

红枣烤甜香特征成分的确定及制备工艺优化

杨鹏元^{1,2}, 洪广峰³, 张启东³, 徐秀娟³, 于建春⁴, 屈展³, 陈芝飞⁴, 王宏伟⁴,
王丁众³, 何保江³, 卢斌斌³, 张文娟³

1 北方民族大学材料科学与工程学院, 银川市西夏区文昌北路204号 750021;

2 郑州大学材料科学与工程学院, 河南省郑州市高新技术开发区科学大道100号 450001;

3 中国烟草总公司郑州烟草研究院, 郑州市高新技术开发区枫杨街2号 450001;

4 河南中烟工业有限责任公司技术中心, 郑州市管城区陇海东路72号 450000

摘要: 为开发烤甜香风格突出的红枣烟用香料, 利用卷烟感官作用评价、气相色谱 (GC)、气相色谱-质谱联用 (GC/MS) 等方法, 确定了红枣烤甜香特征组分及特征成分, 并以特征成分含量为指标对提取分离方法及主要工艺参数进行了优化。结果表明:

①红枣粗提物经大孔吸附树脂分离后得到的 30% (质量分数) 乙醇洗脱组分为烤甜香特征组分, 确定的 7 种烤甜香特征成分为 4-环戊烯-1,3-二酮、5-甲基糠醛、甲基环戊烯醇酮、4-羟基-2,5-二甲基-3(2H)-呋喃酮、麦芽酚、5-羟甲基糠醛和 2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4(H)-吡喃-4-酮 (DDMP)。②加热浸提法提取红枣的效果较好, 确定的工艺参数为乙醇浓度 65%、料液质量比 1:5、提取温度 60 ℃、提取时间 1.5 h、提取 2 次; 膜分离工艺参数为超滤膜截留分子量 8 kD 和料液干物质含量 3%。③采用优化确定的方法制备的红枣烤甜香特征香料中 7 种特征成分总量明显高于市售的红枣提取物和红枣粗提物, 且基本不含蛋白质、果胶等大分子物质, 其试验卷烟烟气的烤甜香香韵更加突出。

关键词: 烟用香料; 红枣提取物; 卷烟; 感官作用评价; 烤甜香香韵; 气相色谱-质谱 (GC/MS); 膜分离; 香味成分

引用本文: 杨鹏元, 洪广峰, 张启东, 等. 红枣烤甜香特征成分的确定及制备工艺优化 [J]. 中国烟草学报, 2016, 22(6)

在食品科学领域, 感官导向分析是从成分复杂的体系中寻找关键香气或味觉成分的有效方法^[1-4]。在烟用香料研究领域, 以卷烟感官作用评价为导向, 在分离过程中定位能够增加烟气某种香韵、味觉或改善抽吸舒适度 (降低刺激等) 的特征组分, 对于简化和聚焦研究对象, 探索化学成分与烟气特定感官特征之间的关系, 以及优化天然香料的制备工艺具有重要意义。烤甜香韵是介于烘焙香和甜香之间的一种香韵, 是卷烟香气的重要组成部分。国内外研究学者已先后从烟气冷凝物和烟叶中分离发现了麦芽酚 (Maltol)、菠萝酮 (Furaneol)、甲基环戊烯醇酮 (Cyclotene)、5-甲基糠醛 (5-Methyl furfural) 等数种具有烤甜香的成分^[5-8]。红枣提取物 (包括酊剂及浸膏) 作为一种广泛使用的烟用香料, 能够与烟草香吻合、协调一致, 具有增加烤甜香、改善吸味的作用。国内香料企业制备

红枣提取物大多是采用传统的低度乙醇加热萃取法, 这种方法存在的主要问题是: ①提取过程中部分天然香味成分损失, 产品香气较弱; ②产品中除香味成分外, 主要成分为糖类 (多糖及单糖、二糖等)、蛋白质、果胶等物质, 部分成分对卷烟感官质量有不利影响。近年来, 有研究利用酶技术^[9-10]、微生物发酵技术^[10]、美拉德反应^[11-12] 等对传统的红枣提取物进行增香、产香处理, 在一定程度上丰富了红枣提取物的香韵, 增加了香味成分的含量^[13]。但是, 所得产品的烤甜香香韵并不突出, 而且其中仍然含有一定量的蛋白质、果胶、多糖等大分子物质, 这些物质在卷烟燃吸过程中会裂解产生一些有害成分, 增加卷烟抽吸的刺激性和杂气^[14-15]。目前, 对卷烟烟气烤甜香有直接贡献的红枣烤甜香特征香料研究报道较少。因此, 采用卷烟感官作用导向分析方法, 筛查红枣提取物中

基金项目: 国家烟草专卖局增香保润重大专项项目“凸显‘醇香’风格的天然植物靶向提取技术研究” (110201301029)、“天然香料关键成分感官因子分析研究” (110201301026); 中国烟草总公司郑州烟草研究院院长科技发展基金项目“适用于电子烟的枣、麦芽香气特征组分的制备工艺研究” (422015CA0230)

作者简介: 杨鹏元 (1982—), 博士研究生, 讲师, 主要从事材料性能及工艺研究, Tel: 0951-2067861, Email: hmilme@nun.edu.cn

通讯作者: 张文娟 (1982—), Tel: 0371-67672511, Email: zwjch@163.com

收稿日期: 2016-01-04

的烤甜香特征成分,并以特征成分的含量为指标优化红枣的提取和分离精制工艺,以制备红枣烤甜香特征香料,并为烟用天然香料特征成分的剖析和精细化加工提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂和仪器

2014年河南新郑红枣(市售干枣);红枣提取物(购自开封河大雅盛香精香料有限公司);以“黄金叶(百年浓香)”叶组为基础设计的空白卷烟(河南中烟工业有限责任公司提供)。

糠醛、麦芽酚、5-羟甲基糠醛、甲基环戊烯醇酮(纯度 $\geq 99\%$, J&K公司);5-甲基糠醛(纯度 $\geq 99\%$)、糠醇(纯度 $\geq 98\%$)、4-环戊烯-1,3-二酮(纯度 $\geq 95\%$)、4-羟基-2,5-二甲基-3(2H)-呋喃酮(纯度 $\geq 99\%$)(Sigma-Aldrich公司); γ -丁内酯(纯度99%, Acros Organics公司); γ -巴豆酰内酯(纯度 $\geq 93\%$, TCI公司);无水乙醇(色谱纯, Merck公司);95%乙醇(AR, 天津市科密欧化学试剂有限公司);蒸馏水(广州屈臣氏食品饮料有限公司);D101大孔吸附树脂(国药集团化学试剂有限公司);二甲醚(纯度 $\geq 99\%$, 濮阳龙宇化工有限公司);高纯氮气(河南科益气体股份有限公司)。

7890B气相色谱仪(配FID检测器)、7890A-5975C气相色谱-质谱联用仪(美国Agilent公司);ALPHA 1-2 LD plus冻干机(德国Christ冻干机有限公司);小型切向膜分离系统, 0.22 μm PVDF微滤膜(50 cm^2), 5、8和10 kD的Polyethersulfone超滤膜(50 cm^2)(美国Millipore);CPA225D电子分析天平(感量0.00001 g, 德国Sartorius公司);V-850旋转蒸发仪(瑞士Büchi公司);TGL18M高速低温离心机(长沙英泰仪器有限公司);CBE-5L型亚临界提取装置(河南省亚临界生物技术有限公司);HF-5B超声循环提取机(北京弘祥隆生物技术开发有限公司);CIJECTOR卷烟加香注射机(德国Burghart公司)。

1.2 方法

1.2.1 红枣烤甜香特征成分的确定

1.2.1.1 红枣粗提物的制备

将红枣洗净、去核,于40℃烘烤2 h,粉碎。取一定量枣粉,按料液质量比1:5加入95%(体积分数,下同)乙醇,于70℃下提取2 h,共提取两次。合并提取液,减压浓缩至干,得红棕色红枣粗提物。

1.2.1.2 粗提物的大孔吸附树脂分离

称取500 g红枣粗提物,用D101大孔吸附树脂

层析柱分离,依次用蒸馏水和10%、30%、50%、70%、95%乙醇洗脱,各流分分别浓缩至干,得到6种红枣粗提物分离组分,编号1~6号。

1.2.1.3 烤甜香特征组分的确定及定性分析

取红枣粗提物(0号,用量为50 mg/kg)及1~6号分离组分(用量为20 mg/kg),分别进行卷烟感官作用评价,能够明显增加卷烟烟气烤甜香香韵的组分即为红枣烤甜香特征组分。

称取0.5 g真空冷冻干燥后的红枣烤甜香特征组分样品,加入2.5 mL 0.5200 mg/mL丙酸苯乙酯(内标)的乙醇溶液,超声30 min后用有机相微孔滤膜过滤,进行GC/MS分析。分析条件为:

色谱柱:HP-5MS(60 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μm);载气:He, 99.999%;流速:1.0 mL/min;进样口温度:280℃;进样模式:分流进样,分流比5:1;进样量:1 μL ;升温程序:50℃(2 min) $\xrightarrow{4^\circ\text{C}/\text{min}}$ 280℃(20 min);传输线温度:250℃;离子源:EI;电子能量:70 eV;离子源温度:230℃;四极杆温度:150℃;扫描模式:全扫描;质量扫描范围:33~500 amu;溶剂延迟:7 min。利用NIST11和Wiley谱库,以匹配度高于85%者定性,并与标准物质进行比对。

1.2.1.4 烤甜香特征成分的确定及定量分析

根据红枣烤甜香特征组分的定性分析结果,购买据文献报道有烤甜香或焦香、烘焙香的香味成分,或虽无报道但其分子结构与之相似的成分的标准品。分别对每种物质分别进行卷烟感官作用评价,在提升烟气烤甜香方面作用显著的化合物即为烤甜香特征成分。

采用内标标准曲线法对6种购买到标准品的烤甜香特征成分进行准确定量;对未购买到标准品的DDMP,利用与其结构相近的麦芽酚的标准曲线半定量分析。配制质量浓度为0.3 mg/mL的苯甲酸苄酯乙醇溶液作内标萃取液;分别称取一定量的6种标准品,用内标萃取液配制标准溶液储备液及8个质量浓度系列标准工作溶液。采用与1.2.1.3节中相同的气相色谱条件,检测器为FID(氢火焰离子化检测器),空气和氢气流量分别为400和35 mL/min。

1.2.2 红枣烤甜香特征香料的制备工艺优化

1.2.2.1 提取方法考察

采用加热浸提、超声波辅助提取和亚临界萃取等3种方法分别对红枣粉进行提取。①加热浸提法。操作同1.2.1.1节。②超声波辅助提取法。称取适量红枣粉,加入95%乙醇,用循环超声提取机提取。超声频率59 kHz,功率1500 W,搅拌转速1300 r/min,提取总时间40 min,超声时间/间隔时间3 s/1 s,

料液质量比 1:10。③亚临界萃取法。萃取溶剂为二甲醚(夹带剂为 95% 乙醇),料溶比为 1:10,萃取温度为 45℃,每次萃取 20 min,共萃取 4 次。

3 种方法制备的提取物冷冻干燥后分别用内标萃取液配制成 50 mg/mL 溶液进行 GC 分析。根据 3 种提取物的 GC 检测和卷烟感官作用评价结果,确定适宜的提取方法。

1.2.2.2 提取工艺参数优化

根据 1.2.2.1 节的考察结果,以 7 种烤甜香特征成分的含量为指标,对加热浸提法的主要工艺参数进行单因素考察。主要考察乙醇浓度(55%、65%、75%、85% 和 95%)、提取温度(40、50、60、70 和 80℃)、提取时间(0.5、1.0、1.5、2.0 和 2.5 h)和料液质量比(1:2、1:3、1:4、1:5 和 1:6)对提取物中 7 种烤甜香成分含量的影响。

1.2.2.3 分离工艺参数优化

按照 1.2.2.2 节优化确定的提取工艺对红枣进行提取,将提取液浓缩至干物质含量(质量分数)约为 8%,离心后取上清液,用 0.22 μm 微滤膜过滤,收集透过液;进一步过超滤膜,泵压 0.15 MPa,收集超滤透过液,真空冷冻干燥。通过单因素实验考察超滤膜孔径(截留分子量 5、8 和 10 kD)和料液干物质含量(1.0%、1.5%、2.0%、2.5%、3.0% 和 3.5%)对超滤透过液中烤甜香特征成分含量、膜通量以及特征成分透过率的影响。

膜通量的计算公式: $J=\Delta V/(S\times\Delta t)$

式中: J —膜通量, L/(m²·h); ΔV —取样时间内透过液体积, L; S —膜面积, m²; Δt —取样时间, h。

特征成分透过率的计算公式:

$T_i=m_{2d}\times c_{i2}/(m_1\times C_{dm}\times c_{i1})\times 100$

式中: T_i —化合物 i 的超滤膜透过率, %; m_{2d} —超滤透过液的干物质质量, g; c_{i2} —冻干的超滤透过液中化合物 i 的含量(以干基计), mg/g; m_1 —超滤前料液质量, g; C_{dm} —超滤前料液的干物质含量, %; c_{i1} —超滤前料液中化合物 i 的含量(以干基计), mg/g。

1.2.2.4 提取物中蛋白质、果胶含量测定

按照 GB 5009.5—2010《食品中蛋白质的测定》中第一法测定红枣提取物中蛋白质的含量。采用重量法^[6]测定红枣提取物中果胶的含量。

1.2.3 卷烟感官作用评价

采用 50% 乙醇溶液将待评价样品溶解并配制成质量分数为 1% 的溶液,采用卷烟加香注射机向每支空白卷烟中注射 4 μL(加香量为 0.005%)。参比卷烟为注射等量 50% 乙醇溶液的空白卷烟。加香后的样品卷烟和参比卷烟分别密封存储,并于 (22±1)℃、相对湿度 (60±3)% 条件下平衡 48 h。参考 YC/T 497—2014《中式卷烟风格感官评价方法》,并在其基础上香气风格指标增加“烤甜香”。评价小组由 10 位以上获得国家烟草专卖局卷烟感官评吸技术合格证书的专业人员组成,最终结果取所有评委打分的平均值。

2 结果与讨论

2.1 红枣烤甜香特征成分的确定

2.1.1 红枣粗提物大孔树脂分离组分的卷烟感官作用评价结果

红枣粗提物中含有大量糖类成分,采用大孔吸附树脂柱层析分离的方法,可依据化合物极性和分子尺寸差异将糖类成分和大分子物质与香味成分分离,从而聚焦其中的烤甜香特征成分。6 种红枣粗提物洗脱组分的卷烟烟气特性和香气风格评价结果如表 1 所示。

表 1 红枣粗提物不同洗脱组分的卷烟感官作用评价结果^①

Tab.1 Sensory evaluation results of different eluted fractions of crude jujube extract

分

卷烟样品	烟气特性				香气风格 ^②									
	香气	丰富性	烟气浓度	劲头	烤烟烟香	清香	果香	辛香	木香	青滋香	膏香	烘焙香	甜香	烤甜香
参比	8.00	7.50	8.00	5.00	8.00	1.50	1.50	0.50	0.50	0.50	0.50	1.50	2.00	3.00
0	8.20	7.77	8.13	5.07	8.02	1.43	1.70	0.43	0.50	0.50	0.63	1.73	2.33	3.20
1	8.10	7.63	8.07	5.00	8.00	1.27	1.67	0.43	0.50	0.47	0.50	1.70	2.50	3.30
2	8.27	7.87	8.27	4.93	8.03	1.53	1.70	0.43	0.50	0.50	0.50	1.77	2.50	3.37
3	8.33	7.93	8.20	5.07	8.00	1.30	1.73	0.50	0.50	0.47	0.57	1.83	2.53	3.43
4	8.27	7.86	8.27	4.93	8.00	1.40	1.67	0.50	0.50	0.50	0.57	1.80	2.43	3.20
5	8.10	7.87	8.13	5.00	8.00	1.33	1.70	0.50	0.57	0.50	0.63	1.70	2.30	3.07
6	8.07	7.77	8.13	4.93	7.97	1.37	1.63	0.50	0.57	0.50	0.70	1.53	2.30	2.93

注: ① 0~6 号分别为添加红枣粗提物, 蒸馏水及 10%、30%、50%、70%、95% 乙醇洗脱流分的样品卷烟。

② 香气风格中“晾晒烟烟香、花香、药草香、豆香、可可香、奶香”分值均为 0.00。

由表 1 可知, 30% 乙醇洗脱组分在提扬烤甜香方面作用显著, 且在香气、丰富性及烟气浓度方面也表现较好, 优于粗提物。因此, 确定红枣提取物的烤甜香特征组分为红枣粗提物过大孔树脂柱 30% 乙醇洗脱组分。

2.1.2 红枣烤甜香特征组分的定性分析结果

红枣烤甜香特征组分 GC/MS 分析结果如图 1 和表 2 所示。表 2 显示, 由红枣烤甜香特征组分中鉴定出 14 种香味成分, 主要为呋喃类、呋喃酮类、吡喃酮类、环戊烯酮类和内酯类化合物。其中, 麦芽酚、甲基环戊烯醇酮、4- 羟基 -2,5- 二甲基 -3(2H)- 呋喃酮、4- 环戊烯 -1,3- 二酮、糠醛、糠醇、5- 甲基糠醛、5- 羟甲基糠醛和 DDMP 等物质是卷烟烟气中的固有成分^[8]。麦芽酚、甲基环戊烯醇酮和 4- 羟基 -2,5- 二甲基 -3(2H)- 呋喃酮具有典型的烤甜香气息^[8, 17]; 糠醛、5- 羟甲基糠醛、5- 甲基糠醛和糠醇是食品发生焦糖化反应或美拉德反应的主要产物, 具有焦糖样、发酵的香韵, 或略有烤甜香韵^[8, 17-18]; 4- 环戊烯 -1,3- 二酮

有刺鼻气味, 稀释后略显甜香^[8]; 己醛在低浓度时有水果样的特有香气和味道^[17]; γ - 丁内酯有弱的黄油的香气, 类似奶油的味道^[17]; DDMP 无香气^[8, 19]。5- 羟基麦芽酚和 2,4- 二羟基 -2,5- 二甲基 -3(2H)- 呋喃 -3- 酮无标准品, 且未检索到有关其香气描述的报道。

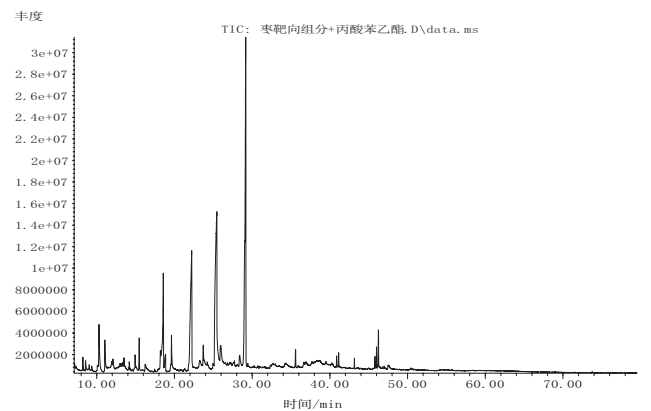


图 1 红枣烤甜香特征组分的 GC/MS 总离子流图

Fig.1 Total ion chromatogram of roasted sweet aroma characteristic fraction of jujube by GC/MS

表 2 红枣烤甜香特征组分的主要香味成分

Tab.2 Major aroma components in roasted sweet aroma characteristic fraction of jujube

序号	保留时间 /min	化合物名称	峰面积 $\times 10^7$	匹配度 /%
1	9.20	己醛 / Caproaldehyde	7.1	86
2	10.29	糠醛 / Furfural	57.8	96
3	11.19	糠醇 / Furfuryl alcohol	21.5	98
4	12.08	4- 环戊烯 -1,3- 二酮 / 4-Cyclopentene-1,3-dione	6.3	85
5	13.23	γ - 丁内酯 / 1,4-Butyrolactone	2.3	87
6	13.29	γ - 巴豆酰内酯 / γ -Crotonolactone	5.1	89
7	14.96	5- 甲基糠醛 / 5-Methylfurfural	9.6	91
8	15.56	2,4- 二羟基 -2,5- 二甲基 -3(2H)- 呋喃 -3- 酮 / 2,4-Dihydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furan-3-one	12.0	85
9	17.50	甲基环戊烯醇酮 / 2-Hydroxy-3-methyl-2-cyclopenten-1-one	1.2	93
10	18.98	4- 羟基 -2,5- 二甲基 -3(2H)- 呋喃酮 / 4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone	16.5	87
11	20.88	麦芽酚 / Maltol	0.7	96
12	22.35	2,3- 二氢 -3,5- 二羟基 -6- 甲基 -4(H)- 吡喃 -4- 酮 / 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4(H)-pyran-4-one (DDMP)	159.0	93
13	23.80	5- 羟基麦芽酚 / 3,5-Dihydroxy-2-methyl-4(H)-pyran-4-one	13.7	93
14	25.70	5- 羟甲基糠醛 / 5-Hydroxymethylfurfural	422.0	86

上述 14 种香味成分中，有些成分的嗅香直接表现出烤甜香，有些尽管不直接表现出烤甜香韵，但在卷烟燃吸时能够增加烟气烤甜香。因此，本研究中结合卷烟感官评价的粗评结果，选择其中 9 种物质 (糠醛、糠醇、4- 环戊烯 -1,3- 二酮、 γ - 巴豆酰内酯、5- 甲基糠醛、甲基环戊烯醇酮、4- 羟基 -2,5- 二甲基 -3(2H)- 呋喃酮、麦芽酚和 5- 羟甲基糠醛) 进行了细致评价，结果表明：4- 环戊烯 -1,3- 二酮、5- 甲基糠醛、甲基环戊烯醇酮、4- 羟基 -2,5- 二甲基 -3(2H)- 呋喃酮、麦芽酚和 5- 羟甲基糠醛等 6 种香味成分的提扬烟气烤甜香作用显著。DDMP 虽未购买到标准品，

但它是 Maillard 反应的重要产物之一，据文献^[20]报道，DDMP 能够使卷烟的嗅香甜感增加，抽吸时焦甜香增加且与烟香协调。因此，以这 7 种香味成分为特征成分进行制备工艺研究。

2.1.3 7 种烤甜香特征成分的工作曲线

对 8 个浓度梯度的标准工作溶液进行 GC 分析，以各特征成分与内标的浓度比值为横坐标 (x)，以各特征成分与内标的峰面积比值为纵坐标 (y)，得到相应的工作曲线 (表 3)。由表 3 可知，各特征成分的回归方程线性较好，适合于定量分析。

表 3 红枣烤甜香特征成分的工作曲线
Tab.3 Standard curves of roasted sweet aroma characteristic components of jujube

序号	保留时间 /min	化合物	标准曲线	R^2	线性范围 /(mg/mL)
1	15.0	4- 环戊烯 -1,3- 二酮	$y = 1.6037x + 0.6817$	0.9970	0.0658~0.7901
2	17.9	5- 甲基糠醛	$y = 2.4443x + 0.1356$	0.9979	0.0521~0.6250
3	20.5	甲基环戊烯醇酮	$y = 1.7935x + 0.0412$	0.9945	0.0150~0.1802
4	21.9	4- 羟基 -2,5- 二甲基 -3(2H)- 呋喃酮	$y = 2.8131x + 0.4922$	0.9969	0.1140~1.3680
5	23.8	麦芽酚	$y = 2.3437x + 0.108$	0.9974	0.0075~0.1800
6	25.5	DDMP ^①	$y = 2.3437x + 0.108$	0.9974	0.0075~0.1800
7	28.8	5- 羟甲基糠醛	$y = 2.1672x + 6.6056$	0.9994	1.9970~23.9645

注：① DDMP 采用与其结构相近的麦芽酚的标准曲线进行定量。

2.2 红枣烤甜香特征香料的制备工艺优化

2.2.1 3 种提取方法的比较

由 3 种方法制备的红枣提取物中烤甜香特征成分含量 (质量分数) 的定量结果 (表 4) 可知，亚临界萃取法得到的红枣提取物中烤甜香特征成分的含量高于循环超声提取法和加热浸提法，而后两者中烤甜香特

征成分的含量相当。但是，亚临界萃取法的提取率较低，仅为 11%，且该方法的生产成本较高。3 种方法所得红枣提取物的卷烟感官作用评价结果 (表 5) 表明，由加热浸提法得到的红枣提取物提扬烤甜香的效果最佳，而且在改善烟气特性方面的效果较好。因此，选择加热浸提法。

表 4 3 种红枣提取物中 7 种烤甜香特征成分的测定结果
Tab.4 Results of seven roasted sweet aroma characteristic components of three jujube extracts

化合物	特征成分含量 /(mg/g)		
	亚临界萃取法	循环超声提取法	加热浸提法
4- 环戊烯 -1,3- 二酮	1.80	1.34	1.86
5- 甲基糠醛	1.01	1.12	0.98
甲基环戊烯醇酮	0.23	0.15	0.47
4- 羟基 -2,5- 二甲基 -3(2H)- 呋喃酮	3.36	2.08	2.89
麦芽酚	0.21	0.18	0.42
DDMP	9.48	6.45	9.02
5- 羟甲基糠醛	53.67	48.74	44.60
总量	69.75	60.07	60.23
提取率	11%	32%	36%

表 5 3 种红枣提取物的卷烟感官作用评价结果
Tab.5 Sensory evaluation results of three jujube extracts

卷烟样品	烟气特性				香气风格 ^①									
	香气	丰富性	烟气浓度	劲头	烤烟烟香	清香	果香	青滋香	花香	豆香	膏香	烘焙香	甜香	烤甜香
参比	7.86	7.57	7.50	5.14	7.86	1.71	0.79	0.50	0.43	0.07	0.64	1.36	1.57	2.14
加热浸提法	8.29	8.07	7.71	5.14	8.00	1.64	1.07	0.36	0.36	0.07	0.93	1.71	1.92	3.21
超声提取法	8.14	7.79	7.57	5.07	8.00	1.57	1.14	0.36	0.43	0.07	0.86	1.71	1.86	3.07
亚临界萃取法	8.07	7.86	7.71	5.14	8.00	1.64	1.07	0.50	0.43	0.00	0.93	1.64	1.86	3.00

注：①香气风格中“晾晒烟烟香、药草香、可可香、奶香”分值均为 0.00；“辛香、木香”分值均为 0.50。

2.2.2 加热浸提法工艺参数的优化

红枣加热浸提时 4 个主要影响因素的考察结果(图 2) 表明：①乙醇浓度对红枣提取物中烤甜香成分含量有较大影响，在 55%、65%、75%、85% 和 95% 等 5 个乙醇浓度下，所得红枣提取物中 7 种烤甜香特征成分的总量分别为 46.54、50.23、50.03、54.05 和 59.85 mg/g，提取率分别为 55%、56%、55%、52% 和 36%。当乙醇浓度为 95% 时，红枣提取物中烤甜香特征成分总量最高，但其提取率较低，仅为 36%；乙醇浓度为 65% 时，红枣中烤甜香特征成分的总提取量最高，综合考虑工业生产成本，选择 65% 乙醇为提取溶剂。②随着提取温度的升高，红枣提取物中多数烤甜香特征成分含量呈先增加后降低趋势，且 7

种成分总量在提取温度 60 ℃时最高。因此，选择提取温度为 60 ℃。③随着提取时间的延长，7 种烤甜香成分的总量呈先增加后降低趋势，当时间为 1.5 h 时，总量达到最大值。因此，选择提取时间为 1.5 h。④在料液质量比从 1:2 增大到 1:5 的过程中，提取物中特征成分总量呈缓缓增加趋势，这是因为随着料液质量比的增大，溶液黏度降低，物质扩散阻力减小，有利于特征成分的溶出；当料液质量比为 1:5 时，特征成分含量达到最大值；料液质量比进一步增大时，其他成分的溶出量可能增加，导致特征成分的相对含量降低。因此，综合考虑原料成本、时间成本和能耗，选择料液质量比为 1:5。

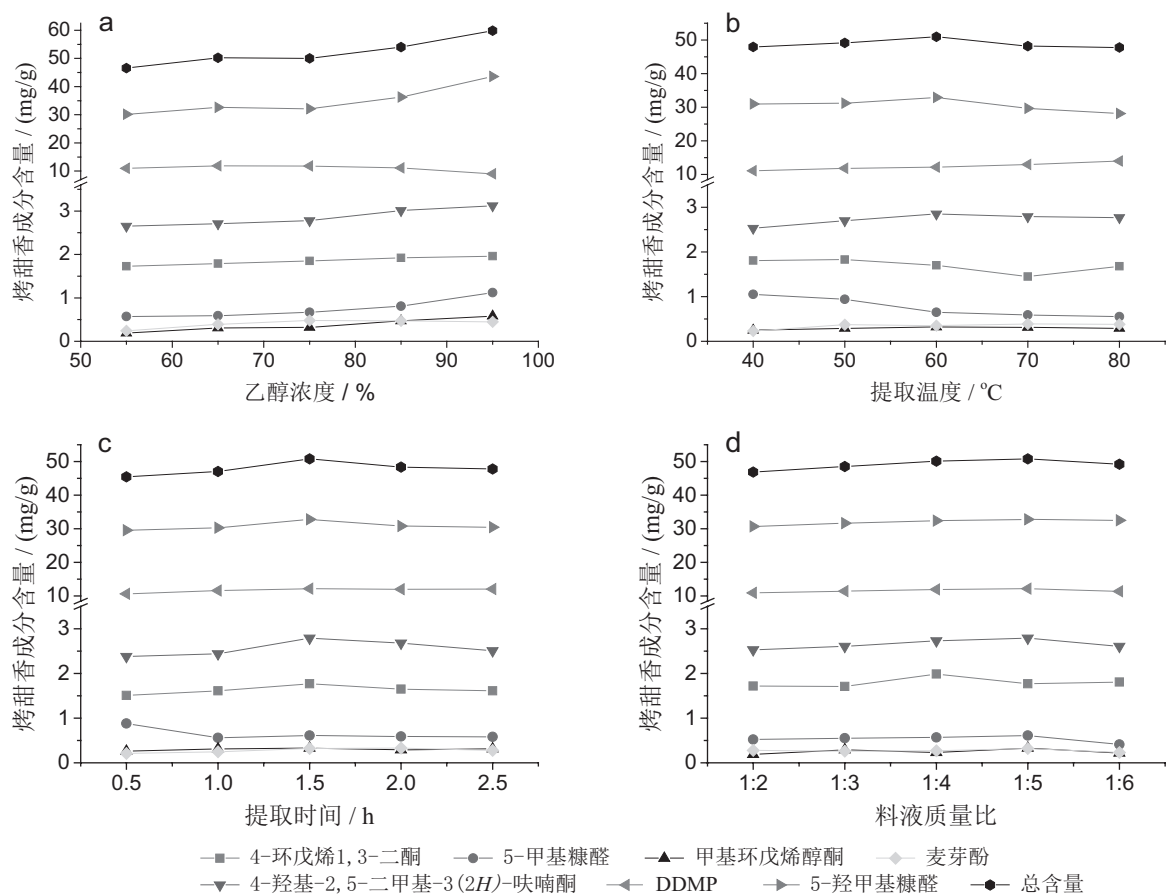


图 2 不同因素对红枣提取物中烤甜香特征成分含量的影响

Fig.2 Effects of different factors on contents of roasted sweet aroma characteristic components in jujube extracts

2.2.3 红枣提取物膜分离工艺参数的选择

红枣提取物中含有较多的果胶、蛋白质、多糖等对卷烟感官不利的成分，采用膜分离中的超滤技术能有效去除这些物质，实现对红枣提取物的精制纯化，达到富集烤甜香特征成分的目的。在红枣提取物的膜分离工艺中，超滤膜孔径（截留分子量）对红枣提取物中果胶、蛋白质等杂质的去除效果有直接影响，并影响膜分离生产工艺中的一个重要指标——膜通量，而膜通量与实际生产的能耗、时间成本等密切相关。此外，料液的干物质含量对膜通量也有直接影响，是另一个重要影响因素。因此，本实验中重点考察了超滤膜孔径和待分离料液的干物质含量这两个因素。

1) 超滤膜孔径。在料液干物质含量和泵压一定时，选用 3 种截留分子量的超滤膜进行膜分离试验，结果 (图 3) 表明：选用 5 kD 超滤膜时，特征成分的总透过率 (超滤透过液中特征成分的总量与超滤前料液中的比值) 最低，透过液中特征成分的相对含量也较低。

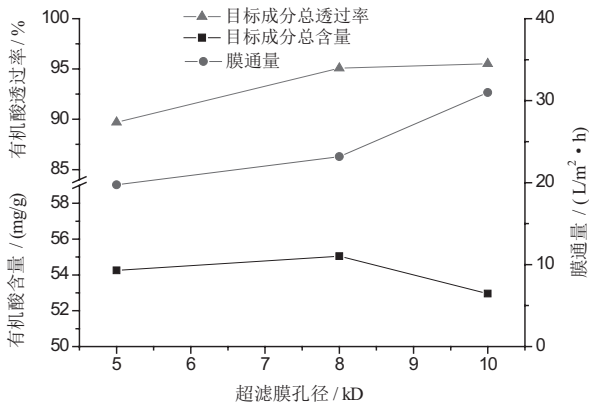


图 3 超滤膜孔径对膜通量、特征成分透过率和透过液中特征成分含量 (以干基计) 的影响

Fig.3 Effects of ultrafiltration membrane's pore size on membrane flux, transmittancy of characteristic components, and contents (dry basis) of characteristic components in transmitted solution

这是因为 5 kD 膜孔径较小，截留物质的总量较多，部分特征成分被大分子物质携裹而截留，导致其透过

率较低。反之，10 kD 膜孔径较大，透过物质的总量最多，导致透过液中特征成分的相对含量较低。而 8 kD 膜孔径适中，特征成分的总透过率与 10 kD 相差不大，透过液中特征成分的相对含量最高。此外，随着膜孔径的增大，膜通量呈现增大趋势。膜通量与生产能耗、时间成本等密切相关，膜通量太小，则耗时长，所需的能耗也更大。综合考虑，选择膜孔径 8 kD。

2) 料液干物质含量。选用 8 kD 超滤膜，在泵压一定时，考察料液干物质含量对超滤效果的影响。结果 (图 4) 表明：超滤透过液中特征成分的总量 (以干基计)，随着料液干物质含量的增大呈现先增加后降低的趋势，并在料液干物质含量为 3% 时达到最大值。特征成分总透过率，在料液干物质含量从 1% 增加到

3% 时，由 94.06% 逐渐下降至 92.14%，之后随料液干物质含量的进一步增大而迅速下降。主要原因是随着料液干物质含量的增加，膜表面污染逐渐加重，导致膜的透过能力下降，更多的大分子物质被截留，有利于除去更多杂质成分；但是，随着料液干物质含量的继续升高 (超过 3% 时)，膜表面的浓差极化增大^[21]，膜材料凝胶层加厚，膜污染速度加快，导致一些小分子目标成分也被膜组件截留或被大分子物质携裹而截留，从而损失较多的目标成分。此外，膜通量随着料液干物质含量的增大而逐渐减小。综合考虑，选择料液干物质含量 3%。

红枣提取物膜分离精制前蛋白质和果胶含量分别为 2.95 g/100 g 和 0.63 g/100 g (干基计)，超滤后蛋白质、果胶均未检出，超滤后溶液颜色由深红色变为浅黄色，说明超滤对除去蛋白质、果胶、大分子色素等物质效果显著。

采用优化的提取分离工艺制备红枣烤甜香特征香料的得率为 37.91% (干基计)，其中 7 种烤甜香成分总含量为 63.46 mg/g。

2.3 方法验证结果

采用优化确定的方法制备红枣烤甜香特征香料，并与市售的红枣提取物以及本实验中制备的红枣粗提取物比较。

2.3.1 红枣烤甜香特征成分含量对比

采用 1.2.1.4 节方法测定 3 种红枣提取物中烤甜香成分的含量。结果 (表 6) 表明：红枣烤甜香特征香料中烤甜香特征成分的含量最高，其次是红枣粗提取物，两者烤甜香成分含量均明显高于市售的红枣提取物。

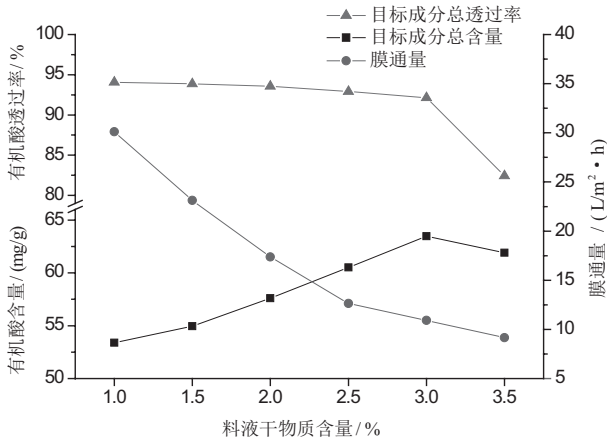


图 4 料液干物质含量对膜通量、特征成分透过率和透过液中特征成分含量 (以干基计) 的影响

Fig.4 Effects of dry matter content in jujube extract on membrane flux, transmittancy of characteristic components, and contents (dry basis) of characteristic components in transmitted solution

表 6 3 种红枣提取物中烤甜香特征成分的含量对比

Tab.6 Content comparison of roasted sweet aroma characteristic components in three jujube extracts

化合物	特征成分含量 /(mg/g)		
	市售的红枣提取物	红枣粗提物	红枣烤甜香特征香料
4- 环戊烯 -1,3- 二酮	1.18	1.79	2.85
5- 甲基糠醛	0.92	0.59	1.46
甲基环戊烯醇酮	0.27	0.31	0.56
4- 羟基 -2,5- 二甲基 -3(2H)- 呋喃酮	2.70	2.71	3.97
麦芽酚	0.26	0.39	0.34
DDMP	4.43	11.83	12.56
5- 羟甲基糠醛	26.84	32.61	41.72
总量	36.58	50.23	63.46

2.3.2 卷烟感官作用评价结果对比

分别对 3 种红枣提取物进行卷烟感官作用评价 (添加量均为 50 mg/kg), 结果 (表 7) 表明: ①在香气和丰富性方面, 红枣烤甜香特征香料优于市售的红枣提取物和红枣粗提物; 在烟气浓度和劲头方面, 三

者差别不大。②在香气风格方面, 红枣烤甜香特征香料提扬烤甜香韵效果最好, 较市售红枣提取物和红枣粗提物分别提升了 0.25 分和 0.20 分。可见, 通过提取和分离工艺的优化, 所得红枣烤甜香特征香料中的香味成分更加集中, 感官作用更加明显。

表 7 添加 3 种红枣提取物的试验卷烟感官作用评价结果

Tab.7 Sensory evaluation results of three test cigarettes

分

卷烟样品	烟气特性				香气风格 ^①								
	香气	丰富性	烟气浓度	劲头	烤烟烟香	清香	果香	辛香	奶香	膏香	烘焙香	甜香	烤甜香
参比	8.00	7.50	8.00	5.00	8.00	1.50	1.50	0.50	0.00	0.50	1.50	2.00	3.00
市售的红枣提取物	8.20	7.77	8.14	5.07	8.00	1.52	1.80	0.50	0.57	0.73	1.68	2.14	3.18
红枣粗提物	8.23	7.77	8.07	5.00	8.02	1.43	1.73	0.43	0.00	0.68	1.73	2.3	3.23
红枣烤甜香特征香料	8.34	7.91	8.14	5.00	8.00	1.37	1.68	0.50	0.00	0.64	1.83	2.45	3.43

注: ①香气风格中“晾晒烟烟香、花香、药草香、豆香、可可香”分值均为 0.00; “木香、青滋香”分值均为 0.50。

3 结论

基于大孔吸附树脂分离、卷烟感官作用评价、GC 和 GC/MS 分析等方法, 确定了红枣提取物中对增加卷烟烟气烤甜香香韵有直接贡献的 4- 环戊烯 -1,3- 二酮、4- 羟基 -2,5- 二甲基 -3(2H)- 呋喃酮、DDMP 等 7 种感官特征成分。以这些特征成分的含量为指标, 通过红枣提取和分离精制工艺参数优化, 建立了一种烟用香料红枣烤甜香特征香料的制备方法。采用本方法制备的红枣烤甜香特征香料中特征成分总量明显高于红枣粗提物和市售的红枣提取物, 且蛋白质、果胶等对卷烟感官不利的成分被有效去除; 添加该烤甜香特征香料的样品卷烟烟气烤甜香韵更加突出。本研究结果为烟用天然香料特征组分的研究开发提供了一种工业可行的方法参考, 并对“烤甜香”风格卷烟产品的开发有潜在的应用价值。

参考文献

[1]

GREGER V, SCHIEBERLE P. Characterization of the key aroma compounds in apricots (*Prunus armeniaca*) by application of the molecular sensory science concept [J]. *J Agric Food chem*, 2007, 55(13): 5221-5228.

[2]

STEINHAUS P, SCHIEBERLE P. Characterization of the key aroma compounds in soy sauce using approaches of molecular sensory science [J]. *J Agric Food chem*, 2007, 55(15): 6262-6269.

[3]

DUNKEL A, HOFMANN T. Sensory-directed identification of β -alanyl dipeptides as contributors to the thick-sour and white-meaty orosensation induced by chicken broth [J]. *J Agric Food chem*, 2009, 57(21): 9867-9877.

[4]

SONNTAG T, KUNERT C, DUNKEL A, et al. Sensory-guided identification of *N*-(1-Methyl-4-oxoimidazolidin- 2-ylidene)- α -amino acids as contributors to the thick-sour and mouth-drying orosensation of stewed beef juice [J]. *J Agric Food chem*, 2010, 58(10): 6341-6350.

[5]

MATSUKURA M, TAKAHASHI K, ISHIGURO S, et al. Composition of Semivolatiles from Roasted Tobacco [J]. *Agric Biol Chem*, 1983, 47(10): 2281-2285.

[6]

MATSUKURA M, TAKAHASHI K, KAWAMOTO M, et al. Comparison of Roasted Tobacco Volatiles with Tobacco Essential Oil and Cigarette Smoke Condensate [J]. *Agric Biol Chem*, 1985, 49(3): 711-718.

[7]

上海烟草集团有限责任公司. 一种卷烟主流烟气中弱酸性香味成分的分离方法及应用: 中国, 201210043052.8 [P]. 2012-07-18.

[8]

张启东, 刘俊辉, 柴国璧, 等. 主流烟气颗粒物水溶性组分中烤甜香成分分析 [J]. *烟草科技*, 2014, (6): 54-59.
ZHANG Qidong, LIU Junhui, CHAI Guobi, et al. Analysis of components with roasted sweet aroma in water-soluble portion of mainstream cigarette smoke particulate matter [J]. *Tobacco Science & Technology*, 2014, (6): 54-59.

[9]

天宁香料(江苏)有限公司. 一种复合酶解制备红枣香精的方法及得到的红枣香精: 中国, 201210208684.5 [P]. 2012-09-26.

[10]

毛多斌, 张峻松, 贾春晓, 等. 生物法制备天然枣香料 [J]. *精细与专用化学品*, 2002, (10): 20, 19.
MAO Duobin, ZHANG Junsong, JIA Chunxiao, et al. Preparation of natural perfume of jujube by biotechnology [J]. *Fine and Specialty Chemicals*, 2002, (10): 20, 19.

[11]

黄龙, 朱巍, 程志昆, 等. 红枣提取物的 Maillard 反应制备烟用香料的研究 [J]. *湖北农业科学*, 2011, 50(8): 1673-1676.
HUANG Long, ZHU Wei, CHENG Zhikun, et al. Research on Maillard reaction product of *Ziziphus jujuba* extract and its application in tobacco [J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2011, 50(8): 1673-1676.

- [12] 朱智志, 廖新成, 李光照, 等. 大枣浸膏的 Maillard 反应及其在烟草中应用研究 [J]. 安徽农学通报, 2008, 14(7): 40-42.
ZHU Zhizhi, LIAO Xincheng, LI Guangzhao, et al. Maillard reaction of date concrete and its application in tobacco [J]. Anhui Agricultural Science Bulletin, 2008, 14(7): 40-42.
- [13] 张峻松, 贾春晓, 戴勇, 等. 天然枣香料香味成分的分析及在卷烟中的应用 [J]. 烟草科技, 2003, (3): 28-31.
ZHANG Junsong, JIA Chunxiao, DAI Yong, et al. Analysis of flavor components in chinese date extract and its application in cigarettes [J]. Tobacco Science & Technology, 2003, (3): 28-31.
- [14] 宋鹏. 微生物发酵降低卷烟烟气中有害成分及提高卷烟质量的研究 [D]. 西安: 西北大学, 2008.
SONG Peng. Study on the reduction of harmful components in smoke aerosol and the quality improvement of tobacco through fermentation by microorganisms [D]. Xi'an: Northwest University, 2008.
- [15] 池敬姬, 王艳丽. 烟叶主要化学指标及其评吸质量间的相关性分析 [J]. 延边大学农学学报, 2006, 28(3): 208-210.
CHI Jingji, WANG Yanli. Correlative analysis on the main chemical components and smoking quality of tobacco leaves [J]. Journal of Agricultural Science Yanbian University, 2006, 28(3): 208-210.
- [16] 董洁, 郭立玮, 文红梅, 等. 中药水提液中果胶含量测定方法研究 [J]. 现代中药研究与实践, 2007, 21(5): 39-41.
DONG Jie, GUO Liwei, WEN Hongmei, et al. Study on the content of pectin in Chinese herbal decoction [J]. Research and Practice of Chinese Medicines, 2007, 21(5): 39-41.
- [17] 谢剑平. 烟草香原料 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2009: 420, 417, 418, 146, 407.
- [18] 张玉玉, 宋弋, 李全宏. 食品中糠醛和 5-羟甲基糠醛的产生机理、含量检测及安全性评价研究进展 [J]. 食品科学, 2012, 33(05): 275-280.
ZHANG Yuyu, SONG Yi, LI Quanhong. A review on formation mechanism, determination and safety assessment of furfural and 5-hydroxymethylfurfural (HMF) in foods [J]. Food Science, 2012, 33(05): 275-280.
- [19] KIM M O, BALTES W. On the Role of 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4(H)-pyran-4-one in the Maillard Reaction [J]. J. Agric. Food Chem. 1996, 44: 282-289.
- [20] 徐华军, 陈良元, 徐迎波, 等. Maillard 反应生成 DDMP 的影响因素 [J]. 烟草科技, 2014, (2): 29-32.
XU Huajun, CHEN Liangyuan, XU Yingbo, et al. Factors influencing DDMP synthesis in Maillard reaction [J]. Tobacco Science & Technology, 2014, (2): 29-32.
- [21] 原超, 范三红, 林勤保, 等. 超滤、纳滤技术分离大枣功效成分的研究 [J]. 食品科技, 2012, 37(2): 102-107.
YUAN Chao, FAN Sanhong, LIN Qinbao, et al. Separation of function component of jujube dates by ultrafiltration and nanofiltration membranes [J]. Food Science and Technology, 2012, 37(2): 102-107.

Determination of roasted sweet aroma component in red jujube extract and optimization of its extraction technology

YANG Pengyuan^{1,2}, HONG Guangfeng³, ZHANG Qidong³, XU Xiujuan³, YU Jianchun⁴, QU Zhan³, CHEN Zhifei⁴,
WANG Hongwei⁴, WANG Dingzhong³, HE Baojiang³, LU Binbin³, ZHANG Wenjuan³

1 School of Materials Science and Engineering, Beifang University of Nationalities, Yinchuan 750021, China;

2 College of Materials Science & Engineering, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China;

3 Zhengzhou Tobacco Research Institute, China National Tobacco Corporation, Zhengzhou 450001, China;

4 Technology Center, China Tobacco Henan Industrial Co., Ltd., Zhengzhou 450000, China

Abstract: In order to develop tobacco flavor with prominent style of roasted sweet aroma from jujube, the characteristic fractions and components with roasted sweet aroma of jujube extract were determined by sensory evaluation, gas chromatography (GC), gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). Preparation methods and main parameters were optimized by using contents of characteristic components as index. Results showed that: 1) The fraction of jujube extract eluted by 30% of ethonal solution was significant in roasted sweet aroma note. The identified seven aroma components with characteristic note of roasted sweet aroma were 4-cyclopentene-1,3-dione, 5-methylfurfural, cyclotene, 4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone, maltol, 5-hydroxymethylfurfural and 2,3-dihydro-3,5-hydroxy-6-methyl-4(H)-4-one (DDMP), respectively. 2) Heat extraction method was better for jujube, with optimal preparation process parameters as follows: ethanol concentration 65%, sample/solvent ratio 1 : 5, extraction temperature 60℃ and extraction time 1.5h. The optimized process parameters of membrane separation were: ultrafiltration membrane with molecular weight cut off 8 kD and dry matter content of jujube extract 3%. 3) The total content of seven characteristic aroma components in jujube flavor obtained by optimal extraction and separation methods was significantly higher than that of commercially available jujube extract and crude extract. Jujube flavor did not contain protein and pectin which would produce unpleasant cigarette flavor. The roasted sweet aroma note of test cigarette with addition of jujube characteristic flavor was more prominent than other two cigarette samples.

Keywords: tobacco flavor; jujube extract; cigarette; sensory evaluation; roasted sweet aroma note; gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS); membrane separation; aroma component

Citation: Yang Pengyuan, Hong Guangfeng, Zhang Qidong, et al. Determination of roasted sweet aroma component in red jujube extract and optimization of its extraction technology[J]. Acta Tabacaria Sinica, 2016, 22(6)