

基于 GC/MS 的烤烟香型识别研究

吕中显¹, 牛路路², 彭军仓¹, 康世平¹, 孙赵麟¹, 王瑶^{1*}

(1. 陕西中烟工业有限责任公司, 陕西西安 710065; 2. 河南农业大学烟草学院, 河南郑州 450002)

摘要 [目的]研究基于 GC/MS 的烤烟香型识别。[方法]通过 GC/MS 的方法研究浓香型烤烟与中间香型烤烟中性致香物质的差异。[结果]用 GC/MS 的方法共鉴定出烤烟中 25 种中性致香物质, 用两独立样本的 T 测验检验出 17 种物质的 $P \leq 0.05$, 用这 17 种中性致香物质建立 PCA 模型, 两类型烤烟被完全分在 2 个区域。通过 ROC 曲线验证模型的鲁棒性, 曲线下面积为 1.000。[结论]此方法可以用于烤烟的香型识别。

关键词 中性致香物质; 烤烟; 香型; GC/MS

中图分类号 TS41⁺1 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2019)09-0179-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2019.09.052



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Study on the Identification of Flue-cured Tobacco Based on GC/MS

LÜ Zhong-xian¹, NIU Lu-lu², PENG Jun-cang¹ et al (1. Shaanxi China Tobacco Industry Co., Ltd., Xi'an, Shaanxi 710065; 2. College of Tobacco, Henan Agricultural University, Zhengzhou, Henan 450002)

Abstract [Objective] The research aimed to study the identification of flue-cured tobacco based on GC/MS. [Method] The difference of neutral aroma components between full flavor flue-cured tobacco and middle-flavored flue-cured tobacco was studied by the gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). [Result] A total of 25 neutral aroma substances in flue-cured tobacco were identified by GC/MS. Two independent samples of the T test were used to test $P \leq 0.05$ for 17 substances. The PCA model was established using these 17 neutral aroma substances, and the two types of flue-cured tobacco were completely divided into two regions. The robustness of the model was verified by the ROC curve with a curved area of 1.000. [Conclusion] This method can be used for the scent identification of flue-cured tobacco.

Key words Neutral aroma substances; Flue-cured tobacco; Scent type; GC/MS

烤烟的香型鉴评, 由于受主观因素的制约, 往往会出现同一样品在不同地点、时间、人员的鉴评结果相去甚远的情况, 因此建立一个客观的、可重复验证的、数字化的香型评价方法就显得尤为重要^[1-2]。中性致香物质是烤烟中的重要化学成分, 与烤烟香型密切相关, 不同香型烤烟的香气质量有很大差异, 中性致香物质可以作为烤烟香型鉴评的指标^[3-4]。该研究通过 GC/MS 获取不同香型烤烟中性致香物质的含量, 并用此建立 PCA 识别模型, 以期对烤烟的香型鉴评提供更稳定的方法。

1 材料与与方法

1.1 材料 该试验于 2012 年采集了 10 个省份的 47 个烤烟样品进行分析, 其来自河南、江西、湖南、山东、广东、陕西、广西、安徽、江西的 27 个烤烟样品代表浓香型烟叶, 贵州的 20 个烤烟样品代表中间香型烟叶^[5]。烤烟样品均为 C3F, 样品合格率在 85% 以上。有研究表明, 生态条件对致香物质含量的影响大于品种, 因此该研究仅考虑生态条件, 而不考虑品种因素^[6]。样品信息见表 1。

1.2 中性致香物质的测定 该试验中性致香物质的提取及定性定量分析: 在前处理采用水蒸气蒸馏-二氯甲烷溶剂萃取法。装置的一端接盛有 20.0 g 烤后烟叶粉末及 1 500 mL 水的 2 000 mL 平底烧瓶, 使用电炉加热; 装置的另一端接盛有 40.0 mL 二氯甲烷的 100 mL 烧瓶, 并加入乙酸苯乙酯内标溶液 1 mL, 该端在水浴锅上加热, 水浴温度为 55 °C。同时

蒸馏萃取进行 5.0 h。蒸馏萃取完成后, 用 10 mL 蒸馏水冲洗冷凝管并入二氯甲烷溶液, 将二氯甲烷水溶液转入 125 mL 分液漏斗中用 5% 的硫酸溶液 5 mL 洗去碱性成分, 将二氯甲烷溶液浓缩至 1.0 mL, 供仪器分析用。

表 1 样品信息

Table 1 Sample information

序号 No.	取样点 Sampling points	样品个数 Number of samples	烤烟香型 Grade style of flue-cured tobacco
1	河南宜阳	1	浓香型
2	河南襄县	1	浓香型
3	河南唐河	1	浓香型
4	河南内乡	3	浓香型
5	河南灵宝	1	浓香型
6	河南确山	1	浓香型
7	江西广昌	1	浓香型
8	湖南桂阳	2	浓香型
9	山东高密	1	浓香型
10	湖南江华	2	浓香型
11	广东始兴	1	浓香型
12	山东诸城	2	浓香型
13	陕西洛南	3	浓香型
14	广西富川	1	浓香型
15	广东南雄	1	浓香型
16	山东沂水	1	浓香型
17	安徽宣州	1	浓香型
18	江西信丰	2	浓香型
19	贵州毕节	7	中间香型
20	贵州黔西	4	中间香型
21	贵州金沙	1	中间香型
22	贵州大方	8	中间香型
23	贵州织金	1	中间香型

基金项目 陕西中烟科技项目(BA000-ZB18006)。

作者简介 吕中显(1984—), 男, 河南南阳人, 工程师, 硕士, 从事烟叶调拨工作。

收稿日期 2018-12-10; **修回日期** 2018-12-24

GC/MS 条件:DB-5MS 毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm);载气为高纯氮,流速 1.0 mL/min;进样口温度 250 ℃;进样方式为分流进样,分流比为 30:1;程序升温条件:初始温度 50 ℃,保持 5 min,再以 2 ℃/min 升温至 80 ℃,再以 3 ℃/min 升温至 230 ℃,保持 16 min,最后以 12 ℃/min 升至 250 ℃,保持 20 min。质谱条件:电离方式为 EI+;离子化电压为 70 eV;离子源温度 180 ℃;传输线温度 260 ℃;谱图检索为 WILEY、NIST 谱库进行检索。

1.3 数据处理 采用 SPSS 12.0 对数据进行非参秩和检验,采用 simca-p 建立主成分分析(PCA)模型。

2 结果与分析

2.1 样本的中性致香物质分析 通过 NIST 色谱检索共查出 25 种物质,包括类胡萝卜素降解产物、棕色化反应产物、苯丙氨酸产物及新植二烯,这些物质均为烤烟的中性致香物质^[7]。数据标准化以后,非参秩和检验用来检验浓香型和中间香型烤烟的差异,如表 2 所示,17 种物质 *P* 值<0.05,这些物质可能是区分浓香型和中间香型烤烟的特征成分。除 6-甲基-5-庚烯-2 醇、芳樟醇之外,其余类胡萝卜素类中性致香物质均以浓香型烤烟含量较高,尤其是二氢猕猴桃内酯,是中间香型烤烟含量的 4 倍。而中间香型烤烟含有较高的

表 2 浓香型和中间香型烤烟中的中性致香物质

Table 2 Neutral aroma substances in full flavor and middle-flavored flue-cured tobacco

中性致香物质 Neutral aroma components	保留时间 Retention time min	化学成分分类 Chemical class	<i>P</i> 值 <i>P</i> value	浓香型含量 Full flavor content//μg/g			中间香型含量 Middle fragrant content//μg/g		
				最小值 Minimum	最大值 Maximum	均值 Mean	最小值 Minimum	最大值 Maximum	均值 Mean
糠醛 Furfural	6.96	棕色化产物类	0.001	2.61	13.04	9.03	5.22	24.23	17.21
糠醇 Furfuryl alcohol	7.53	棕色化产物类	0.041	0.11	1.89	0.98	0.35	2.88	1.46
2-乙酰呋喃 2-Acetyl furan	9.31	棕色化产物类	0.020	0.09	1.47	0.48	0.16	0.97	0.52
苯甲醛 Benzaldehyde	11.41	苯丙氨酸裂解产物类	0.001	0.21	1.15	0.55	0.21	2.46	1.37
6-甲基-5-庚烯-2 醇 6-Methyl-5-hepten-2-ol	12.44	类胡萝卜素类	0.001	0.02	0.59	0.12	0.22	0.68	0.45
苯甲醇 benzyl alcohol	14.76	苯丙氨酸裂解产物类	0.692	1.52	12.02	6.59	1.28	14.82	7.28
3,4-二甲基-2,5 呋喃二酮 3,4-Methyl-2,5-Furanone	15.03	棕色化产物类	0.556	0.08	0.72	0.34	0.15	0.94	0.42
苯乙醛 phenylacetaldehyde	15.28	苯丙氨酸裂解产物类	0.412	0.85	7.42	2.52	0.55	5.07	2.36
2-乙酰吡咯 Methyl 2-pyrrolyl ketone	16.18	棕色化产物类	0.116	0.03	1.06	0.39	0.10	0.76	0.33
芳樟醇 Linalool	18.36	类胡萝卜素类	0.001	0.35	0.68	0.48	0.39	2.30	1.55
苯乙醇 Phenethyl alcohol	19.13	苯丙氨酸裂解产物类	0.233	0.49	5.06	2.27	0.50	4.25	1.91
氧化异佛尔酮 Isophorone oxide	20.13	类胡萝卜素类	0.005	0.05	0.24	0.13	0.12	0.33	0.18
4-乙基-2-甲氧基苯酚 4-Acetyl-2-Methoxyphenol	30.57	类西柏烷类	0.001	0.07	3.75	1.30	0.18	0.88	0.44
3-羟基-β-二氢大马酮 3-Hydroxy-β-damascone	33.54	类胡萝卜素类	0.001	5.50	15.46	10.05	1.15	7.09	4.32
茄酮 Solanone	34.65	类西柏烷类	0.049	8.39	90.98	36.63	20.18	94.97	53.94
β-大马酮 β-damasconone	35.58	类胡萝卜素类	0.001	12.91	32.74	19.67	10.13	40.70	28.25
香叶基丙酮 geranylacetone	39.80	类胡萝卜素类	0.001	1.53	6.57	2.98	1.24	3.10	1.78
二氢猕猴桃内酯 dihydroactinidiolide	44.57	类胡萝卜素类	0.001	1.20	5.05	2.42	0.14	1.05	0.60
巨豆三烯二酮 1 Megastigmatrienol 1	45.75	类胡萝卜素类	0.001	0.71	3.98	2.26	0.81	2.31	1.51
巨豆三烯二酮 2 Megastigmatrienol 2	46.70	类胡萝卜素类	0.002	2.47	17.27	8.47	3.06	8.80	5.43
巨豆三烯二酮 3 Megastigmatrienol 3	48.52	类胡萝卜素类	0.017	0.54	2.91	1.70	0.76	1.94	1.26
巨豆三烯二酮 4 Megastigmatrienol 4	49.24	类胡萝卜素类	0.001	5.20	17.00	10.85	2.61	9.25	6.12
螺岩兰草酮 Solavetivone	59.01	类胡萝卜素类	0.064	0.19	4.28	1.51	0.36	1.88	0.98
新植二烯 Neophytadiene	60.87	新植二烯	0.439	810.65	2 287.00	1 099.94	715.33	1 618.30	1 129.39
法尼基丙酮 Farnesyl acetone	64.25	类胡萝卜素类	0.053	6.55	37.18	13.40	1.15	15.44	9.53

棕色化反应产物,尤其是糠醛,是浓香型烤烟含量的 2 倍。

2.2 模式识别和功能分析 PCA 是一种无师监督模式识别,常用于多元统计。PCA 通过降维的方式实现对大量复杂对象的异同的可视化,结果通过得分图显示^[8-9]。利用特征成分建立 PCA 模型。得分图显示(图 1),浓香型烟叶和清香型烟叶被完全地分在 2 个区域。ROC 曲线(Receiver-operator characteristic)用来检验 PCA 模型的鲁棒性(robustness)。ROC 曲线以敏感性为纵坐标,1-特异性为横坐标绘制成曲线,曲线下面积(AUC)越大,识别准确性越高。利用交叉验

证预测 *Y* 的值建立 ROC 曲线,AUC 为 1.000(图 2),表明 PCA 模型有很好的识别能力。

大马酮、巨豆三烯酮、茄酮是在不同香型烤烟中均为含量较高的中性致香物质^[10],有研究表明,这 3 种中性致香物质受生态因素影响较大^[11],且在不同香型烤烟中含量差异达到显著水平^[12]。该研究中不同香型烤烟这 3 类物质的含量均有较大差异。

质体色素是烟叶中重要的香气前体物,其降解产物对烟叶的质量和风格有很大的影响^[13],有研究者认为,浓香型烤

烟类胡萝卜素降解产物含量较低^[14]；也有研究表明，浓香型烤烟中含量较多的为分子量相对较大的香气物质^[15]。但鉴于浓香型烤烟有较明显的颗粒感，且类胡萝卜素降解产物的相对分子量往往较大，笔者认为浓香型烤烟应该含有较高的类胡萝卜素降解产物，该研究也证明了这一点。

中间香型烤烟产区（贵州中海拔地区）的昼夜温差相对较大，还原糖含量相对较高^[5]，这可能是其美拉德反应产物相对较高的原因。

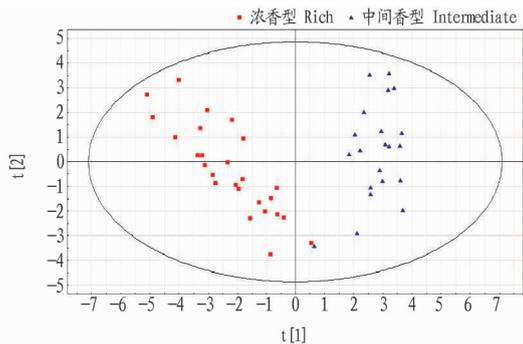


图1 浓香型和清香型烤烟的 PCA 得分

Fig. 1 PCA scores for full flavor and flavored flue-cured tobacco

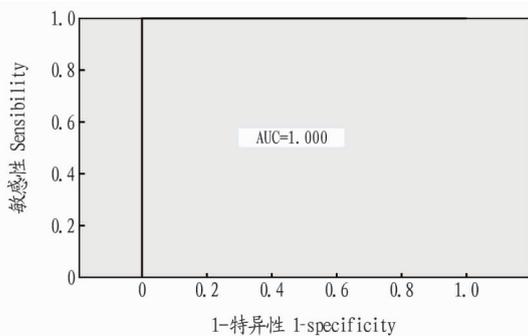


图2 PCA 模型交叉验证预测 Y 的 ROC 曲线

Fig. 2 PCA model cross validation to predict the ROC curve of Y

3 总结

该研究通过 GC/MS 的方法获取不同香型烤烟烤后样的中性致香物质。17 种物质被选择用来建立 PCA 模型，且曲线下面积达 1.000，表明此模型有很好的识别能力。

值得注意的是，该模型并不能完全取代呼吸评价。香型是人对于烤烟燃烧产生的烟气的整体感受，中性致香物质仅是烤烟中一个重要的化学成分，并不能代表整体，但此模型在烤烟香型评鉴、产地识别方面有重要的参考意义。

参考文献

- [1] 唐远驹. 关于烤烟香型问题的探讨[J]. 中国烟草科学, 2011, 32(3): 1-7.
- [2] 李忠, 杨洪明, 徐世涛, 等. 基于质谱的代谢组学方法在烟草化学研究中的应用研究[J]. 分析测试学报, 2007, 26(S1): 294-295, 299.
- [3] 廉芸芸. 我国部分典型烤烟产区烟叶品质特色分析[D]. 北京: 中国农业科学院, 2008.
- [4] 周冀衡, 杨虹琦, 林桂华, 等. 不同烤烟产区烟叶中主要挥发性香气物质的研究[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2004, 30(1): 20-23.
- [5] 李继新, 潘文杰, 田野, 等. 贵州典型生态区烟叶质量特点分析[J]. 中国烟草科学, 2009, 30(1): 62-67.
- [6] 邵丽, 晋艳, 杨宇虹, 等. 生态条件对不同烤烟品种烟叶产质量的影响[J]. 烟草科技, 2002(10): 40-45.
- [7] 周昆, 周清明, 胡晓兰. 烤烟香气物质研究进展[J]. 中国烟草科学, 2008, 29(2): 58-61.
- [8] ANTHONY M L, ROSE V S, NICHOLSON J K, et al. Classification of toxin-induced changes in ¹H NMR spectra of urine using an artificial neural network[J]. J Pharm Biomed Anal, 1995, 13(3): 205-211.
- [9] BECKONERT O, BOLLARD M E, EBBELS T M D, et al. NMR-based metabolomic toxicity classification; Hierarchical cluster analysis and nearest-neighbour approaches[J]. Anal Chim Acta, 2003, 490: 3-15.
- [10] 沈剑波. 清香型与浓香型烤烟部分质量因素的比较[D]. 郑州: 河南农业大学, 2008.
- [11] 王能如, 李章海, 王东胜, 等. 我国烤烟主体香味成分研究初报[J]. 中国烟草科学, 2009, 30(3): 1-6.
- [12] 杜咏梅, 张建平, 王树声, 等. 主导烤烟香型风格及感官质量差异的主要化学指标分析[J]. 中国烟草科学, 2010, 31(5): 7-12.
- [13] 史宏志, 刘国顺, 杨惠娟, 等. 烟草香味学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [14] 杨虹琦, 周冀衡, 罗泽民, 等. 不同产区烤烟中质体色素及降解产物的研究[J]. 西南农业大学学报(自然科学版), 2004, 26(5): 640-644.
- [15] 肖协忠. 烟草化学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997.
- [16] flavonoids from roather[J]. Natural product research, 2019, 33(1): 148-151.
- [17] WANG L L, BAI M G, QIN Y C, et al. Application of ionic liquid-based ultrasonic-assisted extraction of flavonoids from bamboo leaves[J]. Molecules, 2018, 23(9): 1-14.
- [18] 杜芳艳, 邓保炜, 高立国, 等. 离子液体/微波辅助提取海红果渣中总黄酮的响应曲面法研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(17): 222-225, 231.
- [19] 杨润亚, 明永飞, 王慧. 无花果叶中总黄酮的提取及其抗氧化活性测定[J]. 食品科学, 2010, 31(16): 78-82.
- [20] TAN Z J, YI Y J, WANG H Y, et al. Extraction, preconcentration and isolation of flavonoids from *Apocynum venetum* L. leaves using ionic liquid-based ultrasonic-assisted extraction coupled with an aqueous biphasic system[J]. Molecules, 2016, 21(3): 1-11.
- [21] XU D P, ZHENG J, ZHOU Y, et al. Ultrasound-assisted extraction of natural antioxidants from the flower of *Limonium sinuatum*: Optimization and comparison with conventional methods[J]. Food chemistry, 2017, 217: 552-559.
- [22] 温晋芳, 姜在民, 苑文柯, 等. 唐棣果黄酮类化合物的提取及抗氧化性研究[J]. 西北林学院学报, 2017, 32(2): 218-224.
- [23] 杜鹏瑶, 王丽红, 刘德江, 等. 响应面法优化树舌灵芝多糖提取工艺[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(34): 148-151, 168.

(上接第 163 页)

- [3] JURÍKOVÁ T, BALLA S, SOCHOR J, et al. Flavonoid profile of Saskatoon berries (*Amelanchier alnifolia* Nutt.) and their health promoting effects[J]. Molecules, 2013, 18(10): 12571-12586.
- [4] JIN A L, OZGA J A, KENNEDY J A, et al. Developmental profile of anthocyanin, flavonol, and proanthocyanidin type, content, and localization in Saskatoon fruits (*Amelanchier alnifolia* Nutt.) [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2015, 63(5): 1601-1614.
- [5] 于强波. 桤叶唐棣生物学特性及栽培技术[J]. 山西果树, 2017(5): 32-33.
- [6] 曹丽娟, 张卓睿, 王傍, 等. 响应面法优化桤叶唐棣果酒发酵工艺的研究[J]. 中国酿造, 2018, 37(6): 145-149.
- [7] 张卓睿, 郝闯, 李玲, 等. 桤叶唐棣米酒的酿造及抗氧化性研究[J]. 中国酿造, 2016, 35(10): 184-188.
- [8] 张二连, 张卓睿, 孟庆繁, 等. 超声波辅助提取桤叶唐棣果胶的工艺优化[J]. 湖北农业科学, 2016, 55(13): 3439-3442.
- [9] 杨馥溪. 深度共熔溶剂提取花青素及其抗氧化性能评估和微胶囊制备的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2017: 7-11.
- [10] 苏小丹, 张卓睿, 孟庆繁, 等. 桤叶唐棣中花色苷提取工艺的研究[J]. 湖北农业科学, 2016, 55(11): 2864-2866, 2916.
- [11] DRŮŽ DŽ P, PYRZYŃSKA K. Screening of ionic liquids for extraction of