风味成分,包括醛类1个、酸类1个、酚类1个、烃类1个和杂环类7个。

热反应烟草香精通过SPME法萃取,GC-MS鉴定出挥发性化合物26个,SDE法30个。采用SPME得到的挥发性化合物中,杂环类(24.608%)相对质量分数最高,其次为酮类(2.301%)、酸类(1.706%);采用SDE法提取法中,杂环类(47.831%)相对质量分数也最高,其次为酸类(10.200%)、醇类(5.335%)、酮类(1.027%)。反应对照液中,SPME萃取得到的挥发性化合物有9种,SDE为7种,其中相对含量最高的化合物均为糠醛。SPME萃取与SDE萃取的温度条件

不同,SPME是在60℃的条件下萃取挥发性成分,比SDE的>100℃的萃取温度要低得多,所以SPME可以萃取到SDE不易萃取的一些挥发性成分,如2-甲基呋喃等^[15]。

3.2 热反应烟草香精中特征成分分析

热反应烟草香精中鉴定出醛类化合物2个,包括苯甲醛和苯乙醛。蒋美红等^[16]在土耳其香料烟中分析出苯乙醛;张献忠^[6]利用水蒸气蒸馏和同时蒸馏萃取的方法,在废次烟末中分析苯甲醛、苯乙醛、藏红花醛等关键致香成分。苯甲醛是苯丙氨酸的降解产物^[17],具有天然的苦杏仁香味,可广泛用于烟草香精,作为特殊的头香剂,与烟香味协调和合,增强烟草香味的自然风味^[18,19]。

两种方法共鉴定出3个酮类化合物,包括6-甲基-2-庚酮、2,6,6-三甲基-2-环己烯-1,4-二酮和茄酮。蒋美红等^[16]在土耳其香料烟中分析出甲基庚烯酮、茄酮、大马酮等组分。张献忠^[6]在废次烟末中分析出茄酮、大马酮、香叶基丙酮、 β -紫罗兰酮等关键致香成分。

烟草中主要的醛、酮类香气成分是烟叶中类胡萝卜素类物质和类西柏烷类化合物的降解产物^[20,21]。类

表 1 热反应烟草香精及反应对照液中挥发性香气化合物的 GC-MS 鉴定结果
 Table 1 Analytical results for GC-MS identification of volatiles in the thermal reaction flavoring of tobacco and the contrast solution of Maillard reaction

保留时间/min	化合物的中英文名称	化学式	SPME			SDE			保留指数 ³		定性方法 ⁴
			相对含量 ^{AM} /%	相对含量 ^{AB} /%	相对含量 ^{AM} /%	含量 ^{AM} ($\mu\text{g/g}$) ²	相对含量 ^{AB} /%	含量 ^{AB} ($\mu\text{g/g}$) ²	匹配度/%	计算值/文献值	
3.22	2-甲基呋喃 2-Methyl-furan	C ₅ H ₆ O	12.000±0.121	0.281±0.206	—	—	—	90	911/851	MS	
6.04	3-甲基吡嗪 3-Methylpyridazine	C ₅ H ₆ N ₂	0.235±0.028	—	—	—	—	90	997/	MS	
9.08	十二烷 Dodecane	C ₁₂ H ₂₆	—	—	0.227±0.019	0.022±0.007	0.196±0.088	97	1205/1200	MS,RI	
9.63	吡嗪 Pyrazine	C ₄ H ₄ N ₂	0.600±0.044	—	0.322±0.074	0.046±0.009	—	90	1227/	MS	
10.02	6-甲基-2-庚酮 6-Methyl-2-heptanone	C ₈ H ₁₆ O	0.231±0.041	—	—	—	—	78	1239/1236	MS,RI	
11.01	2-甲基吡嗪 Methyl-pyrazine	C ₅ H ₆ N ₂	0.706±0.029	0.266±0.024	0.554±0.023	0.087±0.016	—	86	1270/1264	MS,RI	
12.76	2,5-二甲基吡嗪 2,5-Dimethyl-pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	0.182±0.012	—	0.219±0.030	0.031±0.007	—	80	1328/1323	MS,RI	
12.95	2,6-二甲基吡嗪 2,6-Dimethyl-pyrazine	C ₆ H ₈ N ₂	0.149±0.009	—	0.224±0.024	0.032±0.004	—	86	1334/1328	MS,RI	
15.06	壬醛 Nonanal	C ₉ H ₁₈ O	—	0.111±0.015	—	—	—	86	1399/1390	MS,RI	
15.22	2,3,5-三甲基吡嗪 Trimethyl-pyrazine	C ₇ H ₁₀ N ₂	0.127±0.009	—	0.323±0.038	0.047±0.002	—	86	1402/1406	MS,RI	
17.38	糠醛 Furfural	C ₅ H ₄ O ₂	7.056±0.570	15.54±4.855	32.48±0.576	4.799±0.517	93.208±2.902	86	1473/1460	MS,RI	
18.56	2-乙酰基呋喃 1-(2-Furanyl)-ethanone	C ₆ H ₆ O ₂	0.301±0.023	0.355±0.045	0.534±0.031	0.079±0.006	0.548±0.032	86	1510/1501	MS,RI	
19.03	苯甲醛 Benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	0.601±0.022	—	0.318±0.025	0.044±0.009	—	64	1527/1530	MS,RI	
20.03	丙酸 Propanoic acid	C ₃ H ₆ O ₂	0.069±0.001	—	—	—	—	64	1564/1556	MS,RI	
20.65	2-丙酰呋喃 1-(2-Furanyl)-1-propanone	C ₇ H ₈ O ₂	—	—	0.073±0.001	0.010±0.001	—	61	1582/1571	MS,RI	
20.70	2-甲基丙酸 2-Methyl-propanoic acid	C ₄ H ₈ O ₂	0.133±0.017	—	0.294±0.006	0.041±0.004	—	83	1584/1581	MS,RI	
21.23	2,6-二甲基环己醇 2,6-Dimethyl-cyclohexanol	C ₈ H ₁₆ O	—	—	0.210±0.013	0.024±0.007	—	86	1599/	MS	
21.54	2,5-二甲酰基呋喃 2,5-Furandicarboxaldehyde	C ₆ H ₄ O ₃	0.495±0.014	0.359±0.008	1.009±0.034	0.111±0.011	0.687±0.187	64	1610/	MS	
21.91	N-甲基-2-吡咯甲醛 1H-Pyrrrole-2-carboxaldehyde	C ₆ H ₇ NO	0.272±0.008	—	0.317±0.015	0.044±0.003	—	91	1624/1626	MS,RI	
22.60	苯乙醛 Benzeneacetaldehyde	C ₈ H ₈ O	—	—	0.530±0.008	0.071±0.003	—	93	1648/1648	MS,RI	
23.24	糠醇 2-Furanmethanol	C ₅ H ₆ O ₂	1.140±0.033	0.520±0.105	2.120±0.105	0.299±0.002	0.567±0.109	91	1670/1665	MS,RI	

续表 1

保留时间/min	化合物的中英文名称	化学式	SPME		SDE			保留指数 ³		定性方法 ⁴
			相对含量 ^{AM} /%	相对含量 ^{AB} /%	相对含量 ^{AM} /%	含量 ^{AM} /($\mu\text{g}/\text{g}^2$)	相对含量 ^{AB} /%	含量 ^{AB} /($\mu\text{g}/\text{g}^2$)	匹配度/%	
23.61	异戊酸 3-Methyl-butanoic acid	$\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_2$	0.317±0.011	—	2.303±0.018	0.359±0.002	—	—	1683/1680	MS,RI
23.90	2,6,6-三甲基-2-环己烯-1,4-二酮 2,6,6-Trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione	$\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_2$	—	—	0.323±0.002	0.042±0.002	—	—	1692/1677	MS,RI
24.99	茄酮 (E)-8-Methyl-5-(1-methylethyl)-6,8-nonadien-2-one	$\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{O}$	2.070±0.017	—	0.704±0.002	0.083±0.001	—	—	1732/	MS
25.47	3-氰基吡啶 3-Pyridinecarbonitrile	$\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_2$	0.139±0.011	—	0.358±0.027	0.049±0.004	—	—	1750/1875	MS
26.95	3-甲基戊酸 3-Methyl-pentanoic acid	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_2$	1.187±0.015	—	7.603±0.021	1.008±0.015	—	—	1803/1782	MS
27.52	3-乙酰基吡啶 1-(3-Pyridinyl)-ethanone	$\text{C}_7\text{H}_7\text{NO}$	0.406±0.033	—	3.890±0.060	0.492±0.031	—	—	1826/	MS
28.26	烟碱 3-(1-Methyl-2-pyrrolidinyl)-pyridine	$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2$	0.501±0.035	—	1.995±0.050	0.143±0.018	—	—	1854/1863	MS,RI
28.39	正己酸 Hexanoic acid	—	—	0.208±0.077	—	—	—	—	1864/1866	MS,RI
28.99	苯甲醇 Phenylmethanol	$\text{C}_7\text{H}_8\text{O}$	0.202±0.012	—	1.479±0.036	0.190±0.015	—	—	1882/1880	MS,RI
29.84	苯乙醇 Phenylethanol	$\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}$	0.279±0.015	—	3.646±0.152	0.446±0.044	—	—	1915/1915	MS,RI
31.39	2-乙酰基吡咯 1-(1H-pyrrol-2-yl)-ethanone	$\text{C}_6\text{H}_7\text{NO}$	—	—	0.410±0.022	0.052±0.003	0.14±0.042	0.024±0.009	1977/1971	MS,RI
32.71	2-吡咯甲醛 1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde	$\text{C}_5\text{H}_5\text{NO}$	—	—	0.441±0.015	0.064±0.006	—	—	2031/2028	MS,RI
33.83	4-甲基喹唑啉 4-Methyl-quinazoline	$\text{C}_9\text{H}_8\text{N}_2$	—	—	0.642±0.024	0.068±0.003	—	—	2078/	MS
39.40	2,4-二叔丁基苯酚 2,4-Bis(1,1-dimethylethyl)-phenol	$\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}$	0.106±0.016	1.038±0.295	0.420±0.015	0.046±0.009	0.264±0.116	0.033±0.002	2325/2321	MS,RI
39.56	二氢猕猴桃内酯 5,6,7,7a-Tetrahydro-4,4,7a-trimethyl-2(4H)-benzofuranone	$\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_2$	0.299±0.011	—	1.917±0.071	0.222±0.015	—	—	2333/2325	MS,RI

注: 1 表示采用面积归一化法计算的 3 个平行样品所得的相对含量的平均值±标准偏差;

2 表示化合物在样品中的平均含量±标准偏差, 平均含量计算公式如式(2);

3 保留指数(RI)的计算公式如式(1);

4 MS: NIST11 谱库的检索结果; RI: 计算值与 NIST11 谱库中文献报道差值≤20;

5 ^{AM}: 表示热反应烟草香精样品, ^{AB}: 表示反应对照液。

表 2 热反应烟草香精及反应对照液中挥发性香气化合物的种类及相对质量分数

Table 2 Different groups of volatile aroma compounds and relative contents in the thermal reaction flavoring of tobacco and the contrast solution of Maillard reaction

样品名称	萃取方法	项目	醛类	酮类	酸类	醇类	酚类	烃类	杂环类
热反应烟草香精	SPME	个数	1	2	4	2	1	0	16
		相对质量分数/%	0.601	2.301	1.706	0.481	0.106	0	24.608
	SDE	个数	2	2	3	3	1	1	18
		相对质量分数/%	0.848	1.027	10.200	5.335	0.420	0.227	47.831
	SPME	含量($\mu\text{g/g}$)	0.115	0.125	1.408	0.660	0.046	0.022	6.675
		个数	1	0	1	0	1	0	6
反应对照液	SPME	相对质量分数/%	0.111	0	0.208	0	1.038	0	17.321
		个数	0	0	0	0	1	1	5
	SDE	相对质量分数/%	0	0	0	0	0.264	0.196	95.150
		含量($\mu\text{g/g}$)	0	0	0	0	0.033	0.025	17.404

胡萝卜素类成分是烟草中重要的香气前体物, 在烟叶的调制过程中, 约有 95% 的类胡萝卜素物质会降解成大马酮、二氢猕猴桃内酯和柠檬醛等香味物质^[22,23]。虽然这些香气成分在烟叶中的含量不高, 但是由于其香气阈值低, 其微小的变化就会对烟叶的香气产生较大的影响^[24], 同时这类香气物质为淡雅型风格, 在实际的卷烟生产中经常作为高档卷烟的增香剂使用^[25,26]。

类西柏烷类化合物的降解产物主要为茄酮和降茄二酮。茄酮是烟草中的关键致香化合物, 不仅可以带给烟草醇和的香气, 还可以在烟草的调制、陈化过程中进一步降解, 产生对卷烟吃味有重要影响的茄醇、茄尼味喃、降茄二酮等物质^[27,28]。这些物质具有醇和烟气的作用, 在较大用量范围内, 其香气均能与烟草香很好的协调, 可以明显增加烟草香气, 使烟味更浓厚, 烟香丰满, 增加口腔生津感^[29]。毛多斌等^[30]研究了茄酮及其降解产物在卷烟加香中的应用, 发现加入 0.005%~0.01% 的茄酮, 就可以起到增加卷烟香气、协调烟香、掩盖杂气、使吸味醇和的效果。从香气特征及协调作用看, 茄酮可以作为烤烟型和混合型烟草香精来使用。王能如等^[31]研究发现, 不同香味物质对烤烟香味品质的影响力大小明显不同。茄酮、 β -大马酮、 β -紫罗兰酮等高沸点的酮, 可以明显增加卷烟的香气, 是最能代表我国烤烟主体香味成分的物质^[32]。

热反应烟草香精中鉴定出酸类化合物 4 个, 包括

丙酸、2-甲基丙酸、异戊酸和 3-甲基戊酸。挥发性酸对烟草感官质量的影响远远大于多元酸和高级脂肪酸^[33]。烟草中的挥发酸是指能同水蒸汽一起蒸出的酸, 是烟叶中重要的一类香气成分, 多为 C12 以下的低级脂肪酸和部分芳香酸, 如甲酸、乙酸、异丁酸和异戊酸等。这些酸在卷烟抽吸过程中直接进入烟气, 因而对香味有明显影响^[34,35]。挥发酸含量高, 可以降低烟气的碱性, 从而减少刺激, 使烟气变得醇和。一般质量好、香气量大的烟叶, 其挥发酸含量也比较高, 因此挥发酸含量是烟叶香气的一个重要因素^[36]。

热反应烟草香精中鉴定出醇类化合物 3 个, 包括 2,6-二甲基环己醇、苯甲醇和苯乙醇。张献忠^[6]利用水蒸气蒸馏和同时蒸馏萃取的方法, 在废次烟末中分析出苯甲醇、苯乙醇等关键致香成分。蒋美红等^[16]在土耳其香料烟中分析出芳樟醇、苯乙醇。许多挥发性醇类化合物是烟草中重要的香气成分, 如芳樟醇具有典型的花香香气、有弱的柑桔类果香韵调^[18], 苯甲醇具有弱花香, 反-3,7-二甲基-2,6-辛二烯-1-醇(香叶醇)具有花香香味, 1-苯乙醇具有甜的、坚果香和辛香, 2-苯乙醇具有玫瑰花香^[6]。苯甲醇、苯乙醇、紫罗兰醇和薄荷醇等对卷烟香味作用明显, 已作为卷烟产品的增香剂使用。在烤烟精油中, 最重要的香气成分是苯甲醇和苯乙醇, 均是烟草中苯丙氨酸类致香物质代谢而成, 它们可使卷烟的香气增加花香的香味^[37]。

热反应烟草香精中鉴定出 20 个杂环类化合物,

其中5个吡嗪类化合物,7个呋喃类化合物,3个吡啶类化合物,3个吡咯类化合物,1个哒嗪类化合物和1个喹啉类化合物。热反应烟草香精和反应对照液中,杂环化合物的含量均为最高,且热反应烟草香精中的杂环化合物的种类远多于反应对照液,但含量有所降低。SDE萃取法中,糠醛的相对质量分数最高为32.483%,含量为4.799 μg/g。糠醛具有甜香、木香、面包香和焦糖香。通过表1可以看出,反应对照液与热反应烟草香精中差别最大的挥发性成分,即为糠醛。反应对照液中的糠醛含量为17.093 μg/g,而在热反应烟草香精中降低为4.799 μg/g。说明在烟草酶解液参与反应后的热反应体系中,糠醛与酶解液中的成分发生了化学反应,生成了更多的香气成分。二氢猕猴桃内酯是烟草特征香味成分,有香豆素样香气,能产生轻微凉爽的感觉^[19,37]。在废次烟末中存在二氢猕猴桃内酯等杂环类关键致香成分^[6]。烟草香精制备过程中产生的多种杂环类化合物,不仅对烟草风味具有良好的修饰作用^[10],亦为卷烟香精的重要组成部分。

4 结 论

结合固相微萃取和同时蒸馏萃取两种方法从热反应烟草香精中提取挥发性风味成分,经GC-MS及定性分析,共鉴定出34个挥发性香气化合物,包括20个杂环类、2个醛类、3个酮类、4个酸类、3个醇类、1个酚类和1个烃类化合物。反应对照液中共鉴定出11种挥发性风味成分,包括醛类1个、酸类1个、酚类1个、烃类1个和杂环类7个。

热反应烟草香精中,鉴定出的杂环类化合物(24.608%, SPME; 47.831%, SDE)相对质量分数最高,其中糠醛的相对质量分数最高为32.483%,含量为4.799 μg/g(SDE)。

与反应对照液相比,热反应烟草香精的制备过程中产生了更多的挥发性香味成分,尤其是杂环类化合物,不仅对烟草风味具有良好的修饰作用,亦为卷烟香精的重要组成部分。

参考文献

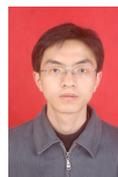
- [1] 董占能,白聚川,张皓东.烟草废弃物资源化[J].中国烟草科学,2008,29(1):39-42.
Dong ZN, Bai JC, Zhang HD. Comprehensive utilization of tobacco waste [J]. Chin Tobacco Sci, 2008, 29(1): 39-42.
- [2] 闫克玉,赵献章.烟叶分级[M].北京:中国农业出版社,2003.
Yan KY, Zhao XZ. Tobacco classification [M]. Beijing: China Agricultural Press, 2003.
- [3] 饶国华,赵谋明,林伟锋,等.中国低次烟叶资源综合利用研究[J].资源科学,2005,27(5):120-127.
Rao GH, Zhao MM, Lin WF, et al. Comprehensive utilization of discarded tobacco leaf resources in China [J]. Res Sci, 2005, 27(5): 120-127.
- [4] 文冬梅.美拉德反应制备烟用香精关键配料及工艺优化的研究[D].广州:华南理工大学,2013.
Wen DM. The key ingredients and process optimization of maillard reaction for preparing tobacco essence [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2013.
- [5] 文冬梅,卓浩廉,赵谋明,等.烟末中的主要成分及挥发性风味物质测定[J].现代食品科技,2011,27(8):1025-1028.
Wen DM, Zhuo HL, Zhao MM, et al. Study on the major component and flavor compounds of tobacco powder [J]. Mod Food Sci Technol, 2011, 27(8): 1025-1028.
- [6] 张献忠.废次烟末中烟草香味物质提取、应用及生物活性[D].杭州:浙江大学,2013.
Zhang XZ. Extraction of tobacco flavor compounds from discarded tobacco leaves and their application in cigarettes and *in vitro* bioactivities [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2013.
- [7] Xie JC, Sun BG, Zheng FP, et al. Volatile flavor constituents in roasted pork of Mini-pig [J]. Food Chem, 2008, 109(3): 506-514.
- [8] 唐胜,沈光林,饶国华,等.利用烟末酶解液制备烟用美拉德反应香精的研究[J].食品工业科技,2011,32(4):268-271.
Tang S, Shen GL, Rao GH, et al. Study on preparation of Maillard tobacco flavoring with tobacco powder hydrolysate solutions [J]. Sci Technol Food Ind, 2011, 32(4): 268-271.
- [9] Brokl M, Bishop L, Wright CG, et al. Multivariate analysis of mainstream tobacco smoke particulate phase by headspace solid-phase micro extraction coupled with comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2014, 1370: 216-229.
- [10] 唐胜.烟末酶解及其产物制备烟草香精的研究[D].广州:华南理工大学,2011.
Tang S. Enzymatic hydrolysis characteristics of tobacco powder and tobacco process flavor preparation of its hydrolysate [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2011.
- [11] 陈海涛,张宁,孙宝国.SPME或SDE结合GC-MS分析贾永信十香酱牛肉的挥发性风味成分[J].食品科学,2012,33(18):171-176.

- Chen HT, Zhang N, Sun BG. Analysis of volatile compounds in jiaoyongxin spiced beef by solid phase microextraction or simultaneous distillation extraction coupled with gas chromatography-mass spectroscopy [J]. *Food Sci*, 2012, 33(18): 171–176.
- [12] 张兴, 陈怡颖, 章慧莺, 等. 新疆馕包肉挥发性风味成分的分
离与鉴定[J]. *精细化工*, 2014, 31(6): 727–732.
Zhang Xing, Chen YY, Zhang HY, *et al.* Analysis of volatile
flavor compounds in sinkiang naan package of meat by GC-MS
[J]. *Fine Chem*, 2014, 31(6): 727–732.
- [13] 陈怡颖, 郭贝贝, 章慧莺, 等. 新疆大盘鸡挥发性成分的
GC-MS 分析[J]. *食品工业科技*, 2014, 35(21): 291–296.
Chen YY, Guo Beibei, Zhang HY, *et al.* Volatile flavor
compounds analysis of the dapanji by GC-MS [J]. *Sci Technol
Food Ind*, 2014, 35(21): 291–296.
- [14] Zhang YY, Huang MQ, Tian HY, *et al.* Preparation and aroma
analysis of Chinese traditional fermented flour paste [J]. *Food
Sci Biotechnol*, 2014, 23(1): 49–58.
- [15] 张玉玉. 中国传统面酱挥发性成分分析[D]. 北京: 北京工商
大学, 2010.
Zhang YY. Analysis of volatile compounds in Chinese traditional
fermented flour paste [D]. Beijing: Beijing Technology and
Business University, 2010.
- [16] 蒋美红, 刘煜宇, 念小魁, 等. 土耳其香料烟中关键组分的制
备及分析[J]. *精细化工*, 2010, 27(3): 248–253.
Jiang MH, Liu YY, Nian XK, *et al.* Preparation and analysis of
key components of Turkish tobacco [J]. *Fine Chem*, 2010, 27(3):
248–253.
- [17] Xie JC, Sun BG, Wang SB. Aromatic constituents from Chinese
traditional smoke-cured bacon of Mini-pig [J]. *Food Sci Technol
Int*, 2008, 14(4): 329–340.
- [18] 谢建平. 烟草香原料[M]. 北京: 化学工业出版社, 2009.
Xie JP. Tobacco flavour [M]. Beijing: Chemical Industry Press,
2009.
- [19] 武丹凤, 祁令凯, 姬小明. 金莲花糖苷酶解香味成分分析及单
料烟加香应用[J]. *精细化工*, 2013, 30(8): 902–905.
Wu DF, Qi LK, Ji XM. Analysis of aroma components of
glycosides from *trollius chinensis bunge* by enzymatic hydrolysis
and its application in unblended cigarette flavoring [J]. *Fine
Chem*, 2013, 30(8): 902–905.
- [20] Colledge A, Reid WW, Russell R. The diterpenoids of *Nicotiana*
species and their potential technological significance [J]. *Chem
Ind*, 1975, 13: 570–571.
- [21] Forrest G, Vilcins G. Determination of tobacco carotenoids by
resonance Raman spectroscopy [J]. *J Agric Food Chem*, 1979,
27(3): 609–612.
- [22] 刘国顺, 叶协锋, 王彦亭, 等. 不同钾肥施用量对烟叶香气成
分含量的影响[J]. *中国烟草科学*, 2004, 25(4): 1–4.
Liu GS, Ye XF, Wang YT, *et al.* Effect of different potassium
application rates on the contents of aroma constituents in
flue-cured tobacco [J]. *Chin Tobacco Sci*, 2004, 25(4): 1–4.
- [23] 韦凤杰, 刘国顺, 杨永锋, 等. 烤烟成熟过程中类胡萝卜素
变化及其降解香气物质关系[J]. *中国农业科学*, 2005, 38(9):
1882–1889.
Wei FJ, Liu GS, Yang YF, *et al.* Relations between carotenoids and
aromatic components from the carotenoids in flue-cured tobacco
(*Nicotinna tabacum L.*) leaves at different mature periods [J]. *Sci
Agric Sin*, 2005, 38(9): 1882–1889.
- [24] 杨君, 高宏建, 张献忠, 等. 烟草香味物质及其精油应用研究
进展[J]. *香料香精化妆品*, 2012, (3): 45–49.
Yang J, Gao HJ, Zhang XZ, *et al.* Advance in research of aroma
components and essential oils of tobacco [J]. *Flav Frag Cosmet*,
2012, (3): 45–49.
- [25] Kaneko H, Harada M. 4-Hydroxy- β -damascone and
4-hydroxydihydro- β -damascone from cigar tobacco [J]. *Agric
Biol Chem*, 1972, 36(1): 168–171.
- [26] 周冀衡, 王勇, 邵岩, 等. 产烟国部分烟区质体色素及主要挥
发性香气物质含量的比较[J]. *湖南农业大学学报(自然科学
版)*, 2005, 31(2): 128–132.
Zhou JH, Wang Y, Shao Y, *et al.* The comparison on the content
of chromoplast pigments and volatile aromatic materials of
flue-cured tobacco from domestic and abroad [J]. *J Hunan Agric
Univ (Nat Sci Ed)*, 2005, 31(2): 128–132.
- [27] Nugroho LH, Verpoorte R. Secondary metabolism in tobacco [J].
Plant Cell, Tissue Organ Cult, 2002, 68(2): 105–125.
- [28] 牛慧伟, 许自成, 苏永士, 等. 烟草茄酮的合成及其在基因型
和生态地区间的差异分析[J]. *安徽农业科学*, 2009, 37(26):
12527–12529.
Niu HW, Xu ZC, Su YS, *et al.* Synthesis of solanone in tobacco
and its difference analysis between different genotypes and
ecological areas [J]. *J Anhui Agric Sci*, 2009, 37(26):
12527–12529.
- [29] 孔宁川, 陈永宽, 杨伟祖, 等. 茄酮的合成及其在烟草中的应
用[J]. *云南化工*, 2002, 29(4): 4–6.
Kong NC, Chen YK, Yang WZ, *et al.* Synthesis on solanone and
its application in the tobacco flavoring [J]. *Yunnan Chem Technol*,
2002, 29(4): 4–6.
- [30] 毛多斌, 王家深, 贾晓春, 等. 茄酮及其降解产物在烟草加香

- 中的应用研究[J]. 郑州轻工业学院学报, 1998, 13(3): 6-9.
- Mao DB, Wang JS, Jia XC, *et al.* Study on the application of solanone and its degradation products in tobacco flavoring [J]. J Zhengzhou Inst Light Ind, 1998, 13(3): 6-9.
- [31] 王能如, 李章海, 王东胜, 等. 我国烤烟主体香味成分研究初报[J]. 中国烟草科学, 2009, 30(3): 1-6.
- Wang NR, Li ZH, Wang DS, *et al.* Preliminary Study on Principal Aroma and Flavor Constituents of Flue-cured Tobacco in China [J]. Chin Tobacco Sci, 2009, 30(3): 1-6.
- [32] 赵华武, 贺帆, 宫长荣, 等. 烤烟化学成分与主体香味成分的相关和通径分析[J]. 河南农业科学, 2012, 41(7): 42-47.
- Zhao HW, He F, Gong CR, *et al.* Correlation and path analysis for chemical composition and principal aroma and flavor constituents of flue-cured tobacco in China [J]. J Henan Agric Sci, 2012, 41(7): 42-47.
- [33] 李莉, 蔡君兰, 蒋锦锋, 等. 全二维气相色谱/飞行时间质谱法分析烟草挥发和半挥发性酸性成分[J]. 烟草科技, 2006, (5): 25-32.
- Li L, Cai JL, Jiang JF, *et al.* Analysis of volatile, semi-volatile acidic components in tobacco with comprehensive two dimensional gas chromatography/time of flight mass spectrometry [J]. Tobacco Sci Technol, 2006, (5): 25-32.
- [34] Anderson RC, Kelly AG, Roberts JS. Two new acidic constituents of flue-cured Virginia tobacco [J]. J Agric Food Chem, 1983, 31(1): 458-459.
- [35] 郭磊, 刘惠民, 谢复炜, 等. 烟叶中26种挥发性与半挥发性有机酸的 GC-MS/SIM 法同时分析[J]. 分析测试学报, 2008, 27(7): 739-743.
- Guo L, Liu HM, Xie FW, *et al.* Simultaneous determination of 26 volatile and semi-volatile organic acids in tobacco by GC-MS/SIM [J]. J Instrum Anal, 2008, 27(7): 739-743.
- [36] 陈飞钦, 曾千春, 宋春满, 等. 超声波提取-气相色谱/质谱联用分析烟叶中挥发性和半挥发性有机酸[J]. 分析科学学报, 2011, 27(1): 35-39.
- Chen FQ, Zeng QC, Song CM, *et al.* Simultaneous analysis of organic acids in tobacco by gas chromatography-mass spectrometry [J]. J Anal Sci, 2011, 27(1): 35-39.
- [37] 史宏志, 刘国顺, 杨惠娟, 等. 烟草香味学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2011.
- Shi HZ, Liu GS, Yang HJ, *et al.* Tobacco aroma science[M]. Beijing: China Agricultural Press, 2011.

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



曾士通, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为烟草化学。

E-mail: zengst@ztri.com.cn



张玉玉, 博士, 讲师, 主要研究方向为香料化学。

E-mail: zhangyy2@163.com