

氢氧化钠－尿素法测定烟草木质素预处理方法的优化

臧福坤, 李新生, 严新龙 (上海烟草集团太仓海烟烟草薄片有限公司技术中心, 江苏太仓 215433)

摘要 [目的]优化氢氧化钠－尿素法(NU法)测定烟草木质素含量的预处理方法。[方法]分别用中性洗涤剂和氢氧化钠－尿素溶液对烟梗、烟叶碎片(烟片)、烟叶碎末(烟末)进行预处理,分析比较了2种溶液对干扰物的去除效果,并对2种预处理方法下NU法的测定结果进行了对比评价。[结果]中性洗涤剂对烟梗、烟片、烟末的干扰物去除率近80%,比氢氧化钠－尿素溶液提高13%~16%;在中性洗涤预处理方法下,NU法测得3种烟草样品的木质素含量大小关系为烟梗>烟片>烟末,与氢氧化钠－尿素预处理下的测定结果恰恰相反;预处理方法优化后NU法的精密密度为2.03%,满足检测需求。[结论]研究可为烟草木质素含量测定的预处理方法优化提供参考。

关键词 氢氧化钠－尿素法;烟草木质素;预处理方法优化;中性洗涤剂;氢氧化钠－尿素溶液

中图分类号 TS41 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)16-0091-03

Pretreatment Optimization of NaOH/Urea Method Used for Content Determination of Lignin in Tobacco

ZANG Fu-kun, LI Xin-sheng, YAN Xin-long (Technology Center, Taicang Haiyan Reconstituted Tobacco Co. Ltd. of Shanghai Tobacco Group, Taicang, Jiangsu 215433)

Abstract [Objective] To optimize the pretreatment method of NaOH/Urea method used for content determination of lignin in tobacco. [Method] Tobacco stems, scraps and dusts were pretreated with neutral detergent and NaOH/Urea solution respectively, then both the interfering substances removal rates and the content results determined by NaOH/Urea method under each pretreatment method were compared. [Result] The results showed that: Neutral detergent could remove interfering substances in tobacco stems, scraps and dusts by about 80%, which is 13%–16% higher than that of NaOH/Urea solution; The order of lignin content determined by NaOH/Urea method under neutral detergent pretreatment was tobacco stems > scraps > dusts, which was right opposite from that under NaOH/Urea pretreatment; the precision of NaOH/Urea method after pretreatment optimization reached 2.03%, which had already met the determination demand. [Conclusion] The study can provide reference for pretreatment optimization for content determination of lignin in tobacco.

Key words NaOH/Urea method; Tobacco lignin; Pretreatment optimization; Neutral detergent; NaOH/Urea solution

木质素是植物细胞壁物质的主要成分之一,与纤维素、半纤维素一起组成植物体的“三素”。木质素的存在会对烟草制品的吸食品质造成不良影响,Kibet等^[1]、李晓亮等^[2]、刘刚等^[3]的研究均表明,木质素裂解过程中会产生CO以及苯酚、儿茶酚、苯等促癌活性物质;任晓红^[4]的研究则证明,木质素含量与烟气刺激性、杂气呈显著正相关关系。可见,准确测定烟草中的木质素含量是烟草原料选择及烟草木质素含量调控等工作的重要支撑,对烟草制品的减害提质具有重要意义。然而由于木质素分子结构复杂,至今还没有一种相对完美的方法能够对其进行准确、快速测定。

针对烟草行业标准YC/T 347—2010^[5]忽略酸溶木质素测定的缺陷,纪楷滨^[6]、孔浩辉等^[7]等利用氢氧化钠－尿素溶液在低温下能够溶解纤维素、半纤维而保留大部分木质素的特点,开发出新的烟草木质素测定方法(氢氧化钠－尿素低温溶解法,即NU法),检测流程如图1所示。与传统的硫酸法相比,该法在酸解和酸溶木质素的测定中做了较为合理的改进,测定的总木质素含量更接近真实值。

由于烟草化学组成比较复杂,因此烟草样品的前处理显得尤为重要。孔浩辉等^[8]在对氢氧化钠－尿素溶液的预处理效果研究中发现,该溶液体系虽然可以溶解较多的蛋白质和水溶性糖类,但一些水溶性差的脂质如高级脂肪酸酯和蜡质等则仍不能除尽,而这些物质的残留会对后面的酸解和碱处理造成干扰,最终影响测定结果的准确性。为解决上述问

题,笔者采用中性洗涤剂作为预处理溶剂对NU法进行优化,并对优化前后的预处理效果和木质素含量测定结果进行了比较分析。

1 材料与方法

1.1 材料 原料:烟梗、烟叶碎片(简称烟片)、烟叶碎末(简称烟末)、烟草浆料(简称烟浆)来自华环烟叶复烤有限公司,并按烟草行业标准YC/T 31—1996^[9]进行试样的制备和水分测定。

主要试剂:二水合乙二胺四乙酸二钠、十水合四硼酸钠、十二烷基硫酸钠、乙二醇乙醚、十二水合磷酸氢二钠、正辛醇(AR,国药集团化学试剂有限公司),按文献[5]中的规定用于中性洗涤剂(3%十二烷基硫酸钠溶液)的配制;氢氧化钠、尿素(AR,百灵威科技有限公司),用于8%氢氧化钠－12%尿素水溶液的配制;浓硫酸(AR,上海试剂四厂),用于17.5%硫酸溶液的配制。

主要仪器:Cyclotec 1093粉碎磨粉机,丹麦,福斯分析仪器公司;RCT加热磁力搅拌器,德国,IKA公司;TDL-5-A离心机,上海安亭科技仪器厂;F12-ED标准型加热制冷循环器,德国,优莱博;Lambda 25紫外可见分光光度计,德国,珀金埃尔默;B180马弗炉,德国,纳博热;Frontier红外光谱仪,德国,珀金埃尔默。

1.2 方法

1.2.1 中性洗涤剂预处理。称取约1g试样加入锥形瓶中,再加入200 mL中性洗涤剂和2 mL正辛醇(消泡剂),加热体系并保持微沸回流1 h,然后趁热抽滤,固体用热水洗至滤液无泡沫。

基金项目 上海烟草集团太仓海烟烟草薄片有限公司科技项目(2015-02)。

作者简介 臧福坤(1986—),男,河北献县人,助理工程师,硕士,从事造纸法再造烟叶化学技术相关研究。

收稿日期 2017-03-29

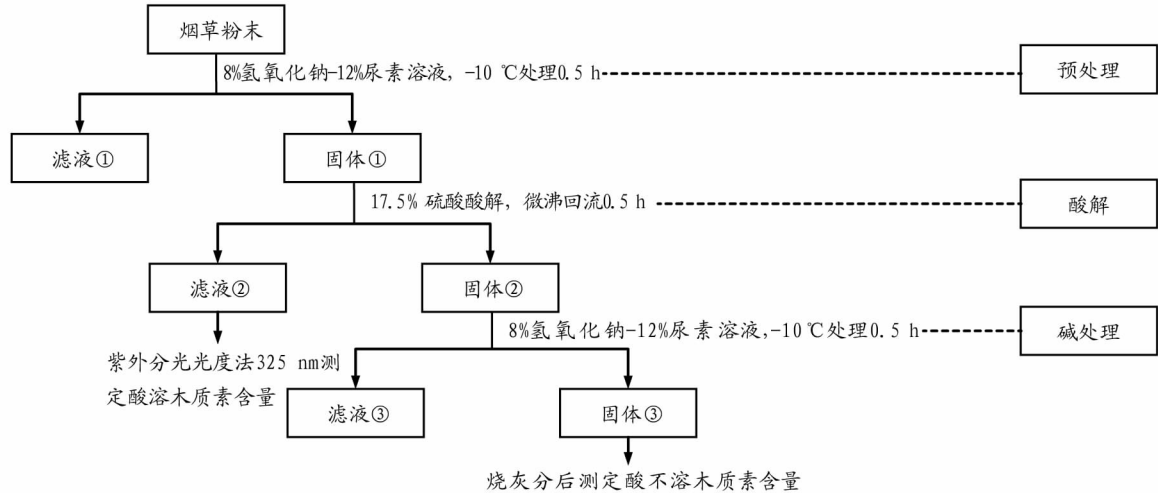


图1 NU法测定烟草木质素含量流程

Fig.1 Procedure of content determination of lignin in tobacco by NU method

1.2.2 氢氧化钠－尿素溶液预处理。称取约1 g 试样加入离心管中,再加入30 mL 预先冷却至-10℃的8%氢氧化钠-12%尿素溶液,于-10℃冷浴中搅拌0.5 h,然后离心分离,弃去上清液,固体用水洗至中性。

1.2.3 总木质素含量测定。按文献[7]中的方法,先用17.5%硫酸溶液进行微沸回流处理0.5 h,冷却后离心分离,上清液稀释后用紫外分光光度法于波长325 nm下测定吸光度,外标法定量测定其中的酸溶木质素含量;下层固体用水洗至中性后,再用预先冷却至-10℃的8%氢氧化钠-12%尿素溶液于-10℃冷浴中搅拌处理0.5 h,然后离心分离,弃去上清液,固体用水洗至中性,然后转移至坩埚中,先于105℃烘干,再转移至马弗炉中于800℃灼烧4 h,灼烧前后的重量差即为酸不溶木质素含量。酸溶木质素与酸不溶木质素含量之和即总木质素含量。

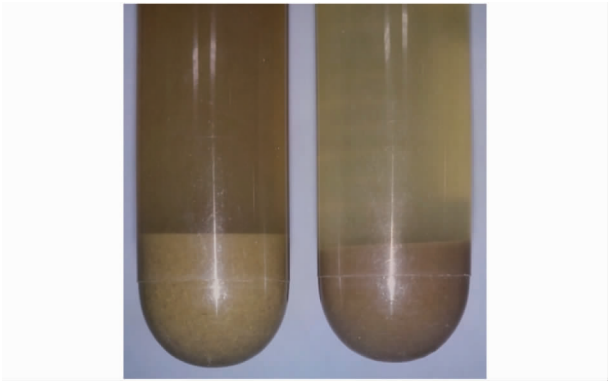
1.2.4 红外光谱测试。按文献[8]中的方法,预处理后样品在50℃下真空干燥至绝干,称量约2 mg,用100倍重量的溴化钾压片,12 MPa下持续2 min。上机扫描,扫描范围4 000~400 cm⁻¹;分辨率4 cm⁻¹;累加扫描次数32次。

2 结果与分析

2.1 预处理效果 肉眼观察发现,用氢氧化钠－尿素溶液处理后,在离心洗涤过程中,上清液有颜色且呈浑浊状态,下层固体尤其是烟片样品颗粒较明显(图2);而用中性洗涤剂预处理并离心后,上清液呈无色透明状,且下层固体也比较细腻,无明显颗粒(图3)。直观来看,中性洗涤剂的除杂效果要好于氢氧化钠－尿素溶液。

下层固体烘干后称重,计算干扰物去除率发现,中性洗涤剂能够去除样品中近80%的干扰物,较氢氧化钠－尿素预处理多去除13%~16%,结果如表1所示。从国家标准GB/T 20806—2006^[10]的测定原理可以发现,中性洗涤剂具有极强的溶解能力,几乎能够溶解纤维素、半纤维素、木质素以外的所有细胞内容物,如脂肪、淀粉、蛋白、糖类等,这主要归因于其主要成分十二烷基硫酸钠是一种表面活性剂,具有“水油兼容”的能力。从干扰物去除率看,中性洗涤剂比氢

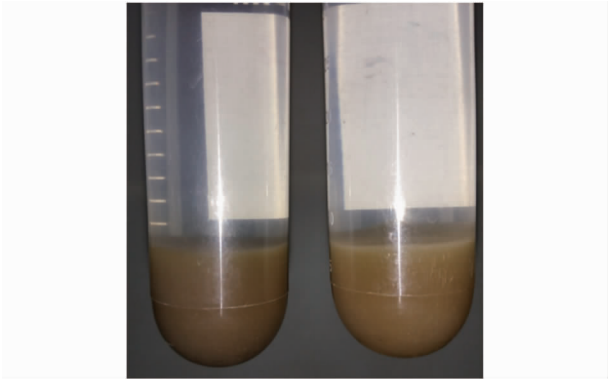
氧化钠－尿素溶液更适合作为NU法的预处理溶液,可为后续测定尽量降低干扰。



注:图中左边为烟片,右边烟梗
Note: Left: tobacco scraps; Right: tobacco stems

图2 烟片、烟梗用氢氧化钠－尿素溶液预处理效果

Fig.2 Tobacco scraps, stems pretreated by NaOH/Urea solution



注:图中左边为烟片,右边烟梗
Note: Left: tobacco scraps; Right: tobacco stems

图3 烟片、烟梗用中性洗涤剂预处理效果

Fig.3 Tobacco scraps, stems pretreated by neutral detergent

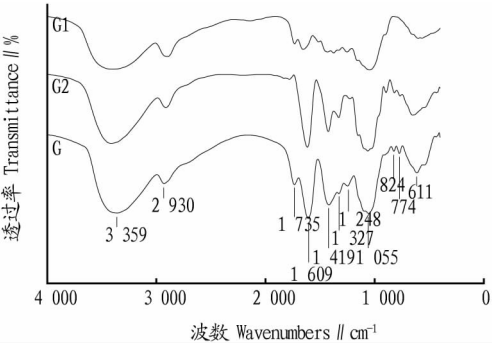
对预处理后的烟草样品进行红外光谱分析,发现在相同预处理条件下,烟梗和烟片的谱图变化相似(图4、5),但同一样品在不同预处理条件下的谱图却有显著差异,以烟梗为

表 1 烟草样品预处理后的干扰物去除率

Table 1 Interfering substances removal rate of tobacco samples after pretreatment

样品 Sample	预处理溶剂 Pretreatment solution	取样量 Sampling amount//g	干度 Dryness %	处理后重量 Sample amount after pretreatment//g	干扰物去除率 Interfering substances removal rate//%
烟梗 Tobacco stem	氢氧化钠-尿素溶液	1.001 0	89.55	0.312 8	65.10
	中性洗涤剂	0.999 8		0.198 3	77.85
烟片 Tobacco scrap	氢氧化钠-尿素溶液	1.000 9	90.46	0.338 2	62.65
	中性洗涤剂	1.000 5		0.191 3	78.86
烟末 Tobacco dust	氢氧化钠-尿素溶液	1.000 3	91.55	0.325 8	64.42
	中性洗涤剂	1.000 6		0.185 9	79.71

例,这种差异主要体现在 2 处。首先,用中性洗涤剂预处理后 1 735 cm⁻¹(酯 C=O 伸缩振动)处的吸收峰消失(G2),而用氢氧化钠-尿素溶液处理后该吸收峰仍然存在且强度较大(G1),说明中性洗涤剂脱脂较彻底,而氢氧化钠-尿素溶液的脱脂能力较差;其次,用中性洗涤剂预处理后 1 609、1 419 cm⁻¹(芳环骨架伸缩振动,1 580、1 500 cm⁻¹处峰强较弱被掩盖)处的吸收峰仍较强(G2),而用氢氧化钠-尿素溶液处理后该 2 处吸收峰强度相对较弱(G1)。导致这种情况的原因可能有 2 点:一是氢氧化钠-尿素溶液会溶解小分子木质素^[7],造成预处理阶段部分木质素损失;二是存在物质干扰,如蛋白质的特征峰会与芳环特征峰重叠。



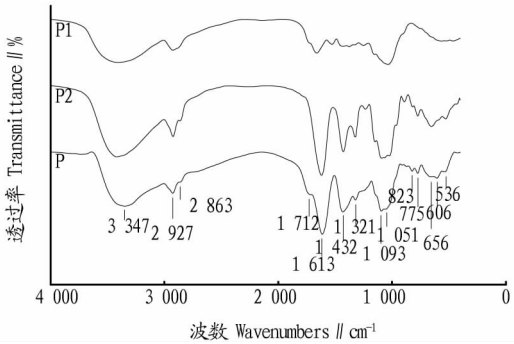
注:G. 未经预处理的烟梗;G1. 经氢氧化钠-尿素溶液预处理的烟梗;G2. 经中性洗涤剂预处理的烟梗

Note:G. un-pretreated tobacco stems; G1. tobacco stems pretreated by NaOH/Urea solution; G2. tobacco stems pretreated by neutral detergent

图 4 烟梗的红外光谱

Fig.4 Infrared spectrum of tobacco stems

以上结果说明,与用氢氧化钠-尿素溶液作为预处理溶液相比,中性洗涤剂不仅能够尽可能多地去除干扰物,而且不会对样品中的木质素造成损失,用其作为预处理溶剂更为合适。



注:P. 未经预处理的烟片;P1. 经氢氧化钠-尿素溶液预处理的烟片;P2. 经中性洗涤剂预处理的烟片

Note:P. un-pretreated tobacco scraps;P1. tobacco scraps pretreated by NaOH/Urea solution; P2. tobacco scraps pretreated by neutral detergent

图 5 烟片的红外光谱

Fig.5 Infrared spectrum of tobacco scraps

2.2 总木质素含量检测结果 2 种预处理条件下 NU 法的木质素含量测定结果如表 2 所示。

通过比较发现,在氢氧化钠-尿素溶液预处理条件下,3 种烟草样品中总木质素含量的大小依次为烟末、烟片、烟梗,然而这种大小关系与事实相悖。首先需要说明的是,3 种样品来自同一家烟叶复烤厂的废弃物,均为不同等级混合物,因此样品中的木质素含量一定程度上可代表平均水平,因此

表 2 不同预处理方法下的木质素含量

Table 2 Lignin content under different pretreatment methods

样品 Sample	预处理溶剂 Pretreatment solution	取样量 Sampling amount//g	干度 Dryness %	木质素总量 Total lignin amount//g	木质素总含量 Total lignin content//%
烟梗 Tobacco stem	氢氧化钠-尿素溶液	1.001 0	89.55	0.042 5	4.74
	中性洗涤剂	0.999 8		0.067 4	7.52
烟片 Tobacco scrap	氢氧化钠-尿素溶液	1.000 9	90.46	0.051 1	5.64
	中性洗涤剂	1.000 5		0.047 1	5.20
烟末 Tobacco dust	氢氧化钠-尿素溶液	1.000 3	91.55	0.053 5	5.84
	中性洗涤剂	1.000 6		0.042 7	4.66

3 结论与讨论

该试验所用的抗氧化剂 BHA 和 PG 在猪油贮藏过程中均有良好的抗氧化效果,其抗氧化效果 PG 优于 BHA。将 BHA 和 PG 混合使用后抗氧化作用更明显,其效果优于 2 种抗氧化剂单独使用。BHA: PG = 3: 1、BHA: PG = 1: 1 和 BHA: PG = 1: 3 这 3 种比例的复配抗氧化剂效果较理想。BHA、PG、CA 共同作用时,0.005% BHA + 0.015% PG + 0.010% CA 的复配抗氧化剂能将过氧化值降低到最佳水平,能有效地抑制猪油在保藏和销售过程中因氧化而产生的酸败现象。0.005% BHA + 0.015% PG + 0.010% CA 的抗氧化剂能使黄山烧饼保质期从 21 d 延长至 56 d,抗氧化效果非常明显。

多种食品中含有猪油,但因其保藏时间短而影响其市场价值。笔者利用抗氧化剂抑制油脂氧化的性能寻找最佳复配抗氧化剂,有效地延长了富含猪油食品的货架期,为商品贮藏和销售提供了帮助。

参考文献

- [1] 李书国,陈辉,李雪梅. 油脂抗氧化剂分析检测技术与方法研究进展[J]. 粮食与油脂,2007(10):42-45.

(上接第 93 页)

三者具有可比性。其次,根据烟草生物学研究,烟梗是烟叶的主脉,主要由韧皮部和木质部组成,其中木质部含有较为丰富的木质素,因此烟梗中的木质素含量应高于烟片;另外,烟末是粒径更小的烟片,但由于混杂了更多的灰尘而导致灰分较高,因此木质素含量应略低于烟片。而换用中性洗涤预处理方法后,木质素含量的大小依次为烟梗、烟片、烟末,更加贴合实际。相反的检测结果再次证明采用中性洗涤剂作为预处理溶剂更为合理,同时也验证了预处理环节的重要性。

2.3 中性洗涤预处理条件下 NU 法的精密度 烟浆是由烟梗、烟片、烟末按一定比例混合并用水萃取后剩余的不溶物经磨机叩解后得到的烟草浆料,用其作为重复性检验样品具有代表性。烘干后的烟浆样品经 6 次重复测定的总木质素含量依次为 11.34%、11.63%、12.00%、11.42%、11.54%、11.71%。由此可见,6 次重复测定结果的相对标准偏差仅为 2.03%,方法的重现性良好,满足检测要求。

3 结论

用中性洗涤剂替代氢氧化钠-尿素溶液对 NU 法测定烟草木质素含量测定进行了优化。与氢氧化钠-尿素低温溶剂体系相比,中性洗涤剂能够更加彻底地去除烟草样品中

- [2] 孙平. 食品添加剂[M]. 北京:中国轻工业出版社,2012.
- [3] 张根生,任媛媛,石慧,等. 两种抗氧化剂协同增效剂对猪脂肪抗氧化性的影响[J]. 肉类研究,2012,26(5):10-13.
- [4] 杜淑霞,贝惠玲,徐丽,等. 新型抗氧化剂芝麻酚抗氧化活性研究[J]. 食品科技,2011,36(7):62-64.
- [5] 徐金瑞,邓翌凤,刘丽坤. 几种抗氧化剂协同作用对葵花籽油稳定性的影响[J]. 中国油脂,2009,34(8):40-42.
- [6] YETTEL R R, HENBEST B, PROCTOR A. Effect of antioxidants on soy oil conjugated linoleic acid production and its oxidative stability[J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2011, 59(13):7377-7384.
- [7] DE KONING A J. The antioxidant ethoxyquin and its analogues: A review[J]. International journal of food properties, 2002, 5(2):451-461.
- [8] BANDYOPADHYAY M, CHAKRABORTY R, RAYCHAUDHURI U. Antioxidant activity of natural plant sources in dairy dessert (Sandesh) under thermal treatment[J]. Food science and technology, 2008, 41(5):816-825.
- [9] 刘岭,陈复生,薛静玉. 复配抗氧化剂的研究进展[J]. 中国食品添加剂,2011(2):172-176.
- [10] 中华人民共和国卫生部中国国家标准化管理委员会. 动植物油脂过氧化值测定:GB/T 5538—2005[S]. 北京:中国标准出版社,2005.
- [11] 中华人民共和国卫生部中国国家标准化管理委员会. 食用猪油:GB/T 8937—2006[S]. 北京:中国标准出版社,2006.
- [12] 中华人民共和国卫生部中国国家标准化管理委员会. 食品添加剂使用标准:GB 2760—2014[S]. 北京:中国标准出版社,2014.

的干扰物,去除率近 80%,可为 NU 法的后续处理尽量降低干扰。预处理方法优化后,NU 法检测结果更贴合实际,3 种烟草样品中总木质素含量关系为烟梗 > 烟片 > 烟末,与氢氧化钠-尿素溶液预处理条件下所得结果相反。此外,经重复性试验得到优化后的方法精密度为 2.03%,满足检测需求。

参考文献

- [1] KIBET J, KHACHATRYAN L, DELLINGER B. Molecular products and radicals from pyrolysis of lignin[J]. Environmental science & technology, 2012, 46(23):12994-13001.
- [2] 李晓亮,郑赛晶,王志华,等. 烟草及其主要组分的热分析质谱研究[J]. 化学研究与应用,2013,25(5):670-674.
- [3] 刘刚,杨飞,杜云海,等. 木质素对再造烟叶烟气中苯酚的影响[J]. 光谱实验室,2012,29(2):1118-1122.
- [4] 任晓红. 烤烟细胞壁物质与烟叶质量的关系[D]. 郑州:河南农业大学,2007.
- [5] 沈轶,余永桢,杨斌,等. 烟草及烟草制品 中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维、酸洗木质素的测定 洗涤剂法:YC/T 347—2010[S]. 北京:中国标准出版社,2010.
- [6] 纪楷滨. 烟梗木质素的含量测定方法研究及结构表征[D]. 广州:华南理工大学,2013.
- [7] 孔浩辉,李秀丽,黄翼飞,等. NaOH/尿素低温溶解法测定烟梗木质素含量的研究[J]. 中国烟草学报,2014,20(3):9-15.
- [8] 孔浩辉,李秀丽,黄翼飞,等. 氢氧化钠/尿素法和硫酸法测定烟草木质素的对比分析[J]. 烟草科技,2015,48(1):66-71.
- [9] 刘惠民,马明. 烟草及烟草制品 试样的制备和水分测定 烘箱法:YC/T 31—1996[S]. 北京:中国标准出版社,1997.
- [10] 王加启,于建国,吴克谦,等. 饲料中中性洗涤纤维(NDF)的测定:GB/T 20806—2006[S]. 北京:中国标准出版社,2007.