

基于雪茄烟叶残渣的美拉德反应香料制备及应用

Preparation and application of Maillard reaction flavors based on cigar tobacco leaf residues

徐秀娟¹ 王爱霞² 胡少东³

XU Xiu-juan¹ WANG Ai-xia² HU Shao-dong³

史清照¹ 杨春强¹ 马 骥¹

SHI Qing-zhao¹ YANG Chun-qiang¹ MA Ji¹

(1. 中国烟草总公司郑州烟草研究院, 河南 郑州 450001; 2. 河南中烟工业有限责任公司黄金叶

生产制造中心, 河南 郑州 450000; 3. 河南中烟工业有限责任公司技术中心, 河南 郑州 450000)

(1. Zhengzhou Tobacco Research of CNTC, Zhengzhou, Henan 450001, China; 2. Golden Leaf Production and Manufacturing Center, China Tobacco Henan Industrial Co., Ltd., Zhengzhou, Henan 450000, China; 3. Technology Center, China Tobacco Henan Industrial Co., Ltd., Zhengzhou, Henan 450000, China)

摘要:目的:解决烟草提取物生产过程中产生的烟叶残渣再利用难题。方法:以雪茄烟叶残渣制备的水提物为原料,研究了氨基酸用量、反应时间对 Maillard 反应产物化学组成及卷烟感官质量的影响;并探讨了 Maillard 反应产物中的 18 种成分与卷烟感官指标的相关关系。结果:①以感官为依据,基于雪茄烟草水提物 Maillard 反应的最佳条件为:水提物 10.00 g、天冬氨酸 0.74 g、谷氨酸 0.08 g、葡萄糖 0.50 g,温度 110 ℃,反应时间 3.0 h。②与水提物相比, Maillard 反应产物中 5-羟甲基糠醛、羟基丙酮、糠醛、5-甲基糠醛、2-乙酰基吡咯、2,5-二甲酰基呋喃等的含量显著增加。③ 18 种化合物中,2-乙酰基呋喃与细柔显著相关,3-羟基-2-丁酮、3-乙酰基吡啶与奶香显著和极显著相关,2-呋喃基羟基甲基酮、5-羟甲基糠醛和 2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4(H)-吡喃-4-酮与花香显著或极显著相关,而 6-乙基-5,6-二氢-2H-吡喃-2-酮与杂气、刺激、苦味、干草香指标均显著负相关。结论:烟草水提物经 Maillard 反应处理后,香气特征成分含量增加,在卷烟中应用能起到增强烘焙香、焦香,强化雪茄风格特征的作用。

关键词:雪茄;烟叶残渣;美拉德反应;香味成分;感官指

标;相关分析

Abstract: **Objective:** To solve the problem of tobacco leaf residues produced during the production of tobacco extracts. **Methods:** Maillard reaction was carried out using aqueous extracts from cigar tobacco leaf residues as raw materials, and the effects of amino acid dosage and reaction time on the chemical composition of the Maillard reaction products and the sensory quality of cigarettes were systematically investigated. The relationship between the 18 components of the Maillard reaction product and the sensory index of cigarettes was also investigated. **Results:** ① Based on sensory effects, the optimal reaction conditions for the Maillard reaction based on cigar tobacco aqueous extract were: 10.00 g of aqueous extract, 0.74 g of aspartic acid, 0.08 g of glutamic acid, 0.5 g of glucose, temperature 110 ℃, reaction time 3 h. ② Compared to the aqueous extract, the Maillard reaction products contain significantly more 5-hydroxymethylfurfural, hydroxyacetone, furfural, 5-methylfurfural, 2-acetyl pyrrole and 2,5-diformylfuran. ③ Among the 18 compounds, 2-acetylfuran was significantly correlated with fine softness, 3-hydroxy-2-butanone and 3-acetyl pyridine were significantly and highly significantly correlated with milkiness, 2-furanylhydroxymethyl ketone, 5-hydroxymethylfurfural and 2, 3-dihydro-3, 5-dihydroxy-6-methyl-4(H)-pyran-4-one were significantly or highly significantly correlated with floral aroma, while 6-ethyl-5, 6-dihydro-2H-pyran-2-one was significantly and negatively correlated with miscellaneous aroma, irritation, bitterness and hay aroma indicators. **Conclusion:** Through the Maillard reaction, the aroma content of the aqueous extract of tobacco was increased,

基金项目:国家烟草专卖局创新平台科研活动稳定支持专项(编号:国烟科[2021]171号)

作者简介:徐秀娟,女,中国烟草总公司郑州烟草研究院高级工程师,博士。

通信作者:马骥(1979—),男,中国烟草总公司郑州烟草研究院高级工程师,博士。E-mail:43735874@qq.com

收稿日期:2022-02-23 **改回日期:**2022-08-19

which enhances the roasted and burnt aromas in cigarettes and strengthens the style of cigars.

Keywords: cigar; tobacco leaf residue; Maillard reaction; aroma composition; sensory indicator; correlation analysis

Maillard 反应是氨基化合物与还原糖之间发生的复杂反应,是烟草众多香味物质的主要来源之一,对烟草的品质起着重要作用。烟叶自身含有葡萄糖、果糖等还原糖,同时还有脯氨酸、谷氨酸等多种氨基酸,具备美拉德反应的物质基础,与模型反应相比,基于烟叶或烟草提取物的美拉德反应香料与卷烟的协调性更好,能够很好地改善卷烟产品的感官品质,是烟草行业研究热点之一^[1]。烟叶与甘氨酸在碱性条件下的反应产物,与烟香协调性好,能丰富烟香,细柔烟气,改善透发性^[2];废弃烟叶经酶处理后制备的烟用香精具有沁鼻的烘烤香和甜香,能改善烟草吸食品质^[3-4];烤烟花蕾也可用于制备 Maillard 反应香料^[5]。目前这些报道多是直接将烟草原料用于 Maillard 反应香料的制备,然而在卷烟中起作用的不仅是 Maillard 反应产物,还有烟草自身香味物质的参与, Maillard 反应产物对卷烟的贡献不够清晰。此外,雪茄烟叶与烤烟的还原糖、氨基酸差异较大,雪茄烟叶或残渣参与的 Maillard 反应未被充分挖掘^[6]。

研究拟以经过亚临界萃取、溶剂浸提后的雪茄烟叶残渣制备的水提物为底物,开展 Maillard 反应香料制备工艺优化,系统考察氨基酸和还原糖的种类及用量、反应时间等重要工艺参数对反应产物感官质量及 18 种特征香味成分含量的影响,通过相关性分析探讨香味成分与卷烟感官指标的相关性关系,旨在为烟叶残渣的二次利用提供新思路。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂和材料

气相色谱-质谱联用仪:7890A/5975C 型,美国 Agilent 公司;

电子天平:CP224S 型,感量 0.000 1 g,德国 Sartorius 公司;

合成反应器:Easymax 102 型,瑞士 Mettler Toledo 公司;

旋转蒸发仪:R-210 型,瑞士 Buchi 公司;

低温冷却循环泵:DLSB-5/20 型,巩义市予华仪器有限公司;

多功能油浴锅:HH-ZKYY 型,巩义市予华仪器有限公司;

低温冰箱:PL6500 型,美国 Thermo Fisher 公司;

中药粉碎机:FW-200 型,浙江永康帅通工具有限公司;

冻干机:ALPHA 1-2LD plus 型,德国 Christ 公司;

尼龙 66 滤膜:0.22 μm ,中国天津津腾公司;

L-谷氨酸、L-天冬氨酸、脯氨酸:分析纯,阿拉丁试剂(中国)有限责任公司;

蒸馏水:广州屈臣氏食品饮料有限公司;

雪茄烟叶(建恒 4 号)、红旗渠(雪茄)、白色未加香卷烟纸:河南中烟工业有限责任公司。

1.2 方法

1.2.1 烟草水提物的制备 将雪茄烟叶粉碎后,采用亚临界萃取法进行一级萃取[溶剂为二甲醚,夹带剂 95%乙醇, $V_{\text{二甲醚}} : V_{\text{乙醇}} = 10 : 1$, $m_{\text{烟叶}} : V_{\text{二甲醚}} = 1 : 20$ (g/mL),萃取时间 20 min,萃取 3 次];以 60%乙醇为溶剂,加热至回流进行二级萃取[$m_{\text{烟叶}} : V_{60\% \text{乙醇}} = 1 : 10$ (g/mL),萃取时间 3.0 h],萃取后的烟叶残渣作为烟草水提物的原料。

通过水提法制备烟草水提物,采用单因素试验,以总氮含量和产率为指标,优化料液比、提取时间和提取温度。固定提取时间 3.0 h,提取温度 60 $^{\circ}\text{C}$,考察料液比[$m_{\text{烟叶残渣}} : V_{\text{水}}$ 分别为 1 : 6, 1 : 8, 1 : 10, 1 : 12, 1 : 14 (g/mL)]对水提物中总氮含量和产率的影响;固定料液比($m_{\text{烟叶残渣}} : V_{\text{水}}$) 1 : 12 (g/mL),提取温度 60 $^{\circ}\text{C}$,考察提取时间(0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 3.5 h)对水提物中总氮含量和产率的影响;固定料液比($m_{\text{烟叶残渣}} : V_{\text{水}}$) 1 : 12 (g/mL),提取时间 3.0 h,考察提取温度(40, 60, 80, 90, 100 $^{\circ}\text{C}$)对总氮含量和产率的影响。采用 YC/T 161—2002 测定水提物中总氮含量,采用 YC/T 282—2009 测定氨基酸含量。水提物产率和总氮产率分别按式(1)和式(2)计算。

$$w_1 = \frac{m_1}{m_2} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

w_1 ——水提物产率, %;

m_1 ——水提物中干物质含量, g;

m_2 ——烟叶质量, g。

$$w_2 = \frac{m_3}{m_2} \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

w_2 ——总氮产率, %;

m_3 ——水提物中总氮含量, g;

m_2 ——烟叶质量, g。

最优工艺条件下制备的烟草水提取物用于 Maillard 反应,其折光指数(20 $^{\circ}\text{C}$)为 $1.355\ 6 \pm 0.008\ 0$,相对密度(20 $^{\circ}\text{C}$)为 $1.078\ 1 \pm 0.008\ 0$ 。

1.2.2 美拉德反应香料的制备 称取 10.00 g 烟草水提物及一定量的氨基酸、还原糖,转移至玻璃反应管中,搅拌速度为 800 r/min,加热至 110 $^{\circ}\text{C}$,并保持 3.0 h。反应结束后冷却至室温,抽滤,收集滤液即可。对照试验中将

烟草水提物替换为水,其他反应条件不变,试验参数详见表 1。

采用单因素试验,对氨基酸与还原糖的摩尔比、反应时间进行优化。固定反应时间 3.0 h,反应温度 110 ℃,考察氨基酸与葡萄糖摩尔比(2:1,1:1,2:3,1:2,2:5 对应的反应产物编号分别为 M-7、M-8、M-9、M-4、M-10)对美拉德反应香料感官质量的影响;固定反应温度 110 ℃,氨基酸与葡萄糖摩尔比 2:1,考察反应时间(0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 3.5 h 对应的反应产物编号分别为 M-11、M-12、M-13、M-14、M-7、M-15)对美拉德反应香料感官质量的影响。

表 1 氨基酸、还原糖种类及用量
Table 1 Types and dosage of amino acids and reducing sugars

编号	反应底物	氨基酸及用量/g	还原糖及用量/g
M-1	水	天冬氨酸 0.74	葡萄糖 2.00
M-2	水提物	天冬氨酸 0.74	葡萄糖 2.00
M-3	水提物	天冬氨酸 0.74	果糖 2.00
M-4	水提物	天冬氨酸 0.74+谷氨酸 0.08	葡萄糖 2.00
M-5	水提物	天冬氨酸 0.74+谷氨酸 0.08	果糖 2.00
M-6	水	天冬氨酸 0.74+谷氨酸 0.08	葡萄糖 2.00

1.2.3 感官评价 挑选质量为(0.815±0.070) g、吸阻为(1 100±200) Pa 的空白卷烟样品,将美拉德反应香料及烟草水提物稀释至质量百分浓度为 10%(溶剂为水),分别涂布于卷烟纸上,涂布量为 0.3%(湿重)。涂布完毕后,将卷烟装入烟盒中,密封于(22±2) ℃和相对湿度(RH) (60±5)%的条件下放置 1 周。感官评价方法参照文献[7]。请 7 位已取得卷烟感官评吸资格证书的专业人员进行评价,评价结果采用算术平均值统计分析。

1.2.4 美拉德反应香料的成分分析

(1) 定性分析:称量 0.50 g 样品,加入乙酸苯乙酯(0.80 mg/mL,5 μL)作为内标,并加入二氯甲烷,室温震荡 50 min,有机相干燥、过滤后进行 GC-MS 分析,分析条

件:色谱柱为 DB-WAXetr 毛细管柱(60 m×250 μm×0.25 μm);进样口温度 250 ℃;载气为高纯氦气;载气流速 1.0 mL/min;进样量 1 μL;分流比 10:1;程序升温以 3 ℃/min 的升温速率从 50 ℃加热到 250 ℃,并保持 10 min。电离方式为 EI;离子源温度 230 ℃;电子能量 70 eV;四极杆温度 150 ℃;电子倍增器电压 1.89 kV;质量扫描范围 33~500 amu;扫描方式全扫描;溶剂延迟 10.0 min。

参考各化合物的保留时间,对每个色谱峰进行谱库(NIST08 和 WILEY)检索,确定美拉德反应香料的各化学成分;采用内标法进行定量。

(2) 定量分析:分别称量 0.50 g 样品,加入 5 mL 含内标(丙酸苏合香酯 10.296 μg/mL)的二氯甲烷萃取剂,室温振荡 50 min,萃取液干燥过滤后待用。根据文献[8]对美拉德反应香料进行定量分析。

1.2.5 相关性分析 采用 SPSS 18.0 软件对 Maillard 反应产物和卷烟感官指标进行简单相关分析, $P<0.05$ 为显著相关, $P<0.01$ 为极显著相关。

2 结果与讨论

2.1 烟草水提物的制备

2.1.1 料液比对总氮提取效率的影响 试验所用烟叶已经过亚临界萃取、溶剂浸提(60%乙醇)两步提取工艺,烟叶中的大部分香味物质已被萃取,雪茄烟叶残渣水提物以糖类、氨基酸等大分子物质为主。由于雪茄烟叶含糖量低,含氮量略高,因此在优化烟草水提物提取工艺时,以总氮含量和产率为主要依据。由图 1(a)可知,随着料液比的增大,总氮含量先升高后降低,当 $m_{\text{烟叶残渣}}:V_{\text{水}}$ 为 1:8 (g/mL) 时,总氮含量最低为 7.48 mg/g,当 $m_{\text{烟叶残渣}}:V_{\text{水}}$ 为 1:12 (g/mL) 时,总氮含量增加到 11.14 mg/g,而 $m_{\text{烟叶残渣}}:V_{\text{水}}$ 为 1:14 (g/mL) 时,总氮含量略微降低至 10.74 mg/g。水提物产率随着料液比的增加而升高,当 $m_{\text{烟叶残渣}}:V_{\text{水}}$ 为 1:12 (g/mL) 时总氮含量达到最高,同时总氮产率达到 1.54%;当 $m_{\text{烟叶残渣}}:V_{\text{水}}$ 为 1:14 (g/mL) 时,虽然水提物产率增高到 14.67%,但总氮含

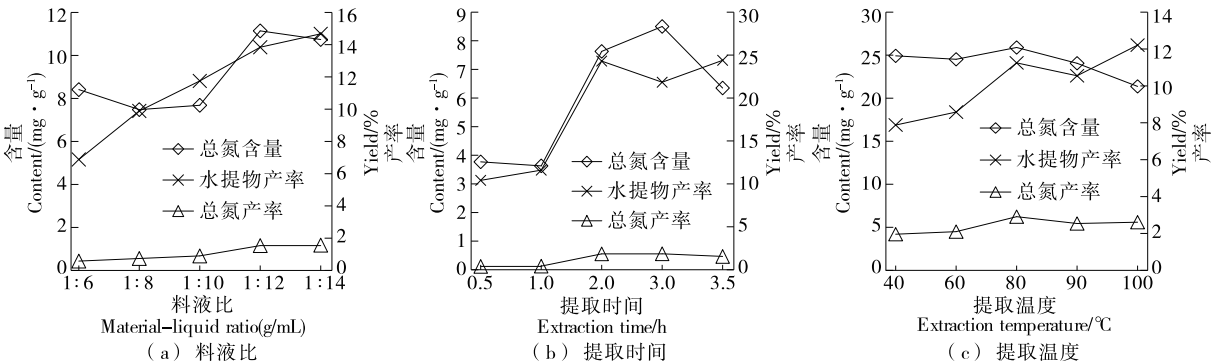


图 1 反应条件对总氮含量、产率及水提物产率的影响

Figure 1 The effect of reaction conditions on nitrogen content, extraction rate and water extraction yield

量略有降低,总氮产率变化不大。这是因为,溶剂含量的增高会使得更多难挥发成分被萃取出来,但总氮的萃取已达到饱和状态,因此虽然水提物产率增高,但总氮含量降低,因此 $m_{\text{烟叶残渣}}:V_{\text{水}}$ 选择 1:12 (g/mL)。

2.1.2 提取时间对总氮提取效率的影响 随后在 $m_{\text{烟叶残渣}}:V_{\text{水}}$ 为 1:12 (g/mL),提取温度 60 °C 的条件下,考察提取时间对总氮含量和产率的影响。由图 1(b) 可知,总氮含量随着提取时间的延长先增加后降低,当提取时间为 0.5、1.0 h 时,总氮含量变化不大,分别为 3.77、3.63 mg/g;当提取时间延长至 2.0 h 时,总氮含量大幅上升,增加至 7.63 mg/g,是 1.0 h 时的 2.1 倍;萃取时间为 3.0 h 时,总氮含量达到最高值,为 8.50 mg/g;而萃取时间过长,总氮含量降低(6.35 mg/g)。水提物产率整体呈上升趋势,总氮产率先增加后降低,当萃取时间为 2.0 h 时,产率为 1.85%,延长至 3.0 h 时为 1.86%,表明总氮产率已趋于平衡,因而最佳萃取时间选择 3.0 h。

2.1.3 提取温度对总氮提取效率的影响 在确定料液比和提取时间之后,进一步对提取温度进行优化。由图 1(c) 可知,整体而言,随着提取温度的升高,水提物产率呈上升趋势,总氮含量呈下降趋势。当提取温度为 40~80 °C 时,总氮含量为 24.92~25.89 mg/g,变化不大;当温度升高至 90 °C 时,总氮含量降低至 24.06 mg/g,且随着温度的提高继续降低至 21.37 mg/g。总氮产率先增加后降低,从 1.96% 增加至 2.91%,随后又降低至 2.61%。当温度为 80 °C 时,总氮含量及产率皆达到最高值,因而,最佳提取温度确定为 80 °C。

最终,通过单一因素试验确定雪茄烟叶残渣水提物的最佳工艺条件为: $m_{\text{烟叶残渣}}:V_{\text{水}}$ 为 1:12 (g/mL),加热温度 80 °C,萃取时间 3.0 h。水提物产率为 11.25%,总氮含量为 25.89 mg/g,总氮产率为 2.91%。

2.2 美拉德反应香料的制备及感官评价

2.2.1 氨基酸和还原糖种类对美拉德反应香料感官质量的影响 美拉德反应过程复杂,反应产物与反应条件关系密切,而氨基酸和还原糖是影响美拉德产物组成及香气的关键因素,因而氨基酸和还原糖的选取至关重要。为了使美拉德反应产物的香气更接近烟草香,与卷烟协调性好,在选取氨基酸和还原糖时本着烟叶中自身含有且含量较高的原则。雪茄烟叶中含量较高的氨基酸为天冬氨酸、谷氨酸,还原糖为葡萄糖、果糖,因而将此作为反应原料^[9]。虽然经单一因素优化后,雪茄烟叶的总氮被完全萃取,但水提物的总氮含量仍较低。利用氨基酸分析仪对水提物中的氨基酸含量进行分析,氨基酸总量为 261.29 $\mu\text{g/g}$,其中天冬氨酸和谷氨酸含量分别为 78.60、11.80 $\mu\text{g/g}$ 。为提高反应效率,以水提物为底物,额外补充氨基酸和还原糖,制备美拉德反应香料。

首先,对氨基酸和还原糖的种类进行筛选,试验条件

如表 1 所示,各组反应物的感官评价结果如表 2 所示。首先,将烟草水提物直接涂布于卷烟纸上进行对比评价,与空白卷烟相比,水提物在品质特征方面几乎无作用,在风格特征方面,仅干草香、焦香略有改善,表明雪茄烟叶残渣水提物对卷烟感官质量的提升几乎无作用。而 6 种 Maillard 反应物 M1~M6 在香气、丰浓、杂气、刺激、细柔等方面均有改善,在风格特征方面,干草香、焦香、烘焙香、蜜甜香等有不同程度的改善。这表明,与烟草水提物相比,美拉德反应产物能够起到增加香气、丰富烟气浓度和特征香韵等作用。

对比 M-2 和 M-4,两组的还原糖(葡萄糖)、反应底物(水提物)一致,仅氨基酸种类不同,从表 2 可以看出,M-4(天冬氨酸+谷氨酸)的香气、丰浓、甜味、综合味觉等品质特征,以及焦香、蜜甜香、果香等风格特征均明显优于 M-2(天冬氨酸),表明以混合氨基酸为氮源的美拉德反应香料感官效果优于单一氨基酸,因此选择天冬氨酸和谷氨酸混合使用。与 M-4(葡萄糖)相比,M-5(果糖)的品质特征、味觉特征、风格特征均有所削弱,说明使用葡萄糖的效果优于果糖。这可能与反应活性及反应产物种类有关。由于五碳糖的反应活性高于六碳糖,因此葡萄糖的反应活性高于果糖;两者反应产物的种类也有差异,以果糖为原料的美拉德反应产物中吡嗪类香味成分的质量分数较高^[10]。此外,对比 M-4 和 M-6,两组均为混合氨基酸与葡萄糖反应,仅反应底物不同,当反应底物为水时,香气、丰浓大大降低,表明相较于直接以纯水作为底物,使用烟叶残渣水提物作为底物在增加香气、丰富烟气浓度等方面更有优势。因此综合来看,美拉德反应的还原糖选择葡萄糖,氨基酸选择天冬氨酸和谷氨酸的混合氨基酸,反应底物为水提物。

2.2.2 氨基酸和还原糖摩尔比对美拉德反应香料感官质量的影响 在确定反应底物、氨基酸和还原糖的基础上,通过单因素试验考察氨基酸和还原糖摩尔比对 Maillard 反应产物感官品质的影响,结果如表 2 所示。整体而言,不同摩尔比条件下的各反应产物,在香气、丰浓、刺激、细柔等品质特征上均有不同程度的改善;略增加甜味,降低苦味,综合味觉略改善;风格特征主要表现在焦香、烘焙香、蜜甜香等方面。当葡萄糖用量过高时($n_{\text{氨基酸}}:n_{\text{葡萄糖}}=2:5$),杂气、刺激性略有增强,同时香气、丰浓略有降低;甜味增强、苦味降低;烘焙香增强,奶香、酸香、可可香略降低。由于美拉德反应过程中会产生大量的含 N 杂环,在增强烘焙香、增加烟气浓度、增加香气量方面会有较明显作用,因而,在筛选最佳条件时,着重选择对品质特征有重要改善,兼顾烘焙香、焦香等风格特征。当 $n_{\text{氨基酸}}:n_{\text{葡萄糖}}=2:1$ 时,香气、丰浓、杂气的改善程度最高,同时,焦香、烘焙香也明显增强,因而氨基酸和葡萄糖的用量确定为:天冬氨酸 0.74 g、谷氨酸 0.08 g、葡萄糖 0.50 g。

表 2 美拉德反应产物感官评价结果

Table 2 Sensory evaluation results of Maillard reaction experiment

样品编号	品质特征					味觉特征				
	香气	丰浓	杂气	刺激	细柔	酸味	甜味	苦味	综合味觉	
空白	2.50	2.00	5.50	3.50	5.00	2.00	1.00	2.50	4.50	
0(水提物)	2.50	2.50	5.50	3.50	5.50	2.00	1.00	2.80	4.50	
M-1	3.17	2.83	5.92	3.92	5.50	2.17	1.33	2.58	4.83	
M-2	3.17	2.67	5.92	3.92	5.58	1.92	1.17	3.08	4.92	
M-3	3.17	2.58	6.08	3.92	5.83	1.92	1.83	2.50	5.17	
M-4	3.58	2.92	5.92	3.92	5.58	2.00	1.33	2.92	5.08	
M-5	2.92	2.42	5.25	3.58	5.25	1.92	1.17	2.75	4.42	
M-6	2.58	2.58	5.58	3.75	5.25	1.92	1.00	2.67	4.75	
M-7	3.08	3.00	5.58	3.67	5.67	2.00	1.08	2.33	4.83	
M-8	3.08	2.58	5.58	3.83	5.92	2.00	1.33	2.42	4.92	
M-9	2.50	2.33	5.42	3.50	5.58	2.00	1.00	2.42	4.50	
M-10	2.75	2.42	5.17	3.58	5.83	2.00	1.25	2.33	4.58	
M-11	2.50	2.50	5.00	3.50	5.00	2.00	1.00	2.00	4.50	
M-12	3.00	3.00	5.10	3.50	5.50	2.00	1.00	2.50	3.90	
M-13	3.00	3.40	5.00	3.00	5.00	2.50	1.50	2.00	5.00	
M-14	2.90	3.00	5.00	3.00	5.00	2.00	1.40	2.00	4.40	
M-15	2.50	2.60	5.10	3.10	5.10	2.00	1.00	2.00	4.40	

样品编号	风格特征													
	干草香	树脂香	木香	辛香	焦香	可可香	烘焙香	奶香	酸香	膏香	豆香	蜜甜香	果香	花香
空白	5.00	0.00	1.00	1.00	0.50	2.00	1.00	1.50	1.00	1.00	0.00	1.00	0.50	0.00
0(水提物)	5.50	0.00	1.00	1.00	1.00	2.00	1.00	1.50	1.00	1.00	0.00	1.00	0.50	0.00
M-1	5.25	0.00	1.00	1.00	0.92	2.00	1.25	1.42	1.25	1.00	0.00	1.25	0.50	0.00
M-2	5.25	0.00	1.08	1.17	1.17	2.00	1.17	1.42	1.00	1.08	0.00	1.00	0.50	0.00
M-3	5.33	0.00	1.00	1.00	0.92	2.00	1.42	1.58	1.08	1.08	0.00	1.42	0.50	0.00
M-4	5.25	0.00	1.00	1.08	1.25	2.00	1.00	1.50	1.00	1.08	0.00	1.17	0.75	0.00
M-5	5.25	0.00	1.08	1.00	0.83	1.75	1.00	1.25	1.00	1.00	0.00	1.00	0.50	0.00
M-6	5.25	0.00	1.00	1.00	0.83	1.92	1.00	1.25	1.00	1.00	0.00	1.00	0.50	0.00
M-7	5.50	0.08	1.08	1.00	1.25	2.00	1.42	1.42	1.00	1.08	0.08	1.00	0.50	0.00
M-8	5.50	0.00	1.08	1.00	0.92	1.92	1.25	1.42	1.00	1.00	0.00	1.17	0.50	0.00
M-9	5.42	0.00	1.00	1.00	0.92	1.75	1.17	1.33	0.92	1.08	0.00	1.00	0.58	0.00
M-10	5.50	0.00	1.00	1.00	0.92	1.92	1.17	1.33	0.92	1.00	0.00	1.00	0.50	0.08
M-11	5.00	0.00	1.00	1.00	1.00	1.90	1.00	1.40	1.00	1.00	0.00	1.00	0.50	0.00
M-12	5.00	0.00	1.00	1.00	1.00	1.90	1.00	1.40	1.00	1.00	0.00	1.00	0.50	0.00
M-13	5.00	0.00	1.00	1.00	1.00	1.90	1.40	1.40	1.10	1.00	0.00	1.00	0.60	0.00
M-14	5.00	0.00	1.10	1.00	1.10	1.90	1.40	1.40	1.00	1.00	0.00	1.00	0.50	0.00
M-15	5.00	0.00	1.10	1.00	1.00	1.90	1.20	1.40	1.00	1.00	0.10	1.10	0.50	0.00

2.2.3 反应时间对美拉德反应香料感官质量的影响 在 $n_{\text{氨基酸}}:n_{\text{葡萄糖}}$ 为 2:1,雪茄水提物 10.0 g,温度 110 ℃,搅拌速度 800 r/min 的条件下,通过单因素试验,对反应时间进行优化。品质指标香气和丰浓随着反应时间的延长均呈先增加后降低的趋势,不同的是,反应时间 3.0 h 时,香气改善程度最高,而丰浓在反应时间为 1.5 h 时达到最高。与空白样品相比,美拉德反应产物几乎都有一定的

杂气,仅 M-7 略有降低杂气与刺激性的作用。在味觉特征上,当反应时间为 1.5 h 时,酸味增加,延长或缩短反应时间均无较大改善;甜味基本上随着反应时间的延长先增强后减弱,当反应时间为 1.5 h 甜味分值最高;综合味觉改善较为明显的是 M-13 和 M-8。在风格特征方面,M-7 的干草香、焦香、烘焙香突出。综合考虑,最佳反应时间确定为 3.0 h。

最终通过单因素试验确定了美拉德反应最佳试验条件:雪茄烟叶残渣水提物 10.00 g、天冬氨酸 0.74 g、谷氨酸 0.08 g、葡萄糖 0.50 g,加热至 110 ℃ 反应 3.0 h,反应结束后过滤去除不溶物即可。

2.3 美拉德反应香料的成分

2.3.1 美拉德反应香料定性分析 美拉德反应香料 M-7 的定性分析结果如表 3 所示,共鉴定出 21 种挥发性成分。采用同样的方法对雪茄烟叶残渣水提物进行分析,未检出任何致香成分,说明利用美拉德反应能够产生较多的香气物质,提升水提物的使用价值。M-7 中致香成分主要有糠醛、4-环戊烯-1,3-二酮、5-甲基呋喃醛、2-乙酰基吡咯、2,5-呋喃二甲醛、5-羟甲基糠醛、苯乙醇、壬醛、3,5-二羟基-2-甲基-4*H*-吡喃-4-酮等,其中 5-羟甲基糠醛的含量高达 670.86 μg/g,其次为 4-环戊烯-1,3-二酮(16.52 μg/g)、2,5-呋喃二甲醛(12.34 μg/g)和 3,5-二羟基-2-甲基-4*H*-吡喃-4-酮(12.68 μg/g),此外,5-甲基呋喃醛、糠醛、2-乙酰基吡咯的含量也相对较高。这些物质的特征香气表现为烘烤香、甜香、坚果香,有良好的增香效

表 3 M-7 中的挥发性香气成分

Table 3 Volatile aroma components in M-7

保留时间/min	化合物	CAS 号	含量/ (μg · g ⁻¹)
9.35	糠醛	98-01-1	8.84
10.72	4-环戊烯-1,3-二酮	930-60-9	16.52
13.05	5-甲基呋喃醛	620-02-0	5.58
16.25	2-乙酰基吡咯	1072-83-9	8.59
16.66	2,5-呋喃二甲醛	823-82-5	12.34
16.85	1-(2-呋喃基)-2-羟基乙酮	17678-19-2	0.86
17.20	壬醛	124-19-6	0.77
17.78	苯乙醇	60-12-8	0.66
19.87	3,5-二羟基-2-甲基-4 <i>H</i> -吡喃-4-酮	1073-96-7	12.68
21.41	5-羟甲基糠醛	67-47-0	670.86
23.23	1,3,5-苯三酚	108-73-6	0.89
25.31	十四烷	629-59-4	1.03
28.21	丁基苯基甲苯	128-37-0	1.04
28.35	3-羟基苯酚	5818-06-4	1.21
30.98	3-羟基-β-二氢大马酮	102488-09-5	0.62
32.27	二十烷	112-95-8	0.58
38.02	邻苯二甲酸二丁酯	84-74-2	0.70
38.10	十四烷基环己烷	1795-18-2	0.55
39.88	1-二十二烷基硫醇	7773-83-3	1.23
42.25	环十六烷	295-65-8	1.70
46.79	2,2'-亚甲基双-(4-甲基-6-叔丁基苯酚)	119-47-1	18.37

果,正是这些物质的存在使得 M-7 在卷烟风格特征方面具有烘托烘焙香、焦香的作用,GC-MS 的分析结果与感官评价结果具有很好的一致性。

2.3.2 美拉德反应香料定量分析 为进一步探明 Maillard 反应香料的化学成分随反应条件的变化规律,结合文献[8]以及表 3 的分析结果,对 Maillard 反应产物中的 18 种化学成分进行定量分析,结果见表 4。由于烟草水提物中含一定量的还原糖和氨基酸,其自身也会发生 Maillard 反应,因而在同样条件下与水提物自身的 Maillard 反应产物(M-0)进行对比分析。M-0 中 18 种待测物的总量为 209.73 μg/g,其中,5-羟甲基糠醛和 2-乙酰基吡咯的含量最高,占总量的 71.57%,与烤烟型烟草水提物的略有不同,烤烟型烟草水提物自身 Maillard 反应产物中羟基丙酮的含量仅次于 5-羟甲基糠醛,可能与氨基酸种类的不同有关^[8]。加入一定量的氨基酸和葡萄糖后, Maillard 反应产物的含量大大增加,且总量随着氨基酸与葡萄糖摩尔比的增加而增加,当摩尔比为 2 : 5 时,总量为 5 317.06 μg/g,是 M-0 的 25.35 倍。反应产物以 5-羟甲基糠醛、2-乙酰基吡咯、羟基丙酮为主。其中,羟基丙酮的含量急剧上升,从最初的 11.99 μg/g 上升至 121.92 μg/g(M-9)。与此类似的还有糠醛、2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4(*H*)-吡喃-4-酮。5-甲基糠醛和 2,5-二甲酰基呋喃在 M-0 中未检出,但随着物料比的增加,其含量逐渐增加。糠醇、2(5*H*)-呋喃酮随着反应比例的增加,呈先增加后降低趋势,当氨基酸与葡萄糖摩尔比为 2 : 3 时,含量均达到最高值。3-乙酰基吡啶随着物料比的增加而降低,可能与反应体系中脯氨酸的含量较低,无法获取足量的还原糖并与之发生反应有关。

随反应时间的延长, Maillard 反应程度逐渐加深,反应产物的含量逐渐增加。反应时间 3.0 h 之前,5-羟甲基糠醛的含量缓慢增加,3.5 h 时急剧上升,从 685.22 μg/g 增加至 1 256.41 μg/g。与此相似的还有糠醛、羟基丙酮、5-甲基糠醛、2,5-二甲酰基呋喃和 2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4(*H*)-吡喃-4-酮。卷烟感官作用评价结果表明,反应时间为 3.0 h 时,反应产物对卷烟香气质、香气量、浓度等各方面的改善效果最佳,该条件下反应产物的总量为 937.75 μg/g。

2.4 Maillard 反应产物与卷烟感官指标的相关性

采用简单相关分析方法对 Maillard 反应产物与卷烟感官指标之间的相关性进行研究,结果见表 5。与细柔显著相关的是 2-乙酰基呋喃,与奶香显著相关的是 3-羟基-2-丁酮,极显著相关的是 3-乙酰基吡啶,与花香显著相关的是 2-呋喃基羟基甲基酮和 5-羟甲基糠醛,极显著相关的是 2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4(*H*)-吡喃-4-酮。而 6-乙基-5,6-二氢-2*H*-吡喃-2-酮与杂气、刺激、苦味、干草香指标均显著负相关。通常, Maillard 反应产物在增加

表 4 Maillard 反应产物定量分析结果[†]

Table 4 Results of quantitative analysis of Maillard reaction products

μg/g

化合物名称	M-0	M-7	M-8	M-9	M-4	M-10	M-11	M-12	M-13	M-14	M-15
2-甲基四氢呋喃-3-酮	0.66	3.95	4.12	5.76	4.20	4.82	0.00	0.84	1.26	1.94	3.68
3-羟基-2-丁酮	4.50	4.35	6.35	6.76	6.10	5.34	4.74	3.21	9.33	8.46	9.17
羟基丙酮	11.99	76.27	97.66	121.92	104.48	109.03	9.74	23.72	25.39	54.23	101.20
2-羟基-3-戊酮	0.05	0.18	0.27	0.40	0.29	0.27	0.09	0.07	0.20	0.23	0.37
糠醛	1.15	9.09	16.29	21.03	24.16	25.16	2.56	3.72	4.76	5.65	18.20
2-乙酰基呋喃	0.09	1.37	2.23	3.48	3.41	4.19	0.23	0.38	0.55	0.80	1.87
5-甲基糠醛	—	8.92	12.35	16.33	17.53	19.77	0.82	1.54	2.98	4.54	18.08
糠醇	5.44	9.22	11.64	12.54	9.50	8.34	1.46	2.49	5.41	6.66	10.44
2(5H)-呋喃酮	2.69	4.64	5.36	6.39	6.33	6.22	3.02	3.84	3.77	4.77	5.90
3-甲基-1,2-环戊二酮	2.49	5.35	5.35	6.71	6.20	7.26	2.56	2.72	3.48	4.00	6.51
3-乙酰吡啶	5.96	2.47	2.49	2.38	2.32	2.16	3.45	3.51	3.81	3.75	2.71
2-乙酰基吡咯	54.08	81.55	97.35	115.64	103.20	107.76	55.22	58.39	68.47	72.96	86.74
2,5-二甲酰基呋喃	—	20.72	43.93	56.65	70.07	75.95	4.71	10.17	14.77	21.00	40.29
2-呋喃基羟基甲基酮	0.03	0.03	0.03	0.03	0.02	0.08	0.03	0.04	0.03	0.05	0.07
4-羟基-2,5-二甲基-3(2H)呋喃酮	20.85	22.38	22.21	23.78	23.40	24.58	0.00	20.74	23.30	23.02	24.82
6-乙基-5,6-二氢-2H-吡喃-2-酮	3.67	1.91	2.15	2.22	2.11	2.09	2.13	2.24	2.23	2.42	2.42
2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4(H)-吡喃-4-酮	0.06	0.15	1.96	9.37	14.81	23.32	0.01	0.01	0.88	0.72	5.13
5-羟甲基糠醛	96.02	685.22	1 740.30	2 757.44	3 935.15	4 890.73	169.81	248.80	335.64	487.92	1 256.41
总计	209.73	937.75	2 072.04	3 168.85	4 333.26	5 317.06	260.58	386.43	506.29	703.12	1 594.00

[†] “—”为未检出。

表 5 Maillard 反应产物与卷烟感官指标的相关性关系[†]

Table 5 Correlation between Maillard reaction products and cigarette sensory indicators

化合物名称	丰浓	杂气	刺激	细柔	苦味	干草香	奶香	花香
3-羟基-2-丁酮	−0.173	0.293	0.033	0.030	0.561	0.266	0.710 *	−0.111
2-乙酰基呋喃	−0.591	0.344	0.347	0.609 *	0.184	0.596	−0.633 *	0.567
2(5H)-呋喃酮	−0.352	0.169	0.104	0.382	−0.106	0.296	−0.685 *	0.329
3-乙酰吡啶	−0.015	0.134	−0.076	−0.126	0.463	0.081	0.742 * *	−0.192
2-乙酰基吡咯	−0.499	0.407	0.298	0.574	0.119	0.569	−0.620 *	0.390
2-呋喃基羟基甲基酮	−0.074	−0.449	−0.294	−0.059	−0.346	−0.216	−0.449	0.699 *
6-乙基-5,6-二氢-2H-吡喃-2-酮	0.226	−0.635 *	−0.603 *	−0.482	−0.691 *	−0.670 *	−0.519	−0.101
2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4(H)-吡喃-4-酮	−0.563	0.102	0.219	0.473	0.178	0.486	−0.582	0.783 * *
5-羟甲基糠醛	−0.608 *	0.272	0.350	0.599	0.244	0.600	−0.565	0.677 *

[†] * 显著相关($P<0.05$); * * 极显著相关($P<0.01$)。

香气量、香气质、烟气浓度和烘烤香、甜香方面有较大作用,但相关性分析并未找到与这些指标呈显著或极显著相关关系的成分,可能与感官评价分值之间的差异较小有关。

3 结论

在烟草提取物的生产过程中会产生大量的固体废

渣,而这些固体废渣中仍含有糖、氨基酸等物质,对其进行二次利用,有利于降低原料成本,提高产品附加值;Maillard 反应能够利用糖源或氮源,转化为致香成分,在卷烟中起到增加焦甜香或烘焙香的作用,使用价值远远高于烟草水提取物。但影响 Maillard 反应的还有 pH、溶剂组成等诸多因素,因此,有必要对烟草美拉德反应香料的

工艺、化学成分及其影响因素进行深入探讨,为产品深加工提供依据。

参考文献

- [1] 班强, 王萍娟, 李志华, 等. 废烟末与脯氨酸的卷烟增香美拉德反应条件筛选[J]. 湖北农业科学, 2017, 56(3): 497-500, 505.
- BAN Q, WANG P J, LI Z H, et al. Screening of Maillard reaction conditions of tobacco wastes and proline in cigarette flavor enhancement[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2017, 56(3): 497-500, 505.
- [2] 陈群. 甘氨酸与烟草直接反应制备烟用香精及其致香成分分析研究[J]. 食品工业, 2010, 31(4): 36-38.
- CHEN Q. Study on the preparation of the direct reaction between L-glycine with tobacco and its aroma components analysis[J]. The Food Industry, 2010, 31(4): 36-38.
- [3] 游霞, 刘彩红, 崔步云, 等. 复合酶处理废弃烟末制备烟用美拉德香精[J]. 食品与生物技术学报, 2018, 37(10): 1114-1119.
- YOU X, LIU C H, CUI B Y, et al. Preparation of Maillard tobacco flavoring with tobacco waste by complex enzymatic extraction[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2018, 37(10): 1114-1119.
- [4] 刘彩红. 烟草废弃物酶解与 Maillard 反应及在烟草加香中的研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2016: 34-54.
- LIU C H. Studies on enzymatic hydrolysis and Maillard reaction with tobacco waste for tobacco flavoring [D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2016: 34-54.
- [5] 张翼鹏, 陶鹰, 李源栋, 等. K326 烤烟花蕾 Maillard 反应烟用香料 GC-MS 分析及卷烟加香应用研究[J]. 香精香料化妆品, 2018(1): 13-16.
- ZHANG Y P, TAO Y, LI Y D, et al. The research on GC-MS analysis and cigarette flavoring of K326 tobacco bud maillard reaction products[J]. Flavour Fragrance Cosmetics, 2018(1): 13-16.
- [6] 李林林, 王荣浩, 陈栋, 等. 基于模糊数学综合评价雪茄烟用美拉德反应产物的加香效果[J]. 烟草科技, 2019, 52(11): 41-49.
- LI L L, WANG R H, CHEN D, et al. Comprehensive evaluation of flavoring effects of Maillard reaction products on cigars by fuzzy mathematics[J]. Tobacco Science & Technology, 2019, 52(11): 41-49.
- [7] 徐秀娟, 鲁平, 史清照, 等. 雪茄烟叶精油主要成分分析及作用评价[J]. 烟草科技, 2021, 54(11): 59-68, 83.
- XU X J, LU P, SHI Q Z, et al. Chemical analysis and sensory evaluation of main components in essential oil of cigar tobacco[J]. Tobacco Science & Technology, 2021, 54(11): 59-68, 83.
- [8] 徐秀娟, 茅中一, 杨春强, 等. 基于烟草水提物的 Maillard 反应产物影响因素[J]. 烟草科技, 2022, 55(3): 39-49.
- XU X J, MAO Z Y, YANG C Q, et al. Factors influencing Maillard reaction products based on aqueous extracts of tobacco[J]. Tobacco Science & Technology, 2022, 55(3): 39-49.
- [9] 寇明钰, 汪长国, 戴亚, 等. 不同产地和等级的雪茄烟叶中游离氨基酸含量分析[J]. 西南农业学报, 2013, 26(3): 963-967.
- KOU M Y, WANG C G, DAI Y, et al. Analysis on free amino in cigar tobacco of different habitats and grades[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2013, 26(3): 963-967.
- [10] 朱龙杰, 张华, 吴洋, 等. 碱性体系下美拉德反应产物中关键香味成分的种类及质量分数[J]. 烟草科技, 2020, 53(6): 41-47, 80.
- ZHU L J, ZHANG H, WU Y, et al. Types and contents of key aroma components produced by alkaline Maillard reaction[J]. Tobacco Science & Technology, 2020, 53(6): 41-47, 80.

(上接第 189 页)

- [18] RAO Q, LABUZA T P. Effect of moisture content on selected physicochemical properties of two commercial hen egg white powders[J]. Food Chem, 2012, 132(1): 373-384.
- [19] RANNOU C, QUEVEAU D, BEAUMAL V, et al. Effect of spray-drying and storage conditions on the physical and functional properties of standard and n-3 enriched egg yolk powders[J]. Journal of Food Engineering, 2015, 154: 58-68.
- [20] ULRICHS T, DROTTLEFF A M, TERNES W. Determination of heat-induced changes in the protein secondary structure of reconstituted livetins (water-soluble proteins from hen's egg yolk) by FTIR[J]. Food Chem, 2015, 172: 909-920.
- [21] GUAN J J, ZHANG T B, HUI M, et al. Mechanism of microwave-accelerated soy protein isolate-saccharide graft reactions[J]. Food Research International, 2011, 44(9): 2647-2654.
- [22] ELLEPOLA S W, CHOI S M, MA C Y. Conformational study of globulin from rice (*Oryza sativa*) seeds by Fourier-transform infrared spectroscopy[J]. Int J Biol Macromol, 2005, 37(1/2): 12-20.
- [23] HOU D H J, CHANG S K C. Structural characteristics of purified glycinin from soybeans stored under various conditions[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(12): 3792-3800.
- [24] 曾琪, 胡森, 王欢, 等. pH 值处理对黑豆分离蛋白结构、流变特性及乳化性能的影响[J]. 食品科学, 2020, 41(22): 15-21.
- ZENG Q, HU M, WANG H, et al. Effect of pH treatment on structure, rheological properties and emulsifying properties of black bean protein isolate[J]. Food Science, 2020, 41(22): 15-21.
- [25] JIANG S, DING J, ANDRADE J, et al. Modifying the physicochemical properties of pea protein by pH-shifting and ultrasound combined treatments [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2017, 38: 835-842.
- [26] LI Q Q, ZHANG X Y, TANG S T, et al. Improved effect of ultrasound-assisted enzymolysis on egg yolk powder: Structural properties, hydration properties and stability characteristics[J]. Food Chemistry, 2022, 382: 132549.
- [27] KEERATI-U-RAI M, CORREDIG M. Heat-induced changes in oil-in-water emulsions stabilized with soy protein isolate[J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23(8): 2141-2148.
- [28] KIOSSEOGLOU V. Egg yolk protein gels and emulsions [J]. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 2003, 8(4/5): 365-370.