

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2016.03.015

国内外品牌卷烟中的糖类和多元醇的 HPLC 法同时测定

Determination of sugars and polyols in domestic and imported cigarette brands with high performance liquid chromatography

郭磊¹ 苏加坤¹ 罗娟敏¹ 徐达¹
GUO Lei¹ SU Jia-kun¹ LUO Juan-min¹ XU Da¹
邵灯寅¹ 宋诗清² 范灵慧² 陆惠俊²
SHAO Deng-yin¹ SONG Shi-qing² FAN Ling-hui² LU Hui-jun²

(1. 江西中烟工业有限责任公司技术中心, 江西 南昌 330096; 2. 上海应用技术学院香料香精技术与工程学院, 上海 201418)
(1. Research and Development Centre, China Tobacco Jiangxi Industrial Co., LTD., Nanchang, Jiangxi 330096, China;
2. Department of Biology and Food Engineering, Shanghai Institute of Technology, Shanghai 201418, China)

摘要:采用 Hi-Plex 钙型强阳离子交换柱, 以超纯水为流动相、示差折光仪为检测器, 在进样量 15 μ L、流速 0.4 mL/min、柱温 80 $^{\circ}$ C 的条件下建立了高效液相色谱法同时测定烟草中的果糖、葡萄糖、麦芽糖、蔗糖和甘油、丙二醇、山梨醇的方法。结果表明, 该方法检测限、回收率、相对标准偏差分别在 1.5 ~ 2.0 mg/L、97% ~ 108%、0.89% ~ 1.39%。同时, 利用该方法对 13 种国内外品牌卷烟进行分析, 结果发现所有卷烟样品中均检出了丙二醇和果糖、葡萄糖、麦芽糖、蔗糖, 而仅在中国产卷烟 1 和 C 牌号进口卷烟中检出丙三醇的存在, 表明大部分卷烟基本上不用甘油作保润剂。同时发现进口卷烟不同价位间所使用保润剂比例不同, 其配方保润剂的设计思路可能充分考虑了烟叶类型的差异, 值得深入探讨。

关键词: 高效液相色谱法; 糖; 多元醇; 卷烟; 品牌

Abstract: High performance liquid chromatography (HPLC) was developed to detect fructose, glucose, maltose, sucrose, glycerol, propylene glycol and sorbitol in tobacco. Samples were separated in Hi-Plex Ca cation ion exchange column with ultra pure water as mobile phase, refractive index detector as detector, and injection volume 15 μ L, velocity of 0.4 mL/min, column temperature 80 $^{\circ}$ C. The results show that the recoveries of sugars and polyols ranged from 97% to 108% with RSD of 0.89% ~ 1.39% in the limit of detection of 1.5 ~ 2.0 mg/L. Meanwhile, Thirteen domestic and imported cigarette brands were analyzed by using this method. Results indicate that the propylene glycol, fructose, glucose, maltose and sucrose were detected in all cigarettes, while glycerol detected only in domestic cigarette No. 1 and imported brand series C, this means that most cigarettes did not use glycerol as humectant. And it was found that imported brand series with two different prices use different proportions of glycerol and propylene glycol. Thus, the humectant formula of imported cigarette may give full consideration in tobacco leaf type, and it maybe worth exploring.

Keywords: high performance liquid chromatography; sugar; humectant; cigarette; brand

保润剂的使用是烟草行业内改善卷烟保润性能的主要手段, 中国卷烟工业中主要采用甘油、丙二醇、山梨醇等多羟基物质(多元醇)为保润剂。同时, 此类保润剂的使用, 对于维持烟丝在加工过程中水分含量、提高烟丝的耐加工性也起到至关重要的作用。这些成分的准确测定对了解不同卷烟样品中保润剂的使用情况、烟用香精与料液品质控制, 以及配方研究与生产工艺条件确定, 都具有十分重要的意义。

对烟草多元醇类保润成分的分析手段有多种, 在烟草标准 YC/T 244-2008 烟草及烟草制品中 1,2-丙二醇、丙三醇和山梨醇的高效液相色谱法为醇类保润成分的分析检测提供了一定的依据; 中国烟草标准 YC/T 243-2008 和 YC/T 242-2008 提供了烟用香精中乙醇、丙三醇和 1,2-丙二醇的气相色谱测定方法。陈章玉等^[1-4]报道了利用高效液相色谱对烟草或料液中保润剂的测定方法, 张杰等^[5-7]利用 GC-MS 方法测定了烟草中的保润剂。

糖是影响烟草香味、吃味及焦油释放量的重要因素之一, 烟草自身含 40% 左右的碳水化合物, 主要为葡萄糖、果

基金项目: 江西中烟工业有限责任公司技术创新项目(编号: 赣烟工科技 2014-03)

作者简介: 郭磊, 男, 江西中烟工业有限责任公司工程师, 硕士。

通讯作者: 苏加坤(1981-), 男, 江西中烟工业有限责任公司工程师, 博士。E-mail: sujiakun@126.com

收稿日期:

糖、蔗糖、麦芽糖、纤维素和果胶^[8]。同时,在卷烟加工工程中,葡萄糖、果糖、还原糖(葡萄糖和果糖的混合物)和蔗糖常被用作风味成分和保润剂添加至烟草中^[9]。有关烟草中糖的测定方法包括离子色谱法^[10]和高效液相色谱法(HPLC)^[11]等。

目前还未见卷烟产品中糖类和多元醇同时测定方法的报道,本研究在借鉴其他研究者对烟草中糖和保润剂测定方法的基础上,对采用 HPLC 法同时分析糖类和多元醇的柱温、流动相流速和进样量等条件进行了进一步优化,建立了对国内外不同品牌卷烟中糖类和多元醇的同时测定方法。

1 材料与方法

1.1 主要仪器和试剂

高效液相色谱仪:LC-10AT vp plus 型,日本岛津公司;
强阳离子交换柱(7.8 mm × 300 mm):Hi-Plex 钙型,美国安捷伦;
示差折光检测器,RID-10A 型,日本岛津公司;
多功能脱色摇床,ZHWY-304 型,上海智城分析仪器制造有限公司;
蒸馏水:市售;
蔗糖、麦芽糖、葡萄糖、果糖、甘油、丙二醇和山梨醇标准样品:纯度≥99%,美国 Sigma 公司;
Sep-Pak-C₁₈固相萃取小柱:美国 WATERS 公司;
进口卷烟样品:烤烟型卷烟购于台湾市场;
其他品牌国产卷烟:烤烟型卷烟购于上海烟草专卖店。

1.2 样品前处理

分别准确称取 3.0 g 烟丝,加入 50 mL 蒸馏水,室温下震荡 60 min(110 r/min),过滤,弃去初滤液,取 10 mL 样品滤液,以 10 mL/min 的流速通过预活化好的 Sep-Pak-C₁₈ 固相萃取小柱后(小柱活化:15 mL 乙醇以 10 mL/min 的流速通过小柱,再用 30 mL 的蒸馏水以相同流速洗去乙醇),弃取初滤液,收集之后的滤液,用 0.22 μm 的滤膜过滤,用于高效液相色谱分析。

1.3 HPLC 色谱分析

1.3.1 分析条件 色谱柱:Hi-Plex 钙型强阳离子交换柱(300 mm×7.7 mm);流动相:超纯水(纯水经过 0.2 μm 尼龙滤膜过滤后使用),流速 0.4 mL/min,柱温 80 ℃,示差折光检测器,进样量 15 μL。
1.3.2 定性定量方法 采用标准品定性,外标法定量。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的优化

由于待测定物糖和醇在紫外光区无吸收,而且待测物常被外加入样品中,其含量通常较高,故选用示差折光检测器检测。但是示差折光检测器为通用型检测器,虽然检测物质很多,但对多数物质的灵敏度低(约 10~5 g/mL),受温度、流动相组成、流速等波动的影响较大,不适合梯度洗脱,所以会影响测定的准确度。

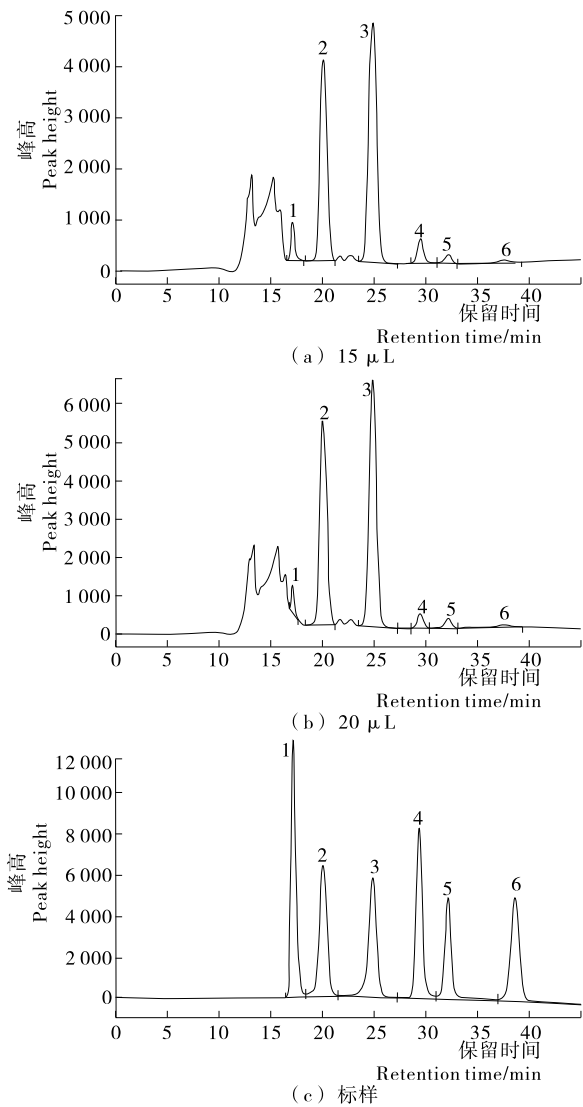
本研究欲分离的糖类和多元醇均属于亲水性物质,具有强极性,有机溶剂对其分离没有改善作用,故选用超纯水作

流动相。本研究主要对色谱柱柱温、流动相的流速和进样量进行了优化筛选。

试验分别在 25,50,80 ℃ 3 个柱温条件下进行分析,不同温度下的分离结果表明:当温度升高时所有的色谱峰都发生了前移,分离度也有较大提高;但是在柱温较低时,色谱柱的反压会比较大,容易损伤色谱柱。另外考虑该柱子建议的最佳使用温度不超过 85 ℃,因此分析选择的柱温为 80 ℃。

在选定的柱温条件下,又考察了流动相流速分别为 0.4,0.5,0.6 mL/min 时对分离效果的影响。结果发现,流速提高后,出峰提前,分离度没有显著性差异;但是流速较高时,会使柱压较大,容易冲坏柱子,因此选择控制流动相流速在 0.4 mL/min 为宜,分离度也较好。

本研究在选择处理与分析条件下得到的标样色谱图和卷烟样品色谱图见图 1。由图 1 可知,在选定色谱条件下,标



1. 蔗糖+麦芽糖 2. 葡萄糖 3. 果糖 4. 甘油 5. 丙二醇
6. 山梨醇 标样各组分浓度均为 1.0 mg/mL

图 1 标样和烟草样品色谱图

Figure 1 Chromatogram of standards and cigarette sample

准品中各欲测组分的色谱峰峰形对称,较好地实现了基线分离,适合这些成分的定量分析,其中 1 号峰是麦芽糖和蔗糖的混合物,由于试验采用的钙型阳离子交换柱对二糖及其以上的聚合糖分离效果不好,容易重叠,在对样品进行分析时,故认为 1 号峰为二者的加和。对于卷烟样品,当进样量分别为 15 μ L 和 20 μ L 时,对组分的分离有一定的影响;当进样量增加时,峰 1 的分离度显著变差,这和样品中其他物质的浓度相应增加有关,导致与峰 1 发生部分重叠,不能进行准确定量,因此选择进样量为 15 μ L。

2.2 回归方程和检测限分析

准确称取葡萄糖、果糖、蔗糖、麦芽糖、甘油、丙二醇和山

梨醇的标准品各 0.125 g,置于 25 mL 容量瓶中,用超纯水定容,配制成浓度为 5 mg/mL 的混合标准液。准确移取 5 mL 混合标准液,用超纯水稀释并定容至 25 mL,得到浓度为 1.0 mg/mL 的混合标准溶液;取 1.0 mg/mL 的标准溶液 5 mL,稀释至 25 mL,得到浓度约为 0.2 mg/mL 的混合标准溶液,如此反复稀释,得到浓度分别为 0.040,0.008 mg/mL 的混合标准溶液,采用优选的 HPLC 条件进样,根据不同浓度的峰面积,计算出回归方程。并根据信噪比 $S/N=3$,计算各组分最低检测浓度,结果见表 1。

由表 1 可知,测得各组分检出限在 1.5~2.0 mg/L,回归方程线性相关系数都在 0.999 5 以上,线性良好,因此适合定量分析。

表 1 回归方程和检测限[†]
Table 1 Regression equation and detection limit

峰号	保留时间/min	组分	回归方程	相关系数 R^2	检测限/(mg·L ⁻¹)
1	11.71	蔗糖+麦芽糖	$y=5.0\times10^{-6}x-0.093\ 6$	0.999 6	1.6
2	13.16	葡萄糖	$y=7.0\times10^{-6}x-0.012\ 7$	0.999 7	1.8
3	14.68	果糖	$y=1.0\times10^{-5}x+0.049\ 0$	0.999 8	2.0
4	21.22	甘油	$y=4.0\times10^{-6}x+0.134\ 7$	0.999 7	1.5
5	22.55	丙二醇	$y=6.0\times10^{-6}x+0.031\ 7$	0.999 9	2.0
6	35.23	山梨醇	$y=5.0\times10^{-6}x+0.127\ 7$	0.999 5	2.0

[†] 回归方程中 x 代表峰面积, y 代表浓度(mg/mL)。

2.3 回收率和精密度分析

对同一烟草样品在优选的相同条件下连续进行 5 次测定,计算相对标准偏差。并取已知含量的烟草样品,准确加入 1 mg/mL 的混合标准品溶液 1 mL,对样品进行预处理并测定,根据原含量、标样加入量和测定量计算回收率,分析结果见表 2。由表 2 可知,采用本方法进行糖和保润剂的测定,其回收率在 97.00%~107.81%,回收率较高。RSD 在 0.89%~1.39%,RSD 较低,说明检测重复性较好,能够满足烟草中这几种糖和保润剂的检测要求。

2.4 烟草样品中糖类和多元醇含量测定

采用上述方法对国内外 13 个品牌卷烟样品中的果糖、葡萄糖、麦芽糖、蔗糖和甘油、丙二醇以及山梨醇含量进行了测定,结果见表 3。

表 2 方法的回收率和精密度[†]

Table 2 The recovery and precision of the method

组分	原含量/ mg	测定量/ mg	回收量/ mg	回收率/ %	相对标准 偏差/%
蔗糖+麦芽糖	18.15	19.15	1.00	100.09	1.30
葡萄糖	79.80	80.87	1.06	106.40	1.39
果糖	104.19	105.21	1.02	102.16	0.89
甘油	—	0.97	0.97	97.00	0.98
丙二醇	2.41	3.49	1.08	107.81	1.12
山梨醇	—	0.98	0.98	98.00	1.22

[†] 标样加入量 1.00 mg。

表 3 不同品牌卷烟中糖类及多元醇的含量[†]

Table 3 Determination of sugars and polyols of different brands of cigarettes

样品	蔗糖+ 麦芽糖	葡萄糖	果糖	甘油	丙二醇	山梨醇
A 牌中国产卷烟 1	20.40	79.53	131.68	—	3.19	—
A 牌中国产卷烟 2	20.29	76.88	100.66	—	3.82	—
A 牌中国产卷烟 3	17.70	82.79	132.53	—	2.71	—
A 牌中国产卷烟 4	46.00	103.40	105.94	—	14.25	—
A 牌中国产卷烟 5	52.49	126.06	128.78	—	19.28	—
中国产卷烟 1	21.26	73.61	106.69	5.47	3.56	—
中国产卷烟 2	22.68	77.23	103.93	—	6.96	1.88
中国产卷烟 3	45.50	96.25	94.44	—	15.69	2.04
B 牌中国产卷烟 1	54.56	107.86	120.35	—	14.48	—
B 牌中国产卷烟 2	52.11	107.48	108.92	—	16.95	—
中国产卷烟 4	43.81	103.46	101.45	—	13.93	—
C 牌进口卷烟 1	35.65	87.68	100.04	11.07	9.65	—
C 牌进口卷烟 2	34.17	91.24	105.19	9.54	13.51	—

[†] “—”未检出。

由表 3 可知,13 种国内外品牌卷烟中麦芽糖和蔗糖、葡萄糖、果糖及丙二醇都有检出,甘油及山梨醇只在少数几个品牌中检出。说明所测卷烟样品中均采用丙二醇作保润剂,但用量差异极大,从 2.71 mg/g 变化到 19.28 mg/g。相比较 4 种糖的含量中,每种烟中葡萄糖和果糖的含量较高。其

中,5种A牌系列中国产卷烟中价位相对较高的卷烟4和卷烟5中所检出的糖和丙二醇的含量显著较高,一方面与卷烟本身所使用烟叶品质较高有关,优质烟叶中总糖和还原糖含量都较高;另一方面与卷烟加工中所加料液和保润剂配方有关,势必会造成产品间的保润性能会存在一定差异。对于其他中国品牌的卷烟,低价位的中国产卷烟1(5.5元/包)、中国产卷烟2(7.5元/包)中麦芽糖和蔗糖,葡萄糖,果糖及丙二醇的含量都相对较低,这也与其本身所使用叶组配方组成及品质有关。但是中国产卷烟1中同时检测出甘油含量为5.47mg/g;中国产卷烟2检测出山梨醇,其含量为1.88 mg/g,同时在中国产卷烟3中也检出山梨醇的存在,说明这两种卷烟在保润剂配方中添加了山梨醇。

另外对于国外品牌卷烟,2个不同价位的C牌进口卷烟中都检测出麦芽糖和蔗糖,葡萄糖,果糖,甘油及丙二醇的存在,相比于中国卷烟,C牌进口卷烟1和C牌进口卷烟2中的丙三醇量相对较大,是中国卷烟1的1.5~2.0倍,其他样品中均未检出丙三醇,表明大部分卷烟基本上不用丙三醇作保润剂。分析发现,2种C牌号系列进口卷烟尽管二者价位不同,但是几种糖的含量无明显差异,而在甘油和丙二醇二者的使用量和比例上有所不同,低价位的进口卷烟1中甘油使用比例大,相反高价位的进口卷烟2中丙二醇使用比例大,其配方保润剂的设计思路可能充分考虑了烟叶类型的差异,值得深入探讨。

3 结论

建立了用高效液相色谱法同时测定烟草中果糖、葡萄糖、麦芽糖、蔗糖和甘油、丙二醇以及山梨醇含量的方法,该方法方便快捷、结果可靠。采用本研究建立的HPLC方法,

可对不同国内外品牌卷烟的糖类和多元醇进行检测,为深入了解不同卷烟的物理保润机制进而改善烟草物理保润性能提供理论指导。

参考文献

[1] 陈章玉,徐若飞. 高效液相色谱法测定烟草料液中几种保润成分[J]. 理化检验:化学分册,2006(12):1 049-1 051.

[2] 王岚,李忠,蒋次清,等. HPLC法同时测定烟草和料液中的糖和保润剂[J]. 烟草科技,2006(8):25-28.

[3] 黄菲,黄翼飞. 高效液相色谱测定烟用香精及料液中保润剂方法的改进[J]. 现代食品科技,2011,27(8):1 043-1 046.

[4] 李忠,杨光宇,黄海涛,等. 高效液相色谱法测定烟草料液中的糖、甘油和丙二醇[J]. 分析化学,2002,30(6):687-689.

[5] 张杰,李鹏,孙世豪,等. GC/MS法同时检测无烟气烟草制品中的1,2-丙二醇、丙三醇和甘油[J]. 烟草科技,2011(3):36-42.

[6] 王军,高尊华,纪朋,等. 烟用料液及加料烟片中丙二醇的测定[J]. 安徽农学通报,2012,18(22):117-118.

[7] 胡磊,郭葆,陆海,等. 植物组织中糖与糖醇乙酰化及毛细管气相色谱分析[J]. 植物学通报,2004,21(6):689-699.

[8] Leffmgwell J C. Leaf chemistry: basic chemical constituents of tobacco leaf and differences among tobacco types//Dais D, Nielsen M T. Tobacco: Production Chemistry and Technology [M]. Oxford: Blackwell Science, 1999: 265-284.

[9] Talhout R, Opperhuizen A, van Amsterdam J G C. Sugars as tobacco ingredient Effects on mainstream smoke composition[J]. Food and chemical Toxicology, 2006, 44(11): 1 789-1 798.

[10] 舒俊生,田振峰,陈开波,等. 烟叶中多糖的分离及单糖组成[J]. 食品与机械,2013,29(3):34-36.

[11] 孙雨安,王国庆,张应军,等. 高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定烟草中水溶性糖[J]. 分析科学学报,2004,20(5):531-533.

(上接第19页)

[2] 何义国,赵兴秀. 脂蛋白酯酶的分离纯化及其部分性质研究[J]. 四川理工学院学报:自然科学版,2012,25(6):1-5.

[3] 宋英攀,冯苗,詹红兵. 石墨烯纳米复合材料在电化学生物传感器中的应用[J]. 化学进展,2012,24(9):1 665-1 673.

[4] 黄凌云,赵希岳,蔡志强,等. 预处理固定化脂肪酶催化合成生物柴油[J]. 中国油脂,2007,32(7):47-50.

[5] 李映霞,赵凤娟,牛秋红. 响应面法优化固定化脂肪酶催化棉籽油转化生物柴油的研究[J]. 中国油脂,2013,38(10):60-63.

[6] 王巍杰,杨永强,吴尚卓. 脂肪酶催化合成生物柴油的研究进展[J]. 生物技术通报,2010(3):54-57.

[7] 贾虎森. 生物柴油利用概况及其在中国的发展思路[J]. 植物生态学报,2006,30(2):221-230.

[8] Ognjanovic N, Bezbradica D, Knezevic-Jugovic Z. Enzymatic conversion of sunflower oil to biodiesel inasolvent-free system: process optimization and the immobilized system stability[J]. Bioresour Technol, 2009, 100(21): 5 146-5 154.

[9] Matassoli A L, Corrúa I N, Portillo M F, et al. Enzymatic synthesis of biodiesel via alcoholysis of palm oil[J]. Appl Biochem Biotechnol, 2009, 155(1): 44-52.

[10] 张搏,杨江科. 脂肪酶产生菌的筛选、鉴定及其产酶条件优化[J]. 生物技术,2007,17(1):23-26.

[11] 董明奇,史岩,姜春雷,等. 脂肪酶高产菌株的筛选及酶学特性研究[J]. 四川大学学报:自然科学版,2008,45(4):985-990.

[12] 邓欣,方真,张帆,等. 诱变选育脂肪酶高产菌株及其酶学性质[J]. 天然产物研究与开发,2011,23(3):512-516.

[13] 刘虹蕾,缪铭. 微生物脂肪酶的研究与应用[J]. 食品工业科技,2012,33(12):376-38.

[14] 蔺昕,李培军,孙铁珩. 石油污染土壤的生物修复与土壤酶活性关系[J]. 生态学杂志,2005,24(10):1 226-1 229.

[15] 张婵,杨强. 高产脂肪酶菌株的分离筛选与培养基优化[J]. 中国酿造,2013(10):17-21.

[16] 虞慧慧,徐泽平,周传兵,等. 毕赤酵母工程菌产高温碱性脂肪酶发酵培养基的优化[J]. 食品与机械,2014,30(4):196-199.

[17] 李丕武,刘瑜,李瑞瑞,等. 两种葡萄糖氧化酶活力测定方法的比较[J]. 食品工业科技,2013,34(12):71-75.

[18] 代敏,纪昌涛,汪小锋,等. 疏棉状嗜热丝孢菌脂肪酶在毕赤酵母中的表面展示及酶学性质[J]. 微生物学报,2012,52(7):857-865.