

一种番茄复合酶解提取物的制备及其在卷烟加香中的应用

杨蕾¹, 冯洪涛¹, 杨乾栩¹, 蔡波¹, 董石飞², 徐艳群¹, 何雪峰^{*1}

(1. 云南中烟有限责任公司技术中心, 云南 昆明 650231; 2. 红云红河烟草(集团)有限责任公司, 云南 昆明 650202)

摘要: 为进一步挖掘番茄提取物在卷烟中的应用, 本文研究了复合酶水解—美拉德反应处理复配后的番茄提取物的化学成分及其应用效果。结果表明, 经果胶酶-糖化酶-纤维素酶复合酶处理, 再经美拉德反应后的番茄提取物, 经 GC-MS 分析, 可获得 13 种挥发性成分; 该流程获得的番茄提取物主要是低相对分子质量的醛类、酮类、酯类和醇类化合物, 分子结构相对简单, 溶解性较好, 用于卷烟加香加料时, 更易于卷烟的吸收; 产物经蒸馏获得的挥发性头香组分和沉淀萃取的潜香组分, 通过不同比例复配应用于卷烟后, 具有不同感官效果; 添加实验表明, 番茄复合酶解提取物应用于烟丝后, 能够柔和烟气、丰富烟香、增加清甜韵感、降低刺激感, 有利于卷烟抽吸品质的提升。

关键词: 番茄提取物; 复合酶; 水解; 美拉德反应; 挥发性成分

中图分类号: TQ 657.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-1689(2017)05-0531-06

Preparation of a Tomato Extract by Enzymatic Hydrolysis and Its Application in Cigarette Flavoring

YANG Lei¹, FENG Hongtao¹, YANG Qianxu¹, CAI Bo¹, DONG Shifei², XU Yanqun¹, HE Xuefeng^{*1}

(1. China Tobacco Yunnan Industrial Co., Ltd. Technology Center, Kunming 650231, China; 2. Hongyun Honghe Tobacco Group Co. Ltd, Kunming 650202, China)

Abstract: The research studied the chemical composition of tomato extract prepared by complex enzyme hydrolysis coupled with Maillard procession and its application in cigarette. Results showed that: with the hydrolysis of pectinase - glucoamylase - cellulase complex enzymes and then the Maillard reaction, the tomato extract contained 13 kinds of volatile components by GC-MS analysis; the tomato extract was rich in low molecular weight compounds such as aldehydes, ketones, esters and alcohols, which were relatively simple with good solubility and better cigarette absorption when used in cigarette flavoring; the mixtures of volatile fragrant components obtained by distillation and

收稿日期: 2015-05-07

基金项目: 云南中烟技术中心科技项目(JSZX2014CP03); 云南中烟工业有限公司科技项目(2013GY02)。

作者简介: 杨蕾(1982—), 女, 硕士, 主要从事卷烟产品研究。E-mail: ylei@ynzy-tobacco.com

* 通信作者: 何雪峰(1974—), 男, 工程师, 主要从事卷烟产品研究。E-mail: 86324074@qq.com

引用本文: 杨蕾, 冯洪涛, 杨乾栩, 等. 一种番茄复合酶解提取物的制备及其在卷烟加香中的应用[J]. 食品与生物技术学报, 2017, 36(05): 531-536.

latent fragrant components obtained by sediment extraction with different proportions, possessed different sensory effects; the sensory evaluation indicated that the mixtures improved smoothness, enriched incense smoke, increased a sense of sweet rhyme and reduced irritation, and thus improved the quality of cigarettes.

Keywords: tomato extract, complex enzyme, hydrolysis, maillard reaction, volatile components

番茄 (*Lycopersicon esculentum* Mill), 俗称西红柿, 为茄科番茄属一年生草本植物^[1]。在番茄果实中已经发现 385 中芳香成分, 也有人报道番茄中已经有 400 多种物质被分离出来, 其中至少有十几种是主要特征化合物^[2-3]。由于番茄本身含有丰富的胡萝卜素、碳水化合物、蛋白质和果胶等, 同时其所含氨基酸含量更是大于 1%^[4]。目前, 番茄提取物已广泛用于食品调味料和饮料行业^[5-6]。采用常规方法制备番茄提取物报道较多^[7]。在烟草行业中, 仅见杨玉芳等^[8]采用有机回流萃取法制备番茄提取物, 并用于卷烟加香。

目前, 美拉德反应^[9-10]仍是烟草特征香味形成的重要反应之一, 美拉德反应产物在烟草增香方面的应用研究倍受青睐^[11]。例如: 林翔等^[12]利用复合酶处理梗丝, 从而改善烟梗品质, 提高梗丝可用性。如果可以利用番茄本身较丰富的大分子资源如蛋白质、果胶、碳水化合物, 以及丰富的氨基酸, 研究适合大分子降解反应和美拉德反应的条件及方法, 将可合理的利用番茄本身的化学成分特点, 无需过多依赖外来美拉德反应物, 从而制备品质较好的番茄提取物。

基于此思想, 本文作者建立了番茄复合酶提取物的制备流程, 并将所得提取物进行卷烟添加试验和化学成分分析, 取得了较好的结果。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验材料 番茄, 购自当地市场; 云产卷烟 A 产品成品烟支, 云产卷烟 A 产品未加料烟丝; 葡萄糖, 购自苏州市品诺化工有限公司; 果胶酶、糖化酶、纤维素酶, 均购自诺维信(中国)生物技术有限公司。

1.1.2 试剂 95%乙醇(分析纯)、无水乙醇(分析纯)等, 均购自天津瑞金特化学试剂公司。

1.1.3 仪器 RE-52 型旋转蒸发仪, 上海安亭电子

仪器厂制造; Agilent6890N/5975 气相色谱-质谱联用仪, 美国 Agilent 公司产品; 同时蒸馏萃取装置, 由郑州大学提供; CIJECTOR 型自动注射加香仪, 购自瑞士 Burghart 公司; BinderKBF240 恒温恒湿箱; DM 型调温电热套, 购自山东鄞城华鲁电热仪器有限公司。

1.2 番茄复合酶提取物的制备

根据纤维素酶、糖化酶、果胶酶的基本酶学数据^[13-14], 确定复合酶的比例组成及最佳基本酶解参数^[15-16], 称取番茄 100 g, 洗净打浆后, 加入 25 mL 质量比 1:3:1 的果胶酶-糖化酶-纤维素酶所组成的复合酶, 在 pH 4.5、65 °C 条件下搅拌 2 h, 获得富含单糖的酶解产物; 酶解产物中的酶经灭活后, 加入 25 g 葡萄糖^[17], 混合均匀后, 保持 25 °C, 5 h 进行美拉德反应; 美拉德反应产物直接蒸馏^[18], 其中挥发性成分作为头香组分; 蒸馏后的残渣用质量比 1:2 的乙醇和水的复合溶剂加热提取, 浓缩后取上清液获得潜香组分; 将头香组分和潜香组分分别按照 3:1、1:1、1:3 的质量比混合, 6 °C 冷藏 72 h 后, 取上清液即获得 3 种番茄复合酶酶解提取物。

1.3 功效评价及筛选

将获得的 3 种番茄复合酶酶解提取物分别配制为含提取物 0.1 g/dL 的无水乙醇溶液, 用自动注射加香仪将溶液分别注入到云产卷烟 A 产品成品烟支中, 注射量为 60 mm^[19]。将注射后的云烟 A 产品成品烟支密封, 并均匀地放在恒温 (22±1) °C 恒湿 (相对 pH 为 60%±2%) 箱内平衡 48 h 后^[20], 经由 10 人组成的专业评吸小组, 对烟支样品的感官质量进行评吸, 选取香气丰富性、杂气及刺激、柔和细腻度、回味甜感及舒适性 4 个要素作为量化其功效的指标^[21], 结合文字描述的方法, 对上述 3 种番茄复合酶酶解提取物进行筛选。

1.4 GC/MS 分析

1) 气相色谱条件: 色谱柱: HP-5MS 弹性石英毛细管柱 (30 m×0.25 mm×0.25 μm); 载气: He, 流速:

1 mL/min;进样口温度:260 ℃;进样量:2 μL;分流进样,分流比:10:1;升温程序:初始温度50 ℃,保持2 min;以5 ℃/min的速度升温至140 ℃,保持1 min;再以10 ℃/min的速率升温至280 ℃,保持1 min;GC/MS接口温度:280 ℃;离子源:电子轰击离子源(EI);离子源温度:200 ℃;电离能量:70 eV;四级杆温度:160 ℃;扫描范围为35~455 m/z。

2)谱图检索:采用Wiley、Nist谱图库进行检索。

3)质谱图的鉴定:通过检索Wiley、Nist05谱图库与标准质谱图对照、解析,确定挥发性成分。并用色谱峰面积归一法定量计算得各挥发性成分的相对百分含量。

1.5 卷烟加香

取在恒温恒湿箱内平衡48 h的实验烟丝50 g若干份,称取番茄复合酶提取物,以加香方式按其

烟丝质量的0.05%、0.1%、0.2%和0.4%分别添加,用微量喷雾器均匀地喷加在烟丝上。将加香烟丝卷制成烟支后再放入恒温恒湿箱内平衡48 h后,由专业评吸小组,按照GB/T5606.4-2005^[2]从香气、协调、杂气、刺激性和余味5个方面对卷烟加香效果进行感官评价。

2 结果与讨论

2.1 番茄复合酶解提取物功效评价及筛选结果

综合表1评价结果,添加了番茄复合酶解提取物III样品的云产卷烟A产品清甜香韵增加较明显,回味甜感及舒适性改善较好,整体与云产卷烟A产品原香气风格较协调,因此,选择其即头香组分和潜香组分质量比为1:3的番茄复合酶解提取物III样品,进行卷烟加香实验。

表1 不同番茄复合酶解提取物功效评价表

Table 1 Sensory results of cigarette flavoring with three tomato extracts

番茄复合酶解提取物	头香组分和潜香组分质量比	香气丰富性	杂气及刺激	柔和细腻度	回味甜感及舒适性	备注
I	3:1	增加明显	降低	略有增加	略有改善	香气增加明显,但对于改善卷烟细腻度方面不明显
II	1:1	略有增加	有降低	有增加	有改善	各方面均有所改善,但特征效果不明显
III	1:3	有增加	降低明显	有增加	明显改善	清甜香韵明显,降低刺激,改善卷烟柔和性较好

2.2 GC/MS 分析结果

番茄复合酶解提取物III样品GC/MS分析的总离子流色谱图见图1。通过NIST和WILEY谱库检索,以匹配度≥80%定性,内标法定量,鉴定出了其中的13种。

通过面积归一化法从总离子流图中计算出主要成分的相对峰面积百分含量,结果见表2。

对番茄复合酶解提取物III样品的成分进行分

类分析,结果见图2。

从表2来看,与常规番茄提取物相比^[9],经复合酶水解及美拉德反应后的番茄提取物,为富含单糖的酶解产物,产物主要是低相对分子质量的化合物,其水溶性和脂溶性的致香成分分子结构相对简单,溶解性较好。用于卷烟加香加料时,更易于卷烟的吸收,有利于卷烟抽吸品质的提升。

从其致香成分分布来看,含量较高的主要为醛

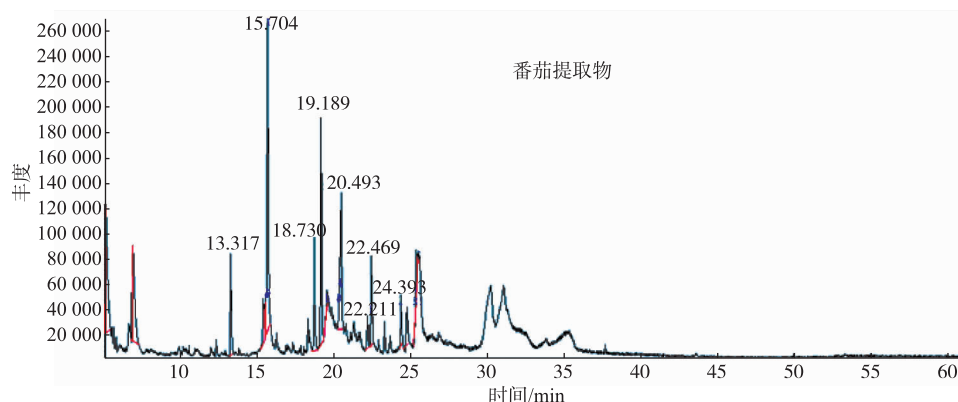


图1 番茄复合酶解提取物的总离子流量图

Fig. 1 GC/MS TIC profile of tomato extract III

表 2 番茄复合酶解提取物所含主要成分及相对峰面积含量

Table 2 Main chemicals and relative peak area for tomato extract III

序号	保留时间/ min	化合物	化合物名称	峰面积百分含量/%
1	5.15	dl-Glyceraldehyde	DL-甘油醛	12.92
2	6.91	(S)-(+)-2-Amino-3-methyl-1-butanol	L-缬氨酸	2.4
3	6.92	2-methyl propionic acid	2-甲基丙酸	9.69
4	13.32	Thymine	2,4-二羟基-5-甲基嘧啶	5.06
5	15.44	glyceraldehyde	L-(-)-甘油醛	2.92
6	15.57	dl-Threitol	DL-苏糖醇	1.76
7	15.70	2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4h-pyran-4-one	2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4(4H)-吡喃-4-酮	18.55
8	18.73	5-hydroxymethylfurfural	5-羟甲基糠醛	5.76
9	19.19	Glycerolmonoacetate	单醋酸甘油酯	10.18
10	19.53	3-hydroxybutyrate	3-羟基丁酸	0.45
11	20.50	1,7-Diaminoheptane	1,7-二氨基庚烷	11.49
12	22.47	6-chlorohexyl ester	戊酸酯	4.6
13	24.78	1-[3-Hydroxypropyl]-aziridine	1-(3-羟丙基)-氮丙啶	3.18

类、酮类、酯类和醇类化合物。醛类物质一般具有青气,可以改善卷烟口腔舒适度,赋予卷烟清新、明快的感官品质^[23],其中,以甘油醛含量为最高,其作为糖类代谢的中间产物,具有甜味,且挥发性较强,对于增加烟气甜润度有一定作用^[24]。酯类物质中以低级脂肪酸酯 C3~C6 为主,是一类可以明显增加香甜的水果香韵的物质^[25],而其含量最高的单醋酸甘油酯,可起到分散和防腐保鲜等作用,明显改善口感。酮类物质以 2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4(4H)-吡喃-4-酮^[26]含量较高,它是典型的焦糖类香味的化合物,具有焦甜和融熔黄油的香味^[27],对提升烟气浓度,丰富烟草香韵有较好作用^[28-29]。酸类物质以低碳原子羧酸为主,在卷烟调香中对于降低刺激,柔和烟气,改善口感具有较好的作用^[30]。

表 3 番茄复合酶解提取物应用于卷烟加香评吸结果

Table 3 Results of cigarette flavoring with different concentrations of tomato extract III

添加量	香气	协调	杂气	刺激性	余味	综合评价
对照 (未添加)	平淡,较粗糙	较协调	有	有	有残留,尚舒适	浓度适中,有生青杂气,刺激性中,略有甜感,口腔有残留
质量分数 0.05%	适中,微粗糙	较协调	略有	略有	尚净,较舒适	浓度适中,杂气明显减弱,刺激性降低,清甜香韵有所增加,回甜感增加,余味改善
质量分数 0.10%	适中,较丰满	协调	微有	微有	较净,较舒适	浓度适中杂气显著减轻,刺激性显著降低,清甜香韵明显增加,烟香自然感较好,回甜感明显,较舒适,口腔残留感明显减轻
质量分数 0.2%	较丰满,细腻,	协调	微有	微有	纯净,舒适	浓度适中,透发,杂气明显减轻,刺激性低,清甜香韵显著增加,自然烟香、回甜感较明显,较舒适,口腔较干净
质量分数 0.4%	丰富性降低	较协调	有	有	有残留,尚舒适	浓度有降低,较透发,有杂气,刺激性微有,自然烟香略有降低,甜度增加明显,口腔微残留

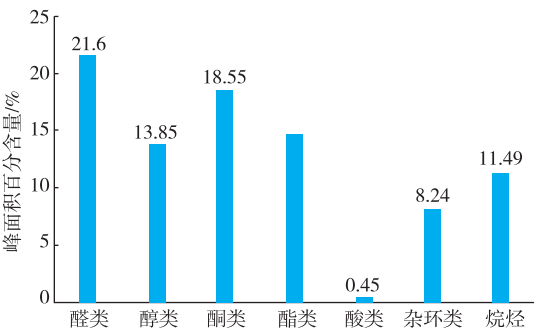


图 2 番茄复合酶解提取物 III 成分分类分析

Fig. 2 Composition analysis of tomato extract III

2.3 卷烟加香实验评吸结果

将番茄复合酶提取物 III 样品按不同添加比例加入卷烟烟丝中进行加香评吸实验,结果见表 3。

加香评吸结果表明,番茄复合酶提取物 III 样品加入卷烟后能够柔和烟气、丰富烟香、增加清甜韵感、降低刺激感,但如果添加量过多,会出现掩盖烟香、协调性降低、舌面有残留的现象。不同添加量的结果表明,番茄复合酶提取物按烟丝质量的 0.2% 添加时,感官质量改善效果最好,清甜香韵增加较明显,且在柔和烟气、降低低刺激、减少杂气、改善余味方面效果较好;当添加量 $\geq 4\%$,感官质量改善效果有所降低。

3 结 语

利用番茄自身含有丰富的氮源,补充适量的糖,发生美拉德反应,将番茄中不利于卷烟抽吸品质的含氮化合物转变成小分子的挥发性成分,再采

用复合溶剂提取番茄中有利于卷烟抽吸品质的脂溶性成分,获得最终产物,其嗅香具有欢快的清新感和浅浅的糖甜香。加入到烟草中后,具有清甜圆润感,口感饱满圆润,在不影响卷烟的自然烟香的情况下可以提高卷烟的品质。

原料番茄,成本低廉,极易获得。通过合适比例的果胶酶-糖化酶-纤维素酶的复合酶解,可以最大程度分解番茄中的胶质和碳水化合物,为美拉德反应提供底物,充分利用了原材料。

通过美拉德产物获得的头香和潜香组分,通过一定比例复配,在卷烟中使用后,能够柔和烟气、丰富烟香、增加甜韵感、降低刺激感,极大提高了卷烟抽吸品质,在卷烟加香中具有一定的开发应用前景。

参考文献:

- [1] 中国农业百科全书编辑部. 中国农业百科全书(蔬菜卷)[M]. 北京:中国农业出版社,1990:72-74.
- [2] BALDWIN E A, SCOTT J W, SHEWMAKER C K. Flavor trivia and tomato aroma: biochemistry and possible mechanisms for control of important aroma components[J]. **Hortscience**, 2000, 35(6): 1013-1021.
- [3] BUTTERY R G, LING L C. Volatiles of tomato fruit and plant parts: relationship and biogenesis [J]. **Bioactive Volatile Compounds from Plants**, 1993, 525: 23-34.
- [4] YUE Dong, LIU Na, ZHU Weimin, et al. Analysis of amino acid composition and several quality indicators of cherry tomato and common tomato[J]. **Food Science**, 2015, 36(4): 92-96. (in Chinese)
- [5] QIAO Baojian, ZHANG Shaowen. History of tomato[J]. **China Cucurbits and Vegetables**, 2009(4): 62-64. (in Chinese)
- [6] LIU Dianfeng, LI Mingze, MA Yanhua, et al. Production of fermented milk drink containing tomato and aloe juices [J]. **China Brewing**, 2009(12): 134-136. (in Chinese)
- [7] CHAO Nan, ZHAO Ming. Study on extraction of lycopene from fresh tomatoes [J]. **China Chemicals**, 2009 (3): 42-44. (in Chinese)
- [8] YANG Yufang, CAO Qiue, WANG Yu, et al. Study on tomato extract with application in cigarette flavoring [J]. **Applied Chemical Industry**, 2010(39): 568-570. (in Chinese)
- [9] LEID F, SCHLEICHER E. New aspects of the Maillard reaction in foods and in the human body [J]. **Angewandte Chemie International Edition in English**, 1990, 29(6): 565-594.
- [10] GORINSTEIN S, ZEMSER M, FRIEDMAN M, et al. Physicochemical characterization of the structural stability of some plant globulins[J]. **Food Chemistry**, 1996, 56(2): 131-138.
- [11] XIAO Huaiqiu, LI Yuzhen, LIN Qinlu. Maillard reaction and its application in food flavor [J]. **Applied China Food Additives**, 2005(5): 27-30. (in Chinese)
- [12] LIN Xiang, TAO Hong, SHENG Guanglin, et al. Research on improving quality of tobacco stem by using compounding enzyme[J]. **Journal of Anhui Agricultural Sciences**, 2011, 39(4): 2064-2066. (in Chinese)
- [13] WANG Lin, LIU Guosheng, WANG Linsong, et al. The optimal conditions for cellulase activity measurement with DNS method [J]. **Journal of Henan Normal University (Natural Science)**, 1998, 26(3): 66-69. (in Chinese)

- [14] GU Yansong. Textile bio-additive method for determination of pectinase enzyme activity [J]. **Textile Science Research**, 2002, (3):29-35.
- [15] SUN Weiman, WANG Sui. Study on enzymatic deglycosylation of flavonoids [J]. **Journal of Harbin University of Commerce (Natural Sciences Edition)**, 2012(6):357-367. (in Chinese)
- [16] SUN Weiman, WANG Sui. Study on antioxidant activity of total flavonoids in nicandrophysaloidesextract[J]. **Chemical Research and Application**, 2013, 8(25):1195-1199. (in Chinese)
- [17] LIU Guozhen, ZHU Wei, HUANG Long, et al. Maillard reaction of glucose and glutamic acid [J]. **Tobacco Science & Technology**, 2002(10):30-33. (in Chinese)
- [18] CHEN Chenghan, HUANG Weixing, YANG Minghui, et al. Separation factor for the evaluation of separation effects in short-path distillation operation[J]. **Journal of Chemical Engineering of Chinese Universities**, 2013, 27(5):749-754. (in Chinese)
- [19] SONG Yubing, ZHONG Yongli, LI Yanqiang, et al. A study on dissipation rates of ester flavors in cigarettes [J]. **Acta Tabacaria Sinica**, 2007(12):1-6. (in Chinese)
- [20] 国家烟草专卖局, 全国烟草标准化技术委员会. YC/T157-2001 卷烟 总粒相物中水分的测定 气相色谱法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2001.
- [21] YANG Lei, YANG Qing, LI Yong, et al. The applied research of tobacco spices monomer in Honghe cigarette products table shannon design[J]. **Acta Tabacaria Sinica**, 2011(2):32-37. (in Chinese)
- [22] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准管理委员会. GB/T 5606.4-2005 卷烟感官技术要求[S]. 北京: 中国标准出版社, 2005.
- [23] 边瑞芳, 十一烯醛乙二醇缩醛的合成及其在卷烟中的应用[D]. 无锡: 江南大学, 2006.
- [24] XIE Congxia, YU Shitao, LIU Shiwei, et al. Research situation on deep processing of the by-product glycerin from biodiesel production[J]. **Biomass Chemical Engineering**, 2008, 42(4):35-42. (in Chinese)
- [25] 赵铭钦. 烟草调香学[M]. 北京: 科学出版社, 2008.
- [26] BALTES W, KNOCH E. Model reactions on roast aroma formation. XIII. The formation of some uncommon N-heterocyclic compounds and furans after roasting of tryptophan with reducing sugars and sugar degradation products [J]. **Food Chemistry**, 1993, 46(4):343-349.
- [27] CHEM Yongkuan, KONG Ningchuan, WU Yi, et al. Study on synthesis and thermolysis of 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one[J]. **Chemical Research and Application**, 2003(2):45-46. (in Chinese)
- [28] NIU Yong, ZOU Peng, SHU Junsheng, et al. Influence of dry-ice expansion on some aroma components in cut tobacco [J]. **Tobacco Science & Technology**, 2014(9):57-60. (in Chinese)
- [29] LI Lin, WEI Jie, WANG Baoxiang, et al. Tobacco extract made from tobacco fragments with complex enzymes [J]. **Hubei Agricultural Sciences**, 2012(9):1803-1807. (in Chinese)
- [30] MIAO Enming, GENG Yongqin, YANG Yekun, et al. Analysis and comparison of the pyrolysis products and volatile constituents of several tobacco essence and casing flavour samples[J]. **Journal of Anhui Agricultural Sciences**, 2012, 40(14):8205-8209. (in Chinese)