

烤烟不同叶位叶片有机酸含量的差异分析

景延秋¹ 张欣华¹ 刘剑君² 杨宇熙³ 李广良⁴ 张红立¹ 金磊⁵ 李怀奇⁶

(1. 河南农业大学 烟草学院 河南 郑州 450002; 2. 郑州市烟草公司 河南 郑州 450002; 3. 河南省烟草公司 河南 郑州 450008; 4. 漯河市烟草公司 河南 漯河 462009; 5. 济源市烟草公司 河南 济源 454650; 6. 河南中烟工业公司 河南 郑州 450000)

摘要: 采用硫酸甲酯化前处理 结合气相色谱-质谱 (GC/MS) 分离分析技术 研究了烤烟不同叶位叶片 (L8-L12, 即从底部第 8 位叶向上到第 12 位叶) 有机酸含量的差异。GC/MS 定量分析结果表明: 烤烟不同叶位叶片中, 苹果酸、 γ -戊酮酸、柠檬酸、丙二酸、乙二酸、亚麻酸和软脂酸含量相对较高, 是烤烟中主要的有机酸成分; 并且不同叶位叶片有机酸、苹果酸与其他有机酸含量差异明显; 不同叶位叶片有机酸总量表现为: $L8 > L9 > L12 > L10 > L11$; L8-L12 叶片中, 非挥发性有机酸、高级饱和脂肪酸、高级不饱和脂肪酸总量分别在有机酸总量中所占比例范围是: 88.49% ~ 94.38% 3.01% ~ 5.10% 2.61% ~ 6.40%。不同叶位叶片有机酸含量差异分析结果表明: L10 和 L12 位叶有机酸含量适中, 具有优质、高档烟原料的特质。

关键词: 烤烟; 叶位; 有机酸; 差异分析

中图分类号: S572.03 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2011)04-0111-04

Difference Analysis of the Nonvolatile Organic Acids and Higher Organic Acids of the Different Leaf Position in Flue-cured Tobacco

JING Yan-qiu¹, ZHANG Xin-hua¹, LIU Jian-jun², YANG Yu-xi³, LI Guang-liang⁴,
ZHANG Hong-li¹, JIN Lei⁵, LI Huai-qi⁶

(1. College of Tobacco, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China; 2. Zhengzhou Tobacco Company, Zhengzhou 450002, China; 3. Henan Tobacco Company, Zhengzhou 450008, China; 4. Luohe Tobacco Company, Luohe 462009, China; 5. Jiyuan Tobacco Company, Jiyuan 454650, China; 6. Henan Tobacco Industrial Company, Zhengzhou 450000, China)

Abstract: The pre-treatment of sulfuric acid methyl ester with gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) analysis techniques was utilized to study the difference of the organic acid content in different flue-cured tobacco leaf (L8-L12: from the bottom of the eighth leave up to the twelfth leave) and its influence on fluecured tobacco quality. The results showed that malic acid, γ -e ketone acid, citric acid, malonic acid, linolenic acid and palmitic acid had a higher content relatively in different flue-cured tobacco leaves and they were the main acidic components, what's more, the difference between organic acids, malic acid and other organic acids content in different leaf was significantly obvious. The difference of total organic acids content from the eighth to the twelfth leave was $L8 > L9 > L12 > L10 > L11$; The content proportion ranges of non-volatile acid, senior saturated fatty acid and senior unsaturated fatty acid in total organic acids were 88.49% - 94.38% 3.01% - 5.10% and 2.61% - 6.40%, respectively. The difference analysis of organic acids content in different leaf position indicated that the organic acids content in the eighth and twelfth leaves was moderate and they could be considered as the superior and slap-up tobacco raw materials.

Key words: Flue-cured tobacco; Leaf position; Organic acid; Variance analysis

有机酸是烟草叶片的重要组成部分,主要是指除氨基酸以外的有机酸,其种类繁多,含量差异大,

收稿日期: 2011-04-23

基金项目: 河南省烟草专卖局资助项目 (HYKJ200701; HYKJ200909)

作者简介: 景延秋 (1972-), 女, 河南南阳人, 博士, 副教授, 硕士生导师, 主要从事烟草化学研究。

烟叶达到工艺成熟调制后,可占烟叶干物质总含量的 12%~16%^[1,2]。烟叶中有机酸主要包括低级脂肪酸、高级脂肪酸及非挥发性的二元酸、三元酸。在烟叶中这三类酸含量依次升高,非挥发性的二元酸和三元酸可占成熟调制后烟叶干物质总量的 10% 左右^[3]。在研究工作中,常把有机酸分为挥发性酸、半挥发性酸和非挥发性酸。半挥发性酸是指 C_{10} 以上的酸,为生成油脂的高级脂肪酸。高级脂肪酸又可分为高级饱和脂肪酸和高级不饱和脂肪酸。

有机酸不仅在烟草生长过程中起着重要作用,而且对烟叶和卷烟的质量有着重要影响:挥发性有机酸能增进烟叶和烟气的香气,降低烟气的碱性,减少刺激性,使气味变得醇和^[4-6];非挥发性有机酸主要影响气味,可调节烟气酸性,中和游离碱,使吸味醇和,在烟气中起平衡作用^[7-9]。目前,对烟草有机酸的研究主要集中在农艺措施调控^[10-18]、植物营养机理^[19]、不同生态地区的差异比较^[20]以及调制处理^[21-23]等方面,而对不同叶位叶片有机酸含量差异的研究较少。为此,在前人研究的基础上,从烤烟不同叶位叶片入手,进行有机酸含量差异分析,以期对卷烟生产中合理利用各种烤烟原料进行叶组配方研究提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

供试烤烟品种为 NC89。试验田土壤为砂质土,土壤肥力中等,pH 值 6.45,土壤有机质含量 15.4 g/kg,碱解氮、速效磷和速效钾含量分别为 49.79 mg/kg、8.42 mg/kg 和 139.73 mg/kg;N、 P_2O_5 、 K_2O 质量比为 1:1:3.5;基追肥比例为 85:15。

1.2 试验设计

试验于 2007-2008 年在许昌市襄城县试验田进行,于 4 月 25 日移栽,行距 120 cm,株距 50 cm。田间种植管理按照烟草种植标准化操作规程进行。从试验田选取生长整齐一致的烟株挂牌标记,当从下部起第 8 至第 12 叶位叶片(分别以 L8、L9、L10、L11、L12 表示)正常成熟时,分别采收烟叶 5 竿,统一置于烤房,按照烤房配套“三段式”烘烤工艺烘烤,取烤后烟样研磨后过筛(孔径为 0.38 mm)。

1.3 有机酸测定方法

1.3.1 有机酸的前处理 准确称取 1.000 g 烟样于干燥的 100 mL 具塞磨口锥形瓶中,用定量加液器加入内标己二酸(10 mg/mL)溶液 500 μ L,加入 10% (V/V) 硫酸-甲醇溶液 25 mL,低速机械振荡过夜,然后过滤到装有 50 mL 蒸馏水的 250 mL 梨形分

液漏斗中,轻轻摇匀,用二氯甲烷萃取 3 次,每次用量为 15 mL。二氯甲烷萃取液加适量无水硫酸钠干燥过夜。最后把二氯甲烷溶液浓缩至 1 mL,加入己二酸作为内标,然后进行 GC/MS 分析。

1.3.2 GC/MS 分析条件 GC 分析条件:假定相对校正因子为 1,采用己二酸作内标进行定量,以 HP-5 (60 m \times 0.25 mm, i. d. \times 0.25 μ m d. f.) 为色谱柱;以 He 为载气,流量为 0.8 mL/min;进样口温度为 250 $^{\circ}$ C;初始温度 40 $^{\circ}$ C 保持 2 min,以 8 $^{\circ}$ C/min 升到 240 $^{\circ}$ C,保持 15 min;采用不分流进样,进样量为 1 μ L。用质谱仪作为检测器,MS 分析条件为:传输线温度为 280 $^{\circ}$ C;离子源温度为 177 $^{\circ}$ C;电子轰击(EI)源,70 eV 全扫描;质量数范围为 35~500 amu;MS 谱库是 NIST02。

2 结果与分析

经 GC/MS 分析,最终鉴定出了 21 种酸性成分,并通过质谱仪进行了定量分析(有标样的进行了回收率试验加以校正,无标样的以回收率为 100% 计算)。试验所得有机酸成分见表 1。

从表 1 可知,总体上,L8-L12 叶片中测得的所有有机酸、苹果酸、 γ -戊酮酸、柠檬酸、丙二酸、乙二酸、亚麻酸和软脂酸含量相对较多,L8-L12 叶片所含以上 7 种有机酸的总量分别占有机酸总量的 97.02%、95.53%、96.76%、97.64%、96.35%,是烤烟有机酸中含量最大的 7 种酸性成分;而 β -甲基戊酸、己二酸、2-乙酰基-2-烯-丁二酸、壬二酸和 γ -戊酮酸的含量极少,尤其是壬二酸和 γ -戊酮酸,在 L9、L11、L8 叶片中的含量很少。

2.1 不同叶位叶片中非挥发性有机酸含量分析

非挥发性有机酸虽然没有明显的香气,但它们具有减轻烟草的刺激性,使吸味醇和,增加烟气浓度的作用。非挥发性有机酸能与烟草生物碱结合形成盐,调节质子比和游离态烟碱比例^[24]。在卷烟燃烧过程中,非挥发性有机酸通过平衡烟气的酸碱度影响烟气的吸味和香气质量,是烤烟中重要的酸性潜香型成分。

由表 1 可知,不同叶位叶片中非挥发性有机酸在总有机酸中所占比例最大,从 L8-L12 依次为 92.48%、88.49%、92.47%、94.38%、90.90%。其中第 11 叶位叶片中非挥发性有机酸含量最低,但所占比例是最高的。其中,不同叶位叶片中,苹果酸含量最大,占非挥发性有机酸总量的 67.85%~73.61%;其次是柠檬酸,占非挥发性有机酸总量的 5.3%~7.27%,其差异表现与苹果酸相同。

从 L8 到 L12 叶位叶片中,苹果酸、柠檬酸、异柠檬酸、和 2-甲基-2-羟基-丁二酸含量在不同叶位之间均呈现先降后升交替的现象;丙二酸的含量呈现出先降后升的趋势;乙二酸和 γ -戊酮酸的含量呈现出先升后降又上升的趋势;丁二酸和延胡索酸呈现先轻微上升然后下降的趋势;壬二酸含量甚微。

2.2 不同叶位叶片中高级脂肪酸含量分析

高级脂肪酸在烟叶陈化过程中可通过酶或非酶

作用降解转化成低分子的致香成分,是烟叶重要的香气前体物^[7]。高级饱和脂肪酸可赋予烟气蜡味、脂味以及柔和的气味,并且某些高级脂肪酸的甲酯、乙酯具有突出的芳香气味^[25],而高级不饱和脂肪酸及其甲酯在热裂解过程中,易形成己醛、己烯等具强烈刺激性和杂气的物质,增加烟气刺激性和粗糙感^[25]。因此,适当高含量的饱和脂肪酸和低含量的不饱和脂肪酸有利于优质烟叶的形成。

表 1 烤烟不同叶位叶片非挥发性有机酸和高级脂肪酸的含量

Tab.1 The nonvolatile organic acids and higher organic acids content in different leaf position of flue-cured tobacco $\mu\text{g/g}$

| 种类 Kind | 酸性成分 Acidic components | 叶位 Leaf position | | | | |
|--|---------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| | | L8 The eighth leaf | L9 The ninth leaf | L10 The tenth leaf | L11 The eleventh leaf | L12 The twelfth leaf |
| 非挥发性有机酸 Nonvolatile organic acids | 乙二酸 | 1.814 | 1.983 | 1.592 | 1.624 | 1.713 |
| | 丙二酸 | 2.122 | 2.018 | 1.849 | 1.688 | 2.166 |
| | γ -戊酮酸 | 5.337 | 6.064 | 4.728 | 5.856 | 5.254 |
| | 丁二酸 | 0.082 | 0.093 | 0.099 | 0.078 | 0.064 |
| | 苹果酸 | 35.790 | 29.170 | 31.780 | 23.780 | 30.590 |
| | 柠檬酸 | 3.210 | 2.421 | 3.159 | 1.857 | 2.818 |
| | 异柠檬酸 | 0.089 | 0.064 | 0.108 | 0.050 | 0.083 |
| | 延胡索酸 | 0.088 | 0.089 | 0.057 | 0.058 | 0.058 |
| | 2-甲基-2-羟基-丁二酸 | 0.079 | 0.055 | 0.073 | 0.055 | 0.073 |
| | 壬二酸 | 0.007 | 0.000 | 0.010 | 0.000 | 0.006 |
| | 总计 Total | 48.618 | 41.957 | 43.455 | 35.046 | 42.825 |
| 高级饱和脂肪酸 High saturated fatty acids | 十四酸 | 0.075 | 0.090 | 0.095 | 0.057 | 0.076 |
| | 软脂酸 | 1.585 | 2.001 | 1.497 | 0.968 | 1.517 |
| | 14-甲基十六酸 | 0.021 | 0.036 | 0.022 | 0.010 | 0.021 |
| | 十七碳酸 | 0.025 | 0.032 | 0.025 | 0.012 | 0.024 |
| | 硬脂酸 | 0.168 | 0.260 | 0.149 | 0.071 | 0.193 |
| | 总计 | 1.874 | 2.419 | 1.788 | 1.118 | 1.831 |
| 高级不饱和脂肪酸 Polyunsaturated fatty acids | 亚油酸 | 0.626 | 0.925 | 0.585 | 0.321 | 0.765 |
| | 油酸 | 0.304 | 0.475 | 0.299 | 0.164 | 0.355 |
| | 亚麻酸 | 1.149 | 1.636 | 0.868 | 0.485 | 1.337 |
| | 总计 | 2.079 | 3.036 | 1.752 | 0.970 | 2.457 |
| 有机酸总量 Total | | 52.571 | 47.412 | 46.995 | 37.134 | 47.113 |

2.2.1 不同叶位叶片中高级饱和脂肪酸含量分析

由表 1 可知,L8-L12 叶片中各种高级饱和脂肪酸的含量表现出一致的规律性:十四酸、软脂酸、14-甲基十六酸、十七碳酸和硬脂酸的含量均呈现出先升高后降低,最后在第 12 位叶又突然升高的趋势,第 9 位叶含量最大;高级饱和脂肪酸占对应有机酸总量的比例分别为 3.56%、5.10%、3.80%、3.01%、3.89%。

2.2.2 不同叶位叶片中高级不饱和脂肪酸含量分析

由表 1 可知,L8-L12 叶片中,高级不饱和脂肪酸与高级饱和脂肪酸表现出相同的变化规律:亚油

酸、油酸和亚麻酸的含量呈现出先升后降,到第 12 叶位又升高的趋势,在 L9 位叶达到峰值;高级不饱和脂肪酸含量占对应有机酸总量的百分比分别为 3.95%、6.40%、3.73%、2.61%、5.22%。

3 结论与讨论

烤烟不同叶位有机酸差异分析表明,L8-L12 叶片中,有机酸总量随着叶位的升高而呈现降低的趋势,至 L11 叶片达到最低,之后到 L12 又升高,差异大小表现为:L8>L9>L12>L10>L11。在卷烟中加料时常加入有机酸,以改善卷烟香气和吃味^[12]。

本试验中烤烟不同叶位叶片有机酸含量的差异分析结果,为卷烟加香加料,尤其是有机酸的使用提供了参考依据。

另外, L8-L12 叶片中,非挥发性有机酸含量占有有机酸总量的 88.49%~94.38%,含量差异大小表现为 L11>L8>L10>L12>L9。非挥发性有机酸对调整烟气酸性、醇和吃味的平衡作用发挥了主导作用。也有研究表明,非挥发性有机酸含量过高会使烟气中残留物增加,辛辣刺喉或涩口滞舌,余味不净,口感不适^[26]。苹果酸在非挥发性有机酸,甚至所有有机酸中含量最高,对调节烟气 pH 值,平和烟气,改进吸味,尤其对高烟碱烟草起到了良好作用。结果表明,苹果酸在各叶位中的含量差异表现为: L8>L10>L12>L11>L9。

不同叶位叶片中,高级饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸含量变化表现出相同的规律,高级饱和脂肪酸含量占有有机酸总量的 3.01%~5.10%,含量差异表现为: L9>L12>L10>L8>L11,高级不饱和脂肪酸含量差异表现为: L9>L12>L8>L10>L11。

综上所述, L8 叶片中各酸性成分含量相对较高, L11 叶片则相反, L10 和 L12 叶片中有机酸含量相对适中,具有作为优质、高档烟主要原料的内在潜质。

参考文献:

- [1] 烟草化学与分析编写组. 烟草化学与分析[M]. 北京: 中国财政经济出版社, 1992.
- [2] 王瑞新. 烟草化学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003.
- [3] Andrew G Kallianos. Phenolics and acids in leaf and their relationship to smoking quality and aroma [J]. Rec Adv Tob Sci, 1977, 3: 61-79.
- [4] 张槐荃, 葛翠英, 穆怀静, 等. 烟草分析与检验[M]. 郑州: 河南科学技术出版社, 1994.
- [5] Smeeton B W. Genetic control of tobacco quality [J]. Rec Tob Sic, 1987, 13: 3-27.
- [6] Kallianos A G. Phenolics and acids in leaf and their relationship to smoking quality and aroma [J]. Rec Adv Tob Sic, 1976, 2: 61-79.
- [7] 史宏志, 刘国顺. 烟草香味学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 31.
- [8] Layten D, Davis Mark, Nielsen T. 烟草——生产、化学和技术[M]. 国家烟草专卖局科技教育司和中国烟草科技信息中心组织译. 北京: 化学工业出版社, 2003.
- [9] Abadallah F. Can Tobacco Quality be Measured [M]. New York: Publishing Co, 1970.
- [10] 韩锦峰, 史宏志, 王彦亭, 等. 不同氮量和氮源的烟叶高级脂肪酸含量及其与香吃味的关系[J]. 作物学报, 1998, 24(1): 125-128.
- [11] 武雪萍, 刘国顺, 朱凯, 等. 施用有机酸对烟草生理特性及烟叶化学成分的影响[J]. 中国烟草学报, 2003, 9(2): 23-27.
- [12] 武雪萍, 刘国顺, 彭华伟, 等. 有机、无机肥不同配比对烤烟中有机酸的影响[J]. 华北农学报, 2003, 18(1): 97-99.
- [13] 朱凯, 段凤云, 李志明, 等. 不同用量苹果酸对烟叶中非挥发性有机酸的影响[J]. 昆明师范高等专科学校学报, 2005, 27(4): 25-28.
- [14] 何登峰, 许仪, 许自成, 等. 农艺措施和调制条件对烟草香气物质含量的影响[J]. 中国农学通报, 2006, 22(4): 199-202.
- [15] 许自成, 张婷, 马国华, 等. 不同调控措施对烤烟质体色素及其降解产物的影响[J]. 河南农业大学学报, 2006, 40(1): 15-17.
- [16] 许自成, 黄平俊, 苏富强, 等. 不同采收方式对烤烟上部叶内在品质的影响[J]. 西北农林科技大学学报, 2005, 33(11): 13-17.
- [17] 杜君, 介晓磊, 刘世亮, 等. 有机酸对烤烟生长发育及生理代谢的影响[J]. 河南农业科学, 2008(2): 35-38.
- [18] 王永, 叶协锋, 谢小波, 等. 翻压绿肥对烤烟叶片有机酸含量的影响[J]. 河南农业科学, 2009(1): 34-38.
- [19] 庞荣丽, 介晓磊, 谭金芳. 低分子量有机酸对不同合成磷源的释磷效应[J]. 河南农业科学, 2006(1): 64-67.
- [20] 程昌新, 卢秀萍, 许自成, 等. 基因型和生态因素对烟草香气物质含量的影响[J]. 中国农学通报, 2005, 21(11): 137-139.
- [21] 李炎强, 胡有持, 宗永立, 等. 烤烟陈化过程中挥发性、半挥发性脂肪酸和 pH 的变化研究[J]. 香料香精化妆品, 2004(3): 21-24.
- [22] 韩锦峰, 朱大恒, 官春云. 烟叶自然陈化过程中高级脂肪酸及有关生化特性动态变化的研究[J]. 中国烟草学报, 1998, 4(1): 9-14.
- [23] 官长荣, 汪耀富, 赵铭钦, 等. 不同成熟度和烘烤处理对烟叶中 C₁₂、C₂₀ 脂肪酸含量的影响[J]. 河南农业大学学报, 1996, 30(1): 37-40.
- [24] 杨忠乔, 虞爱旭, 侯镜德, 等. 气相色谱-质谱联用法分析烟丝中有机酸成分[J]. 分析测试技术与仪器, 2003(1): 38-42.
- [25] 周正红, 高孔荣, 张水华. 烟草中化学成分对卷烟香味品质的影响及研究进展[J]. 烟草科技, 1996(7): 222-251.
- [26] 张槐荃. 烟草分析与检验[M]. 郑州: 河南科学技术出版社, 1994.