

目 次

1. 特征香味丙烯基烷基甲酮的合成..... 李琼, 黄亚文, 卢星, 何锡敏 (1)
2. 含烯香料的环丙烷化改造..... 戴晖, 陆欢 (7)
3. 从异佛尔酮合成香原料..... 陈恩治, 金涛 (21)
4. 分子蒸馏技术分离怀化甜橙油低沸化合物及成分分析..... 吴涵 (29)
5. 迷迭香的两种化学型精油成分对比和安全性研究..... 黄健, 王瑞, 姚雷 (34)
6. 论香精香料研究中的科学、技术和创新..... 陈洪, 孙菁煜 (40)
7. 酶解与美拉德反应相结合制备蛋糕香精..... 李美, 许丽萍, 彭立人 (45)
8. 利用响应面分析法优化鸡肉香精..... 郝学财, 郑宝良 (49)
9. 超临界 CO₂ 萃取与分子蒸馏技术, 提取白兰花中芳樟醇的研究.....
..... 喻世涛, 王萍, 朱巍, 吴昭, 熊国玺 (57)
10. 刺梨提取物致香成分双柱分析及其在卷烟中的应用..... 彤霖, 朱巍, 吴昭, 潘婷婷, 黄龙 (61)
11. 丁香花蕾油的超临界 CO₂ 萃取及其在卷烟中的应用..... 王珊, 彤霖, 潘婷婷, 王娜, 黄晓伟 (66)
12. 发酵覆盆子香料的挥发性成分分析..... 王萍, 王娜, 杨俊鹏, 庞登红, 喻世涛, 熊国玺 (74)
13. 诃子提取物清除自由基活性研究..... 刘鑫, 朱巍, 周湘, 陈胜, 熊国玺 (78)
14. 酿酒酵母 HHL-1 处理白肋烟制备特色白肋烟浸膏及其在卷烟中的应用.....
..... 庞登红, 王娜, 王萍, 周湘, 熊国玺 (86)
15. 香蒿的超临界 CO₂ 萃取物在卷烟中的应用研究..... 黄龙, 朱巍, 吴昭, 彤霖 (92)
16. 二辛酸丙二醇酯的非水相酶催化合成研究..... 于铁妹, 姜兴涛, 张贤平, 邹慧, 肖友检 (98)
17. 3-氧代- α -紫罗兰酮的合成及应用.....
..... 朱卓越, 黄淑芳, 杨华武, 邓昌健, 付见山, 赵瑜, 陈雄, 黎艳玲, 苏利霞 (104)
18. 自制吸附萃取搅拌棒结合气相色谱嗅觉计 (GC/O)、气质联用仪 (GC/MS) 分析肉味香精呈香组分.....
..... 邓莉, 邢海鹏, 郝学财, 刘娜, 郭聪 (108)
19. 中国岩兰草的现状..... 肖婷婷, 肖瑜 (115)
20. 超声波辅助萃取天然植物香料研究进展..... 余汉谋, 姜兴涛, 肖海鸿, 李庆廷, 燕飞宇 (118)
21. 藏红花酸乙酯的合成研究..... 马洪亮, 吴奇林 (122)
22. 香兰素杂质分析与质量控制..... 周永军, 陈澄, 杜德祥, 邹炳其, 毛海舫 (125)
23. 醛酮类香料的合成..... 朱卓越, 杨华武, 陈勇, 赵瑜, 陈雄, 黎艳玲, 苏利霞 (128)
24. 己酸生产中乙酸的回收研究..... 谷长安, 谷利敏, 刘香菊, 王彦平 (134)
25. 热脱附-气相色谱-质谱法在烟叶致香成分分析中的应用.....
..... 赵瑜, 杨华武, 谭新良, 钟科军, 朱卓越, 李燕春 (137)
26. 芳香按摩疗法的应用原理..... 梅家齐, 周欣欣 (142)
27. 超临界 CO₂ 萃取-分子蒸馏联用技术提取富集, 沙姜中对甲氧基肉桂酸乙酯.....
..... 韩红梅, 黄妙玲, 卓利梅, 黄永平, 朱龙平, 梅家齐, 杨得坡 (148)
28. Ultimate AQ C18 柱 HPLC 法测定烟草中有机酸含量..... 程勇, 陈玲, 邓晓春 (152)
29. SPC 在香精行业质量管理中的应用研究..... 钟巧霞, 尉朝 (157)
30. 苯基丙二酸热分解向卷烟烟气释放苯乙酸的研究..... 黎艳玲, 杨华武, 邓昌健, 傅见山 (163)
31. 连续化微反应技术在香料、香精和化妆品合成中的应用..... 赵东波, 刘涛 (166)
32. 探索辐照技术在香料及化妆品工业中的应用..... 龚 葵, 卢永凯, 张宏冰 (176)

特征香味丙烯基烷基甲酮的合成

李琼¹ 黄亚文² 卢星² 何锡敏²

(1. 上海应用技术学院 200235; 2. 上海香料研究所 200232)

Synthesis of Some Propenyl Alkyl Ketone With Characteristic Flavor Properties

Li Qiong¹ Huang Yawen² Lu Xing² He Ximin²

(1. Shanghai Institute of Technology 200235;

2. Shanghai Research Institute of Fragrance & Flavor Industry 200232)

摘要: 本文用烷基酯与烯丙基氯进行格氏反应得到烷基二烯丙基甲醇, 在碱性条件下对叔醇进行分解, 再用对甲苯磺酸异构得到丙烯基烷基甲酮。此方法可应用于合成含丙烯基酮结构的特征香味料和香料中间体。

Abstract: This paper reports an efficient three-steps synthesis of propenyl alkyl ketone which involves the fragmentation, in an aprotic solvent, of a dihomallylic potassium alkoxide whose parent alcohol is readily prepared from a carboxylic ester by the double addition of allyl magnesium chloride through Grignard reaction, then the mixture obtained by the fragmentation can further be treated by p-toluenesulfonic acid. The described method is fit for the synthesis of characteristic flavoring substances and intermediates with propenyl alkyl ketone structure.

关键词: 烯酮; 突厥酮; 榛子酮; 玫瑰

Key words: Unsaturated, Ketones, Damascone Filbertone, Rose

一、引言

烯酮类香料是一类重要的香料化合物, 其品种日益丰富^[1], 应用范围不断扩大, 可以广泛用于调配各种日化香精与食品香精。对烯酮类香料的结构和香气分析可以得知, 丙烯基烷基甲酮香料具有较高的使用价值, 近年来成为人们重点研究的方向。有些品种具有良好的特征香气, 是配制香精(如榛子、蘑菇和玫瑰香型)的特征香味料, 还有的是合成其他香料的关键中间体(如4-己烯-3-酮)(见表1)。

表1 丙烯基烷基甲酮香料

名称	结构式	CASRN	FEMA	香气特征	理化性质	
					比重 (25℃)	折光率 (20℃)
2-辛烯-4-酮		4643-27-0	3603	具有酵母、蘑菇、菠萝样果香, 并有金属气息	0.835-0.842	1.440-1.446
榛子酮		81925-81-7	3761	具有尖刺的榛子样坚果香气, 并有烤香、酮香和咖啡样香气	0.845-0.852	1.440-1.445
4-己烯-3-酮		2497-21-4	3352	冲击而辛辣的金属气息	0.855-0.861	1.437-1.443
3-戊烯-2-酮		625-33-2	3417	水果香气, 在贮藏期间变为辣的刺激味	0.860-0.865	1.433-1.437
2-庚烯-4-酮		4643-25-8	3399	冲击的金属气息	0.845-0.852	1.440-1.445
α-突厥酮		43052-87-5 24720-09-0	3659	具有甜的果香、花香、木香、青香和浆果香	0.928-0.938	1.492-1.499

β -突厥酮		23726-92-3	3243	具有青香、果香、花香和壤香	0.934-0.942	1.496-1.501
--------------	--	------------	------	---------------	-------------	-------------

二、合成方法与反应机理

2.1 合成方法

制备烯丙基烷基甲酮香料存在难度大或三废大等问题。本文着重研究 β -突厥酮的合成方法，发现了具有实用性的制造烯丙基烷基甲酮香料的通用方法。

烯丙基烷基甲酮可以通过以下方法合成(见图1)。烯丙基氯(I)与金属镁在醚的溶剂中,形成烯丙基氯化镁格氏试剂(II),烷基甲酸乙酯(III)与烯丙基氯化镁格氏试剂(II)反应,经水解后生成4-烷基-1,6-庚二烯醇-4(IV),该化合物在对质子惰性的溶剂下,用强碱作用,进行分解反应生成烯丙基烷基甲酮(V),烯丙基烷基甲酮(V)在溶剂存在下用对甲苯磺酸催化,进行异构反应,即制得烯丙基烷基甲酮(VI)。

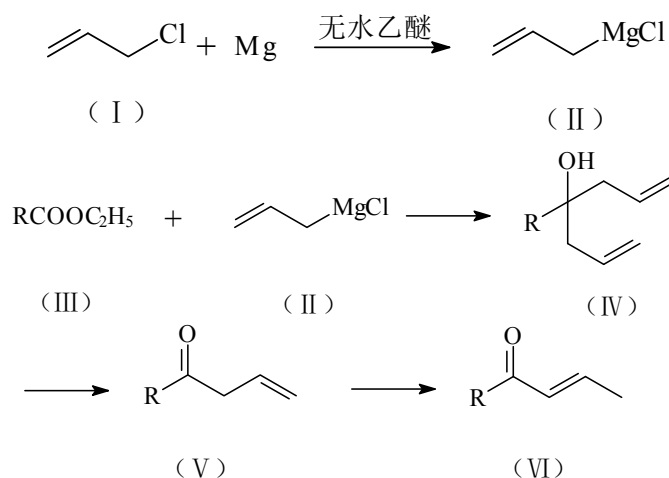


图1 合成烯丙基烷基甲酮通用方法

2.2 分解反应机理

4-烷基-1,6-庚二烯醇-4在对质子惰性的溶剂下进行分解反应,生成烯丙基烷基甲酮。反应机理如图2所示。在强碱作用下夺取烷基二烯丙基甲醇中羟基的质子,经电子转移,一份烯丙基从此叔醇离去,形成烷基烯丙基甲酮和烯丙基钾,再通过烷基烯丙基甲酮的烯醇式转化,经酸化可得稳定的烷基烯丙基甲酮和丙烯。从反应机理可知,该类反应的中间体须含有烯丙基结构,并在强碱的存在下方可进行此分解反应。

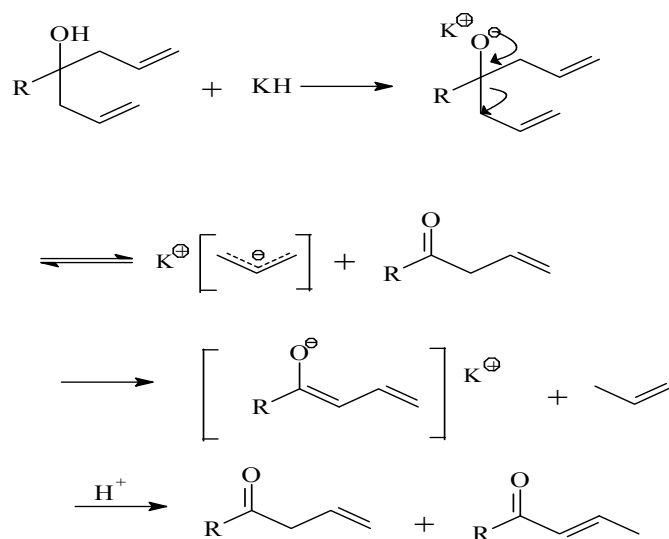


图2 4-烷基-1,6-庚二烯醇-4分解反应机理

三、 β -突厥酮的合成实例

在日化香精中，玫瑰香是最主要、最常使用的花香之一。玫瑰花油早在二千年以前就作为香料使用，至今仍是价昂难得的香料品种，其中以产于保加利亚的突厥玫瑰(又称大马士革玫瑰Rose damascena)花精油最为名贵。国际市场每年需3-3.5吨玫瑰油，其中保加利亚玫瑰油约占50%^[2]。由于突厥玫瑰精油占有非常重要的位置，人们对其成份进行分析研究，1970年Demole, E.等首先从突厥玫瑰精油中分离出微量的具有诱人浓甜香的 β -突厥烯酮及 β -突厥酮^[3]，至此人们比较全面地了解了构成玫瑰花优美香气的原因。

β -突厥酮存在于保加利亚玫瑰油、各种烟草油、葡萄及其酒类、布枯叶油、蜂蜜、蜜酒、洋甘菊和红茶中。国际香料界对突厥酮类化合物合成进行了大量研究，尤其是Firmenich工作组作出了极大的贡献，在上世纪90年代中期才基本结束研究任务。其间经历了各种路线的探索，如紫罗兰酮的结构改造路线、柠檬醛先延长碳链，再氧化和环化路线、柠檬醛环化，再延长碳链路线、脱氢芳樟醇路线、三甲基环己酮路线、乙酰乙酸乙酯路线、酮代异佛尔酮路线、香叶酸酯路线^[4]。有意思的是意大利和法国工作组于90年前后又分别进行了以紫罗兰酮的结构改造为路线的研究^[5]。意大利Elisabetta Azzari等报道了通过制备关键中间体环己烯基丁烯基三甲基硅烷，用五步反应由紫罗兰酮合成突厥酮，总得率为22%；法国Luis A. Sarandeses等用了不同的方法通过五步反应由紫罗兰酮合成突厥酮，其中关键步骤溴代环氧在锌铜偶存在下还原， α -突厥酮总得率为60%， β -突厥酮总得率为25%。

中国香料界上世纪80年代开始关注该类香料的相关进展情况，先后发表过有关突厥酮类化合物合成的多篇综述^[6]。与此同时，上海香料研究所展开了多次研究^[7]。下面以环香叶酸乙酯合成突厥酮为例说明制造丙烯基烷基酮香料的通用方法(见图3)。

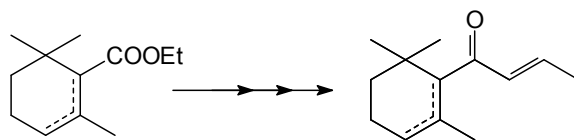


图3 突厥酮合成路线

3.1 2, 6, 6-三甲基-1-(4-羟基-庚-1, 6-二烯-4-基)-环己-1-烯的制备

在装有搅拌器、温度计、滴液漏斗和球形冷凝管的500毫升三口瓶中，搅拌下加入28.8克(1.2mol)镁、一小粒碘和无水乙醚(加入量为100毫升)，开始滴加84.2克(1.1mol)烯丙基氯和无水乙醚(加入量为100毫升)混合液，滴加温度20-30℃，滴加完毕，保温反应1小时。然后，开始滴加100克含量为98%的环香叶酸乙酯(0.5 mol)，滴加完毕，继续搅拌2小时。将反应液倾倒入1000毫升饱和氯化铵水溶液，分出有机层，用500毫升水洗涤二次至中性。常压回收溶剂后减压蒸馏，收集120-122℃/533Pa的馏分，即得108.5克2, 6, 6-三甲基-1-(4-羟基-庚-1, 6-二烯-4-基)-环己-1-烯(GC含量为92.3%)，反应得率为85.6%。

3.2 2, 6, 6-三甲基-1-(丁-3-烯酰)-环己-1-烯的制备

在装有搅拌器、温度计、滴液漏斗和球形冷凝管的1000毫升三口瓶中，氮气保护下，将21.1克(0.53 mol)氢化钾逐渐加入320毫升无水四氢呋喃和80毫升六甲基磷酰胺中，加完后继续搅拌10分钟。然后，在15分钟内滴加121.8克(0.48mol)2, 6, 6-三甲基-1-(4-羟基-庚-1, 6-二烯-4-基)-环己-1-烯(GC含量为92.3%)，滴加过程中内温保持在25℃以下，并在此温度下继续搅拌16小时。反应完毕将混合物倾倒在冰中。有机层用乙醚萃取后用2N盐酸酸洗，用碳酸氢钠中和，用盐水洗涤后，用无水硫酸钠干燥过夜，过滤并回收溶剂得粗油97.6克。减压分馏，收集100-102℃/732Pa的馏分，即得63.2克2, 6, 6-三甲基-1-(丁-3-烯酰)-环己-1-烯(GC含量为94.6%)，反应得率为64.8%。

3.3 β -突厥酮的制备

在装有搅拌器、温度计、滴液漏斗和球形冷凝管的500毫升三口瓶中，搅拌下，加入27.2克2, 6, 6-三甲基-1-(丁-3-烯酰)-环己-1-烯(GC含量为94.6%)和溶剂(采用甲苯，加入量235毫升)和1.36克对甲苯磺酸(加入量为2, 6, 6-三甲基-1-(丁-3-烯酰)-环己-1-烯重量的5%)，加热回流2-3小时。冷却，用水洗涤，油层用100毫升10%碳酸钠中和，最后水洗至中性。常压回收溶剂后减压分馏，收集100-102℃/732Pa的馏分，即得24.8克 β -突厥酮(GC顺式、反式异构体总含量为98.8%)，反应得率为95.6%。

产品的理化指标与光谱数据经检测与文献一致，质量指标符合JECFA标准。

四、方法的应用

4.1 4-己烯-3-酮的制备

4-己烯-3-酮是合成橡苔晶的主要原料之一，不能用醇醛缩合反应简单地得到，丁酮与乙醛无论在碱催化，还是酸催化条件下得到的主要成分为 3-甲基-戊烯-3-酮-2。

Heilmann, Rene和Smith, Amos B.等^[8]用钼催化在吡啶存在下还原己炔醇为原料通过反应和再用CrO₃氧化反应可得到4-己烯-3-酮（见图4）。

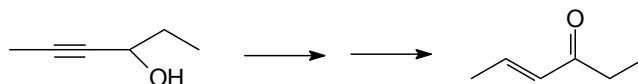


图4 炔醇法制4-己烯-3-酮合成路线

Oare, David A.等^[9]用巴豆醛与溴乙烷进行格氏反应制成己烯-4-醇-3，再用CrO₃氧化得4-己烯-3-酮（见图5）。

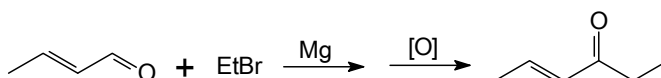


图5 巴豆醛制4-己烯-3-酮合成路线

Arisawa, Mitsuhiro和Fleming, Ian分别领导的工作组^[10]用酰氯制得4-己烯-3-酮（见图6）。Arisawa, Mitsuhiro等报道在反应量的三氯化铝存在下，用三乙基铝与酰氯反应得到 α ， β -不饱和酮，后用二乙基锌替代三乙基铝，亦得到 α ， β -不饱和酮，而用乙基二氯化铝可以不用三氯化铝，且得率很高。Fleming, Ian等报道的是用烯丙基硅烷与酰氯反应，生成 α ， β -不饱和酮。

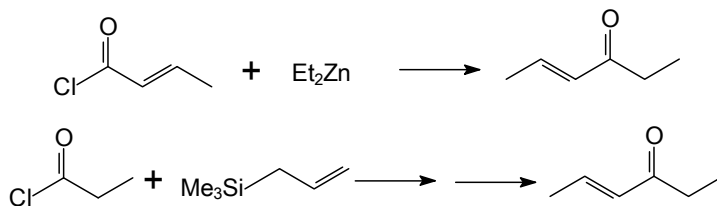


图6 酰氯法制4-己烯-3-酮合成路线

Le Roux, Juliette等^[11]用 β -丁内酯通过两步反应可得4-己烯-3-酮，见图7。

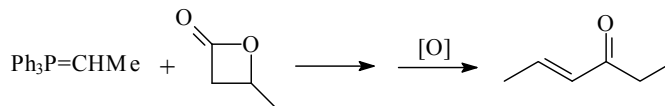


图7 丁内酯制4-己烯-3-酮合成路线

以上路线虽然各有优缺点能制得4-己烯-3-酮，但它们或多或少存在原料使用的安全性和反应所使用的辅料引起的环境问题，引起产品工业化的麻烦。本文采用的制造丙烯基烷基甲酮香料的通用方法能够很实用地制得4-己烯-3-酮。以丙酸乙酯为原料与烯丙基氯进行格氏反应，再经分解反应即得4-己烯-3-酮，总得率为68%。

4.2 榛子酮的制备

榛子酮存在于榛子的萃取物中，是榛子主要香味成分，具有榛子的坚果香气，高度稀释时有增香作用。除可用于食用香精外，也可用于日化香精以赋予天然感。

黄致喜和王慧辰等^[12]用2-甲基丁醛同烯丙基卤化镁的格氏试剂反应得中间体5-甲基-1-庚烯-4-醇，然后氧化得酮，再双键异构得榛子酮（见图8A）。

Emberger等^[13]在其专利中披露：溶于乙醚的巴豆醛滴加到2-溴丁烷和镁在乙醚中制得格氏试剂中，然后加热回流和水分解，经蒸馏得5-甲基-2-庚烯-4-醇。将所得的5-甲基-2-庚烯-4-醇冷却，加入重铬酸钠和硫酸组成的溶液，反应后蒸馏得产物榛子酮（见图8B）。

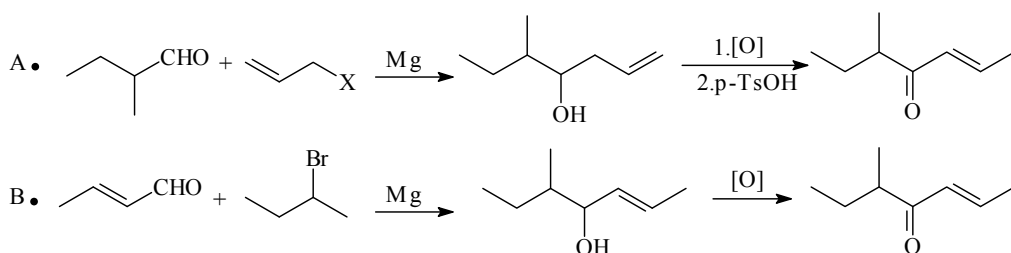


图 8 用格氏与氧化反应制榛子酮合成路线

Jauch 等^[14]以(S)-仲丁醇用重铬酸钠和硫酸氧化得相应的醛，然后以丙炔锂在四氢呋喃中进行烷基化反应，然后先后用 LAH 还原和二氧化锰/正戊烷氧化，得 E, (5S)-5-甲基-2-庚烯-4-酮(见图 9)。

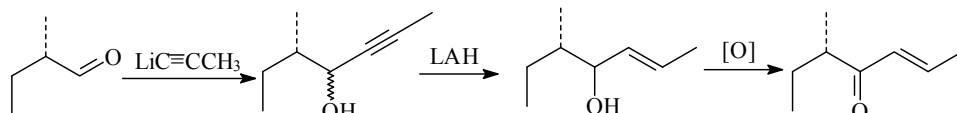


图 9 丙炔锂制榛子酮合成路线

用格氏与氧化反应制榛子酮的合成路线于上世纪 90 年代在上海香料研究所成功地制成，只是在氧化这步会产生一定量的含铬废水。用 2-甲基丁酸与烯丙基氯为原料，用本文介绍的方法，可有效地解决这些三废问题。反应总得率为 66%。

五、小结

本文介绍了制造丙烯基烷基甲酮香料的通用方法，而格氏反应的安全性和三废问题在我国香料界已基本解决，我们认为有相当部分的烯酮产品或中间体可用此法制得，因而很具实用性，能更好地解决工业化中遇到的共性问题。

参考文献：

- [1] 王亮等. 全国香料香精产品目录[M]. 上海: 全国香料香精工业信息中心, 2007.
- [2] 2008年保加利亚玫瑰油预产量[J]. 国内外香化信息, 2008, 253(07):5.
- [3] Demole, E., et al. Structure et synthèse de la damascénone (triméthyl-2,6,6-*trans*-crotonoyl-1- cyclohexadiène-1,3), constituant odorant de l'essence de rose bulgare *rosa damascena* Mill[J]. Helv. Chim. Acta, 1970, 53:541-551.
- [4] a. K. H. Schulte, et al. Synthetische Übergänge von der Jonon- in die Damasconreihe [J]. Helv. Chim. Acta., 1973, 56:310-320.
b. E. Kovats, et al. Cycloaliphatic Unsaturated Ketones[P]. Ger. Offen. :1,807,568(1969).
c. G. Buchi, et al. Synthetic Studies on Damascenones[J]. Helv. Chim. Acta., 1971, 54:1767-1776.
d. Isoe, Sachihiko et al. The Synthesis of Damascenone and β -Damascone and the possible mechanism of their formation from carotenoids[J]. Helv. Chim. Acta., 1973, 56:1514-1516.
e. M. Baumann. Verfahren Zur Herstellung Beta-Damascon Und Beta-Damascenon[P]. Ger. Offen. :2,804,597(1979).
f. G. Ohloff, et al. Über eine ungewöhnliche Cyclisationsreaktion bei der Umsetzung von (+)-Epoxy- α -dihydrojonon mit Hydrazinhydrat[J]. Helv. Chim. Acta., 1970, 53:531-541.
- [5] a. Elisabetta Azzari, et al. Transformation of α - and β -ionones into α - and β -damascone and β -damascenone using allylsilane chemistry[J]. J. Org. Chem., 1990, 55(3):1106-8.
b. Luis A. Sarandeses, et al. A new synthesis of α - and β -damascenes from the ionones[J]. J. Org. Chem., 1992, 57(9):2757-2760.

- [6] a. 肖友检. 玫瑰酮的合成[J]. 香料香精化妆品, 1987, (3):35-45.
b. 吴元鏊, 郑爱莲. 玫瑰酮类的合成进展[J]. 香料香精化妆品, 1991, (4):21-27.
- [7] 吴钧和, 肖友检等. β -突厥酮的合成研究[R]. 轻工业部香料工业科学研究所专报, 1982.
- [8] a. Heilmann, Rene. Ethylenic ketones. VI. Stereo-specific synthesis[J]. Bulletin de la Societe Chimique de France, 1957: 119-27.
b. Smith, Amos B., et al. Chromium(II) reagents. 1. Reduction of α -acetylenic ketones to trans-enones[J]. Synthesis, 1986, (3):184-9.
- [9] Oare, David A., et al. Acyclic stereoselection. 46. Stereochemistry of the Michael addition of N,N-disubstituted amide and thioamide enolates to α , β -unsaturated ketones[J]. Journal of Organic Chemistry, 1990, 55(1):132-57.
- [10] a. Arisawa, Mitsuhiro, et al. Lewis Acid-Promoted Coupling Reactions of Acid Chlorides with Organoaluminum and Organozinc Reagents [J]. Journal of Organic Chemistry, (1997), 62(13): 4327-4329.
b. Fleming, Ian, et al. The electrophilic substitution of allylsilanes and vinylsilanes [J]. Organic Reactions, 1989:37.
- [11] Le Roux, Juliette, et al. Condensation of propiolactones with phosphorus ylides. A convenient synthesis of α , β -ethylenic ketones[J]. Journal of the Chemical Society, Chemical Communications, 1989, (19):1464-5.
- [12] 黄致喜, 王慧辰等. 坚果型香料5-甲基-2-庚烯-4-酮的合成方法[P]. 发明专利申请公开说明书, CN:1,198,432 (1998).
- [13] R. Emberger, et al. a. Flavoring With 5-methyl-hept-2-en-4-one[P]. US:4,563,365(1986);
b. Use of 5-methyl-hept-2-en-4-one as a fragrance and/or flavor[P]. US:4,654,168(1987).
- [14] J. Janch, et al. Improved synthesis of (S,E)-(+)-5-methylhept-2-en-4-one, the major aroma compound of hazelnuts[J]. Tetrahedron, 1999, 55(32):9787-9792.

含烯香料的环丙烷化改造

戴晖, 陆欢

(上海香料研究所, 上海 200232)

Cyclopropanated Modification of double bond containing Fragrance Materials

Dai Hui, Lu Huan

(Shanghai Research Institute Of Fragrance&Flavor Industry, Shanghai 200232)

摘要: 本文介绍了对某些香料分子中含有的碳碳双键进行环丙烷化改造的方法。

关键词: 香料; 烯烃; 环丙烷化反应; 立体选择性

Abstract: This paper introduced the methods for the preparation of cyclopropane units using alkene as the starting compounds, focuses mainly on the the fragrance which containing alkene composition.

Key Words: fragrance, alkene, cyclopropanation, stereoselectivity

一、引言

众所周知, 在香料香精工业中应用的许多香原料都含有双键、醛基以及其它活性基团, 它们很容易发生各种化学反应从而降低了自身的使用寿命, 而且含有这些香原料的精油最近被认定为引起过敏反应的重要原因, 使得它们的市场推广困难重重。在人们日益提倡健康生活品质的今天, 越来越多的这类香原料被列入了过敏原名单, 被禁止或限制在商业化产品中使用。这毫无疑问对众多芳香产品的品质产生了巨大的不利影响, 因为在香精、香水的调配中限制这些重要香原料的使用使得某些香韵的调制事实上已不可能实现。例如, 在铃兰香韵的产品调制中应用的重要香原料羟基香茅醛、新铃兰醛、铃兰醛和波吉洪醛都被限制, 只剩下了气味粗糙的仙客来醛、美研醇、顺-1-羟甲基-4-异丙基环己烷、新三环亚癸基丁醛、埃林塔尔和 Florahydral 等香原料可用, 这无疑会影响铃兰香韵的产品品质。甚至连玫瑰香韵的产品调配也因为香叶醇和香茅醇的被限用而变得困难。还有许多其它经典时尚的香韵调配也面临同样的困境。因此开发这些受限香原料的替代品已成为香料研发人员的迫切任务。

对比那些受限的香原料, 新开发的替代香原料必须具备以下特点: 一、不会象受限香原料那样在使用中引起消费者的过敏反应; 二、最好能拥有更长的使用寿命; 三、比受限香原料拥有更好的品质, 如更强烈优雅的香气和更好的稳定性等。为了达到这个目的, 国际上的香料研究人员已进行了一些工作, 比较有效的方法有^[1]: 一、分子中含有一个或多个双键的, 将分子中的一个或多个双键用硫醚、环丙烷、环硫乙烷或环氧乙烷取代; 二、分子中含有一个或多个醛基的, 可以用醚、腈基、缩醛取代分子中的一个或多个醛基; 三、分子中含有苯环的, 可以将苯环改造成噻吩; 四、分子中含有异丁烯基或苯基的, 可以将其改造成环丙烷化的异戊烯基。

环丙烷类化合物是十分有用的合成中间体, 通过它能合成各种手性化合物。如何高选择性地合成手性环丙烷类化合物, 也是有机化学界的一大热点。因此本文在这些工作中选择了对双键进行环丙烷类化合物改造进行介绍。

二、以烯烃为底物的环丙烷化反应

以烯烃为底物的环丙烷化反应大体分为三类^[2] (1) 卤甲基金属催化的环丙烷化反应; (2) 过渡金属催化重氮盐分解引起的环丙烷化反应; (3) 亲核加成引发关环导致的环丙烷化反应, 即 Michael Initiated Ring Closure (MIRC) 反应。下面就按反应类型的不同进行香料改造工作的综述。其中, 以大空间位阻的重氮乙酸酯为代表的过渡金属催化的重氮化合物与烯烃的环丙烷化反应已有许多文献, 但在香料行业中涉及不多, 这里略过不做综述。

2.1 卤甲基金属催化的环丙烷化反应

2.1.1 Simmons-Smith 反应

烯烃环丙烷化反应中最著名的是 Simmons-Smith 反应, 二卤代甲烷与锌-铜偶反应生成类似甲烯的有机锌络合物, 然后与碳碳双键反应形成环丙烷化合物。Simmons-Smith 试剂虽然不是卡宾, 但在反应中具有类似卡宾的性质, 故被称为类卡宾, 它能在十分温和的条件下与烯烃反应生成环丙烷衍生物, 产率良好。烯烃分子中若有其他基团, 如卤素, 羧基, 氨基, 羰基, 酯基等存在均不受干扰。

Simmons-Smith 试剂与双键的加成在机理上属协同反应, 就烯烃的几何结构而言该反应是立体专一性的。与涉及游离卡宾的反应比较, 该反应一般没有副反应。当经典的 Simmons-Smith 反应环丙化的产率较低, 需用二乙基锌代替锌-铜偶合体, 则可获得很好产率的环丙烷衍生物。现在最常应用的是由 Friedrich^[3]改进过的 Simmons-Smith 反应。除了锌试剂外, 可用于环丙烷化的元素有机化合物还有汞、

锡、硅、镉、锂、铝、镁、铟等的化合物。卤甲基金属催化的烯烃环丙烷化反应通式如图 1 所示。

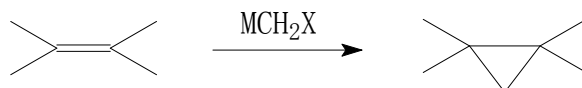


图 1

Luca Turin^[4] 用 Simmons-Smith 反应合成了一些香叶/橙花醇的环丙烷衍生物，用以替代香叶醇以及柠檬醛。如下图 2 所示。所用试剂为锌粉、氯化亚铜、二溴甲烷，乙酰氯为活化剂。

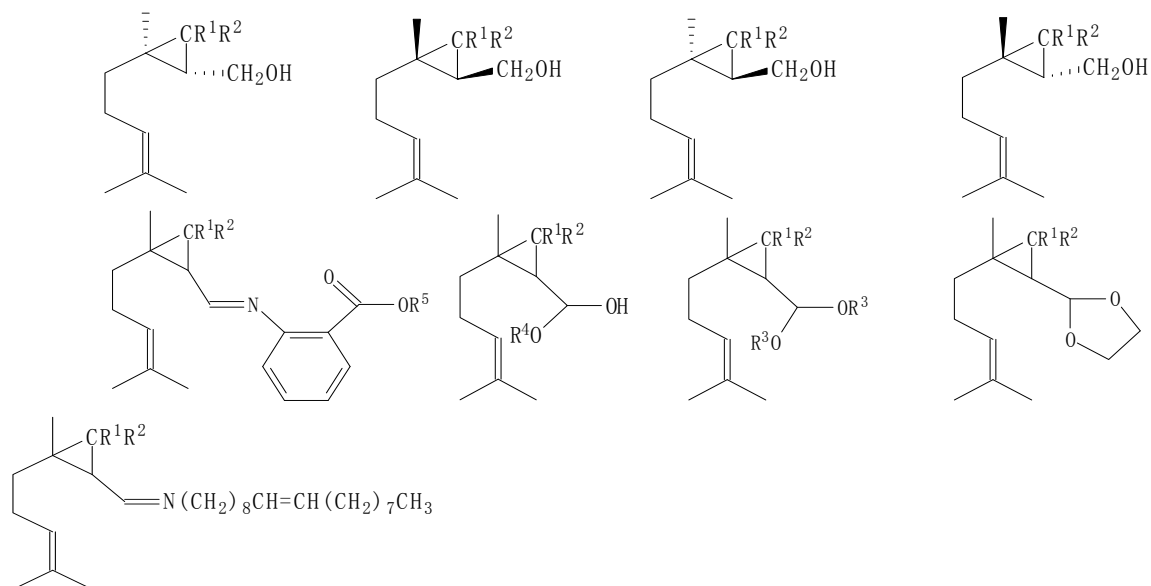


图 2

环丙烷化试剂还可以用二乙基锌，合成 6, 7-位环丙烷衍生物及双环丙烷衍生物，其合成的几种分子见下图 3。所有这些衍生物都具有与柠檬醛或香叶醇相似的香气。

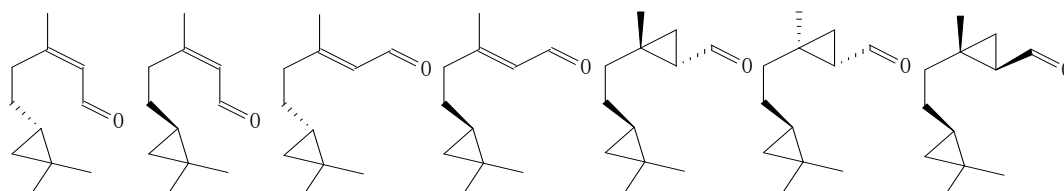


图 3

反应实例 1: 香叶醇经 Simmons-Smith 反应合成环丙烷化香叶醇

香叶醇环丙烷化反应的反应式如图 4 所示。

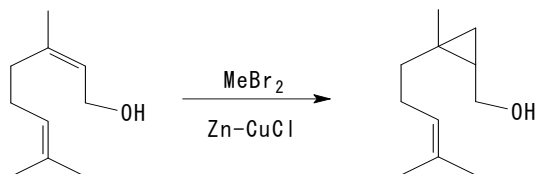


图 4.

带有搅拌、温度计、加料漏斗的 500ml 多口圆底烧瓶中加入锌粉 (38g, 0.58mol) 和氯化亚铜 (5.74g, 0.06mol) 与乙醚(200ml)混合搅拌成悬浊液，在室温下加入二溴甲烷 (13.5ml, 0.19mol) 和乙酰氯 (1.2ml, 19.2mmol)，继续搅拌 10 分钟。搅拌下滴加香叶醇 (30g, 0.19mol) 和二溴甲烷 (2.25ml, 32.4mmol)，维持反应温度低于 20℃。反应液搅拌过夜，冷至 0℃ 倒入氯化铵的水溶液中。水相用乙酸乙酯 (3 × 500ml) 萃取，有机相用无水硫酸镁干燥，蒸去溶剂后通过硅胶柱提纯，用 2-5% 乙酸乙酯/己烷溶剂。最后得到无色油状产物环丙烷化香叶醇 (25.3g, 0.15mol)，得率 80%。

Luca Turin^[4b] 还用 Simmons-Smith 反应合成了结构如下图 5 所示的新香料。它们都具有铃兰香韵，

带有新鲜的花香香气，而且香气比羟基香茅醛更强烈，可替代羟基香茅醛。

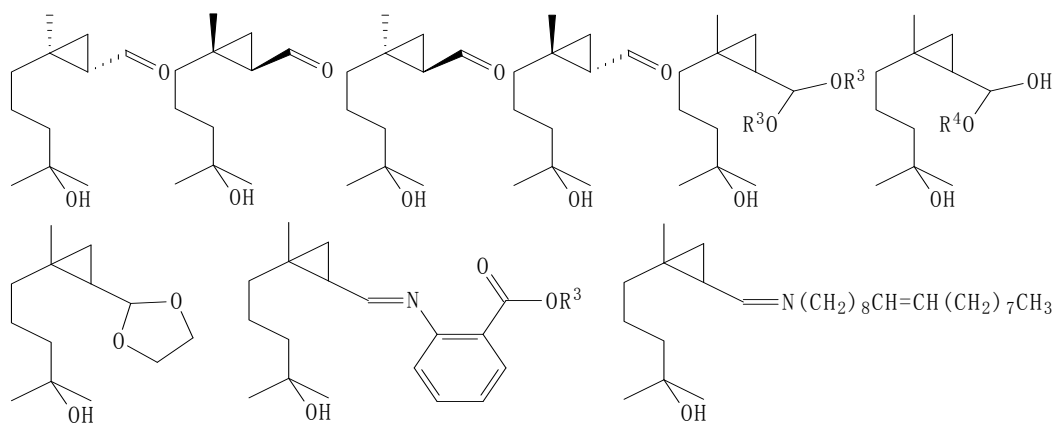


图 5.

Baigrowicz, J. A.^[5]等人报导了用 Simmons-Smith 反应合成的一些环丙烷檀香类香料，如下图 6 所示。这些新的香料都具有强烈的木香香韵，大部分具有檀香香气，少部分只有木香、琥珀香。其中 [1-甲基-2-(1,2,2-三甲基-双环[3.1.0]己-3-基甲基)环丙基]甲醇具有最接近天然、最强烈和持久的檀香香气，强于绝大多数已有的合成檀香香料。它的四种立体异构体都对其整体的乳样的花香、木香香韵有贡献，但其中 (3''R)-非对映异构体是主要的香气载体，具有比第二强的异构体强烈 34 倍的香气。

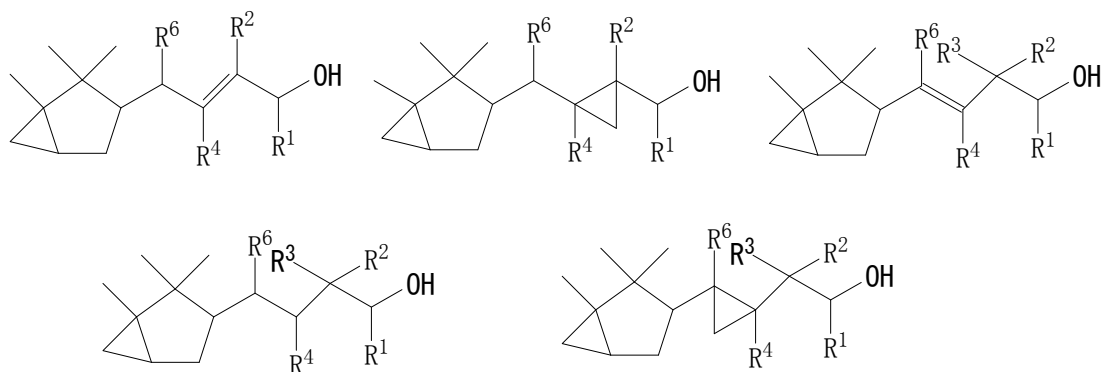


图 6.

二乙基锌试剂是比传统的 Zn-Cu 活性更高的环丙烷化试剂，许多用 Zn-Cu 无法环丙烷化的烯烃可以用二乙基锌反应。如 Oppolzer^[6]报道的大环化合物用二乙基锌催化环丙烷化，得到了单一立体结构的环丙烷化合物，继续反应可引入一个甲基。反应见下图 7。

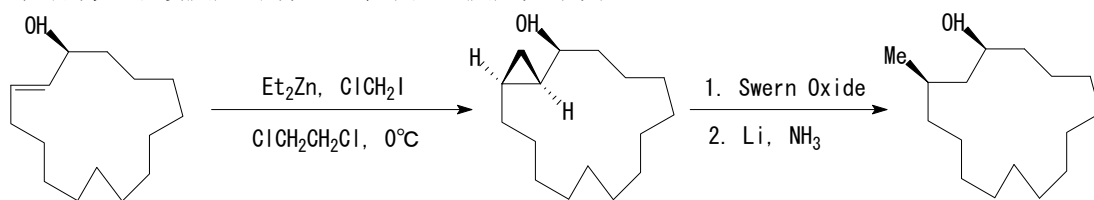
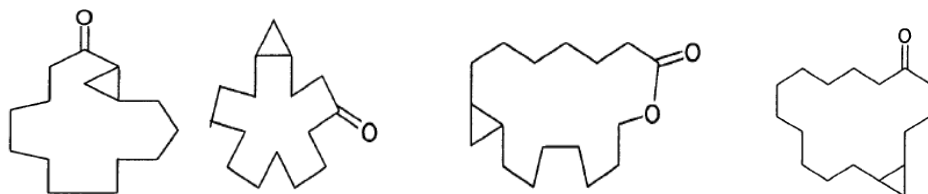


图 7.

国际香料香精公司^[7]发布了许多环丙烷化的大环酮和内酯香料，也是用类似的二乙基锌催化 Simmons-Smith 反应制备。具体的香料分子如下图 8 所示。



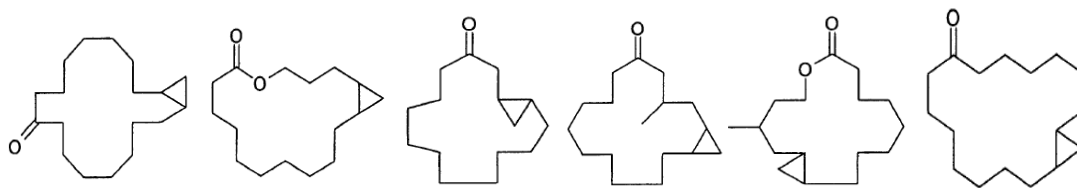


图 8.

反应实例 2: 二乙基锌催化的大环内酯环丙烷化反应

双环[13.1.0]-十六烷-4-酮的制备

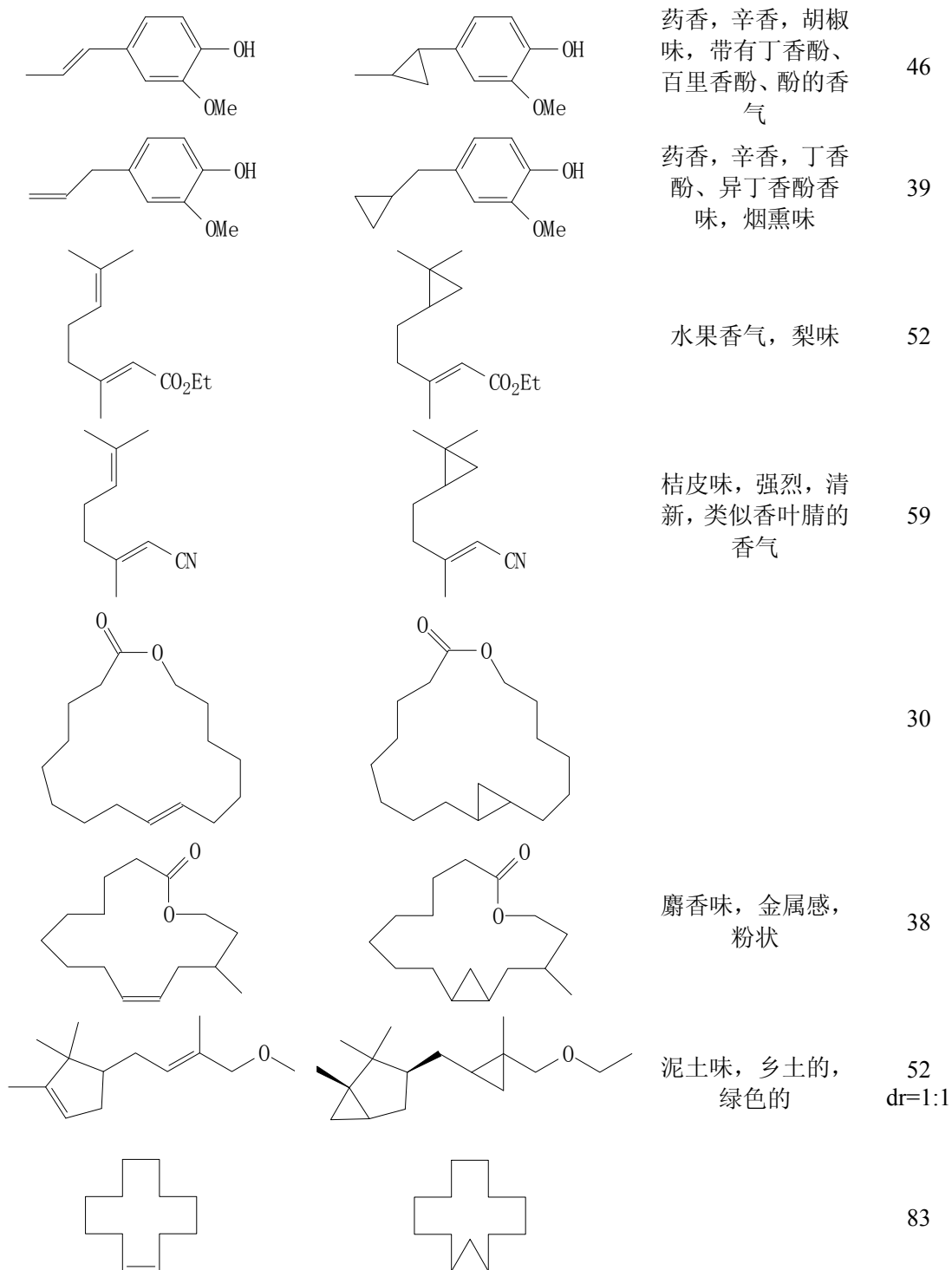
向安装了空气搅拌器、氮气进口冷凝器和加料漏斗的干燥的 500 毫升多颈圆底烧瓶中加入 2.7 克 94%的 4-环十五烯-1-酮和 50 毫升甲基叔丁基醚 (MTBE)。将混合物搅拌 5 分钟。缓慢加入 21.8 毫升 1.1M 的 Et_2Zn 。将混合物的温度升高到 35°C 。在混合物的温度稳定之后,在搅拌的同时加入 23 克 CH_2I_2 。将混合物加热到 60°C 。混合物放置老化过夜,用饱和 NH_4Cl 溶液淬灭,分离水层并且用 NaHCO_3 洗涤有机层。然后在无水 MgSO_4 上干燥有机层。气相色谱试验显示 74.4%的起始的烯酮转化为环丙烷化的酮。

2.1.2 烷基铝化合物催化的环丙烷化反应

烷基铝化合物也可以催化环丙烷化反应,但一直以来因为反应条件苛刻,得率不高没有得到广泛应用。施罗德^[8]报导了各种含有双键的香料与由二溴甲烷和三-(C2- C8)-烷基铝化合物(如三异丁基铝)生成的卡宾体在催化量的选自路易斯酸、金属茂和金属羰基配合物的金属化合物存在下的环丙烷反应,发现在有如 FeCl_3 等金属化合物做助剂的条件下,可改善反应得率。具体的反应原料和产物见下表 1。表中所列得率的反应条件为:以纯 TIBA 为催化剂,无水 FeCl_3 为助剂,催化二溴甲烷与各种烯烃进行环丙烷化反应。

表 1. 一些含烯香料及其环丙烷化衍生物

起始原料	产物	产物香气	得率%
		樟脑味	85
		持久的檀香香气	85 dr=1:1
		檀香, 木香	93
		柑桔味, 绿色的, 凉爽的, 金属感	67
		弱香叶醇的香气	—
			67 dr=1:1



反应实例 3: 降白檀醇(Nor-Radjanol)的末端选择性环丙烷化

反式-2-甲基-4-(1,2,2-三甲基-双环[3.1.0]己-3-基)丁-2-烯-1-醇的合成

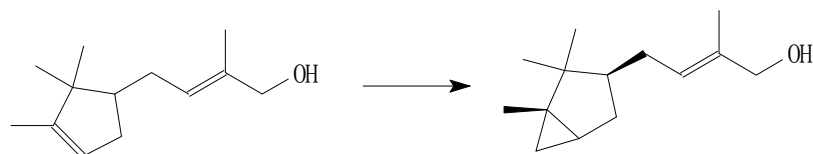


图 9.

降白檀醇(Nor-Radjanol) (194 g, 1 mol)溶于二溴甲烷(1.4L, 20 mol)中, 在冷却下(10°C-20°C)通过

双针向其中加入纯三异丁基铝(TIBA, 100 g, 0.5 mol)。在 15 分钟后, 一次性加入无水 FeCl_3 (22 mg, 0.13 mmol), 然后再通过双针加入 TIBA (620 g, 3.1 mol)。将该混合物在 25°C 搅拌 4.5 小时, 然后冷却至 -10°C - 0°C, 并经由双针泵送到冷却的(-10°C - 0°C) 25% NaOH 中。在搅拌(小心!)下, 该双相混合物缓慢升温至室温。将释出的异丁烷收集在 -78°C 的冷却捕集器中。相分离。有机相用 4% 草酸洗涤, 然后用浓 NaHCO_3 洗至 pH 约为 8。在有机相中添加异丙醇(110 g, 1.8 mol), 并在减压下共沸除去水。然后在减压下共沸除去剩余的无水二溴甲烷, 然后将残余物蒸馏(bp 160°C/0.1 Torr), 得到 190 g (93%) 无色油 (86%GC 纯度, 2% Nor-Radjanol, 7% 双环丙烷化副产物)。

烷基铝催化的环丙烷化反应适用于富电子烯烃, 如单-、二-、三-或四-取代烯烃。对贫电子烯烃例如共轭羰基化合物、共轭腈、共轭亚胺等或烯丙基位置带有官能团的烯烃如烯丙醇类、烯丙胺类等烯烃反应活性很小或不发生反应。因此如果这些非反应性烯烃与富电子反应性烯烃结合在同一分子中, 则只有后者以高化学选择性进行环丙烷化。

2.1.3 锂盐的环丙烷化反应

Luca Turin^[9]采用锂和溴代烷, 对芳樟醇进行了环丙烷化改进, 选择性的合成了 6, 7-位环丙烷化的芳樟醇衍生物, 它也具有与芳樟醇相似的香气, 以及更优秀的品质。如下图 10 所示。

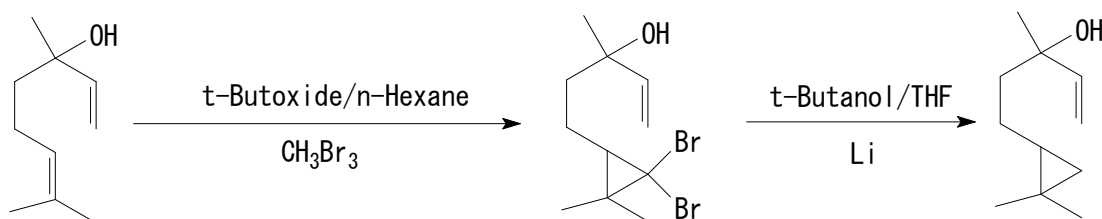


图 10.

Fridtjof^[10]报导了另一种锂盐的环丙烷化反应, 可用于合成爪哇檀香、双环丙烷香叶醇等香料。其中爪哇檀香得率为 43%, 双环丙烷香叶醇得率为 25%。反应见图 11。

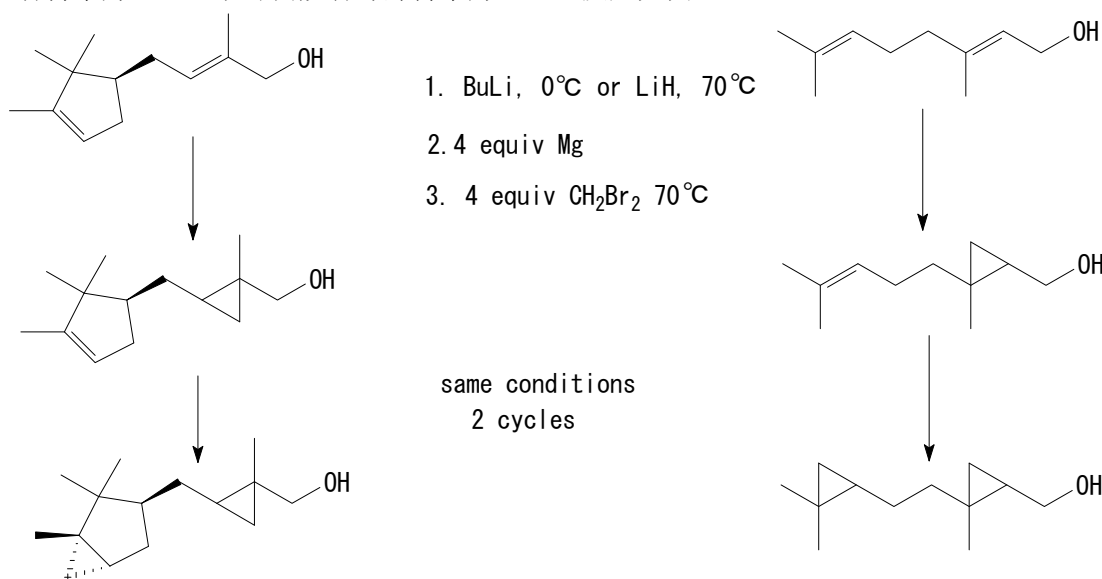


图 11.

2.2 亲核加成引发关环(MIRC)导致的环丙烷化反应

2.2.1 MIRC 反应的定义和基本类型

MIRC (Michael Initiated Ring Closure) 反应究其实质是负离子诱发的 Domino 反应, 其严格定义是 Little R. D. 于 1980 年提出^[11]。所谓 MIRC 反应, 即是由共轭加成产生的碳负离子继续与分子内其他官能团反应, 从而环合的一类反应。

目前 MIRC 反应有四种基本类型, Michael- $\text{S}_{\text{N}}2$, Michael-Aldol, Michael-Michael, Michael-Diels/Alder, 这四种类型文献中都有报道。从目前的文献看, 只有 Michael- $\text{S}_{\text{N}}2$ 反应能够生成环丙烷, 即亲核试剂对活性烯烃进行共轭加成产生的碳负离子中间体进攻离去基团, 发生亲核取代反

应，从而生成环丙烷化合物。这样，根据离去基团所在的位置它又可以分为两种类型。当离去基团在 Michael 受体上，称为第一类 MIRC 反应，当离去基团在亲核试剂上，称为第二类 MIRC 反应^[2]。如下图 12 所示。

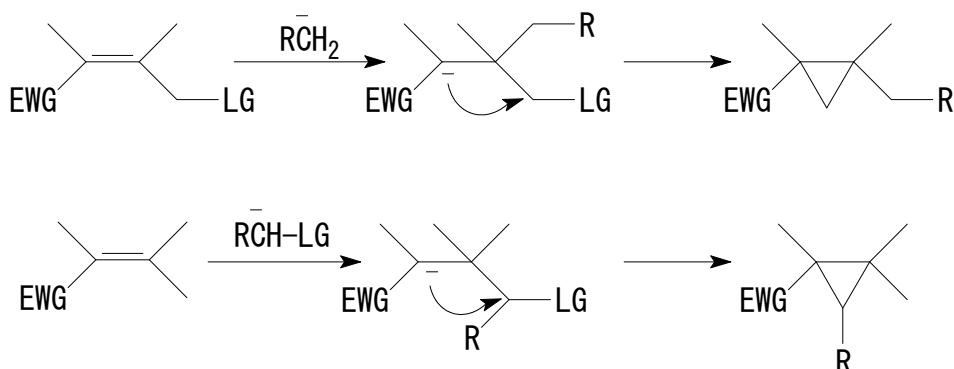


图 12.

2.2.2 第一类 MIRC 反应(离去基团在 Michael 受体上)

早期的研究只有 4-溴巴豆酸甲酯，显然这里存在直接的 S_N2 反应和 MIRC 反应的竞争。1982 年，Yodhathai T 研究了烯醇锂盐对 4-溴巴豆酸甲酯的反应行为^[12]，他们发现稳定的酯的烯醇锂盐有利于发生直接的 S_N2 反应，而反应活性高的酯的烯醇锂盐有利于发生 MIRC 反应。见图 13。

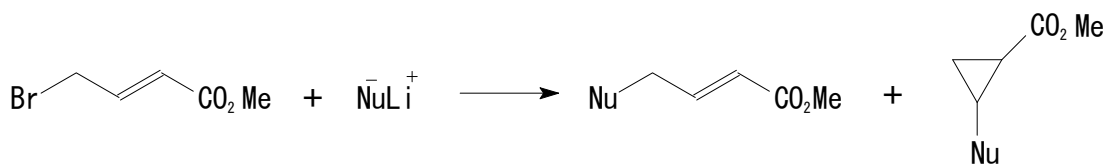


图 13.

2003 年，Subhash 利用 MIRC 反应制备了手性环丙烷氨基酸，ee% 高达 94%^[13]。见图 14。

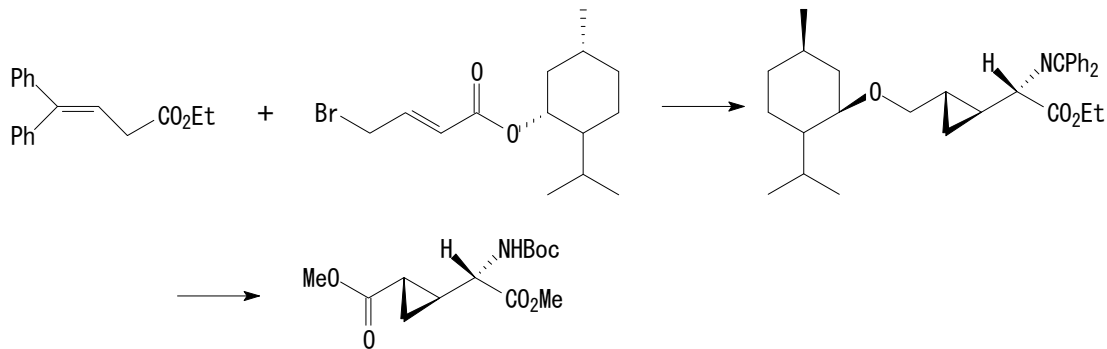


图 14.

2.2.3 第二类 MIRC 反应(离去基团在亲核试剂上)

第二类 MIRC 反应相对出现早，研究也较多，这类反应的亲核试剂一般是叶立德盐。1950 年，硫盐作为环丙烷化试剂，首次被报道^[14]。直到 1960 年，Corey^[15]报道了亚甲基甲硫盐对查尔酮的加成合成 trans-1-苯甲酰基-2-苯基环丙烷之后，如下图 15，人们才开始注意到这种反应在有机合成方面所具有的潜力。

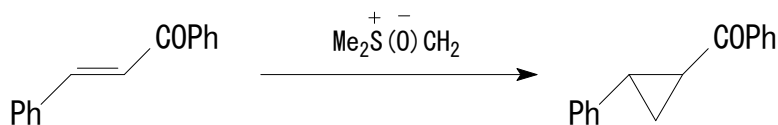


图 15.

近来随着对香料的环丙烷化改造的研究不断深入，有关各种硫叶立德的环丙烷化反应的研究文献也越来越多。如 Turin Luca^[4]报导了用硫叶立德合成柠檬醛的环丙烷化合物，见下图 16。与 Simmons-Smith 反应相比，硫叶立德特别适合直接环丙烷化共轭的双键，如与醛基共轭的烯烃，而醛基

不受影响。

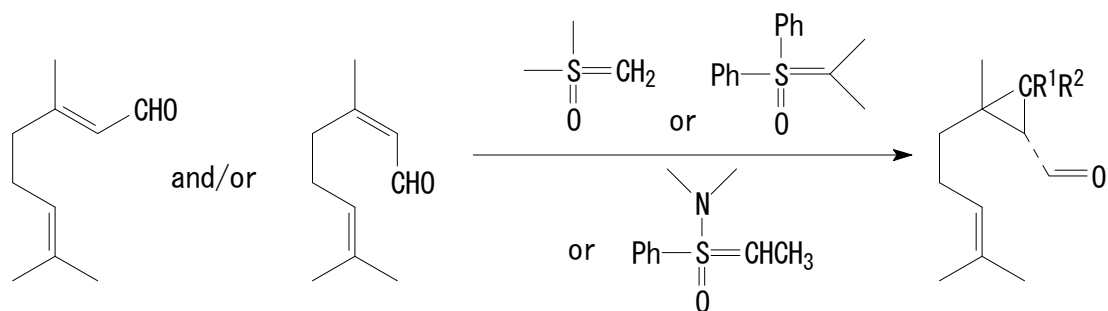


图 16.

另一种重要的香原料香豆素的毒理学研究结果显示，香豆素对大鼠和狗的肝有毒性作用，可引起肝变大，肝内胆管增生等症状，也有文献报道香豆素作用于人体会引起肿瘤，因此它也是一种限制使用的香料。Luca Turin^[4c]用硫叶立德合成了环丙烷香豆素，具有与香豆素极相似的香气，且没有香豆素的毒性，目前已有产品生产。另外他还合成了一些香豆素的环丙烷衍生物，具有很好的香气。所用的环丙烷化方法如下图 17 所示。

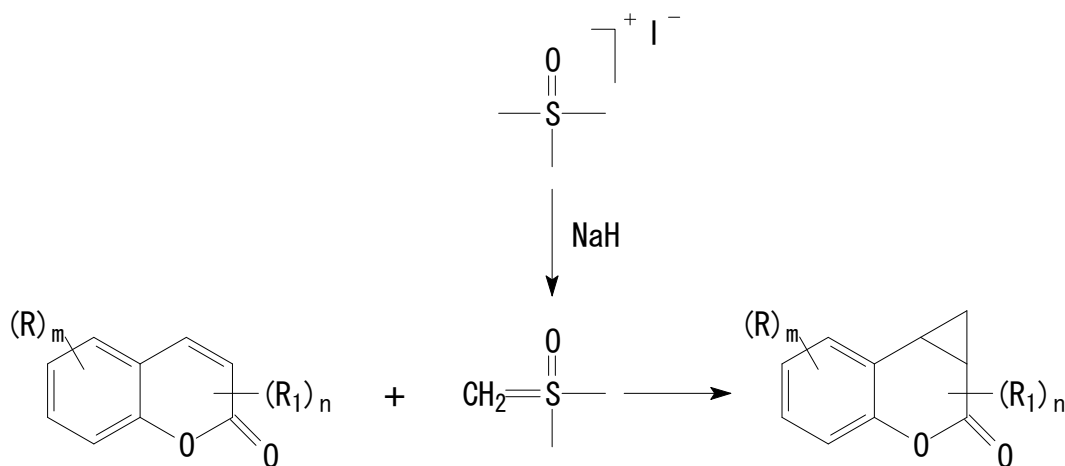


图 17.

各种衍生物分子式见图 18，其中 R₂、R₃ 为氢或甲基。

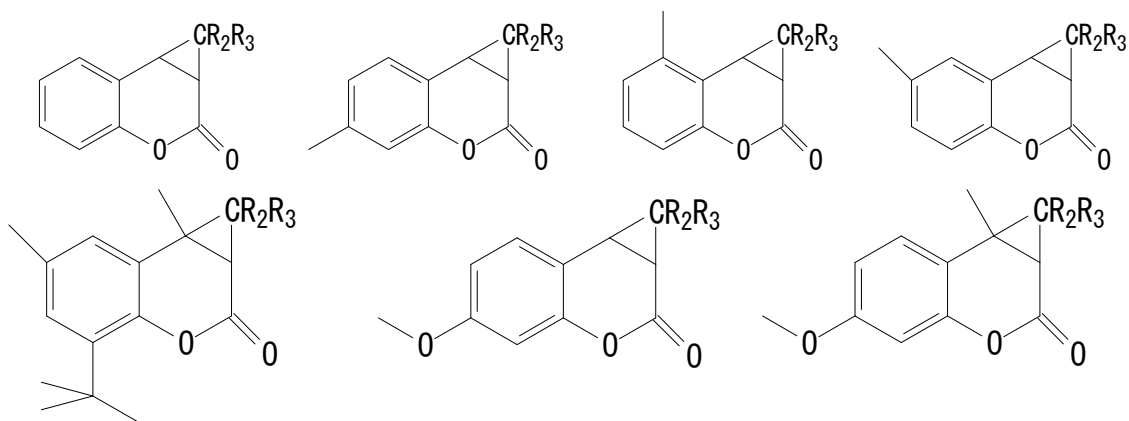
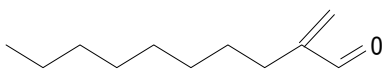
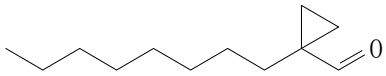
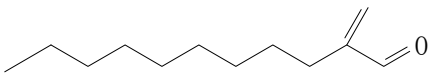
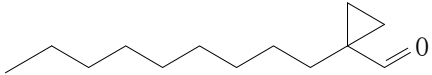
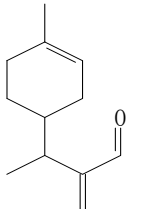
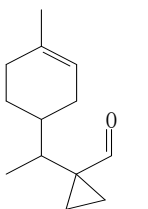
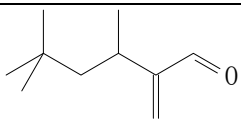
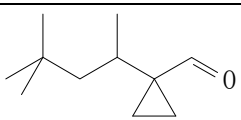
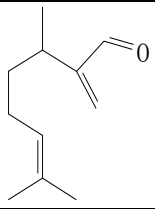
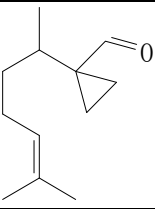
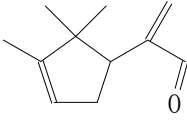
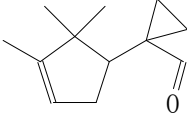
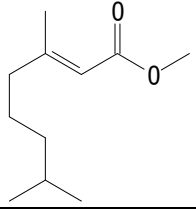
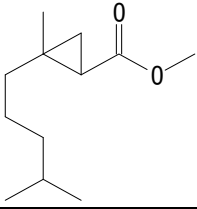


图 18.

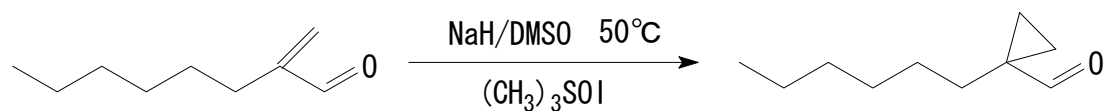
Narula 等^[16]用硫叶立德将一系列烯醛香料转化为环丙烷醛基衍生物，反应转化率很好。他们合成的环丙烷化烯醛香料及合成所用的烯醛原料见下表 2。具体的反应条件如实例 4 中所述。这些新的环丙烷化香料具有青香、柑桔、清新的紫罗兰、醛麝香、甜香和花香香调。

表 2. 一些烯醛香料的环丙烷化

原料	产物	原料转化率%
		75
		75
		91.9
		75
		72
		89
		80.3

反应实例 4: 用硫叶立德合成 1-己基环丙烷甲醛

以 2-亚甲基辛醛为原料, 用硫叶立德环丙烷化合成 1-己基环丙烷甲醛的反应路线如图 19。



75%

图 19.

向安装了空气搅拌器、氮气进口冷凝器和加料漏斗的干燥的 500 毫升多颈圆底烧瓶中加入 4.4g 60% 的 NaH 和 150ml 二甲亚砜。混合物加热到 50°C, 在搅拌下缓慢加入 24.6g (CH₃)₃SOI。(CH₃)₃SOI 加料完毕后滴加 12.8 g 2-亚甲基辛醛。反应混合物陈化 2 小时取样分析, 气相色谱显示 73.8% 的原料转化为产物。反应混合物继续陈化 90 分钟后取样分析, 气相色谱显示 75% 的原料转化为产物 1-己基-环丙烷甲醛。反应混合物冷却, 倒入 250ml 水中, 用 100ml 甲苯萃取, 分出有机相, 然后用已知方法后处理。

磷叶立德也有报道是很有效的环丙烷化试剂。在 1962 年, Bestmann 和 Seng^[17]发现亚甲基苯基磷

叶立德与巴豆酸酯反应生成环丙烷化合物。如图 20 所示。

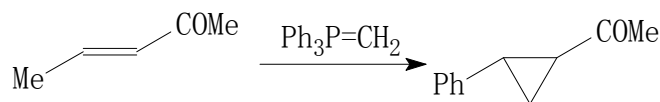


图 20.

但是该途径仅限于不稳定的磷叶立德。最近 Talor 等^[18]报道了稳定的磷叶立德盐与 1, 2-二噁烷反应非对映选择性生成三取代环丙烷的衍生物。反应见图 21。

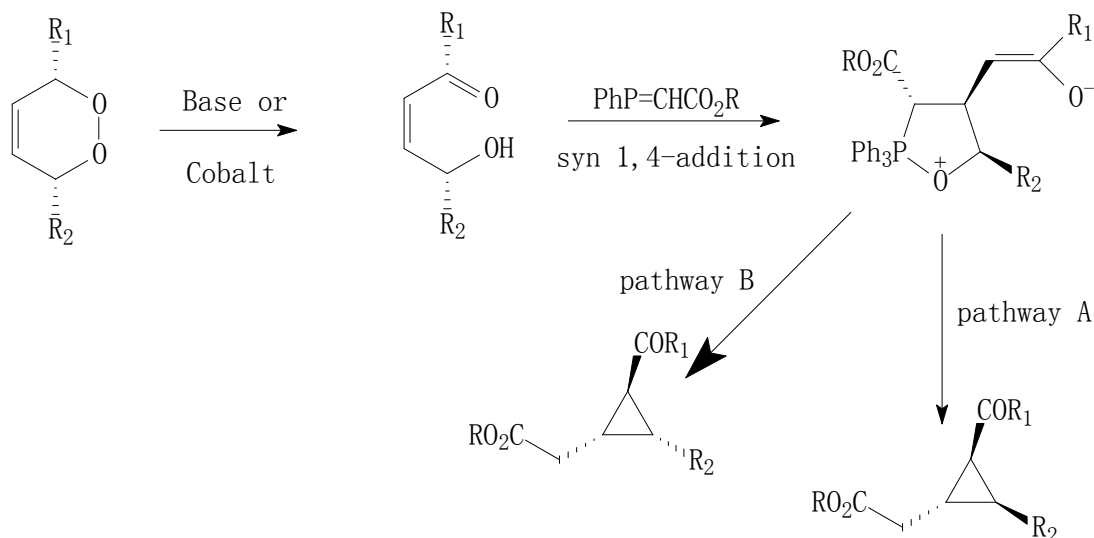


图 21.

稳定的砷叶立德例如甲氧甲酰基和苯甲酰基三苯基砷也可以和共轭的酯和酮反应，生成环丙烷类产物^[19]。如下图 22 所示。

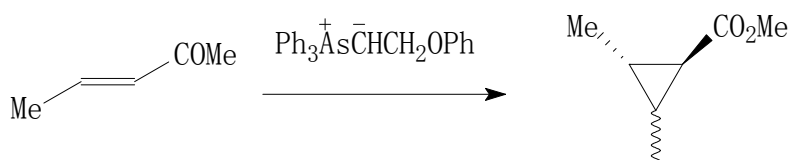


图 22.

除了硫和磷叶立德，硅取代的锑叶立德也可以和 α , β -不饱和酮、酰胺、酯、二酯等进行环丙烷化反应^[20]。例如与查尔酮反应，可以高选择性高产率得到环丙烷衍生物^[21]，该反应仅使用催化量的锑^[22]。见下图 23。

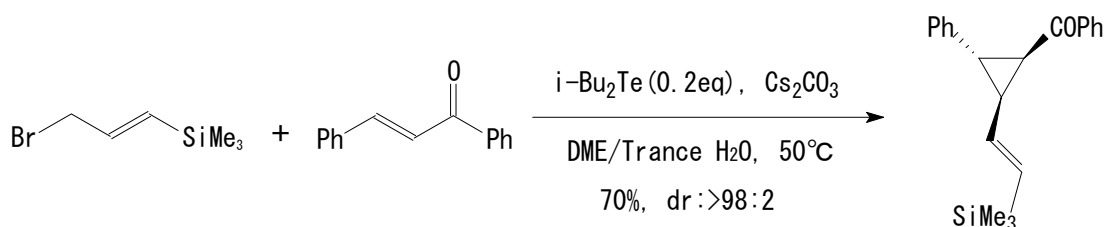


图 23.

α , β -不饱和酮、酰胺、酯环丙烷化反应，在锂盐存在下显示了很高的立体化学控制，主要得到 *trans*-2-乙烯基-*trans*-3-取代的环丙基甲酰胺或者甲酰酯，反应不仅具有高的立体选择性，而且还具有很好的产

率。但是若无锂盐存在，则主要得到的是 *cis*-2-乙烯基-*trans*-3-取代的环丙基甲酰胺或者甲酰胺^[23]。由此可以看出，改变条件，*cis* 和 *trans* 的比例可从 99: 1 转化到 1: 99。如图 24 所示。

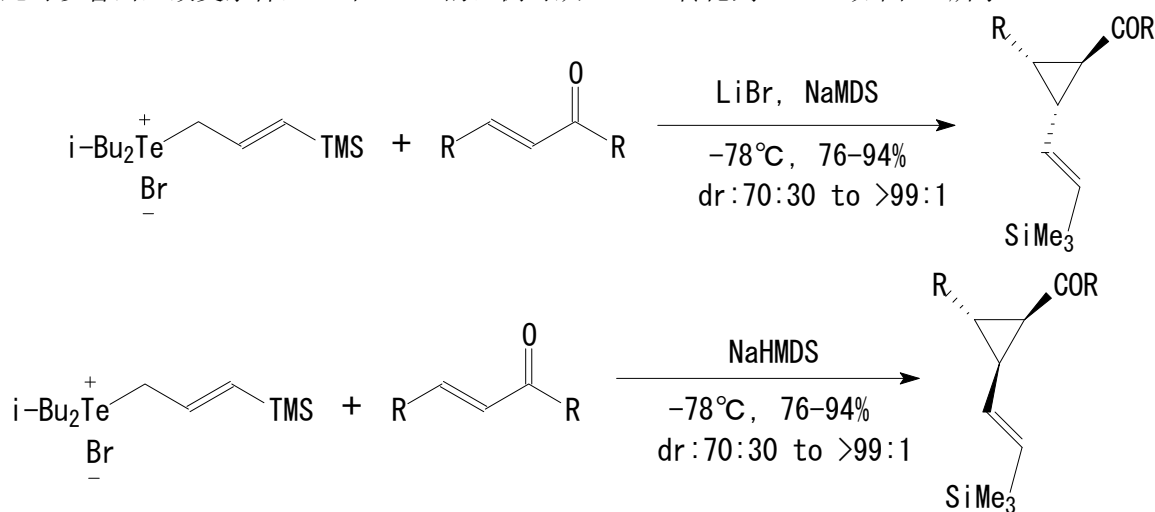


图 24.

近几年来，Gaunt 等人^[24]对铵叶立德参与的环丙烷化反应进行了深入的研究。在他的报道中，化学计量的亲核性的三级胺通过形成铵叶立德参与环丙烷化反应。他们又将反应进一步优化，做到了有机催化的高立体选择性的分子间环丙烷化反应。见下图 25。



图 25.

总的来说，相比重氮乙酸酯的不对称环丙烷化反应研究，不对称 MIRC 反应的研究报道还很少，其主要立体控制的因素是空间和立体电子效应。由于立体控制，硫叶立德与取代的环己烯酮反应可得到高立体选择性产物。例如，(R)-(-)-香芹酮与亚甲基二甲基氧硫盐反应，得到了需要的环丙烷基香芹酮，仅有一种立体异构体产生，可能是由于叶立德进攻空间位阻较小的一侧所致^[25]。如图 26。

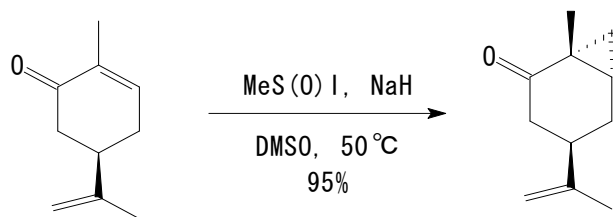


图 26.

Krief^[26]描述了一个新的高产率的得到(+)-*cis*-chrysanthemic 的途径。首先环丙烷化反应得到中间体化合物，该反应仅有一个立体异构体生成，然后再经过数步反应得到目标产物。如图 27 所示。

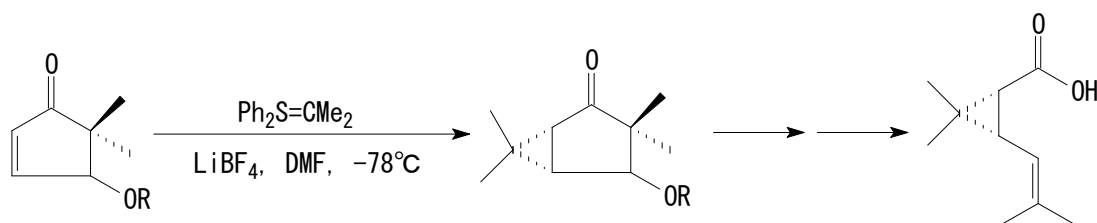
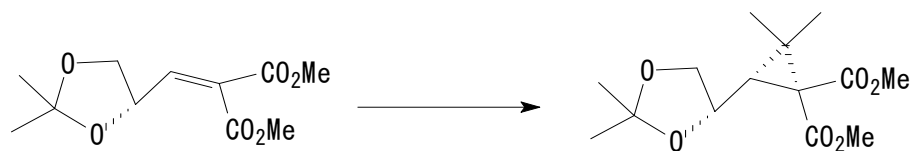


图 27.

综上所述，环状烯烃作为底物进行 MIRC 反应时，由于空间因素的作用，可得到很好的非对映选择性。而在非环体系中，对于有些特殊构型的烯烃，也观察到良好的立体选择性。如 Kerif^[27]等报道的烷烯基丙二酸二甲酯与硫或磷叶立德反应高选择性较高产率的得到环丙烷化产物。图 28。

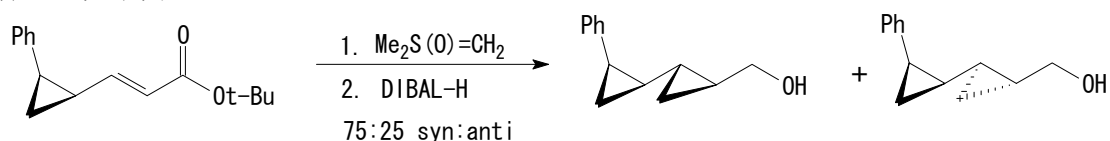


$\text{Ph}_2\text{S}=\text{CMe}_2$, LiBF_4 , DMF, -78°C to 20°C , 1h 76% dr: $>98\%$

$\text{Ph}_3\text{P}=\text{CMe}_2$, THF 20°C , 20h 80% dr: $>98\%$

图 28.

对于非环烯烃的非对映选择性的 MIRC 反应，一般手性碳原子都连有杂原子，对于手性碳上连接碳原子的报道较少。(E)-cis-环丙烷羧酸酯的环丙烷化虽然生成了双环丙烷基类化合物，但非对映选择性很低^[28]。见下图 29。



三、结束语

环丙烷化反应经过几十年的发展，特别是在进入 90 年代之后，随着不对称反应的兴起已经有了长足的进步，各种高效的催化剂配体层出不穷，反应机理也已基本清晰，但目前绝大多数的不对称环丙烷反应离工业化应用方面还相差较远。究其原因，主要是因为大部分手性配体的催化剂合成困难，成本高，通用性不强，另外许多反应的工艺条件比较苛刻，给工业化应用增加了困难。因此开发通用的高效催化剂，寻找适于工业生产的合成方法，推动不对称环丙烷化向实际工业应用迈进，为香料行业提供更多新型优质香料，将是今后努力的方向。

参考文献:

- [1] Luca Turin. Improved Aromachemicals[P]. AU 2009200217. 2009
- [2] Lebel H., Marcous Jean-Francois, Molinaro C. Charette A. B. Stereoselective Cyclopropanation Reactions [J]. Chem. Rev. 2003, 103: 977-1050.
- [3] a. Friedrich E. C., Lunetta S. E. Titanium(IV) Chloride Catalyzed Cyclopropanations of Alkenes Using Zinc Dust, Copper(I) Chloride, and Dihalomethanes [J]. J. Org. Chem. 1989, 54: 2388-2390.
b. Friedrich E. C., Lewis E. J. Acetyl Chloride Promoted Cyclopropanations of Alkenes with Dibromomethane Using Zinc Dust and Copper(I) Chloride in Ether [J]. J. Org. Chem. 1990, 55: 2491-2494.
c. Friedrich E. C. and Fatemeh N. Regioselectivity and Solvent Effects in Cyclopropanations of Alkenes [J]. J. Org. Chem. 1991, 56: 2202-2205.
- [4] a. Luca Turin. Aromachemical [P]. WO 2007/120502, 2007.
b. Luca Turin. Cyclopropanated Aromachemicals [P]. US 2007/0259042, 2007.
c. Luca Turin. Cyclopropanated derivatives of coumarin&their use as a flavour or fragrance [P]. GB 2426516, 2006.
d. Luca Turin. Citral Derivatives [P]. US 2008/0015136, 2008.
- [5] Baigrowicz J. A. and Frater G. Cyclopentanebutanol derivatives as odorants [P]. E P 0801049, 1997.
- [6] Oppolzer W., Radinov R. N. Synthesis of (R)-(-)-muscone by an asymmetrically catalyzed macrocyclization of an .omega.-alkynal [J]. J. Am. Chem. Soc. 1993, 115: 1593.
- [7] 纳鲁拉 A. P. S., 阿鲁达 F. M., 希特 F. T. 环丙烷化的大环酮和内酯 [P]. CN1865257, 2006
- [8] 施罗德 F. 环丙烷化法 [P]. CN 101087745, 2007.
- [9] Luca Turin. Cyclopropanated Aromachemicals [P]. GB 2423301, 2006.
- [10] Fridtjof S. Cyclopropanation Process [P]. WO 2009/023980, 2009.
- [11] Little R. D. and Dawson J. R. MIRC (Michael Initiated Ring Closure) Reactions Formation of Three, Five, Six and Seven Membered Rings [J]. Tetrahedron Lett. 1980, 21:

- 2609-2612.
- [12] Prempreee P., Radviroongit S. etc. Reaction of methyl 4-bromocrotonate with lithium ester enolates: direct SN2 displacement vs. Michael-initiated ring closure [J]. *J. Org. Chem.* 1983, 48: 3553-3556.
- [13] Subhash P. C. Sharma P., Sivappa R., Bhadbhade M. M., Gonnade R. G., and Kalkote U. R. Enantioselective Synthesis of L-CCG-I [J]. *J. Org. Chem.* 2003, 68: 6817-6819.
- [14] Krollpfeiffer F., Hartmann H. Über Spaltungen und Umlagerungen von Phenacyl-sulfoniumsalzen [J]. *Chem. Ber.* 1950, 83: 90.
- [15] a. Corey E. J. Jautelat M. Construction of ring systems containing the Gemdimethylcyclopropane unit using diphenylsulfonium isopropylide [J]. *J. Am. Chem. Soc.* 1967, 89: 3912-3914.
 b. Corey E. J., Chaykovsky M. Dimethylloxosulfonium Methylide ((CH₃)₂SOCH₂) and Dimethylsulfonium Methylide ((CH₃)₂SCH₂). Formation and Application to Organic Synthesis [J]. *J. Am. Chem. Soc.* 1965, 87: 1353-1364.
 c. Corey E. J., Chaykovsky M. Dimethylsulfoxonium Methylide [J]. *J. Am. Chem. Soc.* 1962, 84: 867-868.
- [16] Narula A. P. S. and Arruda E. M. Cyclopropanecarboxaldehydes and their use in Perfume Compositions [P]. US 7087796, 2006.
- [17] Estmann H., Seng K. Reaktion von Tetracarbonylferrat(-II) mit Hydroxylamin-O-sulfonsäure [J]. *Angew. Chem.* 1962, 74: 154.
- [18] a. Avery T. D., Fallon G., Greatrex B. W., Pyke S. M., Taylor D. K., Tiekink E. R. T. Mechanistic Investigations on the Reaction between 1,2-Dioxines and Bulky Stabilized Phosphorus Ylides: An Efficient Route to Closely Related Cyclopropane Stereoisomers [J]. *J. Org. Chem.* 2001, 66: 7955-7966.
 b. Avery T. D., Greatrex B. W., Taylor D. K., Tiekink E. R. T. Exploitation of ylide steric bulk to alter cyclopropanation outcome during the reaction of 1,2-dioxines and stabilised phosphorus ylides [J]. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I.* 2000: 1319-1322.
 c. Avery T. D., Taylor D. K., Tiekink E. R. T. A New Route to Diastereomerically Pure Cyclopropanes Utilizing Stabilized Phosphorus Ylides and γ -Hydroxy Enones Derived from 1,2-Dioxines: Mechanistic Investigations and Scope of Reaction [J]. *J. Org. Chem.* 2000, 65: 5531-5546.
 d. Avery T. D., Haselgrove T. D., Rathbone T. J., Taylor D. K., Tiekink E. R. T. New synthetic methodology utilising 1,2-dioxines and stabilised phosphorus ylides: a highly diastereoselective cyclopropanation reaction [J]. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1998: 333-334.
 e. Taylor D., Vandigriff J. E. Enantioselective Cyclopropanation [P]. US 2005/0054877, 2005
- [19] a. Shen Y., Liao Q. M. [J]. *J. Chem. Res. (S)* 1996, 328.
 b. Shen Y., Xiang Y. [J]. *J. Chem. Res. (S)* 1994, 198.
 c. Shen Y., Liao Q. M. Synthesis of (trimethylsilyl)(cyclopropyl)acetylenes and terminal cyclopropylacetylenes via an arsonium ylide under phase-transfer conditions [J]. *J. Organomet. Chem.* 1989, 371: 31-34.
 d. Shen Y., Liao Q. M. A Facile Synthesis of (Trimethylsilylethynyl)cyclopropanes via an Arsonium Ylide [J]. *Synthesis* 1988: 321-323.
 e. Huang Y. Z., Shen Y. C. Arsonium Ylides [J]. *Adv. Organomet. Chem.* 1982, 20: 115.
- [20] a. Guo X., Shen W., Zheng M., Zhong Q. A Facile Synthesis of Dispiro-Ring Compounds Via Telluronium Ylides [J]. *Synth. Commun.* 2000, 30: 3363.
 b. Guo X., Shen W., Zheng M., Zhong Q. A Facile Synthesis of Bicyclo[4,1,0]Heptan-2-ones by Telluronium Ylides [J]. *Synth. Commun.* 2000, 30: 3275.
 c. Huang Y. Z., Tang Y., Zhou Z. L. Synthetic applications of organotelluronium salts [J]. *Tetrahedron* 1998, 54: 1667-1690.

- [21] Huang Y. Z., Tang Y., Zhou Z. L., Huang J. L. Michael addition of silylated telluronium allylide to α , β -unsaturated esters: facile and stereoselective synthesis of trimethylsilylvinylcyclopropane derivatives [J]. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1993, 1: 7-9.
- [22] Huang Y. Z., Tang Y., Zhou Z. L., Xia W. Shi L. An efficient and highly stereoselective synthesis of trimethylsilylvinylcyclopropane derivatives *via* an organotelluronium salt: first example of catalytic Wittig-type cyclopropanation [J]. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I.* 1994: 893-896.
- [23] a. Tang Y., Huang Y., Sai L. X., Sun J., Xia W. An Efficient Stereocontrolled Strategy in the Cyclopropanation Reactions of α , β -Unsaturated Ketones with Semistabilized Ylides: Highly Selective Synthesis of Two Geometrical Isomers of Vinyl-Substituted Cyclopropane Derivatives [J]. *J. Org. Chem.* 1997, 62: 954-955.
- b. Tang Y., Huang Y., Dai L., Chi Z. F., Shi L. Cyclopropanation Reactions of Allylic Ylides with α , β -Unsaturated Esters and Amides: Tuning of Stereoselectivity and the Dramatic Effect of Lithium Salts [J]. *J. Org. Chem.* 1996, 61: 5762-5769.
- [24] a. Papageorgiou C. D., Cubillo de Dios M. A., Ley S. V., Gaunt M. Enantioselective Organocatalytic Cyclopropanation via Ammonium Ylides [J]. *J. Angew. Chem. Int. Ed.* 2004, 43: 4641-4644.
- b. Papageorgiou C. D., Ley S. V., Gaunt M. Organic-Catalyst-Mediated Cyclopropanation Reaction [J]. *J. Angew. Chem.* 2003, 115: 852-855.
- c. Bremeyer N., Smith S. C., Ley S. V., Gaunt M. [J]. *J. Angew. Chem. Int. Ed.* 2004, 43: 2681-2684.
- d. Bremeyer N., Smith S. C., Ley S. V., Gaunt M. An Intramolecular Organocatalytic Cyclopropanation Reaction [J]. *J. Angew. Chem.* 2004, 116: 2735-2738.
- e. Papageorgiou C. D., Ley S. V., Gaunt M. Organic-Catalyst-Mediated Cyclopropanation Reaction [J]. *J. Angew. Chem. Int. Ed.* 2003, 42: 828-831.
- [25] a. de Faria M. L., Magalhaes R. de A., Silva F. C., Matias L. G. de O., Ceschi M. A. Enantiodivergent syntheses of cycloheptenone intermediates for guaiane sesquiterpenes [J]. *J. Tetrahedron: Asymmetry* 2000, 11: 4093-4103.
- b. Rocquet F., Sevin A. [J]. *Bull. Soc. Chim. Fr.* 1974, 888.
- [26] Krief A., Swinnen D. Novel synthesis of vinyl cyclopropane carboxylic acids: Application to the synthesis of (*d,l*)- and (*d*)-*cis*-chrysanthemic acid [J]. *Tetrahedron Lett.* 1996, 37: 7123-7126.
- [27] a. Krief A., Provins L., Froidbise A. Asymmetric Synthesis of Cyclopropane-1,1-Dicarboxylates from a γ -Alkoxy-Alkylidenemalonate [J]. *Synlett* 1999: 1936-1938.
- b. Krief A., Provins L., Froidbise A. Diastereoselective synthesis of dimethyl cyclopropane-1,1-dicarboxylates from a γ -alkoxy-alkylidene malonate and sulfur and phosphorus ylides [J]. *Tetrahedron Lett.* 1998, 39: 1437-1440.
- [28] Cebula R. E. J., Hanna M. R., Theberge C. R., Verbicky C. A., Zercher C. K. Ylide-mediated bis-cyclopropane formation: A reversal in substrate-mediated facial selectivity [J]. *Tetrahedron Lett.* 1996, 37: 8341-8344.

从异佛尔酮合成香原料

陈恩治 金涛

(上海爱普香料有限公司, 上海 201908)

摘要: 本文对利用异佛尔酮作为起始原料来合成香料的研究作了一简介, 包括一些天然存在于植物中的类胡萝卜素降解产物以及其他一些香原料的合成。

关键词: 异佛尔酮;合成;香料;类胡萝卜素

A Review on the Synthesis of Aroma Chemicals from Isophorone

Chen Enzhi Jin tao

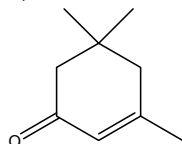
(Shanghai Apple Flavor&Fragrance Co.Ltd., Shanghai 201809)

Abstract: A brief review on the synthesis of aroma chemicals from isophorone, including some carotenoid degradation products found in plants and some other raw materials.

Keywords: Isophorone ,Synthesis ,Aroma Chemicals ,Carotenoids

一.前言

异佛尔酮 (Isophorone) 化学名为 3,5,5-三甲基-2-环己烯-1-酮, 结构式为:



异佛尔酮是类胡萝卜素的 C₉ 降解产物, 天然存在烟草、蘑菇、酒、菊花、圆柚汁等中, 具有类似樟脑样的木香, 可以作为一种香原料用于各种香精中。目前主要作为一种重要的高沸点溶剂用于涂料中, 也作为一种医药、塑料、香料合成的中间体得到广泛应用。异佛尔酮工业上作为丙酮的衍生产品之一, 由丙酮在碱性催化剂和水的存在下, 经醇醛缩合反应, 然后经脱水、环化等工序而得。

由于异佛尔酮作为类胡萝卜素的 C₉ 降解产物, 与其他类胡萝卜素 C₁₃、C₁₁、C₁₀ 和 C₉ 降解产物具有结构的相似之处, 而这些 C₁₃、C₁₁、C₁₀ 和 C₉ 化合物通常是各种植物精油最主要的发香成分, 因而如何利用通俗易得价廉物美的异佛尔酮来合成各种类胡萝卜素的降解产物及其他衍生物引起各国合成香料化学家的广泛兴趣, 发表了大量文章^[1]。

表 1: 植物中存在的一些主要类胡萝卜素降解产物

名 字	结 构	香 气
4-酮代异佛尔酮 4-Ketoisophorone		具有绿茶,烟草样和干草的香味,香气自然,浓郁
β-环柠檬醛 beta-Cyclocitral		具有果香、青香、薄荷样的香气
藏红花醛 Safranal		新鲜的甜的草香、辛香、青香香气,并带有花香和木香香韵
二氢猕猴桃内酯 Dihydroactinodioidide		具有酸甜的木质香气、桃味、烟味兼有茶叶芳香
α-紫罗兰酮 α-ionone		具有酷似紫罗兰花样的花香香气和木香气息,并带有果香香韵
β-紫罗兰酮 β-ionone		具有酷似紫罗兰花样的花香香气和强烈的木香气息
α-突厥酮 α-damascone		有强烈持久的玫瑰似的花香以及苹果样的果香香气
β-突厥酮 β-damascone		有强烈的玫瑰似的花香以及黑加仑、梨、蜂蜜和烟叶香气

β -突厥烯酮 β -damascenone		有强烈的玫瑰似的花香香气, 以及李子、圆柚、复盆子、茶叶和烟叶香韵
茶螺烷酮 Theaspirone		具有强烈的樟脑、红茶样香气
3-氧代- α -紫罗兰酮 3-Oxo-alpha-Ionone		具有类似烟叶、茶叶样香气
4-氧代- β -紫罗兰酮 4-Oxo-beta-ionone		具有类似烟叶、茶叶样香气
大柱三烯酮 Megastigmatrienone		具有强烈持久的烟草样、甜香、暖香和干香香气, 并有辛香的底韵, 能很好改善烟味

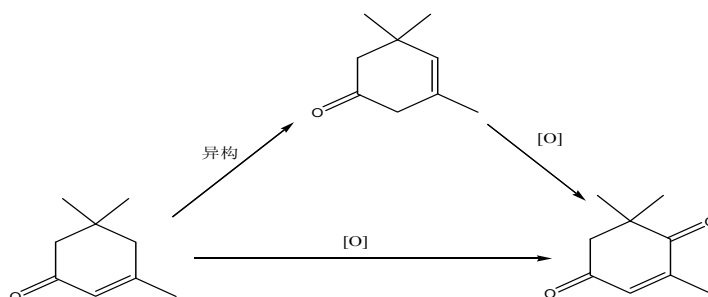
二. 综述

(一) 从异佛尔酮合成 C_9 香原料

1. 4-酮代异佛尔酮 (4-Ketoisophorone, 4-Oxoisophorone)

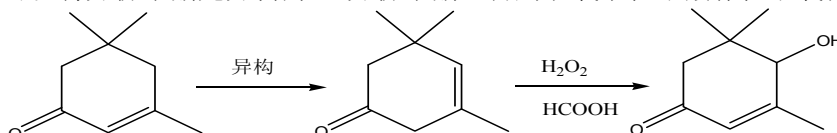
酮代异佛尔酮商品名为茶香酮, 化学名为 2,6,6-三甲基-2-环己烯-1, 4-二酮, CAS 1125-21-9, FEMA 3421, 天然存在于白肋烟叶、红茶和藏红花挥发成分中, 具有绿茶、烟草样和干草的香味, 香气自然、浓郁。此外, 酮代异佛尔酮还是一种非常重要的中间体, 可以用来合成其他香原料及药物。

酮代异佛尔酮可以用异佛尔酮直接烯丙基氧化得到, 也可以先异构为 β -异佛尔酮, 再氧化得到^[2,3,4,5,6,7]。



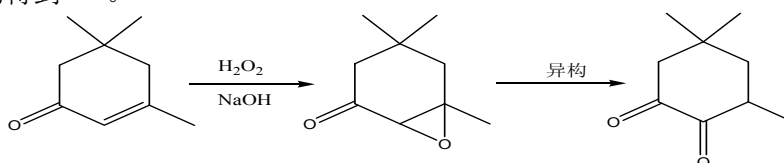
2. 4-羟基异佛尔酮 (4-Hydroxyisophorone)

4-羟基异佛尔酮商品名为茶香醇, 化学名为 2,6,6-三甲基-4-羟基-2-环己烯-1-酮, 具有类似茶叶、烟草样的香气; 可以将异佛尔酮先异构为 β -异佛尔酮, 再用双氧水在甲酸存在下氧化得到^[8]。



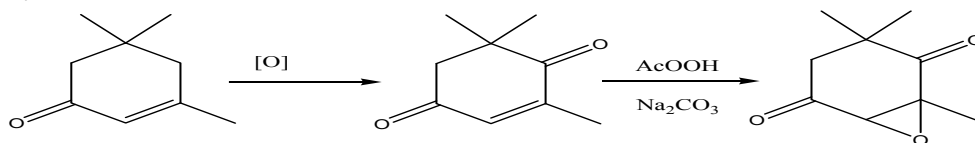
3. 3,5,5-三甲基-1, 2-环己二酮 (3,5,5-Trimethyl-cyclohexane-1,2-dione)

3,5,5-三甲基-1, 2-环己二酮商品名为烟酮, CAS4883-60-7, FEMA 3459, 天然存在于烟叶中, 具有烟草特征香气, 略带凉甜感; 可以将异佛尔酮先用双氧水在氢氧化钠存在下环氧化得到环氧异佛尔酮, 再经酸性异构得到^[9,10]。



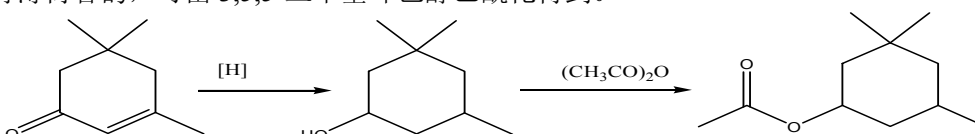
4. 3,5,5-三甲基-2-环氧-1,4-环己二酮 (Epoxyoxophorone)

3,5,5-三甲基-2-环氧-1,4-环己二酮, 商品名 Epoxyoxophorone, CAS 38284-11-6, FEMA4109, 具有甜的, 樟脑样的香气; 可以将异佛尔酮先氧化得到 4-酮代异佛尔酮, 再用过酸在碳酸钠存在下环氧化得到^[11]。



5. 3,5,5-三甲基环己醇及其酯

3,5,5-三甲基环己醇, 商品名 Cyclonol(Huls), Homomenthol, CAS 116-02-9, FEMA3962, 具有薄荷和樟脑样的香气, 可以由异佛尔酮催化氢化得到^[12]; 其乙酸酯商品名 Cyclonol acetate (Huls), Mintonat(Symrise), Homomenthyl acetate (Bedoukian), CAS 67859-96-5, FEMA4512, 具有果香和草香, 并伴有薄荷香韵, 可由 3,5,5-三甲基环己醇乙酰化得到。

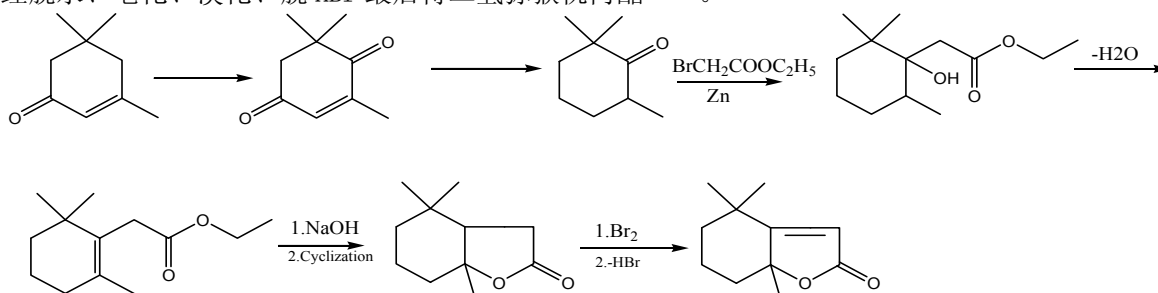


(二) 从异佛尔酮合成 C₁₁ 香原料

1. 二氢猕猴桃内酯 (Dihydroactinodiolide)

二氢猕猴桃内酯化学名为 2,6,6-三甲基-2-羟基环己烷羧酸-γ-内酯, CAS17092-92-1, FEMA 4020, 天然存在于烟草、红茶、杏子、西红柿和鸡蛋果中, 具有酸甜的木质香气、桃味、烟味兼有茶叶芳香。

通过异佛尔酮为原料来合成可以先从异佛尔酮氧化合成 4-酮代异佛尔酮, 再还原, 脱水氢化得到 2,6,6-三甲基环己酮, 与溴乙酸乙酯经 Reformatsky 反应得 2-(2,6,6-三甲基-1-羟基环己烷)-乙酸乙酯, 再经脱水、皂化、溴化、脱 HBr 最后得二氢猕猴桃内酯^[13,14]。

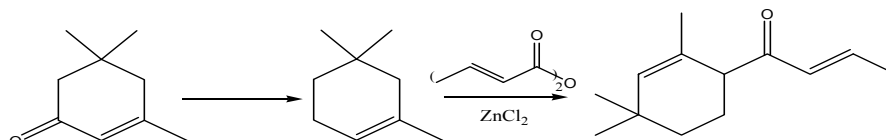


(三) 从异佛尔酮合成 C₁₃ 香原料

1. 异突厥酮 (Isodamascone)

异突厥酮化学名为 1-(2,4,4-三甲基环己-2-烯基)-2-丁烯-1-酮, CAS 39872-57-6, 具有透发的花香-果香, 玫瑰香气。

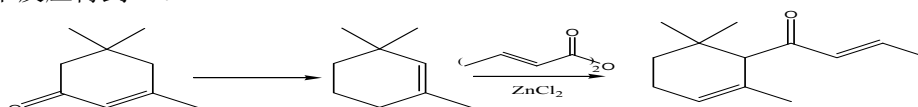
通过异佛尔酮为原料可以将异佛尔酮先经黄鸣龙还原得到 2,4,4-三甲基-1-环己烯, 再与巴豆酸酐在氯化锌催化下反应得到^[15]。



2. α-突厥酮 (α-Damascone)

α-突厥酮化学名为 1-(2,6,6-三甲基-2-环己烯基)-2-丁烯-1-酮, CAS 43052-87-5, FEMA 4088, 天然存在于玫瑰油、香叶油和红茶等中, 具有强烈持久的玫瑰似的花香以及苹果样的果香香气。

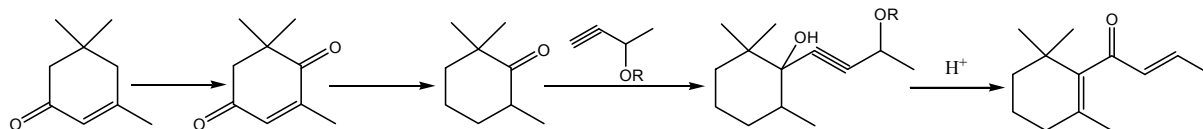
通过异佛尔酮为原料可以先将异佛尔酮异构再还原得到 1,3,3-三甲基-1-环己烯, 再与巴豆酸酐在氯化锌催化下反应得到^[16]。



3. β -突厥酮 (β -Damascone)

β -突厥酮化学名为 1-(2,6,6-三甲基-1-环己烯基)-2-丁烯-1-酮, CAS 23726-91-2, FEMA 3243, 天然存在于玫瑰油、香叶油和红茶等中, 具有强烈的玫瑰似的花香以及黑加仑、梨、蜂蜜和烟叶香气。

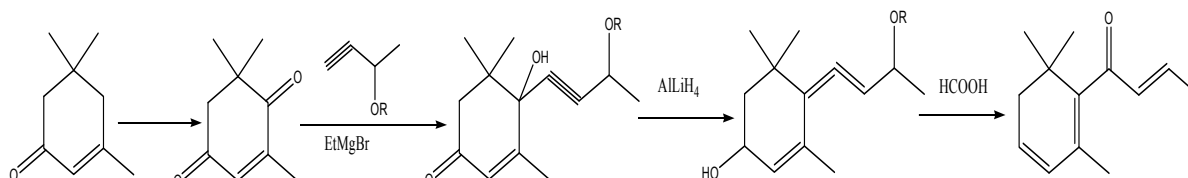
通过异佛尔酮为原料来合成可以先从异佛尔酮氧化合成 4-酮代异佛尔酮, 再还原, 脱水氢化得到 2, 6, 6-三甲基环己酮, 再与 3-烷氧基-1-丁炔反应得到 2, 6, 6-三甲基-1-羟基-1-(3-烷氧基-1-丁炔-1-基)-环己烷, 再在酸性下重排得到 β -突厥酮^[17]。



4. β -突厥烯酮 (β -Damascenone)

β -突厥烯酮化学名为 1-(2,6,6-三甲基-1, 3-环己二烯基)-2-丁烯-1-酮, CAS 23696-85-7, FEMA 3420, 天然存在于玫瑰油、香叶油和红茶等中, 具有强烈的玫瑰似的花香香气, 以及李子、圆柚、复盆子、茶叶和烟叶香韵。

通过异佛尔酮为原料来合成可以先从异佛尔酮氧化合成 4-酮代异佛尔酮, 再与丁炔叔丁基醚在乙基溴化镁催化下反应得到 2, 6, 6-三甲基-1-羟基-1-(3-叔丁氧基-1-丁炔-1-基)-2-环己烯-4-酮, 再经锂铝氢还原并重排得到 2, 6, 6-三甲基-4-羟基-1-(2-叔丁氧基-3, 4-丁二烯-4-基)-2-环己烯, 再在甲酸催化下脱水重排反应得到 β -突厥烯酮^[18]。

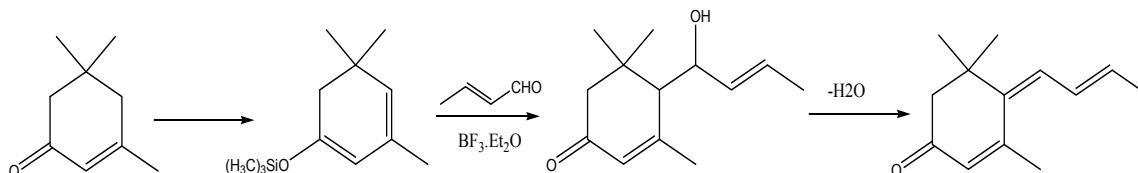


5. 大柱三烯酮 (Megastigmatrienone)

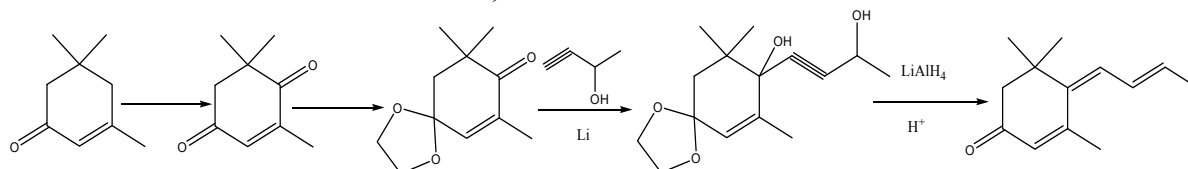
大柱三烯酮商品名为太白酮 (Tabanon) (Symrise), 化学名为 4-(2-亚丁二烯基)-3,5,5-三甲基-2-环己烯-1-酮, CAS 13215-88-8, FEMA4663, 天然存在于白肋烟叶中, 具有强烈而持久的烟草样、甜香、暖香和干香香气, 并有辛香的底韵, 能很好地改善烟味, 是白肋烟叶香型的重要组成原料。

通过异佛尔酮为原料来合成有以下几种方法:

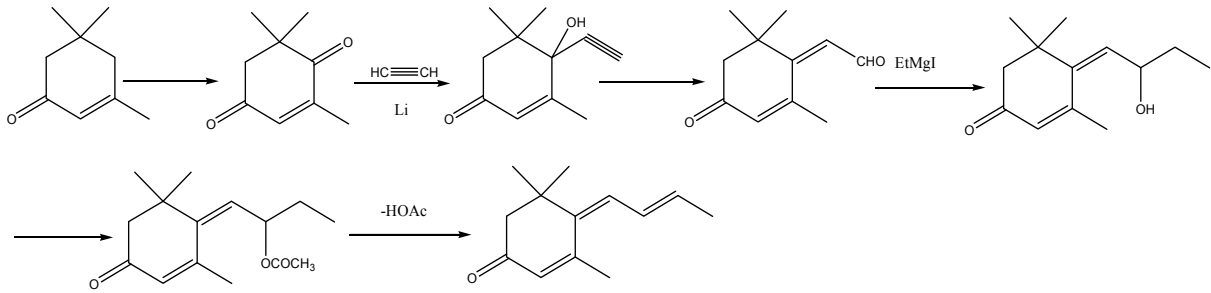
(1) 先从异佛尔酮合成异佛尔酮三甲基硅烷烯醇醚, 再与巴豆醛在路易斯酸催化下反应得到 3-氧代- α -突厥醇, 再经脱水得到大柱三烯酮^[19,20]。



(2) 先从异佛尔酮氧化合成 4-酮代异佛尔酮, 再与乙二醇反应得到 2, 6, 6-三甲基-4-乙撑二氧基-2-环己烯-1-酮, 再与 3-丁炔-2-醇在锂存在下反应得到 1-(3-羟基-1-丁炔-1-基)-2, 6, 6-三甲基-4-乙撑二氧基-2-环己烯-1-醇, 再经锂铝氢还原, 水解并重排得到大柱三烯酮^[21]。



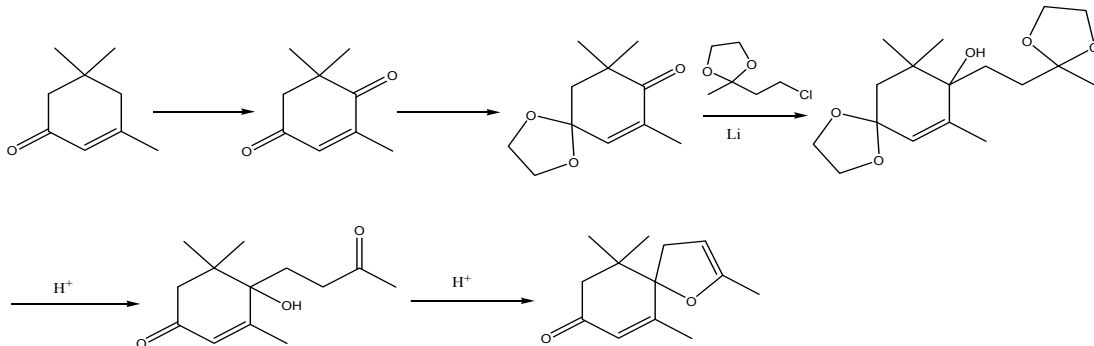
(3) 先从异佛尔酮氧化合成 4-酮代异佛尔酮, 再与乙炔在锂存在下反应得到 3, 5, 5-三甲基-4-羟基-4-乙炔基-2-环己烯-1-酮, 再经重排得到 (2, 6, 6-三甲基-4-氧代-2-环己烯-1-叉基) 乙醛, 再与乙基碘化镁反应得到 3, 5, 5-三甲基-4-(2-羟基丁叉基)-2-环己烯-1-酮, 再经乙酰化得到 3, 5, 5-三甲基-4-(2-乙酰氧基丁叉基)-2-环己烯-1-酮, 最后经裂解得到大柱三烯酮^[22]。



6. 8,9-脱氢茶螺烷酮 (8, 9-dehydrotheaspironone)

8,9-脱氢茶螺烷酮化学名为 2, 6, 10, 10-四甲基-1-氧杂-螺环[4, 5]-2,6-癸二烯-8-酮, CAS 80722-28-7, FEMA 4518, 天然存在于烟草中, 具有木香、花香香气。

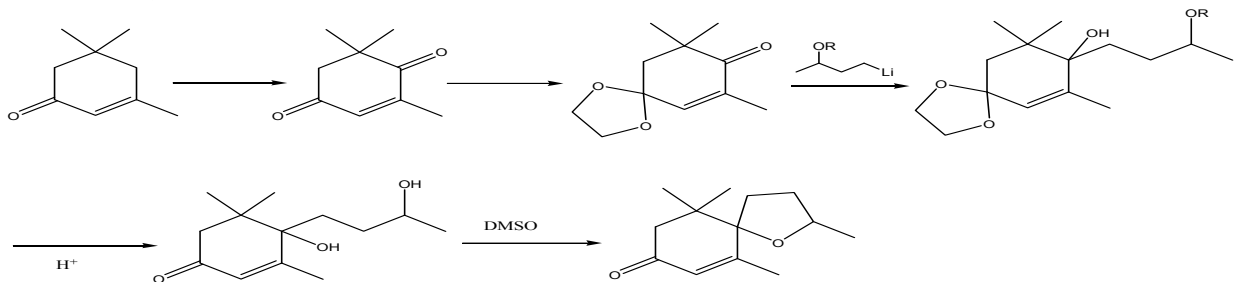
通过异佛尔酮为原料来合成, 可以先氧化合成 4-酮代异佛尔酮, 再与乙二醇反应得到 2, 6, 6-三甲基-4-乙撑二氧基-2-环己烯-1-酮, 再与 4-氯-2-丁酮的乙二醇缩酮在金属锂存在下反应得到 2, 6, 6-三甲基-4-乙撑二氧基-1-羟基-1-(3-乙撑二氧基丁基)-2-环己烯, 再经水解得到 2, 6, 6-三甲基-1-羟基-1-(3-氧代丁基)-2-环己烯-4-酮, 再经酸性环化得到 8,9-脱氢茶螺烷酮^[23,24]。



7. 茶螺烷酮 (Theaspironone)

茶螺烷酮化学名为 2, 6, 10, 10-四甲基-1-氧杂-螺环[4, 5]-6-癸烯-8-酮, CAS 19377-59-4, 77841-36-2, 天然存在于红茶中, 具有樟脑、红茶样香气, 与二氢猕猴桃内酯合用可得可口的茶香。

通过异佛尔酮为原料来合成, 可以先氧化合成 4-酮代异佛尔酮, 再与乙二醇反应得到 2, 6, 6-三甲基-4-乙撑二氧基-2-环己烯-1-酮, 再与 2-烷氧基丁基锂反应得到 2, 6, 6-三甲基-4-乙撑二氧基-1-羟基-1-(3-烷氧基丁基)-2-环己烯, 再经水解、环化得到茶螺烷酮^[25]。

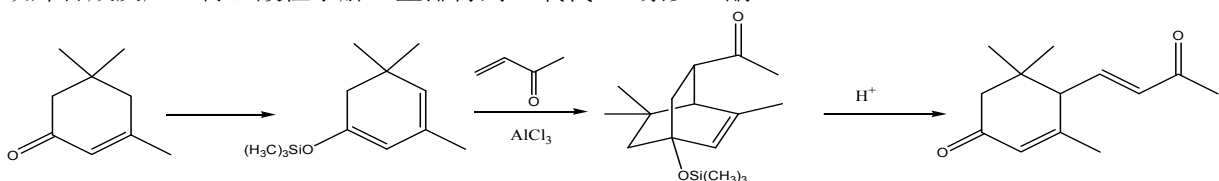


8. 3-氧代-α-紫罗兰酮(3-Oxo-α-ionone)

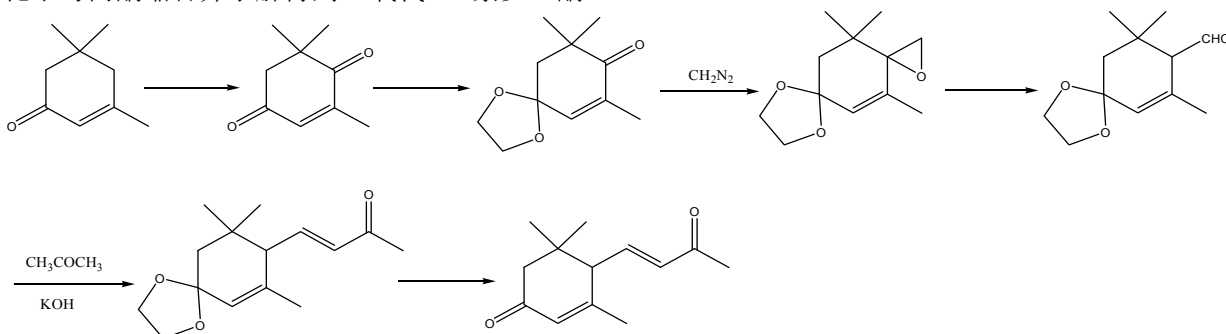
3-氧代-α-紫罗兰酮化学名为 4-(3-氧代-2-丁烯基)-3,5,5-三甲基-2-环己烯-1-酮, CAS 79734-43-3, 天然存在于烟草、茶叶中, 具有类似烟叶、茶叶样香气。

通过异佛尔酮为原料来合成有以下几种方法:

(1) 先从异佛尔酮合成异佛尔酮三甲基硅烷烯醇醚, 再与丁烯酮在路易斯酸催化下经 Diels-Alder 双烯合成反应, 再经酸性水解、重排得到 3-氧代-α-紫罗兰酮^[26]。



(2) 可以先将异佛尔酮氧化合成 4-酮代异佛尔酮，再与乙二醇反应得到 2, 6, 6-三甲基-4-乙撑二氧基-2-环己烯-1-酮，再与重氮甲烷反应，再经重排得到 4-乙撑二氧基- α -环柠檬醛，再在氢氧化钾催化下与丙酮缩合并水解得到 3-氧代- α -紫罗兰酮^[27]。

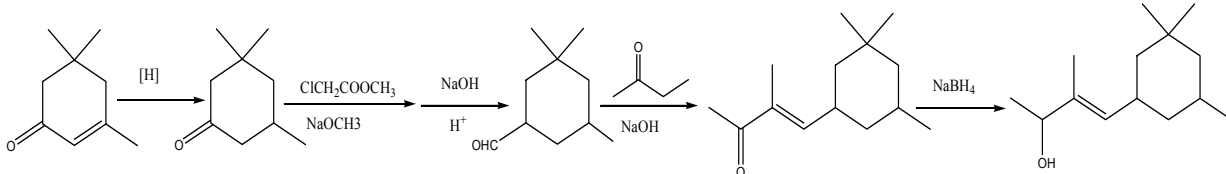


(四) 从异佛尔酮合成其他香原料

1. 2-甲基-4-(3, 5, 5-三甲基环己基)-3-丁烯-2-醇

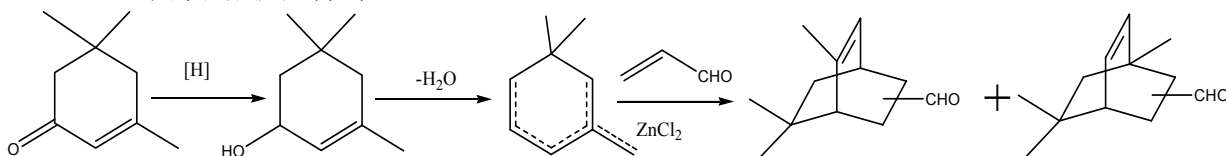
(2-Methyl-4-(3, 5, 5-trimethylcyclohexyl)-3-buten-2-one)

2-甲基-4-(3, 5, 5-三甲基环己基)-3-丁烯-2-醇具有强烈的木香香气，可由异佛尔酮催化氢化得到 3, 5, 5-三甲基环己酮，在与氯乙酸甲酯经 Darzens 反应，水解得到 3, 5, 5-三甲基环己基甲醛，再与 2-丁酮缩合得到 2-甲基-4-(3, 5, 5-三甲基环己基)-3-丁烯-2-酮，再经硼氢化钠还原得到^[28]。



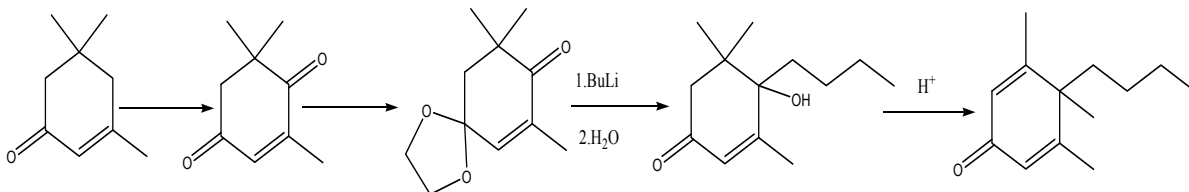
2. 三甲基双环[2,2,2]辛-7-烯甲醛 (Formyl trimethylbicyclo[2,2,2]oct-7-ene)

三甲基双环[2,2,2]辛-7-烯甲醛具有青的草药样的香气，可由异佛尔酮经还原得到 3, 5, 5-三甲基-2-环己烯-1-醇，在酸性条件下脱水得到 3, 5, 5-三甲基环己二烯混合物，再与丙烯醛在氯化锌催化下经 Diels-Alder 双烯合成反应得到^[29]。



3. 4-丁基-3, 4, 5-三甲基-2, 5-环己二烯-1-酮 (4-Butyl-3,4,5-trimethyl-2,5-cyclohexadien-1-one)

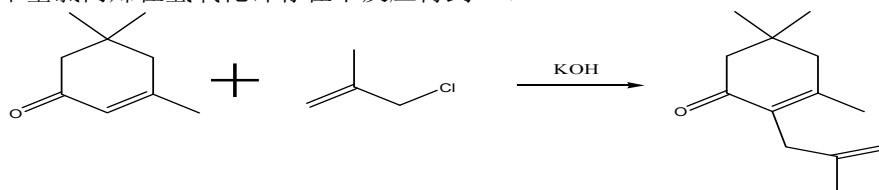
4-丁基-3, 4, 5-三甲基-2, 5-环己二烯-1-酮具有青的、药草和茉莉花样的香气，可以由异佛尔酮氧化得 4-酮代异佛尔酮，再与乙二醇反应得到 2, 6, 6-三甲基-4-乙撑二氧基-2-环己烯-1-酮，再与丁基锂反应并水解得 4-丁基-4-羟基-3, 5, 5-三甲基-2-环己烯-1-酮，再在酸性下脱水重排得到^[30]。



4. 3, 5, 5-三甲基-2-(2-甲基-2-丙烯基)-2-环己烯-1-酮

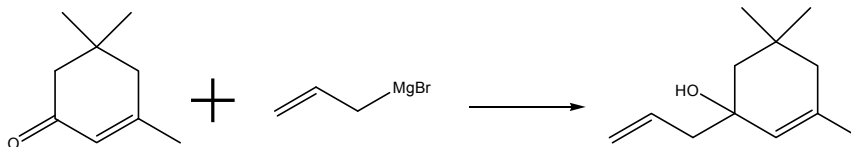
(3, 5, 5-trimethyl-2-(2-methyl-2-propenyl)-2-cyclohexen-1-one)

3, 5, 5-三甲基-2-(2-甲基-2-丙烯基)-2-环己烯-1-酮具有强烈的烟草、木香、樟脑样香气，可以由异佛尔酮与甲基氯丙烯在氢氧化钾存在下反应得到^[31]。



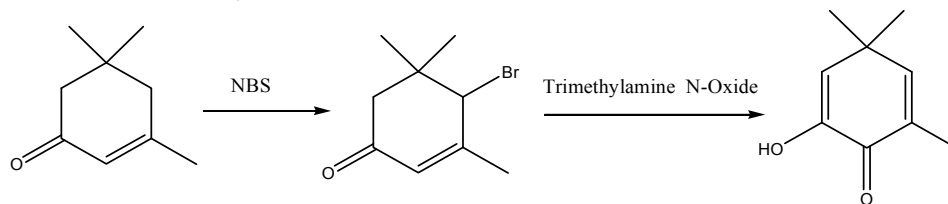
5. 1-烯丙基-3, 5, 5-三甲基-2-环己烯-1-醇 (1-Allyl-3,5,5-trimethyl-2-cyclohexen-1-ol)

1-烯丙基-3, 5, 5-三甲基-2-环己烯-1-醇具有烟草、木香、薄荷样香气, 可以由异佛尔酮与烯丙基溴化镁经格氏反应得到^[32]。



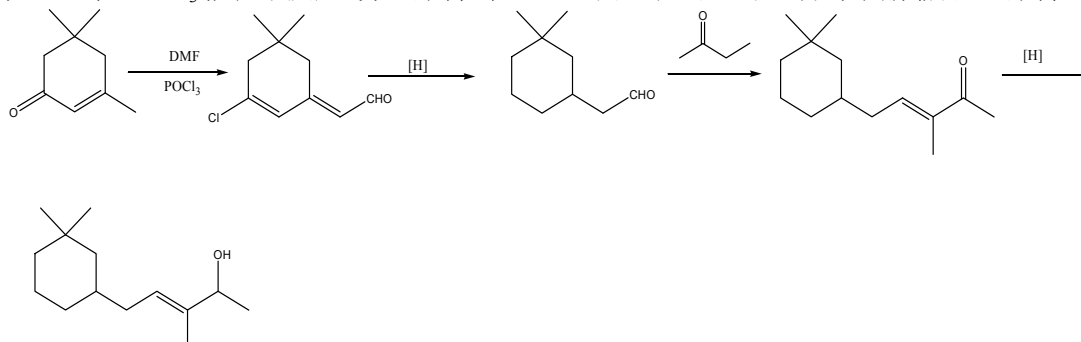
6. 4, 4, 6-三甲基-2, 5-环己二烯-2-醇-1-酮 (4,4,6-trimethyl-cyclohexa-2,5-dien-2-ol-1-one)

4, 4, 6-三甲基-2, 5-环己二烯-2-醇-1-酮具有烟草、茶叶样香气, 可以由异佛尔酮经 NBS 溴化反应得到 4-溴异佛尔酮, 再经脱溴、氧化、重排得到^[33]。



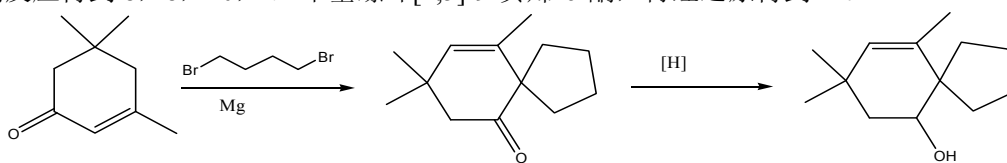
7. 3-甲基-5-(3, 3-二甲基环己基)-3-戊烯-2-醇 (3-Methyl-5-(3,3-dimethylcyclohexyl)-3-penten-2-ol)

3-甲基-5-(3, 3-二甲基环己基)-3-戊烯-2-醇具有甜的干草、木香、烟草、茶叶样香气, 可以由异佛尔酮与 DMF 在 POCl₃ 催化下反应, 并还原得到 3,3-二甲基环己基乙醛, 再与丁酮缩合, 还原得到^[34]。



8. 8, 8, 10, -三甲基螺环[4,5]-9-癸烯-6-醇 (8,8,10-Trimethylspiro[4,5]decan-9-ene-6-ol)

8, 8, 10, -三甲基螺环[4,5]-9-癸烯-6-醇具有龙涎样、木香香气, 可以由异佛尔酮与 1, 4-二溴丁烷格氏试剂反应得到 8, 8, 10, -三甲基螺环[4,5]-9-癸烯-6-酮, 再经还原得到^[35]。



三. 结论

综上所述, 利用异佛尔酮作为原料可以合成一系列高附加值的香原料, 能广泛使用于各种香精中, 大大拓宽异佛尔酮的应用前景。由此可以联想到, 如何利用通俗易得价廉物美的大宗化工原料来开发一系列合成香料, 是摆在我们广大合成化学工作者面前的一个现实而具有光明前景的课题。

参考文献:

- [1] 黄致喜, 王慧辰. 萜类香料化学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999: 178-224.
- [2] 赵增国等. 3, 5, 5-三甲基-2-环己烯-1, 4-二酮的合成[J]. 精细化工, 1998, 15: 42.
- [3] Becker Joseph, Hochstrasser Ulrich. Process for the preparation of oxophorones : US3944620[P]. 1976-3-16.
- [4] Becker Joseph, Schulteelte karl-Heinrich. Process for the preparation of a diketone derivative: DE 2457157[P]. 1975-06-12.
- [5] Bellut Hans. Process for preparing 2,6,6-trimethyl cyclohex-2-ene-1,4 dione: DE 3842547[P]. 1990-06-21.
- [6] Widmer Erich, Seuret Marcel. Ketoisophorone manufacture : US 3960966[P]. 1976-06-01.

- [7] 陈恩治. 茶香酮的合成: 爱普香料内部资料, 1998-8-20.
- [8] Bellut Hans. Process for the preparation of 3,5,5-trimethyl-4-hydroxy-2-cyclohexen-1-one: EP0330745[P]. 1989-09-06.
- [9] George B Payne. Oxidation of 3,5,5-Trimethyl-1,2-cyclohexanedione[J], J. Org. Chem, 1959, 24: 719.
- [10] 舒学军, 朱百鸣. 相转移催化合成香料烟酮及中间体异佛尔酮[J], 化学通报, 2002, 65 (8) : 543.
- [11] Okada Hiroyuki, Ito Nobuhiko. Production of epoxyoxophorone: JP 10, 77275[P]. 1998-03-24.
- [12] Kuhn Walter, Funk Hans-Ulrich. Process for the preparation of 3,3,5-trimethylcyclohexanol: EP1318130[P]. 2003-06-11.
- [13] Sakan T, Isos S, Hyeon S. The structure of actinidiolide, dihydroactinidiolide and actinidol[J]. Tetrahedron Lett., 1967:1623-1627.
- [14] 陈恩治. 二氢猕猴桃内酯的合成. 爱普香料内部资料.1999-12-8.
- [15] Klein Erich. Aroma compositions containing cycloaliphatic crotonyl compounds: US3897370[P]. 1975-09-27.
- [16] Kumar Kudli, Shrinivas Prashanth. Process for the preparation of 1-(2,6,6-trimethyl-2-cyclohexene-1-yl)-but-2-ene-1-one: US2003,0153790[P]. 2002-04-13.
- [17] Peter Fankhauser. Novel acetylenic compounds useful as starting materials for preparing an alicyclic ketone: US4324729[P]. 1982-4-13.
- [18] Schulte-Elte Karl-Heinrich, Mueller Bernard. Acetylenic and allenic carbinols their utilization as starting materials for the preparation of beta -damascenone: US4487944[P]. 1984-12-11.
- [19] 陈恩治. 异佛尔酮三甲基硅醚及其在合成大柱三烯酮中的应用: CN1616467[P]. 2005-05-18.
- [20] Takazawa Osamu, Tamura Hiroshi. Preparation of 4-(2-butenylidene)-3,5,5-trimethyl-2-cyclohexen-1-one its novel intermediate and its use: JP56, 113729[P]. 1981-09-07.
- [21] E. Demole et al. Novel synthesis of 3,5,5-trimethyl-4-(2-butenylidene)-cyclohex-2-en-1-one, a major constituent of burley tobacco flavour[J]. Helv. Chim. Acta. 1974, 57(7): 2087-2091.
- [22] Helmlinger Daniel, Wildmer Erich. Process for the preparation of a cyclic unsaturated ketone: EP356869[P]. 1989-08-21.
- [23] Shibagaki Makoto et al. Production of 8,9-dehydroteaspiron[J]. Agric. Biol. Chem. 1981, 45(12):2911-2913.
- [24] Shibagaki Makoto, Shibata Saizou. Production of 8,9-dehydroteaspiron: JP57,197273[P]. 1982-12-03.
- [25] J.N.Marx. A new synthesis of theaspiron an odiferous principle of tea [J]. Tetrahedron.1975, 31:1251-1253
- [26] Ito Nobuhiko, Kinoshita Kimio. Production of 3-oxo-alpha-ionone: JP4,41455[P]. 1992-02-12.
- [27] W.Erich et al. Synthesis of 3-oxo-ionone derivatives[J]. Helv. Chim. Acta. 1982, 65 (3): 944.
- [28] Majeed Muhammed. Novel woody odorants: US20090209449[P]. 2009-8-20.
- [29] Bruns Klaus, Gerke Thomas. Isomeric formyl trimethylbicyclo[2.2.2]oct-7-enes: US4992416[P].1991-02-12.
- [30] Light Kenneth K, Spencer Bette M. Flavoring with a cyclohexadiene derivative: US4076854[P].1978-02-28.
- [31] Ochsner Paul Albert. Process for the preparation of novel perfumes: CH608777[P]. 1979-01-31.
- [32] Fehr Charles. 1-Allyl-3,5,5-trimethyl-2-cyclohexene-1-ol used as perfuming ingredient: CH677604[P]. 1991-06-14.
- [33] Demole Edouard. Cyclohexane derivative: GB1380192[P]. 1975-01-08.
- [34] Takagi Keiichi, Iwamoto Minoru. Dimethylcyclohexane derivative: JP60, 184034 [P]. 1985-09-19.
- [35] Fujikura Yoshiaki, Yitsuki Tomohito. Spiro(4,5)decene derivative production thereof and perfume composition containing the same derivative: JP 01, 258634[P]. 1989-10-16.

分子蒸馏技术分离怀化甜橙油低沸化合物及成分分析

吴 涵

上海爱普香料有限公司, 上海 201809

摘要: 研究了分子蒸馏从怀化甜橙油中分离提纯低沸化合物的工艺方法。通过正交实验优化工艺条件为: 物料流量为 0.4L/h、刮膜速度为 350r/min、加热温度 30℃、操作压力 25Pa、冷却温度-15℃, 分离提纯的低沸化合物有强烈的柑橘新鲜感, 其中非萜烯物质主要由 α -蒎烯、月桂烯、辛醛组成, 含量为 75.24%。

关键词: 分子蒸馏; 甜橙; 正交

The separation and analysis of low boiling compounds from Huaihua sweet orange oil by molecular distillation technology

WU Han

(Shanghai Apple Flavor & Fragrance Co., Ltd., Shanghai 201809, China)

Abstract: A technology was established to separate the low-boiling compounds from Huaihua sweet orange essential oil by molecular distillation technology. The results suggest that the purified low-boiling compounds optimized by the orthogonal experiment have a strong citrus freshness under the condition of material flow 0.4L/h, film rotate 350r/min temperature 30℃ pressure 25Pa, and cooling temperature -15℃. The content of the non-limonene mainly including pinene, myrcene, octanal is 75.24%.

Key words: molecular distillation orange orthogonal

分子蒸馏 (molecular or short-path distillation) 技术是伴随着 20 世纪以来真空技术和蒸馏技术发展起来的一种新型的液-液分离技术^[1]。不同于一般蒸馏技术, 分子蒸馏是依据轻重分子间自由程不同而实现不同组分的分离。有别于普通减压蒸馏, 分子蒸馏是一种完全非平衡蒸馏^[2]。具有在高真空下操作, 蒸发器和冷凝器间间距小、受热时间短、分离程度高、操作压力低、无溶剂残留等特点^[3], 是一种温和的分离方法。对多组分的热敏性天然物料分离提纯有独特的优势。

甜橙为芸香科常绿小乔木, 与柑、橘、金柑、柚、枳^[4]等统称为柑橘, 是国际上仅次于小麦、玉米的第三大国际贸易农产品。据统计 2007 年我国柑橘产量为 2058 万吨仅次于巴西位列世界第二^[5]。我国是甜橙生产大国同时也是甜橙加工弱国, 大量的柑橘以鲜果形式消费, 而在柑橘类产品深加工上较国外有明显差距, 各类制品依赖进口。

从甜橙果皮中通过冷磨压榨等方法所得的甜橙油是三种最常用的果香精油之一^[6], 在食品、日化、烟草各类香精中有着极为广泛的应用。甜橙油中主要成分为萜烯类和含氧化合物类^[7], 萜类是以碳氢元素组成, 依据碳原子的不同一般分为单萜、倍半萜等, 其中在甜橙油中单萜主要以萜烯为主, 含量在甜橙油中高达 95% 以上, 但对香气的贡献较小, 在甜橙油中另有一系列化合物沸点比萜烯小, 称为低沸化合物, 含量仅占甜橙油 2% 左右, 但能赋予强烈的新鲜感和甜橙果香, 对香气贡献大, 在配置各类香精中有重要的作用及广泛的应用前景。

由于甜橙油本身所具有热敏性, 通过普通蒸馏分离提纯工艺很难实现^[8], 而多元溶剂萃取法又无法避免溶剂残留和香气的损失。笔者通过分子蒸馏技术分离提纯甜橙油低沸化合物, 热敏性物质可以最大程度的保留^[9]。分离甜橙油低沸化合物鲜见报道, 国内也未见此类商品化产品。本研究以湖南怀化甜橙油为原料, 以分子蒸馏技术对低沸化合物进行分离提纯, 考察了加热温度、操作压力、刮膜转速、物料流量与所得样品中非萜烯物质含量之间的关系。结合正交实验优化确定上述四项工艺条件最终参数, 为工业化提供一定的依据。

1. 材料与方法

1.1 材料:

怀化甜橙油 (萜烯含量 >95%) 呈橙黄色, 有浓郁的甜橙特征香气。

1.2 仪器设备

HWMD-3LA 型分子蒸馏仪; PL303 梅特勒电子天平; 安捷伦 HPGC6890/5973MS 气质联用仪; 2XZ-4 旋片式真空泵; G17III 级油扩散泵; XULS-1360 低温冷冻机组。

1.3 实验与分析方法:

1.3.1 实验方法

开启低温冷冻机组待温度至 -15℃, 打开旋片式真空泵, 当操作压力下降至 50Pa 时开启三级油扩散泵以求继续提高真空度。同时将原料缓慢倒入进料漏斗。通过控制不同的加热温度、刮膜速度、操作

压力、物料流量后对怀化甜橙油进行单级分子蒸馏。通过气相色谱质谱联用技术分析所得低沸化合物。

1.3.2 分析条件

甜橙油低沸化合物的化学成份分析在GC-MS联用仪上进行,色谱柱DB-5MS石英毛细管柱(50 m × 0.25 mm × 0.25 μm)。载气为氦气,流速1ml/min,柱初温70 °C,升温至160 °C,程序升温2 °C/min;再升温至295 °C,程序升温15 °C/min。进样口温度为250 °C,GC-MS接口温度230 °C^[10]。电离方式EI,电离能70 eV;离子源温度200 °C,扫描范围29~400 amu。标准谱库为美国NIST谱库。相对质量分数的确定为面积归一化法。

1.3.3 实验装置:

分子蒸馏系统由:进料系统、真空系统、温控系统、冷凝系统、加热系统等[10]五部分组成。其中真空系统由旋片式真空泵和三级油扩散泵组合而成,操作压力由精密调节控制阀调节,通过外接麦氏表显示,极限表压可达5Pa。

2. 结果与讨论:

2.1 物料流量与低沸化合物中非萜烯物质含量关系

刮膜速度 300r/min;操作压力 20Pa;加热温度 30°C,物料流量分别控制在 0.25L/h、0.5L/h、0.75L/h、1L/h、1.5 L/h,以研究不同的物料流量对低沸化合物中非萜烯物质含量的影响。

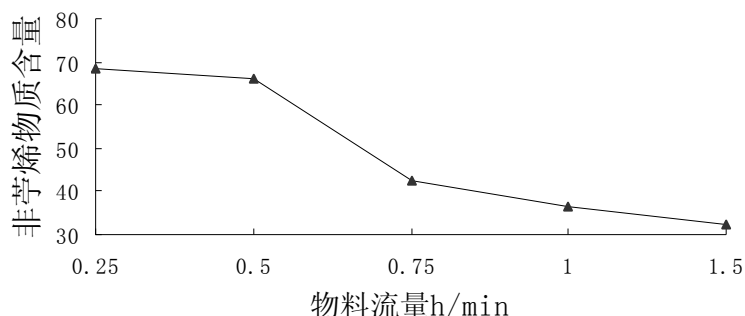


图 2.1 物料流量与非萜烯物质含量关系图

由图可得随着物料流量的上升,非萜烯物质含量呈不断下降趋势,从最高 68.3%降至最低 32.1%。数据表明物料流量越小,分离效果越好。当物料流量为 0.5L/h 萜烯含量为 66.3%,较最高值 68.3%下降不明显,综合效益和发挥设备最大能力,物料流量应控制在 0.5L/h。

2.2 刮膜速度与低沸化合物中非萜烯物质含量关系

以物料流量 0.5L/h;加热温度 30°C;真空 20Pa;刮膜速度分别控制在 100 r/min、200 r/min、300 r/min、400r/min、500 r/min,以研究不同的刮膜速度对低沸化合物中非萜烯物质含量的影响。

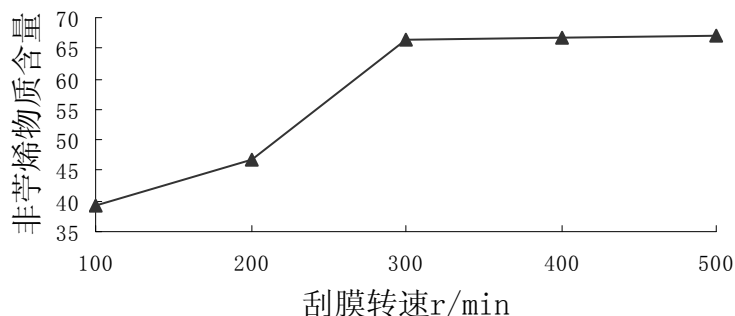


图 2.2 刮膜转速与非萜烯物质含量关系图

由上图可以得知,非萜烯物质含量随转速上升而上升,在转速为 300r/min,得最大值非萜烯物质含量为 66.3%,若转速再升高非萜烯物质含量还有略微上升。增大转速能使物料在刮膜蒸发器上成膜更薄且均匀,同时提高蒸发效率。当转速超过 300r/min 非萜烯含量没有明显升高,同时考虑到设备的折旧和经济因素,刮膜转速应选取 300r/min 为宜。

2.3 加热温度与低沸化合物中非萜烯物质含量关系

以物料流量 0.5L/h;刮膜速度 300r/min;操作压力 20Pa;加热温度分别控制在 20°C、30°C、40°C、

50℃、60℃，以研究不同的刮膜速度对低沸化合物中非苧烯物质含量的影响。

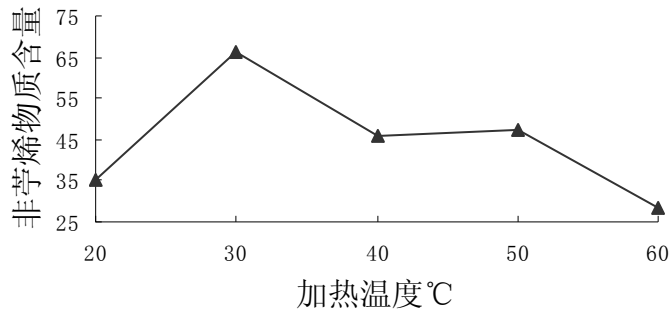


图 2.3 加热温度与非苧烯物质含量关系图

不同的加热温度能控制不同组分的蒸发程度，是控制分子蒸馏的关键因素。由上图可知，当加热温度为 30℃时，非苧烯物质含量最高，温度低于 30℃时，蒸发温度不足以将低沸化合物蒸发，而当温度升高到 60℃时，大量苧烯汽化，导致非苧烯物质含量急剧下降仅为 28.5%。综上所述，加热温度应选定在 30℃。

2.4 操作压力与低沸化合物中非苧烯物质含量关系

以物料流量 0.5L/h；刮膜速度 300r/min；加热温度 30℃；操作压力分别控制在 10Pa、20Pa、30Pa、40Pa、50Pa，以研究不同的操作压力对低沸化合物中非苧烯物质含量影响。

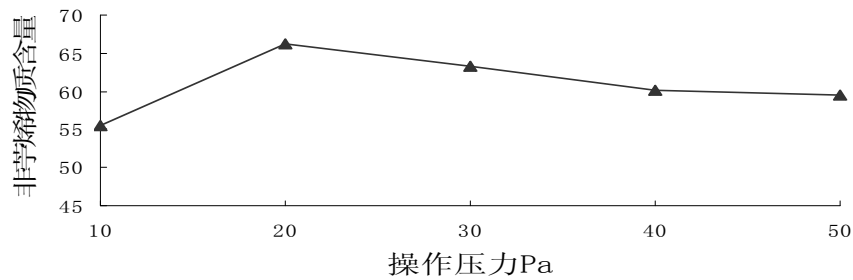


图 2.4 操作压力与非苧烯物质含量关系图

操作压力是分子蒸馏的一个重要控制因素，一般而言，分子所处的压强越小，即操作压力低，分子自由程越大。从图表明操作压力处在 10Pa 时非苧烯含量在 55.4%，当操作压力维持在 20Pa 时，非苧烯含量为 66.3%有明显提高。而后，随着操作压力的升高，非苧烯物质含量逐步降低。当操作压力处于 10Pa 时，由于分子自由程较大，使得低沸化合物混同苧烯一并蒸发。而操作压力在 20Pa 时，主要的低沸化合物被蒸发并冷凝下来，故非苧烯含量有一定提升。随着操作压力的进一步上升，分子自身所处的压强变大同时自由程变小，导致低沸化合物未被充分蒸发，非苧烯物质含量下降。综上所述，操作压力应选取 20Pa 为宜。

2.5 最佳工艺条件的确定

通过以上的单因素实验，选择以上四个条件作为因素，以非苧烯物质百分含量为指标，进行四因素三水平的正交实验，以确定最佳分离提纯工艺条件。

表 2-1 因素水平表

因素	水 桶	物料流量 L/h	刮膜速度 r/min	加热温度℃	操作压力 Pa
1		0.4	250	25	15
2		0.5	300	30	20
3		0.6	350	35	25

表 2-2 正交试验设计 L₉34 实验及结果表

序 号	因 素				指 标
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	58.13
2	1	2	2	2	61.31
3	1	3	3	3	66.13
4	2	1	2	3	63.34
5	2	2	3	1	58.34
6	2	3	1	2	59.64
7	3	1	3	2	58.15
8	3	2	1	3	57.19
9	3	3	2	1	59.16
K ₁	185.57	179.62	174.96	175.63	
K ₂	181.32	176.84	183.81	179.10	
K ₃	174.50	184.93	182.62	186.66	
R	3.69	2.70	2.95	3.68	

由正交实验结果可得极差 $R_A \approx R_D > R_C > R_B$ ，由此可知物料流量和操作压力为主要因素，其次为加热温度，最后为刮膜速度。再根据 K 值进行分析，即 $A_1 > A_2 > A_3$ ； $B_3 > B_1 > B_2$ ； $C_2 > C_3 > C_1$ ； $D_3 > D_2 > D_1$ ，最优选择为 $A_1B_3C_2D_3$ ，即物料流量为 0.4L/h、刮膜速度为 350r/min、加热温度 30℃、操作压力 25Pa。

将上述优化所得条件再次进行一组实验，结果非萜烯物质含量为 75.24%，可见含量有进一步提升。通过气相色谱-质谱分析结果如下：

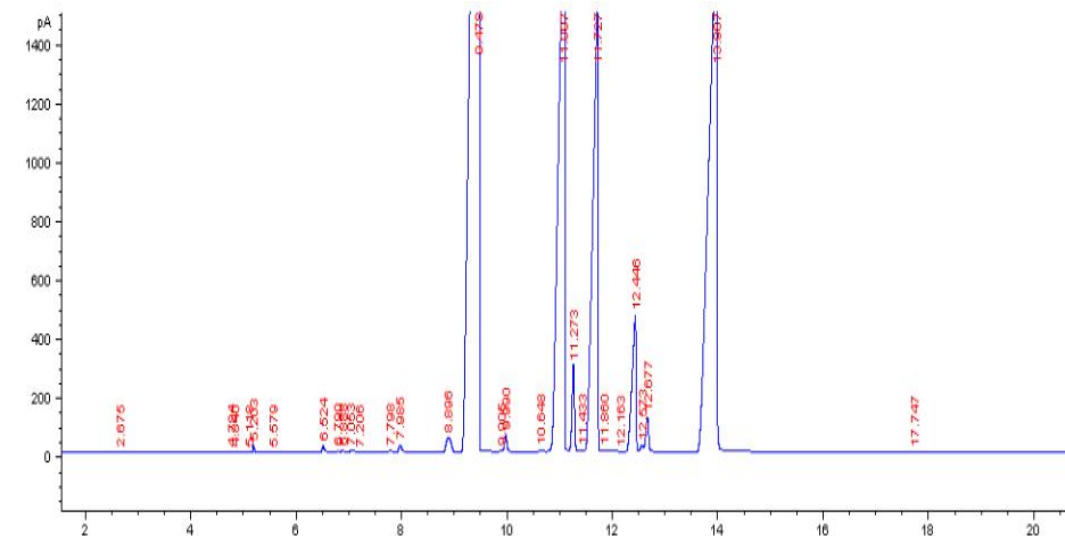


图 2.5 低沸化合物气相色谱图

表 2-3 低沸化合物化学成分及相对含量

序号	保留时间 min	组分名称	含量%
1	9.47	α-蒎烯	42.44
2	9.91	庚醇	0.20
3	11.10	月桂烯	18.10
4	11.73	辛醛	11.65
5	12.45	δ-3-萜烯	2.85

7	13.99	苧烯	22.24
8		未检出成分	2.61
合计			100

3. 结论

采用分子蒸馏分离提纯甜橙油低沸化合物是确实可行的。分子蒸馏技术加热时间短等优势保持了物料的天然性，避免其受热变坏。同时又无须使用化学溶剂，是一种绿色工艺符合当今提倡的低碳工业，有一定工业化前景。

通过正交实验明确分离提纯需在低物料流量、高刮膜转速、适当的操作压力及中等的加热温度下进行。确定了较优工艺条件为物料流量为 0.4L/h、刮膜速度为 350r/min、加热温度 30℃、操作压力 25Pa。在此条件下分离所得低沸化合物中非苧烯物质含量达 75.24%。

低沸化合物呈现出强烈飘逸的新鲜柑橘果香，成分主要由 α -蒎烯、月桂烯、辛醛及苧烯组成。

致谢：

由衷感谢华立明、单逢三高级工程师对本项研究的大力支持与指导及庄伟强工程师在色谱分析工作方面的帮助。

参考文献：

1. 毛海舫、李琼.《天然香料加工工艺学》[M]、北京：中国轻工业出版社，2006、131-136
2. 皮丕辉、文秀芳、程江、杨卓如. 分子蒸馏技术研究现状在精细化工中的应用[J]、精细化工，2003，7：399-402
3. 王虎、刘吉平、马超、马志敏. 分子蒸馏技术及应用[J]、现代化工，2008，6：132-135
4. Fernando Tateo. Production of Concentrated Orange Oils Using a Thin Film Evaporator[J]. J. Ess. Oil Res, 1990, 1:7-13
5. 董丽、王翔. 甜橙油化学成分的 GC-MS 分析[J]、乐山师范学院学报，2003，4：39-41
6. 杨舜娟、李考铮. 甜橙油果皮精油的 GC-MS 分析[J]、中山大学学报，1993，2：97-99
7. Alexander Fleisher. The Poroplast Extraction Technique in the Flavor and Fragrance Industry[J]. Perfumer Flavorist. 1990, 5:27-36
8. 祝顺琴、谈锋. 分子蒸馏技术在天然产物分离中的应用[J]、精细化工，2004，1：46-48
9. 卢国藩、张彦东、李军. 分子蒸馏及其在香精香料工业中的应用[J]、香精香料化妆品，2003，4：30-32
10. 杨荣华. 酸桔果皮油的特征香气成分[J]、无锡轻工大学学报，2000，9:475-478

迷迭香的两种化学型精油成分对比和安全性研究

黄健¹ 王瑞¹ 姚雷²

1. 上海爱普香料有限公司, 上海 201809; 2. 上海交通大学芳香植物研究中心, 上海 201101

摘要: 迷迭香精油为香料和芳疗常用精油, 但是长期以来其化学型和不同化学型带来的安全性问题一直被忽视。本研究针对上海地区引种成功的两种迷迭香, 分析了其精油的化学成分, 结果为其中一种精油主要成分分别为樟脑 (28.174%)、 α -蒎烯 (12.161%)、1,8-桉叶素 (10.979%)、马鞭草烯酮 (9.793%); 另一种的主要成分为 α -蒎烯 (19.319%)、 β -蒎烯 (6.664%)、1,8-桉叶素 (30.641%)、樟脑 (5.762%), 根据两种精油主要成分的含量将两种精油的化学型归类为樟脑型和 1,8-桉叶油型。并从急性经口毒性试验, 急性皮肤刺激试验、多次皮肤刺激试验、眼刺激试验几个方面对两种化学型精油进行安全性进行分析。实验结果表明, 1,8-桉叶油型和樟脑型迷迭香的 LD₅₀ 分别为 7220.35 mg/kg 和 8088.24 mg/kg, LD₅₀ 的 95%。急性皮肤刺激实验结果显示樟脑型迷迭香精油浓度在 2.3% 时属于轻度刺激性, 1,8-桉叶油型迷迭香精油浓度在 100% 时属于中度刺激性; 多次皮肤试验中, 前者浓度在 2.3% 时属于轻度刺激性, 后者浓度在 40% 时属于轻度刺激性, 且相同浓度下前者刺激性要明显大于后者。眼刺激试验在 50% 的精油浓度范围内, 两种化学型迷迭香精油强度显示为无刺激性。

关键词: 迷迭香精油; 化学型; 安全性

Component Analysis and Safety Assessment of Two Chemotype Rosemary Essential Oils

HUANG Jian YAO Lei WANG Rui

(Shanghai Apple Flavor & Fragrance Co., Ltd., Shanghai 201809, China)

Abstract: Rosemary essential oils are now being widely used in flavor and aromatherapy field, but their chemotypes and safety have not been reported. We study on two types of Rosemary which successfully domesticated in Shanghai, analyze the components of both two types essential oil. The main components of one type essential oil are camphor (28.17%), α -pinene (12.16%), 1,8-cineole (10.98%), verbenone (9.79%), for another type they are α -pinene (19.31%), β -pinene (6.66%), 1,8-cineole (30.64%), camphor (5.76%). This result indicated that the chemotype of two essential oils should be Campher type and 1,8-cineole type. We also study their safety through acute oral toxicity test, acute skin irritation test and multiple skin irritation, as well as acute eye irritation test. The experimental results indicated that, LD₅₀ of chemotype of Campher and 1,8-cineole are 7220.35(mg/kg) and 8088.24(mg/kg) respectively. In the acute skin irritation test, Rosemary essential oil with chemo type of camphor is mild irritant at concentration of 2.3%, chemo type of 1,8-cineole belong to moderate irritant at concentration of 100%, and the former irritation was significantly higher than the latter under the same concentration. As far as the multiple skin irritation, both of the two chemo types belong to mild irritant, and the former irritation was significantly higher than the latter under the same concentration. With regard to the acute eye irritation, both chemo types are non-irritant under the concentration of 50 percent.

Key words: Rosemary Essential Oil, Chemotype, safety

迷迭香 (*Rosmarinus officinalis* L.) 为唇形科迷迭香属多年生常绿小灌木, 有独特的香味, 富含挥发性精油。近年来, 在我国部分省区如贵州、新疆、云南和海南有栽培^[1-2]。迷迭香种较多, 不同种或者栽培种及变种的迷迭香含有的精油成分是不同的, 即使是同一种在不同生境下其精油成分也会发生变化。根据精油主要成分的不同, 可将精油分为不同化学型, 比如甜罗勒 (*Ocimum basilicum*) 中有两种代表性的化合物, 甲基黑胡椒酚和芳樟醇, 如果前者占 70%, 后者 25%, 则为甲基黑胡椒酚化学型, 如果前者 15%, 后者 50%, 则为芳樟醇化学型。化学型不同, 不仅仅导致香气不同, 如用于药用或保健, 又引起功效和安全性的不同, 如果开发类似产品的商家, 不懂得区分化学型会导致严重的安全性问题。比如, 百里香 (*Thymus vulgaris*) 有百里香酚型化学型, 香叶醇型化学型, 前者不可用于芳疗按摩, 可用于杀菌消毒, 后者可用于芳疗按摩。

此前一些有关迷迭香精油的国际标准, 尽管也是根据精油主要成分所占比例的不同而进行界定的, 但仅仅是局限在化工和香料行业中。根据我们目前收集到的部分迷迭香精油成分分析的资料进行化学型的归类和总结后, 我们将迷迭香精油划分为三种化学型, 即 1,8-桉叶素型、樟脑型和 α -蒎烯型。1,8-桉叶素型化学型迷迭香精油 1,8-桉叶素含量高而樟脑、 α -蒎烯含量则相对较低 (1,8-桉叶素含量

15%~89%，樟脑含量 2%~13%， α -蒎烯含量 2%~18%），此类型迷迭香主要产自西班牙、葡萄牙、前南斯拉夫和意大利等国。樟脑型迷迭香精油 1,8-桉叶素、 α -蒎烯含量相对较低而樟脑含量较高（樟脑含量 11%~35%，1,8-桉叶素含量 8%~22%， α -蒎烯含量 5%~12%），此类型迷迭香主要产自法国、希腊、突尼斯和摩洛哥等国^[3-4]， α -蒎烯型含有 26%~34%的 α -蒎烯，而 1,8-桉叶素和樟脑含量均在 10%左右，此类型迷迭香在摩洛哥和意大利有分布^[5-6]。我国上海地区成功引种了迷迭香，其产油率高且精油香气良好，但精油的化学型却不为所知。

如今，迷迭香已经广泛应用到香料、日化行业并且拓展到芳疗保健领域，化学型的不同导致迷迭香精油在实际应用中也应具有针对性，不仅要关注功效更要涉及到安全使用的问题。摩洛哥学者 Mouhssen Lahlou 研究了 3 种不同化学型迷迭香精油的灭虱效果^[6]，而国内有关迷迭香的研究主要集中在其抗氧化有效成分的提取分离和结构鉴定、精油的提取工艺、产量、成分、香气特征等几个方面^[7]，国内外有关其不同化学型精油安全性问题的研究却鲜有报道，因此对不同化学型精油的安全性研究是非常必要而且是重要的。为此本文分析了上海地区产两种迷迭香精油的成分，并根据其成分对两种精油进行化学型归类。同时对比研究了两种迷迭香精油的经口毒性、急性皮肤刺激、多次皮肤刺激，以及眼刺激毒性，以期为今后不同化学型迷迭香精油的安全使用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验样品

樟脑型迷迭香精油 (Rosemary essential with chemotype of verbenone, 来源于上海爱普香料种植有限公司) 和 1,8-桉叶油型迷迭香精油 (Rosemary essential with chemotype of 1,8-cineole, 来源于上海交通大学芳香植物研发中心)、基础油霍霍巴油 (jojoba oil)。

1.1.2 试验动物

健康成年昆明小鼠 (*Mus musculus*), 体重为 25 g \pm 3 g, 雌雄各半, 由上海交通大学药学院动物实验中心提供。健康白色新西兰兔 (*New Zealand*), 体重 2.5 kg \pm 0.2 kg, 雌雄各半, 由上海交通大学药学院动物实验中心提供。

1.1.3 试验仪器

6890 型 GC-MS 质谱色谱联用仪 (Agilent 公司), 电子天平, 灌胃器, 1 mL 注射器, 马克笔, 医用剪刀, 棉球棒, 医用脱脂棉, 放大镜。

1.2 方法

1.2.1 成分分析及化学型研究

测试条件: Supelco18275-06A PTE-5 Capillary 柱 (30.0 m \times 250 μ m \times 0.25 μ m); 柱流量 (恒流) 0.8 mL/min; 进样口温度 250 $^{\circ}$ C; 进样量为 0.2 μ l, 分流比为 50:1; 氮气为载气; FID 检测器, 检测器温度 300 $^{\circ}$ C; 采用程序升温, 初始温度为 60 $^{\circ}$ C, 然后以 2 $^{\circ}$ C/min 的速率升到 180 $^{\circ}$ C, 再以 15 $^{\circ}$ C/min 的速率升到 290 $^{\circ}$ C (保持 15 分钟)。

1.2.2 急性经口毒性试验

小鼠随机分 9 组, 每一剂量组 16 只, 雌雄各半。试验设 8 个剂量组和对照组 (只灌生理盐水), 用无菌生理盐水将纯迷迭香精油稀释到不同浓度, 依次为 9%, 13.5%, 20.25%, 30.38%, 45.56%, 68.34%, 80%, 100%。试验前对小鼠连续观察一周, 确认其健康。给药前隔夜禁食但不禁水。于第二天上午灌胃给药, 给药 2 h 后进食。每只小鼠灌胃的剂量为 0.4 mL。给药后观察并记录小鼠的中毒表现, 症状出现和消失的时间及死亡时间。给药当日应连续观察, 其后每日至少观察 2 次, 观察期为 14 d。用统计方法计算 LD₅₀ 计算方法^[8]。

1.2.3 急性皮肤刺激试验

选用皮肤完好的健康新西兰白兔为实验动物, 随机分组, 每组四只, 雌雄各半。将两种化学型精油分别用基础油 (霍霍巴油) 稀释成不同的浓度。试验前 24 h 将新西兰白兔背部脊柱两侧面积约为 6 cm² 的毛剪去。将 0.5 mL 稀释过的精油涂于剃毛区。采用动物自身皮肤作为对照。涂敷完持续 4 h 后, 用纯净水洗去残留精油, 每只动物只进行一次涂抹, 之后每天在相同的时间段观察涂抹部位皮肤反应, 连续观察 7 天并做好记录, 并对刺激反应进行评分计算刺激性^[6]。

1.2.4 多次皮肤刺激试验

动物分组和实验前处理以及精油涂抹方法与急性皮肤刺激试验相同, 每只动物每天涂抹一次, 连续涂抹 14 天。每天观察涂抹部位皮肤反应, 连续观察 14 天并做好记录, 并对刺激反应进行评分计算刺激性^[8]。

1.2.5 急性眼刺激试验

选用成年健康新西兰白兔作为试验动物。试验前 24 小时检查试验家兔双眼均为正常。将受试动物随机分组，每组 4 只，雌雄各半，将两种化学型迷迭香精油用无菌生理盐水稀释后分别设置 4 个浓度梯度。把 0.1ml 精油稀释液滴入结膜囊内，另一侧滴入生理盐水作为对照，为防止药液外溢，立即轻轻闭合眼睑约 3-5 秒钟，给药后不洗眼。给药后 1, 24, 48, 72 小时分别检查眼睛，除了观察结膜、角膜、虹膜外，还应注意其他部位的损害。对每个部位刺激反应进行评分并计算刺激性^[8]。

2 结果

2.1 两种化学型迷迭香精油成分

表 1 樟脑型迷迭香精油主要成分
Table 1 Main composition of camphor Chemo type's Rosemary Essential Oil

化学成分 (Composition)			
中文名 (Chinese name)	英文名 (English name)	序号	相对含量 Relative content (%)
α-蒎烯	α-pinene	1	12.161
蒎烯	camphene	2	8.665
马鞭草烯	verbenene	3	0.577
β-蒎烯	β-pinene	4	2.929
月桂烯	myrcene	5	1.364
α-松油烯	α-terpinene	6	0.551
对-伞花烃	p-cymene	7	0.150
苧烯	limonene	8	1.190
1,8-桉叶素	1,8-cineole	9	10.979
苯乙醛	phenyl-acetaldehyde	10	0.190
γ-松油烯	γ-terpinene	11	1.324
异松油烯	terpinolene	12	0.988
芳樟醇	linalool	13	2.304
樟脑	camphor	14	28.174
龙脑	borneol	15	2.856
4-松油醇	4-terpineol	16	1.319
葑醇(小茴香醇)	fenchyl alcohol	17	1.830
马鞭草烯酮	verbenone	18	9.793
香叶醇	geraniol	19	5.109
乙酸异龙脑酯	Isobornyl acetate	20	2.265
乙酸香叶酯	geranyl acetate	21	0.468
甲基丁香酚	methyl eugenol	22	0.359
β-石竹烯	β-caryophyllene	23	2.548
α-葎草烯	α-humulene	24	0.397
石竹烯氧化物	caryophyllene oxide	25	0.321

表 2 1,8-桉叶素型迷迭香精油主要成分

Table 2 Main composition of 1,8-cineole Chemo type's Rosemary Essential Oil

化学成分 (Composition)			
中文名 (Chinese name)	英文名 (English name)	序号	相对含量 Relative content (%)
α -水芹烯	α -phellandrene	1	0.284
α -蒎烯	α -pinene	2	19.319
茨烯	camphene	3	3.416
桉烯	sabinene	4	0.306
β -蒎烯	β -pinene	5	6.664
月桂烯	myrcene	6	0.663
α -松油烯	α -terpinene	7	1.483
对-伞花烃	p-cymene	8	2.373
苧烯	limonene	9	8.055
1,8-桉叶素	1,8-cineole	10	30.641
β -罗勒烯	β -ocimene	11	5.290
γ -松油烯	γ -terpinene	12	4.198
异松油烯	terpinolene	13	1.020
对-伞花烯	p-cymene	14	0.175
芳樟醇	linalool	15	0.189
樟脑	camphor	16	5.762
龙脑	borneol	17	3.351
4-松油醇	4-terpineol	18	0.243
α -松油醇	α -terpineol	19	0.550
γ -松油醇	γ -terpineol	20	0.091
乙酸异龙脑酯	Isobornyl acetate	21	0.328
乙酸松油脂	1-p-Menthen-8-yl acetate	22	1.009
苯甲酸苄酯	Benzyl benzoate	23	1.859

由表 1 和表 2 可以看出两种迷迭香精油的主要成分分别为樟脑 (28.174%)、 α -蒎烯 (12.161%)、1,8-桉叶素 (10.979%)、马鞭草烯酮 (9.793%); α -蒎烯 (19.319%)、 β -蒎烯 (6.664%)、1,8-桉叶素 (30.641%)、樟脑 (5.762%), 前者为高樟脑低 1,8-桉叶素型, 后者为高 1,8-桉叶素低樟脑型, 因此我们将两种迷迭香精油分别归类为樟脑型和 1,8-桉叶素型。

2.2 急性经口毒性实验

从表 3 可以看出, 两种化学型迷迭香精油对昆明小鼠经口毒性的 LD_{50} 分别为 7220.35 mg/kg 和 8088.24 mg/kg, 均大于 500 mg/kg, 按急性毒性分级标准属于低毒性。樟脑型迷迭香精油的半致死剂量大于 1,8-桉叶油型迷迭香精油的半致死剂量, 说明前者的毒性相对于后者较弱, 但两者均属于低毒。

表 3 急性经口毒性结果 (P<0.01)

Table 3 Result of one-time oral toxicity

迷迭香精油化学型 Chemotype of Rosemary Essential Oils	回归方程 (R) Y=ax+b(R)	半致死浓度 (mg/kg) LD_{50}	95%可信限 Limits
1,8-桉叶油型 Chemotype of 1,8-cineole	Y=0.00742x-3.575 (R=0.9886)	7220.35	5172.53mg/kg~ 8124.41 mg/kg
樟脑型 Chemotype of verbenone	Y=0.00654x-2.897 (R=0.9583)	8088.24	6982.70mg/kg~ 9842.84 mg/kg

2.3 急性皮肤刺激实验

从表 4 可以看出，受试动物的给药区皮肤随着精油浓度的增大刺激性也明显增强。浓度在 2.3% 时，涂抹樟脑型迷迭香精油的受试动物皮肤已经出现红斑并伴有水肿出现。1,8-桉叶油型迷迭香精油浓度在 3.5% 以前的刺激度均为零，属于无刺激。在浓度达到 100% 时，1,8-桉叶油型迷迭香精油的刺激度为 2.43，属于中等刺激性。整个试验过程中动物无死亡，活动与饮食正常，皮毛有光泽，生长良好。

表 4 急性皮肤刺激结果
Table 4 Result of one-time skin irritation

化学型和浓度 Chemotype, concentration	1.0%	1.5%	2.3%	3.5%	5.2%	7.9%	18%	40%	100%
樟脑型 Chemotype of verbenone	0.29	1.10	1.14						
1,8-桉叶油型 Chemotype of 1,8-cineole	0	0	0	0	0.107	0.25	0.29	0.39	2.43

2.4 多次皮肤刺激实验

从表 5 可以看出，两种化学型迷迭香精油对受试动物皮肤均有刺激性，且随着精油浓度的增大刺激性也逐渐增强。马鞭草烯酮型迷迭香精油对皮肤的刺激性明显强于 1,8-桉叶油型，浓度在 2.3% 时，前者的刺激度为 0.625，且受试动物的皮肤呈现部分红斑并伴有水肿出现；而此时后者对应的刺激度为零。1,8-桉叶油型精油浓度在 40% 时，受试动物皮肤呈现部分红斑并伴有水肿出现。整个试验过程中动物无死亡，活动与饮食正常，皮毛有光泽，生长良好。

表 5 多次皮肤刺激结果
Table 5 Result of multiple skin irritation

化学型和浓度 Chemotype, concentration	1.0%	1.5%	2.3%	18%	40%
樟脑型 Chemotype of verbenone	0.23	0.5	0.625		
1,8-桉叶油型 Chemotype of 1,8-cineole	0	0	0	0.48	0.68

2.5 急性眼刺激实验

急性眼刺激实验中，受试动物眼睛偶尔勉强可见结膜充血，但无分泌物出现，也没有出现流泪及搔抓眼部等异常情况。如表 6 所示，在 50% 的精油浓度范围内，两种化学型迷迭香精油眼刺激反应评分均小于 5，按眼刺激强度评价为无刺激性。但相同浓度下樟脑型迷迭香精油的刺激性要强于 1,8-桉叶油型。

表 6 急性眼刺激结果
Table 6 Result of one-time eye irritation

化学型和浓度 Chemotype, concentration	0.50%	3.33%	10%	50%
樟脑型 Chemotype of verbenone	0	1.25	2.50	2.00
1,8-桉叶油型 Chemotype of 1,8-cineole	0	1.00	1.00	1.00

3 讨论

实验结果表明,两种迷迭香精油分别属于樟脑型和1,8-桉叶油型并且两种化学型迷迭香精油均属于低毒性。由于樟脑型迷迭香精油的半致死剂量大于1,8-桉叶油型迷迭香精油的半致死剂量,因此前者的毒性相对于后者较弱急。实验过程中,随着精油浓度的增加,试验小鼠的死亡率也在不断增大。急性皮肤刺激试验中,樟脑型迷迭香精油浓度在2.3%时,受试动物的精油涂抹区出现部分红斑。而1,8-桉叶油型迷迭香精油在浓度达到100%时为中等刺激性,且相同浓度下前者刺激性要明显大于后者。多次皮肤刺激试验中樟脑型迷迭香精油浓度在2.3%时,1,8-桉叶油型迷迭香精油浓度在40%时,受试动物皮肤出现红斑并伴有水肿,樟脑型迷迭香精油的刺激性明显强于1,8-桉叶油型迷迭香。两种化学型精油均随着浓度的增加刺激性在增强,可能是由于精油浓度较大,导致皮肤对试验样品的吸收量增加,从而增强了其对皮肤细胞和血管的直接毒性作用,出现较明显的局部反应。实验结束后经过一段时间,之前刺激症状会逐渐缓解,出现结痂,蜕皮,到最后恢复正常,最后没有对实验动物造成破坏性的伤害。

急性眼刺激试验在50%的精油浓度范围内,两种化学型迷迭香精油强度评价为无刺激性,但相同浓度下樟脑型迷迭香精油的刺激性要强于1,8-桉叶油型迷迭香。

本次动物实验研究结果表明,两种化学型迷迭香精油的经口毒性均属于低毒,樟脑型迷迭香精油对于动物皮肤和眼睛的刺激性相对于1,8-桉叶油型迷迭香精油较大,但是在一定的浓度限制下可以安全使用。

参考文献:

- [1] 许鹏翔,贾且民,毕良武,等.不同产地的迷迭香精油成分分析及品质研究[J]分析科学学报,2003,19(4):361.
- [2] 赛春梅,潘利明,等.滇产迷迭香精油的挥发性化学成分研究[J]云南中医中药杂志,2005,26(2):46.
- [3] LECO Corporation, Saint Joseph. Advances in Essential Oils Analysis Using Comprehensive Two-Dimensional GC and Time-of-Flight Mass Spectrometer (GCxGC-TOFMS) Detection. [J] Life Science and Chemical Analysis Solutions, 2008, No. 203-821-240.
- [4] Rosemary Cole1,毕良武,赵振东.欧洲迷迭香的研究状况[J]生物质化学工程,2006,03,40(2):41-44.
- [5] Guido Flamini,Pier Luigi Cioni, Ivano Morelli, Mario Macchia,Lucia Ceccarini. Main Agronomic-Productive Characteristics of Two Ecotypes of *Rosmarinus officinalis* L. and Chemical Composition of Their Essential Oils. J. Agric. Food Chem. 2002, (50):3512-3517.
- [6] Mouhssen Lahlou, Rached Berrada. Composition and niticidal activity of essential oils of three chemotypes of *Rosmarinus officinalis* L. acclimatized in Morocco. *Flavour Fragr. J.* 2003 (18) 124 - 127.
- [7] 张婧,熊正英.天然抗氧化剂迷迭香的研究进展及其应用前景[J]现代食品科技,2005,21(1)135.
- [8] 中华人民共和国卫生部,化妆品卫生规范,2007,01:96-109.

论香精香料研究中的科学、技术和创新

陈洪 孙菁煜

上海爱普香料有限公司, 上海 201809

摘要: 本文首先明确了“科学”和“技术”两个既有联系又有区别的概念, 然后分析了香精香料研究中的科学和技术, 指出香精香料研究不完全属于科学范畴, 因为它带有某些艺术成分。从科学理论到技术再到香精香料产品需要多次创新。

关键词: 科学; 技术; 香精香料; 创新

On Science, Technology and Innovation in Research of Flavor and Flavoring

CHENG Hong SUN Jingyu

(Shanghai Apple Flavor & Fragrance Co., Ltd., Shanghai 201809, China)

Abstract: “Science” and “Technology” --- two different and related concepts are discussed in the paper. An analysis of science and technology in study of flavor and flavoring is done, following a conclusion that the study is not completely in category of science, since flavoring study is with some lingering charms of art. Innovations are needed in the transformation from scientific theory to technology following to products of flavors and fragrances.

Key words: Science, Technology, Flavor and Fragrance, Innovation

1. 科学和技术的关联和区别

科学和技术是两个不同的概念, 科学是人类认识自然规律的理论表达, 这些理论往往反映了某种观念和思想, 并常常与数学联系在一起, 因此属于广义的意识形态范畴; 而技术是人类改造世界的手段, 本身就是生产力的要素之一。科学是技术的基础, 技术是科学的物化形态。一般说来, 与科学家不同的是, 民众是通过技术成果认识科学的。科学通过技术影响人们的生活, 而科学本身却能影响人们的心智。没有科学, 人们仍然生活在愚昧、迷信的笼罩之下, 仍然相信地球是“平的”、是宇宙的“中心”、物体越重降落速度越快、物质燃烧是因为含有“燃素”、疾病是因为得罪了某位神灵等等。科学的发展不但驱散了神的光环, 也使人们得到了对于世界的正确看法, 科学发现、科学理论已经变成了人类世界观的一部分。然而, 在功利化日益严重的今天, 技术越来越受到重视, 而科学越来越被排挤出人们的视线。事实上, 当我们面对越来越多的、由于技术进步造成的危机的时候(如人口爆炸、气候变暖、资源枯竭、生态危机、粮食危机、能源危机等), 科学才是解决这些问题的最可靠的保证。历史的经验告诉我们, 由于技术进步的两重性, 对于新技术应用所造成的正面和负面影响的评估必须采取科学、谨慎的态度。

2. 香精香料研究中的“科学”

科学的特征主要表现在如下几个方面:

第一, 科学自文艺复兴后, 从“自然哲学”的母体中分离出来, 形成了以不同研究对象的“学科”。每个学科都有自己的“公理系统”, “公理”即本学科的基本原理。所谓“基本原理”就是, 从它可以逻辑地推导出其它原理, 而不是相反。物理学中的牛顿定律、爱因斯坦的“相对论”、海森堡的“不确定原理”、化学中的物质和能量守恒定律、热力学中的“熵增定律”等等就是相应学科的“基本原理”。

第二, 所有学科都有自己的形式化体系, 这些体系往往与数学相联, 即把我们研究对象的所关心的特征“变量化”, 然后, 建立变量之间的联系(即方程)。我们按照与数学相关程度的多寡, 把科学分为“理性科学”、“试验性科学”和“描述性科学”三类。例如, 物理学、天文学为“理性科学”, 它们与数学联系最强, 很多定律都可以用最简洁的数学方程表达, 并通过数学方程的推演预言研究对象的未来状态; 化学、分子生物学是“试验性科学”, 它们的研究手段主要是实验、观察等所谓的“经验方法”, 与数学的联系较强, 但很多规律仍然无法用数学表达; 经典生物学、地质学属于“描述性科学”, 这些学科主要通过语言描述表达研究成果, 与数学的联系最弱。

第三, 所有自然科学都有精确性、确定性、可重复性的特点, 尤其是“可重复性”为我们提供了检验科学知识最重要的手段, 不同民族、不同信仰的任何人只要按照发现者的实验材料、流程、条件做实验, 都可以得到相同的结论, 排除了个人因素(感情、价值观、偏好等)的干扰, 因此, 所有自然科学都是“价值中立”的。

根据以上三条标准，香精香料的研究含有科学成分。香精香料除了它的理化性质，其主要特点在于它的“香气”，而“香气”是某种结构的化合物与嗅觉作用的结果。长期以来，机体对气味的感知一直是一个非常神秘的领域，识别和记忆几千种不同气味的基本原理一直不为人所知。2004年诺贝尔生理学医学奖授予美国学者巴克和阿克塞尔（Linda Buck and Richard Axel），奖励他们在研究嗅觉系统生理机制方面做出的突破性的工作。我国科学家孙宝国等人对含硫化合物的结构与香气的关系也做过研究（Characteristic Structural Unit of Sulfur-Containing Compounds with a Basic Meat Flavor）。然而，香气与嗅觉作用的很多细节，至今仍然是个谜。所以，香料香精研究不能称其为“学”，因为它没有自己的“公理系统”。

从香料的制备研究看，无论是化学合成、天然提取、生物法制备都有相应学科的基本原理作支撑；然而，因为香气研究还没有数学化，因此，它仅仅属于“描述性科学”。另外，虽然香料香精没有精确性的特点，但可以重复，一个香精配方研制完成以后，按照一定条件生产，仍然可以得到预期的香气和香味，不管什么人做。

3. 香精香料研究中的“技术”

“技术”包含两层含义。第一，泛指根据生产实践经验和自然科学原理而发展成的各种工艺操作方法与技能。如电工技术、焊接技术、木工技术、激光技术、作物栽培技术、育种技术等。第二，除操作技能外，广义的技术还包括相应的生产工具和其他物质设备，以及生产的工艺过程或作业程序、方法等。

香精香料研究中的“技术”是一个涉及面非常广的技术，主要包括两种：制备技术和调香技术。所有技术构成一个阶梯，为了生产一个产品，可以使用一种或多种技术。

制备技术包括化学合成技术：各种合成、分离、纯化、鉴定技术等；天然香料提取技术包括溶剂提取技术、水蒸气蒸馏技术、升华技术、超临界流体萃取技术、微波提取技术、超声波提取技术、酶提取技术、半仿生提取技术、破碎提取技术等；生物技术包括发酵技术、酶技术、细胞技术和转基因技术等，每种技术又包括若干种方法。分析鉴定技术是产品生产、检验不可或缺的，近年来，这个技术有了飞速的发展，除了一般的化学分析技术（光谱、色谱、质谱、色质连用、核磁共振、拉曼谱等），还有香精香料所独有的分析鉴定技术（顶空分析、电子鼻等）。

调香技术的产品是香精（调和香料），一个香精的成分少则几种，多则几十种。香精的调和不仅是一件非常细致的技术，也是一件高度艺术性的工作，几种或几十种香料可以调制出各种风韵的香精。这与调香师个人对某个香精的理解、偏好、艺术气质、生活环境、文化传统有很大关系。调香技术是调香师长期训练的结果，包括对于嗅觉鉴定、香气识别、灵敏度提高、香料理化性质、使用范围、浓淡程度、调香时和调香后可能发生的变化等训练。香精调制都是经验性的，调香师要根据自己的经验、感觉和灵感首先想像出一种香味，然后加以配制，并不断调整，因此，调香是一个探索过程，只有在反复实践、总结的基础上才有可能研制出理想的配方和生产工艺。尽管现代仪器设备的精密度不断提高，但它们都无法替代人（调香师）的感觉（嗅觉、味觉）的作用。

技术研究是香精香料行业发展的一个重要的方向。

4. 基础研究和应用研究

基础研究与应用研究是两个不同的阶段。基础研究的繁荣可以自动满足国家的需要。基础研究通常由国家实验室和大学来完成，应用研究则由企业的工业实验室完成，产品设计与开发由企业的有关部门完成。其实，基础研究与应用研究，在很多情形下是无法割裂、并且常常是可以互相转化的。科学家在进行某项研究的时候，其研究的动机、要探索的知识内容，可能与其要解决的问题、所在的研究机构的环境、本人的偏好等等因素有关。研究目的本来是要解决具体应用的问题，但在研究过程中发现基础性的理论，产生新的科学知识的情况也是可能的。表1列出了世界著名大公司的诺贝尔奖成果数目。这些成果基本上来自基础性研究。基础研究是有价值的，往往一个极小的科学新发现，会给现有技术、生产带来极大的进步，并给公司带来巨大的收益。然而，必须正视的事实是，科学研究存在着不确定性，在研究中出现反复、失败是正常的；企业应当从提高、保持自己的竞争力出发，结合公司产品、市场的未来发展方向，选择支持值得去“赌”的研究领域。

表 1 取得诺贝尔奖的世界公司

公司	国别	物理奖	化学奖	生理学或医学奖
贝尔实验室	美	13	0	0
IBM	美	3	0	0
通用电气公司	美	1	1	0
PE-Cetus 公司	美	0	1	0
杜邦公司	美	0	1	0
IG 法尔本公司	德	0	3	0
惠康药业公司	英	0	0	3
新英格兰生物公司		0	0	1
英国百代唱片公司		0	0	1
日本岛津制作所		0	1	0
马可尼无线电报有限公司	意	1	0	0

当然，企业进行的研发，都有着极明确的目的性。企业从事的研究、开发项目，绝大多数是与企业目标联系密切的应用项目。在这些应用问题的解决中，取得基础研究中的重大突破也是可能的。企业的研究机构和其他科学研究机构的研究有很多不同之处：几乎所有的企业研究都是应用性项目，基础研究只占极少部分；企业研究比其他研究更注重利润、成本以及其他经济指标；同时，企业研究的项目多为时间短、进展快和变化无常的项目。

5. 科学向技术转化需要多次创新

科学家在科学研究中，不断地创造出新的知识，这些新知识大多在企业中完成了向产品的转化，由企业对新知识的利用而产生出的产品、服务或者工艺投入市场，满足了公众的生产、生活需求。

创新包括两种：理论创新和技术创新。理论创新是由观念革命和新工具使用推动的；技术创新则是在理论指导下，实现有明确实用目的的材料、工艺、形态的创新。

科学的成果往往以“理论”的形态出现，但“理论”转化为技术仍然是一个艰苦的创造过程。20 世纪对人类生活产生重大影响的技术主要包括：原子能的应用、电子技术和计算机技术、高分子材料合成技术、航空航天技术、生物技术。

19 世纪末，电子、X 射线和放射性的发现，打破了传统的原子不可分的观念。1913 年丹麦青年学者玻尔（1885-1962）提出原子结构理论，接着，爱因斯坦（1879-1955）相对论的提出和 20 年代量子力学的确立，为揭示原子内部的运动规律和利用原子能提供了强大的理论武器。然而，要实现原子能的利用，必需解决一系列技术问题，首先是放射性物质的来源问题，1933 年英国的查德威克发现了人工放射性物质，这为科学家研究核物理开辟了多种新的实验材料。其次，科学家还努力改进轰击技术和人工核反应设备，1933 年美国物理学家劳伦斯（1901-1958）设计并建成世界第一台大型回旋加速器，之后，静电加速器、直线加速器、同步加速器等相继建成和使用，这为人类认识核反应起了重要作用。1934 年，恩里科·费米发现“慢中子效应”，从而获得另一种对原子核进行轰击的途径，并在 1939 年验证了哈恩等人提出的“核裂变的链式反应”，实验显示，一个 U^{235} 原子裂变时间为为一亿分之一秒，释放的能量为 2 亿电子伏特。二战期间，美国的“曼哈顿计划”集中了大量的人力、财力和物力研制原子弹，整个工程除原子裂变的基本理论，还涉及理论物理、实验技术、数学、辐射化学、冶金、爆炸工程、精密测量等专业。1945 年 7 月 16 日，第一颗原子弹实验成功，而原子能的和平利用直到二战后的 50 年代才开始。从原子能原理的发现到应用花了大约 50 年的时间，其中涉及大量的技术创新。

电子技术和计算机技术所依据的原理是电磁波理论，这个理论在 19 世纪末 20 世纪初由麦克斯韦最后完成。它的第一个应用是无线电报，接着是无线电话和广播，30 年代被用于传送图像、探测远处物体。二战期间，雷达成为电子技术的代表性产品。二战末期，第一代电子计算机诞生，这是电子技术发展的高峰。作为计算机轻便化技术的关键，固体物理理论和半导体晶体管的研制（尤其是晶体三极管），为大规模集成线路奠定了基础。从电磁波理论到应用也花了大约 50 年的时间。

高分子合成材料是 20 世纪化学最辉煌的成就。1932 年，德国化学家施陶丁格（1881-1965）发表第一部高分子化学论著《高分子有机化合物》，标志这一新学科的诞生。他提出了大分子的概念，推翻了以前的认为高分子是小分子的物理缔合体的观点，解释了大分子的软化过程和可塑性，并给出了

高分子化合物稀溶液黏度与分子量的定量关系，为测定分子量找到一种有效、简单的方法。之后，德、美、英等国化学家进一步阐明了“连锁反应”和“缩聚反应”的机理。这些理论为高分子材料的生产奠定了基础。30年代以后，各种高分子化合物问世，其中以合成纤维、合成橡胶、塑料三大合成材料对人类社会影响最大，这些材料的问世摆脱了人类对于农业的依赖和天然材料的不足，二战以后，大量的塑料新品种出现，以致现代人们的生活根本离不开这些材料。所以，人们称20世纪是化学世纪。从高分子理论到实际应用大约用了20年的时间。

航空航天器——喷气式飞机、导弹、火箭依据的是同一个科学原理——动量守恒，这个原理早在17世纪就被牛顿发现了，然而，直到300多年后的二战期间，喷气式飞机、导弹、火箭才出现。标志着航空技术发展水平的主要有三个方面：飞机的飞行性能、飞机的稳定和操作性能、机动飞行的安全性。从活塞式内燃机到燃气轮机再到喷气发动机和轴流式压气机，每一次改进都要付出巨大的努力和技术上的创新，包括燃料、材料、设计的创新。1937年3月，德国建立了第一个火箭研究中心。在冯布劳恩（1912-1977）主持下，于1942年制造并试验成功液体燃料火箭（V-2火箭），有了火箭这一运载工具，人类才有可能实现星际航行。战后，航天技术取得快速发展，终于把人类送上月球、送入外太空。

现代生物技术是影响人类社会的另一个重要技术。20世纪60年代初，随着生物化学和分子生物学的发展和深入，人们对生物的遗传物质—DNA结构与功能已经有了比较清楚的认识。1972年，美国斯坦福大学伯格（Berg, Paul）成功地实现了DNA重组实验，从此揭开了基因工程发展的序幕；并逐步形成了以基因工程为核心内容，包括细胞工程、酶工程、发酵工程在内的一系列高新技术。这些技术发展到今天，已经产业化，广泛地应用于食品、医药、化工、农业、环保、能源、资源再利用和国防等许多部门与行业。以基因工程为例，基因工程的基本流程可以简单概括为：目的基因的获取，基因载体的选择与构建，目的基因与载体的拼接，重组DNA分子导入受体细胞，筛选并无性繁殖含重组分子的受体细胞（转化子），克隆基因的大量扩增和表达等六步，每一个步骤都需要很多新技术的研发与创造。据我们统计，在DNA双螺旋发现之后，为了实现生物技术的产业化，所发明的新技术有几十种之多。

任何一个技术创新的出现，都需要许多因素的配合：

首先要有需求，或经济、或政治、或民生、或工程、或战争，或者满足人类对于某些问题的好奇。其实这种需求在18世纪之前还没有怎么强烈。17世纪的科学已经确立了自己的地位，科学研究的许多成果在今天看来是划时代的，如开普勒的行星运动三定律、伽利略的力学与局部运动的理论、牛顿的三大运动定律、万有引力定律等，但科学却没有如培根所希望的那样，立即使人类的需要得到满足，因为科学成果不会自动地成为满足人类需要的技术、产品。技术、产品的产生。17世纪蒸汽机的发明，引发了英国工业革命，是当时的资产阶级发展生产力的需求。今天，科学发现、技术创新的决定性作用是不言而喻的。人类社会的经济、政治和社会面貌、结构在历史上的每一次重大改变，都是由科学研究上的重大突破为先导，在此突破基础上创造出社会需要的新技术、新产品而实现的。

其次，要有相应的物质硬件条件的配合。任何科学发现向技术、产品的转化，都需要如材料、控制、通讯、计算速度、加工精度、检测技术等要素的结合。没有这些条件，科学向技术的转化将是一句空话。例如，喷气式飞机、导弹、火箭需要的耐高温、高强度、轻质的合金、非金属材料，这必须有冶金技术、高分子合成材料的创新和突破；控制技术则需要微电子技术、仪器仪表的微型化技术的进步；计算速度的提高需要大规模集成电路的研发等等。而这些硬件条件的创造（研发）无疑也促进了相应学科的发展。

第三，由技术到产品还要考虑成本、市场、环境、安全等因素。蒸汽机被发明到被普遍采用，就差不多用了一百年的时间，这里涉及到火与蒸汽的控制技术、经得起蒸汽压力的材料等的发明。只有在能制造且经济上最划算的时候，这一产品才会被市场接受。而且，除产品本身的创造过程之外，一个新产品进入市场还需要进行安全性评价，食品、药品等尤其如此，这需要快速、准确的检测新技术的支持；新产品的生产还要考虑对环境的影响，因此需要环境评价技术；为了防止假冒，发展了防伪技术等等。所有这些技术的发明虽然不是生产产品所必须的，但对于产品进入市场却非常重要。

6. 香精香料的创新

面对同行业的诸多生产经营者来说，谁能提供出他人所没有的新产品、新材料、新工艺，谁就是走在同行前列的竞争优势者。在激烈的市场竞争中，企业保有自己竞争优势的不二法宝，就是拥有自己的创新机制，保证有源源不断的新产品、新技术、新工艺产生出来。

香精香料的创新虽然带有艺术成分，但与文学、艺术的创作不同，文学家、艺术工作者创作的作

品，是世界上原本没有的东西。创作是由作者独立思考，运用符号、色彩、线条、数字、旋律、构图、动作等，创造出反映作者个性特点的，能满足人们学习、研究、欣赏需要的作品。只要作者是独立思考创作的，其作品就一定能反映出作者的个性特点，是独一无二的。香精香料的创新所追求的是自然界中原本存在着的、不由人的意志所支配、控制的未知事实。尽管香精香料的创新也需要如作品创作时作者所依赖的直觉、灵感及个人的经历、体验等，但它更重要的是依赖实验、逻辑、推理等符合科学规律的方法和实事求是的严谨态度。因此，香精香料的创新形成了自己的从选题、试验设计、数据采集和处理、结论的抽象和检验的程序和规范，这些程序和规范保证了香精香料的创新的有效和结论的科学性。

既然香精香料还没有自己的“公理系统”，创立这个“公理系统”是最大的创新，它成为科学家、广大香精香料工作者追求的最大目标。然而，这个目标绝不是短期可以实现的。因此，现实的创新主要来自技术和产品，主要包括：

- 新香型的发现。新香型是自然界本来具有的，新香型的发现属于科学发现，它具有重大的科学价值和实用价值。
- 新技术的研发。传统的制备技术、鉴定技术不断改进，同时虚心学习其他学科出现的新技术，例如生物技术、超临界流体技术等。
- 调香技术。传统的调香技术和计算机、人工智能结合，创造“人机结合”的新技术。
- 产品形态的创新，例如微胶囊技术、纳米技术的使用。

香精香料作为食品、烟草、日用化工等产品的添加剂都涉及安全性的问题，因此，所有创新的安全性评价是必须的。

我们要强调的是，“创新”不是一句时髦的口号，而是一种行动。创新包括理论创新和技术创新，这些创新是由观念创新和新工具引起的，人类除了下意识行为，绝大多数行为都是有目的的。没有新观念就不可能有创新，此外，要想创新必须有创新机制、创新环境、必须聚集创新人才、创新硬件，还必须研究历史和现状、必须研究世界同行在做什么、研究香精香料的发展趋势，在此基础上，制定我们的规划和策略，否则，创新只是一句空话。

酶解与美拉德反应相结合制备蛋糕香精

李美 许丽萍 彭立人

上海爱普香料有限公司, 上海 201809

摘要:以蛋黄酶解液为基础反应原料, 通过添加不同还原糖和氨基酸进行热反应制备蛋糕香精。实验确定制备蛋糕香精最适合的还原糖为葡萄糖 0.5%和木糖 0.25%, 最适合的氨基酸为赖氨酸 0.18%, 蛋氨酸 0.05%, 脯氨酸 0.05%。

关键词: 蛋黄酶解液; 还原糖; 氨基酸; 美拉德; 蛋糕香精

Preparation of Cake Flavor by Maillard Reaction and Enzymolysis

LI Mei XU Liping PENG Liren

(Shanghai Apple Flavor & Fragrance Co. Ltd. Shanghai 201809)

Abstract: Cake flavor was prepared by the thermal reactions of different reducing sugars and amino acids based on the egg yolk hydrolyzate. The appropriate reducing sugars and amino acids was obtained as follows: glucose(0.5%), xylose (0.25%), lysine(0.18%), methionine(0.05%), proline(0.05%).

Key words: egg yolk hydrolyzate, reducing sugars, amino acids, maillard reaction, cake flavor

1 前言

蛋的香气是在加工过程中产生, 生蛋除了蛋腥气没有诱人的香味。蛋品在加工过程中产生香味的化学反应包括磷脂的降解、碳水化合物的降解、还原糖的降解、氨基酸的降解、还原糖与氨基酸或肽的美拉德反应、脂类及硫胺素的热降解等¹。胡光红²以蛋黄粉为基础反应物, 通过添加还原糖和氨基酸制备了蛋香香气。蛋黄酶解液中含有大量的氨基酸和短肽, 它们是美拉德反应的重要前提物质, 但是只有它们参加反应不能产生足够的风味, 为了增强风味需要选择性的添加氨基酸和还原糖。本文主要目的是利用蛋黄酶解液, 通过添加合适的还原糖和氨基酸制备蛋糕香精。

2 实验材料与方法

2.1 材料与设备

蛋黄液(欧福蛋液), 蛋白酶(日本天野酶制剂有限公司), 肽酶(日本天野酶制剂有限公司), 氨基酸和还原糖(上海国药), DK-8B型电热恒温水槽(上海精宏实验设备有限公司), 恒温反应器, RW20 DZM.n型搅拌机(IKA Works Guangzhou), pH计, PB303型METLER TOLEDO电子天平

2.2 实验方法

2.2.1 蛋黄酶解液的制备

取一定量的蛋黄液与水 1:1 混合, 用 HCl 调节 pH 值至 4, 加入适量的蛋白酶, 酶解反应一定时间, 用 NaOH 调节 pH 值至 7, 加入适量的肽酶, 酶解反应一定时间, 灭酶即得蛋黄酶解液。

2.2.2 反应型蛋糕香精的制备

准确称取 10%的蛋黄酶解液、实验所需量的氨基酸和还原糖及丙二醇于三角瓶中, 放入恒温反应器, 115℃, 回流反应 1h。

2.2.3 蛋糕香精的感官评定方法

2.2.3.1 简单描述法

评价员对构成样品特征的各个指标进行定性描述, 尽量完整地描述出样品品质的检验方法称为简单描述检验法。本实验由 6 名感官评价员运用专业的词汇对样品的特性进行描述。评价员完成评价后, 根据每一描述性词汇的使用频数得出评价结果。

2.2.3.2 排序检验法

比较数个样品, 按指定特性由强度或嗜好程度排出系列的方法称为排序检验法。本实验由 6 名感官评定员根据对 12 个样品根据强度或者嗜好程度进行排序, 若两个样品无明显的差别, 那么它们的秩次就是一样的。完成评价后, 对实验结果采用 Page 检验法分析样品间的差异程度。

3 实验结果与讨论

3.1 还原糖种类及添加量的确定

3.1.1 还原糖与蛋黄液反应比例的确定

葡萄糖是蛋黄中的主要单糖成分, 因此本文以葡萄糖为标准, 选择 10%, 1%, 0.5%, 0.8%的添加量, 其它条件不变进行热反应, 采用简单描述法对实验结果进行评价, 由表 1 可以看出还原糖的添加量与香气的好坏并不成比例。蛋糕香气应该咸味淡且带有蛋腥味, 因此选择 1%的添加量作为最佳添加量。

表 1 还原糖添加比例的确定

还原糖添加量	感官评价
10%	咸味重, 蛋腥味较少
1%	咸味淡, 香气适中, 微弱的蛋腥气
0.8%	咸味重
0.5%	焦香, 香气更淡

3.1.2 还原糖种类的确定

所有的单糖都是还原糖, 部分常见的双糖如乳糖、麦芽糖和异麦芽糖是还原性双糖, 具有还原性。不同的还原糖, 反应的速率是不同的。Lewis 和 Lea (1950) 实验证明, 在 37℃, 含水量是 15% 时, 一些还原糖反应活性的顺序是: 木糖) 阿拉伯糖) 葡萄糖) 乳糖和麦芽糖) 果糖³。综合考虑反应速度和价格等因素初步选择木糖、葡萄糖、果糖、乳糖与酶解蛋黄液反应, 添加量为 1%, 其它条件不变。由表 2 可以看出, 添加木糖对蛋糕味的产生具有重要作用, 而乳糖的添加对蛋糕香精主香气的影响不是很大这可能与乳糖是双糖有关, 因此木糖是反应型蛋糕香精制备的首选还原糖, 而果糖和乳糖产生焦糊的不愉快香气, 且乳糖的香气偏淡因此选择不适用果糖和乳糖。添加葡萄糖对蛋糕的蛋腥香气有作用, 能提高香精的逼真性, 因此选择使用葡萄糖。

表 2 还原糖种类的确定

还原糖	感官评价
葡萄糖	咸味淡, 香气适中, 微弱的蛋腥气
果糖	咸, 烤香, 焦香
木糖	蛋糕味, 烤香
乳糖	焦香, 烤香, 香气偏淡

3.1.3 混合糖添加比例的确定

单一的添加葡萄糖或木糖都不能完整的体现蛋糕的香气, 因此考虑二者复配添加使用。选择木糖和葡萄糖的不同添加量比 0.5%:0.5%、0.25%:0.5% 进行热反应, 分别对应编号为 A、B 其它条件不变。由表 3 可以看出木糖和葡萄糖的添加量比为 0.25%:0.5% 时蛋糕香气最好。

表 3 混合糖添加比例的确定

添加量比	感官描述
A	焦香, 蛋糕香气不明显, 并带有肉松香气
B	微弱的烤香, 带有蛋腥气, 微咸蛋糕香

3.2 氨基酸的确定

常见的氨基酸有 20 种, 不同的氨基酸与还原糖反应可以产生不同的特征风味, 本文以前边选定的葡萄糖和木糖作为还原糖, 添加不同的氨基酸进行热反应通过感官评定确定制备蛋糕香气所需的氨基酸。根据前人对不同氨基酸和还原糖美拉德反应香气特征的研究³⁻¹¹, 本实验选择谷氨酸、赖氨酸、天冬氨酸、半胱氨酸、蛋氨酸、亮氨酸、缬氨酸、脯氨酸、精氨酸和组氨酸参与热反应。由表 4 可以看出赖氨酸、天冬氨酸、蛋氨酸、缬氨酸、脯氨酸、精氨酸、组氨酸对蛋糕香气的产生具有作用。

表 4 不同氨基酸的感官评定

氨基酸	感官描述
谷氨酸	咸酱油味/鸡蛋味不重, 焦香、糊味、烤香, 无蛋腥味
赖氨酸	焦香/微弱的蛋糕味
天冬氨酸	鸡蛋糕味, 烤香
半胱氨酸	蛋腥味, 但头香具有芝麻香
蛋氨酸	烤香, 刺鼻气味/咸味, 蛋腥气
亮氨酸	烤香, 酱香
缬氨酸	酱香, 有鸡蛋味
脯氨酸	烤蛋糕香气
精氨酸	蛋香味较重, 烤香, 焦香.
组氨酸	烤香, 蛋香.

3.3 复合氨基酸的确定

由表 4 可以看出蛋氨酸能够产生蛋腥气，对蛋糕香气的形成具有主要贡献，因此选择蛋氨酸作为基础氨基酸以提供蛋腥气增加香精的逼真性，通过添加其余 8 种氨基酸并调整氨基酸的添加量来优化实验条件。设计配方见表 5。运用排序检验法¹²对实验结果进行评价见表 6。

表 5 复合氨基酸的确定

样品 氨基酸	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
赖氨酸 Lys	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.36	0.36	0.36	0.72	0.36	0.36	0.36
蛋氨酸 Met	0.2	0.1	0.2	-	0.2	0.1	0.05	0.05	0.1	0.05		0.05
谷氨酸 Glu	0.28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
脯氨酸 Pro	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1
半胱氨酸 Cys	-	-	0.04	0.1	0.01	-	-	-	-	-	-	-
精氨酸 Arg	-	-	-	0.1	-	-	-	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1
天冬氨酸 Asp	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.05
缬氨酸 Val	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.05
组氨酸 His	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.05

备注:表 5 中的数据为两百克反应物中某种氨基酸添加的克数。

表 6 排序结果

样品 评价员	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	3	11	11	8	8	5	6	8	11	4	2	1
2	7	5	4	8	12	1	11	9	2	3	6	10
3	12	4	1	4	4	7	7	2	7	6	7	5
4	1	2	9	8	10	3	7	12	4	5	11	6
5	10	2	12	8	9	1	3	4	6	11	5	7
6	6	7	10	8	11	2	9	12	3	4	1	5
样品秩和 Rp	39	32	49	47	58	24	49	54	41	42	42	45

表 7 顺序检验法检验表

R ₆	R ₂	R ₁	R ₉	R ₁₀	R ₁₁	R ₁₂	R ₄	R ₃	R ₇	R ₈	R ₅
24	32	39	41	42	42	45	47	49	49	54	58

首先运用公式 $L=R_1+2R_2+\dots+PR_p$ 计算统计量来确定检验原假设能否成立。由于样品数 P 超出 Page 检验临界值表的范围，可用统计量 L' 作检验，见下式：

$$L' = [12L - 3JP(P+1)2] / P(P+1) \sqrt{J(P-1)}$$

计算本实验 $L' = 3.75 \geq 1.65$ ($\alpha=0.05$)， $L' = 3.75 \geq 2.33$ ($\alpha=0.01$)，可判断样品间有显著性差异。利用最小显著差数分组，利用下式计算最小显著差数 LSD

$$LSD = 1.96 \sqrt{\frac{JP(P+1)}{6}} \quad (\alpha = 0.05) \quad \text{或}$$

$$LSD = 2.58 \sqrt{\frac{JP(P+1)}{6}} \quad (\alpha = 0.01)$$

本实验 $LSD=24.48$ 由于，
 $R_5-R_6=34 > 24.48$ ，不可划线；
 $R_5-R_2=26 > 24.48$ ，不可划线
 $R_5-R_1=19 < 24.48$ ，可划线。

R8-R6=30>24.48. 不划
R8-R2=22<24.48. 可划...

结果如下

R₆ R₂ R₁ R₉ R₁₀ R₁₁ R₁₂ R₄ R₃ R₇ R₈ R₅

因此本实验可分为以下 6 组

R₆ R₂ R₁ R₉ R₁₀ R₁₁ R₁₂ R₄ R₃ R₇ R₈ R₅

结论在 5%显著水平上, R₆的香气最逼近蛋糕香气。

4 展望

影响热反应的因素颇多, 包括反应温度、反应时间、反应 pH、水分含量等, 对于这些因素对热反应的影响有待于进一步研究。另外, 简单通过美拉德反应制备的天然蛋糕香气存在香气不够充足、不够逼真的确定, 可根据食品应用的需要, 结合调香技术调整得到期望中的香气。

参考文献:

- 1、蔡健, 王薇、蛋品风味物质研究[J]、食品科技, 2003, (4): 31-33
- 2、胡光红、梅拉德反应制取蛋香的研究和应用[J]、香料香精化妆品, 2001, (6): 16-17
- 3、胡见曙、食品香味与梅拉德反应[J]、食料香精化妆品, 1987, (3): 19-25
- 4、章平等、氨基酸和还原糖类反应的研究[J]、贵州工学学报, 1996, vol.25(4): 90-93
- 5、许洪高等、反应型肉味香料的研究进展[J]、中国食品添加剂, 2005, (15): 65-73
- 6、吴松, 秦军、美拉德增香调味料研究进展[J]、中国科技信息, 2005, (11)
- 7、付莉, 李铁刚、简述美拉德反应[J]、食品科技, 2006, (12): 9-11
- 8、郭俊成, 程晓蕾等、美拉德增香调味料研究及其应用[J]、中国调味品, 1995, (6): 2-8
- 9、王育水, 陈京才、美拉德反应与反应香料[J]、河南教育学院学报, 2000, vol.9(4): 33-35
- 10、汪秋安、反应香料[J]、中外轻工科技, 1998, (1): 19-21
- 11、刘国珍等、谷氨酸与葡萄糖的 Maillard 反应[J]、烟草科技/烟草化学, 2002, (10): 30-33
- 12、张水华、食品分析[M]、中国轻工出版社、2007
- 13、Cerny C. and Guntz R., Evaluation of potent odorants in heated egg yolk by aroma extract dilution analysis. European Food Technology. 2004, 219: 452-454
- 14、冯月超、鸡蛋黄挥发性风味物质及相关前体物质的研究[D], 2006

利用响应面分析法优化鸡肉香精

郝学财 郑宝良

(天津春发食品配料有限公司研发中心 天津 300300)

摘要: 通过响应面分析的方法对鸡肉膏状香精配方进行优化。利用 Plackett-Burman 试验考察葡萄糖、半胱氨酸、D-木糖、鸡肉酶解物、氧化鸡脂、硫胺素对鸡肉膏状香精风味的影响,找出主要影响因子为葡萄糖、半胱氨酸和鸡肉酶解物。然后利用 SAS 二次响应面分析法进一步对主要影响因子进行了考察,确定出最佳配方的组成为葡萄糖 6.09g,半胱氨酸 3.06g,鸡肉酶解物 78.2g,经过验证,预测值与验证试验平均值接近。得到的热反应鸡肉香精具有自然、浓郁的炖煮鸡风味。

关键字: 鸡肉香精;酶解;感官评价;优化配方;响应面分析法(RSA)

Optimization of Chicken Flavor by Response Surface Analysis

Method

Xuecai Hao BaoliangZheng

(Tianjin ChunFa Food Ingredients CO.,Ltd. R&D center Tianjin,300300)

Abstract: Response surface analysis (RSA) method was applied to optimize the recipe of the chicken flavor base. First, the influence of glucose, cysteine, D-Xylose, chicken hydrolyte, oxidized chicken fat and thiamine on the chicken flavor base was studied. Results indicated that glucose, cysteine and chicken hydrolyte were the major factors. Then RSM was applied to further investigate the three major factors, and the optimal recipe was glucose 6.09g, cysteine 3.06g, and chicken hydrolyte 78.2g. The predominant value was consistent with mean value of verification test. The chicken flavor base provides natural provides natural and comfortable flavor and taste.

Key words: chicken flavor,enzyme hydrolysis, sensory evaluation,optimize recipe, response surface analysis (RSA)

随着我国国民经济的发展和人民生活水平的提高,肉类加工业得到快速发展。1990 年我国肉类生产总量已达 2857 万 t,跃居世界第一位^[1]。据有关部门统计,2000 年我国肉类工业总产值已超过 200 亿人民币^[2]。但与发达国家相比,在肉类制品加工方面仍存在明显的差距,突出表现在产量和品种。肉制品产量占肉类加工业总产量的比例,发到国家高达 30%~70%,而我国只有 3%~4%;肉制品品种,发达国家近 1000 种,而我国只有近百种^[3],造成这一差距的原因是多方面的,其中香精的影响最为显著。但围绕肉味香精的研究我国起步较晚,始于上世纪 80 年代,90 年代中后期才有相关研究报道,并与发达国家存在明显的差距,主要体现在香气质量和稳定性两方面。国内香精的香气特征天然感差、留香时间短、香气不够圆润和丰满;稳定性差表现在耐高温能力差。因此开发具有自主知识产权的高品质肉味香精具有广阔的市场前景,可为企业带来显著的经济效益。

肉味香精是以天然香料,合成香料及其他辅助成分为主,经调香达到香气的和谐与仿真,调配成香精,再以葡萄糖,麦芽糊精为载体,均匀混合后成为产品^[7]。本文以天然动植物资源(鸡肉、辛香料等)为主要原料,探讨利用生物酶解和美拉德反应技术、气味分析技术开发高品质鸡肉香精的制备技术,解决肉味香精的香气质量问题。

1 材料与方法

1.1 仪器与设备

高剪切均质机,变速搅拌机,电热套,三口瓶,胶体磨,高压均质机等。

1.2 原料与试剂

鸡肉,鸡皮,复合蛋白酶,风味酶,辛香料,葡萄糖,D-木糖,硫胺素,氧化鸡脂,氢氧化钠,甲醛等。

1.3 实验方法

1.3.1 酶解产物中游离氨基氮的测定

本实验通过甲醛滴定法^[8]对酶解产物中的游离氨基酸进行测定,具体方法如下:

吸取 5mL 液体样品稀释至 100mL,吸取 20mL 上述样品稀释液于烧杯中并加水 60mL,在磁力搅拌作用下,用 NaOH 标准溶液滴定至 pH 值为 8.2,加入 10mL 甲醛溶液,再用 NaOH 标准溶液滴定至 pH 值为 9.2,记录此时消耗氢氧化钠标准溶液的体积。

$$X = \frac{(V_1 - V_0) C \times 0.014 \times 100}{5 \times (V/100)}$$

式中：X——样品中游离氨基酸的质量浓度，g·100mL⁻¹；
V——测定时吸取样品稀释液的体积，mL；
C——NaOH 标准溶液的浓度，mol·L⁻¹；
V₁——pH 计指示由 8.2 变为 9.2 时消耗氢氧化钠标准溶液的体积，mL；
V₀——空白实验中消耗氢氧化钠标准溶液的体积，mL。

1.3.2 热反应条件和工艺

将鸡肉酶解物、还原糖、氨基酸等混合均匀，初始 pH 值 4.0，在 100℃ 条件下反应 60min。降温后过 40 目筛网，调整 pH 值为 5.5。在低压 10Mpa，高压 30Mpa 下均质一遍，即得到热反应鸡肉香基。

1.3.3 感官评定

取热反应香基样品，55℃ 清水稀释至 1%，然后让 8 名训练有素的评价员(男女各四人)进行香气香味感官评价，每评价完一个样品后漱口并休息 1min，再评价下一个样品。并根据评价表进行打分。

样品号	香气				香味				
	特征香气	舒适度	饱满度	和谐度	特征香味	后味	醇厚度	饱满度	和谐度
	15	10	10	10	15	10	10	10	10
1									
2									

2. 结果与讨论

2.1 不同工艺条件对酶解效果的影响

2.1.1 酶解时间对酶解效果的影响

在 pH 值 5.5，料液比（鸡肉与水的质量比）1：1，反应温度 55℃，加酶（风味蛋白酶：复合蛋白酶=1：1）量 0.1% 条件下，分别选取酶解时间为 0.5h、1h、1.5h、2h、2.5h 进行酶解反应，结果如图 1 所示。

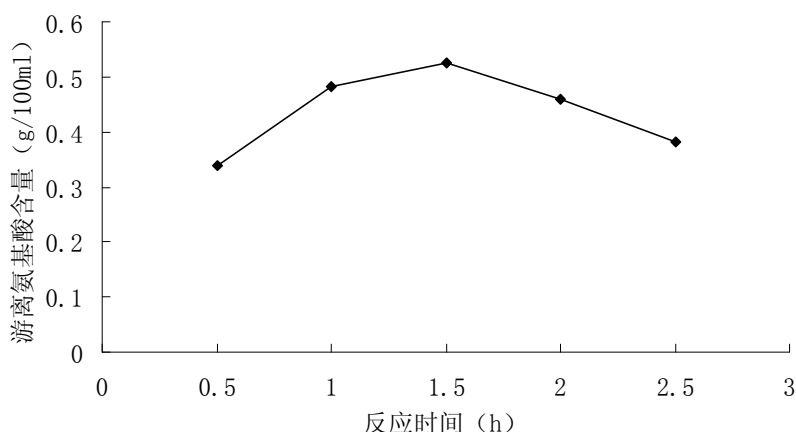


图 1 反应时间对酶解效果的影响

Fig.1 Effect of hydrolysis time on the free amino acids

图 1 结果表明，在 0.5~1.5 小时内，随着反应时间的延长，游离氨基酸的含量逐渐上升，当反应到 1.5h 左右，游离氨基酸的含量达到最高，酶解较彻底。此时的酶解产物肉香浓郁，特征风味明显。反应 1.5h 后，游离氨基酸含量开始有下降趋势，表明酶解出现其他副反应，因此选取酶解时间为 1.5h 较为合适。

2.1.2 酶解温度对酶解效果的影响

在 pH 值 5.5，料液比 1：1，反应时间 1.5h，加酶（风味蛋白酶：复合蛋白酶=1：1）量 0.1% 条件下，分别选取反应温度为 45℃、50℃、55℃、60℃、65℃ 进行酶解反应，结果如图 2 所示。

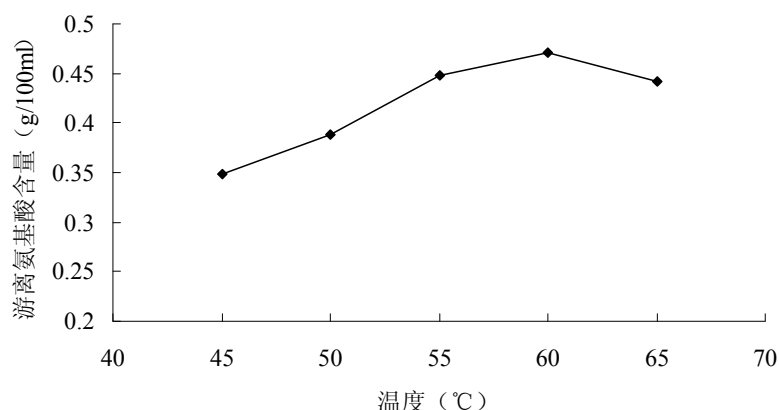


图 2 温度对酶解效果的影响
Fig.2 Effect of hydrolysis temperature on the free amino acids

由图 2 可知，当温度由 45℃ 上升至 60℃ 时游离氨基酸含量逐渐升高，在 60℃ 时，游离氨基酸含量最高。当超过 60℃ 时，随着温度的升高，游离氨基酸含量呈下降趋势，酶解程度减弱。温度太低时酶的活性较低，温度过高易使酶失活，酶解效果下降，因此选用 60℃ 酶解温度较适宜。

2.1.3 pH 值对酶解效果的影响

在料液比 1: 1，反应时间 1.5h，反应温度 60℃，加酶（风味蛋白酶：复合蛋白酶=1: 1）量 0.1 条件下，分别选取 pH 值为 5.0、5.5、6.0、6.5、7.0 进行酶解反应，结果见图 3。

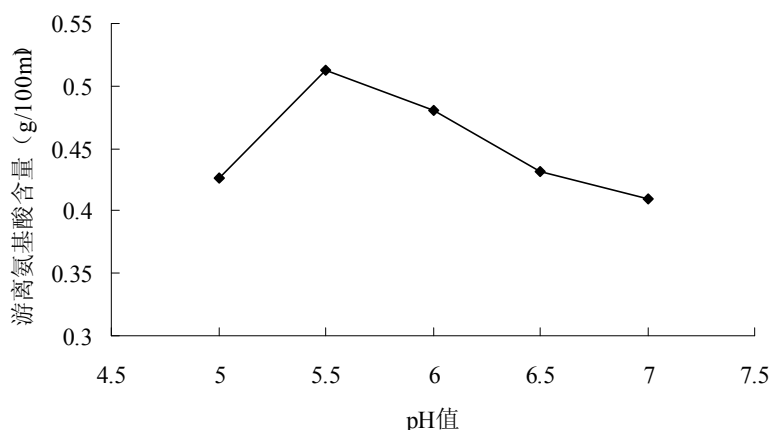


图 3 pH 值对酶解效果的影响
Fig.3 Effect of hydrolysis pH value on the free amino acids

由图 3 不难发现，pH 值由 5.0 上升到 5.5 时，游离氨基酸含量上升较快；当 pH 值超过 5.5 时，游离氨基酸含量开始下降、pH 值超过一定值时，酶的活力下降，甚至失去活性，酶解效果下降。所以，选取 pH 值 5.5 酶解较适宜。

2.1.4 加酶量对酶解效果的影响

在 pH 值 5.5，料液比 1: 1，反应时间 1.5h，反应温度 60℃ 的条件下，分别选取加酶（风味蛋白酶：复合蛋白酶=1: 1）量为 0.05%、0.1%、0.15%、0.2% 进行酶解反应，结果如图 4 所示。

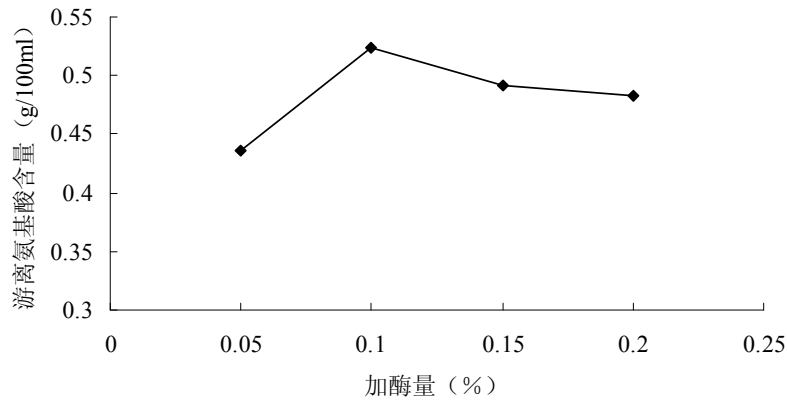


图 4 加酶量对酶解效果的影响

Fig.4 Effect of enzyme dose on the free amino acids

由图 4 可知, 当蛋白酶的用量为 0.1% 时, 游离氨基酸含量达到最大值。当用量在逐渐增加的时候, 游离氨基酸含量变化不大, 酶解效果不再增加。所以, 选取加酶量为 0.1% 进行酶解反应较适宜。

2.2 Packett-Burman 设计筛选重要因素

将鸡肉香基的 6 种成分: 葡萄糖、半胱氨酸、D-木糖、鸡肉酶解物、氧化鸡脂、硫胺素, 分别作为 PB 试验的 6 个因素 X1、X2、X3...X6, 每个因素分别取 2 个水平, 见表 1。以感官评价的分数为响应值。采用 SAS 安排的实验和实验结果见表 2 和表 3。

表 1 因素与水平取值表

Table.1 Assigned concentrations of variables at different levels in Box-Behnken design

因素		水平	
		-1	1
葡萄糖	X1	5	7
半胱氨酸	X2	2	4
D-木糖	X3	1	3
鸡肉酶解物	X4	70	83
氧化鸡脂	X5	5	8
硫胺素	X6	0.5	1.5

表 2 二水平正交试验安排

Table 2. Experimental design and results of two-level orthogonal design

Run	X1	X2	X3	X4	X5	X6	Y
1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	6
2	1	-1	-1	-1	1	-1	6.3
3	-1	1	-1	-1	1	1	6.5
4	1	1	-1	-1	-1	1	7.5
5	-1	-1	1	-1	1	1	6.4
6	1	-1	1	-1	-1	1	6.6

7	-1	1	1	-1	-1	-1	6.7
8	1	1	1	-1	1	-1	7.6
9	-1	-1	-1	1	-1	1	6.6
10	1	-1	-1	1	1	1	6.9
11	-1	1	-1	1	1	-1	7.2
12	1	1	-1	1	-1	-1	8.1
13	-1	-1	1	1	1	-1	6.8
14	1	-1	1	1	-1	-1	7.1
15	-1	1	1	1	-1	1	7.2
16	1	1	1	1	1	1	7.8

根据表 2 的评价结果, 利用 SAS 软件进行分析, 得到表 3。全变量二次回归方程为: $Y_1 = 6.95625 + 0.28125X_1 + 0.36875X_2 + 0.06875X_3 + 0.25625X_4 - 0.01875X_5 - 0.01875X_6 + 0.14375X_1X_2 - 0.03125X_1X_3 - 0.01875X_1X_4 - 0.06875X_2X_3 - 0.01875X_1X_6 - 0.00625X_2X_4 - 0.05625X_2X_6$ 。

表 3 二水平正交试验结果评价表
Table 3. regression results of two-level orthogonal design

Term	Estimate	Pr> t
Intercept	7.588	0.0001
X_1	0.5625	0.0064
X_2	0.738	0.0037
X_3	0.138	0.0927
X_4	0.513	0.0076
X_5	-0.038	0.4929
X_6	-0.038	0.4929

从表3的数据结果显示, X_1 、 X_2 、 X_4 对风味的影响因素最大, 因此选择葡萄糖、半胱氨酸、鸡肉酶解物3个因素作为影响鸡肉香基的重要因素, 进行相应面取优。

2.3 相应面法优化鸡肉香基配方

以葡萄糖、半胱氨酸、鸡肉酶解物3个因素为自变量, 采用响应面分析(RSA)对其进行优化搭配, 以得到最佳的风味配方, 并考察3个因素间的交互作用。以香气香味评价结果为响应值, 设计了三因素三水平的实验。响应面实验设计及分析结果见表4和表5。

表 4 响应面分析试验安排与感官评价表
Table 4. Experimental design and results of Box-behnken design for sense estimate

Run	X_1	X_2	X_4	Y_1
1	-1	-1	0	7.46
2	-1	1	0	7.47
3	1	-1	0	7.22
4	1	1	0	7.92
5	0	-1	-1	7.11
6	0	-1	1	6.83
7	0	1	-1	7.14
8	0	1	1	6.92
9	-1	0	-1	7.83

10	1	0	-1	8.22
11	-1	0	1	8.04
12	1	0	1	6.84
13	0	0	0	8.64
14	0	0	0	8.67
15	0	0	0	8.61

表 5 回归方程各项的方差分析表
Table5. Variance analysis of regression equation

Source	DF	SS	F	Pr>F	回归系数
X1	1	0.045	0.9725	0.3693	-0.986
X2	1	0.086	1.8614	0.2314	1.364
X3	1	0.349	7.5315	0.0417	-2.744
X1X1	1	0.141	3.0337	0.1425	-1.741
X1X2	1	0.119	2.5714	0.1692	1.603
X1X3	1	0.632	13.6523	0.0142	-3.695
X2X2	1	3.176	68.6115	0.0004	-8.283
X2X3	1	0.001	0.01944	0.8946	0.141
X3X3	1	1.874	40.4887	0.0014	-6.363

由表 5 可以看出：一次项、平方项以及交互项的贡献都具有非常显著性意义，因此各个具体实验因子对响应值的影响非常复杂，不是简单的线形关系。其中鸡肉酶解物含量的变化对香气香味评价分数影响最大（ $P=0.0417$ ），相比之下葡萄糖（ $P=0.3693$ ）和半胱氨酸（ $P=0.2314$ ）的影响不太显著。另外在葡萄糖和鸡肉酶解物之间（ $P=0.0142$ ）还存在很强的交互作用。

运用 SAS 程序进行回归拟合，各试验因子对响应值的影响可用下列函数表示： $Y1=8.64+0.075X1+0.10375X2-0.20875X3-0.195X1X1+0.1725X1X2-0.3975X1X3-0.9275X2X2+0.015X2X3-0.7125X3X3$ 。

对全变量的二次回归模型进行规范分析，考察所拟合的相应曲面形状，得到的响应面立体如图 5、6、7 所示。

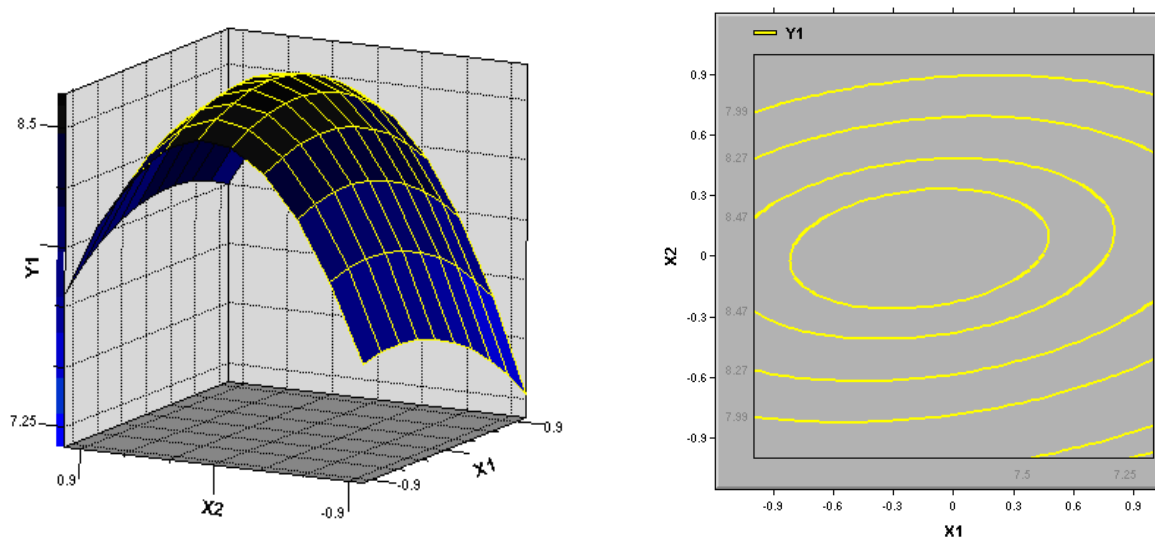


图5 响应面法（X1、X2）立体分析图和响应等高线图
Fig.5 Response surface and corresponding contour plot (X1 X2)

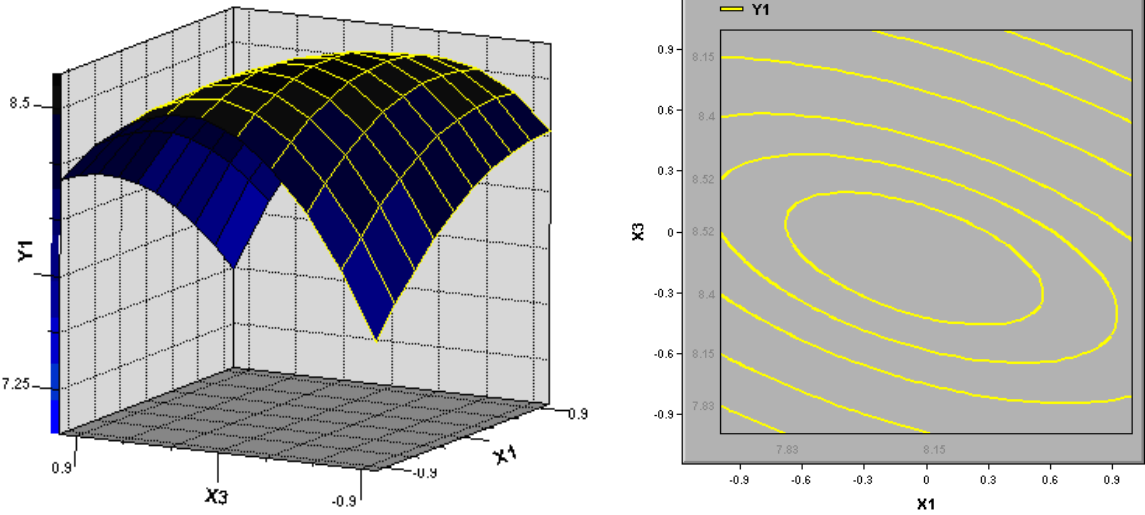


图6 响应面法 (X1、X3) 立体分析图和响应等高线图
 Fig.6 Response surface and corresponding contour plot (X1 X3)

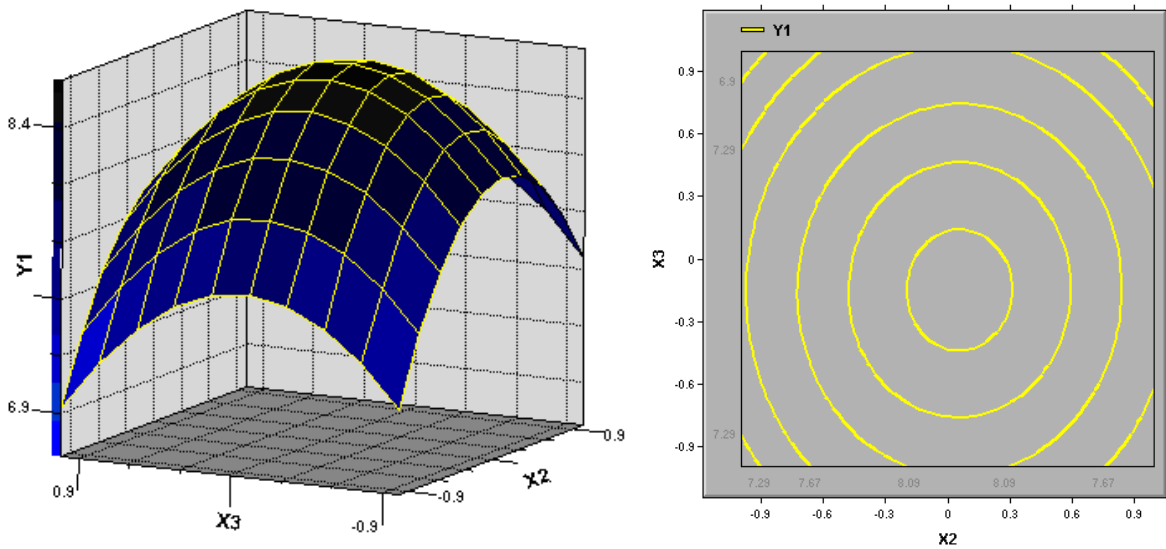


图7 响应面法 (X2、X3) 立体分析图和响应等高线图
 Fig.7 Response surface and corresponding contour plot (X2 X3)

利用SAS软件对这三种因素进行寻优，得到的最优结果如下：X1=6.09，X2=3.06，X3=78.2，即葡萄糖6.09g，半胱氨酸3.06g，鸡肉酶解物78.2g，此时对应的最大响应值为8.66。经过5次重复试验，得到的平均值为8.65（见表6），与预测值非常接近，表明用相应面法得到的鸡肉香精配方可靠。

表6 验证试验结果
 Table.6 Result of verification tests

验证试验	1	2	3	4	5	平均值
响应值	8.59	8.68	8.62	8.70	8.68	8.65

3 结论

本文首先优化了鸡肉酶解的工艺条件,然后从鸡肉香精制备的几种原料中筛选出三种具有重要影响的原料,分别是葡萄糖、半胱氨酸和鸡肉酶解物,又通过响应面优化的方法进一步对这三个因素进行优化,得出最佳的添加量分别为:葡萄糖 6.09g,半胱氨酸 3.06g,鸡肉酶解物 78.2g。经过优化得到的热反应鸡肉香精香气香味自然浓郁、烹调感强。

参考文献:

- [1] 王国成,夏文水. 我国肉类制品工业的发展及展望[J]. 食品与机械, 1999, (4): 10-11.
- [2] 中国肉类协会. 加快肉类食品国有企业的改革步伐[J]. 肉类工业, 1999, (增刊): 3-5.
- [3] 夏文水. 肉制品加工原理与技术[M]. 北京: 化学工业出版社.
- [4] 肖作兵等. 天然肉味香料和香精制备新工艺研究[J]. 香料香精化妆品, 2002, (4): 40-42.
- [5] 宋焕禄. 利用鸡肉酶解物/酵母抽提物-美拉德反应产生肉香味化合物的研究[J]. 食品科学, 2001(10): 83-85.
- [6] 李宏梁等. 酶法制备肉味香精及其风味调配的研究[J]. 食品添加剂, 2006, (9): 171-173.
- [7] 沈再春. 现代方便面和挂面生产技术[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 2001.
- [8] 张永华. 食品分析[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2004: 174-175.

超临界 CO₂ 萃取与分子蒸馏技术 提取白兰花中芳樟醇的研究

喻世涛¹, 王萍², 朱巍^{1,2}, 吴昭², 熊国玺^{1,2*}

1. 湖北中烟工业有限责任公司技术研发中心, 湖北省武汉市汉阳区十升路 430051

2. 武汉黄鹤楼香精香料有限公司, 湖北省武汉市东西湖区金山大道 1355 号 430040

摘要: 采用超临界 CO₂ 流体萃取和分子蒸馏技术, 提取白兰花中的芳樟醇。研究了超临界 CO₂ 流体萃取工艺和分子蒸馏技术分离工艺, 用 GC-MS 法鉴定各香气的化学成分, 测定芳樟醇的相对百分含量。结果表明, 超临界 CO₂ 流体萃取的最佳工艺: 萃取压力为 30MPa, 萃取温度 55℃, 分离压力 3MPa, 分离温度 35℃, 夹带剂为原料重量 12% 的无水乙醇, 萃取时间 90min; 分子蒸馏最佳工艺: 真空度 20Pa、加热温度 40℃, 进料速度 2.0mL/min, 转速 300~400r·min⁻¹, 冷却温度 3~4℃。经过分离纯化, 产品收率为 73.2%, 芳樟醇相对百分含量由 61.8% 提高至 95.9%, 该法方便快捷, 选择性高。

关键词: 超临界 CO₂ 萃取; 分子蒸馏; 白兰花; 芳樟醇

Study on extracting the linalool from *Michelia alba* with Supercritical CO₂ Fluid Extraction and Molecular Distillation technology

YU Shi-tao¹, WANG Ping², ZHU Wei^{1,2}, WU Zhao², XIONG Guo-xi^{1,2*}

1. Technology R&D Center of China Tobacco Hubei Industrial CO.,LTD, Wuhan 430040, China

2. Wuhan Huanghelou Flavors & Fragrances Co., Ltd., Wuhan 430040, China

Abstract: Supercritical CO₂ fluid extraction combined with Molecular distillation technology to obtain linalool in *Michelia alba*. The extraction and purification technology were optimized and the distribution of fragrance components was analyzed by GC-MS, and the content were determined by area normalization method. The results showed that the optimum extraction technology are as follows: 30MPa for the extraction pressure, 55℃ for the extraction temperature, 3Mpa for the desorption pressure and 35℃ for the desorption temperature, absolute ethanol solution as a entrainer and with a 12 % adding weight and the extraction time is 90min. The optimum condition for Molecular distillation: vacuum 20Pa, heating temperature was 60℃, feeding rate was 2.0mL/min, the speed of thin film was 300~400r·min⁻¹, cooling temperature was 3 ~ 4 °C. The extraction rate was 73.2%, and the content of linalool raised obviously from 61.8% to 95.6% after purification. The method was simple, efficient and selective.

Keywords: Supercritical CO₂ extraction, Molecular distillation, *Michelia alba*, linalool

白兰花 [*Michelia alba* DC.] 为木兰科植物白兰的花, 经收集后可供作熏茶、酿酒或提炼香精, 主要生长在中国长江以南地区^[1]。白兰花挥发油中主要成分为芳樟醇^[2]。据美国 IFF

公司统计, 芳樟醇是香水香精、家化产品香精及皂用香精配方中使用频率最高的香料品种, 也是重要的化工原料, 现在全世界的年用量达一万多吨。天然的芳樟醇气味纯正、圆和, 是合成芳樟醇难以相比的。同时由于天然芳樟醇有旋光性的特点, 特别是左旋体在医药上的“生物效价”要比合成芳樟醇(消光性)优异。所以近年来, 开发新的天然芳樟醇制备技术已成为社会各界关注的焦点^[3]。

超临界 CO₂ 流体萃取 (supercritical fluid CO₂ extraction, SFE-CO₂) 是 20 世纪 70 年代兴起的一门新的提取分离技术, 具有传质速度快、溶解能力强、选择性高、低温操作、无溶剂残留以及节能等优点^[4]。而分子蒸馏技术是一种新型的液-液分离技术, 具有操作温度低、受热时间短、蒸馏压力低等特点, 适用于天然植物有效成分的分离和提纯^[5], 二者广泛用于食品、医药、日化等行业。目前, 白兰花挥发油成分的 GC/MS 分析, 也有一些文献^[2,6]进行了探讨。然而利用超临界萃取和分子蒸馏技术从白兰花中提取芳樟醇的研究却鲜见报道。本实验采用超临界萃取和分子蒸馏技术提取白兰花中的芳樟醇, 为开发新型芳樟醇制备技术提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

白兰花鲜花 (采自武汉市东西湖区吴家山, 经鉴定为木兰科植物白兰的鲜花); 无水乙醇 (分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 高纯氮气 (武汉钢铁集团)

1.2 仪器设备

HL-(10+3)L/50MPa-IIA 型超临界 CO₂ 萃取仪 (杭州华黎超临界萃取有限公司); HP6890 型气相色谱仪 (美国 Agilent 公司); 分子蒸馏仪 (美国 POPO 公司); HH-6 型数显恒温水浴锅 (常州澳华仪器有

限公司); CP323S-OCE 型电子天平 (感量: 0.001g, 德国沙多利斯公司)

1.3 实验方法

1.3.1 超临界 CO₂ 萃取条件与方法

选择萃取压力、萃取温度、分离压力和分离温度 4 个因素, 各取 3 个水平, 以白兰花萃取物得率为考察指标, 进行 L₉ (3⁴) 正交试验, 试验因素与水平见表 1。

表 1 正交试验因素水平表

水 平	因 素			
	A: 萃取压力/MPa	B: 萃取温度/°C	C: 分离压力/MPa	D: 分离温度/°C
1	20	35	3	25
2	25	45	6	30
3	30	55	9	35

1.3.2 分子蒸馏工艺优化

采用单因素试验, 考察蒸馏压力、蒸馏温度、物料流速和刮板转速对产品收率和芳樟醇相对百分含量的影响, 优化分离纯化芳樟醇的工艺条件。

1.3.3 萃取物的 GC/MS 分析

色谱柱: HP-5MS, 30cm×0.25mm×0.25 μm; 载气: 氦气, 1mL/min; 进样温度口: 220°C; 升温: 40°C (1min) 5°C/min 250°C (10min); 进样量: 1 μl; 溶剂延迟: 4min; 分流比 100: 1; IE 离子源, 70ev, 扫描范围 50-650amu; 使用 WILEY 和 MAINLIB 谱库检索。

2 结果与讨论

2.1 正交试验结果与分析

在如表 1 所确定的主要影响因素和水平的基础上, 按正交表 L₉ (3⁴) 进行试验, 试验结果见表 2, 方差分析见表 3。

表 2 L₉ (3⁴) 四因素三水平正交表

试验号	萃取压力/ MPa	萃取温度/°C	萃取压力/ MPa	萃取温度/°C	萃取率/%
1	A ₁	B ₁	C ₁	D ₁	1.26
2	A ₁	B ₂	C ₂	D ₂	1.35
3	A ₁	B ₃	C ₃	D ₃	2.09
4	A ₂	B ₁	C ₂	D ₃	2.82
5	A ₂	B ₂	C ₃	D ₁	2.73
6	A ₂	B ₃	C ₁	D ₂	3.10
7	A ₃	B ₁	C ₃	D ₂	3.25
8	A ₃	B ₂	C ₁	D ₃	3.54
9	A ₃	B ₃	C ₂	D ₁	3.87
K ₁	1.567	2.443	2.633	2.620	
K ₂	2.883	2.540	2.680	2.567	
K ₃	3.553	3.020	2.690	2.817	
R	1.986	0.577	0.057	0.250	

表 3 方差分析

方差来源	离均差平方和	自由度	F 比	显著性
A	6.129	2	1225.8	*
B	0.057	2	114.4	*
C	0.005	2	1	
D	0.104	2	20.8	*
误差	0.01	2		

$F_{0.005(2,2)}=19$, “*” 为有显著意义。

分析结果表明, 各因素对结果影响由大到小的次序是 A > B > D > C, 即萃取压力对萃取率影响最大, B 和 D 次之, C 因素对结果影响无显著性。从节约时间和减少能耗的角度考虑, 选择萃取压力为 30MPa, 萃取温度 55°C, 分离压力 3MPa, 分离温度 35°C, 优化工艺为 A₃B₃C₁D₃。按优化工艺条件 A₃B₃C₁D₃ 进行验证试验, 两次试验所得白兰花萃取物的平均得率为 3.91%, 结果较为理想, 说明该工艺稳定、可行。

2.2 萃取时间对白兰花萃取物得率的影响

由图 1 可以看出, 当萃取 90min 后, 萃取率已基本达到最大化, 且得到的萃取物外观和香气质量均符合要求。

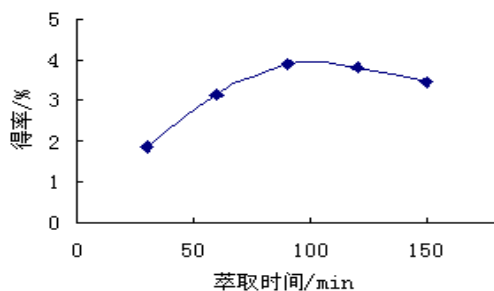


图 1 萃取时间对得率的影响

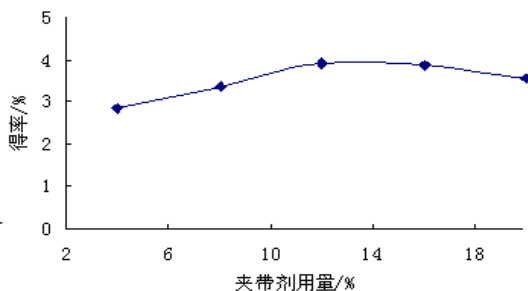


图 2 夹带剂用量对得率的影响

2.3 夹带剂用量对白兰花萃取物得率的影响

改变夹带剂无水乙醇的添加量, 结果见图 2。结果表明, 添加原料重量 12% 的夹带剂, 得率最高。根据以上结果, 超临界 CO₂ 流体萃取白兰花的最佳条件是: 萃取压力 30MPa, 萃取温度 55℃, 分离压力 3MPa, 分离温度 35℃, 夹带剂为原料重量 12% 的无水乙醇, 萃取时间 90min。萃取物外观呈浅棕黄色粘稠状, 香气纯正, 得率为 3.91%。

2.4 分子蒸馏单因素考察试验

2.4.1 分子蒸馏压力的影响

图 3 是不同蒸馏压力对芳樟醇产品收率和相对百分含量的影响。芳樟醇的收率随着蒸馏压力的降低而提高, 但结合对产品纯度的影响, 选择 20Pa 为合适的蒸馏压力。

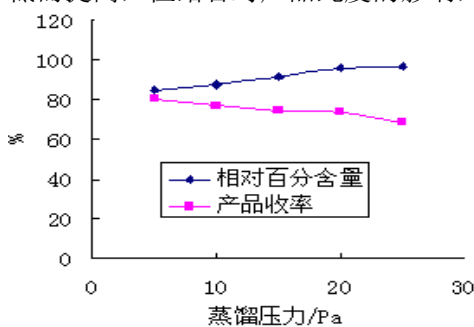


图 3 蒸馏压力的影响

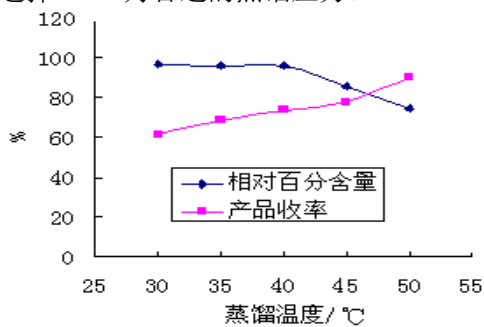


图 4 蒸馏温度的影响

2.4.2 分子蒸馏温度的影响

图 4 是不同蒸馏温度对芳樟醇产品收率和相对百分含量的影响。结果表明, 选择 40℃ 为最佳蒸馏温度。

2.4.3 物料流速及刮板转速的影响

物料流速及刮板转速对芳樟醇产品收率和相对百分含量的影响见图 5 和图 6。图中数据表明, 进料速度为 2.0mL/min, 转速 300~400r·min⁻¹ 较好。

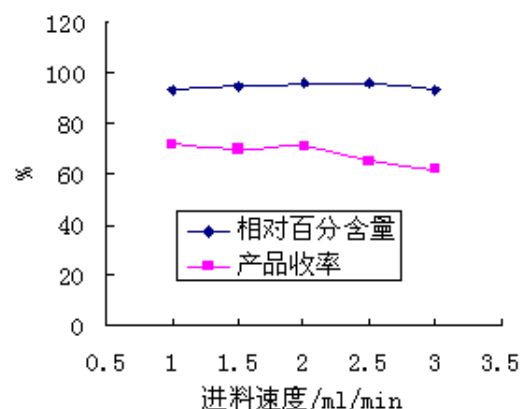


图 5 进料速度的影响

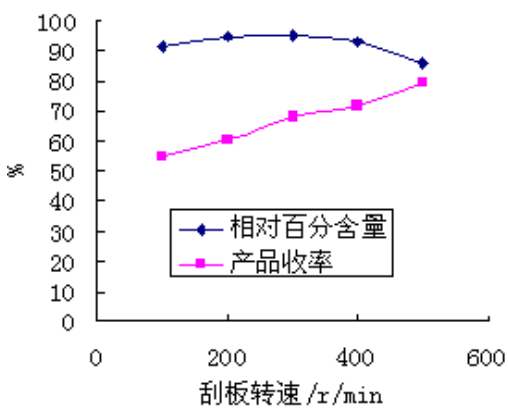


图 6 刮板转速的影响

单因素考察试验结果表明, 分子蒸馏技术分离纯化芳樟醇的最佳工艺条件是: 真空度 20Pa、加热温度 40℃, 进料速度 2.0mL/min, 转速 300~400r·min⁻¹, 冷却温度 3~4℃。经过分离纯化, 产品收率为 73.2%, 芳樟醇相对百分含量由 61.8% 提高至 95.9%。

2.5 组分成分分析

对白兰花超临界 CO₂ 萃取物和分子蒸馏产品进行成分分析并测定芳樟醇的相对百分含量, 分析结果见图 7 和图 8。白兰花超临界 CO₂ 萃取物中共分析 76 种化学成分, 主要是芳樟醇、榄香烯、苯乙醇、2-甲基丁酸甲酯、香叶醇等, 其中芳樟醇的相对百分含量为 61.8%。通过分子蒸馏技术分离纯化后, 芳樟醇相对百分含量达到 95.9%, 纯度得到明显提高。

RT: 0.00 - 58.01 SM: 5G

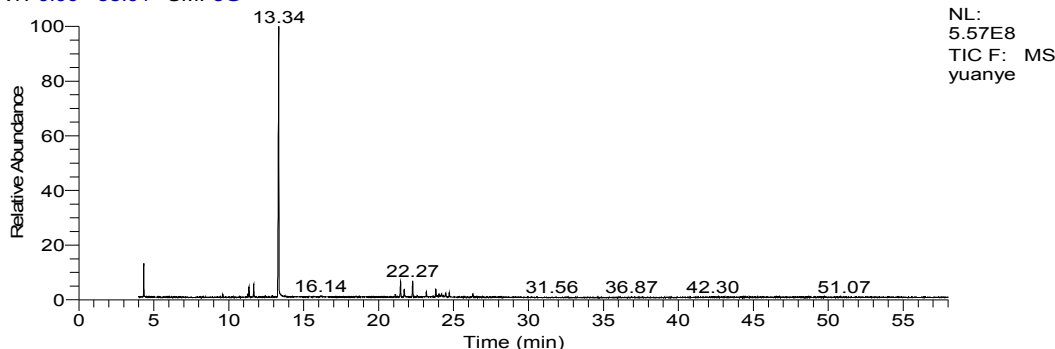


图 7 白兰花超临界 CO₂ 萃取物总离子流色谱图

RT: 0.00 - 58.01 SM: 5G

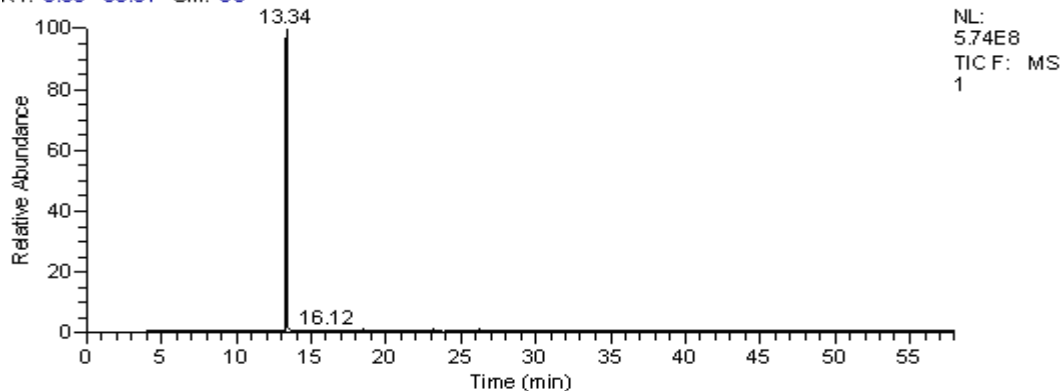


图 8 分子蒸馏产品总离子流色谱图

3 结论

通过正交设计实验优化得到白兰花超临界 CO₂ 萃取工艺为: 萃取压力 30MPa, 萃取温度 55℃, 分离压力 3MPa, 分离温度 35℃, 夹带剂为原料重量 12% 的无水乙醇, 萃取时间 90min。萃取物外观呈浅棕黄色膏状, 香气纯正, 得率为 3.91%。

分子蒸馏过程中, 蒸馏压力、蒸馏温度、物料流速和刮板转速对产品收率和芳樟醇相对百分含量都有一定的影响, 试验发现: 真空度 20Pa、加热温度 40℃, 进料速度 2.0mL/min, 转速 300~400r·min⁻¹, 冷却温度 3~4℃ 为分离纯化芳樟醇的最佳工艺条件, 产品收率为 73.2%, 芳樟醇相对百分含量为 95.9%。利用超临界 CO₂ 萃取和分子蒸馏技术提取白兰花中的芳樟醇, 不仅提高了提取效率, 而且产品的外观状态、香气质量等方面均有大幅度提升, 对白兰花等芳香类天然植物的深层次开发利用具有一定的借鉴作用。

参考文献:

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1977.
- [2] 王心宇, 刘明春, 杨迎伍, 等. GC-MS 法分析白兰花挥发油成分[J]. 重庆大学学报, 2008, 31(1):97-100.
- [3] 林翔云. 天然芳樟醇与合成芳樟醇[J]. 化学工程与装备, 2008, (7):21-26.
- [4] 朱自强. 超临界流体技术原理和应用[M]. 北京:化学工业出版社, 2000
- [5] 陆韩涛, 程玉镜. 芳香油的分子蒸馏提纯[J]. 精细化工, 1993, 10(3):44-46
- [6] 刘扬岷, 王利平, 袁身淑, 等. 固相微萃取气质联用分析白兰花的香气成分[J]. 无锡轻工大学学报, 2001, 20(4):427-429.

刺梨提取物致香成分双柱分析及其在卷烟中的应用

彭霖¹, 朱巍^{1,2}, 吴昭², 潘婷婷¹, 黄龙^{1*}

1、湖北中烟工业有限责任公司技术研发中心, 湖北省武汉市汉阳区十升路 430051

2、武汉黄鹤楼香精香料有限公司, 湖北省武汉市东西湖区金山大道 1355 号 430040

摘要: 为了解刺梨提取物的化学成分与其感官评价效果, 用二氯甲烷同时蒸馏萃取刺梨提取物, 分别用极性柱和非极性柱进行 GC/MS 分析, 并将刺梨提取物用于卷烟加料。结果表明, 刺梨提取物与烟香谐调, 具有增加香气质和香气量、柔和烟气、掩盖杂气、降低刺激、改善余味的作用, 是一种安全的天然烟用香料; 分别用极性柱和非极性柱分析的化学成分相互补充, 可以相对客观、全面的反映刺梨提取物中的致香成分的状况; 双柱分析的方法可用于天然植物提取物致香成分的分析。

关键词: 刺梨提取物; 致香成分; 双柱分析; 烟用香料; 卷烟

The Double-column Analysis of Aroma Components of Extract from *Rosa Roxburghii* and its Application in Tobacco

RONG Lin(1), ZHU Wei(1,2), WU Zhao(2), PAN Tingting(1), HUANG Long(1)

1. Wuhan Huanghelou Flavors & Fragrances CO., LTD, Wuhan, 430040, China

2. Technology R&D Center of China Tobacco Hubei Industrial CO., LTD, Wuhan, 430051, China

Abstract: In order to learn the aroma components of *Rosa Roxburghii* extract and the result of sensory evaluation, the extraction was extracted by simultaneous distillation and extraction with dichloromethane, Polar and non-polar columns were used for GC/MS analysis, and the extract was used as flavor in tobacco. The research results showed, *Rosa roxburghii* extract harmonizes with incense smoke, and it could enrich aroma, improve taste; The method of double-column analysis could give the relatively objective and comprehensive result for the aromatic components of *Rosa roxburghii* extract, it can be used for more natural plants extract.

Key words: *Rosa Roxburghii* extract, tobacco flavor, aroma components, double-column analysis, tobacco

前言

刺梨为蔷薇科植物缙丝花的果实, 又名茨梨、木梨子, 是滋补健身的营养珍品, 我国古籍【本草纲目拾遗】记载“刺梨具有健胃、消食、滋补、强壮之功效”。

刺梨的药用价值很高, 其花、叶果、籽可入药, 特别是刺梨富含超氧化物歧化酶 (SOD), 具有抗衰老、防癌、抗病毒、抗辐射的作用。

刺梨原料丰富, 鄂西山区有丰富的天然野生资源。目前刺梨大多用来榨汁, 用于保健饮料和食品, 陈永宽等^[1]用正己烷提取刺梨汁中挥发性脂肪酸用于卷烟加料, 具有明显增加烟香、改善余味、减轻苦涩味的作用。为了解刺梨提取物的化学成分与其在卷烟中应用效果, 对刺梨提取物的致香成分进行分析, 为进一步开发刺梨在卷烟中的应用提供理论依据。

分析香精香料的致香成分一般选用单一的气相毛细管色谱柱进行分离, 与质谱联用来定性分析, 使用的色谱柱一般有极性和非极性之分。用非极性柱分析的优点是色谱柱温度高、对质谱的污染小, 但缺点是极性较大的物质不适合分离, 峰纯度低, 无法准确定性; 用极性柱可以很好的分离醛、酸、酮类物质, 但由于极性柱的使用温度低, 高沸点的物质不能完全流出。因此单一毛细管柱的分析结果很难真实的反映出样品的致香成分, 尤其是对于刺梨这类复杂的天然植物提取物来说更是困难。鉴于这种情况, 选用极性不同的两支色谱柱分析刺梨提取物的致香成分, 结合感官评吸, 比较分析结果表明, 综合极性柱和非极性柱上分析结果才能相对较好地与感官评吸相吻合, 说明用双柱分析是分析天然植物提取物的一个简单、有效的方法。

1 材料与方法

1.1 材料和仪器

刺梨提取物 (实验室自主提取), DSQII 气相色谱质谱联用仪 (美国 Thorma 公司), 同时蒸馏萃取装置, 喉头喷雾器

二氯甲烷 (色谱纯, Fisher scientific)、无水硫酸钠、乙酸苯乙酯、氯化钠 (分析纯, 国药试剂) 0.45 μm 微孔滤膜

1.2 样品处理与分析

取刺梨提取物 50g, 加入 350mL 纯水和适量的氯化钠, 放入烧瓶中, 进行同时蒸馏萃取 2 小时, 得到 50 mL 二氯甲烷萃取液, 加适量无水硫酸钠干燥, 静置过夜, 浓缩至 1mL, 过 0.45 微米滤膜, 加入

0. 1mg 乙酸苯乙酯, 进行 GC/MS 分析。

经优化的分析条件为:

柱一: VF-5MS 弹性石英毛细管柱 (30m×0.25mm i. d. ×0.25 μm d. f.); 载气为氦气, 流速 1mL/min, 初始柱温 60℃, 保持 2min, 以 10℃/min 的速率升至 250℃, 保持 15min, 电离方式 EI, 电离能 70eV, 离子源温度 250℃, 传输线温度 250℃, 扫描范围 35-450amu。

柱二: VF-innowaxMS 弹性石英毛细管柱 (30m×0.25mm i. d. ×0.25 μm d. f.) 载气为氦气, 流速 1mL/min, 初始柱温 60℃, 保持 2min, 以 10℃/min 的速率升至 230℃, 保持 15min, 电离方式 EI, 电离能 70eV, 离子源温度 250℃, 传输线温度 250℃, 扫描范围 35-550amu。

采用 Wiley 库和 NIST 谱库检索, 人工解析质谱与标准谱^[2]定性, 标准校正法定量。

1.3 刺梨提取物在卷烟中的应用

根据提取物的性质, 将其作为加料香精用于卷烟中, 按照卷烟国家标准 GB5606.4-1996 进行操作。取空白烟丝, 在温度 22±1℃、相对湿度为 60±2% 环境下平衡 48 小时后, 用喉头喷雾器分别均匀喷洒 0.02%、0.04%、0.06%、0.08%、1.0% 的刺梨提取物于烟丝上, 卷制成烟支, 挑选质量在 0.91±0.02g 范围内的烟支, 再在温度 22±1℃、相对湿度为 60±2% 环境下平衡 48 小时后, 以未添加提取物的空白卷烟做对照评吸。

2 结果与讨论

2.1 刺梨提取物在卷烟中的应用评价

感官评吸结果表明, 刺梨提取物用于卷烟中与烟香谐调, 具有增加烟香、柔和烟气、掩盖杂气、降低刺激、生津回甜、改善余味的作用。

当加入量为 0.04-0.06% 时, 刺梨提取物与烟香谐调, 在卷烟中有增加烟香、柔和烟气, 明显改善卷烟口感的作用, 烟气细腻, 柔和, 平滑, 香气量增加, 香气谐调, 入喉干燥和刺激感明显减轻, 余味干净, 舌面无残留。当用量低于 0.04% 时, 香气量略有不足, 当用量高于 0.06% 时, 舌面略有残留, 最佳使用量为 0.05%。

2.2 刺梨提取物双柱分析

2.2.1 定量方法及内标的选择

色谱分析中常用的定量方法有峰面积归一化法、外标法 (标准曲线法)、内标法和内标标准曲线法^[3]。

采用“单一内标校正法”^[4,5] 分别对极性柱和非极性柱检出的组分进行定量分析。选择样品中不存在、在两种极性的色谱柱上都有较好的分离, 且不影响其他组分的物质作为内标, 并假设待测组分的相对校正因子均等于 1, 然后按照普通内标法的计算方法求各组分的含量, 可避免由于部分组分没有流出或未检出所造成的定量误差, 同时解决了无法找到全部组分的标准样品的难题。

在内标物及加入量的选择上, 参照国家局制定的香豆素和黄樟素检测标准, 选用乙酸苯乙酯, 通过回收率实验表明, 该提取物样品中不含有该物质, 在极性柱和非极性柱上都有较好的峰形, 峰纯度较高, 可用作内标物。

2.2.2 非极性柱上分析结果

刺梨提取物样品通过 GC-MS 分析, 得到在 VF-5MS 柱上总离子流图 (图 1), 18.67min 处是内标乙酸苯乙酯的峰, 具体分析结果见表 1。

RT: 0.00 - 58.01 SM: 7G

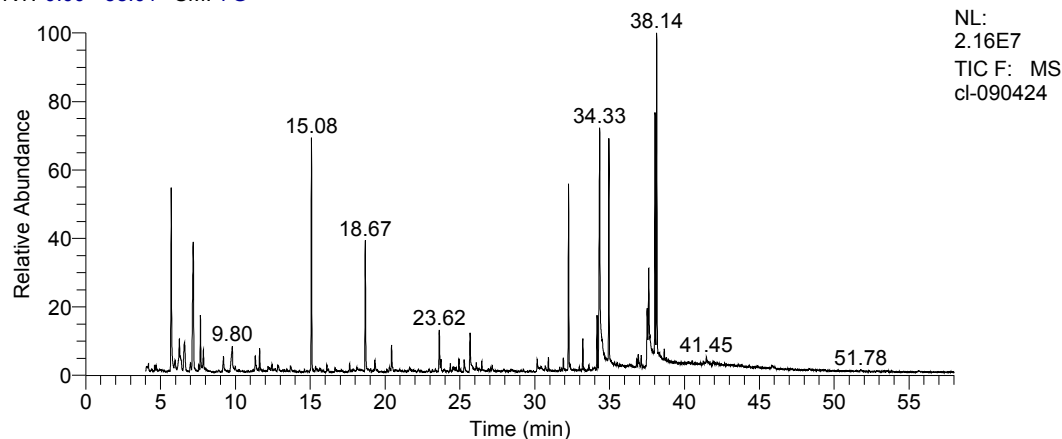


图 1 刺梨提取物在 VF-5MS 柱上的总离子流

表1 刺梨提取物致香成分分析结果^①

序号	VF-5MS 柱 RT (min)	化学名称	非极性柱上 含量 mg/g
1	5.71	3-furaldehyde 3-糠醛	6.31
2	5.97	Isoamyl alcohol 3-甲基-1-丁醇	0.46
3	6.25	Propyl formate 甲酸丙酯	2.09
4	6.61	1, 4-dimethyl-benzene 1, 4-二甲基苯	1.68
5	7.00	Anisyl formate 甲酸茴香酯	0.37
6	7.18	Styrene 苯乙烯	5.95
7	7.66	1-(2-furanyl)-Ethanone 1-(2-呋喃基) 乙酮	1.63
8	7.86	Benzene, methoxy 甲氧基苯	0.72
9	9.19	Benzaldehyde 苯甲醛	0.71
10	9.80	Isobutyl acetate 乙酸异丁酯	1.25
11	11.33	Benzenemethanol 苯甲醇	0.66
12	11.6	Benzeneacetaldehyde 苯乙醛	0.81
13	12.45	1-methoxy-2-ethoxyethyl-1-furan 1-甲氧基-2-乙氧基-1-呋喃	0.30
14	12.84	2-methoxy- Phenol 2-甲氧基苯酚	0.37
15	13.68	Benzeneethanol 苯乙醇	0.83
16	15.08	Benzyl formate 甲酸苄酯	7.42
17	16.11	Linalyl propionate 丙酸芳樟酯	0.28
18	16.64	3-Pyridinecarboxylic acid, ethyl ester 烟酸乙酯	0.26
19	17.63	2-hexanoylfuran 2-己酰呋喃	0.31
20	18.10	Nonanoic acid 壬酸	0.22
21	18.67	Acetic acid, 2-phenylethyl ester 乙酸苯乙酯	5.00
22	19.31	Phenol, 4-ethenyl-2-methoxy- 4-乙基-2-甲氧基苯酚	0.45
23	20.28	Pyridine, 3-(1-methyl-2-pyrrolidinyl)- 3-(1-甲基-2-吡咯烷基)吡啶	0.19
24	20.43	3-Allyl-6-methoxyphenol 3-烯丙基-6-甲氧基苯酚	0.95
25	21.64	2, 6-dimethoxyphenol 2, 6-二甲氧基苯酚	0.23
26	23.62	3-Furanacetic acid, 4-hexyl-2,5-dihydro-2,5-dioxo- 4-己基-2,5-二氢-2,5-双氧 3-呋喃乙酸	1.71
27	24.93	2(4H)-Benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethyl-, (R)- (R)-5,6,7,7a-四氢-4,4,7a-三甲基-, 2(4H)-苯并呋喃 酮	0.43
28	25.68	Dodecanoic acid 月桂酸	1.42
29	26.64	Dodecanoic acid, ethyl ester 月桂酸乙酯	0.27
30	27.16	Megastigmatrienone 巨豆三烯酮	0.29
31	29.92	Vanillin 香草醛	0.89
32	30.15	Tetradecanoic acid 十四酸	0.54
33	30.90	Tetradecanoic acid, ethyl ester 十四酸乙酯	0.42
34	31.90	2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl-	0.48

		6, 10, 14-三甲基 2-十五烷酮	
35	32.35	1, 4-Hexadien-3-one, 5-methyl-1-[2, 6, 6-trimethyl-2, 4-cyclohexadien-1-yl]- 5-甲基-1-[2, 6, 6-三甲基-2, 4-环己二烯-1-yl]-1, 4- 己二烯-3-酮,	6.19
36	33.61	Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester 14-甲基-十五烷酸甲酯	0.80
37	34.33	Hexadecanoic acid 棕榈酸	8.87
38	34.95	Hexadecanoic acid, ethyl ester 棕榈酸乙酯	6.75
39	36.81	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester 9, 12-十八碳二烯酸甲酯	0.31
40	36.92	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester 9, 12, 15-十八碳三烯酸甲酯	0.49
41	38.14	Ethyl linoleate 亚麻油酸乙酯	9.83
42	38.65	Octadecanoic acid, ethyl ester 十八酸乙酯	0.40
43	41.91	9-octadecenamide 9-十八碳烯酰胺	0.66

注：①表中成分含量按 $M_i = C_i A_i V_i \cdot 10^6 / A_{iS} M_{总}$ 计算。式中， M_i 为 1g 萃取物中 i 物质的含量 (μg)； C_i 为内标乙酸苯乙酯的浓度 (0.1mg/mL)； V_i 为加入内标乙酸苯乙酯的体积； A_i 和 A_{iS} 分别为 i 物质和内标的峰面积 ($\text{pA} \cdot \text{min}$)； $M_{总}$ 为所取萃取物的总质量 (g)。

在非极性柱 (VF-5MS) 上对刺梨提取物进行分析，共得到 49 个峰，鉴定出 43 个峰，主要是酯类、醛类，具有柔和烟气、降低刺激的作用。其中巨豆三烯酮、糠醛是烟草本身含有的物质，巨豆三烯酮具有类似于干草样甜香，可增加烟草甜香，使烟气和顺。少量的长链酯类如十四酸乙酯、棕榈酸乙酯及 14-甲基-十五烷酸甲酯等具有圆润烟气的作用。从成分分析结果看，与评吸结果中的柔和烟气、降低刺激比较吻合，但没有能够体现增加烟香、掩盖杂气作用的成分。

2.2.2 极性柱上分析结果

RT: 0.00 - 54.00 SM: 7G

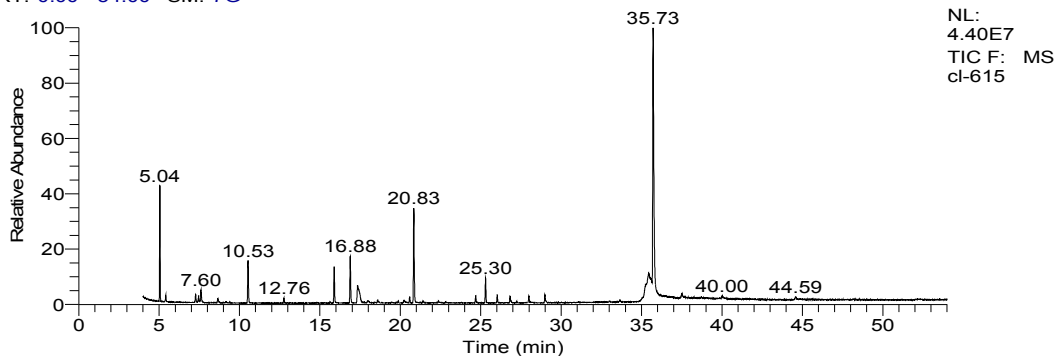


图 2 刺梨提取物在 innowax 柱上的总离子流图

序号	VF-INNOXWAX 柱 RT (min)	化学名称	极性柱上含量 mg/g
	5.04	3-methyl-Butanoic acid 3-甲基丁酸	6.22
	7.45	1, 4-dimethyl-benzenel, 4-二甲基苯	1.35
	7.60	Malic acid 苹果酸	1.03
	9.16	1-pentanol 1-戊醇	0.65
	10.53	Styrene 苯乙烯	4.72
	12.77	Benzene, methoxy 甲氧基苯	0.70
	15.82	Formic acid, methyl ester 甲酸甲酯	2.46
	15.88	3-furaldehyde 3-糠醛	4.78
	16.88	1-(2-furanyl)-Ethanone 1-(2-呋喃基) 乙酮	2.21

17.75	Propanoic acid 丙酸	2.65
18.00	Linalool 芳樟醇	0.51
18.59	2-Furancarboxaldehyde, 5-methyl- 5-甲基-2-糠醛	0.51
19.87	2-methylpentanoic acid 2-甲基-戊酸	0.25
20.22	Benzeneacetaldehyde 苯乙醛	0.76
20.58	2-furanmethanol 2-呋喃甲醇	0.67
20.83	Acetic acid, 2-phenylethyl ester 乙酸苯乙酯	5.00
21.41	Linalyl propionate 丙酸芳樟酯	0.33
21.62	2-methyl-hexanoic acid 2-甲基己酸	0.56
22.37	Anisyl formate 甲酸茴香酯	0.29
22.83	Epoxy linalol 环氧芳樟醇	0.19
24.61	Hexanoic acid 己酸	0.58
24.69	Isobutyl acetate 乙酸异丁酯	1.02
25.30	Butanoic acid 丁酸	1.41
26.02	Benzeneethanol 苯乙醇	0.90
27.99	Phenol 苯酚	0.78
28.99	Octanoic acid 辛酸	0.99
33.00	Nonanoic acid 壬酸	0.26
35.24	2,3,4-Trimethyl-4-hydroxy-1,4-dihydronaphthalenone 2,3,4-三甲基-4-羟基-1,4-二氢萘酮	0.97
35.59	2,6-Diethenyl-4-tert-butylphenol 2,6-二甲基-4-叔丁基苯酚	0.51
35.73	Benzyl formate 甲酸苄酯	10.07
38.14	2(4H)-Benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethyl-, (R)-(R)-5,6,7,7a-四氢-4,4,7a-三甲基-, 2(4H)-苯并呋喃酮	0.39
44.59	Hexadecanoic acid 棕榈酸	0.56
48.14	Hexadecanoic acid, 1-(hydroxymethyl)-1,2-ethanediyl ester 1-羟甲基-1,2-棕榈酸乙二酯	0.19

对色谱图中各峰成分的定性及定量分析见表 2，极性柱 (VF-INNOWAX) 上共出 37 个峰，鉴定出 33 种组分，主要是酸类、醇类和酚类物质，内标物乙酸苯乙酯在 20.83min 出峰。其中丁酸、2-甲基丁酸、己酸等低级脂肪酸，在非极性柱上几乎没有检出，但这些挥发性脂肪酸是烟草中重要的添加剂，它可以增加烟香，改善吸味，使余味醇和而舒适^[1]。芳樟醇和环氧芳樟醇具有浓清香带甜的木香气息，香气柔和，与烟香谐调，可以改进香气，增加清香^[6]。从极性柱上分析结果来看，刺梨提取物具有与烟香谐调，增加烟香，改善余味的作用，缺少柔和烟气、改善余味作用的成分，也只能与感官评吸中的部分结果一致。

2.3 讨论

通过对两支不同极性色谱柱上的比较分析，可以看出：

1、两支色谱柱上有 15 种共有成分，这 15 种成分是刺梨提取物中比较重要的致香成分。3-糠醛可增加具有类似面包的、发酵的、焦糖的香韵；苯乙醛在烟用香精中应用能增强烟香，加强重杏仁香味。苯乙醇具有清甜柔和的玫瑰花和蜂蜜样香气，味似蜜甜玫瑰，清香爽口，可增加卷烟香味的圆熟

和津醇的吸味。1-(2-呋喃基)乙酮用于烟草加香,可增强坚果、烘烤、焦甜香韵。丙酸芳樟酯、烟酸甲酯、都有圆润烟气、降低刺激的作用^[6]。

2、在非极性柱上,10 碳以下的脂肪酸几乎没有检出,而极性柱上则检出多种挥发性酸,这是由于这些酸的极性较强,不适合用非极性柱分离。但这些小分子脂肪酸对改善卷烟吸味起到非常重要的作用,不能忽视。

3、在非极性柱上检出多种长链酯类,而极性柱上只检出一种长链酯,这是因为长链酯类的沸点一般较高,多在 230℃以上,高于极性柱的使用温度而不能流出,另一方面是因为这些酯类的极性较弱,在极性柱上不能得到很好的分离,色谱峰纯度低,无法鉴定。这些酯类也具有圆润烟气、降低刺激的作用。

4、在极性柱上检出芳樟醇和环氧芳樟醇,而非极性柱上则无检出。这两种物质虽然含量不高,但它们具有浓郁的清香带甜的木香气息,香气柔和,与烟香谐调,可以改进香气,增加清香,其作用也不能忽视。

由分析结果表明,用单一的色谱柱检测出的结果只能反映出部分致香成分,也不能完全与评吸结果吻合,将两支不同极性色谱柱的分析结果结合起来,相互补充,则可以很好的与评吸结果吻合,因此这种方法可以用于天然植物提取物致香成分的分析。

3 结论

刺梨提取物用在卷烟中具有增加香气量、降低刺激、改善余味的作用,是一种天然、安全、环保的烟用香料。刺梨提取物中含有烯、醛、酮、有机酸、酯类等致香成分,具有较好的物质基础。

用单一色谱柱对提取物的分析结果只能部分的与评吸结果相吻合。同时使用极性和非极性毛细管柱进行定性分析,结果可以相对客观、全面的反映提取物中的致香成分的状况。

该方法可以用于天然植物提取物致香成分的分析。

参考文献:

- [1] 陈永宽,张虹娟,杨伟祖.刺梨汁中挥发性脂肪酸的提取及其在卷烟加料中的应用[J].烟草科技,1996: 7.
- [2] MCLAFFERTY F W. The wiley/nbs registry of mass spectral data[m].America : A Wiley insterscience publication,1998.1143.
- [3] 谢剑平.烟草香料技术原理及应用 [M].北京:化学工业出版社,2009: 253.
- [4] 刘百战等(高芸,刘百战,朱晓兰等.梅子酚挥发性化学成分的 GC 和 GC/MS 分析[J].色谱,2000,18 (3): 251-253.
- [5] 朱晓兰,刘百战,时亮等.气相色谱-质谱法分析橡苔浸膏中的挥发性化学成分[J].中国烟草学报,2000,6 (1): 46-48.
- [6] 赵铭钦.卷烟调香学[M].北京:科学出版社,2008: 76-77, 197-198.

丁香花蕾油的超临界 CO₂ 萃取及其在卷烟中的应用

王珊¹, 彤霖², 潘婷婷², 王娜², 黄晓伟^{1*}

1. 武汉黄鹤楼香精香料有限公司, 湖北省武汉市东西湖区金山大道 1355 号 430040

2. 湖北中烟工业有限责任公司技术研发中心, 湖北省武汉市汉阳区十升路 430051

摘要: 为开发新的天然烟用香料, 采用超临界 CO₂ 萃取法提取丁香花蕾油, GC/MS 法测定其主要香味成分, 并用丁香花蕾油进行了卷烟加香试验。结果表明: ①丁香花蕾油超临界 CO₂ 萃取与分离的适宜条件是: 萃取温度 50 °C、萃取压力 35 MPa、主泵 30 Hz, 分离釜 I 压力 10 MPa、温度 45 °C, 分离釜 II 压力 5 MPa、温度 25 °C; ②该花蕾油中共鉴定出 21 种香味成分, 主要为丁香酚、乙酸丁香酯、石竹烯等; ③丁香花蕾油具有提调烟香、丰富烟香、改善香气质的作用。丁香花蕾油适合高档卷烟的加香。

关键词: 丁香花蕾油; 超临界 CO₂ 萃取; 气相色谱-质谱

Supercritical CO₂ Extraction of Clove Bud Oil and Its Application in Cigarette

WANG SHAN(1), RONG LIN(2), PAN TING-TING(2), WANG NA(2), HUANG XIAO-WEI*(1)

1. Wuhan Huanghelou Flavors & Fragrances CO., LTD, Wuhan, 430040, China

2. Technology R&D Center of China Tobacco Hubei Industrial CO., LTD, Wuhan, 430051, China

Abstract: The Supercritical extraction-carbon dioxide (SFE-CO₂) conditions of clove bud oil were optimized, and the volatile and sem-volatile components in the oil were analyzed by Gas chromatography/mass spectrometry, and its application in tobacco was researched. The results showed that: ①the best extraction conditions were as below: the extraction temperature 50 °C、the pressure 35 Mpa、the pump 30Hz(the flow of CO₂ is 60kg/h), the separate kettle I temperature 45 °C、the pressure 10 Mpa, the separate kettle II temperature 25 °C、the pressure 5 Mpa; ②21 kinds of volatile and sem-volatile components were identified, the major components in the oil were eugenol, 2-methoxy-4-(2-propenyl) - phenol acetate, caryophyllene, etc. ③clove bud oil was coordinated with tobacco, promoted the smoke of tobacco、enriched the smoke of tobacco、improved the scent.

Keywords: Clove bud oil, Supercritical CO₂ extraction, Gas chromatography/mass spectrometry, Tobacco flavor

丁香亦称丁子香, 桃金娘科、番樱桃属, 为常绿乔木, 可利用部分为干花蕾、茎、叶, 其性温味辛, 入脾、胃、肾三经, 具有温中降逆、补肾助阳之功效^[1]。丁香花蕾油不仅可以用于治疗牙痛, 而且具有较强的杀虫、抑菌和抗氧化作用, 也有驱风、愈创、健胃作用。因其具有特殊而强烈的辛香味, 又广泛应用于食品添加剂、烟草、香味剂等领域, 是一种昂贵而广泛使用的天然香原料^[2]。丁香花蕾油的提取工艺常用的有高温水蒸气蒸馏法或有机溶剂提取法。但这些方法的缺点是精油提取率低, 易于破坏精油中的部分组分及有溶剂残留^[3]。超临界 CO₂ 萃取(SFE-CO₂) 在低温下进行萃取, 无毒、无残留, 因此特别适合于低沸点易挥发和半挥发性物质的分离精制。应用 SFE-CO₂ 法提取丁香花蕾油文献^[3-5, 6] 已进行了探讨, 然而, 这些文献并没有从萃取工艺的优化、萃取物的成分分析, 及其在卷烟中的应用进行过系统研究^[7]。因此, 研究了丁香花蕾油的萃取、主要成分及其在卷烟中的应用效果, 旨在为天然烟用香料的开发与应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

丁香花蕾 (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. Et Perry) (湖北天济医药有限公司); CO₂ 气体 (纯度: 99.5%, 武汉钢铁集团氧气有限责任公司); 95% 乙醇 (食品级, 武汉恒顺香料有限公司); 2008 年湖北生产的 3 元、5 元、10 元红金龙未加香烟丝和 17 元黄鹤楼未加香烟丝 (武汉卷烟厂提供); (10+3) L/50MPa SFE-CO₂ 装置 (杭州华黎泵业有限公司生产); TRACE GC ULTRA-DSQ II 气质联用仪 (美国 Thermo 公司); CP2202S-OCE 电子天平 [感量: 0.001g, 赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司]; F1-130 药物粉碎机 (泰斯特仪器有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 挥发油的超临界 CO₂ 萃取

将丁香花蕾于 50 °C 下干燥 2 h, 粉碎, 过 20 目筛, 粉末装入棕色瓶中。取 500 g 丁香花蕾粗粉, 放入萃取釜中, 调节萃取压力, 萃取温度和分离压力和分离温度, 按图 1 流程进行萃取, 即 CO₂ 气瓶中的 CO₂ 气体进入制冷系统被冷却为液体, CO₂ 液体经加压系统主泵加压和预热 1 成为高压流体进入萃取

釜；调节流体流经萃取釜的压力、流量、温度进行萃取；通过预热 2、预热 3 分别调节进入分离釜 1 和分离釜 2 萃取流体的温度，并通过降压调节各分离釜压力，使萃取物在两分离釜中分离出来，分离后较干净的 CO₂ 气体通过制冷系统再次参加循环。萃取时间 2 h。萃取结束，从两个分离釜中放出丁香花蕾油后，混合，称重，计算得率。

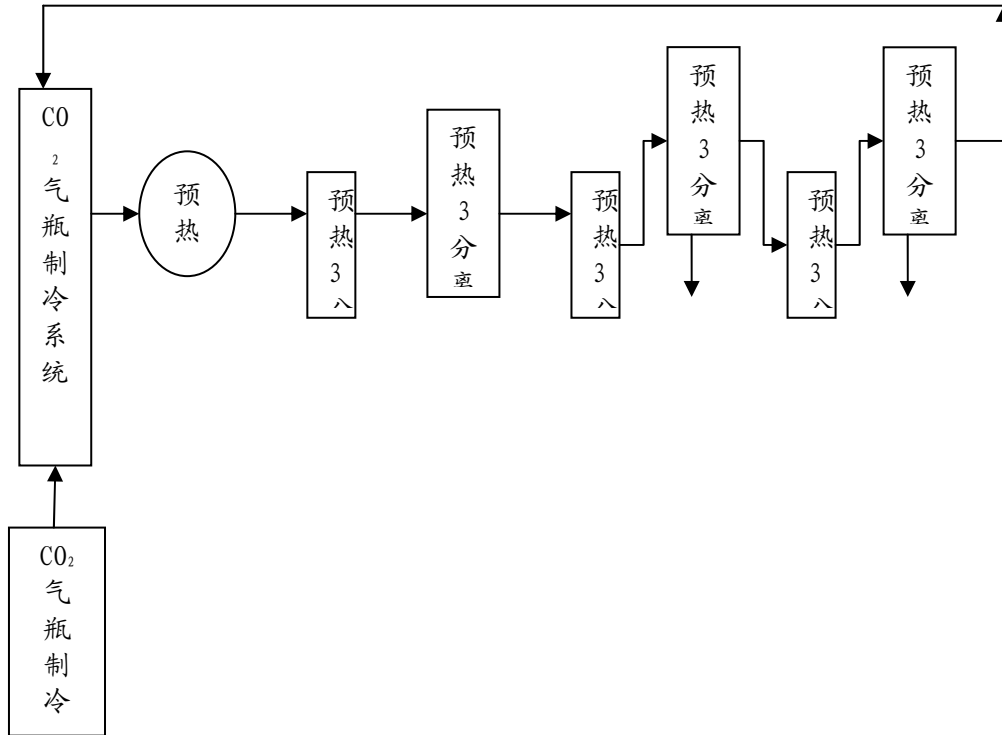


图 1 超临界 CO₂ 萃取流程

1.2.2 挥发油的 GC/MS 分析

1.2.2.1 前处理

将挥发油取一定量，用无水乙醇稀释 500 倍后，用无水硫酸钠处理 24h，再用 0.45μm 微孔滤膜过滤后，装入样品瓶待分析处理。

1.2.2.2 分析条件

色谱柱：HP-5MS(30m×0.25mm i. d. ×0.25 μm d. f) 毛细管柱；进样口温度 250℃；载气：He，流
 $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$
 量 1.0 mL/min；柱前压：60 kPa；程序升温：50℃(1min) $\xrightarrow{10^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ 250℃(10min)；
 进样量：0.5 μL，不分流进样；传输线温度：250℃；离子化方式：EI；离子源温度：220℃；离子
 化能：70 eV；四级杆温度：常温；倍增器电压：1800 V；质量扫描范围：20~650 amu。
 采用 NIST98 谱库检索进行定性，匹配度 ≥85%，认为是可信的。用峰面积归一法定量。

1.2.3 加香与评吸

分别取 0.02 mg、0.04 mg、0.2 mg 丁香花蕾油，各用 5mL95%乙醇稀释后，用喉头喷管分别均匀地喷在已于温度 22℃ ±1℃ 和相对湿度 (RH) 60% ±2% 下平衡 48h 的 40g 烟丝上进行加香，加香后的烟丝样品于温度 22℃ ±1℃ 和 RH60% ±2% 下平衡 48h，用填烟器分别将加香烟丝制成烟支。再在温度 22℃ ±1℃ 和 RH60% ±2% 下平衡 48 h，未加香的对照样为喷洒同量 95%乙醇的同档次烟丝在相同条件处理下卷制的卷烟。

按上述 3 个梯度实验，加香卷烟分别为 3 元、5 元、10 元红金龙未加香烟丝和 17 元黄鹤楼未加香烟丝 4 个档次，并请湖北中烟工业有限公司烟草专业 7 人评吸小组（其中 2 名国家级评吸师，5 名省级评吸师）进行效果评价。选出评价效果中与卷烟协调性较好的样品，在恒温恒湿条件下放置，对其质量的稳定性进行连续三周的复评，每周评价 3 次。

2 结果与讨论

2.1 萃取与分离条件的确定

超临界 CO₂ 流体萃取包括 CO₂ 流体对原料的萃取过程, 以及萃取物从 CO₂ 流体中的分离过程。分离压力、分离温度均对萃取物纯度及得率有较大的影响^[8]。故必须先确定解析分离的条件, 再确定萃取压力、萃取温度、主泵赫兹数(控制 CO₂ 流量)。

2.1.1 分离条件的确定

取 500g 丁香花蕾粗粉, 装入 3L 萃取釜中, 在萃取压力 25MPa, 萃取温度 45℃, 萃取时间 2h 等萃取条件不变的情况下, 考察了分离压力和分离温度对萃取物外观及丁香花蕾油得率的影响, 结果见表 1。由表 1 看出, 1#或 4#试验分离釜 I 和分离釜 II 得到的萃取物均为油性状, 且其丁香花蕾油得率均较高, 尤其是 1#试验. 说明 1#分离条件较适宜。同时, 加香评吸结果表明, 1#丁香花蕾油加香效果较 4#好。因此, 选择 1#的条件进行分离, 即分离釜 I 压力 10MPa, 温度 45℃; 分离釜 II 压力 5MPa, 温度 25℃。

试验编号	分离压力(MPa)		分离温度(℃)		萃取物的外观		丁香花蕾油得率(%)
	分离釜 I	分离釜 II	分离釜 I	分离釜 II	分离釜 I	分离釜 II	
1	10	5	45	25	绿色油状	绿色油状	16.50
2	10	5	40	25	绿色油状	绿色膏状物	10.23
3	10	5	35	25	绿色膏状物	绿色膏状物	—
4	8	5	45	25	绿色油状物	绿色油状物	14.10
5	8	5	40	25	绿色油状物	绿色膏状物	8.12
6	8	5	35	25	绿色膏状物	绿色膏状物	—

表 1 不同分离压力和分离温度对超临界 CO₂ 萃取物外观和丁香花蕾油得率的影响

注: ①得率=油状物重量(g) / 原料重量(g) × 100%; ②“—”未计非油状物的得率。

2.1.2 萃取条件的确定

为选择适宜的萃取条件, 在保持上述分离条件不变的情况下, 按照三因素三水平正交试验设计方案考察了萃取温度、萃取压力和主泵赫兹数 Hz (CO₂ 流量) 对丁香花蕾油得率的影响, 结果见表 2。由表 2 可见: ①在 9 个试验中, 1#试验的丁香花蕾油得率最高, 其试验条件为 A₁B₁C₂; ②R_B > R_A > R_C, 说明温度对丁香花蕾油萃取的影响最大, 其次是压力和主泵赫兹数(CO₂ 流量); ③根据 K₁、K₂、K₃ 选出的最佳萃取条件为 A₁B₁C₂, 恰与 1#试验的条件完全相同, 即萃取温度 50℃, 萃取压力 35MPa, 主泵转速 30Hz。

表 2 丁香花蕾超临界 CO₂ 萃取条件的三因素三水平正交试验结果

试验编号	A [萃取压力 (MPa)]	B [萃取温度 (°C)]	C [主泵赫兹数(Hz)]	萃取得率 (%)
1	A ₁ [35]	B ₁ [50]	C ₂ [30]	18.62
2	A ₁	B ₂ [45]	C ₃ [40]	16.92
3	A ₁	B ₃ [40]	C ₁ [20]	17.06
4	A ₂ [30]	B ₃	C ₁	17.50
5	A ₂	B ₂	C ₂	17.10
6	A ₂	B ₁	C ₃	15.42
7	A ₃ [25]	B ₃	C ₃	16.85
8	A ₃	B ₂	C ₁	16.73
9	A ₃	B ₁	C ₂	15.66
K ₁	52.60	52.97	49.19	
K ₂	50.02	50.75	51.38	
K ₃	49.24	48.14	51.29	
R	3.36	4.83	2.19	

2.2 主要香味成分比较

GC/MS 分析结果 (表 3) 表明, 丁香花蕾油中共鉴定出 21 种香味成分。其中, 酚类占 52.51% (归一化峰面积, 下同), 烯类 27.26%, 酯类 15.43%, 醇类 0.67%, 酸类 0.28% 等。

(1) 酚类主要为丁香酚及少量 4-(2-丙烯基) 苯酚。据报道, 丁香花蕾油主要含有丁香酚、黑胡椒酚等^[9], 本实验测得的主要化学成分与其基本相同, 但黑胡椒酚没有检测到。丁香酚能改进烟草的自然清香和浓郁的香味, 香气飘逸^[9]。

(2) 烯类主要有石竹烯、(3S, 4R)-3-羟基-4-(羟甲基-1-[(4-甲氧基苄基)氧]-6-庚烯、姜烯等。烯类具有一定的还原性, 由此推测加在卷烟中可能起到抗氧化或抑制烟气自由基的作用。其中石竹烯为辛香修饰剂, 能改进和提调烟香的自然风味, 具有香味增效的作用^[10]。

(3) 酯类主要为乙酸丁香酯、3-烯丙基-6-甲氧基苯基醋酸酯、苯(甲)酸苄酯等。酯类能丰富烟香, 使烟叶的香味变得更醇和。

总之, 从挥发性成分看本超临界 CO₂ 萃取的丁香花蕾油可能有丰富烟香, 增加辛香香韵, 使香气更飘逸。

表 3 丁香花蕾油 GC/MS 分析结果

序号	保留时间(min)	英文名	中文名	匹配度	归一化峰面积 (%)
1	2.63	4-(Benzoyloxy)-2H-pyran-3-one	4-(苯甲酰)-二氢吡喃-3-酮	82	0.03
2	19.20	5-Diazo-1,3-cyclopentadiene	5-重氮基-1,3-环戊二烯	84	0.07
3	19.63	Dihydrocarvone	二氢香芹酮	80	0.04
4	21.07	2-Methyl-5-(1-methylethenyl)-2-cyclohexen-1-one	(S)-2-甲基-5-(1-甲基乙烯)-2-环己烯-1-酮	81	0.11
5	21.65	4-(2-Propenyl)phenol	4-(2-丙烯基)苯酚	87	0.14
6	22.52	1-Methoxy-4-(1-propenyl)-benzene	(CAS)1-甲氧基-4-(1-丙烯基)-苯	85	0.06
7	25.05	2-Methoxy-4-(2-propenyl)-phenol	丁香酚	99	52.37
8	25.62	(3S,4R)-3-Hydroxy-4-(hydroxymethyl)-1-[(4-methoxybenzyl)oxy]-hept-6-ene	(3S,4R)-3-羟基-4-(羟甲基-1-[(4-甲氧基苄基)氧]-6-庚烯	85	17.97
9	27.16	Caryophyllene	石竹烯	94	9.10
10	28.11	1,1,5,9-Tetramethyl-cycloundeca-2,6,9-trien	1,1,5,9-四甲基-环十一碳-2,6,9-三亚乙基四胺	86	1.97
11	29.16	Zingiberene	姜烯	91	0.06
12	29.63	3-Allyl-6-methoxyphenyl acetate	3-烯丙基-6-甲氧基苯基醋酸酯	88	0.66
13	29.79	3,6-Dimethyl-2-nitrobenzaldehyde	3,6-二甲基-2-硝基苯甲醛	85	0.04
14	30.19	2-Methoxy-4-(2-propenyl)-acetate phenol	乙酸丁香酯	95	14.72
15	31.95	6-Isopropenyl-4,8a-dimethyl-1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-naphthalen-2-ol	6-异丙稀基-4,8a-二甲基-1,2,3,5,6,7,8,8a-八氢石脑油-2-醇	90	0.57
16	32.73	Caryophyllene oxide	氧化石竹烯	89	0.06

17	34.45	Trans-longipino carveol	反-长松香芹醇	93	0.10
18	37.12	Benzyl benzoate	苯(甲)酸苄酯	89	0.05
19	41.94	Hexadecanoic acid	棕榈酸	93	0.10
20	45.92	(Z,Z)-9,12-Octadecadienoic acid	(Z,Z)-9,12-十八碳二烯酸	90	0.09
21	46.05	9-Octadecenoic acid	(Z)-9-十八碳烯酸	91	0.09

2.3 加香效果

评吸结果(表4)显示:与对照相比,在3元、5元红金龙未加香烟丝中各添加量的评析效果均不是很理想,容易造成外香显露,或有残留;而在10元红金龙、17元黄鹤楼未加香烟丝中添加 0.5×10^{-6} %丁香花蕾油,烟气柔和、香气质改善、烟香丰富、辛香香韵增加。特别是在高档烟丝中添加后,香气飘逸优雅,烟香谐调,且其飘逸优雅的香气符合“黄鹤楼”牌卷烟淡雅的香气品牌风格,说明丁香花蕾油更适合高档卷烟的加香,适宜用量 $0.5-0.8 \times 10^{-6}$ %。

添加 0.5×10^{-6} %丁香花蕾油的中高档和高档卷烟于恒温恒湿条件下放置3周的复评结果与上述放置48h的加香效果基本一致,说明丁香花蕾油的加香效果稳定。

表4 丁香花蕾油对3元红金龙、5元红金龙、10元红金龙和17元黄鹤楼的品质影响

样品添加量($\times 10^{-6}$ g)	评吸结果	
3元红金龙	0	香气透发性较好,香气量不足,有残留,杂气较重
	0.5	烟气柔和,香气香韵增加,略有外香显露,香气显薄,缺乏满足感
	1.0	烟气柔和,香气香韵增加,略有外香显露,香气略显薄
	5.0	略有外香显露,稍微有残留
5元红金龙	0	香气较协调,柔和度较好,有干刺
	0.5	香气质改善,烟香增加,略有外香显露,香气显薄,缺乏满足感
	1.0	烟气柔和,香气香韵增加,略有外香显露,香气略显薄
	5.0	略有外香显露,稍微有残留
10元红金龙	0	香气量较足,青杂气略有,烟气不柔和,透发性较差
	0.5	烟气柔和,香气质改善,烟香丰富,辛香香韵增加
	1.0	烟气柔和,香气质改善,烟香丰富,辛香香韵增加,稍微有残留
	5.0	烟气柔和,香气质改善,烟香丰富,辛香香韵增加,略有外香显露
17元黄鹤楼	0	香气量较大,口感较好,香气飘逸性较差

	0.5	烟气柔和，香气质改善，烟香丰富，辛香香韵增加，香气飘逸优雅
	1.0	烟气柔和，香气质改善，烟香丰富，辛香香韵增加，稍微有残留
	5.0	烟气柔和，香气质改善，烟香丰富，辛香香韵增加，略有外香显露

3 结论

萃取温度 50℃，萃取压力 35MPa，主泵 30Hz，分离釜 I 压力 10 MPa、温度 45 ℃，分离釜 II 压力 5MPa、温度 25℃适合丁香花蕾油的超临界 CO₂ 萃取与分离；丁香花蕾油中主要含有丁香酚、乙酸丁香酯、石竹烯等香味成分，含量约为 76.99%。该花蕾油具有柔和烟气、改善香气质、丰富烟香、增加辛香香韵的作用，且效果稳定，适合高档卷烟的加香。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(第一部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005、3-4。
- [2] 孙宝国, 刘玉平. 食用香料手册[M]. 北京: 中国石化出版社, 2004, 10。
- [3] 刘博, 陈开勋, 陈渭萍. 超临界 CO₂ 萃取丁香花蕾的工艺研究及对萃取物的 GC/MS 分析[J]、香精香料化妆品. 2003(3): 3-4。
- [4] 万丽, 朱梅, 陈斌. 超 I 临界流体萃取-气相色谱法测定丁香药材中丁香酚的含量[J]、第二军医大学学报. 2003, 24(2): 171-172。
- [5] 潘见, 杨克, 张文成. 超临界 CO₂ 萃取天然产物技术及发展[J]. 精细与专用化学品, 2001, 9(14): 8-9。
- [6] REVERCHON E, MARRONE C. Supercritical extraction of clove bud essential oil: Isolation and mathematical modeling[J]. Chem Eng Sci, 1997, 52(20): 3421-3428。
- [7] 张镜澄. 超临界流体萃取[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000、67-68。
- [8] 王鹏、张忠义、吴惠勤. 超临界 CO₂ 萃取连翘挥发物的正交实验和 GC-MS 分析[J]、分析测试学报, 2002, 21(4): 34-36。
- [9] 许建营. 烟草工艺与调香技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000、68-120。
- [10] 张悠金, 金闻博. 烟用香精香料[M]. 合肥: 中国科学技术大学出版社, 1996、132-193。

发酵覆盆子香料的挥发性成分分析

王萍¹, 王娜², 杨俊鹏², 庞登红¹, 喻世涛², 熊国玺^{1,2*}

1. 武汉黄鹤楼香精香料有限公司, 湖北省武汉市东西湖区金山大道 1355 号 430040

3. 湖北中烟工业有限责任公司技术研发中心, 湖北省武汉市汉阳区十升路 430051

摘要: 利用微生物发酵覆盆子开发特色香料, 得到具有丰富水果甜香味的覆盆子香料, 采用同时蒸馏萃取装置收集挥发性成分并用 GC/MS 对生物技术制备的覆盆子香料挥发性成分进行分离和鉴定, 共分离出 43 种成分, 用面积归一化法测定了各种成分的百分含量, 其主要成分为: 芳樟醇类化合物(19.47%); 十六酸乙酯(9.70%); 糠醛(6.60%); 亚油酸乙酯(6.08%)等。

关键词: 覆盆子香料; 发酵; 挥发性成分; GC/MS

Analysis of Volatile Composition in the Perfume of *Rubus chingii* Hu Produced by Fermentation

Wang Ping(1), Wang Na(2), Yang Junpeng(2), Pang Denghong(1), Yu Shitao(2), Xiong Guoxi*(1,2)

1. Wuhan Huanghelou Flavors & Fragrances CO., LTD, Wuhan, 430040, China

2. Technology R&D Center of China Tobacco Hubei Industrial CO., LTD, Wuhan, 430051, China

Abstract: The Perfume of *Rubus chingii* Hu Produced by Fermentation has sweet fruit flavors. They were extracted by simultaneous distillation and extraction equipment (SDE) and indentified by capillary GC/MS method. The isolated 43 contents of constituents were determined by area normalization method. The main volatile compositions were: Linalools (19.47%), Hexadecanoic acid, ethyl ester(9.70%), 2-Furancarboxaldehyde(6.60%), 9,12-Octadecadienoic acid, ethyl

Keywords: Perfume of *Rubus chingii* Hu, fermentation, volatile composition, GC /MS

覆盆子为蔷薇科悬钩子属植物华东覆盆子(*Rubus chingii* Hu) 的干燥未成熟果实^[1], 主产于浙江、福建、四川、陕西、安徽、江西、贵州等地。覆盆子果实富含氨基酸、矿质元素、有机酸和 VE, 可以药用和食用。因其药用价值, 近年来, 也有研究开发出含覆盆子化妆品和覆盆子饮料等, 覆盆子被称为是高营养、高抗性、无污染的绿色新型第 3 代水果。但由于其挥发性物质较少, 对覆盆子化学成分的相关报道侧重其药用成分的研究, 未被作为香料原料进行开发利用。李维林^[2]等用水蒸气蒸馏和乙醚萃取方法结合测定了覆盆子的挥发性成分, 得出水蒸气蒸馏法不适于做覆盆子香料的提取方法。利用微生物法处理覆盆子仅用于覆盆子果酒的酿造^[3], 利用微生物发酵制备覆盆子香料还未见报道。本研究以覆盆子为原料, 经微生物处理得到天然覆盆子香料, 采用同时蒸馏萃取技术和 GC/MS 分析了覆盆子香料中的挥发性成分, 为开发覆盆子香料提供一种有效途径。

1 材料与仪器

1.1 材料与试剂

覆盆子 (Rubus chingii Hu, 浙江, 武汉龙泰饮片提供); 微生物产香菌株 (HHL-019, 自筛); 酵母浸膏、蛋白胨 (北京奥博生物); 葡萄糖、氯化钾、氯化镁、硫酸铵、无水硫酸钠、二氯甲烷 (上海国药);

1.2 仪器与设备

真空干燥器 (美国 Wheat on 公司); SHP-080 型恒温生化培养箱 (上海精宏实验仪器有限公司); YX350Z 电热蒸汽压力灭菌器 (上海三申医疗器械有限公司); DELTA -320 pH 计 (瑞士 METTLER TOLEDO 有限公司); 同时蒸馏萃取装置 (北京欣维尔玻璃仪器有限公司); HH-6 型数显恒温水浴锅 (金坛市富华仪器有限公司); PTHW 型电热套 (巩义市予华仪器有限公司); LR4000/G1 旋转蒸发仪 (德国 Heidolph 公司); SW - CJ 型超净工作台 (苏州安泰空气技术有限公司); THZ - 8A 型恒温振荡器 (常州国华电器有限公司); TRACE GCUltra-DSQ II 气相色谱-质谱联用仪 (美国 Thermo 公司); PL602 - S 分析天平 (精度 0.01g, 瑞士梅特勒-托利多公司)。

2 方法

2.1 覆盆子发酵香料的制备

将覆盆子与纯净水按照 1: 5 的比例提取, 制备发酵液; 将选取的产香菌种接种于斜面菌种活化培养基 (10g 胰化蛋白胨+5g 酵母提取物+10g 氯化钾+20g 琼脂+1000mL 纯净水+20g 琼脂粉, pH 7.0, 于 0.1MPa 下灭菌 20min) 上, 置于恒温培养箱中 37℃ 下培养 24~48h, 将培养好的菌体再接种于发酵种子培养液 (20g 葡萄糖+10g 胰化蛋白胨+5g 酵母粉+5g 氯化钾+1000mL 纯净水, pH7.0, 0.07MPa 下灭菌 20 min) 中, 37℃ 下培养 24~48 h, 得到活化的种子液。

按体积比 1: 100 将活化种子液接种于覆盆子发酵培养基中, 混匀, 于 37°C 下发酵 5d。发酵覆盆子液于 100°C 水浴中放置 15min (灭活), 用 0.8 μm 微孔滤膜过滤, 滤液于 75°C ± 1°C 和真空度 0.08 MPa ± 0.01 MPa 条件下减压浓缩成膏状, 得到发酵覆盆子香料。

2.2 同时蒸馏萃取

将覆盆子发酵香料 25g 放入同时蒸馏萃取装置一端的 500mL 圆底烧瓶中, 加入 250mL 蒸馏水, 用电热套加热套装置的另一端为盛 25mL 二氯甲烷的 100 mL 圆底烧瓶, 用 60°C 水浴加热, 同时蒸馏萃取 3h。二氯甲烷萃取液用无水硫酸钠干燥, 过夜, 过滤, 滤液浓缩至约 1mL, 浓缩液用于 GC/MS 分析。

2.3 香气成分气质分析

GC/MS 分析条件: 色谱柱: HP-5MS (50m × 0.25mm × 0.25 μm) 毛细管柱; 进样温度: 250°C; 不分流进样; 载气: He, 1mL/min; 升温程序: 50°C (1min) 以 5°C/min 升到 250°C (5min); 传输线温度: 270°C; 离子源: EI 源; 电子能量: 70eV; 扫描范围: 50-650amu; 使用 WILEY 谱库和 MINILAB 谱库进行检索, 并结合标准质谱图和有关文献, 确定香气成分, 并用色谱峰面积归一化法定量计算得各香气成分在覆盆子香料中的相对百分含量。

3 结果与讨论

3.1 香气成分气质分析

RT: 0.00 - 58.04 SM: 5G

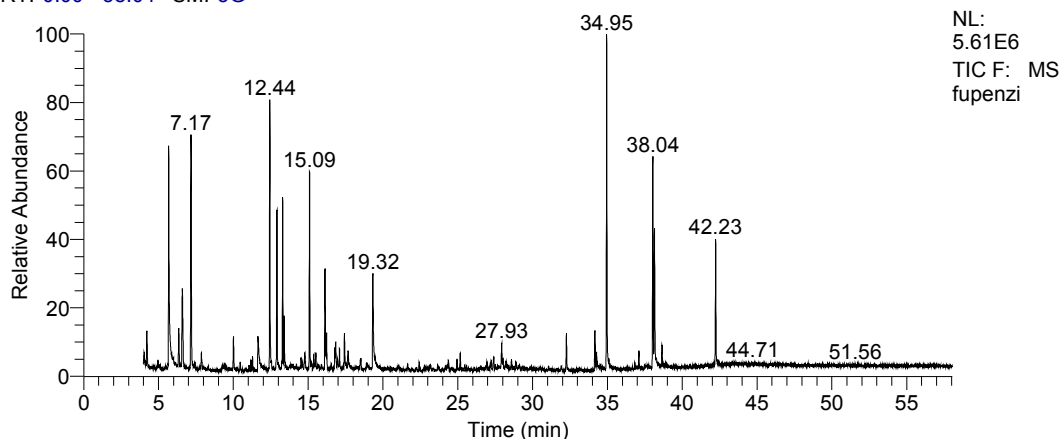


图 1 覆盆子香料总离子流图

经 GC/MS 分析, 总离子流见图 1。使用 WILEY 谱库和 MINILAB 谱库进行检索, 并结合标准质谱图和有关文献, 确定香气成分, 并用色谱峰面积归一化法定量计算得各香气成分在覆盆子香料中的相对百分含量, 分析出 43 种主要物质 (表 1)。其中芳樟醇类物质 4 种, 包括反式芳樟醇氧化物, 芳樟醇氧化物 (2), L-芳樟醇, 脱氢芳樟醇; 酯类 8 种, 包括十六酸乙酯, 亚油酸乙酯, 亚油酸甲酯, 十八酸乙酯, (Z, Z, Z)-9, 12, 15-十八烷三烯酸乙酯, 二氢猕猴桃内酯, 邻苯二甲酸二异丁酯, 邻苯二甲酸丁酯异丁酯; 醛类物质 5 种, 包括糠醛, 苯乙醛, 紫丁香醛 A, 藏红花醛, 1-孟烯醇-9-醛; 醇类物质 6 种, 包括异大香叶烯-D-4-醇, α-松油醇, 3-叔丁基-4-甲氧基环己烷-1-醇, 香叶醇、白木香醇、10-表- ζ -桉叶油醇。

表 1 覆盆子香料香气物质成分分析结果

RT	Name	chinese name	Area %
1	5.67 2-Furancarboxaldehyde (CAS)	糠醛	6.60
2	6.35 Ethylbenzene	乙苯	1.43
3	6.59 Benzene, 1,4-dimethyl- (CAS)	对二甲苯	3.71
4	7.86 Benzene, methoxy- (CAS)	茴香醚	0.60
5	9.43 2H-Pyran, 2-ethenyltetrahydro-2,6,6-trimethyl- (CAS)	2-乙烯基-2,6,6-三甲基四氢-2H-吡喃	0.49
6	10.01 9-Oxabicyclo[4.2.1]non-7-en-3-one	9-环氧双环[4.2.1]壬烷-7-烯-3-酮	1.26
7	10.4 HERBOXIDE SECOND ISOMER	香草氧化物第二异构体	0.39

8	11.2 8	5 1,8-Cineole	1,8-桉叶素	0.45
9	11.6 5	Benzeneacetaldehyde (CAS)	苯乙醛	1.76
10	12.4 4	LINALOOL OXIDE TRANS	反式芳樟醇氧化物	7.27
11	12.9 1	LINALOOL OXIDE (2)	芳樟醇氧化物 (2)	4.59
12	13.2 9	L-LINALOOL	L-芳樟醇	4.80
13	13.3 9	Hotrienol	脱氢芳樟醇	1.82
14	13.8 4	1-Hydroxy-1,7-dimethyl-4-isopropyl- 2,7-cyclodecadiene	异大香叶烯-D-4-醇	0.48
15	14.5 3	Lilac aldehyde A	紫丁香醛 A	0.45
16	14.6 1	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester (CAS)	亚油酸甲酯	0.38
17	14.7 8	Lilac aldehyde A	紫丁香醛 A	0.90
18	15.0 9	Naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro- (CAS)	四氢化萘	5.57
19	15.2 0	Lilac aldehyde A	紫丁香醛 A	0.44
20	15.3 8	LINALOOL OXIDE (2)	芳樟醇氧化物 (2)	0.50
21	15.5 2	LINALOOL OXIDE (2)	芳樟醇氧化物 (2)	0.49
22	16.1 3	3-Cyclohexene-1-methanol, à,à,4-trimethyl-, (S)- (CAS)	α-松油醇	3.09
23	16.2 3	1,3-Cyclohexadiene-1-carboxaldehyde , 2,6,6-trimethyl- (CAS)	藏红花醛	1.16
24	16.7 7	3-Cyclohexene-1-acetaldehyde, à,4-dimethyl- (CAS)	1-孟烯醇-9-醛	0.58
25	16.8 4	3-Cyclohexene-1-acetaldehyde, à,4-dimethyl- (CAS)	1-孟烯醇-9-醛	0.90
26	17.0 9	Bornylene	冰片烯	0.71
27	17.4 2	3, cis-(1,1-dimethylethyl)-4, cis-met hoxycyclohexanol	3-叔丁基-4-甲氧基环 己烷-1-醇	1.32
28	17.6 6	trans-Geraniol	香叶醇	0.81
29	19.3 2	4-vinyl-2-methoxy-phenol	4-乙烯基-2-甲氧基-苯 酚	3.50
30	24.9 4	2(4H)-Benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethy 1-, (R)-	二氢猕猴桃内酯	0.45
31	25.1 7	3-Cyclopentylpropionic acid, heptadecyl ester	3-环戊基丙酸十七酯	0.56
32	27.4	10-epi-ç-eudesmol	10-表-ç-桉叶油醇	0.62

	1			
33	27.9 3	α -BISABOLOXIDE-B	α -红没药醇氧化物-B	1.00
34	28.2 2	cis-Z- α -Bisabolene epoxide	cis-Z- α -红没药烯环氧化物	0.53
35	28.8 6	Baimuxinol	白木香醇	0.38
36	32.2 6	1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester (CAS)	邻苯二甲酸二异丁酯	1.32
37	34.1 6	1,2-Benzenedicarboxylic acid, butyl 2-methylpropyl ester	邻苯二甲酸丁酯异丁酯	1.31
38	34.2 6	Hexadecanoic acid (CAS)	十六酸	0.76
39	34.9 5	Hexadecanoic acid, ethyl ester (CAS)	十六酸乙酯	9.70
40	37.1 1	PHYTOL ISOMER	叶绿醇异构体	0.69
41	38.0 4	9,12-Octadecadienoic acid, ethyl ester	亚油酸乙酯	6.08
42	38.1 5	9,12,15-Octadecatrienoic acid, ethyl ester, (Z,Z,Z)- (CAS)	(Z,Z,Z)-9,12,15-十八烷三烯酸乙酯	4.83
43	38.6 5	Octadecanoic acid, ethyl ester (CAS)	十八酸乙酯	0.79

本文鉴定出 43 种化合物，占峰面积的 90%，与已有报道的未发酵的覆盆子^[4]挥发性物质相比，发酵覆盆子除了含有原有的十六酸乙酯，松油醇之外，芳樟醇类物质较多，达到了 19%，芳樟醇类物质具有水果甜香，玫瑰花香，使得原来沉闷的香味得以透发，构成发酵覆盆子有独特的香气风格。

4 结论

以覆盆子为原料，采用了生物发酵法制备的覆盆子香料，得到的香料具有浓郁的花香和果香，初步估计适合用于烟用香精、饮料香精的调配，并采用同时蒸馏萃取技术和气质联用技术提取分析了发酵覆盆子的挥发性成分，发酵后的覆盆子香料芳樟醇类物质达到 19%，并富有酸类和酯类物质，构成了发酵覆盆子的特征香气，为开发覆盆子香料提供了一条有效途径。

参考文献:

- [1] 柴伟. 覆盆子化学成分和质量标准研究[D], 中国中医科学院, 中国中医科学院中药研究所硕士学位论文, 2008.
- [2] 李维林, 顾姻, 宋长铄等. 悬钩子果实的挥发性成分[J], 植物资源与环境, 1997, 6(2):56-57.
- [3] 麻名汉. 覆盆子发酵酒的加工工艺的研究 [J], 酿酒, 2009, 36(4):64-65.
- [4] 典灵辉, 龚先玲, 蔡春等. 覆盆子挥发油成分的 GC-MS 分析[J], 天津药学, 2005, 17(4): 9-10.

诃子提取物清除自由基活性研究

刘鑫¹, 朱巍^{1,2}, 周湘¹, 陈胜¹, 熊国玺^{1,2*}

1、湖北中烟工业有限责任公司技术研发中心, 湖北省武汉市汉阳区十升路 430051

2、武汉黄鹤楼香精香料有限公司, 湖北省武汉市东西湖区金山大道 1355 号 430040

摘要: 诃子具有明显的抗爱滋病、抑制恶性肿瘤、抑菌以及抗氧化作用, 主要应用在食品和医药领域, 而用于降低卷烟烟气自由基报道很少, 且多为诃子粗提物, 主要成分不明。本实验考察了诃子提取物及其色谱纯化物 (a、b、c) 清除自由基的活性能力, 1,1-二苯基-2-苦肟基 (DPPH·) 清除实验结果表明: 甲醇提取物、乙酸乙酯提取物及其色谱纯化物均具有清除自由基活性, 甲醇粗提物活性略高于等体积 1mg/mL TBHQ, 而其色谱纯样 c 的活性最高, 约为 1mg/mL TBHQ 的 1.2 倍, 且略高于茶多酚; 乙酸乙酯组分色谱纯样 a、b 抑制率分别为其粗提取物的 1.6 和 1.1 倍。色谱纯成分经显色反应、UV 和 H¹NMR 检测后被确认为诃黎勒酸衍生物或诃子单宁水解碎片, 为诃子提取物作为烟用自由清除剂提供了有效的理论依据。

关键词: 诃子; 1,1-二苯基-2-苦肟基; 诃子单宁; 自由基清除剂

Studies on Reducing Free Radicals with *Terminalia Chebula* Extracts

Liu Xin(1), Zhu Wei(1,2), Zhou Xiang(1), Chen Sheng(1), Xiong Guo-xi*(1,2)

1. Technology R&D Center of China Tobacco Hubei Industrial CO., LTD, Wuhan, 430051, China

2. Wuhan Huanghelou Flavors & Fragrances CO., LTD, Wuhan, 430040, China

Abstract: Terminalia Chebula has obvious anti-AIDS, inhibit cancer, antibacterial and anti-oxidation, it mainly used in food and pharmaceutical fields. The infection of Terminalia Chebula in Cigarette Smoke and its applications in cigarettes were rarely reported, and the extracts of Terminalia Chebula mainly components is unknown. In this experiment the free-radical-scavenging activity of different groups from Terminalia Chebula were researched. The results showed that all extracts of Terminalia Chebula and three chromatographically purified components had strong DPPH· scavenging effects. The methanol extract in 1mg/mL showed that it had better free-radical-scavenging activity than that of TBHQ and its chromatographically purified component C showed the strongest activity among all samples. Its activity was a little stronger than that of tea polyphenol, as 1.2 folds of TBHQ's. The activities of two chromatographically purified components from ethyl acetate extract were 1.6 and 1.1 folds as the original respectively. By color test, UV and H¹NMR all of the purified components were confirmed to be the derivatives of myrobalani-tannin or their hydrolyzed segments. The extracts of Terminalia Chebula as free-radical-scavenging of tobacco provided an effective theoretical basis.

key words: Terminalia Chebula, DPPH, Myrobalani-Tannin, Free Radicals Scavenging

近年来有关吸烟和健康的研究结果表明, 卷烟烟气自由基可直接损伤机体内细胞和酶等物质, 并与 DNA 结合使细胞转化而产生突变; 其间接毒性是可在体内激活和产生大量活性更高毒性更大的其他自由基, 如超氧自由基和羟基自由基, 从而导致多种病变^[1]。目前, 合成抗氧化剂往往有毒副作用, 它们逐步被取代是大势所趋。因此, 开发出高效无毒的天然自由基清除剂应用于卷烟制品, 对于降低吸烟的危害具有十分重要的意义。诃子系君子科植物诃子树 (*Terminalia Chebula*) 的果实, 原产印、缅等国, 在西藏、云南等省区均有分布。《药性论》记载其“味酸涩、温无毒”, 有敛肺、涩肠、下气之功效。药理试验表明, 诃子具有明显的抗爱滋病、抑制恶性肿瘤、抑菌等作用, 它含有丰富的鞣质, 约为 30~40%^[2], 而诃子鞣质具有良好的抗氧化功能^[3,4,5,6]。诃子在医药及油脂抗氧化方面的研究较多, 而对降低香烟烟气自由基含量的应用报道较少^[7,8], 且多为粗提物, 作用成分不明。本文对诃子提取物进行色谱纯化, 并通过显色反应、UV 和 H¹NMR 检测后确认其清除自由基的活性物质主要为诃黎勒酸衍生物或诃子单宁水解碎片等, 为诃子提取物作为烟用自由清除剂提供了有效的理论依据。

1 实验材料与方法

1.1 材料和试剂

诃子 购于中药城 DPPH· 购于 Sigma-Aldrich 公司。其余试剂均为国产分析纯。

1.2 主要仪器及设备

721 紫外可见分光光度计; ZF-C 三用紫外分光计; TGL-18C 高速台式离心机; HG101-1B 电热鼓风干燥箱; 2110 Fraction collector 离心沉淀器;

1.3 实验方法

1.3.1 诃子中清除自由基活性成分的提取与分离

200g 诃子粉（粉碎至 40 目）以甲醇回流提取两次（固液比 1:6），每次 2h，合并滤液，浓缩至浸膏状，浸膏用乙酸乙酯萃取，萃取液减压浓缩至干，称重，定容并计算得率和浓度。

1.3.2 显色法跟踪试验

根据三氯化铁溶液、茴香醛-硫酸、亚硝酸钾-醋酸溶液、碘酸钾饱和溶液、 α -萘酚等显色试验[9]来判断其主要成分类别。

1.3.3 DPPH·法活性跟踪试验[10]

将提取物(分别以提取剂为溶剂)、茶多酚和 TBHQ(以甲醇为溶剂)分别配成 5 个浓度梯度溶液。再将 DPPH 用各对应溶剂分别配成 1×10^{-4} mol/L 的溶液 7 份。取 2mL 不同浓度的样品溶液分别加入到 2mL 相对应的 DPPH 溶液中去，总体积 4mL，摇匀，25℃保温 30min，于 517nm 测定吸光值（A 样品）（以 2mL 样液+2mL 对应溶剂混合调零）。2mL 相应溶剂加到 2mLDPPH 液中空白对照，测定空白的吸光值（A 空白）（以 4mL 对应纯溶剂调零）。

计算抑制率公式为：抑制率（%）=（A 空白-A 样品）/A 空白 \times 100%

1.3.4 乙酸乙酯和甲醇组分的色谱纯化

分别对乙酸乙酯和甲醇组分进行硅胶柱层析，从乙酸乙酯组分得色谱纯组分 a 和 b；甲醇组分得到色谱纯组分 c。

1.3.5 色谱纯成分的结构鉴定

对 a、b 和 c 溶液进行显色试验、紫外（UV）和核磁共振法（¹H NMR）进行结构鉴定。

2. 结果与讨论

2.1 浓度和得率计算

按 1.3.1 中所述方法操作，甲醇提取物和乙酸乙酯得率分别为 40.8%和 4.18%。

2.2 甲醇和乙酸乙酯提取物的活性跟踪

2.2.1 显色反应跟踪

提取物组分显色试验结果见表 1：

表 1 两组分显色试验结果

	三氯化铁	茴香醛-硫酸	亚硝酸钾-醋酸	碘酸钾	α -萘酚	成分判断
乙酸乙酯	浅蓝黑色	—	红转黄褐	红转褐色	深紫色环	多种水解单宁和低聚合度的缩合单宁
甲醇	浅蓝黑色	—	黄色	红转褐色	深紫红色环	成分复杂

注：“—”表示显色反应呈阴性。

2.2.2 DPPH·法活性跟踪

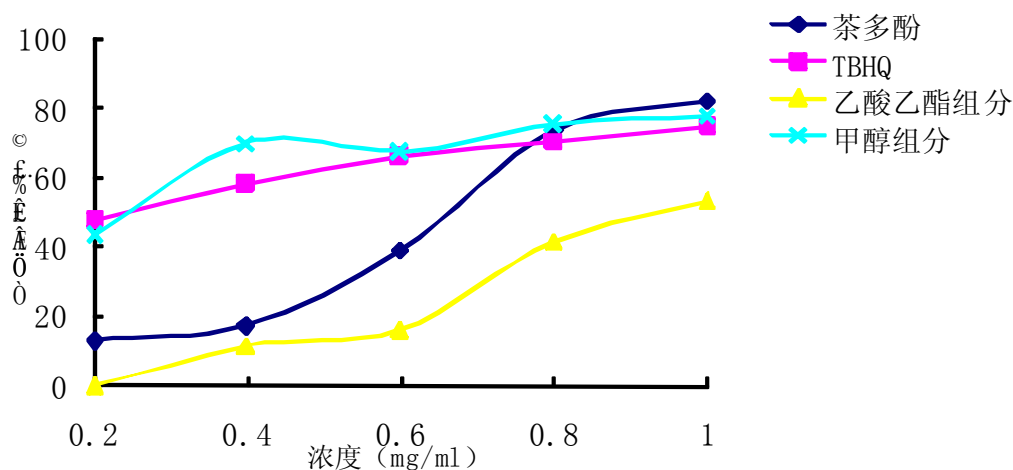
采用 1.3.3 的方法测定不同浓度下的 A 值，并计算其抑制率，结果如表 2 所示，并绘制其抑制率曲线图。

观察抑制率曲线发现：（1）TBHQ 和甲醇组分的抑制率较高，但随浓度升高数值变化不大，即对自由基的清除效果的量效关系并不明显。（2）茶多酚和乙酸乙酯组分呈上升状，表明其活性与浓度成正比关系，但乙酸乙酯组分清除自由基的活性弱于茶多酚。

表 2 不同样品各浓度下的抑制率表

	0.2mg/mL	0.4mg/mL	0.6mg/mL	0.8mg/mL	1.0mg/mL
茶多酚	13.04	17.39	39.13	73.91	82.61

TBHQ	47.90	58.33	66.17	70.80	75.00
乙酸乙酯组分	0.47	11.63	16.22	41.86	53.49
甲醇组分	43.24	70.27	67.58	75.68	78.38



2.3 乙酸乙酯和甲醇组分的色谱纯化

据 1.3.5 的试验, 乙酸乙酯和甲醇提取物均呈现不同程度的蓝绿色, 说明均含有多酚类物质, 进一步对乙酸乙酯和甲醇进行硅胶柱层析。柱层析纯化过程中, 采用薄层分析板三氯化铁显色跟踪, 最后得色谱纯两个纯组分, 重量分别为 2.689g 和 0.026g, 用甲醇分别定容到 50mL 后, 浓度各为 53.79g/L 和 0.52g/L, 分别命名为样 a 和 b。甲醇组分色谱纯化后重 0.385g, 用甲醇定容 50mL, 其浓度为 7.04g/L, 命名为样 c。

2.4 三个色谱纯样品清除自由基活性检测和化学成分定性鉴定

2.4.1 显色法定性鉴定

滤纸层析和 α -萘酚法对色谱纯组分 a, b, c 显色, 其结果如表 3 和图 2 所示:

表 3 色谱纯组分 a, b, c 的显色情况表

	FeCl ₃	茴香醛-硫酸	亚硝酸钾醋酸	碘酸钾饱	α -萘酚
a	蓝色	—	褐色	红转褐色	紫红环
b	绿色	—	—	浅红色	红棕色沉淀
c	蓝色	—	褐色	红转褐色, 拖尾严重	紫红色的环

注: “—”表示显色反应呈阴性。

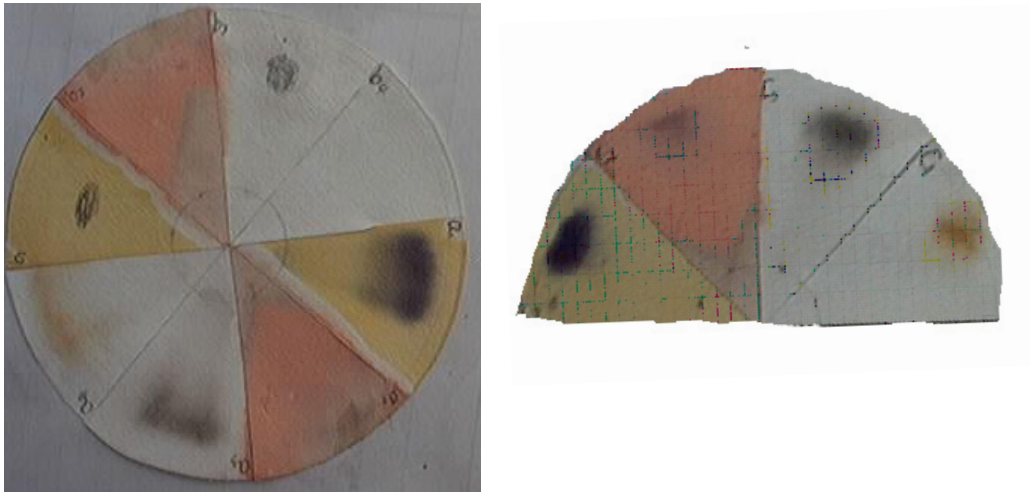


图 2 色谱纯组分滤纸层析样图

注：其中下标 1, 2, 3, 4 分别表示：三氯化铁、茴香醛-硫酸、亚硝酸钾-醋酸溶液、碘酸钾饱和溶液的显色情况。

条形纸层析在 BAW 和 6%的冰乙酸中展开，并在紫外灯 254nm 下观察，其显色结果见表 4：

表 4 条形纸层析显色结果

样液展开剂	a	b	c
BAW 的上层	Rf 0.65, 天蓝色, 条状	Rf 0.66, 浅蓝色	Rf 0.42, 紫色到深蓝色
6%醋酸	Rf 0.43, 淡红色	Rf 0.42, 淡红色	Rf 0.12, 淡红色锥形斑

综合表 5,6 的显色结果，可以推断样 a 属水解单宁中的棓单宁，是多个棓酸与邻苯三酚型酚羟基醇形成的六羟基联苯二酸酯；样 b 为缩合单宁，由于含有邻苯二酚的单宁在三氯化铁溶液显色下才呈绿色，它是羟基黄烷类单体形成的缩合物，单体间以碳-碳键连接，遇浓硫酸生成暗红棕色沉淀；样 c 的纸层析在紫外灯 254nm 下观察呈紫色[11]，在 BAW 的上层和 6%的醋酸中它们的 Rf 值分别为 0.42 和 0.12，这与葡萄糖棓酸酯在紫外光下的呈色以及纸色谱上以 BAW 为展开剂的比移值 (Rf) 大体相近，至于 6%的醋酸为展开剂时,其 Rf 值随分子中棓酰基的个数增加而下降。根据上述推测,它的结构应为 1-β, 2, 3, 4, 6-五-O-棓酰-β-D-吡喃葡萄糖。

2.4.2 紫外(UV)和核磁(NMR)结构测定结果

从紫外图谱上观察，a 样的 UV (MeOH) 的波峰：219nm、202.5nm、275nm, b 样 UV (MeOH) 的波峰：200nm、220nm, c 样的 UV (MeOH) 的波峰:274nm、205nm、222.5nm。根据参考文献“诃子中主要可水解单宁的结构鉴定”中的数据，a 样与诃黎勒酸的波峰相对应，可大概判断为诃黎勒酸。b 样和 c 样的紫外波峰数据没有记载，但 b 和 c 的显色反应表明它们具有诃子单宁的特征，结合核磁图谱（见附图）分析推测,它们属诃子大家庭中的一员，是诃黎勒酸的变体或诃子单宁的水解碎片。组分 b 和 c 的推测结构见图 3 和图 4。

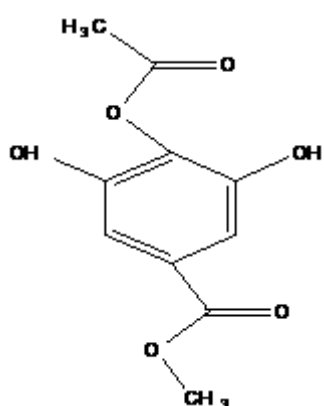


图3 核磁图谱推测 b 组分结构

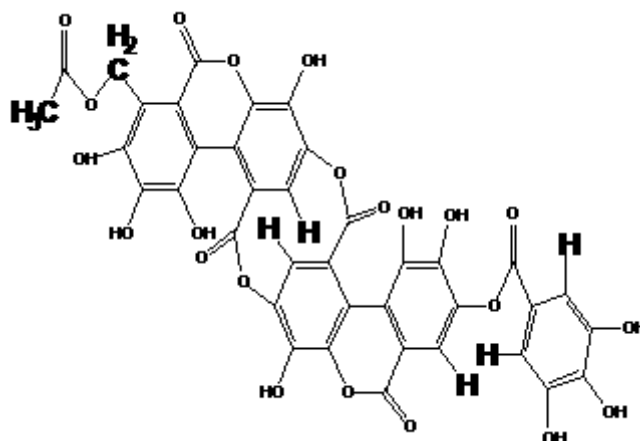


图4 核磁图谱推测 c 组分结构

2.4.3 三个色谱纯样品抑制 DPPH•活性的检测结果

对样 a, b, c 活性的测定结果列于表 5 并绘制曲线展示于图 5。

表 5 色谱样 a, b, c 各浓度下的抑制率

	0.2mg/mL	0.4mg/mL	0.6mg/mL	0.8mg/mL	1.0mg/mL
茶多酚	13.04	17.39	39.13	73.91	82.61
TBHQ	47.9	58.33	66.17	70.80	75.00
a	42.6	60.00	72.50	86.00	74.00
b	17.8	21.4	27.0	40.7	59.1
c	44	54.7	67.5	76	86.49

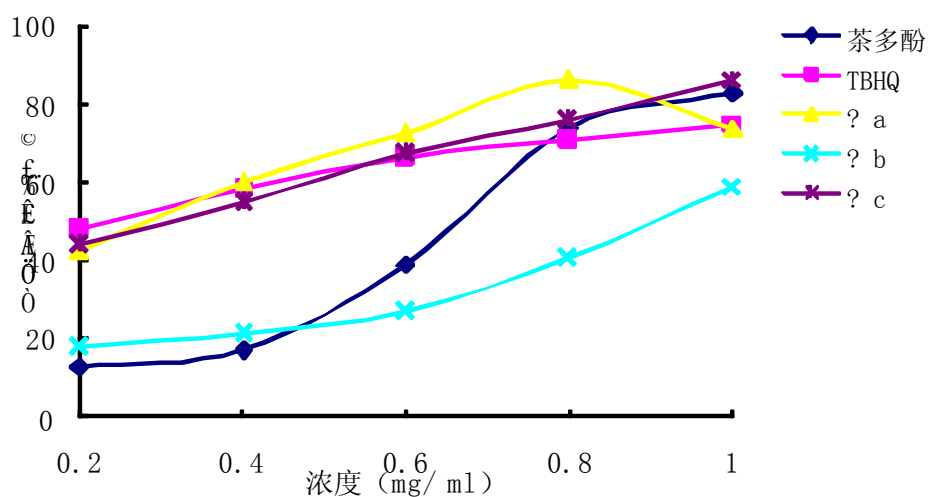


图 5 各色谱纯组分以及茶多酚、TBHQ 对 DPPH• 的抑制活性

试验结果表明, 纯化后 a, b, c 样的清除 DPPH• 自由基的效果有了明显的提高, a, b 样的最大抑制率分别为其所在乙酸乙酯粗提取物的 1.6 倍和 1.1 倍, c 样的最大抑制率为其所在甲醇粗提取物的 1.1 倍, 其中清除效果最好的 c 样比茶多酚还好, 同时是 TBHQ 的 1.2 倍。

3 结论与展望

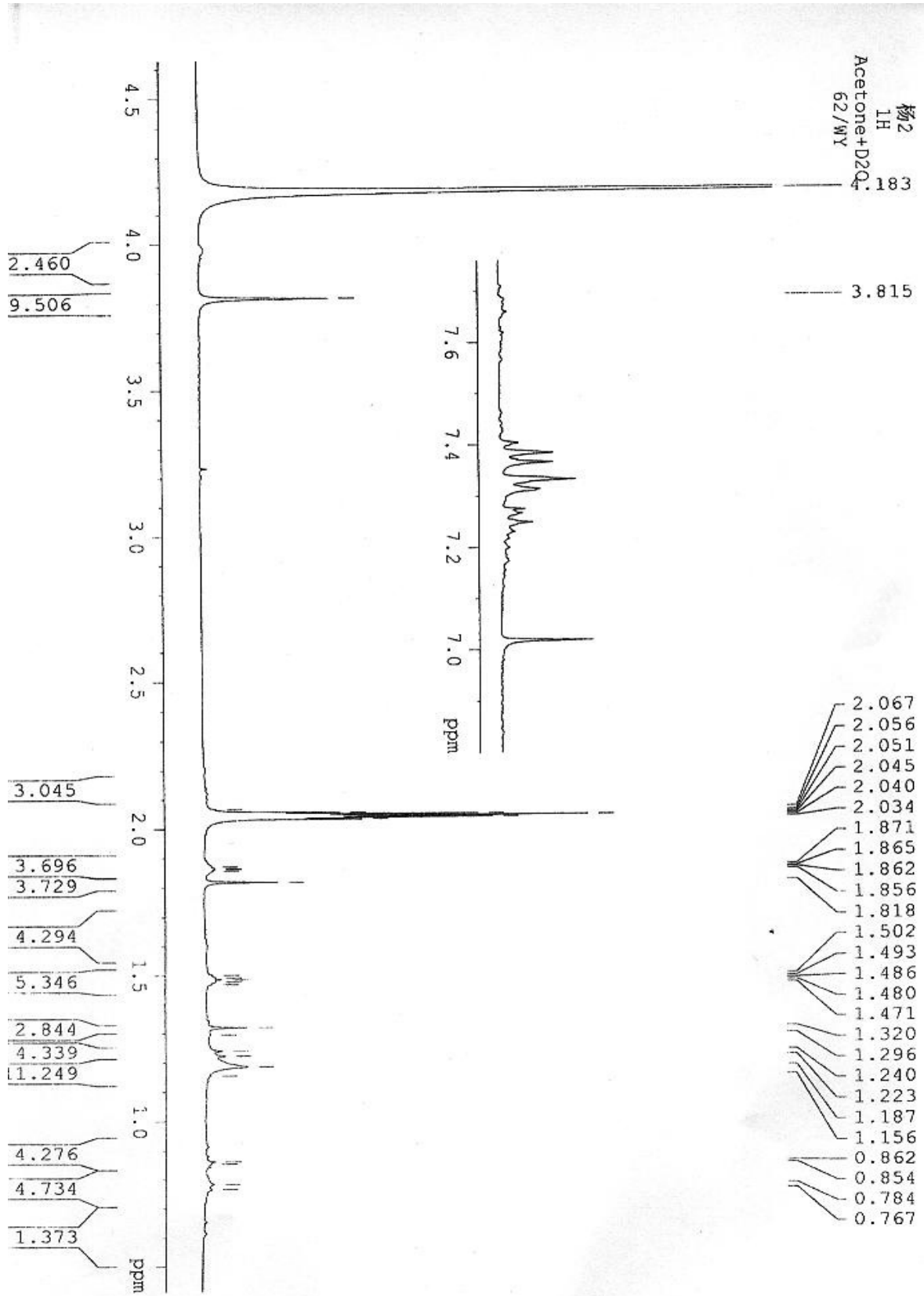
诃子甲醇提取物和乙酸乙酯提取物，对清除自由基都具有一定的效果，两者纯化后 a、b、c 样最大抑制率分别为其所在提取物的 1.6、1.1 和 1.1 倍，主要含有鞣单宁、鞣花单宁及水解单宁碎片等多酚类物质。

降焦减害是世界烟草科技的发展方向，开发“低危害、低自由基的安全型”卷烟既是对行业发展的考虑，更是对吸烟安全性的考虑。目前抗氧化剂清除卷烟自由基在行业内的研究备受关注，在天然、环保、回归大自然的热潮中，天然抗氧化剂备受青睐。本实验对诃子进行提取和色谱纯化，并以化合物结构类型跟踪（显色法）和清除自由基活性跟踪（DPPH·法）整个过程，并用紫外、核磁共振等手段确定了色谱纯化组分的化学结构，结果显示诃子提取物与目前备受关注的茶多酚的清除能力相当，是一种优良的天然自由基清除剂，且诃子资源丰富，这就为开发和利用诃子提取物作为烟用自由清除剂提供了有效的理论依据。

参考文献：

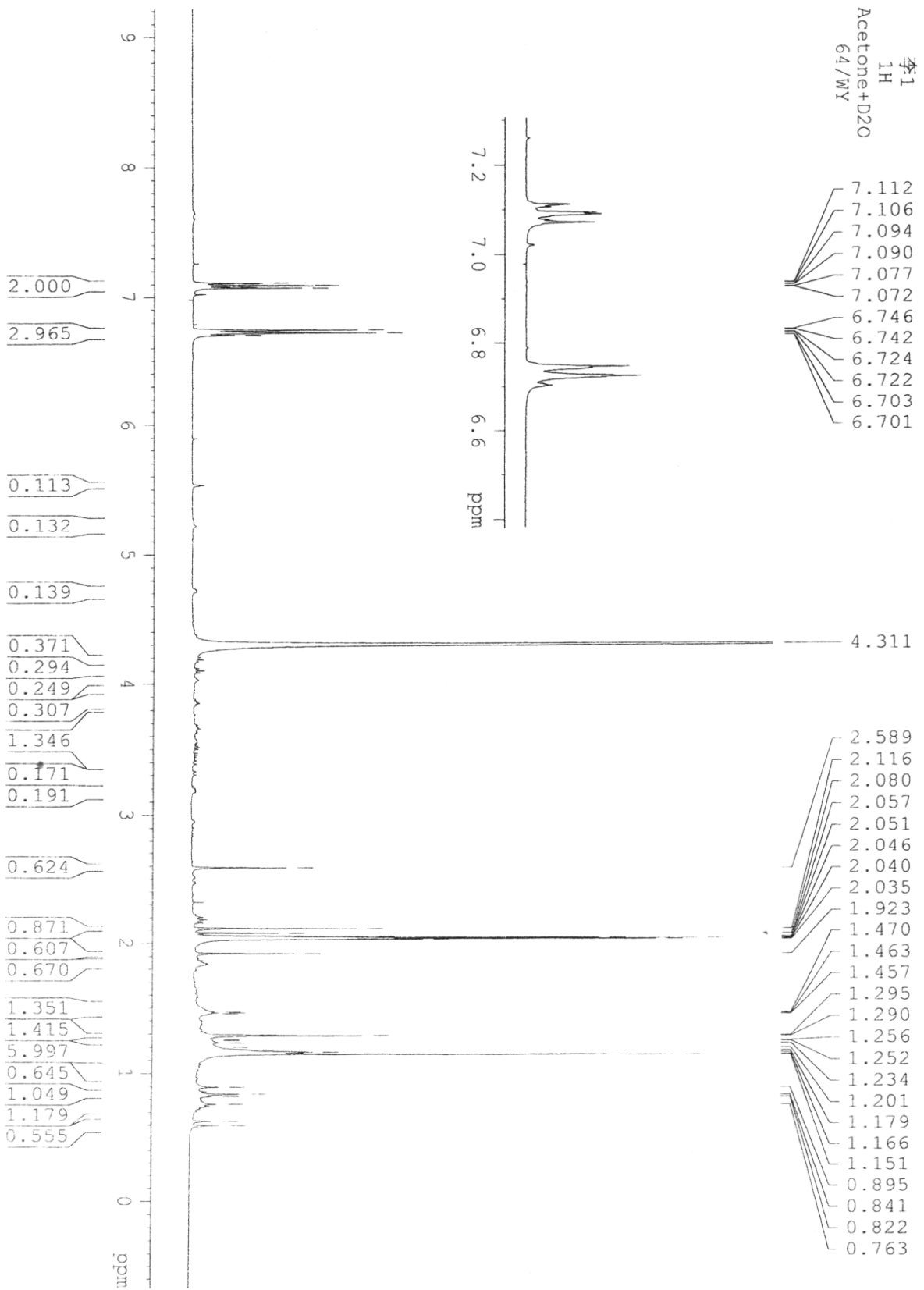
- [1] 刘晓瑞, 俞仲毅. 从自由基理论解释吸烟危害. 中国老年学杂志[J], 2007, 27 (1): 97-98.
- [2] 丁岗, 刘延泽, 王莉等. 诃子中主要可水解丹宁的结构鉴定. 中国药科大学学报[J], 2001. 32(3):91-93.
- [3] 张海龙, 华会明等. 诃子化学成分及药理活性的研究. 沈阳药科大学学报[J], 2001. 6-18.
- [4] 魏安池, 周瑞宝. 诃子抗氧化剂的研究. 中国油脂[J], 1998 .23 (3): 43-45.
- [5] 孟洁, 杭瑚. 诃子抗氧化作用的研究. 食品科学[J], 2000. 21 (2): 9-10.
- [6] 丁岗, 刘延泽, 宋毛平等. 诃子中的多元酚类成分. 中国药科大学学报 2001. 32(3):193-196.
- [7] 毛绍春, 李竹英, 李聪. 诃子提取物降低香烟烟气自由基的应用研究. 现代仪器[J], 2007, (3): 41-43.
- [8] 贝玉祥, 郭英, 范逸平, 高云涛等. 诃子多酚清除活性氧自由基及体外抗氧化作用研究[J]. 云南民族大学学报[J], 2009, 18 (1): 51-54.
- [9] 郑建仙. 功能性食品 (第二卷). 北京: 中国轻工业出版社. 1999. 9.
- [10] 促建等著. 现代有机分析, 天津: 天津科学技术出版社, 1986. 9.
- [11] 王威. 4 种辛辣蔬菜抗氧化活性的研究. 食品与工业发酵[J], 2001(27)5:28-31.

附图一：



b 组分核磁图谱

附图二:



c 组分核磁图谱

酿酒酵母 HHL-1 处理白肋烟制备特色白肋烟浸膏及其在卷烟中的应用

庞登红¹, 王娜², 王萍¹, 周湘², 熊国玺^{1, 2*}

1. 武汉黄鹤楼香精香料有限公司, 湖北省武汉市东西湖区金山大道 1355 号 430040

4. 湖北中烟工业有限责任公司技术研发中心, 湖北省武汉市汉阳区十升路 430051

摘要: 本文利用酿酒酵母 HHL-1 处理白肋烟叶, 制备白肋烟浸膏, 并研究了此浸膏在卷烟中的作用。得到一种产品得率为 24.67%、密度为 1.2953 ± 0.010 (20°C) g/cm^3 、折光值为 1.4573 ± 0.020 (20°C)、酸值为 62.55 ± 0.5 (20°C) 的特色白肋烟浸膏。香气成分分析结果表明, 一共鉴定出 26 种香气成分, 其中有 5 种是特色白肋烟浸膏影响卷烟品质的关键香气成分, 分别是 2-(1-甲基-2-吡啶基)-吡啶(尼古丁)(58.234g/Kg)、降茄二酮(0.129 g/Kg)、新植二烯(0.152 g/Kg)、肉豆蔻酸(0.239 g/Kg)、硬脂酸(0.154 g/Kg)。卷烟评吸结果表明, 特色白肋烟浸膏添加量为 0.05% 时, 其对卷烟的品质提高较大, 其在卷烟中具有增加烟草香和浓度、柔和细腻烟的作用。

关键词: 酿酒酵母 HHL-1; 特色白肋烟浸膏; 成分分析

Burley tobacco extractum made from Burley tobacco extract with *Saccharomyces cerevisiae* HHL-1 and applied in cigarette

PANG Deng-hong(1), WANG Na (2), WANG Ping(1), ZHOU Xiang(2), XIONG Guo-xi* (1, 2)

1. Wuhan Huanghelou Flavors & Fragrances CO., LTD, Wuhan, 430040, China

2. Technology R&D Center of China Tobacco Hubei Industrial CO., LTD, Wuhan, 430051, China

Abstract: The paper is about the technique of how to research and develop a characteristic burley tobacco extractum and the effect of the extractum applied in the cigarette. This characteristic extractum is that the yield is 24.67%, the density is 1.2953 ± 0.010 (20°C) g/cm^3 , the refractive is 1.4573 ± 0.020 (20°C), the acid value is 62.55 ± 0.5 (20°C). The result of GC-MS analysis shows there are 26 odours in all, and five of these are the main aromas applied in cigarette, which are 2-(1-methyl-2-pyrrolidinyl)-Pyridine(58.234g/Kg), NORSOLANADIONE(0.129g/Kg), NEOPHYTADIENE(0.152 g/Kg), Tetradecanoic acid(0.239 g/Kg) and Octadecanoic acid(0.154 g/Kg). The result of smoking analysis of this extractum indicated that it largely improves the cigarette quality, such as the perfume of smoke-like and strength of cigarette were improved, besides, the state of smoke was very softy, when the extract was added to the cigarette by 0.05%.

Keywords: *Saccharomyces cerevisiae* HHL-1, Characteristic burley tobacco extractum, Component analysis

微生物发酵是生物技术的重要组成部分, 它将微生物学、生物化学、化学工程学的基本原理有机地结合起来, 是一门利用微生物的生长代谢活动来生产各种有用物质的工程技术。一般认为, 生物技术方法是模拟天然动植物香料的形成过程, 采取生物技术生产的香精香料可以等同于天然的香精香料。因此通过生物技术开发天然香精香料, 为天然香精香料的生产提供了一个全新的方向。目前, 微生物发酵制备特色烟用香原料是烟用香精香料行业的研究热点。Demain 等^[1]利用微生物合成香兰素等烟用芳香族类风味化合物, 李丹等^[2]利用微生物发酵咖啡制备烟用香料, 朱颖等^[3]利用微生物处理红枣制备红枣酊, 吕品等^[4]利用产香微生物制备特色酸香型可可香料。

白肋烟浸膏是常用的烟用添加剂, 据康武成报道^[5], 白肋烟浸膏用于烟草薄片加香, 提高薄片的色泽、香、吃味, 用于卷烟加香, 增加卷烟烟味浓度、香味、劲头, 吸味改进, 余味舒适, 燃烧性提高, 烟灰由灰色变成白色。我国主要生产烤烟型卷烟, 作为一个白肋烟叶生产大国, 每年剩余了大量白肋烟叶, 因此, 白肋烟浸膏具有重要的经济价值。

卷烟减害降焦的同时, 将导致卷烟抽吸时劲头降低, 难以满足消费者的生理需求, 而白肋烟浸膏中含大量烟碱, 可以有效的弥补卷烟低劲头的不足。

本文将发酵技术引入白肋烟的处理中, 制备特色白肋烟浸膏。通过成分分析, 探索特色白肋烟浸膏特色香气成分, 以期开发一种淡雅醇和的中式卷烟香料单体。

1 实验材料和方法

1.1 实验材料和仪器

实验材料

酿酒酵母 HHL-1 (中国典型培养物保藏中心 CCTCCNO:M209272), 白肋烟叶 (武汉卷烟厂), 2-(1-甲基-2-吡啶基)-吡啶、降茄二酮、新植二烯、肉豆蔻酸、硬脂酸 (色谱纯, SIGMA)。

1.1.2 仪器

TRACE GC Ultra-DSQ II 型气-质联用仪 (美国热电科技有限公司), TRACE GC Ultra (美国热电科技有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 酿酒酵母处理白肋烟制备特色白肋烟浸膏的制备方法

酿酒酵母处理白肋烟制备特色白肋烟浸膏的制备工艺如图 1, 其中, 回流提取的物料比为 1: 6, 发酵条件为: 乙酸添加量为 0.02%, 葡萄糖添加量为 1.0%, 酿酒酵母的接种量为 1.0%, 发酵温度为 25℃, 发酵时间为 7 天。

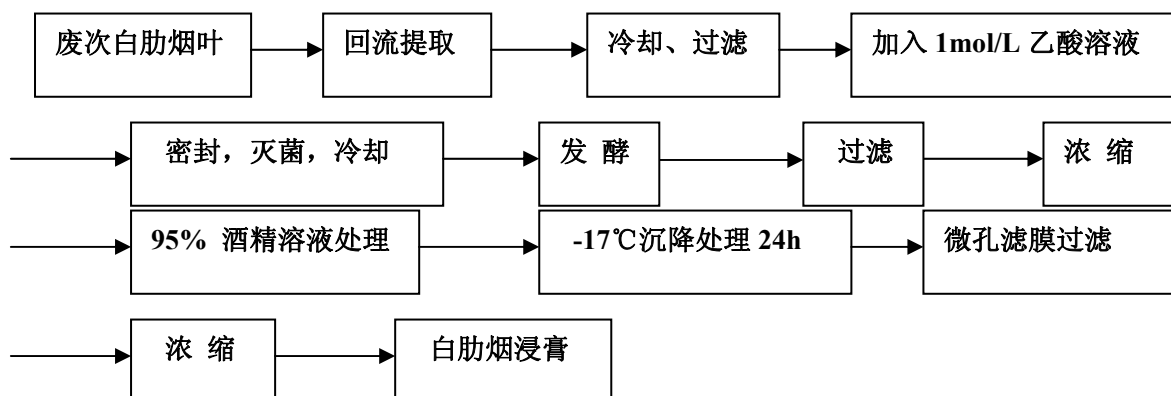


图 1 酿酒酵母处理白肋烟提取物制备白肋烟浸膏工艺流程

Figure 1 The craft of burley tobacco extractum made from burley tobacco extract with *Saccharomyces cerevisiae*

1.2.2 定性成分分析

1.2.2.1 同时蒸馏萃取

将特色白肋烟浸膏进行同时蒸馏萃取, 萃取结束后, 向二氯甲烷萃取液中加入无水硫酸钠, 放置过夜。过滤并浓缩至 1 ml, 浓缩液用于进行 GC-MS 分析。设所有检测出的物质相对于内标的校正因子为 1 [6], 采用相对定量的方法计算各致香成分的含量。

1.2.2.2 气质分析

GC/MS 条件 色谱柱: HP-5MS (50m×0.25mm×0.25 μm) 毛细管柱; 进样温度: 250℃; 不分流进样; 载气: He, 1ml/min; 升温程序: 从 50℃ (1min) 以 6℃/min 升到 250℃ (5min); 传输线温度: 235℃; 离子源: EI 源; 电子能量: 70eV; 扫描范围: 50-650amu; 使用 WILEY 和 MINILAB 谱库进行检索。

1.2.3 特色白肋烟浸膏主要致香成分定量分析

定量分析对卷烟香气和吸味影响较大的 5 种香味物质 (2-(1-甲基-2-吡啶基)-吡啶、降茄二酮、新植二烯、肉豆蔻酸、硬脂酸), 采用内标法标准曲线定量。没有标样的, 假定其相对校正因子为 1 (许国旺, 2004), 回收率为 100%, 并采用下式进行计算:

$$M_i = \frac{A_i}{A_s \cdot F' \cdot M_s}$$

式中: M_i —i 物质的质量; M_s —内标物的质量; A_i —i 物质的峰面积; A_s —内标物的峰面积。 $F_i = M_i / A_i$; $F_s = M_s / A_s$; $F' = F_i / F_s$; F_i —i 物质的绝对校正因子; F_s —内标物的绝对校正因子; F' —相对校正因子。

1.2.3.1 工作曲线的制备与检测限

以二氯甲烷为溶剂, 将各标样化合物 (2-(1-甲基-2-吡啶基)-吡啶、降茄二酮、新植二烯、肉豆蔻

酸、硬脂酸)配制成5个不同浓度混合物的标准溶液,在10 mL标准溶液中加入1 mL(4 mg/mL)乙酸苯乙酯(内标)溶液,分别进行GC分析,并对各标样与内标的峰面积与相应标样的质量进行回归分析,从而求出各种香味成分线性方程及相关系数。在测定范围内,各成分的相关系数在0.9986~0.9997之间,表明工作曲线的线性较好。

1.2.3.2 气相分析条件

色谱柱:199091N-133 innowax(30 m×0.25 mm i.d.×0.25 μm d.f.)毛细管柱;载气:N₂;流速:1.0 ml/min;进样口温度:230℃;进样量:1 μl;进样方式:不分流进样;检测器(FID)温度:280℃;燃料气:H₂,40 mL/min;空气,450 mL/min;升温程序:起始温度50℃,保持1 min,10℃/min升到235℃,保持20 min。

1.2.4 特色白肋烟浸膏的评吸评价

准确称取0.04g、0.2g和0.4g特色白肋烟浸膏(空白不加),分别配置成1.60g水溶液,用喉头喷雾器均匀喷洒于40g五元空白烟丝(武汉卷烟厂),装入封口袋,吹气使封口袋鼓起,将袋口封住,放在烘箱中60℃烘0.5h,打烟给专业评吸人员评吸^[7]。

2 结果

2.1 特色白肋烟浸膏产品参数

按照1.2.1工艺制备的特色白肋烟浸膏其产品质量参数如表1,其产品得率为24.67%,密度为1.2453±0.010(20℃)g/cm³,折光值为1.4573±0.020(20℃),酸值为62.55±0.5(20℃)。

表1 特色白肋烟浸膏产品质量参数

得率 (%)	密度 (g/cm ³)	折光	酸值
24.67%	1.2953±0.010 (20℃)	1.4573±0.020 (20℃)	62.55±0.5 (20℃)

2、特色白肋烟浸膏香气成分定性分析

按照1.2.2方法对特色白肋烟浸膏进行定性分析,其总离子流图如图1,香气成分分析结果如表2。

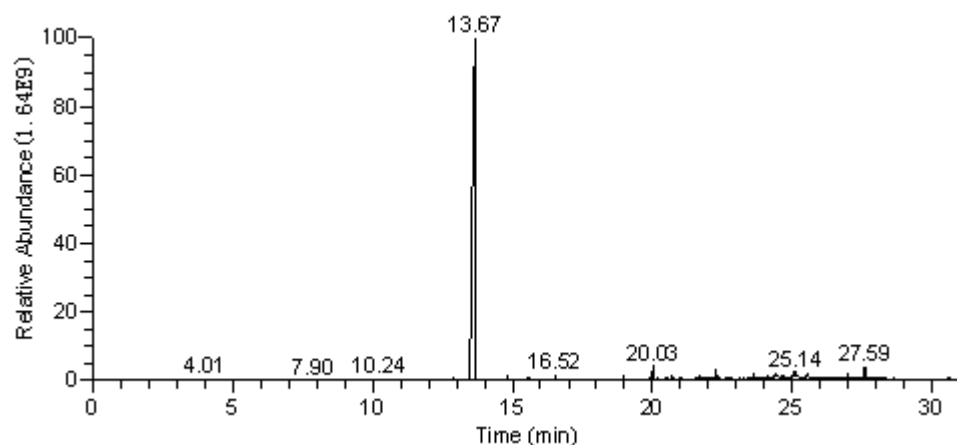


图2 特色白肋烟浸膏气质分析总离子流图

Figure 2 TIC of characteristic burley tobacco extractum

表 2 特色白肋烟浸膏气质分析结果

Table 2 The GC MS analysis result of characteristic burley tobacco extractum

序号	保留时间	英文名	中文名	匹配度	相对含量 (%)
1	10.24	2H-Pyrrol-2-one, 1,5-dihydro-1-methyl-	1,5-二氢-1-甲基-2H-吡咯-2-酮	72.96	0.17
2	12.88	Benzeneacetic acid	苯乙酸	67.93	0.24
3	13.67	Pyridine, 2-(1-methyl-2-pyrrolidinyl)-	2-(1-甲基-2-吡啶基)-吡啶	97.84	85.58
4	14.82	Pyridine, 3-(3,4-dihydro-2H-pyrrol-5-yl)-	3-(3,4-二氢-2-吡啶基)-吡啶	79.77	0.31
5	15.58	NORSOLANADIONE	降茄二酮	87.11	0.25
6	16.52	2,3'-Dipyridyl	2,3'-联吡啶	63.30	0.52
7	18.96	Cotinine	可替宁	89.60	0.37
8	19.64	Tetradecanoic acid	肉豆蔻酸	78.36	0.12
9	20.03	2-ethenyl-4,5-(methylenedioxy) benzaldehyde	2-乙基-4,5-次甲二氧基-苯甲醛	88.56	1.30
10	20.55	1-acetyl-2-pyridinyl-2,3,4,5-tetrahydropyrrole	1-乙酰基-2-吡咯基-2,3,4,5-四氢吡咯	92.47	0.22
11	20.70	NEOPHYTADIENE	新植二烯	83.42	0.32
12	21.03	1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester	1,2-苯二甲酸亚(2-甲丙基)酯	85.49	0.18
13	21.68	N-(2-Hydroxyheptyl)phthalimide	N-(2-羟基庚基)苯邻二甲酸亚氨	79.65	0.40
14	22.28	Hexadecanoic acid	棕榈酸	80.00	0.91
15	22.77	ISOCHIAPIN B	—	82.34	0.10
16	23.44	1-Heptatriacotanol	1-三十七烷醇	73.36	0.17
17	23.60	4,8,13-Cyclotetradecatriene-1,3-diol, 1,5,9-trimethyl-12-(1-methyl-ethyl)-	1,5,9-三甲基-12-(1-异丙基)-4,8,13-环十四碳烯-1,3-二醇	78.98	0.69
18	23.95	6,9,12,15-Docosatetraenoic acid, methyl ester	6,9,12,15-二十四碳烯酸甲酯	77.40	0.10
19	24.09	1-Heptatriacotanol	1-棕榈醇	72.60	0.28
20	24.32	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	9,12-硬脂酸	86.19	0.13
21	24.32	9,12,15-Octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)-	9,12,15-硬脂酸	71.66	0.31

23	24.6 5	Octadecanoic acid	硬脂酸	77.34	0.28
24	25.0 3	4, 8, 13-Cyclotetradecatriene-1, 3-diol, 1, 5, 9-trimethyl-12-(1-methylthyl)-	1, 5, 9-三甲基-12-(1-异丙基)-4, 8, 13-环十四碳烯-1, 3-二醇	78.34	2.08
25	26.9 7	1-acetyl-2-pyridinyl-2, 3, 4, 5-tetrahydropyrrole	1-乙酰基-2-吡啶-2, 3, 4, 5-四氢吡咯	84.39	0.45
26	27.5 8	Phenol, 2, 2'-methylenebis[6-(1, 1-dimethyl-ethyl)-4-methyl-	2, 2'-亚二甲基[6-(1, 1-二异丙基)-4-甲基-苯酚	97.98	1.20

从表2可以就看出,一共鉴定出26种香气成分,包括1,5-二氢-1-甲基-2H-吡咯-2-酮、苯乙酸、2-(1-甲基-2-吡啶基)-吡啶(尼古丁)、降茄二酮、新植二烯、1-棕榈醇、肉豆蔻酸、硬脂酸等。其中2-(1-甲基-2-吡啶基)-吡啶含量最高,占总量的85.58%。对卷烟品质具有改善作用的香气物质有2-(1-甲基-2-吡啶基)-吡啶(尼古丁)、降茄二酮、新植二烯、肉豆蔻酸、硬脂酸等。

吡啶及其衍生物等多种氮杂环化合物是烟草本身所固有的致香物质。虽然这些组分的含量并不高,但对烟草质量的影响却较大,因为他们具有很大的香气程度,可以增补可可、咖啡、坚果的烤香风味,提高和改善制品的烟香风味。

降茄二酮是卷烟本身所含香气物质,在卷烟中具有丰富烟香的作用。新植二烯是卷烟燃烧的前体物质,燃烧后也具有丰富烟香的作用。

肉豆蔻酸、硬脂酸等长链脂肪酸类都是烟草中已知的化学成分。其中肉豆蔻酸是重要的卷烟香料,其有似榛子的香气,味酸甜,能增加烟草的椰子样香味,提调坚果、巧克力、面包等香韵,改善烟气的粗劣感。这些功能恰好可以解释“稍减少刺激性,稍改善余味”的评吸结果。

2.2 特色白肋烟浸膏主要致香成分定量分析

为探讨特色甜香型葡萄枸杞香料中主要香气物质含量,按照1.2.3进行定量分析,标准样品的线性方程、相关系数、线性范围如表3,样品中香气物质的含量如表4。

表3 标准样品的线性方程、相关系数、线性范围

Table 3 linear equations, correlation coefficient and linearity range of the standard sample

标样物质	线性方程	相关系数 (R^2)	线性范围(mg/Kg)
2-(1-甲基-2-吡啶基)-吡啶	$Y=10.0312X+0.0028$	0.9995	0.054~28.502
降茄二酮	$Y=0.8951X-0.012$	0.9994	0.095~4.996
新植二烯	$Y=1.523X-0.0017$	0.9993	0.010~1.482
肉豆蔻酸	$Y=2.9245-0.0025$	0.9986	0.011~3.551
硬脂酸	$Y=12.474X-0.8015$	0.9997	0.131~2.532

表4 样品中香气物质的含量

Table 4 The aroma content of the sample

物质成分	样品含量 (mg/Kg)
2-(1-甲基-2-吡啶基)-吡啶	58.234
降茄二酮	0.129
新植二烯	0.152
肉豆蔻酸	0.239
硬脂酸	0.154

2.3 特色甜香型葡萄枸杞香料在卷烟中的作用

按照1.2.4方法制备烟支样品,评价卷烟的香气特征、口感特征和烟气特征的变化情况。与对照样相比,其评析结果如表5:

表 5 不同特色白肋烟浸膏添加量对卷烟品质的影响

Table 5 The effect of different characteristic burley tobacco extractum concentration on sense-smoking of tobacco extract

评价项目 样品添加量	香气特征	口感特征	烟气特征
0.01%	增加烟草香 略有杂气	无变化	烟气浓度增加, 烟气细腻柔和
0.05%	增加烟草香	无变化	烟气浓度增加, 烟气细腻柔和
0.10%	增加烟草香	略有残留	烟气浓度增加, 烟气细腻柔和

从表 5 看出, 特色白肋烟浸膏在卷烟中的添加量为 0.05%时, 对卷烟的品质提升较高, 其在卷烟中具有增加烟草香、增加浓度和柔和细腻烟气的作用。

3 结论

本文利用微生物发酵技术处理白肋烟叶, 制备特色白肋烟浸膏, 并检测了其产品参数: 产品得率为 24.67%、密度为 1.2953 ± 0.010 (20°C) g/cm^3 、折光值为 1.4573 ± 0.020 (20°C)、酸值为 62.55 ± 0.5 (20°C)。对此浸膏进行香气成分分析, 结果表明, 一共鉴定出 26 种香气成分, 包括 1,5-二氢-1-甲基-2H-吡咯-2-酮、苯乙酸、2-(1-甲基-2-吡啶基)-吡啶(尼古丁)、降茄二酮、新植二烯、1-棕榈醇、肉豆蔻酸、硬脂酸等。其中 2-(1-甲基-2-吡啶基)-吡啶含量最高, 占总量的 85.58%。对卷烟品质具有改善作用的香气物质有 2-(1-甲基-2-吡啶基)-吡啶(尼古丁)、降茄二酮、新植二烯、肉豆蔻酸、硬脂酸等一共鉴定出 26 种香气成分, 其中有 5 种是影响卷烟品质的关键香气成分。通过定性分析表明, 2-(1-甲基-2-吡啶基)-吡啶(尼古丁)、降茄二酮含量为、新植二烯、肉豆蔻酸和硬脂酸的含量分别为 58.234g/Kg、0.129 g/Kg、0.152 g/Kg、0.239 g/Kg 和 0.154 g/Kg。卷烟评吸结果表明, 特色白肋烟浸膏添加量为 0.05%时, 其对卷烟的品质提高较大, 其在卷烟中具有增加烟草香、增加浓度和柔和细腻烟的作用, 体现了淡雅香的中式卷烟特点, 为进一步研究适合中式卷烟风格的烟用香料提供了理论依据。

参考文献:

- [1] Demain A L, Jackson M, Trenner N R. Thiamine-dependent accumulation of tetramethylpyrazine accompanying a notation in the isoleucine-valine pathway. *J. Bacteriol.* 1997. 94: 323
- [2] 李丹, 吕品, 黄龙, 等. 一种采用微生物发酵咖啡制备烟用香料的方法: 中国, 2008100468340. 2008-01-30
- [3] 吕品, 李丹, 黄龙, 等. 烟叶产香菌的分离及其在烟用香料制备中的应用[J]. 烟草科技, 2009(1): 37-42
L Pin, LI Dan, HUANG Long, ZHU Wei, et al. Isolation of Aroma Producing Bacterial Strain CB-2 from Tobacco Leaves and its Application in Tobacco Flavor Preparation[J]. Tobacco Science & Technology. 2009 (1): 37-42
- [4] 朱颖, 黄龙, 吕品, 等. 一种烟用酊剂香料的制备方法: 中国, 200710053704.5. 2009-05-06
- [5] 康武成, 崔辉政, 谭根芳, 等. 白肋烟浸膏的生产方法: 中国, 1992101879. 1992-03-18
- [6] 许国旺. 现代实用色谱分析法[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004
- [7] 庞登红, 李丹, 陈守文等. 酶法处理烟叶碎片制备烟草浸膏[J]. 江南大学学报(自然科学版), 2009(5): 607-612
PANG Deng-hong, LI Dan, XIONG Guo-xi, et al. Tobacco extract made from tobacco fragments with enzyme[J]. Journal of Jiangnan University Natural Science Edition. 2009 (5): 607-612
- [8] 谢剑平. 烟草香原料[M]. 北京: 化学工业出版社, 2009

香薷的超临界 CO₂ 萃取物在卷烟中的应用研究

黄龙¹, 朱巍^{1,2}, 吴昭², 彤霖^{1*}

1. 湖北中烟工业有限责任公司技术研发中心, 湖北省武汉市汉阳区十升路 430051
2. 武汉黄鹤楼香精香料有限公司, 湖北省武汉市东西湖区金山大道 1355 号 430040

摘要:为开发新的天然烟用香料, 研究了超临界 CO₂ 萃取香薷挥发油的工艺, 用 GC/MS 分析了挥发油中的挥发性和半挥发性成分, 并用该挥发油进行了卷烟加香试验。结果表明: ①超临界 CO₂ 萃取香薷的优化工艺条件为: 萃取温度 45℃、萃取压力 35Mpa、萃取时间 2h、CO₂ 流量 20L/h, 分离釜压力 8Mpa, 分离釜温度 35℃。②香薷挥发油共鉴定出 42 种成分, 主要有香荆芥酚、麝香草酚、肉豆蔻醛、油酸、β-金合欢烯、甲基丁香酚、十六酸等成分。③卷烟加香评价结果表明, 香薷挥发油添加到卷烟中具有较为明显的改善香气, 提升烟气柔顺、细腻程度, 掩盖杂气、改善口感的作用。

关键词:香薷; 超临界 CO₂ 萃取; 气相色谱/质谱; 香味成分; 卷烟加香

Research on Supercritical Fluid CO₂ Extraction of *Herba Moslae* and its application in tobacco

HUANG Long(1), ZHU Wei(1,2), WU Zhao(2), RONG Lin*(1)

1. Technology R&D Center of China Tobacco Hubei Industrial CO., LTD, Wuhan, 430051, China
2. Wuhan Huanghelou Flavors & Fragrances CO., LTD, Wuhan, 430040, China

Abstract: In order to develop a new natural cigarette flavor, *Herba Moslae* was extracted with super critical CO₂. The extract was analyzed by GC/MS and applied in cigarette as a flavor. The research results showed that: 1) The optimum extraction conditions were: extraction temperature 45℃, extraction pressure 35Mpa, flow rate of CO₂ 20L/h, extraction time 2h, separation temperature 35℃, separation pressure 8Mpa. 2) 42 components in the extract were identified by GC/MS, and the contents of Carvacrol, Thymol, Myristaldehyde, oleic acid, β-farnesene, Methyleugenol and Palmitic acid were relatively high. 3) The offensive odor of cigarette smoke was obviously lowered, tobacco aroma, smoke smoothness and after-taste of cigarette were improved by the addition of the extract.

Keywords: *Herba Moslae*, supercritical fluid CO₂ extraction, gas chromatography/mass, spectrometry, flavor components, cigarette flavoring

香薷为唇形科植物石香薷 *Molsa chinensis* Maxim.或江香薷 *Molsa chinensis* 'Jiangxiangru'的干燥地上部分。前者习称“青香薷”, 后者习称“江香薷”。性辛、微温, 归肺、胃经, 有发汗解表、和中利湿等功效。用于暑湿感冒, 恶寒发热, 头痛无汗, 腹痛吐泻, 小便不利 [1]。香薷属植物我国有 33 种, 15 个变种及 5 个变型[2], 大部分省、区都有分布, 其中很多种类供药用。

香薷的有效成分之一为挥发油, 2005 年版《中华人民共和国药典(一部)》也规定了香薷挥发油含量测定要求 [1]。有关香薷挥发油在医药方面的研究较为广泛[3-8]。超临界 CO₂ 萃取法具有萃取温度低、得率高、环保、热不稳定和易氧化的成分结构不发生改变等优点, 因此其研究和应用越来越广泛 [9]。已经有学者采用同时蒸馏萃取法得到香薷挥发油并应用于卷烟[10], 但采用超临界 CO₂ 萃取得到香薷挥发油并应用于卷烟方面的研究尚未见报道。为开发新的天然烟用香料资源, 研究了超临界 CO₂ 萃取香薷挥发油的生产工艺, 采用 GC/MS 分析了香薷挥发油的成分, 并进行了卷烟加香试验。

1. 实验部分

1.1 仪器

HL-10+3-50-II A 型超临界 CO₂ 萃取仪 (杭州华黎泵业有限公司); TRACE GC Ultra-DSQ II 气相色谱/质谱联用仪, 配有自动进样器(美国 Thermo 公司); BP221S 型分析天平, 感量 0.1mg, (德国 Sartorius 公司)。

1.2 材料与试剂

香薷: 购自武汉市药材公司, 产地湖北, 经湖北中医学院中药鉴定教研室鉴定为唇形科植物石香薷 *Molsa chinensis* Maxim.的干燥地上部分; CO₂ (武汉钢铁集团, 纯度 99.99%); 无水乙醇 (分析纯, 中国医药集团上海化学试剂公司); 空白烟丝 (武汉卷烟厂)。

1.3 香薷的超临界 CO₂ 萃取

取香薷药材 45℃下烘干, 粉碎, 过 40 目筛。将香薷粉末装入超临界 CO₂ 萃取釜中, 进行超临界萃取。

1.4 香薷挥发油成分的 GC/MS 分析

色谱柱: DB-5ms (30m×0.25mm i.d.×0.25μm d.f.)毛细管柱; 进样口温度: 250℃; 升温程序: 起始柱温 40℃, 保持 1min, 5℃/min 升温至 150℃, 保持 1min, 10℃/min 升温至 250℃, 保持 10min; 载

气：He，流速 1.0mL/min；进样量：0.5 μ L，分流比 50：1；质谱接口温度：250℃；电离方式：EI；电离能量：70eV；离子源温度：230℃；质量扫描范围：30~550 amu。

采用 Wiley 和 Nist 谱库检索、人工图谱解析以及查对质谱相关文献进行定性，面积归一化法定量。

1.5 香薷挥发油在卷烟中的加香试验

取在温度 22℃ \pm 1℃和相对湿度 60% \pm 2%下平衡 48h 后的空白烟丝若干份，用喉头喷雾器分别均匀喷洒 2 μ g/g、4 μ g/g、6 μ g/g 和 8 μ g/g(相对于烟丝质量)的香薷挥发油（适量 95%乙醇稀释）于烟丝上，对照样品喷洒相同质量的 95%乙醇。然后将以上烟丝样品放在温度 22℃ \pm 1℃和相对湿度 60% \pm 2%的条件下平衡 48h，用填烟器分别将各烟丝样品制成烟支，挑选质量在 0.91g \pm 0.02 g 范围内的烟支，再在温度 22℃ \pm 1℃和相对湿度 60% \pm 2%下平衡，请湖北中烟工业有限责任公司评吸委员会评委进行评吸。

2 结果与讨论

2.1 超临界萃取条件的研究

超临界 CO₂ 萃取包括 CO₂ 对原料的萃取过程，以及萃取物从 CO₂ 流体中的分离过程，因此分别优化分离条件和萃取条件。与用于医药的香薷萃取物不同，作为烟用香料，在优化萃取条件时，除了考察萃取物的得率外，更着重于该萃取物在卷烟中的评价效果。

2.1.1 分离条件的确定

分离压力、分离温度均对萃取物纯度、状态及得率有较大的影响。因此，首先需要确定解析分离的条件。

取过 40 目筛的香薷粗粉，在萃取压力 35Mpa、萃取温度 45℃、CO₂ 流量 30L/h 的相同萃取条件下萃取 2h，以不同的分离条件进行分离解析，考察萃取物性状及挥发油得率(%)，结果见下表 1。表中结果表明，分离釜温度过低，萃取物为黄色膏，性状较差；2 号和 5 号萃取物性状及挥发油得率较为理想，既能有效分离，又有较好的萃取率。通过评吸实验效果验证，2 号萃取物在卷烟中丰富烟香和改善口感的效果也最好。因此，虽然萃取率 5 号最大，但由于 2 号评吸效果最好，萃取率也较为满意，因此将分离条件确定为：分离压力 8Mpa，分离温度 35℃。在此分离条件下，既有较好的感官评价效果，又有较好的得率。

表 1 分离条件的影响

序号	分离釜压力 (Mpa)	分离釜温度(℃)	萃取物性状	香薷油得率 (%)
1	8	30	黄色膏	-
2	8	35	黄色油	1.96
3	8	40	黄色油	1.84
4	10	30	黄色膏	-
5	10	35	黄色油	2.01
6	10	40	黄色油	1.88

2.1.2 萃取条件的研究

在香薷的超临界萃取过程中，我们通过预试验发现萃取压力、萃取温度、萃取时间、CO₂ 流量对萃取结果有着较大的影响，故选择萃取压力、萃取温度、萃取时间、CO₂ 流量作为考察的四个因素，各取三个水平，以挥发油得率 (%) 为考察指标，因素水平设计见表 2。

表 2 萃取条件试验因素与水平

水平	因素			
序号	A 萃取温度/℃	B 萃取压力/MPa	C 萃取时间/h	D CO ₂ 流量/L/h
1	40	25	1	20
2	45	30	1.5	30
3	50	35	2	40

将香薷粉末装入超临界 CO₂ 萃取釜中，进行超临界萃取。按正交设定条件调节各参数。参照 2.1.1

确定的分离条件，温度、压力和流量均达到设定条件平衡后，开始循环萃取，收集分离釜的萃取物，称取挥发油重量，计算挥发油得率，同时进行感官评价。根据正交试验结果，分别对有关数据进行极差、方差分析，结果见表3、表4。由分析结果可知，A因素对香薷挥发油的超临界萃取得率有较大的影响，B因素、C因素对香薷挥发油的超临界萃取得率影响相对较小，D因素对香薷挥发油的超临界萃取得率影响最小。各因素的影响程度依次为A>C>B>D。感官评吸结果表明，实验4、5、6、9在卷烟中丰富烟香和改善口感的效果较好。据挥发油得率测定结果优选出最佳萃取工艺条件为：A2B3C3D1：即萃取温度45℃、萃取压力35Mpa、萃取时间2h、CO2流量20L/h。

表3 萃取条件正交实验

序号	A 温度	B 压力	C 时间	D 流量	挥发油得率 (%)
实验 1	1	1	1	1	1.34
实验 2	1	2	2	2	1.43
实验 3	1	3	3	3	1.68
实验 4	2	1	2	3	1.86
实验 5	2	2	3	1	1.99
实验 6	2	3	1	2	1.91
实验 7	3	1	3	2	1.68
实验 8	3	2	1	3	1.53
实验 9	3	3	2	1	1.81
均值 1	1.483	1.627	1.593	1.713	
均值 2	1.920	1.650	1.700	1.673	
均值 3	1.673	1.800	1.783	1.690	
极差	0.437	0.173	0.190	0.040	

表4 方差分析表

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
温度	0.288	2	2.902	3.110	P>0.10
压力	0.053	2	0.534	3.110	P>0.10
时间	0.054	2	0.544	3.110	P>0.10
流量	0.002	2	0.020	3.110	P>0.10

2.1.3 验证试验

按以上优化后的萃取和分离工艺条件进行三批超临界萃取香薷挥发油的试验验证，结果如下表5。香薷挥发油的平均得率为2.04%，RSD为1.98%。验证结果与正交试验基本一致，说明工艺稳定可行。同时，进行感官质量验证，在该条件下得到的挥发油在卷烟中丰富烟香和改善口感的效果均较好，三批所得样品没有明显差异，说明得到的香薷挥发油应用效果较好，质量也比较稳定。

表5 香薷超临界萃取工艺验证实验结果

编号	提取物得率 (%)	平均值 (%)	RSD
1	2.05		
2	2.00	2.04	1.98%
3	2.08		

2. 2 香薷挥发油 GC/MS 成分分析

将香薷挥发油样品进行 GC/MS 分析, 结果如下图 1 和下表 6 所示。香薷挥发油总离子流图共有 47 个峰, 实验中共鉴定出 42 种化合物, 占总离子流出峰面积的 99.62%, 其中烃类化合物 13 种, 酚类化合物 7 种, 醇类化合物 5 种, 羰基类化合物 6 种, 酸类化合物 5 种, 酯类化合物 3 种, 醚类化合物 2 种。香薷挥发油主要成分为香荆芥酚, 其在挥发油中的含量为 53.79%, 其次为麝香草酚, 其在挥发油中的含量为 17.85%, 这两种成分在挥发油中的总量为 71.64%, 也是赋予香薷挥发油香味特征和主要功效的成分[1]。挥发油中含量高于 1% 的成分还有: 肉豆蔻醛, 含量 7.68%; 油酸, 含量 2.83%; β -金合欢烯, 含量 2.45%; 甲基丁香酚, 含量 2.09%; 十六酸, 含量 2.06%; 对伞花烃, 含量 1.52%; 乙酸百里香酯, 含量 1.20%; β -石竹烯, 含量 1.20%。

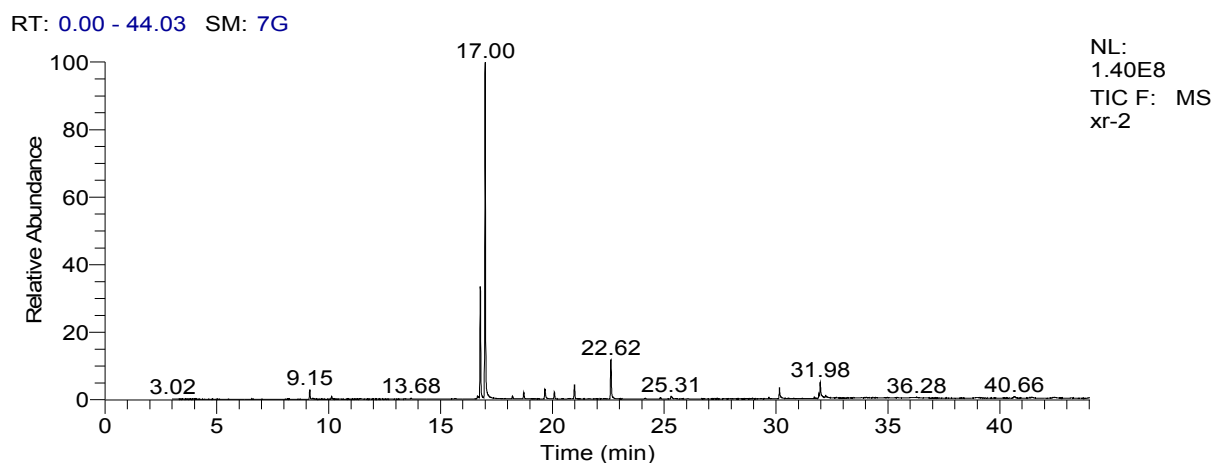


图 1 香薷挥发油的总离子流色谱图

表 6 香薷挥发油的成分分析结果

序号	保留时间 /min	化合物名称	含量 %
1	6.57	α -Phellandrene/ α -水芹烯	0.06
2	8.18	β -myrcene/ β -月桂烯	0.13
3	9.15	p-cymene/对伞花烃	1.52
4	9.28	D-limonene/ D-柠檬烯	0.20
5	9.37	1, 8-cineole/1, 8-桉叶素	0.07
6	10.14	α -terpinene/ α -松油烯	0.49
7	10.51	3-hydroxybutyl-2-methyl-cyclohexanone/3-羟丁基-2-甲基环己酮	0.07
8	11.41	Linalool/芳樟醇	0.24
9	13.43	Borneol/龙脑	0.09
10	13.68	Terpineol/松油醇	0.23
11	15.49	D-carvone/ D-香芹酮	0.06
12	15.65	Thymoquinone/百里香醌	0.20
13	16.66	p-allylanisole/对烯丙基茴香醚	0.53
14	16.78	Thymol/麝香草酚	17.85
15	17.00	Carvacrol/香荆芥酚	53.79
16	18.22	Isothymol/异麝香草酚	0.59
17	18.72	Thymylacetate/乙酸麝香草酯	1.20
18	19.67	Methyleugenol/甲基丁香酚	2.09

19	20.09	β -caryophyllene/ β -石竹烯	1.20
20	20.46	α -bergamotene/ α -佛手柑油烯	0.13
21	20.71	4-tertbutyl pyrocatechol/4-叔丁基儿茶酚	0.15
22	20.79	2-methoxy-4-ethyl-6-methyl phenol/2-甲氧基-4-乙基-6-甲基苯酚	0.08
23	20.99	β -farnesene/ β -金合欢烯	2.45
24	21.63	Cadinene/杜松烯	0.10
25	22.33	Bisabolene/红没药烯	0.14
26	22.43	Copaene/可巴烯	0.09
27	22.62	Myristaldehyde/肉豆蔻醛	7.68
28	24.16	Santalol/檀香醇	0.21
29	24.84	Caryophyllene oxide/环氧石竹烯	0.33
30	25.31	Torreyol/榧叶醇	0.80
31	25.55	3-oxo- β -ionone/3-氧代- β -紫罗兰酮	0.09
32	25.79	3-oxo- α -ionone/3-氧代- α -紫罗兰酮	0.09
33	26.79	Isolongifolene/异长叶烯	0.11
34	28.95	Butyl phthalate/邻苯二甲酸二丁酯	0.17
35	29.68	Terpinyl acetate/乙酸松油酯	0.22
36	30.16	Palmitic acid/十六酸	2.06
37	31.71	Phytol/植醇	0.26
38	31.92	Linoleic acid/亚油酸	0.55
39	31.98	Oleic acid/油酸	2.83
40	32.22	octadecanoic acid/十八酸	0.28
41	36.28	Linolenic acid/亚麻酸	0.07
42	40.66	Squalene/角鲨烯	0.09

2.3 香蒿挥发油在卷烟中的感官作用评价

将香蒿挥发油以加香方式添加到空白叶组中进行反复评吸，评吸结果表明：超临界萃取得到的香蒿挥发油具有较为明显的改善香气质，提升烟气柔顺、细腻程度，掩盖杂气、改善口感的作用，并能够与烟香较好的协调，合适的用量范围为 4-6 $\mu\text{g/g}$ （相对于烟丝质量）。

香蒿挥发油含量较高的主要成分中，香荆芥酚具有“尖刺轻带焦苦的草药香气，香气与麝香草酚类似”；麝香草酚具有“强有力的凉甜、并带有苦草药的酚样香气，留香尚持久”；肉豆蔻醛具有“强烈的、脂肪气息的、鸢尾样的气味，稀释后具有甜的、脂肪味的橘皮味道”。这与其在卷烟中的作用较好的吻合。

表 7 香蒿挥发油在卷烟中的感官评价效果

添加量	感官评价效果
0	香气质中等，香气量有，杂气有，刺激性有，余味尚舒适
2 $\mu\text{g/g}$	与烟香协调，香气质、香气量略有提高，杂气、刺激性稍减轻，余味略有改善
4 $\mu\text{g/g}$	与烟香协调，香气飘逸、丰满，烟气细腻柔和，杂气、刺激性减轻，余味舒适
6 $\mu\text{g/g}$	与烟香协调，香气飘逸、丰满，烟气细腻柔和，杂气、刺激性减轻，余味舒适
8 $\mu\text{g/g}$	与烟香协调变差，略有冒香，丰富烟香，掩盖杂气，降低刺激，余味尚舒适

3 结论

超临界萃取香薷挥发油的最佳工艺为：萃取温度 45℃、萃取压力 35Mpa、萃取时间 2h、CO₂ 流量 20L/h，分离釜压力 8Mpa，分离釜温度 35℃。GC/MS 分析结果表明，香薷挥发油的主要成分为香荆芥酚、麝香草酚、肉豆蔻醛、油酸、 β -金合欢烯、甲基丁香酚等成分，其中香荆芥酚和麝香草酚两种成分在挥发油中的总量为 71.64%。香薷挥发油添加到卷烟中具有较为明显的改善香气质，提升烟气柔顺、细腻程度，掩盖杂气、改善口感的作用，并能够与烟香较好的协调，合适的用量范围为 4-6 μ g/g（相对于烟丝质量）。因此，超临界萃取得到的香薷挥发油是一种较好的烟用香料，在中式卷烟中具有良好的应用前景。

参考文献：

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典（一部）[M]. 北京：化学工业出版社，2005.
- [2] 吴征镒，李锡文. 中国植物志（66 卷）[M]. 北京：科学出版社，1977.
- [3] 陈根顺，李鹏，陈阳. 江香薷挥发油提取工艺探讨[J]. 江西中医学院学报，2008，20(5)：55-57.
- [4] 朱甘培. 海州香薷与石香薷的栽培品江香薷挥发油的气相色谱-质谱分析比较[J]. 药学学报，1992，27(4)：287-293.
- [5] 朱甘培. 十种中国香薷属植物挥发油的气相色谱-质谱分析[J]. 中国中药杂志，1990，15(11)：37-39.
- [6] 曾虹燕，周朴华，唐艳林. 石香薷挥发油提取的比较研究[J]. 天然产物研究与开发，2005，15(2)：135-137.
- [7] 郑尚珍，戴荣. 超临界流体 CO₂ 萃取法研究石香薷精油化学成分[J]. 西北师范大学学报（自然科学版），2001，37(2)：49-52.
- [8] 涂永勤，王宾豪，杨荣平等. 黄花香薷挥发油化学成分的研究[J]. 重庆中草药研究，2008(2)：8-11.
- [9] 周庆华，范卓文，杨波. 超临界流体提取技术在中药中的应用[J]. 中医药信息，2002，19(6)：18-19.
- [10] 金哲，马林，崔成哲等. 东北野生香薷挥发油香味成分分析及在卷烟中的应用[J]. 中国农学通报，2008，24(7)：93-96.

二辛酸丙二醇酯的非水相酶催化合成研究

于铁妹 姜兴涛 张贤平 邹慧 肖友检

深圳波顿香料有限公司, 深圳, 518051

摘要: 本文介绍了以辛酸和丙二醇为原料非水相酶催化合成二辛酸丙二醇酯的方法。研究确定的最优条件: 选用BT-01脂肪酶为催化剂, 辛酸与丙二醇摩尔比为2:1, 酶加量为丙二醇质量的1%, 50℃下减压搅拌反应, 反应7d结束, 辛酸转化为二辛酸丙二醇的酯化率高达92.9%, 反应物中含二辛酸丙二醇酯为85.6%。反应制得的纯品经质谱和红外光谱分析证实为二辛酸丙二醇酯。应用本合成法合成二己酸丙二醇酯、二丁酸丙二醇酯、二丙酸丙二醇酯和二乙酸丙二醇酯, 相应的酯化率分别为84.3%, 14.9%, 11%, 8.1%。

关键词: 二辛酸丙二醇酯; 脂肪酶; 生物催化;

Studies on Lipase-catalyzed Synthesis of Propyleneglycol Dioctanoate in Non-aqueous Phase

Yu Tie-mei Jiang Xing-tao Zhang Xian-ping Zou Hui Xiao You-jian

R&D Center of Shenzhen Boton Flavors & Fragrances Co., Ltd, Shenzhen 518051, China

Abstract: The paper introduced a lipase-catalyzed method to synthesize propyleneglycol dioctanoate in non-aqueous phase. Optimum reaction conditions were determined as follows: BT-01 lipase was selected as catalyst, the mole ratio of octanoic acid to propanediol was 2:1, enzyme addition was 1% of propanediol weight. The reaction was reacted at 50℃ in a stirred and reduced pressure condition for 7d. The conversion rate of octanoic acid to Propyleneglycol dioctanoate was 92.9% and propyleneglycol dioctanoate content was 85.6% in the final reaction product. The purified product after reaction was proved as propyleneglycol dioctanoate by MS and infrared spectrum analysis. Propyleneglycol dihexanoate, propyleneglycol dibutyrate, propyleneglycol dipropionate, propyleneglycol diacetate were synthesized by the same method and the conversion rate were 84.3%, 14.9%, 11%, 8.1% respectively.

Keywords: Propyleneglycol dioctanoate, Lipase, biocatalysis

二辛酸丙二醇酯 (FEMA 4471) 为GRAS24最新公布的香料化合物。作为溶剂、表面活性剂、增稠剂、软化剂广泛用于化妆品和食品中。二辛酸丙二醇酯在食品中的最大安全用量, 焙烤食品为7.0ppm, 饮料1.0ppm, 口香糖250ppm。

GRAS24最新公布的香料化合物中丙二醇酯类占有较大的比例, 如二己酸丙二醇酯 (FEMA4470)、二丁酸丙二醇酯 (FEMA4466)、二丙酸丙二醇酯 (FEMA4465)、二乙酸丙二醇酯 (FEMA4464) 等^[1]。目前, 合成该类化合物主要采用化学合成法。而化学合成工艺往往需要使用腐蚀性强的强酸作为催化剂, 以毒性高的有机原料为溶剂, 易造成环境污染。随着人们对健康的关注和环保意识的增强, 开辟一条对环境友好、安全的合成工艺路线极为重要。与化学合成法相比, 生物催化是一种“绿色的”环境友好的合成工艺, 它具有反应条件温和、催化效率高、催化专一性强等优点。目前, 国外用生物催化剂替代化学催化剂生产化学品已成为必然的发展趋势。

脂肪酶在非水相体系中具有催化酸和醇反应合成酯的逆向催化功能, 已为大家所知^[2]。但是, 利用脂肪酶催化合成二辛酸丙二醇酯, 至今尚未见文献报道。本文首次以辛酸和丙二醇为原料, 在无溶剂体系中采用脂肪酶催化成功地制得二辛酸丙二醇酯, 为其它丙二醇酯类香料的合成开辟了一条新的绿色合成工艺路线。

1 材料与方法

1.1 材料

BT-01 脂肪酶 (自制); Novozyme TLIM (诺维信公司); Lipase AY “Amano” 30 (天野株式会社); Lipase G “Amano” 50 (天野株式会社); 正辛酸 (A. R, 上海凌峰化学试剂有限公司); 丙二醇 (含量 ≥99.9%, 医药级, 陶氏化学); 叔丁醇 (HPLC, 广东光华试剂厂有限公司)。

1.2 仪器

Agilent6890气相色谱仪; Agilent6890-5973N气质联用仪; Nicolet 380 智能傅立叶红外光谱仪; 恒温摇床 (山东鄞城光明仪器有限公司); 其他常规设备。

1.3 实验方法

1.3.1 二辛酸丙二醇酯的无溶剂体系酶催化反应

将一定量的辛酸、丙二醇加入至100 ml平底三口烧瓶中, 加入一定量脂肪酶, 置于恒温水浴锅中。

在一定温度下，以磁力搅拌方式密闭催化反应。反应过程中用真空泵保持瓶内真空度在8000Pa。定时取样进行GC分析，至反应结束。

1.3.2 辛酸酯化率（以二辛酸丙二醇酯计）的测定

由于脂肪酸与丙二醇在脂肪酶的作用下，反应产物中除二辛酸丙二醇酯外，还有单辛酸丙二醇酯、辛酸、丙二醇存在。因此按照传统的酸滴定法无法真正反映酯化为二辛酸丙二醇酯的反应率。由于非水相催化中没有常规化学反应中的强酸和盐成分，因此采用气相色谱分析的方法测定酯化率是一个快捷又相对准确的方法。

我们采用气相色谱内标法，以叔丁醇为内标物，以内标法计算二辛酸丙二醇酯和丙二醇在样品中的百分含量。各定时取样分析的反应体系中，除了丙二醇外，只有辛酸和辛酸的酯化产物，以二辛酸丙二醇酯的含量在所有辛酸和辛酸的酯化产物中的百分比来计算酯化率是可行的。实验中其它脂肪酸酯化率的测定方法与此相同。

气相色谱条件如下：

Agilent6890 气相色谱仪，GC 条件：毛细管柱：HP-5 (50m×0.32mm×0.25 μm)；进样口温度：250℃；柱头压：58kPa；进样量：1 μL；进样方式：不分流进样；柱温：50℃保持 10min，以 2℃/min 升温至 250℃保持 20min。

$$\text{辛酸酯化率 (以二辛酸丙二醇酯计)} = \frac{\text{二辛酸丙二醇酯即时相对含量}}{1 - \text{丙二醇即时相对含量}} \times 100\%$$

1.3.3 二辛酸丙二醇酯的分析

1.3.3.1 质谱分析

Agilent6890-5973N 气质联用仪，GC 条件与 1.4.1 相同。MS 条件：EI 源；电子能量：70eV；电子倍增器电压：1800V；质量扫描范围：33~350amu；离子源温度：180℃；四极杆温度：230℃。

1.3.3.2 红外光谱分析

产品红外光谱分析在 Nicolet 380 智能傅立叶红外光谱仪上进行。

2 结果与讨论

2.1 不同来源脂肪酶对合成二辛酸丙二醇酯的影响

不同微生物来源的脂肪酶由于酶活中心结构的差异，所表现的催化性能有极大的差异^[3]。不同来源的脂肪酶酯化能力相差较大，同时二辛酸丙二醇酯相对于单辛酸丙二醇酯更难合成。因此选择合适的脂肪酶对合成二辛酸丙二醇酯至关重要。本研究选择了四种脂肪酶 Novozyme TLIM, Lipase AY “Amano” 30, Lipase G “Amano” 50, BT-01 脂肪酶分别催化辛酸与丙二醇反应。辛酸与丙二醇摩尔比为 2:1，脂肪酶加入量均为 200U/g 丙二醇，按 1.3.1 进行催化反应，反应 3d 分别取样进行 GC 分析。不同脂肪酶催化反应产物中单辛酸丙二醇酯、二辛酸丙二醇酯的相对含量如图 1 所示。

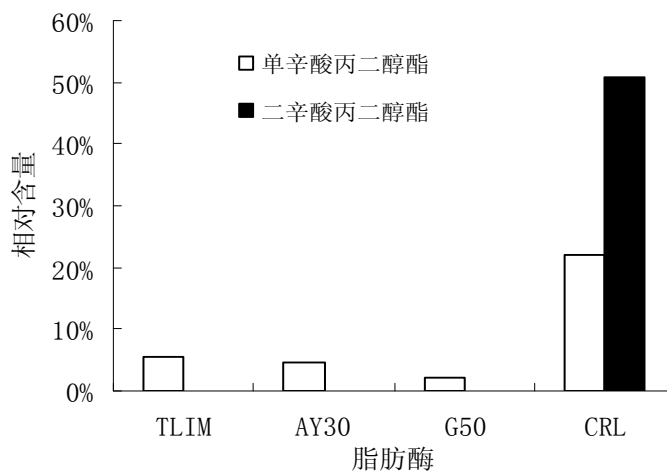


图 1 不同脂肪酶催化产物中单辛酸丙二醇酯与二辛酸丙二醇酯的相对含量

Figure 1 Relative concentrations of propylene glycol mono-octanoate and propylene glycol di-octanoate in different lipase-catalyzed products

由图 1 可以看出，不同微生物来源的脂肪酶催化辛酸与丙二醇合成二辛酸丙二醇酯的能力差异极

大。3种商业化脂肪酶 Novozyme TLIM, Lipase AY “Amano” 30, Lipase G “Amano” 50 仅能催化合成少量的单辛酸丙二醇酯, 分别为 5.6%, 4.65%, 2.153%, 基本无二辛酸丙二醇酯生成。采用 BT-01 脂肪酶催化产物中单辛酸丙二醇酯含量为 22.3%, 二辛酸丙二醇酯含量为 50.7%。表明, BT-01 脂肪酶具有较强合成二辛酸丙二醇酯的能力, 选用 BT-01 脂肪酶进行下步实验。

2.2 二辛酸丙二醇酯的工艺条件研究

2.2.1 温度对辛酸酯化率的影响

按辛酸与丙二醇的摩尔比为 2:1 加入原料, 加酶量为丙二醇质量的 1.5%, 分别在温度为 40℃、45℃、50℃、55℃、60℃、65℃ 下按 1.3.1 进行反应, 每隔 1d 取样进行 GC 分析, 测定不同温度下辛酸酯化率 (以二辛酸丙二醇酯计), 结果如图 1 所示。由图 1 可见, BT-01 脂肪酶催化合成二辛酸丙二醇酯最佳反应温度为 50℃, 温度过高或过低均不利于反应进行。

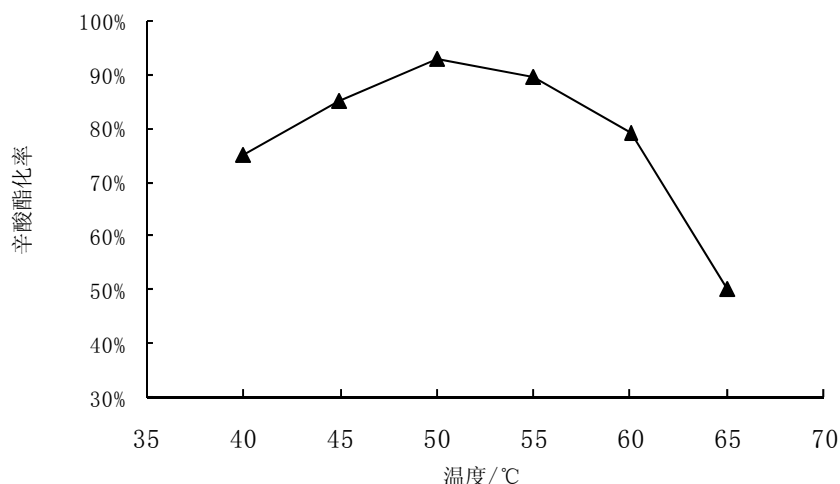


图 1 温度对辛酸酯化率的影响

Figure 1 Effect of temperature to the conversion rate of octanoic acid

2.2.3 底物摩尔比对辛酸酯化率的影响

辛酸与丙二醇的摩尔比对辛酸转化为二辛酸丙二醇酯的酯化率影响较大, 考察底物摩尔比对辛酸酯化率的影响。固定丙二醇的量不变, 按辛酸与丙二醇摩尔比为 1:1、2:1、3:1、4:1 加入辛酸, 加酶量均为丙二醇质量的 1.5%, 按 1.3.1 进行反应, 测定不同底物摩尔比下辛酸酯化率 (以二辛酸丙二醇酯计) 随反应时间的变化, 结果如图 2 所示。

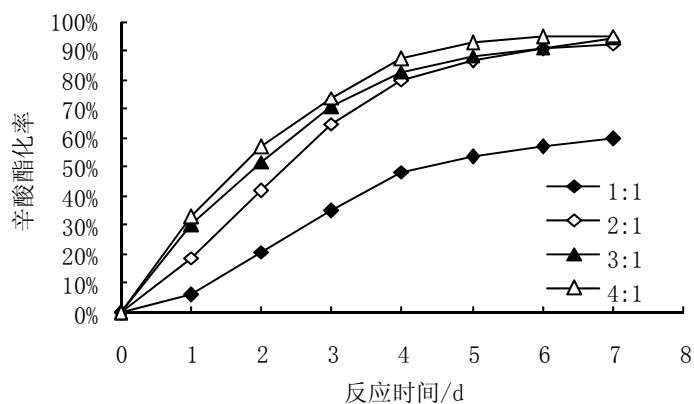


图 2 底物摩尔比下辛酸酯化率的影响

Figure 2 Effect of mole ratio of substrate to the conversion rate of octanoic acid

由图 2 可知, 随着辛酸与丙二醇摩尔比从 1:1 增加至 2:1 时, 辛酸转化为二辛酸丙二醇酯的酯化率有很大幅度的提高, 继续增加至 3:1、4:1, 辛酸酯化率增加幅度不大。同时, 考虑到辛酸过高不利

于二辛酸丙二醇酯的纯化，故选择辛酸与丙二醇最佳摩尔比为 2:1。

2.2.2 加酶量对辛酸酯化率的影响

在辛酸与丙二醇摩尔比2:1体系中，加酶量分别为丙二醇质量的0.1%、0.5%、1.0%、1.5%，50℃下按1.3.1进行反应，考察加酶量对辛酸酯化率（以二辛酸丙二醇酯计）的影响，结果如图3。由图3可见，随着加酶量的增加，酯化速度加快，酯化率提高，丙二醇质量1%的加酶量与1.5%、2.0%的最高辛酸酯化率相当，效果最佳，反应7d酯化率达92.9%。故选择最适加酶量为丙二醇质量的1%。

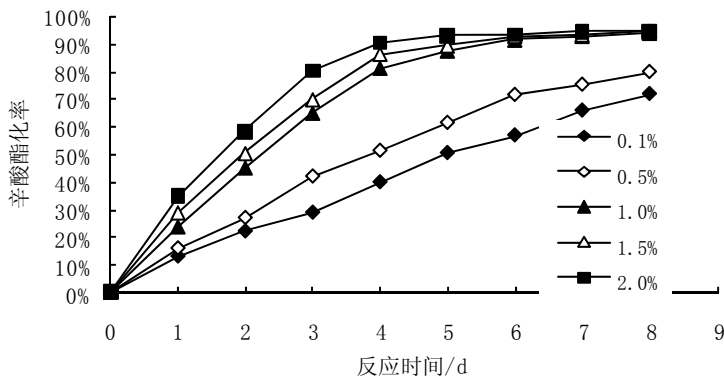


图3 加酶量对辛酸酯化率的影响

Figure 3 Effect of lipase addition to the conversion rate of octanoic acid

2.2.2 反应时间对反应产物组成的影响

辛酸与丙二醇在脂肪酶的作用下，生成单辛酸丙二醇酯与二辛酸丙二醇酯，两者的相对含量随反应时间而变化。考察反应时间对反应产物组成的影响，辛酸与丙二醇摩尔比为 2:1，加酶量为丙二醇质量的 1%，50℃下按 1.3.1 进行反应，每隔 1d 取样进行 GC 分析，测定反应物中单辛酸丙二醇酯与二辛酸丙二醇酯的相对含量，结果如图 4 所示。

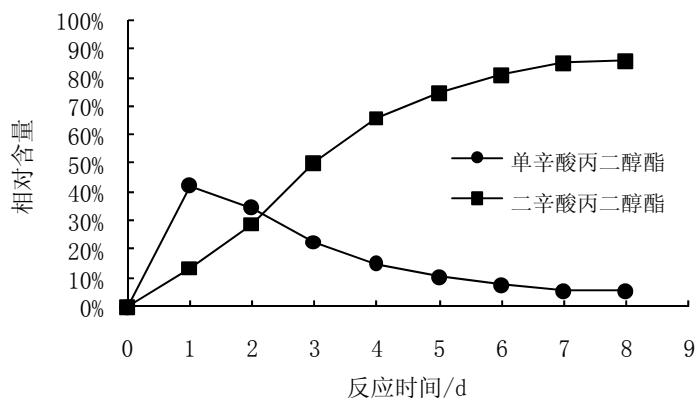


图4 单辛酸丙二醇酯与二辛酸丙二醇酯相对含量随反应时间的变化

Figure 4 Changes of relative concentrations of propylene glycol mono-octanoate and propylene glycol di-octanoate with the reaction time

由图 4 可知，随着反应的进行，反应物中单辛酸丙二醇酯的含量先增加后逐渐降低，反应 1d 时单辛酸丙二醇酯的含量达最高为 42.5%，随后逐渐降低。而二辛酸丙二醇酯的含量随反应时间的延长逐渐增加，反应 7d 达 85.6%，继续延长反应变化不大。

2.3 二辛酸丙二醇酯的质谱与红外光谱分析结果

反应结束后，将反应液滤去固定化酶后，减压蒸馏去除辛酸、丙二醇、单辛酸丙二醇酯，制得二辛

酸丙二醇酯产品，经 GC 分析含量达到 98%以上。对产品进行质谱与红外光谱分析，结果如图 5、6 所示。图 6 中显示产品在 1737 cm^{-1} 处有强羰基 ($-\text{C}=\text{O}$) 伸缩振动吸收峰，在 3000~4000 cm^{-1} 之间无明显的羟基 ($-\text{OH}$) 振动吸收峰。

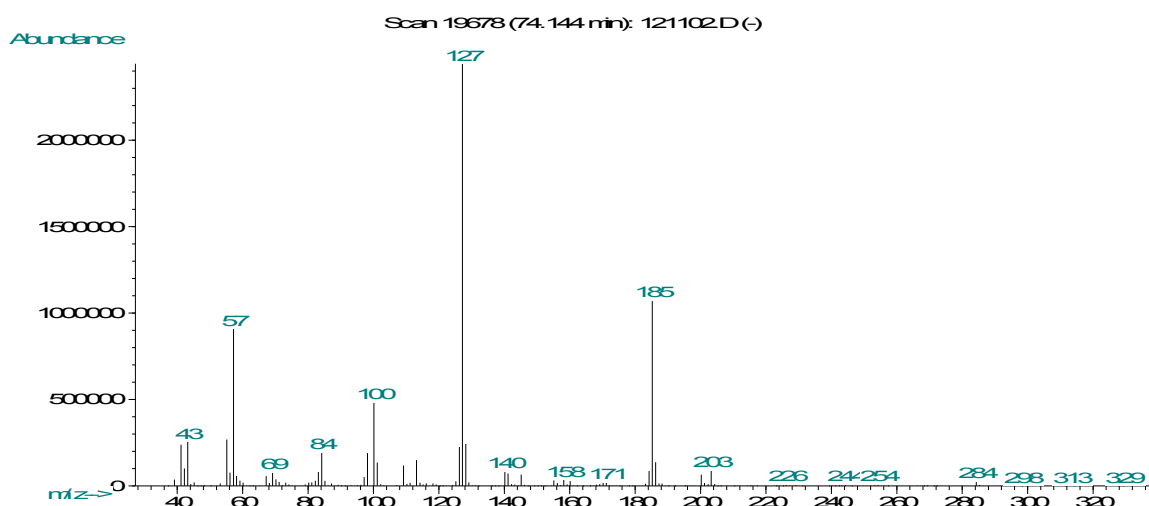


图 5 二辛酸丙二醇酯的质谱图
Figure 5 Mass-spectrogram of propyleneglycol dioctanoate

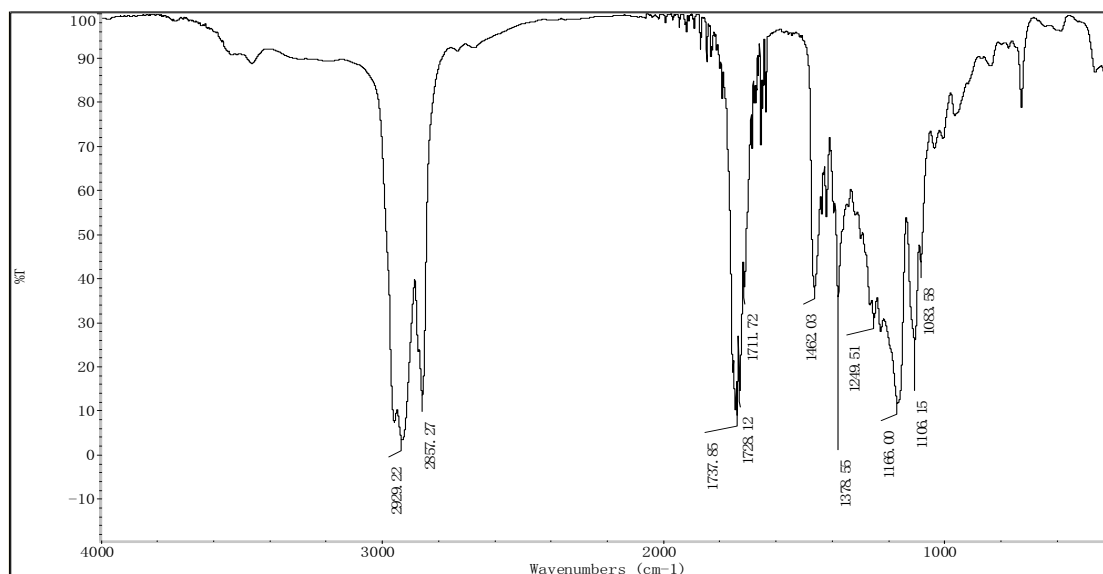


图 6 二辛酸丙二醇酯的红外光谱图
Figure 6 Infra-red spectrogram of propyleneglycol dioctanoate

2.4 二乙酸丙二醇酯、二丙酸丙二醇酯、二丁酸丙二醇酯、二己酸丙二醇酯的酶法合成

按二辛酸丙二醇酯确定的非水相酶催化工艺条件，分别制备 GRAS24 公布的其它丙二醇酯类香料二己酸丙二醇酯、二丁酸丙二醇酯、二丙酸丙二醇酯、二乙酸丙二醇酯。

按脂肪酸与丙二醇的摩尔比为 2:1 加入相应的脂肪酸、丙二醇，BT-01 脂肪酶加入量为丙二醇质量的 1%，50℃ 下搅拌闭口催化反应（其中二己酸丙二醇酯反应过程中保持瓶内压力在 8000Pa，其它三种常压反应），反应 7d 取样进行 GC 分析，测定脂肪酸酯化率（以丙二醇二酯计）。结果如图 7 所示。

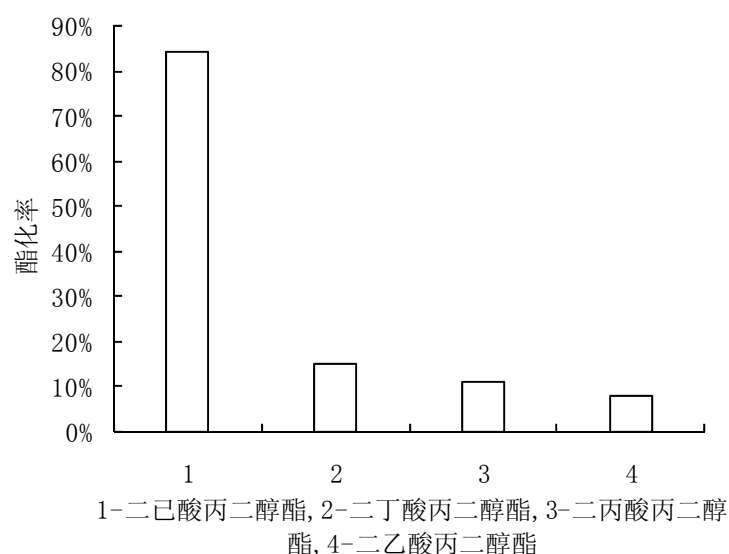


图 7 不同脂肪酸转化为相应丙二醇二酯的酯化率

Figure 7 Conversion rates of different fatty acids in propylene glycol esters

由图 7 可以看出, 相同的反应条件下, 己酸转化为二己酸丙二醇酯的酯化率为 84.3% 与辛酸的酯化率 (92.9%) 相比略有降低。丁酸、丙酸、乙酸的酯化率随脂肪酸碳链的减少而逐渐降低, 分别为 14.9%, 11%, 8.1%。丁酸、丙酸、乙酸的酯化率低也与其挥发性强、沸点低而必须进行常压闭口反应有关, 反应生成的水未能及时排出, 不利于反应继续向酯化方向进行。

3 结论

1) 本文介绍了以辛酸与丙二醇为原料非水相催化合成二辛酸丙二醇酯。反应的最优条件为: 选用 BT-01 脂肪酶为催化剂, 辛酸与丙二醇摩尔比为 2:1, 酶加量为丙二醇质量的 1%, 反应温度 50℃, 闭口搅拌反应并保持反应体系内压力为 8000Pa, 反应 7d 结束, 辛酸转化为二辛酸丙二醇酯的酯化率达 92.9%, 反应产物中含二辛酸丙二醇酯为 85.6%。反应制得的纯品经质谱与红外光谱证实为二辛酸丙二醇酯。

2) 利用相同非水相催化法合成二己酸丙二醇酯、二丁酸丙二醇酯、二丙酸丙二醇酯、二乙酸丙二醇酯, 各脂肪酸酯化率分别为 84.3%, 14.9%, 11%, 8.1%。

参考文献:

- [1] 最新分布的 GRAS24 物质名单 (上). 香精香料化妆品 [J], 2009, 2(1): 57~62.
- [2] Zaks A, Klivanov A M. Enzymatic catalysis in non-aqueous media at 100℃ [J]. Science, 1984, 224: 1249-1251.
- [3] 李香春, 甄宗园. 脂肪酶特性及其应用. 粮食与油脂 [J], 2003 (3): 19~20.

3-氧代- α -紫罗兰酮的合成及应用

朱卓越*¹ 黄淑芳² 杨华武¹ 邓昌健¹ 付见山¹

赵瑜¹ 陈雄¹ 黎艳玲¹ 苏利霞¹

1 湖南中烟工业有限责任公司技术中心, 长沙, 410007

2 长沙环境保护职业技术学院, 长沙, 410004

摘要: 本文开发了一种以过氧叔丁醇为氧化剂, 乙酰丙酮钒为催化剂的合成 3-氧代- α -紫罗兰酮的方法。主要探讨了氧化剂用量; 催化剂用量; 溶剂; 温度对反应的影响。得出 3-氧代- α -紫罗兰酮的有利合成条件是 α -紫罗兰酮 1.92 g (10mmol), VO(acac)₂ 0.13 g (0.5 mmol), 过氧叔丁醇 50 mmol, 在 35°C 下于 10 ml 丙酮中反应 6h, 3-氧代- α -紫罗兰酮的产率达到 58%, 纯度高于 98 %。并对合成产物进行卷烟加香实验, 合成产物可明显提高卷烟烟气的香气质, 透发性和圆润感。

关键词: 过氧叔丁醇; 乙酰丙酮钒; 3-氧代- α -紫罗兰酮; 氧化;

Synthesis and application of 3-oxo- α -ionone

ZHU Zhuo-yue*¹ HUANG Shu-fang² YANG Hua-wu¹

DENG Chang-jian¹ FU Jian-shan¹ ZHAO Yu¹ CHEN Xiong¹

LI Yan-ling¹ SU Li-xia¹

1 The Technology Center, China Tobacco Hunan Industrial Co.,Ltd, Changsha 410014, China

2 Changsha Environmental Protection College Changsha 410004, China

Abstract: 3-oxo- α -ionone was synthesized by oxidation of α -ionone using t-BuO₂H as oxidative reagent and VO(acac)₂ as catalyst. The effects of amount of oxidative reagent, catalyst/ α -ionone molar ratio, and solvent, reaction temperature on the yield were investigated. The optimum reaction conditions for this reaction was found as follows: α -ionone(1.92 g, 10 mmol), VO(acac)₂(0.13 g, 0.5 mmol), t-BuO₂H(50 mmol), and acetone(10mL) as solvent were reacted for 6h at 35°C to give 3-oxo- α -ionone in 58% yield with 98% purity. The result showed that the aroma quality, volatility and mellow of cigarette smoke were improved by the product.

Keywords: tert-butyl hydroperoxide, VO(acac)₂, 3-oxo- α -ionone, oxidation

前言:

3-氧代- α -紫罗兰酮的香气为甜香、花香, 能在烤烟和白肋烟中分离鉴定出来, 是一种重要的合成香料, 也是生产药品、香料、食品添加剂、农业化学品等的重要物质^[1]。在卷烟中有降低焦油和烟碱且能弥补香味损失并提高烟气质量的特征, 对各种卷烟有显著的加香效果^[2]。其添加到卷烟中能使总体烟味更加丰满, 起到修饰、圆和及增效的作用。同时它也是人工合成类胡萝卜素^[3] 类化合物的

重要中间体, 其在医药行业应用广泛, 具有良好的应用前景。有关 3-氧代- α -紫罗兰酮合成方法的报导较多, 其中有烯丙位氧化法^[4], 电解氧化法^[5]、二氯二氧基氧化钒氧化法^[6]、铬酸叔丁酯氧化法^[7]、氯代铬酸吡啶鎓(PCC)氧化法^[8], 氯酸钠氧化法^[9,10]和分子氧催化氧化法^[11,12]等方法, 这些方法操作要求高、收率低、后处理不便且环境污染严重。虽然分子氧催化氧化法的收率超过 50%, 但分子氧催化氧化时间过长, 且操作不便。而过氧叔丁醇是一种价廉易得的氧化剂, 分解之后得叔丁醇与水, 对环境影响甚小, 是一个比较环保的氧化剂。因此我们选择以过氧叔丁醇为氧化剂, VO(acac)₂ 为催化剂进行催化氧化。

该方法具有所需试剂的价格低廉、操作方便、后处理简单、收率较高、成本低等优点, 有获得工业化生产的可能。为此本文作者采用 GC-MS 方法分析反应产物, 研究反应过程, 并对氧化剂用量, 催化剂用量, 溶剂, 温度对反应的影响进行了探索。

1 实验

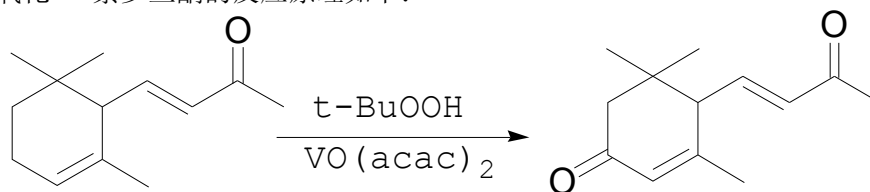
1.1 试剂与仪器

a. 试剂: α -紫罗兰酮(工业品), 过氧叔丁醇(国药集团化学试剂有限公司, 65%), 丙酮(天津市聚德金化工有限公司, AR) 乙酰丙酮钒(上海三爱思试剂有限公司), 其余均为分析纯。

b. 仪器: Agilent GC-MS 6890-5973 型气质联用仪, Varian INOVA-300 MHz 型核磁共振仪。

1. 2 反应原理

过氧叔丁醇氧化 α -紫罗兰酮的反应原理如下:



1. 3 反应操作

α -紫罗兰酮 1.92 g (10 mmol), $\text{VO}(\text{acac})_2$ 0.13 g (0.5 mmol), 丙酮 10 ml, 于 100 ml 烧瓶中 35 °C 下搅拌, 过氧叔丁醇 50mmol 缓慢滴加, 6h 后停止搅拌, 离心分离催化剂, 旋转蒸发, 经柱色谱分离(洗脱剂 V 正己烷: V 乙酸乙酯=6:1) 得到氧化产物 3-氧代- α -紫罗兰酮(收率 58%)。

1. 4 产物的定性与定量分析

用 Agilent GC-MS 6890-5973 对反应产物进行定性与定量分析, 毛细管色谱柱为 HP-5MS (60 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m)。色谱条件: 氦气作载气, 进样口温度 250 °C, 柱流速为 1.0 ml/min, 分流比为 10:1, 采用程序升温, 起始温度为 80 °C, 保持 2min, 以 15 °C/min 升至 280 °C, 保持 3min。质谱条件: 离子源为 EI 源, 电子能量 70 eV, 离子源温度 230 °C, 质量扫描范围为 50~550 amu (m/z)。用 Varian INOVA 300MHz 核磁共振仪对反应产物的 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 进行测定, CDCl_3 为溶剂, 四甲基硅为内标。

3-氧代- α -紫罗兰酮: 淡黄色晶体, 熔点为 71~72 °C。EI-MS m/z (%): 206 (M^+ , 1), 191 (1), 163 (1), 150 (23), 135 (6), 121 (3%), 108 (100), 91 (5), 77 (10), 65 (2)。 $^1\text{H NMR}$ δ : 1.199 (s, 6H), 1.802 (s, 3H), 1.897-1.925 (t, $J=6.9$ Hz, 2H), 2.364 (s, 3H), 2.539-2.565 (t, $J=6.9$ Hz, 2H), 6.165-6.220 (d, $J=16.5$ Hz, 1H), 7.218-7.277 (q, $J=16.5$ Hz, $J_F=J_S=7.2$ Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ δ : 198.514, 197.393, 157.694, 140.271, 133.451, 131.254, 37.164, 35.432, 34.067, 27.865, 27.193, 13.332; 与文献值相符。元素分析: 由分子式 $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_2$ 计算值, C:75.25%, H:9.66%。实测值: C:75.71%, H:9.79%。

2. 结果与讨论

固定 α -紫罗兰酮 1.92g (10 mmol), 考察催化剂量、氧化剂量、溶剂及反应温度对氧化产物 3-氧代- α -紫罗兰酮产率的影响。

2. 1 氧化剂量对 3-氧代- α -紫罗兰酮产率的影响

α -紫罗兰酮 1.92g (10 mmol), $\text{VO}(\text{acac})_2$ 0.13 g (0.5 mmol), 丙酮 10 ml, 考察氧化剂过氧叔丁醇用量对 3-氧代- α -紫罗兰酮产率的影响。(结果见表 2.1) 当氧化剂过氧叔丁醇用量为 50 mmol 时, α -紫罗兰酮已经转化完, 此时 3-氧代- α -紫罗兰酮产率最好 58%, 当再增加氧化剂量时, 可能因为有过度氧化产物出现, 3-氧代- α -紫罗兰酮产率略有下降。

表 2.1 氧化剂量对 3-氧代- α -紫罗兰酮产率的影响

过氧叔丁醇/mmol	20	30	40	50	60	70
产率/%	28	37.2	49.8	58	50.6	43

2. 2 催化剂量对 3-氧代- α -紫罗兰酮产率的影响

α -紫罗兰酮 1.92g (10 mmol), 丙酮 10 ml, 过氧叔丁醇 50 mmol, 考察 35 °C 下催化剂 $[\text{VO}(\text{acac})_2]$ 量对 3-氧代- α -紫罗兰酮产率的影响。结果表明: 当催化剂 $\text{VO}(\text{acac})_2$ 用量为 0.13 g (0.5 mmol) 时, 3-氧代- α -紫罗兰酮的产率最好 (58%), 反应时间也比较适宜, 催化剂的量增加, 产率并未增加, 反而有所减少。(见表 2.2)

表 2.2 催化剂量对 4-氧代- β -紫罗兰酮产率的影响

$V_0(\text{acac})_2/\text{g}$	t/h	产率/%
0.066	8.5	36
0.13	6	58
0.266	4.5	54
0.33	3.8	49.5

2.3 溶剂对 3-氧代- α -紫罗兰酮产率的影响

α -紫罗兰酮 1.92g (10 mmol), $V_0(\text{acac})_2$ 0.13 g (0.5 mmol), 过氧叔丁醇用量 50 mmol, 考察 35 °C 下不同溶剂 3-氧代- α -紫罗兰酮产率的影响。实验结果表明: 在丙酮和叔丁醇中进行氧化反应所得产率较好, 尤其在丙酮中反应, 3-氧代- α -紫罗兰酮产率最高, 达 58%; 但是, 在乙酸乙酯、正己烷、甲苯和二氯甲烷中反应, 3-氧代- α -紫罗兰酮的产率甚低, 分别为 8%、10%、6%、3%。(见表 2.3)

表 2.3 溶剂对 3-氧代- α -紫罗兰酮产率的影响

溶剂	t/h	产率/%
丙酮	6	58
乙酸乙酯	12	8
正己烷	16	10
甲苯	16	6
无溶剂/叔丁醇	10	40
二氯甲烷	10	3

2.4 温度对 3-氧代- α -紫罗兰酮产率的影响

α -紫罗兰酮 1.92g (10 mmol), $V_0(\text{acac})_2$ 0.13 g (0.5 mmol), 过氧叔丁醇用量 50 mmol, 丙酮 10 ml, 考察反应温度对 3-氧代- α -紫罗兰酮产率的影响。实验结果表明: 在 35 °C 反应, 3-氧代- α -紫罗兰酮产率为 58%; 当反应温度升高到 45 °C, 3-氧代- α -紫罗兰酮产率只有 54.2%; 当反应温度继续升高到 60 °C, 3-氧代- α -紫罗兰酮产率已经 50%。(见表 2.4) 可以看出, 3-氧代- α -紫罗兰酮产率随着温度升高而降低, 因此, 我们认为在 35 °C 下反应较适宜。

表 2.4 温度对 3-氧代- α -紫罗兰酮产率的影响

温度 (°C)	20-25	35	45	60	70
产率/%	48	58	54.2	50	42

2.5 加香实验和效果

取合成产物若干, 用无水乙醇稀释成浓度分别为 0.5、1.0、1.5、3.0 g/L 溶液卷烟, 采用香料注射仪以每支 5 μ L 的剂量分别将 4 种浓度的产物溶液均匀地注射入参比卷烟烟丝中, 注射后, 于 22 °C 和相对湿度 60% 的条件下平衡 48 h, 由湖南中烟技术中心评委评吸。对照为加入同量无水乙醇经过相同条件处理的参比卷烟。评吸结果表明, 3-氧代- α -紫罗兰酮释放的香气与烟草固有香气协调, 能提高卷烟

的香气质,改善透发性,使卷烟烟气饱满,柔和,能改善口感,掩盖杂气,减轻刺激,卷烟燃吸品质明显提高,宜用量范围为0.5g/每箱烟

3. 小结

由以上实验数据得出,当 α -紫罗兰酮 1.92g (10 mmol), $\text{VO}(\text{acac})_2$ 0.13 g(0.5 mmol), 过氧叔丁醇 50 mmol, 在 35°C 下于 10 ml 丙酮中反应 6h, 3-氧代- α -紫罗兰酮的产率达到 58%。该产物能明显提高卷烟烟气的香气质,透发性和圆润感。

参考文献:

- [1] Bulman Page, P. C.; McCarthy, T. J.; Trost, B. M.; Flemming, I., Eds.; Pergamon. Comprehensive Organic Synthesis; Oxford, New York, Seoul, Tokyo, 1991;7, 83 - 117.
- [2] Leffingwell J C, Winston-Salem N C. Tobacco Product :US 3746010 [P] .1973-07 -17.
- [3] Liu J , Colmenares L U , Liu R S M. Fluorinated astaxanthins [J]. Tetrahedron Lett , 1997 , 38 (49) : 8495 -8498.
- [4] 杨华武, 陈勇, 朱卓越等, 环己烯衍生物烯丙位氧化的方法, 中国专利, CN101143810
- [5] Guirado A , Moss G P , Utley J H P. Selective allylic elect ro-oxidation of α - and β -ionones [J] . J Chem Soc ,Chem Commun , 1987 (2) : 41 -42.
- [6] Toshikazu H , Satoshi M , Makoto M , et al. Novel allylic oxidation of conjugate ketones with $\text{VO}(\text{OR})\text{Cl}_2$ [J] . Tet rahedron Lett , 1991 , 32 (14) : 1741-1744.
- [7] 黄永华, 龙 姝. 4-氧代- β -紫罗兰醇的合成[J]. 湖南轻工业高等专科学校学报, 2000, 2 (2) : 20 -23.
- [8] Kaiser R , Lamparsky D. Flavoring with 2 , 4 , 4-t rimethyl-3-(buta-1 , 3-dieny) cyclohex-2-en-one : US4311718 [P] . 1982- 01 -19.
- [9] Jaedicke H , Paust J . Int roduction of a carbonyl group into a cyclohexene ring : US 4209450 [P] . 1980-06-24.
- [10] 罗一鸣, 刘长辉, 唐瑞仁, 杨华武, 氯酸钠氧化法合成4-氧代- β -紫罗兰酮[J]. 中南大学学报(自然科学版), 2006 年6 月第37 卷第3 期
- [11] Oonishi I , Morishita I. Novel preparation of 4-bustituted bata-ionone derivative by oxidizing reacting of beta-ionone enol ester with oxygen : J P 56161370 [P] .1981-12-11
- [12] 杨华武, 唐瑞仁, 黎艳玲等, 一种氧化紫罗兰酮合成氧代紫罗兰酮的方法, 中国专利, CN101244993

自制吸附萃取搅拌棒结合气相色谱嗅觉计 (GC/O)、气质联用仪 (GC/MS) 分析肉味香精呈香组分

The identification of volatile meat flavor components using SBSE made by ourselves, GC/O and GC/MS

邓莉*, 邢海鹏, 郝学财, 刘娜, 郭聪

(天津春发食品配料有限公司研发中心 天津 300300)

Deng Li, Xing Haipeng, Hao Xuecai, Liu Na., Guo Cong,

(R&D Center of Tian jin Chun fa Food Ingredients Co.,Ltd. Tian jin ,300300)

摘要: 采用自制吸附萃取搅拌棒对肉味香精呈香组分进行提取, 利用热脱附仪进样, 结合气相色谱嗅觉计联用 (GC/O)、气质联用 (GC/MS) 双重定性方式, 令组分富集率更高, 检测结果更加真实、客观地反映出香精的香气组成。为高级香精的调配及仿香工作提供有力依据。实验仪器采用在色谱柱出口安装“石英三通”进行 1: 1 分流, 样品被同时引入质谱和嗅觉计, 避免了单一定性方法存在的不足。其中, 两种方法共同检出的物质 31 种, 仅 GC/O 检出的物质 24 种, 仅 GC/MS 检出的物质 26 种。

关键词: 搅拌棒吸附萃取 (SBSE); 热脱附仪 (TD); 气相色谱嗅觉计联用 (GC/O); 气质联用 (GC/MS); 肉味香精; 呈香组分

Abstract: Extracting meat flavor aroma components with stir bar sorptive extraction (SBSE) made by ourselves, introducing sample by thermal desorber(TD) and identifying by the cooperation of gas chromatography /olfactory(GC/O) and gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS), we got the qualitative results that reflected more truly and objectively the composition of flavor. It provided powerful data support to blend and copy of advanced flavor. Quartz three-way pipe was installed at the exit of column to bring sample(1:1) to spectrometry and olfactory at the same time, which avoided the disadvantage of using only one analytical method. Among them, We can detect 31 compounds by both GC/O and GC/MS, 24 only by GC/O and 26 only by GC/MS.

Key words: Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE), Thermal Desorber(TD), Gas Chromatography /Olfactory (GC/O), Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS), Meat Flavor; Aroma Component

肉味香精在肉制品加工中起着至关重要的作用: (1) 丰富和增强产品的特征香气; (2) 提高产品的吸引力; (3) 协调产品的香气使口感更加圆润、丰满; (4) 掩蔽或修饰产品本身固有的风味; (5) 降低产品成本^[1]。因此, 肉制品行业的发展与肉味香精的研发息息相关, 而肉味香精呈香组分的分析将为香精的研发提供重要依据。

搅拌棒吸附萃取 (Stir bar sorptive extraction, SBSE) 是在固相微萃取 (Solid Phase Micro Extraction, SPME) 基础上发展起来的一种新型样品前处理技术。该技术与固相微萃取一样具有简单、高效、快速、重现性好、绿色无溶剂等优点, 并在萃取过程中吸附搅拌棒自身完成搅拌, 避免了在Fiber SPME中搅拌子的竞争吸附, 而且其萃取固定相的体积达SPME的50倍以上, 因此, 富集倍数明显提高^[2-4]。目前, 国内尚无此类商品生产, 国外价格昂贵。因此, 对SBSE技术的研究是一项十分具有创新性和实际意义的工作。

热脱附作为一种快速样品预处理技术, 近年来一直受到分析工作者的关注, 在各行业的应用报道逐年增加, 但对咸味香精的风味研究尚未见报道^[5]。

在仪器检测中, 气质联用 (GC/MS) 无疑是香气分析的首选, 由于 GC 具备对低沸点组分良好的分离性能, 结合 MS 对于未知化合物强大的定性能力, 使得 GC / MS 在香气分析中一直发挥着巨大作用。但香气物质中特征化合物大多数阈值很低, 在进行香气研究时, 即使利用目前最灵敏的检测器, 其灵敏度未必能超过鼻子, 鉴定出所有化合物^[6-8]。此外, GC / MS 无法用来确定各种香气化合物对总体香气贡献的大小。GC / O 技术是解决这些问题的一种理想方法, 气相色谱嗅觉计联用 (GC/O) 是指气相色谱与嗅觉计相结合, 香气组分首先通过 GC 进行分离, 再从嗅觉计出口逐一流出, 由嗅辩人员嗅闻加以判断、确定物质种类^[9]。它属于一种感官检测技术, 即气味检测法, 其中人的鼻子起到了检测器的作用。它是用来研究香气的有力工具, 对鉴别特征香气化合物、香气活性化合物及用来确定各组分的香气强度及贡献很有价值。GC / O 作为一种新型的香气分析方法, 在国外应用较多, 但国内的相关研究并不多见, 特别是利用 GC / O、GC / MS 两种方法结合进行对比分析的尚未见报道。

1 实验部分

1.1 实验材料

肉味香精 (来源于市场上认可率较高的香精产品); 羟基封端二甲基聚硅氧烷(OH-PDMS) (分析纯,

山东莱州鑫泰化工有限公司)；甲基三甲氧基硅烷(MTMS) (分析纯, 湖北武大有机硅新材料有限公司)；含氢硅油(PMHS) (分析纯, 武汉化工厂)；三氟乙酸(TFA) (分析纯, 天津化工厂)；二氯甲烷(分析纯, 天津科密欧化学试剂有限公司)

1.2 实验仪器

气相色谱-质谱联用仪 (Agilent 公司 5975-6890N 型)；嗅觉计 (瑞士 BRECHBUHLER 公司 sniffer9000 系列)；热脱附仪 (美国 MARKES 公司 UNITY)；石英毛细管色谱柱 (Agilent 公司 HP-5ms 30 m×0.25 mm, 0.25 μm)

1.3 实验方法

1.3.1 吸附萃取搅拌棒的制备:

1.3.1.1 棒体的制作:

选取长25mm, 直径为3mm的的玻璃管, 利用酒精喷灯将比棒体略短的铁芯封于管内。

1.3.1.2 棒体表面的预处理:

依次用CH₂Cl₂、1 mol/L NaOH溶液、0.1 mol/L HCl溶液对棒体表面进行处理, 最后用去离子水冲洗至中性, 在150 °C氮气流下烘干。

1.3.1.3 棒体涂层的制作:

取 400mg OH-PDMS 加 CH₂Cl₂ 稀释, 依次加入 100mg PMHS、100ul MTMS、80u TFA 充分搅拌, 放入超声清洗仪中超声 30 min 以辅助反应进行。加热除去部分溶剂, 待溶液成为具有一定黏度的溶胶时, 将步骤 1.3.1.2 中处理过的搅拌萃取棒, 置于溶胶中 30min 取出, 完全干燥后, 玻管外表面上形成溶胶凝胶涂层, 如此反复多次, 直至涂层达到所需的厚度为止, 室温下成胶 12 小时。其反应过程如图 2 所示。

1.3.1.4 棒体涂层的老化及杂质去除:

在氮气保护下, 进行程序升温老化 150°C 保持 4 h, 180 °C 保持 4 h, 然后 220°C 保持 60min, 即完成老化。最后将制作好的搅拌萃取棒在 80 °C 蒸馏水中恒温浸泡 2 h, 50 °C 二氯甲烷回流 2 h, 氮气吹干, 以除去涂层中未参加反应的物质。

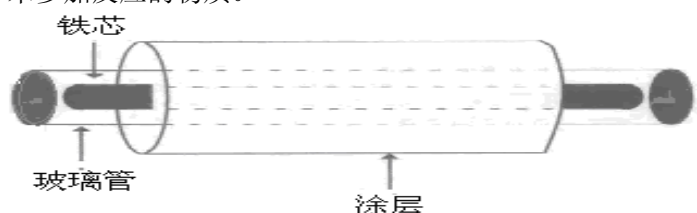


图 1 吸附萃取搅拌棒

Fig. Sorptive extraction stir bar

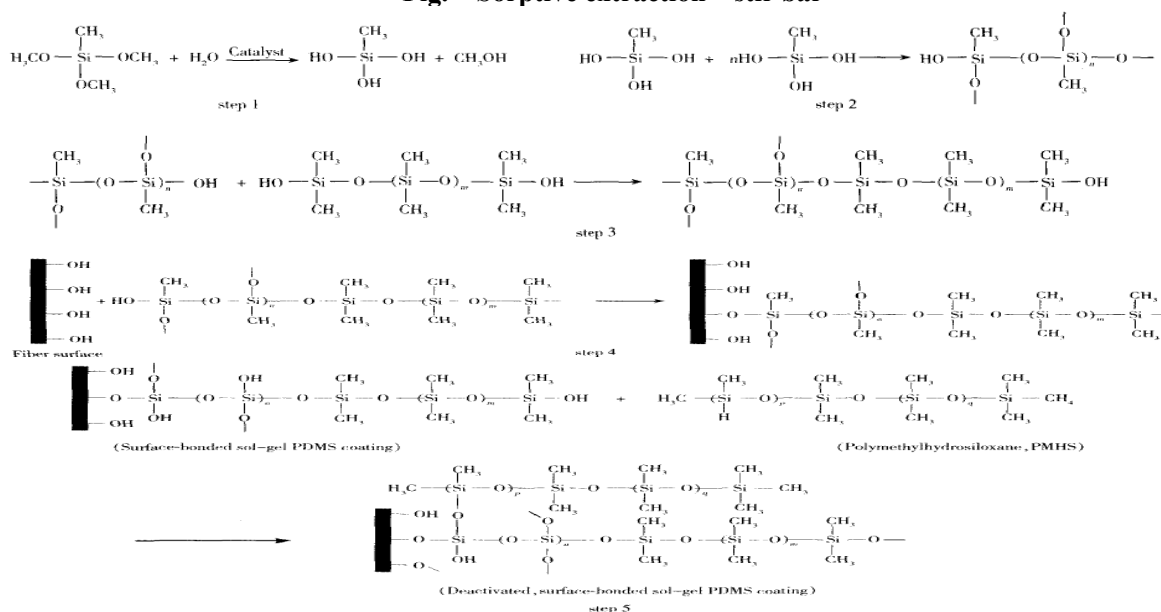


图 2 溶胶-凝胶法制备 SBSE 涂层

Fig. The preparation of SBSE coating by sol-gel method

1.3.2 搅拌棒吸附采样:

取肉味香精 10g, 加入适量去离子水搅匀, 置于 50ml 顶空瓶中, 放入吸附萃取搅拌棒, 搅拌速度 500r/min, 萃取, 并对萃取温度及时间进行单因素考察。

1.3.3 热脱附仪进样:

将搅拌棒装入热脱附仪, 预吹 12min, 初级脱附, 脱附时间 5min, 冷阱捕集温度 -8°C , 脱附温度 160°C , 脱附时间 2min。传输线温度 120°C , 加热阀温度 120°C , 同时, 对初级脱附温度进行单因素考察。

气质联用仪参数设置:

进样口温度: 230°C 不分流 ; 柱流速: 1.0 mL/min ;
电离电压: 70 eV ; 质量扫描范围: $40\text{--}400\text{ u}$
离子源温度: 230°C ; 四极杆温度: 150°C ;
辅助温度: 230°C ; 检索谱库: NIST05、自建谱库
程序升温梯度: 40°C 保持 3 min, 以 3°C/min 升至 150°C , 保持 1 min, 再以 10°C/min 升至 250°C , 保持 10 min

1.3.4 分析检测:

本实验仪器采用在色谱柱出口安装“石英三通”进行 1:1 分流, 并通过多次实验调整两根出口毛细管长度, 以保证样品被同时引入 MS 和 Olfactory (见图 3), 令两种检测的出峰时间尽量保持一致, 利于两种结果的观察比对。

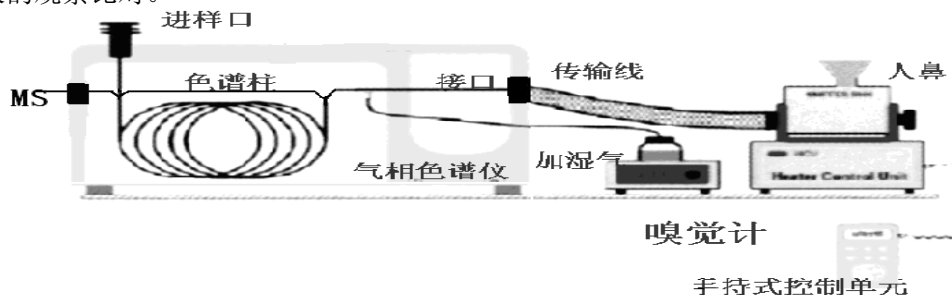


图 3 GC/MS—Olfactory 装置图

Fig. 3 Figure of GC/MS—Olfactory instrument

2 实验结果与讨论

2.1 考察主要影响因素, 确定最佳前处理参数

2.1.1 不同搅拌萃取温度对萃取效果的影响:

在萃取温度的优化实验中选择 20°C , 30°C , 40°C , 50°C , 60°C 五个梯度进行实验, 萃取 60 min, 每个梯度重复 2 次取平均值。各萃取温度下得到的呈香组分总峰面积如图 4 所示。结果表明, 低于 50°C 时温度对萃取量的影响不大, 提高温度并没有令萃取量显著增加, 超过 50°C 后, 萃取量反而减少, 主要由于随温度的提高呈香组分在水相中的分配比例降低, 部分挥发到气相当中, 根据萃取非平衡理论 [10], 固定萃取时间和搅拌速度不变, 固定相涂层上待测物的吸附量正比于其在液相中的浓度。因此, 选择室温作为最佳实验条件。

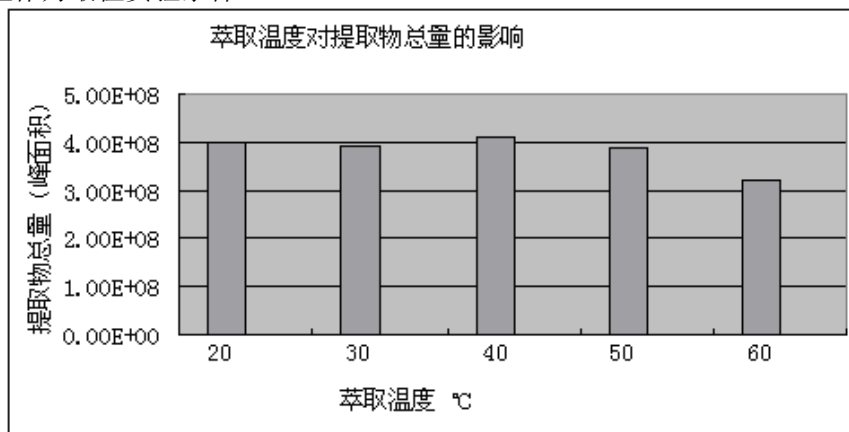


图 4 萃取温度对萃取效果的影响

Fig. 4 Effect of extraction temperature on extraction efficiency

2.1.2 不同搅拌棒萃取时间对萃取效果的影响:

本实验选择 15 min、30 min、60 min、90 min 4 个时间梯度，室温萃取，每个梯度重复 2 次取平均值，各萃取时间下得到的呈香组分总峰面积如图 5 所示。结果显示，起初萃取量随着时间的延长而增加，60min 后再增加萃取时间，萃取量并无明显提高。可见 60min 时已达到萃取平衡，能够将香气成分充分萃取。因此，选择 60min 作为最佳实验条件。

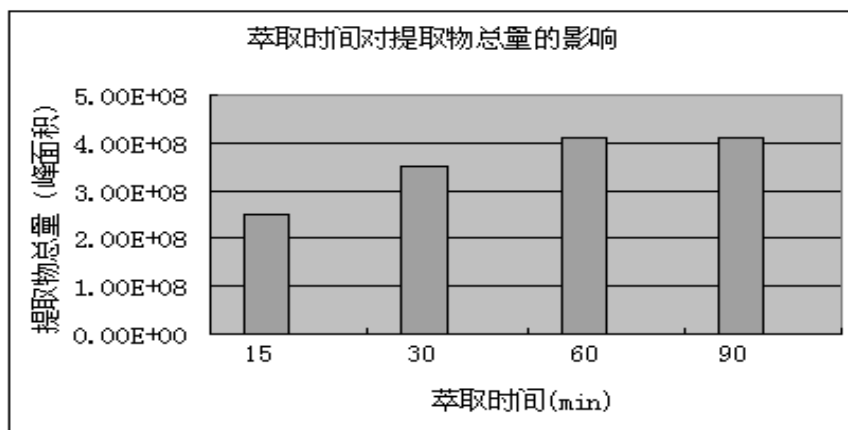


图 5 萃取时间对萃取效果的影响

Fig. 5 Effect of extraction time on extraction efficiency

2.1.3 热脱附仪不同初级脱附温度对前处理效果的影响

将吸附管装入热脱附仪，预吹 2min，初级脱附温度分别选择 120℃、150℃、180℃，脱附时间 5min，比较不同初级脱附温度对提取物总量的影响，如图 6 所示。结果表明，脱附温度为 150℃ 时可将吸附管中的吸附组分充分脱附。此外，过高的温度还可能引起组分间的化学反应，令结果失真。同时，由于各种吸附剂热稳定性的限制，所选热脱附温度必须低于其极限使用温度。

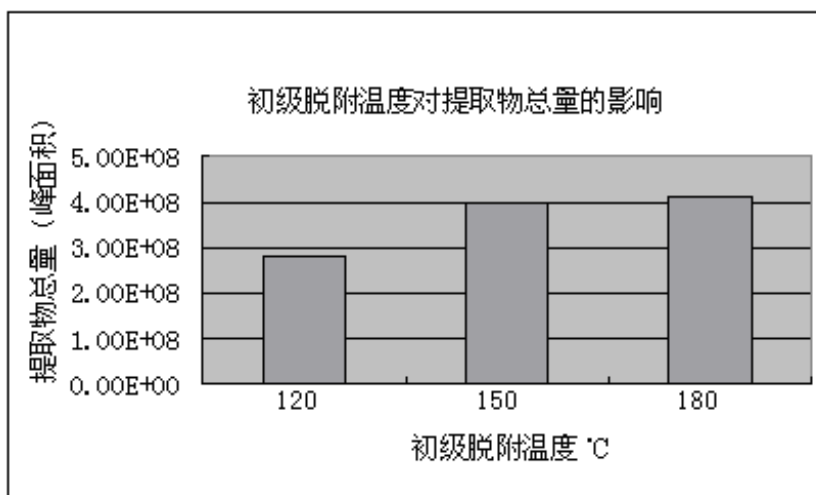


图 6 初级脱附温度对提取物总量的影响

Fig. 6 Effect of desorption temperature on extraction efficiency

2.2 分析结果

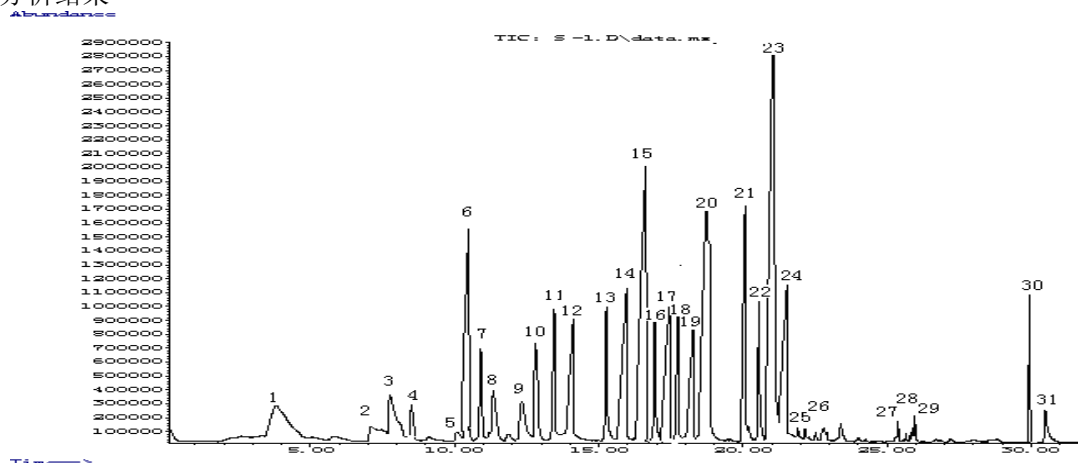


图7 肉味香精呈香组分的GC/MS总离子流图

Fig.7 Total ion chromatogram of meat flavor aroma components

肉味香精分析的质谱总离子流图如图7所示,MS结果通过对NIST05库和自建库进行谱库检索得到;GC/O结果由训练有素的调香人员嗅闻辨别得到,对于质谱库中不存在物质通过质谱解析加以确认,结果见表1。

表1 肉味香精呈香组分GC/MS、GC/O分析结果

Table 1 Qualitative results of meat flavor aroma compounds by GC/MS and GC/O

峰号	化合物	保留时间 (min)	峰面积百分比 (%)	谱库检索匹配度 (%)	由GC/MS定性检出	由GC/O定性检出	GC/O中特征香气
1	乙酸 acetic acid	3.818	3.08	86	√	√	醋酸味
2	二甲基二硫醚 methyl disulfide	7.119	1.59	93	√	√	洋葱香气
3	甲基吡嗪 pyrazine,methyl-	7.772	2.37	93	√	√	烤香、坚果香
4	二甲基吡嗪 pyrazine,dimethyl-	8.626	1.89	94	√	√	烤香
5	3-甲硫基丙醛 propanal,3-(methylthio)-	10.089	0.43	97	√		
6	2-巯基-3-丁醇 2-Mercapto-3-butanol	10.562	7.20			√	烤肉香、葱蒜气息
7	2-巯基-3-丁酮 2-Mercapto-3-butanone	11.063	3.56			√	类似硫磺样气息
8	3-(2H)-噻吩酮 dihydro-3(2H)-thiophenone	11.546	2.18	95	√	√	肉样、洋葱样香气
9	3-甲硫基丙醇 1-propanol,3-(methylthio)-	12.339	2.11	95	√	√	硫化物类葱蒜气味
10	三甲基吡嗪 pyrazine,trimethyl-	12.819	2.55	97	√	√	烤香
11	乙酰基吡嗪 acetylpyrazine	13.447	3.05	94	√	√	烤香、坚果香
12	2-羟基-3-甲基-2-环戊烯-1-酮 2-cyclopenten-1-one,2-hydroxy-3-methyl-	14.150	3.08	94	√	√	焦糖、面包香气
13	四甲基吡嗪 pyrazine,tetramethyl-	15.267	2.56	95	√	√	烤香、坚果香
14	4-羟基-2-乙基-5-甲基-3(2H)-呋喃酮 4-Hydroxy-2-Ethyl-5-Methyl-3(2H)-Furanone	16.043	5.28	94	√	√	焦甜香
15	2-甲基-3-呋喃硫醇 2-Methyl-3-Furanthiol	16.503	9.06	96	√	√	肉香、烤香
16	甲基(2-甲基-3-呋喃基)二硫醚 *methyl-(2-methyl-3-furyl)disulfide	16.912	2.21	98	√	√	肉汤、坚果类香气
17	2,5-二甲基-3-呋喃硫醇 2,5-Dimethyl-3-Furanthiol	17.206	5.82			√	强烈肉香
18	1,6-己二醇 1,6-Hexanediol	17.802	3.32			√	肉香、蘑菇香
19	2-异丁基-4,5-二甲基噻唑啉 2-isobutyl-4,5-dimethyl-3-thiazoline	18.203	3.41			√	烤食物香味,坚果味,

20	乙基麦芽酚 4H-pyran-4-one,2-ethyl-3-hydroxy-	18.808	8.88	94	√	√	焦糖香
21	大茴香醛 benzaldehyde,4-methoxy-	20.065	3.62	96	√	√	辛香、大茴香 香气
22	4-乙基愈创木酚 phenol,4-ethyl-2-methoxy-	20.553	2.33	92	√	√	辛香、丁香香 气
23	4-甲基-5-噻唑乙醇 5-thiazoleethanol,4-methyl-	21.050	12.56	86	√	√	肉香、烤香气 息
24	糠醛 Furfural	21.501	6.32	90	√	√	甜香、焦糖香
25	BHT dibutyl hydroxyl toluene	23.021	0.17	87	√		
26	丁香酚 Eugenol	22.530	0.17	92	√		
27	姜黄烯 benzene,1-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-4-methyl-	25.393	0.39	93	√		
28	姜烯 1,3-cyclohexadiene,5-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-2-methyl	25.657	0.13	95	√		
29	没药烯 cyclohexene,1-methyl-4-(5-methyl-1-methylen-4-hexenyl)-(s)-	25.972	0.54	86	√		
30	二糠基二硫醚 bis(2-furfuryl)disulfide	30.042	2.59	82	√	√	烤香、肉香
31	邻苯二甲酸乙酯 diethyl phthalate	30.716	0.13	90	√		

2.3 质谱解析鉴定质谱库中不存在物质

其中，调香人员通过 GC/O 嗅辨检出的巯基丁醇、巯基丁酮等物质由于 NIST05 库中不存在质谱数据，不能进行谱库检索，可以利用质谱解析[11]理论进行定性。

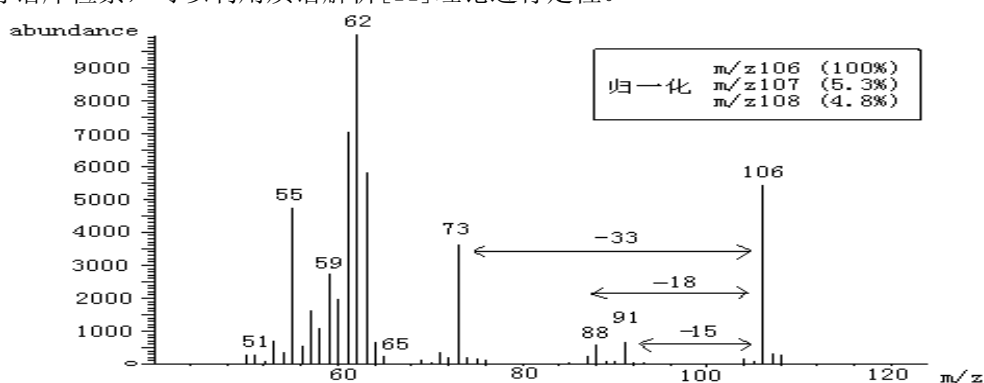


图 8 总离子流图中 6 号峰质谱图

Fig.8 Mass spectrum of No. 6 peak on TIC

例如，图 7 中 6 号峰质谱图如图 8 所示，谱图中质量数最高的峰为 m/z 106，与碎片峰 m/z 91 相差 15u，与碎片峰 m/z 88 相差 18u，为合理中性丢失，据此判断 m/z 106 为分子离子峰（偶数），且主要碎片离子均为奇数（ m/z 62 除外），可判断未知物中不含元素 N；根据分子离子峰的同位素 M+2 丰度为 4.8%，可知未知物中含有 1 个 S 和 1 个 O；根据 M+1 丰度为 4.8%，可知未知物中含有 4-5 个 C，在上述 C、S、O 数量范围内，分子量 106u 合理的化学式只能为 $C_4H_{10}SO$ 。按照式（1）计算环加双键值为 0，说明未知物中不含环或双键结构，同时，由碎片峰 M-33(m/z 73)可知未知物中含-SH，由碎片峰 M-18(m/z 88)可知未知物中含-OH。因此，推断此物质为巯基丁醇，与 GC/O 分析结果一致。

$$\text{分子的环加双键值} = (2x+2+z-y) / 2 \quad \text{——式 (1)}$$

其中：X=C、S、Si； Y=H、F、Cl、Br、I； Z=N、P

据此方法，其他 NIST05 库中无质谱数据且被 GC/O 定性检出的物质均可加以推断及确认。

3. 结论

本实验通过溶胶-凝胶法制备的聚二甲基硅氧烷涂层吸附萃取搅拌棒，对吸附质有强烈的吸附能力且成本低廉，适用于香精呈香组分的提取。配合热脱附仪使用具有简单、快速、绿色无溶剂等优点。该方法相比于传统的固相微萃取（SPME）具有更大的萃取固定相体积，因此，具有较高的灵敏度，特

别适合对低含量组分的检出，在香精香料分析及食品分析领域的应用前景广阔。

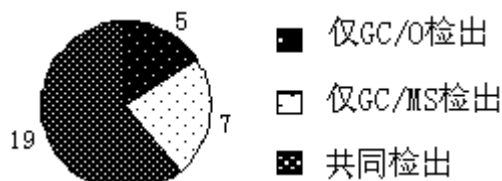


图9 GC/O、GC/MS 检出组分数量

Fig. 9 Number of detected compounds by GC/O and GC/MS

图9及表1结果显示：利用GC/MS、GC/O两种方法共检出物质31种。其中，质谱检出组分26种，闻香器检出组分24种。两种方法均能检出的19种物质可以确定为此种肉味香精的基本组成，例如其中的3-甲硫基丙醇、2-甲基-3-呋喃硫醇、乙基麦芽酚、4-甲基-5-噻唑乙醇等。仅GC/MS检出而GC/O未检出的物质共7种，为香精中含量相对较低的物质，对呈香贡献不大。可能由各组分间的反应、非香精类食品添加剂的加入、包装材料的污染或天然香料的带入等原因造成，如其中的3-甲硫基丙醛可能由3-甲硫基丙醇氧化而来；BHT为抗氧化剂；邻苯二甲酸乙酯为塑料容器制造过程中添加的增塑剂；而姜黄烯、没药烯等可能由天然辛香料带入。仅GC/O检出而GC/MS未检出的物质共5种，可判断为香精中低含量、低域值的呈香组分或含量高但NIST质谱库中不存在的物质，此类物质往往对香气形成具有重要贡献，因此不可忽视，如其中的巯基丁醇、巯基丁酮、2,5-二甲基-3-呋喃硫醇等是肉味香精的关键性香料。可见，GC/O的分析结果是对GC/MS结果的重要补充。

由于GC/O和GC/MS两种检测方法对于化合物的鉴别分别依赖于人的感官判断和仪器的谱库检索，两者的准确性均在一定程度上存在不足。本文实验仪器采用在色谱柱出口安装“石英三通”进行1:1分流，样品被同时引入MS和Olfactory，通过对两种分析方法的结合，消除了两者的检测盲点，实现优势互补。同时，对于NIST05库中无质谱数据且被GC/O定性检出的物质，利用质谱解析理论加以确认，令检测结果更加真实、准确，为高级香精的调配及仿香工作提供有价值的参考数据。

参考文献：

- [1] 孙宝国. 香精概论 [M]. 北京： 化学工业出版社, 1996, 1-18
- [2] Baltussen E, Sandra P, David E, Cramers C, J. Microcol. Sep. , 1999, 11: 737
- [3] Frank D, Tienpont B, Sandra P. LCGC North America, 2003, 21, 2: 1
- [4] Wenmin Liu, Hanwen Wang, Yafeng Guan. J. Chromatogr. A 2004, 1045: 15
- [5] 肖作兵. 朱建才. 国内外咸味香精的制备技术概况[J]. 香料香精化妆品, 2009, 6: 37-40
- [6] Magnus Jezussek, Bienvenido O J. Peter Schieberle. Comparison of key aroma compounds in cooked brown rice varieties based on aroma extract dilution analyses [J]. J Agric Food Chem, 2002, 50:1101-1105.
- [7] Jianming Ling , Russell L R. Characterization of aroma - impact compounds in cold - pressed grapefruit oil using time - intensity GC-olfactometry and GC/MS[J]. Flavor Fragrance , 2001, 16: 457— 463.
- [8] Kenji Kumazawa , Hideki Masuda. Identification of potent odorants in different tea varieties using flavor dilution technique [J]. J Agric Food Chem, 2002, 50: 5660 -5663.
- [9] 宋国新, 余应新, 王林祥, 陈正夫. 香气分析技术与实例[M]. 北京： 化学工业出版社, 2008, 33-44.
- [10] Ai J. Anal. Chem. , 1997, 69(16): 26~30
- [11] 王光辉. 有机质谱解析[M]. 北京： 化学工业出版社, 2007

中国岩兰草的现状

肖婷婷 肖瑜

福建南平利宇香精有限公司

The status of the Chinese vetiver

Xiao Tingting Xiao Yu

Fujian Nanping Li Yu Flavor Co., Ltd.

摘要: 本文针对岩兰草在我国目前的实际情况, 资源分布, 岩兰草精油的品质以及对该品种的发展前景进行阐述。

关键词: 资源 ; 品质; 前景

Abstract: In this paper, vetiver in our present situation, resource distribution, vetiver oil quality and future development of the species described.

Keywords: Resource, Quality, Prospects

1. 资源

1.1. 品种。岩兰草 (vetiver) 禾本科 (Gramineae) 须芒草属 (Andropogon muricatus) 植物。秆高 1~2 m; 叶片条形 (如图 1); 根直径一般为 0.2~0.8 mm, 分枝以多数轮生, 主要靠分蘖繁殖 (如图 2); 岩兰草能适应各种土壤环境条件下生长。是一种稠密簇生、无芒、细长、柔韧而光洁无毛的多年生禾草, 依靠根的分蘖或插枝繁殖。

1.2. 岩兰草除了中国以外, 亦产于印度尼西亚、海地等国。

1.3. 岩兰草取香的部分为根, 冬季挖取、洗净、凉干, 经水蒸气蒸馏获取岩兰草精油。因草根的质量差异而得率有所不同, 一般为 1~4%; 典型的也有超过 4%。岩兰草挥发油分为轻质油和重质油。在水蒸气蒸馏的过程中, 油、水混合的溜出物 (按前后) 分别在轻质油油水分离器和重质油油水分离器里分离, 轻质油比水轻, 约占全部挥发油的 3/5; 重质油比水重, 约占 2/5。

1.4. 在自然条件下岩兰草很少结实。但也有资料报道通过岩兰草种子繁殖技术成功培育出岩兰草幼苗, 这也表明岩兰草属于能够进行有性繁殖的品种, 将为国内外的专家、学者提供崭新的研究领域。

1.5. 岩兰草没有根茎或匍伏茎, 故不会成为农田杂草。岩兰草也极少感染或传播病虫害, 多数能生活几十年甚至数百年。

1.6. 岩兰草的应用广泛, 它将成为 21 世纪最有价值的天然香料品种之一。从上世纪 50 年代起, 岩兰草在福建、广东等地种植, 作为香料植物, 提取根的芳香精油。上世纪 80 年代以后, 在华南、华东、西南等地岩兰草被广泛用于治理水土流失。由于岩兰草生长快, 抗性强, 具有很好的穿透性好、抗拉强度高优点, 可在气温为 -10℃~45℃ 和年降雨量 300mm~6000mm 的地区生长, 岩兰草对地表土壤流失的截留量为 600g/m², 同时岩兰草还是品质优良、高产稳产的青饲料作物、优质手工编制材料和工业造纸的原料。



岩兰草

图 1



岩兰草根

图 2

2. 岩兰草精油的品质。

2.1. 岩兰草精油的外观为浅棕色至深棕色粘稠液体，有非常浓郁、香甜、带些土腥味的木香。

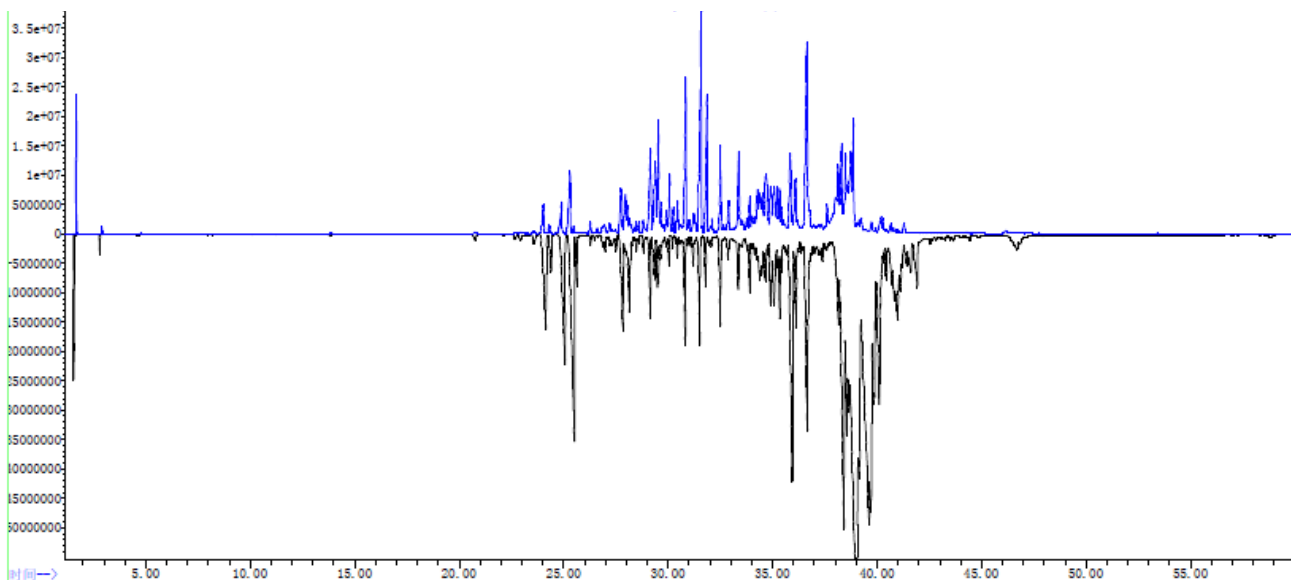
2.2. 岩兰草精油的质量数据：

2.2.1. 相对密度(20/20℃)：0.985~1.020

2.2.2. 折光指数(20℃)：1.5200~1.5300

2.2.3. 旋光度(20℃)：+17°~+46°。

2.2.4. 轻质油及重质油色谱对比图像：（两图倒置叠加比较）



2.2.4.1. 轻质油和重质油的主要成分对比表：

组分名称	轻质油 (%)	重质油 (%)
岩兰草烯	9	11.5
古芸烯	2.1	0.48
朱栾烯	16.4	2.5
岩兰草醇	11	6.8
环氧古芸烯	-	1.1
岩兰草酮	5.5	11.5
岩兰草酯	--	3.1
岩兰草酸	--	7

经过对轻质油和重质油色谱图的比较可以看出，成分虽相近，但组分有所不同，重质油的后馏分多，故两者之间的香气有所不同：

轻质油偏于木香，稍稀，为浅棕色；

重质油偏重于壤香，粘稠，为深棕色。

通常的岩兰草精油是轻质油和重质油的混合物。

3. 前景

3.1. 岩兰草是一种十分重要的天然香料。岩兰草精油在香水、芳香疗法、SPA 等诸多方面有作用；岩兰草的芳香成分可用防治蛀虫；应用于皮肤疗效；夏季驱蚊虫，选择以纯植物的芳香来规避蚊虫的骚扰。另外，草根本就是植物根基，且有聚四方资源之特性，且在西方芳疗的研究中，也有指出岩兰草能强化个人气场与能量的研究。这是一种纯净的泥土芳香，在层层厚实的土木香里带有一丝丝的青苔味，那是相当独特的一种精油。虽然精油取材自草，但是却有深厚的底蕴，不愧让众多爱好芳香的人们将其称为——穷人的檀香。

3.2. 岩兰草精油稠性大，挥发性低，留香持久，是一种很好的定香剂。在市场中有到许多大品牌的香水中都能看到岩兰草的成分，可以带出一种具有浑厚的香味。

3.3. 在国外，人们称岩兰草油为宁静之油，也就是镇定之油，具有良好的镇定效果。能让人心情平和，情绪平稳，让人的红血球带氧力提升、内分泌系统强化，在人面对强大的压力下，能以平静的心情来面对。岩兰草精油对于皮肤抗菌、抗痉挛、促进细胞再生有着独特的效果，岩兰草精油可用于老化、松弛、皱纹性的肌肤；更可用于疤痕、面疱、伤疤等肌肤。使用添加岩兰草精油作按摩后，可促进身体细胞再生及愈合，用于妊娠纹、除豆、痔疮等有很好的治疗效果。

3.4. 发展岩兰草投资少、周期短、收效快，将获得更大的生态效益、经济效益和社会效益。

从上述几点就可以看出，岩兰草的发展前景依然广阔。但是，近年来由于配制品充斥市场，而真正的岩兰草精油却前景堪忧，主要是因为农产品价格看涨和农业劳动力成本上升所致。市场经济对物质本身的商品价值取向，是近年来岩兰草产品发展滞后的重要原因。但凡物有所值，更应正本清源。

超声波辅助萃取天然植物香料研究进展

余汉谋 姜兴涛 肖海鸿 李庆廷 燕飞宇

深圳波顿香料有限公司, 深圳, 518051

摘要: 超声波辅助萃取技术近年已经在天然植物香料萃取方面得到越来越广泛的应用。本文对超声波(溶剂法)萃取、超声强化超临界 CO₂ 萃取和超声-微波协同萃取在天然植物香料提取方面的最新应用及研究进展进行了总结, 同时对超声波辅助萃取天然植物香料前景进行了展望。

关键词: 超声波; 萃取; 天然香料; 香料植物

Research Progress in Ultrasound Assisted Extraction of Natural Plant Flavor

Yu han-mou Jiang Xing-tao Xiao Hai-hong Li Qing-ting

R&D Center of Shenzhen Boton Flavors & Fragrances Co., Ltd, Shenzhen 518051, China

Abstract: Ultrasound assisted extraction technology was applied widely in natural plant flavor extracts in recent years. In this paper, the latest application and research progresses of ultrasound solvent extraction, ultrasound assisted supercritical fluids extraction and ultrasonic-microwave synergistic extraction of natural plant flavor were summarized, the prospect of ultrasound assisted extraction in natural plant flavor was prospected.

Keywords: Ultrasound; extraction; Natural Flavors; aromatic plant

天然植物香料是指取自自然界的、保持原有植物香气特征的香料。通常以香料植物的花、果、叶、枝、皮、根或地下茎、种籽等含香器官及树脂分泌物为原料, 制成精油、浸膏、酊剂、香脂、油树脂和净油等香料制品。

我国有着丰富的香料植物资源, 约有 500 余种芳香植物广泛分布于 20 个省市, 但只有少数被开发利用。据不完全统计, 现已开发利用的仅 200 种, 亟待开发的约 100 种^[1]。但是相对于丰富的资源, 我国的天然香料提取分离技术还处于相对落后的状态。目前传统的天然植物香料提取方法主要有水蒸气蒸馏法、浸提法、压榨法、吸收法、结晶法等。在这些传统提取方法过程中, 不可避免要经历加热过程, 从而导致天然植物香料中某些热敏性或化学不稳定性成分被破坏, 因而改变了天然香料的独特香韵和风味。因此, 探索新型天然香料提取方法减少对有效成分的破坏, 有效提取出香成分, 使天然植物香料的香气更加纯正, 成为了近些年来我国天然香料行业的发展方向, 而超声波辅助萃取(Ultrasound Assisted Extraction, UE)技术便是其中的研究热点。

超声波辅助萃取是利用超声波辐射压强产生的强烈空化效应、扰动效应、高加速度、击碎和搅拌作用等多级效应, 增大物质分子运动频率和速度, 增加溶剂穿透力, 从而加速目标成分进入溶剂, 促进提取的进行^[2]。超声波辅助萃取与传统的萃取技术相比, 具有快速、价廉、高效的优点; 与超临界流体萃取相比, 超声波萃取的设备更加简单, 可以提取多种化合物, 无论其极性如何, 因为超声波萃取可用任何一种溶剂; 与微波辅助萃取相比, 超声波萃取的步骤更少, 萃取过程简单, 不易对萃取物造成污染, 更安全, 某些情况下的萃取速度更快。

目前, 超声波辅助萃取技术在食品工业中的应用主要集中在天然香料、功能性油脂、多糖及蛋白质的提取等, 其中天然植物香料提取方面的研究异常活跃。

1 超声波(溶剂法)萃取天然植物香料研究进展

天然植物香料通常是由数十种以上的有机化合物组成的混合物, 不同香料植物的可有效利用部位不同, 不同部位的致香成分储藏形式也不同, 因此超声波萃取方法及特点也各不相同, 本文按植物器官分类加以论述。

1.1 香料植物根和根茎的超声波萃取

作为一类重要的天然香料来源植物, 姜科植物的超声波辅助萃取研究较多。姜科植物的致香成分主要存在于根部。陈晓颖^[3]比较了超声提取法与水蒸汽蒸馏法提取的姜黄挥发油化学成分及其相对含量, 发现超声提取无须加热、提取时间短, 提取效率高, 可代替水蒸汽蒸馏法用于姜黄挥发油的提取分离。全其根等^[4]利用超声波法提取高良姜中油树脂, 当 pH=7, 溶剂为 70% 乙醇, 超声波提取时间为 130min 时, 高良姜油树脂提取率约为 1.7%。刘洪玲^[5]采用超声波-水蒸气回流法从郁金香中提取挥发油, 收油率为 0.31%, 并检测出两种没有报道过的主要成分 2-(四癸氧基)-乙醇(4.88%)和十七烷胺(9.48%)。

另外, 其他香料植物的根和根茎的超声波辅助提取香料也有研究。张振凌等^[6]采用超声浸提法制

备当归流浸膏的工艺不仅提高了浸提效率,缩短了生产周期,还提高了总固体含量和有效成分阿魏酸含量。丁玉萍等^[7]研究了超声波溶剂萃取法提取千年健挥发油。

1.2 香料植物叶的超声波萃取

韦小杰等^[8]以八角树枝叶为原料,比较了水中蒸馏、超声波辅助提取及微波辅助提取三种方法提取八角油,发现超声波辅助提取八角油时间缩短1h,出油率提高了约13%,而反式茴香脑含量无明显变化。于海莲等^[9]首次采用新型的超声波萃取技术对洋葱中精油进行提取,最佳优化工艺条件为:正己烷作萃取剂,液料比为3:1、超声波功率为250W、超声波萃取时间为7min,酶解时间为70min,洋葱精油的收率为0.33%。Athanasios C Kimbaris等^[10]同时用水蒸馏提取法、微波辅助水蒸馏提取法和超声提取法提取大蒜中的挥发油,比较发现超声提取法可减少对热敏性化合物的破坏,并且实验操作简单,具有工业化生产的价值。陈丛瑾等^[11]采取乙醚超声波萃取提取香椿芽挥发油,萃取率为7.7ml/kg,主要成分为倍半萜类化合物。

陆占国等^[12]以乙醚为溶剂,采用超声波法萃取香菜芳香精油,最佳条件为25℃,100min,功率60%,得油率0.284%,其中精油的主要成分为酯类化合物(47.569%)。夏涛等^[13]研究了不同浸提方式对茶汤香气品质和键合态糖苷类香气前体浸出的影响。结果表明超声波浸提茶汤中香气精油总量和香气组分均高于常规浸提茶汤,香气指数达到常规浸提法的1.80倍。

1.3 香料植物花的超声波萃取

郑敏燕等^[14]用超声波法提取丁香花中的丁香油,结果表明超声波提取收率比水蒸气蒸馏高7.8%,平均收率达12.57%,同时研究发现,超声波提取最佳时间为30min,重复一次效果更佳。张照红等^[15]进行了超声波辅助萃取薰衣草精油研究,优化的最佳工艺为:料液比为1:12、粉碎粒度为40目、超声时间为30min。在此条件下得率为1.09%,相对传统的提取方法,超声波辅助溶剂萃取法大大提高了能提高有效成分的溶出速度和溶出次数,缩短提取时间,节省溶剂的消耗,提出率高。

1.4 香料植物皮的超声波萃取

仝其根等^[16]对在超声波作用下从桂皮中浸提有效成分,工艺条件为超声提取功率0.75kW,超声时间60min,桂皮与浓度为75%的乙醇用量之比为1:6(w/v),提取率为18.95%。马丽萍等^[17]报道了超声波处理能使从柑桔皮渣中联合提取精油的得率相对直接蒸馏和添加NaCl高,达约2.71%,GC-MS分析精油最主要的组分为柠檬烯(81.7%)。袁谋村等^[18]通过超声溶剂提取法与直接浸泡,加热蒸馏,水蒸汽蒸馏、索氏提取等经典方法从桔皮中提取桔皮精油,研究得出以二氯甲烷作溶剂,用20KHz超声波提取10min的提出率比其它4种方法提取2h的提出率都高2倍以上,应用气相色谱及色质联用分析桔皮精油的主要挥发性成份有:柠檬烯、 α -法呢烯、十六碳酸、9-十六烯酸,石竹烯、 δ -杜松烯、 α -二甲萜、 α -玷巴烯、三环萜及正丁苯等一系列烷烃。

1.5 香料植物种子和果实的超声波萃取

欧阳玉祝等^{[19],[20]}用超声波辅助提取法从花椒籽核和花椒籽壳中提取花椒油,花椒油的提取率可达7.8%和6.74%,比加热提取法高了48.9%以上。但2种花椒油化学成分差异很大,其中具有花椒麻辣风味的麻辣酰胺物质主要存在花椒籽壳油中。曹雁平等^[21]首次报道了以乙醇为溶剂,进行了低强度(不超过1.2W/cm²)单频、双频复合和三频复合超声浸取花椒油树脂的研究,其中双频超声浸取的花椒油树脂得率最高,达30.1%。刘丽娟等^[22]建立一种超声辅助提取花椒油树脂的方法——循环超声辅助提取。在超声功率为600W时,花椒油树脂的得率为26.11%,较索氏提取器提取和非循环超声辅助提取方法分别提高3.186%和8.140%。该方法耗时短、提取组分完全,并为类似天然植物香料的提取提供了新的思路。

另外,白胡椒^[23]、辣椒^[24]、沙棘^[25]、香荚兰^[26]、小茴香^[27]、山苍子^[28]等的超声波萃取也有研究。

2 超声强化超临界CO₂萃取天然植物香料研究进展

超声强化超临界CO₂萃取(Ultrasound Assisted Supercritical Fluids Extraction; USCE)技术是在超临界CO₂萃取的同时附加超声场,以达到降低超临界萃取压力和萃取温度、缩短萃取时间、最终提高萃取率目的的技术。因此超声作为超临界CO₂萃取强化的手段目前越来越得到香料研究人员的广泛关注,成为了天然植物香料提取的一个研究热点。

Balachandran等^[29]研究了超声对超临界萃取冷冻干燥姜粒的影响。在超声作用下,生姜辛辣化合物姜酚的萃取率得到明显提高,最终萃取率提高了30%。叶若柏^[30]研究了施加超声场强化超临界CO₂萃取辣椒籽中的有效成分,超声能使萃取速率提高约15%,且不引起萃取物有效成分的降解,超声场显著地提高了辣椒籽萃取过程内、外传质系数。李超等^[31]人首次利用USCE技术提取复方丁香肉桂挥发油,并建立了相应的萃取动力学模型,在施加密度为60W/L的超声功率,挥发油提取率可达11.60%,使得合提丁香与肉桂挥发油的得率高于大于单方提取丁香、肉桂挥发油的加和值。

3 超声-微波协同萃取天然植物香料研究进展

超声波-微波协同萃取(Ultrasonic-Microwave Synergistic Extraction; UMSE)技术是将超声与微波两种萃取作用方式相结合,充分利用超声波振动的空化作用以及微波的高能作用,克服了常规超声波和微波萃取之不足,实现了低温常压条件下样品快速、高效的提取。因此,超声波-微波协同萃取新技术也逐渐开始应用于天然植物香料提取领域。

Shrma A 等^[32]采用微波-超声场协同萃取香荚兰中的香兰素,最高得率达 29.068%。唐仕荣等^[33]利用超声波-微波协同萃取技术从生姜粉中姜辣素,发现超声波 250W 微波协同处理 60s,姜辣素的提取率可达到 3.262%,是直接热回流提取 2h 的 1.5 倍。

4 超声波辅助萃取天然植物香料展望

天然植物香料广泛应用于食品、烟草和日化工业。随着香料工业的迅速发展,天然植物香料的提取分离技术将逐渐趋于成熟,向高效、环保的方向迈进。虽然国内外超声波辅助萃取技术的研究才刚起步,但其在天然植物香料提取的应用已经初步显示出独特的优势,并已经被人们所重视。但目前超声辅助萃取的研究主要停留在实验室的很小规模上,针对某个具体对象进行简单的工艺条件试验,由于其能耗较高、噪音较大、相关机理研究不充分等原因,目前产业化的例子还不多。为了促进超声波辅助萃取天然香料产业化,我们认为应该重点考虑以下几点:

(1) 天然香料多为混合物,成分复杂,不同的天然香料提取选择不同的参数(频率、声强、提取时间、溶剂等)会出现不同的结果,因此根据天然香料种类、所处理的部位、湿度,形状及粒度分布等采用适宜的参数,才能提高天然香料提取率。

(2) 在天然香料超声辅助提取的进一步研究中,应对其作用机理和动力学模型进行深入探讨,根据不同天然香料种类,建立较为通用的天然香料超声波提取的数学模型。

(3) 注重有关工程问题的研究,解决天然香料超声辅助提取的工程放大问题,研发出适合天然香料超声辅助萃取设备,如循环超声萃取仪,而不是用简单的超声波清洗仪进行萃取。

(4) 研究复频或双频超声提取技术,代替当前得单频超声提取技术。因为复频超声充分发挥了不同频率超声波的特点,消除了驻场波,使声场更加均匀,提取效果更佳。

参考文献:

- [1] 靳正荣. 天然香料提取分离技术研究进展[J]. 北京日化, 2005(3):5-9
- [2] 李婷, 侯晓东, 陈文学, 豆海港, 仇厚援. 超声波萃取技术的研究现状及展望[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(13):3188-3190
- [3] 陈晓颖. 用 GC / MS 法比较姜黄挥发油的两种提取方法[J]. 广东药学院学报, 2001, 17(4):293-296
- [4] 仝其根, 郭爱贤. 高良姜油树脂的提取与稳定性研究[J]. 中国食品添加剂, 2008(3):73-76
- [5] 刘洪玲. 超声波辅助提取郁金挥发油及其化学成分分析[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(10):1876-1877
- [6] 张振凌, 冀春茹, 李军, 郭丽萍, 宋乃亮. 超声提取对当归流浸膏中化学成分的影响[J]. 中成药, 1997(2):1-2
- [7] 丁玉萍, 邱琴, 崔兆杰, 李强, 刘雷. 超临界二氧化碳流体萃取法与超声波溶剂萃取法提取千年健挥发油的研究[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(4):533-536
- [8] 韦小杰, 陈小鹏, 王琳琳, 马建. 八角油提取新方法的研究[J]. 食品工业科技, 2003, 24(3):41-43
- [9] 于海莲, 胡震, 超声波辐射萃取洋葱精油[J]. 食品研究与开发, 2009, 30(1):18-21
- [10] Athanasios C Kimbaris, Nikolaos G Siatis, Dimitra J Daferera, et al. Comparison of distillation and ultrasound assisted extraction methods for the isolation of sensitive aroma compounds from garlic (*Allium sativum*) [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2006, 13:54-60.
- [11] 陈丛瑾, 黄克瀛, 李姣娟, 曾栋. 不同方法提取香椿芽挥发油的比较研究[J]. 分析试验室, 2009, 28(1):30-35
- [12] 陆占国, 郭红转, 封丹. 香菜茎叶精油的提取及其成分解析[J]. 中国调味品, 2007(2):42-46
- [13] 夏涛, 时思全, 宛晓春. 微波、超声波浸提对茶汤香气的影响[J]. 南京农业大学学报, 2004, 27(3):99-102

- [14] 郑敏燕. 超声波法提取紫丁香中丁香油的研究[J]. 青海师范大学学报(自然科学版), 2003(3):32-33
- [15] 张照红, 杨海燕, 邹平, 雷俊. 超声波辅助萃取薰衣草挥发油工艺研究[J]. 食品科技, 2008, 33(7):183-185
- [16] 仝其根, 魏凤莲. 超声波提取桂皮有效成分及其油树脂稳定性研究[J]. 食品工业科技, 2006(11):95-97
- [17] 马丽萍, 张晓鸣, 柑桔皮渣中香精油和橙皮苷的联合提取纯化工艺研究[J]. 食品工业科技, 2008, 29(3):151-154
- [18] 袁谋村, 成昌梅, 义志忠, 金京秀. 超声溶剂提取方法研究一(I) 固态天然物中液体组份的提取[J]. 湘潭大学自然科学学报, 1992, 14(4):43-46
- [19] 欧阳玉祝, 石爱华, 陈小东, 余艳华, 谢显华. 花椒油的超声提取及其成分分析[J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(3):133-135
- [20] 石爱华, 欧阳玉祝, 李佑稷, 陈小东, 谢显华. 食用花椒油化学成分的GC-MS分析[J]. 吉首大学学报:自然科学版, 2008, 29(2):101-105
- [21] 曹雁平, 郝长春, 任怡, 于群. 花椒油树脂的低强度多频超声浸取特性研究[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(3):99-102
- [22] 刘丽娟, 陈敏, 杜健. 循环超声法提取花椒油树脂[J]. 北京林业大学学报, 2009, 31(2):133-139
- [23] 方杰, 赵庆军, 孟旭. 超声提取白胡椒油树脂的工艺研究[J]. 中国食品添加剂, 2008(4):1-3
- [24] 罗仓学, 朱妞. 超声辅助提取辣椒籽油研究[J]. 食品工业科技, 2008(2):223-225
- [25] 张海容, 朱迎春. 超声萃取沙棘籽油的研究[J]. 中国酿造, 2009(10):96-99
- [26] 任洪涛, 周斌. 超声快速提取香茅兰主要成份的工艺研究[J]. 香料香精化妆品, 2006(6):1-3
- [27] 王玉龙, 何璐, 王勇, 孟祥晶. 小茴香挥发油超声波提取工艺优化及数学模拟[J]. 广东化工, 2007, 34(4):25-27
- [28] 程超. 山苍子油的抗氧化作用[J]. 食品研究与开发, 2005, 26(4):155-158
- [29] BALACHANDRAN S, KENTISH S E, MAWSON R, et al. Ultrasonic enhancement of the supercritical extraction from ginger [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2006, 13:471-479.
- [30] 叶若柏. 超声场强化超临界 CO₂ 萃取辣椒籽油的初步研究[J]. 化学工程与装备, 2006, 6:31-33.
- [31] 李超, 杨目福, 傅雪峰, 丘泰球, 范晓丹. 超声强化超临界 CO₂ 萃取复方丁香肉桂挥发油[J]. 华南理工大学学报(自然科学版), 2008, 36(7):67-71
- [32] Sharma, A; Verma, SC; Saxena, N; Chadda, N; Singh, NP; Sinha, AK. Microwave-and ultrasound-assisted extraction of vanillin and its quantification by high-performance liquid chromatography in *Vanilla planifolia* [J]. Journal of Separation Science, 2006, 29(5):613-619
- [33] 唐仕荣, 宋慧, 刘全德, 施春花, 郑君成, 何海洋, 王冉. 超声波-微波协同萃取姜辣素的工艺研究[J]. 食品与机械, 2008(6):76-79

藏红花酸乙酯的合成研究

马洪亮 吴奇林

(深圳波顿香料有限公司, 深圳 518051)

摘要: 以乙酰乙酸乙酯为起始原料, 先与异丙叉丙酮发生 Michael 加成, 后经还原、脱水便获得藏红花酸乙酯。三步反应总收率为 51.7%。产品经色谱分析证明了结构。该合成方法原料价廉易得、反应收率高、适合工业生产。

关键词: Michael 加成; 藏红花酸乙酯; 乙酰乙酸乙酯; 异丙叉丙酮

Synthesis of Flavor Ethyl safranate

Ma Hongliang Wu Qilin

(Boton Flavors & Fragrances Co., Shenzhen 518051 China)

Abstract: Synthesis of ethyl safranate from ethyl acetoacetate and mesityl oxide was studied. Total yield of 3 steps were 51.7%. Ethyl safranate obtained had confirmed by GC-MS. This synthesis route had the advantage of cheap and easy available of raw material and high yield. It is beneficial for commercial production.

Keywords: Michael addition, Ethyl safranate, Ethyl acetoacetate, Mesityl oxide

1 前言

藏红花酸乙酯[1] (1), 是一种含有 α -、 β -、 γ -三个异构体的混合物。具有天然、清新苹果、玫瑰和类似突厥酮的香气, 其香气有较强的穿透力和渗透性[2], 广泛用于玫瑰香型香精的配方中。在香精中即使用量很小也能起到穿透力强的头香效果。目前国内使用的藏红花酸乙酯主要依靠进口英荷 Quest 公司产品, 国内尚未见有厂家生产。鉴于此, 我们开发了一条可取的合成藏红花酸乙酯的路线。本方法是以乙酰乙酸乙酯和异丙叉丙酮为起始原料, 氯化锌为催化剂, 进行 Michael 加成反应, 得到的中间体 (2,6,6-三甲基-4-羰基-2-环己烯基) 甲酸乙酯 (2), 再经还原、脱水便获得藏红花酸乙酯 (1)。该合成路线原料易得、操作简便、收得率较高、成本低廉, 适合工业生产。

2 实验部分

2.1 仪器及试剂

仪器: 气相色谱仪 GC112A (上海精密科学仪器有限公司)

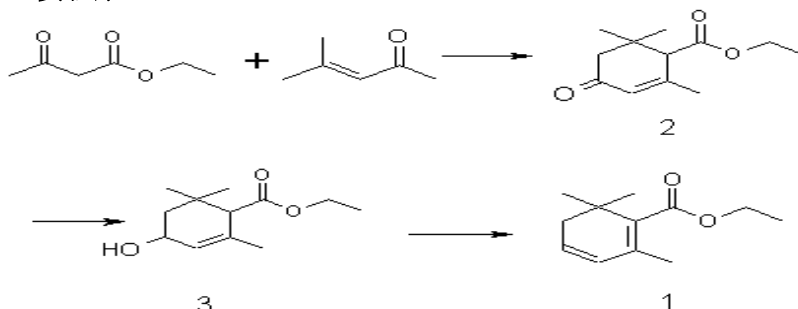
气-质联用仪 5975B/6890D (美国 Agilent Technologies)

WAY-2D 型阿贝折射仪

试剂: 乙酰乙酸乙酯、异丙叉丙酮为市售分析纯试剂。

氯化锌、环己烷、甲苯、硼氢化钾、氢氧化钾、乙醇、盐酸、碳酸氢钠为市售化学纯试剂。

2.2 实验原理



2.3 实验方法

2.3.1 (2,6,6-三甲基-4-羰基-2-环己烯基) 甲酸乙酯 (2) 的制备

在装有油水分离器、冷凝管、温度计和搅拌器的 2000mL 三口瓶中, 先后加入乙酰乙酸乙酯 390g、异丙叉丙酮 294g、氯化锌 5g 和环己烷 150g, 搅拌加热回流脱水, 至反应无水份出来为止, 反应时间约需 60 小时。反应毕降至室温, 然后向瓶内反应物加入 300g 10% 盐酸水溶液和 150g 环己烷, 搅拌 10 分钟, 静置分层, 弃去水层, 再依次用 10% 碳酸钠水溶液和清水洗至中性。常压下回收溶剂环己烷,

残液经减压蒸馏收取 108-112℃/5mmHg 馏分段 228g, (2) 含量为 92.6%。

2.3.2 (2,6,6-三甲基-4-羟基-2-环己烯基) 甲酸乙酯(3)的制备

在装有滴液漏斗、冷凝管和温度计的 1000mL 三口瓶中加入 (2) 225g, 乙醇 85g, 在搅拌下滴加 KBH₄ 21g/KOH 2.1g/H₂O 100g 混合液, 滴加过程中用冰水浴冷却, 控制反应温度在 45-50℃, 滴加时间为 30 分钟。滴加完毕, 在室温下继续搅拌反应 12 小时。反应结束后向瓶内反应物加入 180g 甲苯, 然后用 100mL 10%醋酸水溶液中和, 再用清水洗至中性, 弃去水层后油层用无水 CaCl₂ 干燥过夜, 得粗品 (3) 346.3g(含溶剂), 直接供下步反应使用。

2.3.3 藏红花酸乙酯 (1)的制备

在装有油水分离器、冷凝管、温度计和搅拌器的 1000mL 三口瓶中加入上述反应粗品 (3) 346.3g(含溶剂)和对甲苯磺酸 3.5g, 搅拌加热回流脱水, 反应至无水份出来为止, 反应时间约需 2 小时。反应结束后, 先用 5%碳酸钠水溶液中和, 再用清水洗至中性, 弃去水层。油层先在常压下蒸馏除去溶剂甲苯, 再减压蒸馏收集 70-76℃/5mmHg 馏分, 得产品 (1) 152.2g。色谱分析, 三个异构体总含量为 91.5%。

2.4 产品分析的结果

色谱分析条件: 进样口温度 250℃; 程序升温, 起始温度 100℃, 以速度 4℃/min 升温至 200℃; 氮气作载气 (纯度≥99.99%) 载气流量 0.6mL/min; 进样量 0.3μL, 分流比 70:1。采用面积归一法定量。

柱条件: 30m x 25mm x 0.25μm 毛细管柱 (DB-17)

质谱条件: 接口温度 250℃; 离子源 (EI) 电压 350V, 温度 190℃, 发射电流 150Ma; 扫描时间 0.5s/次; 扫描范围 29-540amu。

气相色谱和气质联用分析结果:

气相分析色谱图见图 2。表明: 应用本路线合成的产品由三个异构体组成, 与国外文献[1]所述和外来标样测定的结果相符。三个异构体总含量为 91.5%。

质谱分析结果表明: 三个异构体的质谱图与外来标样的质谱图完全一致。

产品的折光率为 n_D²⁵=1.4832, 也与文献[1]值相近。

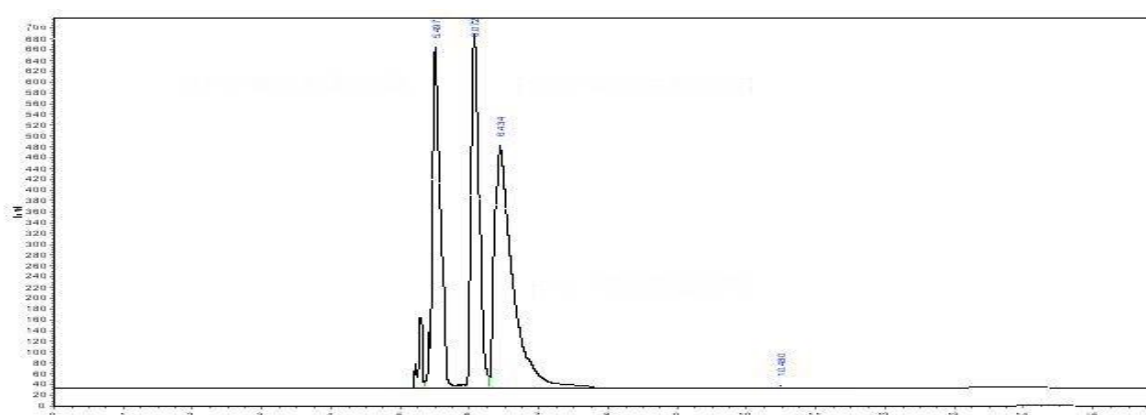


图2 藏红花酸乙酯的气相色谱图

3 结果与讨论

对本项目的研究工作, 我们重点对第一步 Michael 加成反应的反应时间对反应得率的影响作了比较系统的考察。在投料乙酰乙酸乙酯 390g、异丙叉丙酮 294g、氯化锌 5g 和环己烷 150g 不变, 而其它反应条件相同的情况下, 进行了不同的反应时间对比实验。实验结果如图 3 所示。

从图 3 中可以看出, 最佳反应时间为 60 小时。如反应时间过短, 则反应不完全, 反应时间过长, 反应得率变化不大。从经济效益和设备利用率来看, 过长的反应时间是不足取的。

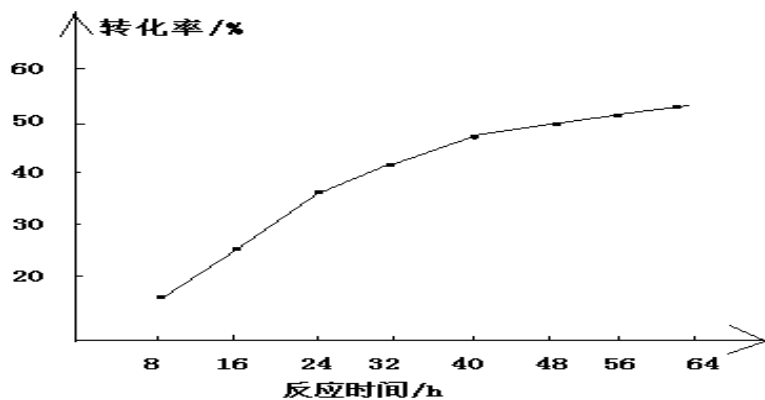


图3 反应时间对产物(2)得率的影响

4 结论

以乙酰乙酸乙酯和异丙叉丙酮为起始原料,用氯化锌为催化剂,进行 Michael 加成反应,得到的中间体(2,6,6-三甲基-4-羰基-2-环己烯基)甲酸乙酯(2),后者再经还原、脱水便制取藏红花酸乙酯(1)。该合成路线工艺简单、原料易得、操作简便、收得率高、成本低廉,适合工业生产。产品经测试,质量接近国外产品标准,香气符合调香使用要求。

参考文献:

- [1] Hans Julius Wille, Wilhelmus Martinus Bernardus Konst and Jan Kos. GB Patent 1,456,152 to Naarden International N.V. (1976)
- [2] 刘树文, 编著. 合成香料技术手册[M]. 北京. 中国轻工业出版社. 2009, 347.

香兰素杂质分析与质量控制

周永军, 陈澄, 杜德祥, 邹炳其, 毛海舫

嘉兴市中华化工有限责任公司, 314006

摘要: 香兰素是重要的香料与食品添加剂产品, 其产品的质量稳定对大众食品安全具有十分重要的意义。本文介绍我公司香兰素质量的监控方法与产品的质量。产品纯度采用气相色谱与其它常规检测方法分析。样品通过 95%乙醇溶解后, 选用 HP-5 毛细色谱柱, FID 检测器, 经 120℃~250℃程序升温, 用面积归一法进行定量分析。结果表明, 本厂生产的香兰素含量均达到 99.90%以上, 杂质成分及含量都较为稳定, 其纯度已经远远高于国家标准。对香兰素中有可能超过 50ppm 的杂质进行分离, 用 GC-MS 与 H-NMR 等方法进行了定性鉴定, 并分析了杂质对产品香气可能造成的影响。

关键词: 香兰素;质量;杂质;分析

香兰素是全球生产量最大的合成香料之一, 也是合成药物和其他香料的中间体, 其需求量正以每年 5%~8%的速度增长。我国是世界上香兰素主要生产国和出口国, 近几年我国香兰素出口量一直保持稳定增长态势。香兰素的合成有多种途径, 目前大多企业主要采用的都是乙醛酸和愈创木酚的合成路线。此法生产香兰素工艺简单, 收率高, 三废少, 易治理。嘉兴中华化工是全国最大的香兰素生产基地, 2009 年实际销售的香兰素已达 9200 多吨, 占全球香兰素市场约 60%的比例。香兰素产品的质量关系着企业的生命, 为提高产品质量并长期维持产品的高品质, 对本厂生产的香兰素进行持续的跟踪与分析, 明确产品中的各个杂质及含量, 有目的地进行相应的改进。

1 材料与仪器

1.1 检测样品: 甲基香兰素

1.2 仪器与试剂:

电子天平(精度 0.0001); 气相色谱仪(Agilent 公司 7890 A, 带自动进样器); 乙醇(分析醇)

1.3 样品前处理:

用分析天平准确称取 0.2g 左右待测样品, 用 1mL 95%乙醇溶解

1.4 色谱条件:

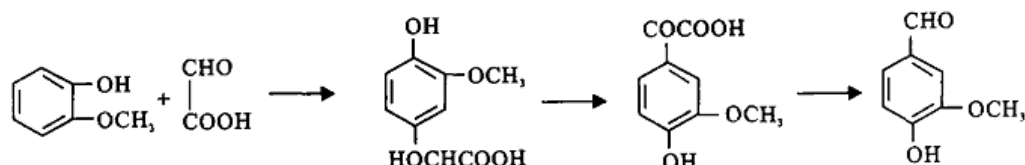
HP-5 毛细色谱柱(Agilent 公司 30m×0.25×0.25); 进样口: 250℃ 柱头压: 12 PSI 程序升温: 120℃(4 min)-250℃(5 min) 升温速率: 10℃/min 进样量: 1 ul 分流比: 10: 1

1.5 相关杂质的 GC-MS 委托上海应用技术学院进行检测, 产品含氯量、溶剂残留、杂质的 H-NMR 在委托上海有机所进行检测。

2 结果与分析

2.1 杂质定性鉴定与来源分析

乙醛酸法生产路线为愈创木酚和乙醛酸在碱性条件下缩合生成 3-甲氧基-4-羟基苯乙醇酸, 它在碱性条件下被铜离子氧化成 3-甲氧基-4-羟基苯乙醛酸, 然后在酸性条件下脱去羧基生成香兰素。反应过程如下:



根据反应物与反应条件的微小差异, 缩合氧化过程中会产生其他一些副产物, 如邻位香兰素、5-醛基香兰素等, 经过 GC-MS 和核磁共振质谱检测, 确定香兰素中的主要杂质为邻位香兰素、乙基香兰素、5-甲基香兰素、5-醛基香兰素。其中乙基香兰素主要是反应过程中原料甲醇中含有少量的乙醇引起; 邻位香兰素与 5-醛基香兰素是竞争反应的结果; 而 5-甲基香兰素则是我公司为罗地亚公司加工香兰素时采用了罗地亚公司的愈创木酚, 罗地亚公司的愈创木酚采用邻苯二酚工艺生产, 采用这一工艺生产的愈创木酚会有 6-甲基愈创木酚副产物, 而 6-甲基愈创木酚在生产香兰素的过程中相应生成了 5-甲基香兰素。

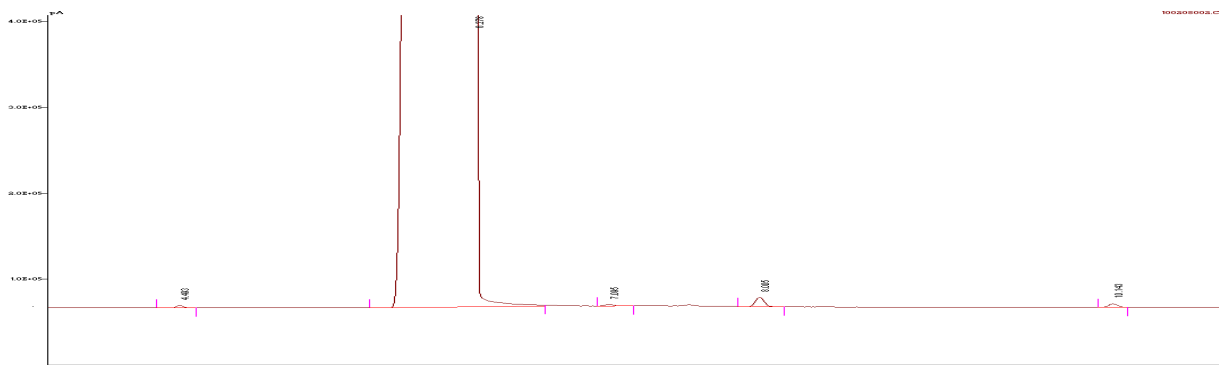
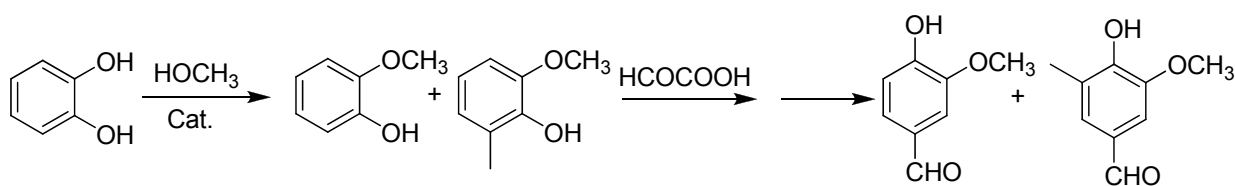


图 1 香兰素气相色谱图

(从左往右依次为：邻位香兰素，香兰素，乙基香兰素，5-甲基香兰素，5-醛基香兰素)

2.2 杂质的含量

为了确保出厂产品的品质，对每个批次的香兰素产品除按国标进行熔点、溶解度等的检测外，还按 1.3 方法进行纯度检测，且已连续检测多年。并对每个月数据进行统计、整理，2009 年实际分析结果如下表：

各组分 (%) / 月份	香兰素	邻位香兰素	乙基香兰素	5-甲基香兰素	5-醛基香兰素
一	99.96	0.0022	0.0088		0.0260
二	99.97	0.0026	0.0129		0.0120
三	99.98	0.0019	0.0098		0.0062
四	99.96	0.0021	0.0105		0.0237
五	99.95	0.0031	0.0079	0.0099	0.0291
六	99.96	0.0025	0.0086	0.0108	0.0181
七	99.94	0.0018	0.0102	0.0220	0.0260
八	99.96	0.0027	0.0092	0.0216	0.0065
九	99.97	0.0018	0.0131	0.0134	0.0017
十	99.96	0.0033	0.0077	0.0127	0.0163
十一	99.95	0.0022	0.0113	0.0119	0.0246
十二	99.97	0.0020	0.0082	0.0094	0.0104
含量范围	99.91~99.99	0.00~0.0132	0.00~0.0343	0.00~0.0391	0.00~0.0418

表 1 一年中每月香兰素及杂质平均含量

从表 1 中可以看出，一年的香兰素含量及各个杂质都较为稳定，其中 5-甲基香兰素含量随着月份的变化有一定的变化幅度，在五、六、七月份中逐渐升高，之后逐渐降低，这主要是由于我厂在四月中旬至七月初为罗地亚公司加工香兰素，其中含有少量的 6-甲基愈创木酚，导致我厂生产的香兰素中也出现少量 5-甲基香兰素。

根据分离得到的杂质纯品性质与分离工艺，我们明确了各种杂质的内部控制指标。纯的邻位香兰素为亮黄色针状晶体，具有明显的油脂气与酚的特征气息，会对香兰素的香气和颜色产生较大影响，所以必需严格控制其在产品中的含量。我们曾进行邻位香兰素对香兰素香气影响试验，当纯度香兰素

中加入 500ppm 的邻位香兰素时就可分辨出邻位香兰素的特征香气，因此要求在终产品中邻位香兰素的含量小于 250ppm。5-甲基香兰素与 5-醛基香兰素对香兰素的香气与外观影响均不大，因此控制其在终产品中含量均为 500ppm 以下。

对产品中杂质的进行分离与鉴定，对分析反应的合成机理，提高反应得率会有较大帮助。在了解了杂质的香气后，对我们分析成品的香气也会有较大的帮助，有利于我们剥开香料产品香气的神秘面纱，达到有效控制的目的。

2.3 香兰素产品的含氯量与溶剂残留测定

为了确保香兰素产品的质量，除对产品进行常规检测外，我们每年还委托上海有机化学研究所分析测试中心进行产品含氯量、甲醇与甲苯残留量的检测。

含氯采用氧瓶法检测，检测极限为 1ppm，产品先后经 5 次检测，含氯量均低于检测极限。

由于在香兰素生产过程中使用过甲苯与甲醇二种有毒溶剂，我们也对这二种溶剂的残留进行了检测，按 GC 定量检测方法进行测试，检测极限均为 1ppm，经多次检测，二种溶剂的残留均代于检测极限。

3 结论

为确保香兰素产品的质量，公司除按国家标准对产品进行分析检测外，对产品质量可能有影响的邻位香兰素、5-甲基香兰素、5-醛基香兰素等杂质制订严格的内控标准并进行批批监控，可保证产品的纯度达到 99.9% 以上。同时对可能影响产品质量的含氯量，溶剂残留量进行检测，表明含氯量、甲苯与甲醇溶剂残留量均低于检测极限。

醛酮类香料的合成

朱卓越 杨华武 陈勇 赵瑜 陈雄 黎艳玲 苏利霞

湖南中烟工业有限责任公司技术中心 长沙 410007

摘要: 本文开发了一种使用清洁氧化剂 H_2O_2 , 以 CuI 与 2, 2, 6, 6-四甲基氮氧自由基 (简称 TEMPO) 共催化氧化醇类 (含烯丙位) 合成醛酮香料化合物 (Scheme 1) 的方法。以苯甲醇催化氧化合成苯甲醛为例, 探讨各种条件对该类反应的影响和反应机理。得出在苯甲醇 1.08 g (10 mmol), CuI 0.095 g (0.5 mmol), TEMPO 0.046 g (0.3 mmol), CH_2Cl_2 10 mL, 室温搅拌下滴加 H_2O_2 (30%) 20 mmol, 8 h 后停止搅拌, 取样进 GC-MS 检测, 旋转蒸发, 经硅胶色谱柱分离, 得到无色液体 (苯甲醛) 1.0 g (94%)。产物结构经质谱和核磁表征确认正确。通过此例挖掘 H_2O_2 的氧化潜能, 考察体系反应条件对转化率, 选择性与产率的影响以及体系所适用的范围。The synthesis of flavor compound of Aldehydes and ketones

关键词: 2, 2, 6, 6-四甲基氮氧自由基; 催化; 氧化; 醇类; H_2O_2

The synthesis of flavor compound of Aldehydes and ketones

ZhuZhuoyue* YangHua-wu ChenYong ZhaoYu
ChenXiong LiYan-ling SuLi-xia

The Technology Center, China Tobacco Hunan Industrial Co., Ltd Changsha 410007 China

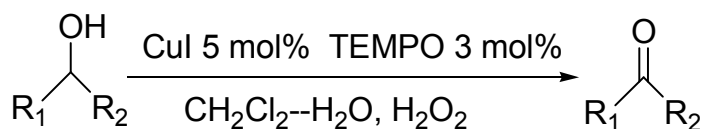
Abstract: The studies of H_2O_2 as oxidant and CuI and 2,2,6,6-tetramethyl-piperidinoxy (for short TEMPO) as catalyst for the oxidation of alcohols and the studies of the synthesis of α , β -unsaturated ketones by allylic oxidation in recent years were summarized respectively. The synthesis of flavor compound of Aldehydes and ketones were completed by oxidation in our thesis. For example: The synthesis of benzaldehyde by oxidation of benzyl alcohol. The reaction conditions for effects on yields and selectivity and conversion and the scope of H_2O_2 /CuI/TEMPO system were investigated, and the proposal mechanism was speculated. We discovered that benzyl alcohols, allylic alcohols and secondary alcohols can be selectively oxidized to corresponding aldehydes and ketones with high yields by H_2O_2 /CuI/TEMPO system in CH_2Cl_2 - H_2O . The structures of the products were identified by NMR and MS.: The optimum reaction conditions for this reaction was found as follows: benzyl alcohol (1.08 g, 10 mmol), CuI (0.095 g, 0.5 mmol), TEMPO (0.046g, 0.3 mmol) and $C_2H_2Cl_2$ (10mL) as solvent and H_2O_2 (30%) 20 mmol were reacted for 8h at room temperate to give benzaldehyde (1.0g) in 94% yield by the separation of silica-chromatographic.

Keywords: 2,2,6,6-tetramethyl-piperidinoxy, catalized, oxidize, alcohols, Hydrogen Peroxide

1 前言

芳香醛酮、脂肪醛酮与 α , β -不饱和醛酮广泛应用在日用香精和食用香精中^[1, 2, 3]。将醇氧化成相应的醛酮化合物在中间体生产和精细化工方面是一类很重要的反应^[4]。然而, 传统上的醇类氧化剂一如 CrO_3 , $KMnO_4$, MnO_2 , SeO_2 等^[5]的使用会给环境带来了比较严重的污染。因此, 开发新的环境友好、高效的醇类氧化方法成为化学家们竞相追求的目标。

H_2O_2 是一种清洁的氧化剂, 分解后产生 H_2O 与 O_2 , 对环境无任何影响。我们选择 H_2O_2 ^[6] 为氧化剂, CuI 与 TEMPO 为共催化剂, 氧化醇类合成相应的醛酮^[7, 8] (图 1)。



1, R_1 =Ph, CH_3Ph , CH_3OPh , $p\text{-ClPh}$, $m\text{-ClPh}$, $p\text{-NO}_2Ph$,
 $PhCH=CH$, $PhCH_2$, $CH_3(CH_2)_6$
 $R_2=H$

2, Cyclohexanol, 2-Indanol, 2-Octanol

图 1

2 实验部分

2.1 原料与试剂

苯甲醇 (分析纯, 上海凌峰化学试剂有限公司)、对甲基苯甲醇 (分析纯, Alfa Aesar)、对甲氧

基苯甲醇 (分析纯, Alfa Aesar)、对硝基苯甲醇 (分析纯, Alfa Aesar)、3-氯苯甲醇 (分析纯, Alfa Aesar)、4-氯苯甲醇 (分析纯, Alfa Aesar)、肉桂醇 (分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)、环己醇 (分析纯, Alfa Aesar)、苯乙醇 (分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)、1-辛醇 (分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)、 H_2O_2 (化学纯, 武汉银河化工有限公司)、二氯甲烷 (分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)、正己烷 (分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)、乙酸乙酯 (分析纯, 湖南师范大学试剂厂)、甲苯 (分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)、乙腈 (分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)、乙醇 (分析纯, 湖南师范大学试剂厂)、四氢呋喃 (分析纯, 汕头市西陇化工厂)、二甲亚砜 (分析纯, 淮安和元化工有限公司)、乙酸 (分析纯, 江苏索普)、丙酮 (分析纯, 湖南师范大学试剂厂)、2, 2, 6, 6-四甲基氮氧自由基 (TEMPO, 分析纯, Alfa Aesar)、CuI (分析纯, 上海振兴化工厂)、CuCl (分析纯, 上海三水化工助剂厂)、CuCl₂ (分析纯, 上海三水化工助剂厂)、CuBr₂ (分析纯, 依顺环保有限公司)、Cu(NO₃)₂ (分析纯, 太原欣力化学品有限公司)。

2.2 仪器

Agilent GC-MS 6890-5973 型气质联用仪, 用于产物的定性与定量; Varian INOVA-300 MHz 型核磁共振仪, 用于鉴定产物的结构。

2.3 典型反应操作

苯甲醇 1.08 g (10 mmol), CuI 0.095 g (0.5 mmol), TEMPO 0.046 g (0.3 mmol), CH₂Cl₂ 10 mL, 室温搅拌下滴加 H₂O₂ (30%) 20 mmol, 8 h 后停止搅拌, 加入一定量的 Na₂SO₃ 除去过量的 H₂O₂ 和 I₂, 分液, 取样进 GC-MS 检测, 旋转蒸发, 经硅胶色谱柱分离, V(正己烷):V(乙酸乙酯)=4:1 为洗脱剂, 得到无色液体 (苯甲醛) 1.0 g (94%)。

2.4 产物的定性与定量分析

用 Agilent GC-MS 6890-5973 对反应产物进行定性与定量分析, 毛细管色谱柱为 HP-5MS (60 m × 0.25 mm × 0.25 μm)。色谱条件: 氦气作载气, 进样口温度 250 °C, 柱流速为 1.0 mL/min, 分流比为 10:1, 采用程序升温, 起始温度为 80 °C, 保持 2 min, 以 15 °C/min 升至 280 °C, 保持 3 min。质谱条件: 离子源为 EI 源, 电子能量 70 eV, 离子源温度 230 °C, 质量扫描范围为 50~550 amu (m/z)。用 Varian INOVA-300 MHz 核磁共振仪, 对反应产物的 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 进行测定, CDCl₃ 为溶剂, 四甲基硅为内标。

3 结果与讨论

以苯甲醇为反应底物, H₂O₂ 为氧化剂, TEMPO 为催化剂, 通过实验考察反应条件对苯甲醇转化为苯甲醛的影响, 从而确定最佳的反应条件 (图 2)。

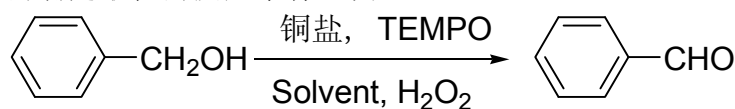


图 2

Figure 2

3.1 氧化剂用量对苯甲醇转化的影响

苯甲醇 1.08 g (10 mmol), CuI 0.095 g (0.5 mmol), TEMPO 0.046 g (0.3 mmol), CH₂Cl₂ 10 mL, 考察氧化剂 (H₂O₂) 量对苯甲醇转化为苯甲醛的影响。实验结果表明: 苯甲醛的转化率随着氧化剂 (H₂O₂) 的用量增加而增加, 当氧化剂 (H₂O₂) 的用量为 20 mmol 时, 苯甲醇完全转化, 选择性 >99%。(见表 1)

表 1 氧化剂用量对苯甲醇转化的影响*

H ₂ O ₂ /mmol	5	10	15	20
conversion rate /%	24	51	73	100

*选择性 >99%。

3.2 不同铜盐对苯甲醇转化的影响

苯甲醇 1.08 g (10 mmol), TEMPO 0.046 g (0.3 mmol), CH₂Cl₂ 10 mL, H₂O₂ (30%) 20 mmol, 考察不同的铜盐在室温下对苯甲醇转化为苯甲醛的影响。实验结果表明: 当反应 2 h 后, CuI、CuCl、CuCl₂、CuBr₂、Cu(NO₃)₂ 与 TEMPO 为苯甲醇氧化的共催化剂时, 苯甲醛的转化率分别为 18%、11%、2%、2%、4%; 当反应 8 h 后, CuI、CuCl、CuCl₂、CuBr₂、Cu(NO₃)₂ 与 TEMPO 为苯甲醇氧化的共催化剂时, 苯甲醛的转

化率分别为 79%、35%、4%、6%、5%。(见表 2) 因此, 我们认为选择 CuI 为催化剂较适宜。

表 2 不同铜盐对苯甲醇转化的影响*

copper salt (0.5 mmol)	conversion rate /%	
	2 h	8 h
CuI	18	79
CuCl	11	35
CuCl ₂	2	4
CuBr ₂	2	6
Cu(NO ₃) ₂	4	5

* CuI 为催化剂时, 选择性>99%, 10 h 后苯甲醇全部转化为苯甲醛

3.3 催化剂量对苯甲醇转化的影响

苯甲醇 1.08 g(10 mmol), CH₂Cl₂ 10 mL, H₂O₂(30%) 20 mmol, 考察催化剂用量对苯甲醇转化为苯甲醛的影响。我们发现: 单独使用 TEMPO 时, 苯甲醇几乎不转化; 单独使用 CuI 为催化剂时, 苯甲醇转化的也很少。当 TEMPO 与 CuI 同时使用时, 用量少, 苯甲醇转化的相对慢些, 如: 当 CuI 为 0.5 mmol、TEMPO 为 0.1 时, 需要 20 h 才能完成反应; 综合考虑经济效应, 我们选择 TEMPO 与 CuI 的用量分别为 0.3 mmol(0.47 g) 与 0.5 mmol(0.095 g) 用于苯甲醇的氧化。(见表 3)

表 3 催化剂量对苯甲醇转化的影响

CuI/mmol	TEMPO/mmol	time/h	conversion rate /%
0.5	no	10	5
no	0.3	10	no
0.5	0.5	9	100
0.5	0.3	10	100
0.5	0.1	20	100
1	0.5	6.5	100
1	0.3	9	100
1	0.1	12	100

3.4 不同溶剂对苯甲醇转化率与选择性的影响

苯甲醇 1.08 g(10 mmol), TEMPO 0.046 g(0.3 mmol), CuI 0.095 g(0.5 mmol), H₂O₂(30%) 20 mmol, 考察不同溶剂在室温下对苯甲醇转化为苯甲醛的影响。实验结果表明: 在乙酸乙酯, 乙酸, 乙腈, 二甲亚砜, 二氯甲烷, 甲苯, 丙酮, 四氢呋喃, 正己烷九种溶剂中, 只有在 CH₂Cl₂ 中反应时, 苯甲醇转化为苯甲醛的转化率最好, 而且选择性(>99%) 也好。(见表 4) 所以, 我们认为, 选择 CH₂Cl₂ 为反应溶剂最好。

表 4 不同溶剂对苯甲醇转化率与选择性的影响

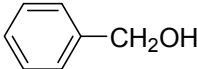
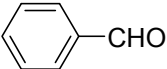
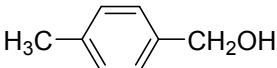

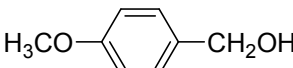
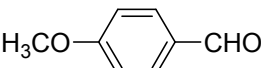
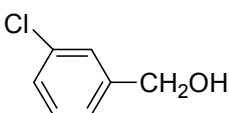
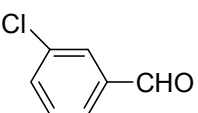
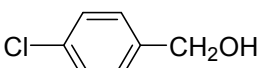
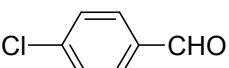
	solvent	conversion rate %	selectivity /%
1	ethyl acetate	35	58
2	acetic acid	5	55
3	acetonitrile	9.3	31
4	Dimethyl Sulfoxide	No reaction	--
5	Dichloromethane	100	>98
6	methylbenzene	6	43
7	acetone	28	72
8	Tetrahydrofuran	8	>99
9	n-butane	10	45

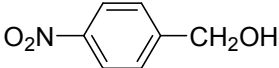

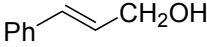
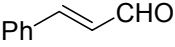
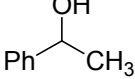
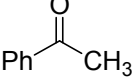
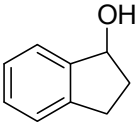
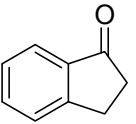
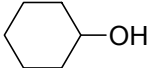
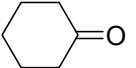
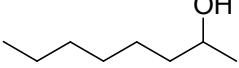
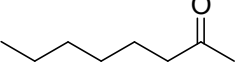
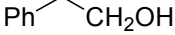
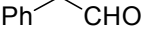
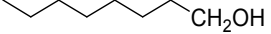
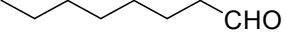
由此可见,当苯甲醇为 1.08 g(10 mmol)时,氧化剂 H₂O₂用量为 20 mmol, CuI 为 0.095 g(0.5 mmol), TEMPO 为 0.046 g(0.3 mmol), 室温下在 CH₂Cl₂ (10 ml) 中反应最适宜。

3.5 CuI 与 TEMPO 催化 H₂O₂氧化不同醇的反应结果

参照苯甲醇氧化成苯甲醛的反应条件,我们分别对其它醇进行了氧化研究,结果见表 5。通过表 5,我们可以看出: 卞醇、烯丙醇和仲醇均能高选择性的转化成相应的醛酮,并获得非常好的产率。其中卞醇中带供电子取代基的能够很快的转化成相应的醛酮(如: 4-甲基苯甲醇 entry 2 和 4-甲氧基苯甲醇 entry 3); 带吸电子基团取代基的卞醇需要 40℃ 的反应温度使用 5 mol% 的 TEMPO 在相对长的时间里才能转化成相应的醛酮(如: 3-氯苯甲醇 entry 4, 4-氯苯甲醇 entry 5 和 4-硝基苯甲醇 entry 6); 然而 H₂O₂/ CuI、TEMPO 体系仍然在少部分的卞醇中没有体现出好的反应活性(如: 带有邻位取代基的卞醇邻羟基苯甲醇, 邻羟基苯甲醇可能与 CuI 形成了配位化合物,从而使这个体系失去了反应活性); 烯丙醇能够在相对短的时间温和的条件下转化成烯醛(如: 肉桂醇 entry 7); 仲醇则需要 40℃ 的反应温度使用 5 mol% 的 TEMPO 在相对长的时间里才能转化成相应的酮(如: 环己醇需要 24 h entry 10)。但是对于脂肪伯醇和杂原子醇类的氧化, H₂O₂/ CuI、TEMPO 体系没有体现出高的反应活性,苯乙醇与 1-辛醇的转化率和产率都非常的低(entry 12, entry 13)。

表 5 CuI 与 TEMPO 催化 H₂O₂氧化不同醇的反应结果^a

Entry	Substrate	Product	Time (h)	Conv (%)	Yield
1			9	100	94
2			9.5	100	94
3			8	100	93
4 ^b			11	100	95
5 ^b			9.5	100	95

6 ^b			10	100	94
7			8	100	96
8			10	100	94
9			4	100	95
10 ^b			24	90	80
11 ^b			24	70	59
12 ^c			8	6	---
13 ^c			8	6	---

(a) 选择性 >99%. (b) 反应温度 40 ℃. (c) 醇: CuI: TEMPO=10:0.5:0.5 (摩尔比), 反应温度 40 ℃.

3.6 产物结构表征

Entry 1. 苯甲醛 ¹H NMR: δ=7.48–7.52 (m, 2H), 7.60–7.65 (m, 1H), 7.85–7.90 (m, 2H), 9.95 (s, 1H). ¹³C NMR: 192.053, 136.106, 134.145, 129.423, 128.691. MS (EI): m/z 106 (M⁺).

Entry 2 4-甲基苯甲醛 ¹H NMR: δ=2.440(s, 3H), 7.317–7.344(d, *J*=7.5 Hz, 2H), 7.763–7.789(d, *J*=7.8 Hz, 2H), 9.964(s, 1H). ¹³C NMR: 191.687, 145.237, 133.916, 129.553, 129.415, 21.594. MS (EI): m/z 120 (M⁺).

Entry 3. 4-甲氧基苯甲醛 ¹H NMR: δ=3.897(s, 3H), 6.987–7.003(t, *J*=2.7 Hz, 1H), 7.018–7.034(t, *J*=2.7 Hz, 1H), 7.822–7.838(t, *J*=2.4 Hz, 1H), 7.853–7.869(t, *J*=2.4 Hz, 1H), 9.893(s, 1H); ¹³C NMR: 190.703, 164.499, 131.872, 129.850, 114.204, 55.480. MS (EI): m/z 141 (M⁺).

Entry 4. 3-氯苯甲醛 ¹H NMR: δ=7.464–7.516 (t, *J*=7.8 Hz, 1H), 7.590–7.627 (m, 1H), 7.856–7.868(t, *J*=1.8 Hz, 1H), 9.938 (s, 1H); ¹³C NMR: 190.672, 137.677, 135.320, 134.252, 130.247, 129.164, 127.829; MS (EI): m/z 141 (M⁺).

Entry 5. 4-氯苯甲醛 ¹H NMR: δ=7.505–7.534 (d, *J*=8.7 Hz, 2H), 7.816–7.845 (d, *J*=8.7 Hz, 2H), 9.989 (s, 1H). ¹³C NMR: 190.802, 140.896, 134.664, 130.857, 129.415. MS (EI): m/z 141 (M⁺).

Entry 6. 4-硝基苯甲醛 ¹H NMR: δ=8.070–8.099(d, *J*=8.7 Hz, 2H), 8.391–8.420(d, *J*=8.7 Hz, 2H), 10.168(s, 2H). ¹³C NMR: 190.260, 151.080, 140.011, 130.438, 124.251. MS (EI): m/z 151 (M⁺).

Entry 7. 肉桂醛 ¹H NMR: δ=6.687–6.766(q, *J*=16.2 Hz, *J*₂=7.5 Hz, 1H), 7.429–7.511(m, 4H), 7.558–7.590(d, *J*=6.9 Hz, 2H), 9.700–9.725(d, *J*=7.5 Hz, 1H). ¹³C NMR: 193.472, 152.553, 133.787, 131.056, 128.897, 128.409, 128.297. MS (EI): m/z 132 (M⁺).

Entry 8. 1-苯乙酮 ¹H NMR: δ=2.615(s, 3H), 7.441–7.500(m, 2H), 7.544–7.597(m, 1H), 7.950–7.982(m, 2H); ¹³C NMR: 197.996, 136.952, 132.932, 128.401, 128.134, 26.446. MS (EI): m/z 120 (M⁺).

Entry 9 1-萘酮 ¹H NMR: δ=2.679–2.718(m, 2H), 3.133–3.173(t, *J*=7.5 Hz, 2H), 7.346–7.399(t, *J*=7.8 Hz, 1H), 7.467–7.499(d, *J*=9.6 Hz, 1H), 7.564–7.618(t, *J*=7.5 Hz, 1H), 7.752–7.780(d, *J*=8.4 Hz, 1H); ¹³C NMR: 206.746, 154.826, 136.754, 134.267, 126.951, 126.372, 123.389, 35.890, 25.485. MS (EI): m/z 132 (M⁺).

Entry 10 环己酮 ¹H NMR: δ=1.687–1.759(m, 2H), 1.828(m, 4H), 2.364(t, *J*=6.6 Hz, 4H); ¹³C NMR: 212.131, 41.916, 26.957, 24.935. MS (EI): m/z 96 (M⁺).

4 机理探讨

H_2O_2 为氧化剂, CuI 与 TEMPO 为共催化剂在 CH_2Cl_2 中 对 卞醇、烯丙醇与仲醇进行氧化合成相应的醛酮的方法, 我们认为可能的机理是: 首先是 Cu(I) 被 H_2O_2 氧化成 Cu(II) [见图 3, (4)式]; 然后 Cu(II) 将 TEMPO 自由基(1)氧化成一个硝基正离子(2) [见图 3, (1)式]; 硝基正离子(2)再与醇类作用, 将羟基氧化成羰基, 其中硝基正离子(2)还原成 N -羟基-2, 2, 6, 6-四甲基派啉(3) [见图 3, (2)式]; N -羟基 2, 2, 6, 6-四甲基派啉(3)再与溶液中未还原的硝基正离子(2)作用生成 TEMPO 自由基(1) [见图 3, (3)式], 以此循环往复, 从而完成氧化反应。

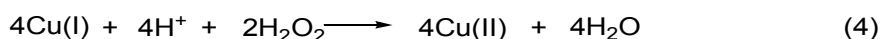
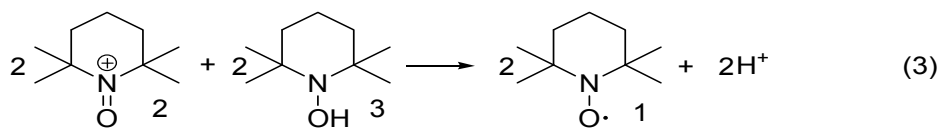
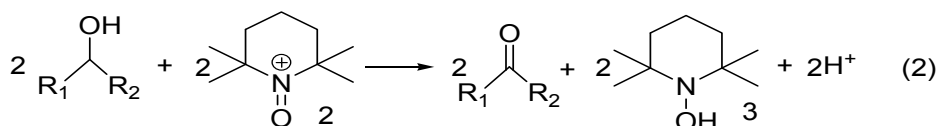
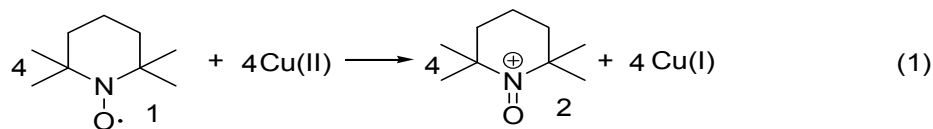


图 3 机理

5 小结

H_2O_2 为氧化剂, CuI 与 TEMPO 为共催化剂, 在 CH_2Cl_2 中 对 卞醇、烯丙醇与仲醇的氧化是一种合成醛酮的好方法, 此方法反应条件温和, 选择性好, 转化率和产率高, 对环境友好。

参考文献:

- [1] 孙宝国, 何坚. 香料化学与工艺[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004. 第 23 页 (Sun, B.-G.; He, J. Flavor Chemistry and Technology[M], Chemical Industry Press, Beijing, 2004), p. 23 (in Chinese)
- [2] 俞根发, 吴关良. 日用香精调配技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2007. (Yu, G.-F.; Wu, G.-L. Perfumery Technology[M], China Light Industry Press, Beijing), 2007, (in Chinese)
- [3] 黄致喜, 王慧辰. 萜类香料化学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999. (Huang, Z.-X.; Wang, H.-C. Terpenic Fragrance Chemical[M]. China Light Industry Press, Beijing), 1999, (in Chinese)
- [4] Hudlick, M. Oxidations in Organic Chemistry [M]. American Chemical Society: Washington, DC, 1990.
- [5] March, J. Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure. [M]. John Wiley & Sons: New York, 1992.
- [6] Jiang, N; Ragauskas, A. J. TEMPO-catalyzed oxidation of benzylic alcohols to aldehydes with the $\text{H}_2\text{O}_2/\text{HBr}$ /ionic liquid [bmim]PF₆ system [J]. *Tetrahedron Lett.*, 2005, 46(19), 3323-3326.
- [7] Liu, R.; Dong, C.; Liang, X.; Wang, X.; Hu, X. Highly Efficient Catalytic Aerobic Oxidations of Benzylic Alcohols in Water [J]. *J. Org. Chem.*, 2005, 70(2), 729-731;
- [8] de Luca, L.; Giacomelli, G.; Porcheddu, A. Trichloroisocyanuric/TEMPO Oxidation of Alcohols under Mild Conditions: A Close Investigation [J]. *J. Org. Chem.*, 2003, 68(12), 4999-5001.

己酸生产中乙酸的回收研究

谷长安¹, 谷利敏², 刘香菊¹, 王彦平¹

(1. 尉氏县香料厂, 河南 尉氏 475506; 2. 河南省化工研究所有限责任公司, 河南 郑州 450052)

摘要: 利用氧化反应和共沸精馏回收己酸生产废水中的硝酸和乙酸

关键词: 己酸; 乙酸; 硝酸; 废水; 回收

The Recovery of acetic acid from Hexanoic acid production

GU Chang-an¹, GU Li-min², LIU Xiang-ju¹, WANG Yan-ing¹

(1. Weishi country perfume plant, Henan Weishi, 475506; 2. Henan Chemical Industry Research Institute Co.Ltd., Henan Zhengzhou, 450052)

Abstract: It was recovered Nitric acid and Acetic acid from waste water of Hexanoic production with oxidation and azeotropic distillation.

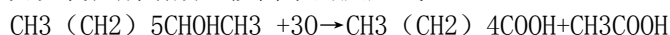
Key words: Hexanoic acid.; Acetic acid; Nitric acid; waste water; recovered

己酸是一个基本的低碳数有机酸, 像甲酸、乙酸、丙酸、丁酸、戊酸、乳酸一样在香料行业有广泛的应用, 如用作原料合成的己酸乙酯是白酒香料的主要产品。还可用于己酸烯丙酯、三己酸甘油酯、长效避孕药等的合成, 也可用于润滑剂增稠剂、缓蚀剂、植物生长调节剂的生产。

我国己酸生产厂家生产己酸现在一般都是仲辛醇加硝酸氧化法: 在一容器内加入仲辛醇和催化剂, 预热到一定温度, 然后滴加一定浓度的硝酸, 进行氧化反应, 此反应是放热反应, 冷却和控制下酸速度, 使反应在一定温度范围内进行, 最后经过一系列后处理, 可获得己酸产品。

我们分析己酸合成工艺的几个关键点。首先说仲辛醇, 选择以仲辛醇为出发原料的工艺路线, 无疑是对的, 其主要原因是因为仲辛醇是从蓖麻油加工反应中提取而来, 其天然性保证了用于香料方面的安全性, 符合绿色食品添加剂的原则; 从经济性方面看仲辛醇也是最便宜的, 因为无论选择以其它的什么原料为起始原料做己酸, 其价格都比仲辛醇贵, 如正己醇、己醛、己腈、辛酮-2 或其它什么原料都要比仲辛醇贵。

其次说氧化剂硝酸, 按简单的反应式:



不说副反应消耗的氧, 单主反应就得消耗比原仲辛醇分子氧数多 3 倍的氧量, 因此选择合适的氧化剂很重要, 工业上常用氧化剂为: 纯氧 O₂、HNO₃、H₂O₂、K₂Cr₂O₇、KMnO₄ 等, 按理论可用氧原子量, 空气氧或纯氧最便宜, 其次是硝酸, 再其次的几种氧化剂的理论产氧量经济上不如硝酸合算。硝酸的放氧模式可能以下面三种主要是后两种形式放氧:

- (1) 2HNO₃ → 2NO₂ + H₂O + O 126 公斤氧/吨硝酸
- (2) 2HNO₃ → 2NO + H₂O + 3O 380 公斤氧/吨硝酸
- (3) 2HNO₃ → N₂O + H₂O + 4O 506 公斤氧/吨硝酸

关于空气或氧气氧化仲辛醇生产己酸的试验, 已知的是开封化工三厂八十年代曾作过, 那时该厂用蓖麻油生产癸二酸, 副产仲辛醇无出路, 试验空气氧化制己酸, 因收率和质量不好, 无法工业生产, 见诸报道的试验资料是余先明的试验[12], 也无法工业生产。神马集团公司的潘强等[13]有一篇己二酸数种生产工艺的综合评价, 其中谈到国外关于空气氧化制己二酸的专利有好几个, 国外某公司还投资建了一个万吨规模的空气氧化法生产线, 但最终因产品质量比现在的硝酸氧化法生产己二酸稍差而不得不停掉, 都是硝酸氧化法生产脂肪酸, 一个是二元酸一个是一元酸, 应该有可比性。就是说目前硝酸氧化法生产己酸的工艺路线的优越性应该是不可怀疑的, 再试验其它工艺是徒劳的。由于纯氧的选择性和收率都不好, 现在己酸企业都是用硝酸。但使用硝酸就存在着污染, 因为硝酸分子中的氮元素不能组合到我们的产品中, 不可避免的要产生氧化氮废气, 因此研究能否彻底消除 NO_x 的污染就是仲辛醇氧化制备己酸工艺今后能否生存的关键之一, 即废气治理。(上一届香料技术研讨会我厂有文叙述)。关键之二是废水治理, 己酸生产的废水一部分来源于氧化工段的汽相冷凝, 另一部分来源于氧化后的洗涤工段, 洗涤是上面己酸工艺路线中的最后一个关键词“一系列后处理”的一个操作工段。按

现在己酸生产企业一般的氧化方法，氧化时硝酸是过量的，一般过量 20%左右，不过量，粗己酸中非酸物即不皂化物就多，一多给后面的蒸馏带来麻烦，难分离，结焦物也增多，这些过量的硝酸混在物料中，一少部分氧化时随水蒸气挥发，大部分留在粗氧化物中。氧化结束时，当粗氧化物中的水多时通过降温后物料分为两层，上层是物料粗氧化物，下层是废酸水，当水少时冷却后也会不分层，不管分层与否，粗氧化物中残存相当量的硝酸。如果不洗涤直接蒸馏，在蒸馏过程中水和乙酸先出的较多，硝酸得以浓缩，当硝酸浓缩到一定浓度，温度又合适时反应激烈进行，轻者窜料重者爆炸，因为当过量硝酸在没有水或水很少时，与有机物的反应是无法控制的。生产实践证明蒸馏己酸，物料中的硝酸浓度在 2%以下是安全的超过 4%是不安全的。硝酸总量也是要控制的，它的总量与物料中的水量和乙酸量有关，与氧化结束时残余的硝酸浓度有关。就是说水越多挟带的硝酸越多；乙酸量越多溶解的硝酸越多；氧化结束时的硝酸浓度越高残留的硝酸总量越多。为了消除硝酸可以有三种选择：1、不洗涤，用无机物与硝酸反应，将其消耗掉，实际上不可行，因为中和掉硝酸要生成硝酸盐，就得回收硝酸盐，不回收就造成硝酸消耗；再者，且不说经济上是否合算，单就粗己酸中含有的相当量的水，就要溶解一相当量的硝酸盐，这些硝酸盐在蒸馏过程随着水的被蒸出，它们被浓缩，这些东西都是氧化剂，不安全，到了一定量会爆炸。2、不洗涤，加容易与硝酸反应的有机物将硝酸消耗掉后再直接蒸馏，比如在氧化结束时加辛酮-2 将剩余的硝酸消耗掉，实际上也不可行，因为要消耗完粗氧化物中的硝酸，就得将酮过量，致使不皂化物升高，在蒸馏过程中这些酮一部分损耗，经济上不合算。3、洗涤，用水洗是最便宜的去除硝酸效果最好的方法。这就是己酸生产中一般都要进行水洗工段的理由之一即除硝酸。专利 200410010266【14】有叙述说用鼓气法消除粗己酸中的硝酸，实际上不可行，一是造成物料损耗导致气相污染，二是吹气消除硝酸的效率有限。

洗涤理由之二是除乙酸和水：按照分子物料衡算，每生产 1160 公斤己酸，应产生 600 公斤乙酸，这些乙酸在现在的氧化反应条件下是相当稳定的，不会被氧化成气体或生成其它物质，为了验证其稳定性，我们分别以 100 克 40%的硝酸加入等量的乙酸、戊酸、己酸、庚酸在 100 度左右反应 6 小时，硝酸的损耗数依次是 0.6%、8%、12%、20%，就是说乙酸最稳定，不会生成其它物质，无论是混在上层物料或下层废酸水中，都必须将其提取出，否则不符合物料衡算。水在己酸中的溶解量很少，但与乙酸的溶解是无限的，乙酸与己酸的溶解是无限的，当稀乙酸溶于己酸时，稀乙酸的浓度极限是乙酸含量 50%左右，就是说超过 50%的乙酸水溶液，己酸在其中是不分层的，或者说 50%以上的乙酸在己酸中的溶解是无限的，就是说粗己酸夹带的水最高可以是其乙酸含量的 100%，水量多只能降低己酸蒸馏效率和增加能耗。如果能将乙酸和水分开，降低蒸馏效率也不是主要的，反正早晚得蒸，问题是现在己酸企业的己酸蒸馏塔很难将乙酸和水一次分成合格市售产品，乙酸和水的二组份分离在工业上都是头痛事，因为当乙酸浓度达到 80%以上时其与水的相对挥发度很低，很难分离，且对一般的不锈钢腐蚀加剧，对设备材质要求很高，以现在己酸企业的己酸蒸馏塔，很难一次把乙酸分成合格市售产品，且不说蒸馏效率和能耗。因此通过洗涤将乙酸除掉同时也就除掉了水，这时再蒸馏，就是己酸蒸馏工艺的较好选择，这是物料要洗涤的第二个理由即除乙酸和水。其它的影响因素这里暂不讨论。这就是说，己酸生产必须有废水产生，其中溶解着大部分应该产出的乙酸，必须得回收，不回收浪费资源，污染环境。

关于己酸生产中乙酸的回收方法在中国专利公报 CN1086205 及 CN1699324 中有提到过，其中 CN1086205 的方案是在氧化过程中将废水放出回收乙酸，此种操作方法存在有以下问题：一是降低氧化设备的生产效率；二是废水中无法保证没有硝酸，有硝酸用碱除去就牵涉到硝酸盐的分离，不分离就会造成碱耗和浪费硝酸；三是放废水时，原料仲辛醇没有大量生成己酸，乙酸也就没有大量生成，里面的乙酸是原来废水中含有的，而大量仲辛醇会对下层乙酸起一个萃取作用，导致废水中乙酸量变少，而乙酸量最大时则是全部氧化结束时。因此此方法工业上不可行。

由于废水中除乙酸外还含有硝酸、氧化中产生的少量二元酸、催化剂和溶解的少量己酸、戊酸、丁酸及一些少量其它杂质等，组份复杂，提取困难，实际上现在己酸生产企业都不专门回收废水中的乙酸，具体操作是：氧化时前几个小时釜顶的冷凝废水弃去不要，因为其含酸少，以乙酸计前几小时的酸含量在 6-7%，最后的约 70%左右，其中硝酸最高百分之十几；氧化结束时的下层酸水能套用多少就套用多少，多余的弃去或中和后弃去；洗料时少洗，尽量将乙酸留在上层物中，洗涤水根本不回收，弃去或用石灰中和后弃去。这些弃去废水的 COD 肯定很高。

为了处理己酸生产中的这股废水，多年来我们做了许多试验，参考了一些文献如糠醛生产中的醋酸回收[2],[9],[10]，工业废水中乙酸的回收[1],[3],[7],[8]，溶剂萃取法回收乙酸[4],[5]，电渗析法回收乙酸[6]及专利 01141847.8 等，这些方法在对付己酸废水中都不好使，如能工业生产的加共沸剂共沸脱水法，以醋酸丁酯为例，加入后，第一釜二釜还有脱水作用，由于硝酸的破坏和其它杂质

的污染，三釜以后就几乎不起分水作用了，用 N-235 等络合萃取，由于杂质的干扰，废水中溶解丢掉无法回收的 N-235 比提取的乙酸价值还高等等。最后选择了洗涤时不用新鲜水，用己酸中各处废水，因为通过研究，得知硝酸去除率与其它物料的浓度无关，只与加入的净水量有关，以振动筛板塔洗料，尽量提高洗后废水中的乙酸浓度，然后添加仲辛醇或辛酮-2 反应精馏，在此过程中辛酮-2 起共沸带水又与硝酸反应的作用，将硝酸消耗掉得以回收利用并使辛酮-2 生成己酸，反应精馏过程中，当乙酸浓度浓缩到较高时改成减压操作，可躲过乙酸浓度越高腐蚀设备越厉害的弊病，同时保护了废水中的高沸点组份如庚酸和没有反应完的辛酮-2 等不发生结焦等副反应，分出的水用于下次洗料，使整个工艺过程几乎没有废水排出，分出乙酸后的高沸点冷却分离沉淀，然后再加入氧化釜参加下一轮氧化，不需单独处理，乙酸的回收几乎接近理论量，效益可观。为此我厂 2007 年申请了专利，现已获得授权。

参考文献：

- [1] 从含酸废水中回收醋酸的方法 黄峰 石油化工环境保护 1998 第 1 期第 8 页。
- [2] 从糠醛废水中回收醋酸工艺研究 张云峰 东北师大学报 2001 第 4 期 33 卷第 4 页。
- [3] 双乙烯酮生产中醋酸的回收工艺流程优化 钟曾玲 天然气化工 2002 第 27 卷第 26 页。
- [4] 溶剂萃取法回收稀醋酸 田恒水 华东化工学院学报 1991 第 4 期 123 页。
- [5] 溶剂萃取法回收色酚废水中醋酸的工艺条件研究 胡怀修等 环境科学与技术 1997 第 1 期第 31 页。
- [6] 电渗析法处理低浓度乙酸废水的研究 张和等 化工环保 1998 第 18 卷第 195 页。
- [7] 稀醋酸回收工艺技术经济评价 王广全
- [8] 稀醋酸母液中回收醋酸 于水军 焦作工学院学报 第 15 卷第 6 期 1996. 12 第 94 页。
- [9] 糠醛废水中的醋酸回收工艺 张晓辉 化学工艺与工程 第 23 卷第 2 期 2006 第 142 页。
- [10] 糠醛废水中的醋酸萃取及回收工艺研究 张运明 广西大学学报 第 19 卷第 4 期 1994 第 372 页。
- [11] 专利 01141847.8 络合萃取精馏分离乙酸和水。
- [12] 仲辛醇氧化制己酸的一种新工艺探索 余先明 精细石油化工 1998 第 5 期 34 页
- [13] 己二酸生产工艺比较 潘强等 河南化工 2004 第 5 期 10 页
- [14] 专利 200410010266 己酸的一种生产方法

热脱附-气相色谱-质谱法在烟叶致香成分分析中的应用

赵瑜 杨华武 谭新良 钟科军 朱卓越 李燕春

(湖南中烟工业有限责任公司技术中心 湖南 长沙 劳动中路 426 号 410007)

摘要: 利用热脱附技术提取和富集烟叶中的挥发性成分,以气相色谱-质谱法分析所提取的烟叶挥发性组分,并以内标为参照,计算烟叶中各挥发性致香成分的相对含量。结果表明,本方法大大简化了预处理操作过程,更进一步保证了实验结果的可靠性和稳定性。本方法为烟叶中挥发性成分分析提供了一种可靠、稳定、快速的方法。

关键词: 热脱附; 气相色谱-质谱; 致香成分; 烟叶

Application of Thermal Desorption-Gas Chromatography-Mass Spectrum in Analysis of tobacco flavor

Zhao Yu, Yang Huawu, Tan Xinliang, Zhong Kejun, Zhu Zhuoyue, Li Yanchun

(Technology Center of China Tobacco Hunan Industrial Corporation, Hunan, Changsha 410007)

Keyword: Thermal Desorption, Gas Chromatography/Mass Spectrometry, Flavor components, Tobacco

Abstract: In order to evaluate the content of volatile components in tobacco, the constituents of flavor components from tobacco were studied by Thermal Desorption-Gas Chromatography/Mass Spectrometry, and the content of the volatile components were quantitated by Internal Standard Method. The results indicated that the technology of thermal desorption can shorten the process of sample pretreatment and provide reliable data for further analysis of tobacco volatile components. This method which established by Thermal Desorption-Gas Chromatography/Mass Spectrometry reflected the constituents of volatile components in tobacco exactly and might become an effective means for tobacco volatile component analysis.

烟叶中挥发性成分是致香成分的重要组成部分。目前国内外研究者对烟叶中挥发性成分的分析开展了大量的工作。目前主要是通过采用水蒸汽蒸馏,同时蒸馏萃取法和索氏提取法等方法提取烟叶中的挥发性成分,再通过气相色谱或者气相色谱-质谱联用仪进行定性定量分析[1-5]。但这些方法都存在一些比较明显的不足,因为这些方法都需要经过长时间的加热提取和浓缩过程,操作过程比较繁琐,更会使一些对烟叶品质非常重要的低沸点的物质在长时间加热提取过程中发生化学反应或在浓缩过程中损失,从而造成实验的重现性和稳定性较差。

热脱附是 20 世纪 90 年代初出现的一种新的分析测试样品处理技术。具有可以固体直接进样,无须任何前处理过程等优点。目前已在环境分析、农药残留检测、食品分析以及医疗卫生等领域逐步得到广泛的应用[6-8]。热脱附分析方法在烟草挥发性成分分析中已有一些应用,如有文献报道利用热脱附-气质联用技术分析成品卷烟烟丝中的挥发性成分[9],但此方法使用的热脱附温度很高,达到 270℃,这可能造成烟丝中成分的裂解,而且更重要的是由于温度过高造成烟叶裂解,该方法不能真实反映烟叶本身挥发性组分的特征。有文献报道利用热脱附-气相色谱分析卷烟中的香气成分[10],但此方法热脱附的温度高达 350℃,与上述方法存在同样的问题,而且此方法所得到的气相色谱-质谱图非常复杂,色谱分离效果较差,难以通过 NIST 标准谱库准确定性。以上两种方法还存在定量方面的缺陷,以上两种方法没有加入内标,都是通过峰面积的归一化含量来计算各个挥发性组分的含量,这样的做法显然是无法比较不同烟叶中挥发性组分的相对含量。

本文使用热脱附技术,在合适的温度下提取富集了烟末中的挥发性组分,避免了提取过程中烟叶的热裂解反应,保证了实验结果的可靠性和稳定性。同时在烟末样品中加入了内标,使用内标法计算了各个挥发性组分的相对含量。本方法为烟叶中挥发性成分分析提供了一种可靠、稳定、快速的方法,进而可有效表征烟叶的品质,为卷烟产品的维护以及新产品的开发提供理论支持。

1. 材料

1.1 仪器

安捷伦 7890-5975C 气相色谱-质谱联用仪, HP-INNOWAX 气相色谱柱 (60m*0.25mm*0.25 μm), 帕金埃尔默 AT350 热脱附仪, 热脱附管, 玻璃管 (自制, 稍小于热脱附管内径, 可以放入热脱附管)

1.2 试剂和样品

乙酸苯乙酯 (标准对照品), 云南丽江 (2006 年, C3F) (由长沙卷烟厂提供)

2. 方法

2.1 样品预处理

精密称取烟末 50mg 至自制的玻璃管, 加入内标乙酸苯乙酯 (0.2mg/ml) 5 μl, 并在玻璃管上端放入少量玻璃棉 (避免热脱附过程中烟末飞出), 制成待测烟末样品管, 备用。取底端带有滤网的不锈钢

热脱附样品管，将待测烟末样品管放入热脱附样品管，并置于热脱附样品盘上，准备进样。

2.2 热脱附操作条件

样品脱附管温度：150℃，冷阱捕集温度：-30℃，冷阱热脱附温度：260℃，传输线温度：200℃，脱附时间：30min，进口分流流速：30ml/min，出口分流流速：30ml/min。

2.3 气相色谱-质谱操作条件

色谱柱：HP-INNOWAX 气相色谱柱（60m*0.25mm*0.25 μm），离子源温度：230℃，流速为1ml/min，质谱扫描范围为33-300amu，程序升温为：40℃保持2分钟，然后以2℃/min升温至240℃，保持10分钟。

2.4 定性和定量方法

挥发性组分经GC-MS分析，各组分质谱数据通过计算机库(Nist 05)进行检索，对拟合指数和质谱数据进一步加以确认，同时结合相对保留时间，参考有关文献数据进行定性，根据各化合物峰面积与内标峰面积之比进行定量（式1）。

$$X_k = \frac{M_i \times A_k}{m \times A_i} \quad \text{式 1}$$

式中：X_k 为第 k 种挥发性成分的含量（μg/g）

M_i 为加入内标物质的质量

A_k 为第 k 中物质的色谱峰面积

A_i 为内标物质的色谱峰面积

m 为实验称取烟末或烟丝的质量（g）

3.结果和讨论

3.1 热脱附条件的确定

本文主要考查了样品管的热脱附温度和热脱附时间这两个对提取效果影响最大的实验条件。经过试验发现，在150℃的热脱附温度下，能够捕集大部分挥发性成分，而如果温度进一步升高，则可能造成烟叶中一些热不稳定性组分裂解，故确定热脱附温度为150℃。进一步通过试验确定热脱附时间在30min可以获得比较满意的实验结果。

3.2 色谱柱的选择

考虑到烟叶中挥发性成分的复杂性，在试验中尝试使用了HP-5MS（60m*0.25mm*0.25 μm），HP-INNOWAX 气相色谱柱（60m*0.25mm*0.25 μm）来考查色谱分离情况，结果说明HP-INNOWAX 色谱柱能够收到比较好的分离效果，而HP-5MS 色谱柱的分离效果较差。所以本试验选择HP-INNOWAX 气相色谱柱作为分离柱。

3.3 挥发性成分分析结果

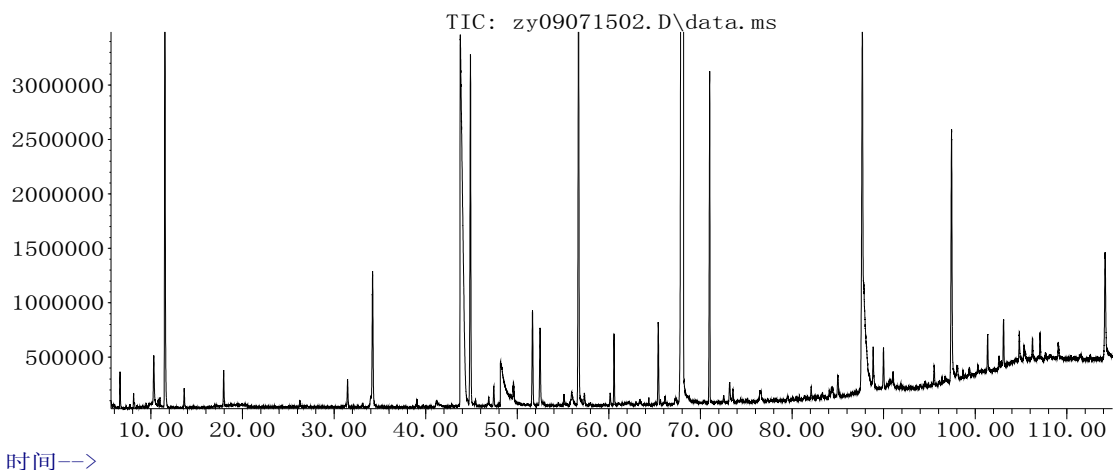
云南烟叶的热脱附-气相色谱-质谱图分别见图1，各挥发性成分的含量如表1所示。

3.4 精密度和重复性

选取同一批次样品按照上述实验条件在一日内连续进样分析5次，各个色谱峰相对峰面积和相对保留时间的平均相对标准偏差(RSD)分别为4.23%和4.80%。

选取同一批次样品按上述实验条件在5日内连续进样分析5次，每天一次，各个色谱峰相对峰面积和相对保留时间的平均相对标准偏差(RSD)分别为4.56%和5.22%。此结果表明方法具有较高的精密度和重现性。

丰度



时间-->

图 1 云南烟叶中热脱附-气相色谱-质谱总离子流图

表 1 云南烟叶中挥发性成分列表

序号	物质名称	云南烟叶 (µg/g)
1	乙醛	6.58
2	丙醛	0.38
3	异丙醛	1.75
4	乙酸甲酯	0.44
5	3-甲基呋喃	0.77
6	2, 3-丁二酮	4.56
7	2, 3-戊二酮	7.89
8	丁烯酮	0.36
9	2-甲基苯酚	ND
10	吡啶	1.51
11	2-甲基-3-(2H) 呋喃酮	6.87
12	1-羟基-2-丙酮	44.6
13	6-甲基-5-庚烯-2-酮	0.25
14	1-羟基-2-丁酮	1.95
15	羟乙酸甲酯	0.68
16	5-甲基-2-呋喃酮	0.59
17	乙酸	307
18	糠醛	103
19	1, 2, 3, 4-四氢-1, 1, 6-三甲基萘	1.23
20	2-乙酰基呋喃	5.49

21	甲酸	48.2
22	丙酸	4.24
23	5-甲基糠醛	26.9
24	2-环戊烯-1, 4-二酮	23.5
25	丁内酯	2.85
26	苯乙醛	0.35
27	呋喃甲醇	123
28	1, 5, 7-三甲基四氢萘	0.76
29	5-甲基-2-呋喃酮	1.00
30	5-甲基-呋喃甲醇	3.56
31	三环烯	15.6
32	乙酰胺	0
33	巴豆酸	1.26
34	内标	20.0
35	β -大马酮	1.14
36	α -紫罗兰酮	0.48
37	烟碱	1247
38	新植二烯	72.1
39	麦芽酚	6.3
40	乙酰基吡咯	3.16
41	巨豆三烯酮	1.07
42	吡喃酮	100
43	二烯烟碱	10.2
44	十六酸	37.0
45	十四酸	7.20
46	3-氧代- α -紫罗兰醇	4.16
47	3-羟基- β -大马酮	2.52
48	5-羟甲基糠醛	84.6

3.5 讨论

在烟叶挥发性成分提取和富集过程中使用热脱附技术，在合适的温度下提取富集了烟末中的挥发性组分，大大简化了预处理操作过程，去除了人为操作所带来的实验误差，保证了实验结果的可靠性和稳定性。本方法避免了传统方法长时间的加热提取，浓缩等繁琐的操作过程，更重要的是避免一些对烟叶品质非常重要的低沸点的物质在长时间加热提取过程中发生化学反应或在浓缩过程中损失。同时本方法在烟末样品中加入了内标，使用内标法计算了各个挥发性组分的相对含量。本方法为烟叶中

挥发性成分分析提供了一种可靠、稳定、快速、全新的方法,进而可有效表征烟叶的品质,为卷烟产品的维护以及新产品的开发提供理论支持。

参考文献:

- [1] Hayatom H, Shizuo S. The quality estimation of different tobacco types examined by headspace vapor analysis. Beitr Tabak, 1999, 18(5):213
- [2] Coleman W M. Automated purge and trap gas chromatography analysis of headspace volatiles from natural products J. Chromatogr Sci. 1992, 30(5):159
- [3] WU Z M, Willard W W, Long R C. Contribution of neutral volatiles to flavor intensity of tobacco during smoking. J. Agric. Food Chem. 1992, 40(10):1917
- [4] 杨再波, 彭黔荣, 赖东辉, 蔡元青. 烤烟烟梗中挥发性中性香味成分的分析研究. 贵州工业大学学报, 2005, 34(1):31
- [5] 李天飞, 孙敏, 杨金辉, 张承聪, 杨文凡, 杨艳, 马东萍, 叶兰钦. 烟叶中核心香气成分的GC/MS分析. 云南大学学报, 2001, 23(3):217
- [6] 吴洁珊, 刘崇华, 张晓利, 刘伟红. 汽车内部装饰材料挥发性苯系物的热脱附/气相色谱-质谱法测定. 分析测试学报, 2008, 8(27):874-877
- [7] 杨正春, 范国樑, 马郁, 胡茵梦, 刘京虎, 王立敏. 高温热脱附技术对柴油机尾气颗粒物中小分子易挥发组分的分析研究. 分析测试学报, 2008, 27(27):231-232
- [8] 陈云霞, 游静, 陈淑莲, 王国俊, 张代娣. 用吹扫捕集-热脱附-气相色谱-质谱法分析生活污水中挥发性有机物. 分析测试学报, 2000, 1(19):26-29
- [9] 徐伟玲, 赵云荣, 王文领, 吸附热脱附-气质联用技术分析烟丝中挥发性及半挥发性成分. 化学研究, 2006, 1(17):92-94
- [10] 杜学伟, 王锴, 杜光尧, 王向东, 热脱附/冷阱聚焦/气相色谱/质谱法卷烟香气分析, 分析测试技术与仪器. 2007, 1(13):33-40

芳香按摩疗法的应用原理

梅家齐¹ 周欣欣²

¹ 广州馨德香料科技有限公司、芳香技术工作室

² 广州中医药大学. 广州 510405

The application of principles of aromatherapy massage therapy

Aromatherapy technology workshop, Xin de Fragrance science and technology Co.Ltd. meijiaqi

Guangzhou University of Chinese medicine

zhouxinxin

Abstract: Massage is China's most ancient hand skill therapy, also known as tuina, anqiao and so on. Aromatherapy Massage therapy is using various hand skills on the human body surface or in the meridians and acupuncture points, combined with aromatic substances in massage therapy, to achieve physical fitness and purpose of disease treatment.

To achieve this goal, the key point is whether you can grasp and apply all sorts of aromatic substances, and massage techniques.

Because the therapeutic effect of aromatic massage is related to the preparation of aromatic varieties, skin's transdermal absorption, and the selection of massage techniques

Keywords: Mechanism, transdermal, absorption aromatic media, massage techniques

摘要: 按摩是中国最古老的一种手技疗法, 亦称推拿、按跷等。而芳香按摩疗法是在人体体表及经络或穴位上运用各种手法, 辅以芳香物质进行按摩治疗, 达到强身健体和治疗疾病的目的。能否达到这个目的, 关键在于是否能掌握和运用好各种芳香物质品种以及按摩手法。因为芳香按摩的治疗效果直接与芳香物质品种的配制、皮肤的透皮吸收、按摩手法的技巧和按摩手法的选择有关。

关键词: 作用机理; 透皮吸收; 芳香介质; 按摩技术

一、芳香按摩疗法的作用机理

《素问·异法方宜论》中早有推拿按摩的记载: "中央者, 其地平以湿, 天地所以生万物也众。其民食杂而不劳, 故其病多痿厥寒热, 其治宜导引按跷。"按跷, 即今天之推拿按摩。现代芳香疗法认为, 通过芳香按摩疗法可以达到“维护”(美容保健)、“修复”(损容性疾患)、“改善”(修饰容貌瑕疵)目的。其作用主要体现在以下几方面。

a、平衡阴阳, 调整脏腑气血功能。芳香按摩用不同的芳香物质及手法刺激机体的某些部位和穴位, 在局部疏通经络、行气血。通过气血经络进一步影响至内脏及其它器官, 以达到在内调整阴阳、脏腑、气血的作用。

b、疏通经络还可活血化瘀, 因人体的经络、气血“不通则痛”、“壅塞则肿”, 芳香按摩通过各种芳香物资品种及按摩手法疏通经络、气血、活血化瘀, 使不通壅塞之状得以消除。

c、促进血液循环和淋巴循环。在芳香物资品种及按摩手法的刺激下, 血液循环会加速, 周围血管适度扩张, 有利于各组织营养的输送和新陈代谢产物的排出, 也使皮肤各层组织获得充足的体液和营养, 使皮肤松软、毛孔张开。芳香按摩对淋巴系统同样可起到促进循环作用, 可有效地减轻组织水肿和皮肤松弛。也使淋巴中的抗体和淋巴细胞可更好地发挥免疫及吞噬作用。同时, 对加快肌肉的血液循环, 增加肌肉的营养供应, 增强肌肉的柔韧, 或解除肌肉的疲劳痉挛, 促使萎缩肌肉逐渐康复。

d、促进皮脂腺和汗腺的分泌, 加快皮肤新陈代谢。小分子的芳香物质品种及透皮效果强的脂肪酸系列基质直接作用于皮肤的按摩手法, 可以清除衰亡的上皮细胞, 促进皮肤新陈代谢, 增加皮肤的光泽。对于干燥型的皮肤则可使其滋润; 对油性皮肤则能及时清除积存于毛孔内的污垢和废物, 减少阻塞和污染的机会。能增加局部组织的耗氧量, 加速二氧化碳、氮等废物的排泄, 减少油脂在皮肤中的积累, 可预防肥胖的发生。刺激胶原蛋白恢复活力, 使皮肤皱纹软化和消除。

芳香按摩对皮下神经起到良性刺激作用, 可减缓神经紧张度, 缓解肌肉拘急疼痛, 以解除疲劳困乏。

芳香按摩能借助芳香介质的作用有效增强治疗效果。便于手法操作, 强化手法作用, 保护受用人皮肤, 防止因手法操作而造成的皮肤损害。

二、透皮吸收

透皮吸收是指芳香按摩在作用于皮肤各部位时，芳香物质品种的配制与手法的技巧和手法的选择相结合，使小分子的芳香物质品种及透皮效果强的脂肪酸系列基质直接透入皮肤并到达皮肤组织深部，从而发挥疗效作用的过程。

透皮吸收的途径

皮肤是一种高度组织化的、异质性和多层性组织。它形成了一种有效保护层和屏障。从外到内由表皮、真皮、皮下组织组成。表皮在形态学上又可分成为数层，最外层为角质层，其下层称为活性表皮层。表皮是阻止自然界物质透入的屏障，其角质层由死亡的角化细胞组成，结构致密，其功能主要是防止水分的蒸散及外来物资的侵入。小分子的芳香物质品种及透皮效果强的脂肪酸系列基质对皮肤渗透，主要由表皮透入到真皮或皮下组织，此为“表皮途径”，这是透皮吸收的主要途径。其次是经皮肤附属器，例如毛囊、汗腺和皮脂腺透入到真皮或皮下组织。

透皮吸收的过程

从芳香物质通过按摩手段看透皮吸收这一过程，首先是基质（基础油）向角质层的分配释放，由于所采用的基质以及按摩手法的不同等因素，其释放速率也不同。对于脂溶性小分子的芳香物质和基质，可选择性地对芳香物资品种及基质作透皮速率的有效调配。由于皮肤的角质层具有类脂膜性质，因而，脂溶性的芳香物质和基质也易于通过角质层，在穿过角质层后需分配进入活性表皮，继而被吸收进入体循环。分子质量小的芳香物质易于透皮吸收，若分子质量大于 3KD 则难以透皮吸收。透皮吸收速率与分子量之间存在反比关系。

基质对透皮吸收的影响

芳香物质在基质中的溶解状态对透皮吸收有很大影响，通常，芳香物质在基质中以完全溶解状态释放比部分存在未溶状态释放快。人体试验证明，选择那些对穿透分子亲和力低并恰好能够溶解芳香物质的基质有利于透皮释放。

透皮吸收的皮肤条件

疾病或皮肤损伤可致角质层丧失屏障作用，从而使透皮吸收的速度和程度大大增加。一般溃疡皮肤对较多的芳香物资及基质的渗透性超过正常皮肤 3-5 倍，并可引起疼痛、过敏及中毒等症状，应引起重视。通常，人的头皮、腋下、前额和颌角透皮吸收比手臂、手掌、背部、踝部要好。掌跖部因角质层和透明层较厚，又缺乏毛-皮脂腺结构，所以透皮吸收能力较差，臂屈侧皮肤较薄嫩，故透皮吸收能力较强。

透皮吸收促进剂

透皮促进剂是指能够促进芳香按摩疗法中芳香物资及基质制剂更快或更多地透入皮肤内或透过皮肤进入循环系统，从而发挥局部或全身的疗效作用的一种物质。

芳香按摩疗法中所使用的透皮吸收促进剂，是在功能疗效原则上选择使用的。由于芳香按摩在透皮用芳香物质（精油、净油、油膏、酊剂、提取物等）及基质（各种富含脂肪酸的植物油）施行治疗按摩时可避免内服对肝脏首关效应和胃肠因素的影响，并具有恒速释放、使用方便、安全可靠和降低毒付作用等优点。同时，考虑皮肤对外来物质的屏障作用，寻找能快速促进渗透皮肤的有效方法及物质来强化疗效是很有必要的。芳香按摩疗法中所使用的透皮吸收促进剂有二种。芳香物质中的萜烯类使用较为多数。萜烯类化合物是芳香油的一种成分，从芳香油中寻找透皮促进剂越来越受到业界的重视。因为这类促进剂具有疗效快、效果好、毒性小等优点。目前，芳疗临床使用较多的透皮吸收促进剂是含薄荷醇的亚洲薄荷油、紫椒薄荷油、绿薄荷油，含柠檬烯较多的甜橙油、柠檬油、葡萄柚油，含龙脑成分的薰衣草油、香紫苏油、迷迭香油、樟脑油。除了以上单萜类化合物，另有按叶油、冬青油、茴香油、丁香油、松节油等精油，都具有穿透力强，能与角质层中脂质相互作用，使细胞间微孔增加，从而促进芳香物质及基质的扩散，产生较理想的促渗作用。

另一种透皮吸收促进剂为脂肪酸类，脂肪酸类促透剂作用于角质层细胞间类脂，增加脂质流动性，使芳香物质透皮速率增大。该类化合物的促透作用与碳链长度和双键数目有关，十二个碳原子的脂肪酸具有最大的促进作用，再增加双键，促透作用也会增强。此类促渗剂中应用较多的有月桂酸（Lauric）油酸（Oleic）、亚油酸（Linolenic）及其脂类，其中研究应用较多的是油酸。油酸（Oleic）即十八烯酸，与皮肤中脂肪酸结构很相似，能影响角质层脂质结构，使其发生改变后，增加脂质流动性，从而促进芳香物质的渗透。油酸的促渗作用比较持久，能选择性地促进经脂质途径渗透的芳香物质的透皮吸收。

油酸对荷电阳离子物质具有独特的促进效果，这是由于油酸能与阳离子物质形成离子对复合物，后者对角质层有较好的渗透作用，接触人体后，该离子对复合物在体液 pH 下又可解离出油酸等。油酸是天然脂肪酸，广泛存在于葡萄籽油（含油酸 12-25%）、小麦胚芽油（含油酸 14-28%）、鳄梨油（含油酸 55-75%）、玫瑰果油（含油酸 12-15%）、霍霍芭油（含油酸 5-25%）、茶籽油（84-88%）等数十种植物油中。其不良反应轻微，对皮肤几乎无刺激，无毒而安全。

三、按摩技术（手法）

我国古医籍中对按摩有较多的记载。《灵枢·九针论篇》中说：“筋脉不通，病生于不仁，治之以按摩”。《黄帝内经》中记载按摩治疗范围有痹症、痿症、口眼喎等。时至隋唐，按摩已较为兴盛，开设了按摩专科的自我按摩法。目前在世界各地，均有医疗（中医）按摩、运动按摩、保健按摩、美容按摩等。其中医疗（中医）按摩、保健按摩和美容按摩已成为芳香按摩重要的组成部分。

按摩的作用是舒筋活络、理筋整复、活血化瘀，可以解除肌肉痉挛，改善肌肉萎缩，它无服药之不便、针刺之苦，故易为患者接受。

按摩手法在认识上有广义与狭义之分。广义上讲，手法是检查、诊断和治疗疾病的总称和概括，所以古代讲手法是：“一旦临证……机触于外，巧生于内，手随心转，法从手出”。尤其在治疗疾病过程中，手法绝不仅仅是机械的运动方式，要具有丰富的情感及互动，要不断地与患者患处的肌肉、韧带、经络等进行交流，随时适度地调整手法给予的力度、角度、频率等，即所谓“手随心转，法从手出”。狭义上讲，手法就是用掌、指、肘等着力部位运用多种技巧在人体体表上进行治疗的方法。根据生物力学的观点，大致可分为点、按、摩、揉、擦、抹、推、拿、捏、搓、滚、击、拍、抖等手法。

1、芳香按摩常用手法

（一）点法，一般常用有拇指点和屈指点两种。拇指点是用拇指端点压体表。屈指点或屈拇指点，是用拇指指间关节桡侧点压体表；或屈食指，用食指侧指间关节压体表。

手法要领：点法作用小，刺激量大，操作切忌暴力，而应按压深沉，逐渐施力，再逐渐减力。被操作部位在操作前先涂上复方芳香功效油。

应用及适应症：本法适用全身各部位及面部。可开通闭塞，活血止痛，调整脏腑，也可治疗各种损容性疾病。

（二）按法，用手指、手掌或肘尖着力于体表某一部位或穴位上，逐渐用力下压。按法可分为指按、掌按、肘按三种。

手法要领：按压方向要垂直，用力要由轻到重，稳而持续，使刺激充分透达到肌体组织的深部。忌猛然发力。此法常与揉法合用。被操作部位在操作前先涂上复方芳香功效油。

应用及适应症：芳香按摩以拇指按法为常用。其方法是将拇指伸直，用指腹按压经络穴位，其余四指张开起支撑作用，协同用力。此法可放松肌肉、开通闭塞、疏经活络，活血散瘀止痛。适用于所有经络穴位，亦可用于头面部保健、美容按摩。对治疗头痛，肢体麻木酸痛，局部瘀血，月经不调、痛经有效。

（三）摩法，即用食、中、无名指指腹或手掌面附着于体表的一定部位上，作环形而有节奏的摩动。

手法要领：操作时肘关节微屈，腕部放松，指掌自然伸直放在体表的一定部位上，连同前臂作缓和协调的环绕摩动。顺、逆时针方向均可。频率约每分钟 120 次左右，建议被操作部位在操作前先涂上复方芳香功效油，按摩后加贴专用芳香酊剂剂贴。

应用及适应症：此法柔缓舒适，适用于全身各部位。具有活运气血，和中理气，消积导滞，祛瘀消肿等功效。在腹部操作时，顺时针摩动可消积导滞，泻热通便；逆时针摩动可温中止泻。是芳香按摩常用手法。适应脾胃虚弱，脘腹胀痛，气滞血瘀，对腹部减肥及面部美容保健有效。

（四）揉法，即用手掌大鱼际、掌根或手指着力于一定部位上，作轻柔缓和，玩转回环的转动。如用手指操作的，称为指揉法；用手掌的大鱼际部分操作的，称为大鱼际揉法；用全掌或掌根操作的，称为掌揉法。

手法要领：揉法是由摩法衍化而来的，故揉法在手法操作上与摩法相似。但两法在施力上的轻重及作用部位深浅上，又有程度上的不同。摩法较揉法轻，作用部位一般仅在皮肤和皮下组织；而揉法施力较摩法重，作用部位可达皮下肌肉组织。揉动频率每分钟 120-180 次，强调动作要协调而有节奏，被操作部位在操作前先涂上复方芳香功效油，如是胸胁胀闷，脘腹胀痛，便秘，腹部减肥治疗，按摩前 20 分钟先喝养胃润肠保健茶，按摩后加贴专用芳香酊剂剂贴，疗效明显。

应用及适应症：具有调和经络、气血的功效，可理气松肌活血化瘀、消肿止痛，清脑明目。适用于全身各部，而头面部多用大鱼际揉法。揉法对胸胁胀闷，脘腹胀痛，便秘，泄泻，失眠，外伤瘀血

有显著作用。亦可用于腹部减肥和头面部防皱泽肤。

(五) 擦法，是用指、掌、大鱼际、小鱼际着力于体表的一定部位上进行来回摩擦。也称为平推法。手法上可分为指擦法、掌根擦法、鱼际擦法。

手法要领：上肢放松，手指自然平伸，将手的着力部位紧贴在治疗部位上，以肘关节的屈伸活动来带动手的着力部位，在治疗部位上作直线往返摩擦运动，动作要求均匀连贯，其频率每分钟 120-140 次左右。被操作部位在操作前先涂上润滑效果强、粘度稍大的复方芳香功效油，以免擦损皮肤，建议按摩后加贴专用芳香酊剂剂贴。

应用及适应症：擦法施力较摩法重。由于高速度的摩擦，产生的热量大，可深透其皮下深部组织，故具有温煦清洁光泽皮肤，改善汗腺和皮脂腺功能，减少多余皮下脂肪，祛风散寒，温通经络，疏通气血，祛瘀消肿，镇静安神，健脾和胃等功效。擦法对消化不良，腰背酸痛，神经衰弱，外伤红肿及肝郁气滞型肥胖症有效疗。

(六) 抹法，是用单手或双手拇指螺纹面紧贴皮肤，作上下、左右或弧形曲线的往返运动。用手指操作的称为指抹法；用手掌掌根操作的，称掌抹法。

手法要领：此法要求使用压力要均衡，抹动速度宜缓慢，作用力可浅在皮肤，深在筋肉。操作时用力要轻而不浮，重而不滞。双手操作施力应对称，动作要协调一致。被操作部位在操作前先选用透皮吸收效果较快、刺激较低的精油调配成复方芳香功效油。头面部用油要用低粘度功效油操作。

应用及适应症：此法可开窍醒神，清利头目，扩张皮肤血管，防止皮肤衰老，消除颜面皱纹。对晕眩，头痛，颈项强痛，肩周酸痛，黧黑斑，面颈部皱纹有疗效。也适用于头面部驻颜美容。

(七) 推法，是用指、掌或肘部着力于一定部位上进行单方向直线移动。用于手指操作的称指推法；用手掌操作的称掌推法；用肘部操作的称肘推法。沿经脉、经筋循行分布或筋肉等组织的结构形态作直线或向两侧推动。

手法要领：指、掌、肘的着力部位应着实在所选用的穴位或部位上，以均匀的力量作上下或左右的缓慢移动。一般推法强调施力较重，对皮肤刺激强度大，为了防止损伤皮肤，常配以粘度适中的复方芳香功效油起功能、润滑作用，对解痉镇痛，腰背酸痛，肥胖症状，可加大功效型芳香精油用量。推法所及的深度与所施力的轻重有直接关系，芳疗师在临症时，应依据应症部位的深浅决定施力的轻重。

应用及适应症：能有效地提高肌肉的兴奋性，促进血液循环，舒经活络，舒肝健脾，解痉镇痛。对脘腹胀痛，食欲不振，腰背酸痛，面颈部皱纹及脾虚痰浊型肥胖症有疗效。亦可用于全身美容保健操作。

(八) 拿法，即用拇指和其余手指对置在所选用的部位或穴位，相对着力持取，将应症部位的皮肉、筋膜捏拿提起，用拇和食、中指操作的，称为三指拿法；用拇指和其余四指操作的，称为五指拿法。

手法要领：此法操作时腕要放松灵活，用指端着力，用劲要由轻到重，切不可突然发力，以被持拿的部位出现明显酸、胀、麻的感觉为度，并使受者能以耐受。建议被操作部位在操作前先涂上复方芳香功效油。

应用及适应症：此法对肌肉神经组织有较强烈的刺激作用，具有疏通经络，调理气血，解表发汗，开窍提神等作用，适用于颈项、肩部、四肢部位出现的腰腿疼痛，肌肉酸痛，神经衰弱，肥胖症状。

(九) 捏法，是用手指对置在所选用的经筋部位的两侧，相对着力夹挤，并沿其分布或其外形轮廓辗转前进。用拇指和食、中指操作的，称为三指捏法；用拇指和食、中指、无名指、小指操作的称为五指捏法。

手法要领：此法操作时动作要轻快柔和而连贯，不得扭绞皮肤。动作要做到刚中有柔，柔中有刚。其经络穴位捏时，不可呆滞。建议被操作部位在操作前先涂上复方芳香功效油，按摩后在“阿是穴”加贴专用芳香酊剂剂贴。

应用及适应症：此法可改善局部血液循环，消除肌肉酸痛。具有疏通经络，调理气血，促进萎缩肌肉的恢复，增强体质的作用。适用于头、颈、肩和四肢部位。三指捏法主要用于四肢及肩、颈部位。五指捏法用于腰部。此法对肢体麻木，肌肉萎缩，腰腿疼痛，局部劳损肥胖症，面颈部皮肤衰老起作用。

(十) 搓法，是用双指或双掌对置在所选用的部位上，相对用力作往返的交转轻揉搓擦，并同时行上下往返移动。用手指操作的，称为指搓法；用手掌操作的，称为掌搓法。

手法要领：此法操作时双手用力要对称，搓动要快，移动要慢，以被搓动的肢体出现麻、热的感觉，则达到手法效应。建议被操作部位在操作前先涂上透皮吸收复方芳香功效油，按摩后在“阿是穴”加贴专用芳香酊剂剂贴。

应用及适应症：此法具有调理气血，疏通脉络，活血止痛，放松肌肉，消除疲劳等功效。适用于胸胁部和四肢部位，以上肢为最常用。一般作为芳香按摩的结束手法。对腰腿疼痛，肩背酸痛，外感风寒，肢体麻木起作用。同时可用于上肢保健美容疗法。

(十一) 滚法，是用小鱼际着力，掌指附作于所选用的部位上，以前臂的摆动带动腕关节之灵活滚动。

手法要领：此法操作时手微内屈，呈半握拳状；肘关节微屈，与上臂的夹角约 120 度左右。手法力求柔和、深透、有力，要防止手背跳动和在操作部位上拖曳摩擦。频率控制在每分钟 120-160 次。被操作部位在操作前先涂上低粘度、快挥发的复方芳香功效油，按摩后在“阿是穴”加贴专用芳香酊剂剂贴。臀腰背腿部位减肥在“神厥穴”加贴专用芳香酊剂剂贴。

应用及适应症：此法具有祛风散寒，疏经活络，活血止痛，滑利关节，缓解肌肉、韧带痉挛，增强肌肉和韧带活动能力，消除肌肉疲劳。适用于腰背部及四肢部位。对肢体麻木，运动功能障碍，臀腰背腿部位减肥及全身保健起作用。

(十二) 击法，采用各种不同手法，在人体一定部位上进行轻快而有节律的敲打。用食指、中指、无名指、小指指端敲打者，为指尖击法；用双手尺侧部作交替性击打者，为侧击法；一手按于人体被治疗部位，用另一手的掌根部，击打按手的手背者，为掌根击法。

手法要领：此法操作时击打用力要由轻到重，循序渐进，用力应垂直下落，不可带有任何角度，不能产生拖抽动作，动作要快速而短暂。建议被操作部位在操作前先涂上透皮吸收复方芳香功效油，指尖击法避免用粘度较大的复方芳香功效油，掌根击法慎用复方芳香功效油。

应用及适应症：此法具有舒经通络、活血化瘀、调和气血。对风湿痹通，局部感觉迟钝，肌肉痉挛，头痛，头晕，失眠烦躁有疗效。适用于全身各部位操作。三击法在部位分配上是指尖法常用于头面部；侧击法常用于腰背、肩及四肢部位；掌根击法常用于头顶部位。

(十三) 拍法，是用手指自然并拢，掌指关节微屈，平稳而有节奏地拍打操作部位。

手法要领：此法操作时根据症状性质决定施力大小及施拍方法。轻症、体虚者用腕部自然摆动施以轻拍法；重症、体实者用全臂摆动施以重力重拍法；中力是以肘关节为中心带动手臂施以拍法。操作过程中切忌暴力。拍法可作全身各部位使用。建议被操作部位在操作时慎用或少用复方芳香功效油。

应用及适应症：此法具有舒经通络，行气活血，引邪达表，疏松腠理，缓解肌肉痉挛和疲劳作用。对四肢肌肉麻木、痉挛、萎缩、局部感觉迟钝有疗效。可用于全身各部位操作。

(十四) 抖法，是用双手握住应症者的上肢或下肢的远端，用力作连续的小幅度的上下颤动，颤动幅度要小、频率要快。

手法要领：此法操作时肩部要充分放松，肘关节微屈。操作时切勿用大力拉伸。施抖前必须先用放松局部的准备手法，以便施抖效果理想。抖法通常用于四肢。也是芳香按摩收尾的手法之一。

应用及适应症：此法具有活血止痛，放松肌筋，解除粘连，通利关节，消除疲劳。对四肢麻木，局部粘连有疗效。可用于四肢保健美容按摩。

2、芳香按摩治疗适应症状

芳香按摩疗法是在人体体表及经络或穴位上运用各种手法，辅以芳香物质进行透皮给药的按摩治疗，达到强身健体和治疗疾病的目的。对皮肤容颜保健类的治疗适应症有祛皱驻颜，皮肤松弛，皮肤色泽晦，毛发枯黄，各种液、脂眼袋，乳房发育不良，延缓衰老。

可直接获取治疗效果的有黧黑斑，粉刺，隐疹，白发，油风，冻疮，多种单纯性肥胖症，肌性斜颈。可间接获取治疗效果的有肩周炎，软组织扭、挫伤，慢性肌劳损，神经衰弱，落枕，胃下垂，慢性腹泻，便秘，胃肠功能紊乱，过敏性结肠炎，男性阳痿、早泄，女性月经不调、痛经、闭经、慢性盆腔炎、绝经期综合症，慢性肾炎，慢性支气管炎，慢性鼻炎，妊娠纹。

3、芳香按摩注意事项

芳香按摩在操作时要熟习人体解剖和经络、穴位基本理论知识，知晓按摩部位的组织结构和生理功能。

局部有严重皮肤损伤及传染性皮肤病的人，有出血倾向和血液病者不宜操作。

严重心、脑、肺疾患或体虚极度衰弱者，不宜作全身性按摩。

女性行经期间、妊娠、产后恢复期，其腹部、腰骶部不宜按摩。

过饥、过饱及激烈运动后，不宜按摩。

发生按摩中晕厥现象应立即停止按摩，让受者平卧于空气流通处，饮少量温开水或糖水，稍事休息可缓解。严重者捏人中、拿肩井、拿合谷、捏十宣穴位来促其苏醒。

对多汗和皮肤娇嫩者除涂以润滑性能强的芳香介质外，再辅以柔软按摩毛巾铺盖后按摩。

结束语

祖国医学认为，按摩有扶正祛邪、平衡阴阳、疏筋活血、调和营卫等作用。每次纯按摩后几个小时内被按摩者会感觉很舒服，而增加芳香按摩介质则会使舒适感延长，介质会在很短时间内进入血液循环，使血液和淋巴液循环、神经及呼吸系统、肌肉与细胞组织都受到其影响，将体内滞留的毒素及有害物质迅速排出体外，使人体全身肌肤变得更加结实、有弹性，肤色也变得红润、有光泽。另一方面，芳香按摩疗法的芳香物质与基质如果协同按摩一起施行，对于松弛紧张的身心效果绝不亚于镇静剂和止痛剂，且无成瘾性和刺激性的困扰。又因肌肉疼痛与心理紧张、情绪压抑有关，芳香疗法能够促进神经细胞机能的恢复及帮助解除身心疲劳，从而让你体会到身心一体的疗效感受！

芳香疗法结合了中医及自然疗法理论，尤其与按摩疗法有着密切关系。而芳香物质与基质运用在按摩上是整个疗法中重要的一部分，只有正确选用芳香物质与基质，并结合正确的按摩方法，才能达到理想的效果。

参考文献：

- Guy RH, et al. Int J Pharm, 1982; 1: 119
Martin. I. Aromatherapy for Massage Practitioners
朱春燕. 中草药透皮吸收药代动力学 1999:
杨 彤. 美容药理学. 北京: 2002: 39-46

超临界 CO₂ 萃取—分子蒸馏联用技术提取富集 沙姜中对甲氧基肉桂酸乙酯

韩红梅¹, 黄妙玲¹, 卓利梅¹, 黄永平¹, 朱龙平¹, 梅家齐², 杨得坡¹

1 中山大学药学院天然药物与中药研究所, 广东 广州 510006

2 广州馨德香料科技有限公司, 广东 广州 510430

摘要: 本文采用超临界 CO₂ 流体萃取技术提取传统岭南特色药材沙姜中的精油, 所得精油经气相色谱—质谱 (GC-MS) 检测, 发现 32 种成分萜类及其含氧化合物。采用分子蒸馏技术对其进行了精制与纯化处理, 其主要成分对甲氧基肉桂酸乙酯的相对含量从 73.90% 提高到超过 90%。

关键词: 沙姜; 对甲氧基肉桂酸乙酯; 超临界 CO₂ 萃取; 分子蒸馏

The Extraction and Enrichment of ethyl-P-methoxycinnamate from *Rhizoma Kaempferiae* by Supercritical Fluid Extraction and Molecular Distillation

HAN Hong-mei¹, HUANG Miao-ling¹, ZHUO Li-mei¹, HUANG Yong-ping¹,
ZHU Long-ping¹, MEI Jia-qi¹, YANG De-po^{1**}

1 Institute of TCM and Natural Medicine, School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-sen University,
Guangzhou, Guangdong Province 510006, China

2 Guangzhou Xin De Spice Technology Co., Ltd Guangzhou, Guangdong Province 510430, China

Abstract: In this article, it studies the extraction of the essential oil by supercritical fluid extraction from *Rhizoma Kaempferiae*, a homology of medicine and food with Traditional Lingnan feature, there are 32 terpenoid and its oxygen compound was detected in the essential oil by GC-MS. And it is refined and purified by molecular distillation, the relative amount of the major constituent, ethyl-P-methoxycinnamate raises to over 90% from 73.90%..

Keywords: *Kaempferia galanga* L., ethyl-P-methoxycinnamate, Supercritical Fluid Extraction, Molecular Distillation

沙姜是岭南地区特色药材, 具有行气温中、消食止痛功效, 其主要有效成分为挥发油, 主要由萜类及其含氧化合物组成, 沙姜挥发油具有抗促癌、抑制 HeLa 细胞集落形成、免疫激发等药理活性^[1]。其中, 对甲氧基肉桂酸乙酯是挥发油中含量最高的活性成分, 具有抗癌、抗菌、防晒的功效^[2-4], 是沙姜药材的标志性化合物与质量控制的指标成分。刘雪梅等用超临界 CO₂ 萃取沙姜挥发油, 并鉴定了包括对甲氧基肉桂酸乙酯、肉桂酸乙酯、正十五烷等 39 种化合物^[5]。本文使用超临界 CO₂ 萃取—分子蒸馏联用技术, 以提高对甲氧基肉桂酸乙酯的相对含量为指标, 优化分子蒸馏的工艺条件, 研究安全性更高的富含对甲氧基肉桂酸乙酯的沙姜油标准提取物, 而后者是天然食用香料与皮肤外用防晒产品的重要原料。

1 实验部分

1.1 主要仪器与材料

沙姜鲜品购于本地农贸市场, 经中山大学药学院生药与天然药化实验室杨得坡教授鉴定为姜科植物山奈 (*Kaempferia galanga* L.) 根茎。切片 60℃ 烘干, 粉碎, 过 20 目筛。

超临界 CO₂ 流体萃取设备: 2L-超临界萃取仪 (广州美晨高新分离技术有限公司)。

分子蒸馏设备: MD-S80-III 分子蒸馏装置 (广州汉维机电公司)。

GC-MS: TRACE DSQ GC-MS 联用仪。

粉碎机: 500 克摇摆式高速中药粉碎机 (DFY-500)。

高压液体二氧化碳: 食用级, 纯度 99.99%。

1.2 试验方法

1.2.1 超临界 CO₂ 萃取

将粉碎后的沙姜 500g, 加入 2L 超临界 CO₂ 萃取釜中。萃取条件: 储罐压力 5.5MPa, 萃取釜压力 25MPa,

解析釜压力 6MPa, 萃取釜温度 50℃, 解析釜 1、2 温度分别为 40℃、30℃, 冷却水温度 5℃, 萃取时间: 120min。

1.2.2 分子蒸馏精制纯化

(1) 纯化: 将超临界萃取的沙姜油按表 1 的分子蒸馏条件进行蒸馏纯化, 探索不同蒸馏温度对蒸馏结果的影响, 每次蒸馏收集得到馏出物(extraction) 和馏余物(remains)。

将上述得到 4 个馏出物、馏余物以及沙姜油进行 GC-MS 分析, 对比各馏分间及与沙姜油的主要成分的含量差异。

(2) 脱色: 将纯化后的沙姜油按以下条件进行脱色处理: 在纯化条件的基础上, 改变蒸馏温度及压力分别为 65℃、10Pa 进行蒸馏脱色处理。

1.2.3 GC-MS 分析

样品处理: 分别取超临界及分子蒸馏所得油及各馏分适量, 用正己烷溶解, 摇匀。

气相色谱条件: 色谱柱: DB-5MS 毛细管柱 (30 m×0.25 mm×0.25 μm); 升温程序: 初温 60℃, 保持 5min, 以 5℃/min 的速率升温至 180℃; 再以 10℃/min 升至 210℃, 保持 5min; 进样口温度: 250℃; 进样量: 1 μl; 载气: 高纯氦气; 载气流量: 1ml/min; 分流比: 30:1; 溶剂延迟: 2min。

质谱条件: 离子源为 EI 源; 离子源温度 250℃; 电离电压 70eV; 接口温度 250℃; 质量范围 29–500m/z。

标准图库为美国 NIST 和 LIBTX 谱库, 面积归一化法确定相对含量。

2. 结果与讨论

2.1 超临界 CO₂ 萃取

沙姜经超临界 CO₂ 萃取沙姜挥发油得油率 10%(ml/g), 挥发油为棕黄色油状液体, 具有特殊浓郁臭味, 经 GC-MS 分析, 所得各成分质谱数据经与标准谱库进行对照, 共检测到 32 种成分 (表 2), 其中对甲氧基肉桂酸乙酯的相对含量为 73.90%。

2.2 分子蒸馏温度对沙姜油精制结果的影响

(1) 以目标化合物对甲氧基肉桂酸乙酯的相对含量为指标, 考察在分子蒸馏刮膜转速、流速、真空度恒定的情况下, 蒸馏温度对蒸馏结果的影响: 对各温度下的馏出物和馏余物进行 GC-MS 分析, 测定其中对甲氧基肉桂酸乙酯的相对含量。

经 GC-MS 分析, 所得各成分质谱数据经与标准谱库进行对照, 从馏余物中检测出 13 种成分, 其中对甲氧基肉桂酸乙酯的相对含量为 90.33%, 被鉴定成分的化合物名称、分子式、分子量、相对含量见表 2。

(2) 经脱色条件的分子蒸馏后, 沙姜挥发油由棕黄色油状液体变淡黄色油状液体。

表 1 分子蒸馏对沙姜油提纯的工艺条件

Table 1 Conditions of molecular distillation for the purification of ethyl-P-methoxycinnamate

序号	物料名称	蒸馏温度 (°C)	蒸馏压力 (Pa)	刮膜速度 (rpm)	冷凝温度 (°C)	预热温度 (°C)	物料流速 (ml/min)	馏分名称	相对含量 (%)
1	超临界萃取物	45	50	300	25	40	2	馏出物 A 馏余物 A	86.50
2	超临界萃取物	50	50	300	25	40	2	馏出物 B 馏余物 B	90.33
3	超临界萃取物	60	50	300	25	40	2	馏出物 C 馏余物 C	87.43
4	超临界萃取物	70	50	300	25	40	2	馏出物 D 馏余物 D	83.05

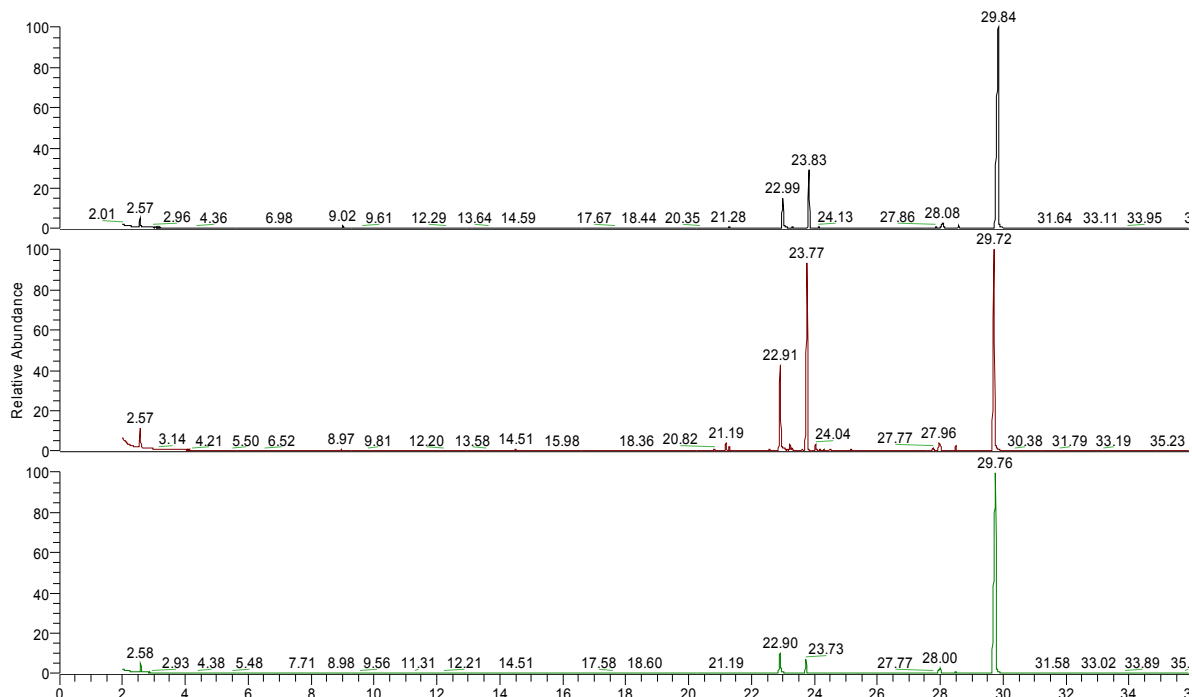


图 1 沙姜挥发油的总离子流色谱图

Fig. 1 Total ion currents chromatograms of volatile oil of *Rhizoma Kaempferiae*

(上一超临界提取物、中—分子蒸馏馏出物、下一分子蒸馏馏余物)

结果表明, 蒸馏温度 50℃, 蒸馏压力 50Pa 时, 馏余物中对甲氧基肉桂酸乙酯的相对含量最高 (90.33%)。

表 2 沙姜油分子蒸馏前后化学成分相对含量比较

Table 2 comparison of the constituents and their relative contents before and after the molecular distillation

编号	保留时间	分子式	化合物名称		MD 前成分相对含量 (%)	MD 后成分相对含量 (%)
1	6.42	C ₁₀ H ₁₆	1R- α -蒎烯	1R- α -Pinene	0.01	—
2	6.98	C ₁₀ H ₁₆	莰烯	Camphene	0.04	—
3	9.02	C ₁₀ H ₁₆	δ -3-蒎烯	δ -3-Carene	0.5	—
4	9.61	C ₁₀ H ₁₄	对伞花烃	p-cymene	0.04	—
5	9.75	C ₁₀ H ₁₆	柠檬烯	Limonene	0.03	—
6	9.88	C ₁₀ H ₁₈ O	1,8-桉叶素	1,8-cineole	0.02	—
7	14.59	C ₁₀ H ₁₈ O	冰片	Bornel	0.14	0.03
8	18.44	C ₁₄ H ₃₀	十四烷	Tetradecane	0.05	—
9	18.68	C ₁₀ H ₁₄ O	优香芹酮	Eucarvone	0.03	0.04
10	20.35	C ₁₅ H ₂₄	α -依兰烯	α -Ylangene	0.03	—
11	20.91	C ₁₅ H ₂₄	γ -榄香烯	γ -Elemene	0.11	—
12	21.28	C ₁₅ H ₂₄	莎草烯	Cyperene	0.38	0.04
13	21.38	C ₁₅ H ₂₄	α -葎草烯	α -Humulene	0.19	0.02
14	21.72	C ₁₅ H ₂₄	β -丁香烯	β -Caryophyllene	0.05	—
15	21.97	C ₁₅ H ₂₄	τ -榄香烯	τ -Elemene	0.03	—
16	22.11	C ₁₅ H ₂₄	β -古芸烯	β -Gurjunene	0.03	—
17	22.66	C ₁₅ H ₂₄	α -丁香烯	α -Caryophyllene	0.1	—
18	22.99	C ₁₁ H ₁₂ O ₂	肉桂酸乙酯 Cinnamic acid, ethylester		7.29	5.08
19	23.31	C ₁₅ H ₂₄	雪松烯	Cedrene	0.27	—
20	23.7	C ₁₅ H ₂₄	γ -桉叶烯	γ -Selinene	0.13	—
21	23.83	C ₁₅ H ₃₂	正十五烷	n-Pentadecane	13.08	2.24
22	24.13	C ₁₅ H ₂₄	γ -杜松烯	γ -Cadinene	0.34	0.09

23	24.39	C ₁₅ H ₂₄	β-愈创木烯	β-Guaiene	0.09	—
24	24.58	C ₁₅ H ₂₆ O	δ-杜松醇	δ-Cadinol	0.14	0.11
25	25.02	C ₁₅ H ₂₆ O	榄香醇	Elemol	0.05	—
26	25.26	C ₁₅ H ₂₄	广藿香烯	Patchoulene	0.07	—
27	25.71	C ₁₅ H ₂₄ O	匙叶桉油烯醇	Spathulenol	0.04	0.02
28	26.77	C ₁₅ H ₂₆ O	τ-杜松醇	τ-Cadinol	0.02	—
29	27.65	C ₁₅ H ₂₆ O	τ-依兰油醇	τ-Muurolol	0.08	0.27
30	28.08	C ₁₅ H ₂₆ O	喇叭花醇	Ledol	2.21	1.39
31	28.58	C ₁₇ H ₃₆	正十七烷	n-Heptadecane	0.51	0.23
32	29.84	C ₁₂ H ₁₄ O ₃	对甲氧基肉桂酸乙酯	ethyl-P-methoxycinnamate	73.90	90.33

“—”表示痕量或没有

3. 结论

对甲氧基肉桂酸乙酯是沙姜挥发油中最主要的化学成分,利用超临界 CO₂ 萃取得到的沙姜油得率为 10% (ml/g),对甲氧基肉桂酸乙酯的相对含量为 73.90%。在本文实验优化得到的分子蒸馏最佳条件下,对甲氧基肉桂酸乙酯相对含量提高超过 90%,该化合物可用于食用香料与皮肤防晒产品的配方中。

超临界 CO₂ 萃取与分子蒸馏联用制备沙姜油标准提取物有诸多优点,随着超临界和分子蒸馏工业设备和技术的逐渐完善,在植物精油和其他生理活性物质提取与分离方面有更为广阔的应用前景。

参考文献:

- [1] 刘彦芳,魏品康. 山柰挥发油提取物对裸鼠原位移植人胃癌组织的影响[J]. 临床肿瘤学杂志, 2005, 10(5):486-491.
- [2] Takuo Kosuge, Masami Yo, kota. Studies on anticancer principles in Chinese medicines. Chem Pharm Bull. 1985, 33(12):5565.
- [3] 张红,区国勇. 防晒剂对甲氧基肉桂酸酯类的合成进展[J]. 香料香精化妆品, 2001, (3): 18.
- [4] 金继曙,都述虎. 莪术抗真菌主要有效成分对甲氧基桂皮酸乙酯的合成[J]. 天然产物研究与开发, 1994, 6(1):40.
- [5] 刘雪梅,梁建钦,卢彬,等. 超临界 CO₂ 法萃取沙姜挥发油的优化工艺研究[J]. 中药材, 2007, 30(9):1150-1152.

Ultimate AQ C₁₈柱 HPLC 法测定烟草中有机酸含量

程勇 陈玲 邓晓春

深圳波顿香料有限公司, 广东省深圳市南山区大新路 19 号 518051

摘要: 为了检测烟草中 6 种有机酸的含量, 特选用 Ultimate AQ C₁₈柱、Agilent 1100 型高效液相色谱、磷酸盐溶液和无水甲醇作梯度洗脱, 建立了一种高效液相色谱 (HPLC) 测定方法。结果表明: 草酸、L-苹果酸、乳酸、乙酸、柠檬酸、丁二酸的平均回收率分别为: 102.7%、89.3%、107.5%、119.4%、109.5%、99.7%。相对偏差小于 2%。该方法方便、快捷, 重现性、稳定性良好, 可作为烟草样品中有机酸定性、定量的常规检测。

关键词: 烟草; 有机酸; 高效液相色谱

Determination of Organic Acids content in tobacco by HPLC on Ultimate AQ carbohydrate column

CHENG YONG CHEN LING DENG XIAO CHUN

Shenzhen Boton Flavors and Fragrances Co. Ltd, No.19 on Daxin road, Nanshan, Shenzhen, Guangdong, Shenzhen 518051, China

Abstract: In order to detect the content of six organic acids in tobacco, specially selected Ultimate AQ C₁₈ column, Agilent 1100 HPLC, gradient elution with phosphate- methanol. A method was established using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The results showed that: the average recovery of oxalic acid, malic acid, lactic acid, acetic acid, citric acid, succinic acid was 102.7%, 89.3%, 107.5%, 119.4%, 109.5%, 99.7%; Relative standard deviation is less than 2%. This method can be conveniently used for qualitative and quantitative detection of organic acids content in the bulk of tobacco samples for its great repeatability and stability.

Keywords: Tobacco, Organic Acids, HPLC

有机酸广泛存在于烟草中, 其含量一般为干物重的 12% ~16%, 鲜叶中有机酸含量约占 2.1%~2.4%。烟叶中有机酸可分为挥发性和非挥发性 (氨基酸除外) 以及部分高级脂肪酸。非挥发性有机酸中, 以柠檬酸、苹果酸、草酸和琥珀酸含量最多。这些有机酸可以调节烟草 pH, 改善抽吸质量, 使吃味醇和, 还能增强烟气浓度, 并在烟气中起酸碱平衡作用, 间接影响烟草香气。而挥发性有机酸由于其挥发性在卷烟抽吸过程中可直接进入烟气, 对吃味和香气有良好作用, 如果挥发性有机酸含量过高, 则有可能使烟气对喉部产生辛辣灼热的感觉。^[1]因此烟草中有机酸的含量直接影响烟叶及其制品的质量。

多年以来, 随着科学技术的发展, 测定有机酸的方法也越来越多, 常见的有层析法^[2]、滴定法^[3]、毛细管柱气相色谱法^[4]、高效液相色谱法 (HPLC)^[5, 6]、离子色谱法 (IC)^[7]、气相色谱-质谱法 (GC/MS)^[8]等。前两种方法均存在一定的局限性, 准确性也低。气相色谱法比较常用, 但是采用它分析非挥发性有机酸如柠檬酸、苹果酸、草酸时, 由于沸点较高, 不易气化, 必须进行复杂的衍生化, 操作繁琐, 耗时长^[8]。离子色谱法对样品的处理要求较高, 前处理亦很复杂, 且多采用稀硫酸和稀盐酸作为淋洗液, 对设备有一定的腐蚀作用。^[7]而高效液相色谱法前处理相对比较简单, 适合沸点高的非挥发性有机酸的测定, 此法在各行业中已被广泛应用; 如易娇^[5]、杨毅^[6]等人先后采用 Nucleosil 100 C₁₈ (250 × 4.0mm) 和 Hypersil C₁₈ (250mm × 4.6mm, 5 μm) 测定了啤酒和烟草中的 6 种有机酸, 但均为等度洗脱, 一些有机酸的分离效果不如梯度洗脱的好。而有机酸在 C₁₈ 柱中几乎无保留, 所以必须在近似纯水相流动相中才能使其分离完全, 而本实验采用的 Ultimate AQ C₁₈ 是一款对极性化合物具有更强的保留能力和选择性色谱柱, 并且可以在纯水相中运行。因此, 进行了采用 Ultimate AQ C₁₈ 柱-HPLC 法测定烟草中草酸、苹果酸、乳酸、乙酸、柠檬酸、琥珀酸等 6 种有机酸试验, 旨在为批量烟草样品中这些有机酸含量的常规检测提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料和仪器

无水甲醇 (色谱纯, 美国 Merck 公司)、超纯水 (由 Millipore 纯水仪制); 磷酸、Na₂HPO₄、KH₂PO₄ (AR, 广东省汕头市西陇化工厂); 草酸 (分析纯, 纯度为 99.5%, 广东省汕头市西陇化工厂)、L-苹果酸 (分

析纯, 纯度为 98.5%, 国药集团化学试剂厂)、乳酸(分析纯, 纯度为 85%, 上海凌峰化学试剂有限公司)、99.5%琥珀酸(分析纯, Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司), 乙酸和柠檬酸(分析纯, 纯度均为 99.5%, 天津大茂化工厂); 2002 年云南鲁甸生产的 X2F, 2003 年山东诸城生产的 C2F、进口的巴西白肋烟 BH1、希腊香料烟 AG, 2004 年云南昭通生产的 B2F, 2005 年云南玉溪生产的 C3F, 2006 年云南保山生产的 B3F、湖北宜昌生产的马里兰烟 C2(深圳卷烟厂提供)。

安捷伦1100 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司), 配有紫外检测器真空脱气器, 柱温箱等; DENVER T-114电子天平(感量: 0.0001 g, 美国丹佛公司); DL-180A 超声波清洗仪(上海之信仪器有限公司); Millipore Simplicity 185型超纯水系统(美国Millipore公司)。

1.2 样品的处理^[6]与分析

称取干燥(干燥箱中恒温40℃烘干至恒重)、粉碎后过40目筛的烟样^[9]0.5000g于干燥洁净的50mL容量瓶中, 加入5mL的1.0mol/L的磷酸溶液, 室温下浸泡30min, 再加入40mL流动相(详见分析条件), 于超声清洗仪中35℃下超声萃取35min, 过滤, 滤液用流动相稀释并定容至50mL, 取8mL滤液于8000r/min下离心20min, 取上清液用0.45μm微孔滤膜过滤, 滤液供液相色谱检测。分析条件:

色谱柱: Ultimate AQ C₁₈柱(4.6×250mm, 5μm); 柱温: 25℃; 检测波长: 214nm; 流动相: A相为0.03mol/L的pH为2.91的磷酸氢二钠和磷酸二氢钾, B相为甲醇, 按表1线性递增(减)梯度条件, 平衡10min后自动进样; 流速为0.7mL/min, 进样量: 20μL。梯度程序见表1。

表 1: 流动相梯度程序
Tab.1: The gradient program of mobile phase

时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)	流速 (mL/min)
0	100	0	0.7
10	99	1	0.7
15	98	2	0.7
20	90	10	0.7
25	90	10	0.7
30	100	0	0.7

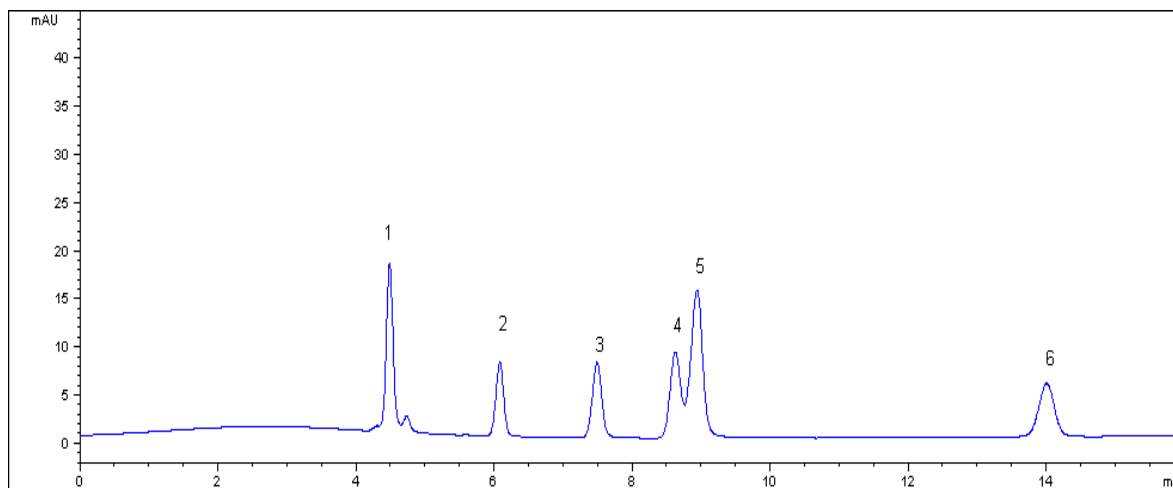
2 结果与讨论

2.1 色谱柱的选择

分别选择了Synergi 4u Hydro-RP C₁₈与Ultimate AQ C₁₈对6种有机酸进行了对比实验; 结果发现, 在相同的条件下进行分离, Synergi 4u Hydro-RP C₁₈总有个别有机酸分离的不是很好, 要么是乙酸与柠檬酸的分离度不够, 就是苹果酸与乳酸的分离度不够; 而Ultimate AQ C₁₈在表1的梯度条件下能够达到很好的分离度(见图2), 并且各峰都很尖锐. 故选择了Ultimate AQ C₁₈柱作为本方法的色谱柱。

2.3 流动相的选择

为选择适宜的流动相, 分别考察了双盐在不同pH值时对6种有机酸分离的影响, 故选择了0.03mol/L的磷酸二氢钾和磷酸氢二钠作为A相; 并且分别选择了在pH2.98与pH2.91时的两个梯度条件下进行了对比实验。结果表明: 条件①, 当选用0.03mol/L (pH2.98) 的磷酸二氢钾和磷酸氢二钠作流动相时, 梯度条件为, 98%A: 2%B (0~15min), 85%A: 15%B (20~30min), 98%A: 2%B (35 min), 流速为0.7ml/min, 6种有机酸中乙酸与柠檬酸不能够完全分离, 分离度为1.02, 各峰峰形都很尖锐(见图1); 条件②, 当选用0.03mol/L (pH2.91) 的磷酸二氢钾和磷酸氢二钠作流动相时, 梯度条件为, 100%A (0 min), 99%A: 1%B (10 min), 98%A: 2%B (15 min), 90%A: 10%B (20~25 min), 100%A (30 min), 6种有机酸可以完全达到基线分离, 其分离度良好, 且各峰峰形都很尖锐(见图2)。说明这6种有机酸只有在条件②作为流动相的情况下, 所出的色谱峰才达到较好的峰形和分离效果。故选择了条件②作为本方法的流动相。



1 草酸 (oxalic acid) 2 L-苹果酸 (malic acid) 3 乳酸 (lactic acid) 4 乙酸 (acetic acid) 5 柠檬酸 (citric acid) 6 琥珀酸 (succinic acid), 纵坐标mAU, 表示在214nm处的吸收值, 单位毫吸光度; 横坐标min, 表示时间, 单位分钟; 下同。

图1 条件①时6种有机酸的色谱图

Fig.1 The chromatmap of six organic acids using condition one

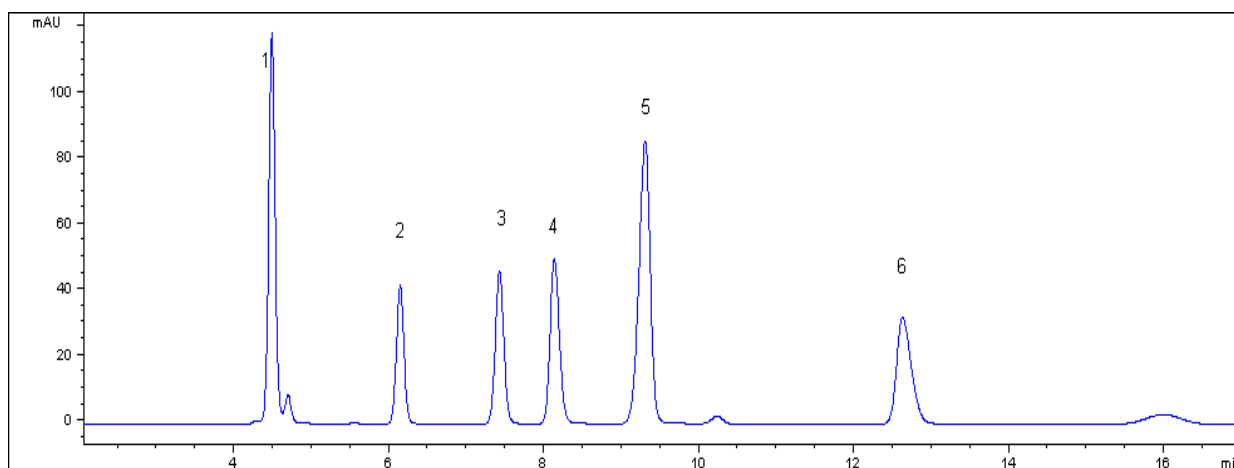


图2 条件②时6种有机酸的色谱图

Fig.1 The chromatmap of six organic acids using condition two

2.4 线性与检出限

分别精密称取6种有机酸一定量,用流动相(详见分析条件)溶解并定容至25mL制成混合溶液,再精密量取混合溶液1mL,用流动相稀释并定容至10mL,使其含量分别为:0.1mg/mL、0.4 mg/mL、1 mg/mL、1 mg/mL、1 mg/mL、1 mg/mL;即得有机酸混合标准母液。然后分别精密量取配制好的有机酸混合标准母液0.5mL、1mL、3mL、5mL、8mL于10mL容量瓶中,从而得到五种不同浓度的对照液;照1.2中的方法进行检测,根据测得峰面积与对应标准溶液浓度进行线性回归,其结果见表2。

表 2 6 种有机酸的线性回归方程 (n=5)
Tab.3 The equation of linear regression of six Organic acid (n=5)

英文名	有机酸	回归方程	相关系数	线性范围 (mg/ml)	检出限 (μ g/ml)
oxalic acid	草酸	$y=12.942x+20.031$	0.9999	0.005~0.099	0.050
malic acid	L-苹果酸	$y=1.445x+1.811$	1.0000	0.020~0.394	0.400
lactic acid	乳酸	$y=0.727x+5.383$	0.9999	0.043~0.850	0.430
acetic acid	乙酸	$y=0.825x+3.437$	1.0000	0.050~0.995	0.500
citric acid	柠檬酸	$y=1.728x+9.225$	1.0000	0.050~0.995	0.250
succinic acid	琥珀酸	$y=0.881x+5.155$	0.9999	0.050~0.995	0.500

2.5 回收率与精密度

准确称取 7 份 C3F 烟末样品, 0.5000 g/份。分别按 1.2 方法进行处理(先不定容), 然后在其中的 6 份中, 分别加入 5mL 的混合标准母液(配制详见 2.4 方法), 再将 7 份分别定容, 按 1.2 方法离心过滤后进行 HPLC 分析, 并根据加标量、不加标测定量和加标测定量计算回收率, 根据 6 次重复测定量计算相对标准偏差(RSD), 结果见表 3。由此可见, 各有机酸回收率为 89.3%~119.4%, RSD 均小于 2%, 说明本方法测定结果比较准确, 且重复性较好。

表 3 方法的回收率(n=6)
Tab.3 Recovery efficiency of method(n=6)

成分	样品含量 (mg/mL)	加标量 (mg/mL)	加标测定量 (mg/mL) ^①	回收量 (mg/mL)	回收率 (%)	RSD (%)
草酸	12.29	0.01	12.30	0.01	102.7	1.3
苹果酸	96.87	0.04	96.91	0.04	89.3	1.4
乳酸	2.74	0.09	2.83	0.09	107.5	0.9
乙酸	2.93	0.10	3.05	0.12	119.4	0.8
柠檬酸	5.75	0.10	5.86	0.11	109.5	1.5
琥珀酸	3.07	0.10	3.17	0.10	99.7	1.1

注: ①6 次“加标测定量”的平均值

2.6 部分烟草样品中有机酸的含量测定

采用本方法测定了烤烟、白肋烟、香料烟和马里兰烟 8 个烟叶样品中 6 种有机酸含量。结果(表 5)表明: ①所有烟叶样品中苹果酸含量最高, 这体现了苹果酸在改善烟气吸味中的作用; ②5 个烤烟样品和 1 个香料烟中草酸含量均比柠檬酸含量高, 这些均符合烤烟与香料烟的分布规律; ③白肋烟中苹果酸含量最高, 柠檬酸次之, 乙酸最低, 并且白肋烟中柠檬酸含量最高, 白肋烟中总有机酸含量也是各烟中最高的, 这些充分体现了白肋烟的特点; ④马里兰烟样品中柠檬酸的含量仅低于白肋烟中柠檬酸的含量, 并且其中的草酸的含量是所有 8 种烟叶样品中最高的, 这也反映了马里兰烟的特点;

表 4 部分烟草样品中有机酸的含量(mg/g)/
Tab. 4 Contents of organic acid in several tobacco samples(mg/g)

烟样	草酸	苹果酸	乳酸	乙酸	柠檬酸	琥珀酸	总有机酸
保山 B3F	13.75	94.7	2.63	6	9	3.66	129.7
昭通 B2F	12.5	95.22	2.35	3.88	7	4.37	125.3
玉溪 C3F	12.29	96.87	2.74	2.93	5.75	3.07	123.7
诸城 C2F	15.23	86.93	— ^①	7.51	8.66	5.21	123.5
鲁甸 X2F	6.31	102.32	—	4.91	5.3	3.55	122.4
巴西白肋烟	13.53	110.61	—	4.21	24.41	—	152.8

马里兰烟	16.27	104.48	—	2	15.71	—	138.5
香料烟	13.18	106.51	2.72	8.53	9.46	6.54	146.9

注：①表未检出。

3. 结论

以 Ultimate AQ C₁₈ (4.6×250mm, 5 μm) 色谱柱, 0.03mol/L 的 pH 为 2.91 的磷酸盐和无水甲醇为流动相, 采用反相 HPLC 法在波长 214nm 下同时测定了烟草样品中的草酸、苹果酸、乳酸、乙酸、柠檬酸、琥珀酸, 前处理简单, 分离度、准确度较高, 重现性好, 适合批量烟草样品中有机酸含量的常规检测。

参考文献:

- [1] 王瑞新. 烟草化学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 99-106.
- [2] 申进朝, 洗可法. 烟草中有机酸分析研究进展[J]. 烟草科技, 2003 (3) : 29-32.
- [3] 王瑞新. 烟草化学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 277-279.
- [4] 任清. 衍生化-毛细管气相色谱法同时测定饲料添加剂中富马酸、乳酸和柠檬酸[J]. 化学分析研究简报, 2002, 30 (3) : 304-306.
- [5] 易娇, 尹笃林, 廉世勋等. 反相HPLC法同时测定烟草中的6种有机酸[J]. 烟草科技, 2006, (7) : 36-39.
- [6] 杨毅, 李琦, 陈蕴等. 反相高效液相色谱法(RP-HPLC)测定啤酒中有机酸[J]. 食品与发酵工业, 2003, 29 (8) : 6-12.
- [7] 吴玉萍, 宋春满, 雷丽萍, 等. 梯度淋洗离子色谱法测定烟草中的苹果酸、柠檬酸和阴离子[J]. 分析实验室, 2006, 25 (7) : 31-33.
- [8] 郭磊, 刘惠民, 谢复炜, 等. 烟叶中26种挥发性与半挥发性有机酸的GC-MSSIM法同时分析[J]. 分析测试学报, 2008, 27 (7) : 739-743.
- [9] YC/T 31-1996 烟草及烟草制品 试样的制备和水份测定 烘箱法[S].

SPC 在香精行业质量管理中的应用研究

钟巧霞¹ 尉朝²

(1 深圳波顿香料有限公司, 深圳 518051; . 2. 深圳烟草工业有限责任公司, 深圳 518109)

摘要: 本文根据对香精行业的生产特点的分析, 提出 SPC 的思想在行业应用导入的必要性, 分析了 SPC 在香精行业内应用中存在的领导不重视、全员参与不足和数据挖掘不充分等现状, 给出了 SPC 在香精制造企业应用中应从提高管理层认识入手, 结合员工培训和数据挖掘, 充分利用 SPC 工具和软件, 并用 PDSA 循环以达到持续改进的对策建议。

关键词: 统计过程控制 (SPC); 香精行业; 质量管理

A Basic SPC Study of Quality Management in Flavor Manufacturing

Zhong Qiaoxia¹, Wei Zhao²

(1. Shenzhen Boton Flavors & Fragrances Co., Ltd, shenzhen 518051;

2. Shenzhen Tobacco Industry Co., Ltd, shenzhen 518109)

Abstract: This paper introduced the manufacturing characteristic and the necessity of the use of SPC in the flavor industry. It analyzed the current situation that there were some problems in SPC use, such as the contempt of the leaders, the absence of all the staffs and the shortage of the data processing, etc. Then it gave some countermeasures by raising the leaders' awareness, increasing the staffs' training, improving the data processing with suitable soft wares, and running a PDSA cycle.

Key Word: SPC, Flavor Industry, Quality Management

1. 香精行业的生产特点分析

香精是社会富裕的标志, 越是发达国家, 香精的人均消费量越高, 而我国食品香精的人均消费量远低于世界各主要发达国家^[1]。自上世纪 90 年代以来, 尤其是近些年来, 随着人民生活水平的提高, 我国对香精应用的需求增长都非常强劲, 基本保持每年 15% 以上的增长速度, 剔除行业统计口径变化(企业数目更全面, 基数增大)的影响, 预计未来几年香精用量仍将以大于 10% 的增长率稳步增长。整个香精行业的成长性非常好, 也存在着激烈的市场竞争。

要想在机遇与挑战并存的市场竞争中取得优势地位, 产品质量是企业抢占市场和稳定市场的有力工具。质量是一组固有特性满足要需求的程度。^[2]产品作为企业输出的有形商品, 其质量的优劣直接决定了客户的满意程度。对于一个出产高品质产品的企业来说, 会拥有以下的种种优势: ①较高的顾客忠诚度; ②较多再次购买; ③提高相对售价; ④较低的销售成本。^[3]对于香精产品来说, 其品质对客户的影响更为明显。因为香精在如食品、化妆品等下游产品中的用量一般仅为千分之几甚至万分之几, 一旦使用的香精出现质量问题, 就会产生放大效应。一公斤不合格的香精, 往往会导致几吨甚至几十吨的下游产品质量不合格, 引起重大的质量损失乃至商业纠纷。因此, 对香精的质量控制, 在整个行业中都被摆在突出的位置。

传统上, 国内香精行业的生产方式以香原料的手工配制为主, 其质量控制一般都是采用目测、嗅香及一些简单的理化指标检测等“事后结果检验”的方式。然而, 随着近些年来咸味香精和生物香料香精等新型香精的兴起, 香精的生产工艺变得更精细、更复杂, 不再是香原料的简单混合, 而是要经过酶解、发酵、喷雾、造粒等多种复杂工艺与工序。其中任何一个工序出现问题, 都将有可能导致产品质量的不合格, 而这时候的事后检验, 往往已经无法挽回已经造成的质量损失。因此, 引入 SPC 的思想与工具, 对生产过程进行实时监控、事中监控, 可以有效提高对香精生产的质量控制与改进水平。

2. SPC 在香精行业的应用现状分析

SPC 即统计过程控制 (Statistical Process Control), 它是应用统计分析技术对生产过程进行实时监控, 并且科学地区分生产过程中产品质量的随机波动与异常波动, 从而对生产过程的异常趋势提出预警, 以便生产管理人员及时采取措施, 消除异常, 恢复过程的稳定, 达到提高和控制质量的目的的一种质量管理的工具。

SPC 已经被许多国际大公司如摩托罗拉、通用公司等广泛采用, 目前在我国钢铁、电子等部分行业

有了比较成熟的应用。但在香精行业，只有部分企业开始认识到 SPC 的概念，但整体应用效果欠佳。经查询相关资料，在行业内关于尚无 SPC 应用与研究的文献，本人认为 SPC 在行业内应用不佳主要表现在以下几个方面：

(1) 管理层未引起高度重视。大部分香精企业的管理层对香精质量管理中管理方式变革的发展趋势和 SPC 新工具、新理论的认识不足，导致对此的资源投入不足，支持力度不够。

(2) 全员参与的程度不够。在香精行业日趋激烈的竞争中，品质优异永远是不败的一大优势，品质的概念已经延伸到研发、设计、生产、检验、服务等诸环节，需要全员参与，而不仅仅是品质管理部门的事。SPC 的思想就是要以图形或数值为基础建立一个以过程为核心的质量管理体系。然而，由于缺乏系统的培训，香精企业的许多员工对 SPC 还没有深入的了解和认识，缺乏全员参与。

(3) 对数据的挖掘与分析不够深入。SPC 是一种借助数理统计方法的过程控制工具。它对生产过程进行分析评价，根据反馈信息及时发现系统性因素出现的征兆，并采取措施消除其影响，使过程维持在仅受随机性因素影响的受控状态，以达到控制质量的目的。在实践中，SPC 不但需要采集大量的数据，更重要的是还要对这些数据进行深度的挖掘与分析，从而找出数据背后隐藏的规律并指导采取相应措施，然而，在目前试行 SPC 的香精企业中，普遍存在对数据“重收集，轻分析”的现象，造成数据采集的浪费。

3. 提升 SPC 在香精行业应用效果的对策

针对香精行业 SPC 应用的现状，要使 SPC 实施成功，香精企业应注重在以下几个方面予以改进：

3.1 提高管理层认识

领导是组织的领航者，是组织发展战略和发展方向的制定者。任何项目、策略和制度的实施只有得到组织管理层的认识和重视，才能得到足够的资源，才能得到全员的参与和支持，才能达到预期的目的和效果。目前在国内香精行业，质量管理的战略高度还无法与许多国际大公司相提并论。事实上，如果采用先进的质量管理技术和工具，在原有条件不变的情况下，质量就可以得到明显的改进。因此，有效实施 SPC，管理层的认识和重视是非常重要的。

3.2 加强员工培训

对相关人员先期进行 SPC 培训是实施 SPC 的重要前提工作，因为 SPC 不仅需要现场的质量管理经验，还需要具备较强的数理统计理论基础。邀请培训机构来企业现场培训是最佳的培训方式，因为这样可以结合香精行业生产的实际情况，提升培训效果；外培和内培相结合也是可选的培训方式，企业可以选送相关中层领导参加外部培训单位的培训，然后由这些中层领导对员工进行内部培训。

3.3 完善原始数据采集

SPC 是对数据进行分析统计，因此真实详尽的数据是 SPC 的基础，数据的真实性和全面性将直接影响我们质量发展趋势的判断，是否对此采取必要的行动以及何时采取行动。影响数据质量的主要因素有两个：

(1) 数据的准确性。在香精企业里影响测量数据准确性的因素有两个方面：一方面是测量系统的影响。首先我们应该选择精度合适的仪器，比如测量香精的相对密度，尽量用带温控系统的密度仪来代替传统的密度瓶；其次应定期进行测量系统的分析，包括仪器的定期校准、维护和比对试验等，来确认测量系统的有效性。另一方面是人为因素。当出现不合格项时，有些检验员没有及时记录不合格事实，这样就掩盖了存在的隐患，同时使数据的真实性也受到了影响。

(2) 数据的全面性。香精产品的标准中包括香气、香味、色状、溶混度、折光指标和相对密度等常规检测指标。在这些指标中香气、香味、色状和溶混度属于感官指标，前三项是导致产品不合格的主要指标，因此是我们应重点关注和分析的。这些感官指标的判断都是与标样比对，当产品的该检测项符合标准样品时检测结果就为合格，不符合时就为不合格，属于 0-1 判断，因此是属性数据。属性数据所涵盖的信息是非常有限的，仅仅代表是与非，我们应该在平时积累数据时注意这些属性数据的分类，将之进行细分。比如香气不合格细分为香气强度不合格和香气风格有异两种情况，而这两种情况又可以进一步分解，经过多次分解后描述该项指标的数据就会丰富很多，为下一步的分析提供更全面细化的数据。

3.4 优化 SPC 工具和专业软件

“工欲善其事，必先利其器”，无论是建立了何种质量改进模式，都需要有一整套的质量改进工具来支持，需要应用 SPC 工具和专业软件^[4]。目前常用的专业软件有 Minitab、SPSS 和 EXCEL, 常用的 SPC 工具有：

(1) 控制图。用于控制生产过程状态，保证工序加工产品质量。可以对工序过程状态进行分析、预测、判断、监控和改进。^[5]如图 1 所示，是某香精的不良率控制图，横坐标为按时间顺序抽样的样本，纵坐标为产品不良率。控制图上分别标注了中心线和上、下控制界限。

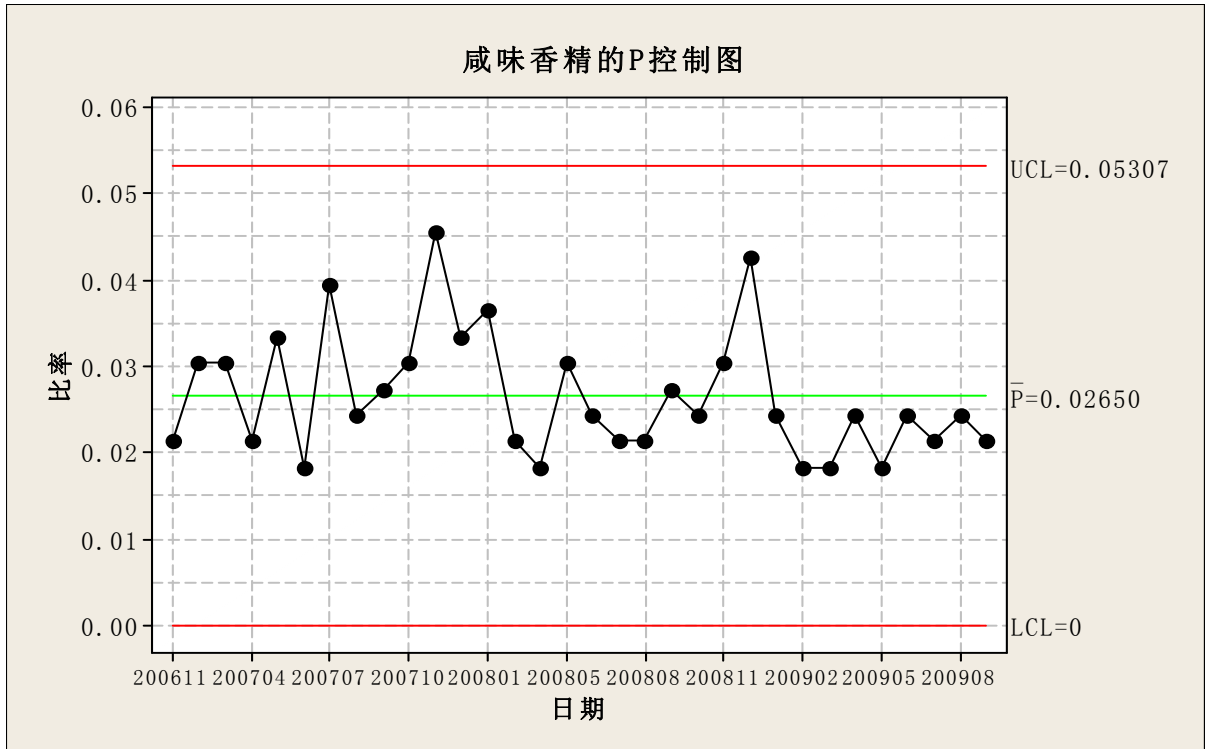


图 1 香精不良率控制图

(2) 直方图。以一组无间隔的直条图表现频数分布特征的统计图，能够直观地显示出数据的分布情况。一般最为常用，在此不再举例。

(3) 帕累托图。帕累托图是朱兰博士首先应用在质量管理中的。帕累托最早提出了一个不均匀分布的例子，后来朱兰博士称之为帕累托原理：80%的问题是由 20%的原因导致的。虽然百分比不一定总是恰好 80/20,但是一般都遵循“关键的少数”原则。

帕累托图又叫排列图、主次图，是按照发生频率大小顺序绘制的直方图，直方的长度代表事件发生的频率或成本，直方按长短顺序从左到右依次排列。因此，我们可以从该图直观地看出哪些情况是比较重要的。在质量管理中我们通常用帕累托图来分析导致质量问题的主要因素。图 2 为某香精不合格指标的帕累托图，从图中我们可以得出结论，该香精不合格的原因主要是色状、香气和香味三项指标引起的。在后续工作中应该加强这几项指标的质量控制。

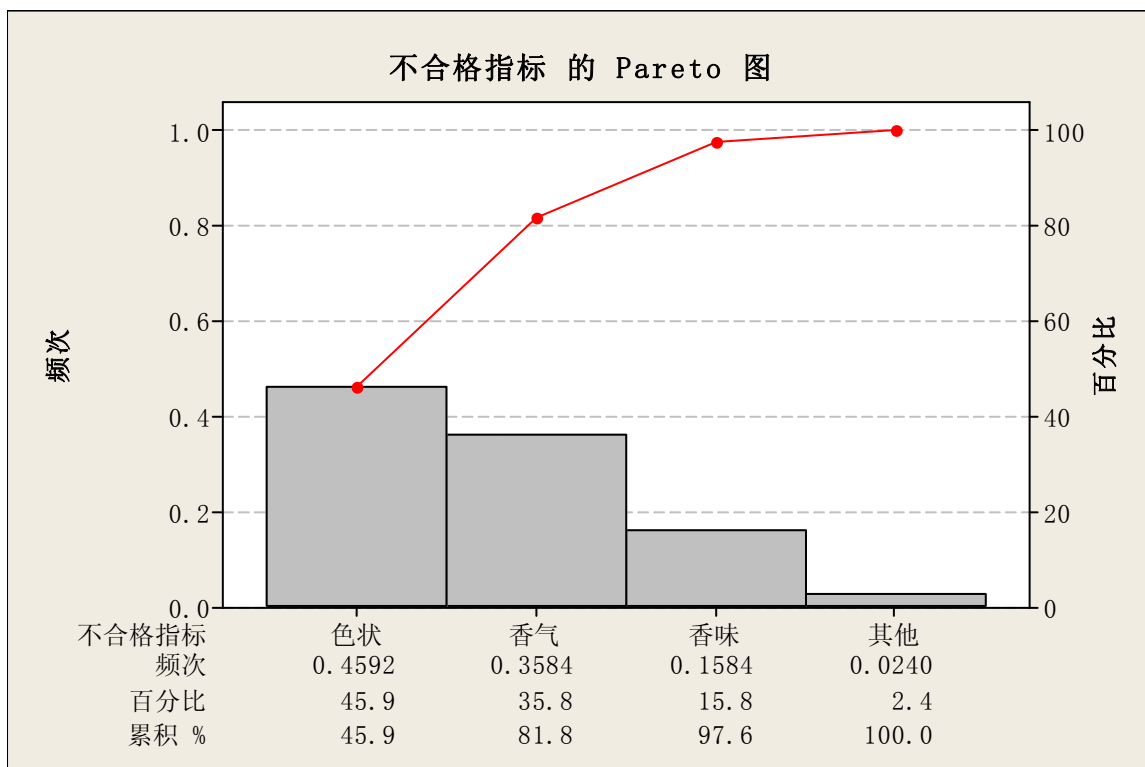


图 2 香精不合格指标的帕累托图

(4) 流程图。流程图又名过程流程图，是按顺序分别描述过程的各个阶段的图表。它可以按顺序展示操作，进入或流出系统的材料或服务，需要作的决定以及所涉及的人，每步所需的时间，以及过程措施。描述的过程可以是任何事情：管理或服务过程、制造过程、质量改进计划过程。该工具是 7 种质量控制工具中的一种，有广泛的用途。

(5) 头脑风暴法。头脑风暴法又称智力激励法、BS 法、自由思考法，是由美国创造学家 A·F·奥斯本于 1939 年首次提出、1953 年正式发表的一种激发性思维的方法。在群体决策中，由于群体成员心理相互作用影响，易屈于权威或大多数人意见，形成所谓的“群体思维”。群体思维削弱了群体的批判精神和创造力，损害了决策的质量。为了保证群体决策的创造性，提高决策质量，管理上发展了一系列改善群体决策的方法，头脑风暴法是较为典型的一个。

(6) 鱼骨图。

鱼骨图又名因果图、石川馨图，是由日本东京大学教授石川馨 (Ishikawa) 于 1953 年第一次提出，用于说明各种直接原因和间接原因与所造成的潜在问题与影响之间的关系。因果分析图是一种充分发动员工动脑筋，查原因，集思广益的好办法，也特别适合于工作小组中实行质量的民主管理。当出现了某种质量问题，未搞清楚原因时，可针对问题发动大家寻找可能的原因，使每个人都畅所欲言，把所有可能的原因都列出来。图 3 为结合头脑风暴法得出的某香精不合格的因果图。图中所涉及的 46 个因素都属于产品设计、生产、仓储和检测四个过程，每个因素与产品的不合格都有一定的关系。

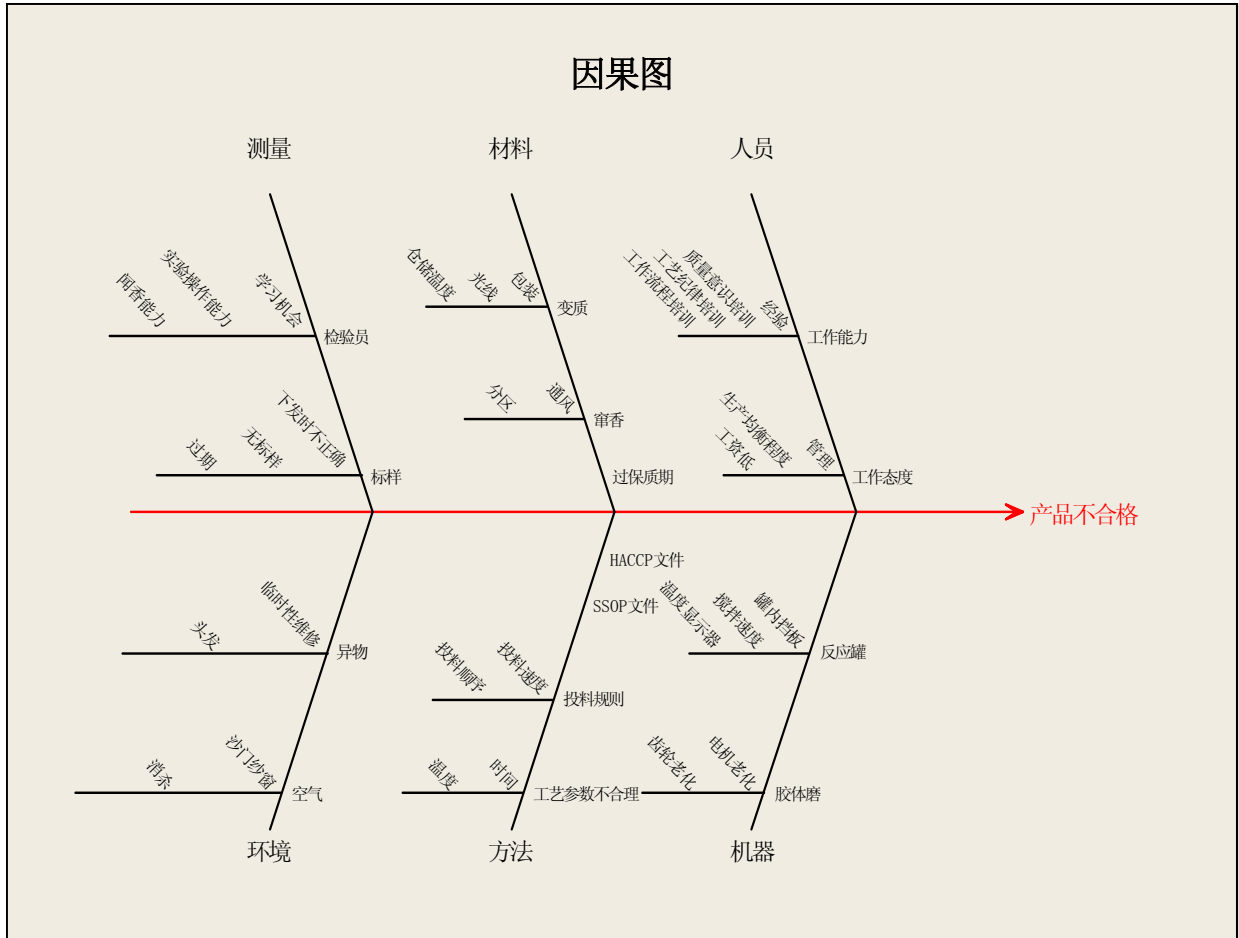


图 3 香精不合格的因果图

(7) 过程能力。过程能力是指过程加工质量方面的能力，它是衡量过程加工内在一致性的，是稳态下最小的波动。过程能力决定于质量因素，而与公差无关。通常用 6 倍标准差 (6σ) 表示过程能力，它的数值越小越好。

以上工具和软件，需要根据实际情况来选用，并且，要根据每个公司的实际情况来进行适当的优化，才能更有针对性，更贴近公司的使用习惯，才能更容易被员工接受和使用。

3.5 实施 PDSA 循环，达到持续改进

根据戴明博士 PDCA 循环的概念，美国 Howard S. Gitlow 等质量专家提出了持续过程改进的 PDSA 循环：Plan（计划）、Do（执行）、Study（研究）、Action（行动），该循环用于缩小过程的绩效与顾客（无论内外顾客）期望的差异^[6]。计划包括把原先的结构和流程图加以修改；执行需要进行试验来测定前一阶段建立的计划或修改的流程图的有效性；研究阶段要找出系统缺乏控制的指示点，把控制图中分析处理的过程改进措施正规化和政策化；行动就是将计划过程进行整合。最后，回到计划阶段重新考虑控制图的目的，这会帮助我们注意力放在过程改进上，放在那些对减少顾客和过程绩效之间差距最有益的地方。

4. 结束语

虽然存在种种问题，但是，就像每一个事物的发展都是曲折前进的，SPC 在香精行业中的应用也是这样，我们不能要求一蹴而就。随着对质量重视度的逐渐提高，加上计算机支撑技术的发展，我们有理由相信 SPC 在行业内的应用情况会越来越好，从而使企业的质量水平得到持续改进，在激烈的市场竞争中赢得更多客户。

参考文献：

- [1].孙宝国，咸味食品香精对食品安全的影响，中国食品工业 2005 年 12 月
- [2] GB/T19000-2008/ISO9000:2005,质量管理体系 基础和术语，标准化管理委员会发布，2008 年
- [3].唐晓青，制造企业质量信息管理系统实施技术，国防工业出版社，2009 年
- [4].（美）泰戈（Tague,N.R.）著,质量工具箱：第二版，北京，中国标准出版社，2006 年（2008.9 重印），3
- [5].刘光第，质量管理学第二版，北京，清华大学出版社，2003.4，192
- [6].（美）吉特洛（Gitlow,H.S.）等著；质量管理(原书第 3 版)，北京，机械工业出版社，2008 年 1 月，157-158

苯基丙二酸热分解向卷烟烟气释放苯乙酸的研究

黎艳玲 杨华武 邓昌健 傅见山

湖南中烟工业有限责任公司, 长沙市劳动中路 426 号 410007

摘要: 对苯基丙二酸进行了同步热分析 (TG-DSC) 及卷烟加香裂解实验, 并对烟气成分进行了 GC-MS 检测。结果表明, 苯基丙二酸在卷烟燃吸时发生了热分解反应, 向卷烟烟气释放苯乙酸致香成分。

关键词: 潜香物; 苯基丙二酸; 烟气; 热分解; 苯乙酸

Pyrolysis of phenylmalonic acid and its conversion to phenylacetic acid in tobacco smoke

LI Yanling YANG Huawu DENG Changjia FU Jianshan

(China Tobacco Hunan Industrial CO.,LTD., 426 Laodong Road, Changsha, Hunan 410007)

Abstract: The pyrolytic experiments of phenylmalonic acid in nitrogen by TG-DSC and in cigarettes were carried. Smoke components were tested by GC-MS analysis. The results showed that phenylacetic acid was released by phenylmalonic acid during pyrolysis both in nitrogen and in cigarettes.

Keywords: precursor, phenylmalonic acid, smoke, pyrolysis, phenylacetic acid

挥发性 C₂~C₈ 羧酸是许多水果、食品和烟草中的重要香气成分。其中苯乙酸是茶叶的香气成分之一^[1], 在啤酒香味成分中也起到重要作用^[2]。苯乙酸因能提高青霉素发酵的产率而成为其发酵过程必需的原料^[3]。据报道^[4]蜂蜜的芳香味来自几十种到上百种分子组成的复合物, 主要是苯乙酸以及苯乙酸的酯类化合物, 因此一般描述苯乙酸及其酯有类似蜂蜜的甜香。另一方面, 苯乙酸是烟草中本身就含有的低级酸, 是烟气品质重要的贡献物质之一, 能赋予卷烟甜香、蜂蜜样香味。但苯乙酸属于挥发性羧酸, 分子量小、阈值小、闻香重。如果将其直接用于卷烟加香, 会造成抽吸过程中释放不均, 引起吸味前后不一致等问题, 而且在存储过程中易挥发、逸出。针对这些问题, 本研究试图从新的角度得到苯乙酸, 即研究苯乙酸潜香物。据项目组前期研究^[5], 推测苯基丙二酸热解时可能释放苯乙酸。按照这个思路, 对苯基丙二酸进行同步热分析实验, 并且结合 GC-MS 探讨了其在烟气中的裂解情况。研究旨在为混合型卷烟开发新的香原料。

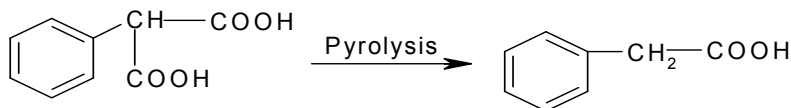


图 1 苯基丙二酸可能裂解示意图

1 实验

1.1 试剂与仪器

苯基丙二酸、无水乙醇为国产分析纯试剂。HP6890/HP5973 气相色谱-质谱联用仪 (HP-20M Carbowax 20M 毛细管柱, 25.0 m×0.200 mm×0.20 μm), NETZSH-STA 449C 热分析仪。

1.2 热分析条件

程序升温条件: 32 °C 开始升温, 10 K/min, 升至 750 °C。N₂ 吹扫气: 25 mL/min。保护气: 15 mL/min。

1.3 GC-MS 分析条件

进样口温度: 250 °C, 辅助接口温度: 250 °C, 离子源温度: 230 °C, 四极杆温度: 150 °C, 倍增管电压 1071 V, 载气 (He) 流量: 1.0 mL/min。升温至 120 °C, 3 °C/min 升温至 150 °C, 保留 5 min。溶剂延迟 3 min。

1.4 苯基丙二酸的热分析实验

准确称取约 8 mg 苯基丙二酸, 在 NETZSH-STA 449C 热分析仪上测得 TG 和 DSC 曲线。

1.5 苯基丙二酸在卷烟中的裂解及烟气成分检测

按烟丝重量 5 % 的比例, 称取一定量的苯基丙二酸, 用 50 度的大曲酒溶解后, 分别添加于某烤烟型烟丝上, 卷制成烟支。用同样的烟丝, 添加与上同样比例的大曲酒, 卷制成空白样卷烟。将上述所制的空白样卷烟和含苯基丙二酸的实验卷烟分别燃吸, 让烟气通过一个转子流量计和一个含 10 mL 无水乙醇的吸收瓶, 控制烟气流量为 48 L/h, 收集主流烟气的化学成分。每 10 mL 无水乙醇吸收 8 支烟的烟气成分。将上述吸收了空白样卷烟和实验卷烟烟气成分的乙醇溶液分别在 HP6890/HP5973 气相色谱-质谱联用仪上进行检测。

2 结果与讨论

2.1 苯基丙二酸在热分析仪上的热裂解

图 2 为苯基丙二酸在 N₂ 气氛下，在 NETZSH-STA 449C 热分析仪上测得的 TG 和 DSC 曲线。

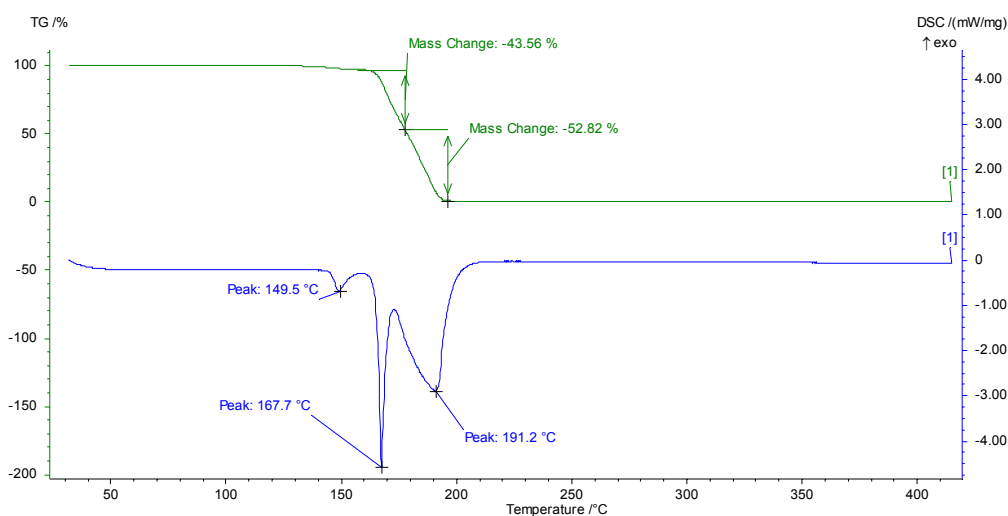


图 2 苯基丙二酸在氮气气氛下的 TG-DSC 曲线

由图 2 可以看出，在 N₂ 气氛下，DSC 曲线在 149.5 °C 有一吸热峰，而此温度附近 TG 曲线仍然平坦，表明在此温度附近熔化，此温度为苯基丙二酸熔点。165 °C 左右开始失重，到 195 °C 左右几乎完全失重，其失重率分别为 96.4 %。同时 DSC 曲线有两个吸收峰，其峰温分别为 167.7 °C 和 191.2 °C。苯乙酸的沸点在 265 °C 附近，而 195 °C 以下几乎完全失重，失重温度低于苯乙酸沸点。作者据此推测，由于苯基丙二酸为极性化合物，在此温度范围内可能发生了较完全的裂解反应，生成苯乙酸，并由于苯乙酸的蒸汽压高、挥发性强而在达到沸点温度之前就被带出实验体系。至于两个吸收峰，可能包括吸热峰及苯乙酸挥发吸热峰。

2.2 苯基丙二酸在卷烟中的热裂解

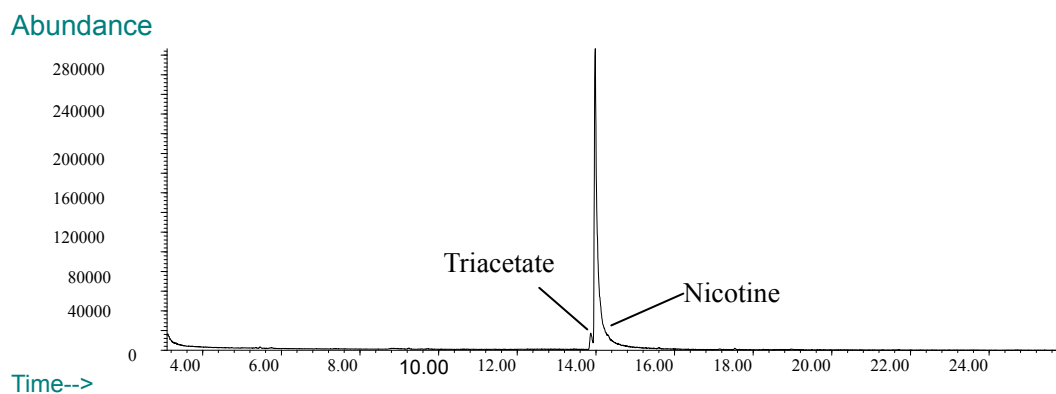


图 3 空白样卷烟烟气成分的气相色谱图

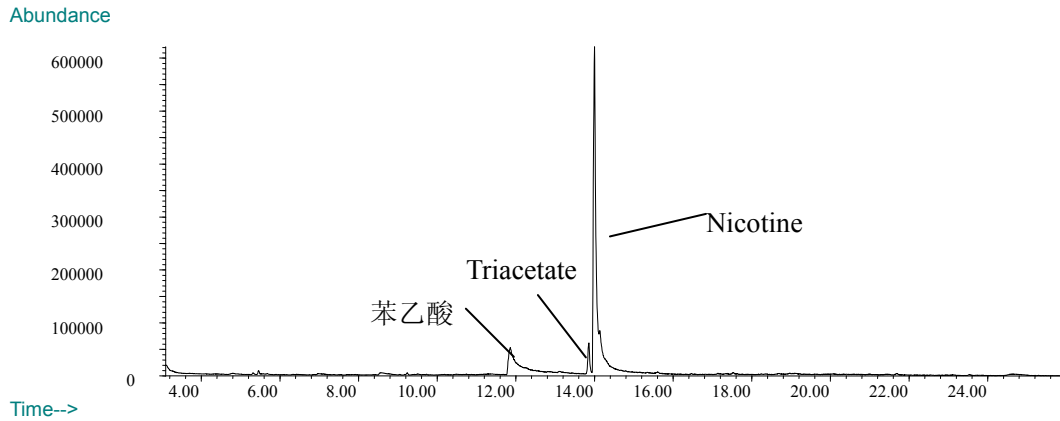


图4 实验样卷烟(含5%苯基丙二酸)主流烟气成分的气相色谱图

图3、图4分别为空白样卷烟烟气成分、实验卷烟(含有5%的苯基丙二酸)烟气成分气相色谱图。图4中保留时间11.864 min 色谱峰相应质谱图见图5。

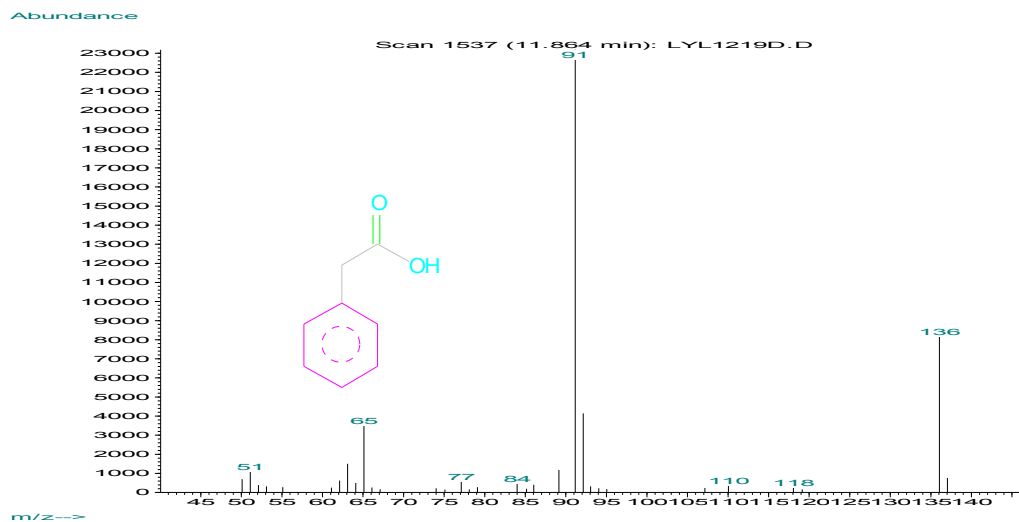


图5 图4中保留时间11.864 min 色谱峰相应质谱图

与图3比较,图4在保留时间为11.864 min处多一个色谱峰,图5为相应质谱碎片离子图,经质谱谱库检索确认为苯乙酸,匹配度达90%。综合以上数据可以推测,实验样卷烟含有的苯基丙二酸在燃吸时发生裂解反应,向卷烟烟气释放出苯乙酸。

3 结论

根据前期研究基础,推测苯基丙二酸裂解释放情况。采用TG-DSC及卷烟加香燃烧裂解实验,GC-MS测烟气成分的方法,证实了苯基丙二酸在受热裂解时能释放丙二酸。作为完整的香原料的开发,后续工作在于探讨苯基丙二酸的转移率、安全性评价,及苯乙酸释放效率等问题。

参考文献:

1. 艾萍. 红茶香精的调配试验. 食品工业(上海), 2003, 24(4): 51~52.
2. 蔡心尧, 尹建军. 固相提取小柱在啤酒香味组分分析中的应用. 啤酒科技. 2003, 3: 1~3.
3. 齐志良. 苯乙酸的循环利用. 河北化工. 2010, 33(1): 50~51.
4. 陈宇, 郭奕纯. 应用三值理论研制蜂蜜香精的研究. 现代食品科技. 2007, 23(6): 53-54.
5. 杨华武, 傅见山, 邓昌健等. 丙基丙二酸和异丙基丙二酸热分解向卷烟烟气释放戊酸和异戊酸的研究. 香料香精化妆品. 2005, 5: 8-11.

连续化微反应技术在香料、香精和化妆品合成中的应用

赵东波, 刘涛

(拜耳技术工程(上海)有限公司, 上海 201507)

Application of Continuous Microreaction Technology in the Synthesis of Flavour, Fragrance and Cosmetics

ZHAO Dongbo, LIU Tao

(Bayer Technology and Engineering (Shanghai) Co. Ltd., Shanghai 201507)

Abstract: As a novel process intensification technology, continuous Microreaction technology (MRT) has shown more and more applications in the field of Flavour, Fragrance and Cosmetics. The recent progress of MRT and its application in Perfume synthesis is overviewed. In contrast to a conventional batch reactor, continuous Microchannel reactor is recognized by its merits of continuous operation, intensified capability of mass/heat transfer and precise control of reaction parameters etc. The advantages of MRT was demonstrated in many reaction types mostly utilized for perfume synthesis, and successful examples of MRT in Flavour & Fragrance industry forecast its promising and broad outlook.

Key words: Microreaction technology (MRT), Microreactor, Microchannel, Continuous, Flavour, fragrance and cosmetics, Instant mixing, Precise control, Synthetic perfume

摘要: 作为一项全新的过程强化技术, 连续化微反应技术在香料、香精和化妆品合成中的应用与日俱增; 本文综述了近年来微反应技术在香料合成研发和生产方面的进展。与传统的间歇式反应器不同, 连续化微通道反应器的主要特点是连续进料、传质换热能力大大加强以及可以精确控制反应参数等。该技术在许多香料合成常用的反应中都体现出了常规反应器无法比拟的优势, 同时在合成香料工业应用的成功范例也展示了微反应技术可以预见的广阔前景。

关键词: 微反应技术; 微反应器; 微通道; 连续化; 香料、香精和化妆品; 瞬间混和; 精确控制; 合成香料

微反应器也被称为“微通道”反应器, 是微反应器、微混合器、微换热器、微控制器等微通道化工设备的通称。自20世纪90年代中期微反应技术兴起以来, 国内外在此方面的研究和应用的报道已经有数百篇(其中有不少是综述性文章和专著[1-2]), 不但取得了很多人瞩目的研究成果, 而且在医药、农药、特种材料以及精细化工产品及中间体的合成中得到了越来越多的应用。尤其进入本世纪以后, 各大跨国公司也开始关注这一新兴技术[3a], 纷纷成立专门的微反应技术部门开展在其相关工业领域的应用研究(如瑞士克莱恩公司的C3MRT部门、法国康宁公司的Mini-Lab系统和德国西门子的Siprocess系统等[2b])。同时, 近来不少开发微反应技术的公司之间强强联合, 以期进一步拓展微反应技术在工业生产中的应用。美国化学会权威杂志 Chem & Engineering News 于2010年3月1日刚刚报道了瑞士Lonza公司和德国拜耳Ehrfeld Mikrotechnik BTS (EMB) 公司相互合作的进展[3b]。

尽管这一崭新技术在香精、香料等传统行业中的应用还刚刚开始, 而且还主要处于研发阶段, 但是由于它所具有的一系列优势, 如瞬间混和、精确控制反应工艺参数、并有极高的安全性、便于自动化控制等等, 在香精、香料合成中常用的化学反应类型中的研究已有不少报道。随着全球范围香料生产和需求的持续高速增长(目前全球香料总销售额已达200亿美元), 各类香气逼真、香型独特的新合成香料以及更加有效的合成工艺不断问世; [4b] 但另一方面, 通过常规工艺手段所能创新和提高的空间变得越来越有限, 因此对于香料合成新方法和新技术的渴求也与日俱增, 其中微反应技术可望在这一领域大展身手。

1 连续化微通道反应器的特征及其优势

前面提到, 微反应器从本质上讲是一种连续流动的管道式反应器; 反应器中的微通道利用精密加工工艺制造而成, 特征尺寸通常在10—1000微米之间。由于微反应器内工艺流体的通道尺寸非常小, 相对于常规管式反应器而言其比表面积体积比非常大(可达10,000—50,000 m²/m³, 见图1), 因此微反应器具有极高的混合效率(毫秒级范围实现径向完全混合)、极强的换热能力(传热系数可达25,000 W/(m²•K))和极窄的停留时间分布(基本接近平推流)。其实, 对于微反应技术相对于常规反应器的优势在文献中已有不少详尽的描述。[5] 具体到香料合成方面的应用, 具有完全不同于常规反应器结构特征的微反应技术有以下几个突出的优势: (1) 微反应器技术可以实现反应物料的瞬间混合和对反应工艺参数(如温度、压力和反应时间等)的精确控制可以提高反应的收率和选择性; (2) 实现过程的连续化和自动化控制, 从而提升工艺稳定性并确证产品质量; (3) 在线反应体积小, 保证了化学反应的安全性; (4) 此外, 微反应技术消除了过程放大效应, 小试工艺的最佳反应条件可以直接用于工业生产, 大大缩短了工艺研发时间。

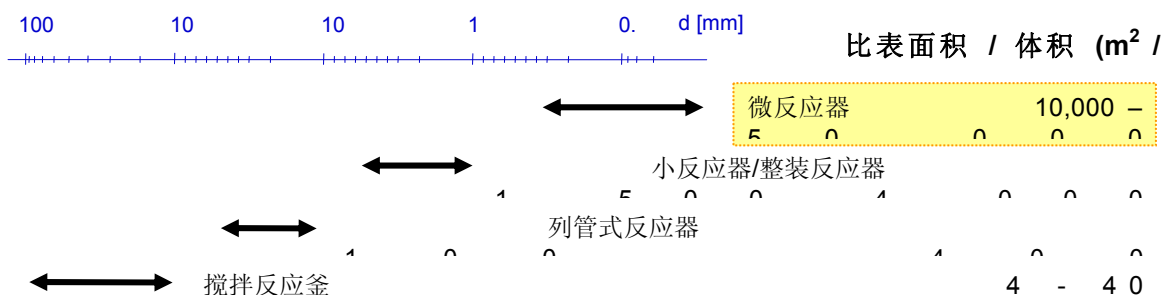


图1 微反应器与常规反应器的比表面积/体积比值的对照

2 微反应器技术在香料合成中有优势的反应类型

自从水杨酸甲酯(methyl salicylate, 1843)、肉桂醛(cinnamom aldehyde, 1856)、苯甲醛(benzyl aldehyde, 1863)和香兰素(vanillin, 1872)等自然界存在的香料首次被人工合成出来以后, 采用天然原料或化工原料、通过化学合成方法制取香料化合物的合成香料工业发展突飞猛进, 目前已经成为一个门类齐全的科学工业体系。作为精细有机化工的重要组成部分, 合成香料(Synthetic perfume)在食品、化妆品、纺织、医药、橡胶、塑料、饲料、涂料等方面有着广泛应用; 目前世界上合成香料已达5000多种, 常用的商品化产品超过1000种。[4a-c]按官能团分类, 合成香料可分为烃类香料、醇类香料、醛类香料、酮类香料、缩醛缩酮类香料、醚类环醚类香料、酯类香料、内酯香料、酸类香料、酚类香料、硝基香料和含硫含氮和稠环类香料等。

合成香料的开发途径有很多, 可以利用价格便宜、易得的天然香料或石油原料和中间体合成、改造结构复杂难以合成的天然香料、利用新的合成方法以及改进传统工艺等等。此外, 香料、香精合成也有其特殊性, 一般要求产品纯度非常高或者产品中各组分比例非常固定(有时不是单一组分), 因此对于工艺的稳定性及可重复性要求很高。但从香料合成中涉及的化学反应来讲, 常用的反应类型不外乎有以下一些: 氧化反应(硝化反应等)、还原反应(氢化反应等)、Michael加成反应、活泼有机金属化合物参与的反应(格式反应等)、偶联反应、光化学反应、裂解反应、酯化反应、异构化反应以及羟醛缩合反应等等。以上所提到的反应类型基本上都具有一个或几个适合用微反应器技术进行工艺改进的特征[2a], 如:

- (1) 快速的强放热反应;
- (2) 要求快速均匀混和的反应;
- (3) 要求精确控制反应工艺参数(如温度、压力、反应物配比和停留时间等)的反应;
- (4) 涉及不稳定中间产物或有后续副反应的反应;
- (5) 涉及危险化学品或高温高压的反应;
- (6) 要求工艺稳定性高、可重复性好;

下文列举微反应器技术在香料合成常用的一些类型反应中的应用并分析其中的优势所在。

2.1 氧化反应

许多氧化反应是一旦引发后比较剧烈的反应, 尤其是使用强氧化剂的反应会释放比较大的反应热。我们知道氧化反应除了常温氧化, 还包括高温氧化和低温氧化, 其中后两者在实际生产中对于反应工艺条件的控制要求非常高。高温氧化往往属于易失控反应(如氧气或者过氧化物参与的反应等); 一旦失控, 就会造成反应温度急剧升高、反应压力急剧加大, 引起冲料甚至引发爆炸。而在微反应器中由于反应热可以很快导出, 因此反应温度可以有效控制在安全范围内, 使失控的风险降低到最低; 同时由于是连续流动反应而且在线的化学量极少, 即使发生意外而造成的危害也是微不足道的。不论低温氧化还是高温氧化, 很多反应的选择性调控是个难题。特别是某些产物的稳定性差, 在反应器中停留时间稍长或由于间歇反应局部热点的问题就会分解或发生氧化过头而降低选择性和收率。在微反应器中因为物料是连续流动的, 它在反应器中的停留时间以及反应温度可以精确控制, 从而有效减少了副反应的发生提高了收率。此外, 有些氧化反应要求将底物和氧化剂瞬间均匀混和, 如果混和效果不好也可能造成氧化过头或者氧化剂因沉淀而失去活性等不利情况。微反应器在此类情况中的优势也是非常明显的, 下面以硝化反应和Swern氧化反应为例进一步阐述。

2. 1. 1 硝化反应

硝化反应属于典型的高温氧化反应，其主要特点是放热比较剧烈，反应局部的温度不易控制。温度一旦超过设定范围，容易发生副反应，而且一旦温度失控很容易发生事故。Lonza 公司在2005年曾报道使用微反应器进行苯酚的硝化反应，由于高效传质换热而保证了精确控温，提高了收率和选择性；同时由于在线量少而反应不易失控，大大提升了工艺的安全性。此外，即使是在没有酸催化剂和更高浓度甚至无溶剂的情况下，该连续化的硝化工艺结果也非常好[6a]。而AstraZeneca公司最近则成功开发了连续化微反应工艺进行吡唑的简便、快速而安全的硝化反应，该工艺有望被放大为微反应中试装置[6b]。Kulkarni 等人报道了苯甲醛的连续化微反应硝化工艺。利用微反应器高效传热的特点，该两相工艺可以通过进一步提升反应温度快速完成（反应时间可以大大缩短为2分钟）[6c]。

2. 1. 2 Swern 氧化反应

以DMSO 将羟基化合物氧化为羰基，称为Moffatt-Swern氧化，是以醇制备羰基化合物的有效而可靠的合成方法。在此反应中，首先以三氟乙酸酐和DMSO 作用生成两种活性中间产物，

但这两者非常容易经过Pummerer重排生成副产物。为此，反应必须在低于- 50 °C条件下进行，以抑制副产物的生成，这就极大地限制了这一反应在工业上的应用。Kemperman 等人最近报道了利用拜耳 (Ehrfeld Mikrotechnik BTS) 公司的微反应技术成功实现了多种底物醇的高选择性Swern氧化反应，具体工艺流程见图1。相对于间歇反应，该微反应工艺具有以下几个优势：（1）首先避免了中间副产物的富集进而极大的提升了反应的收率和安全性；（2）由于微反应器可以保证非常短的停留时间（毫秒级），避免了Pummerer 放热重排反应，因此该微反应工艺可以在接近常温下（0-20°C）实现而不需要在极低温度下进行；（3）微反应技术由于在线的量少可以作为一个工艺快速筛选的平台，同时在此基础上也可以实现快速放大，工艺稳定性良好（如可稳定生产Testosterone $117\text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ）[7a]。T. Kawaguchi等人也曾报道了微反应器技术在Swern 氧化反应中的应用，取得了类似的令人鼓舞的结果。

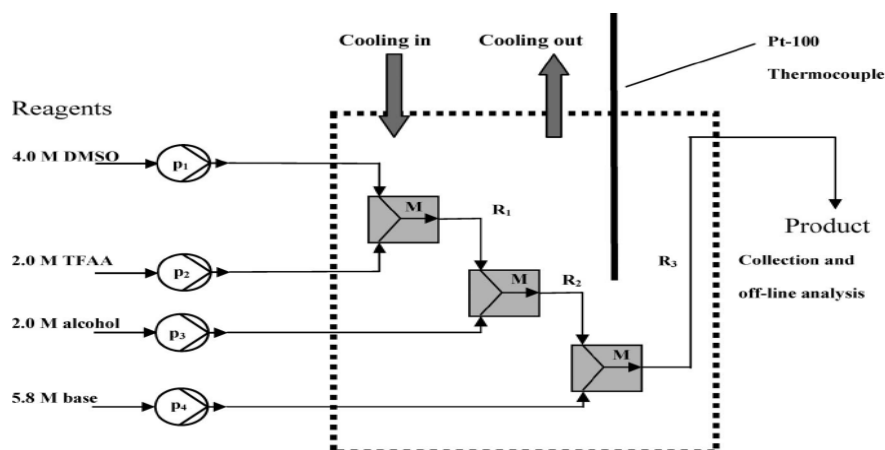


图1 微反应技术在Swern 氧化反应中的应用

2. 2 还原反应

还原反应（包括氢化反应）与氧化反应类似同样存在反应选择性差和反应活性过高的问题，尤其是那些涉及强还原剂或选择性还原的反应。以Dibal-H为还原剂从羧酸酯制备醛的反应就是这样一个例子；由于产物醛的稳定性差，在常规反应器中停留时间稍长或温度稍高就会被过度还原为醇而降低了反应的选择性和收率。常规间歇反应一般都采用极低温（-78°C）并且使用慢滴加的方式完成这一过程，而微反应技术可以很方便地解决这一难题。Lonza 公司曾报道利用微反应技术成功完成了丁酸甲酯到丁醛的Dibal-H还原反应，具体反应方程式和副反应如图2所示。结果表明，微反应器的使用可以使工艺在更高温度条件下（-20-0°C）顺利完成而不影响反应的收率，同时该微反应工艺可以很方便地放大而不影响反应选择性。值得一提的是，作者还考察了不同微反应器在该反应中的表现以及其混合性能，其中拜耳 (Ehrfeld Mikrotechnik BTS) 公司的ER25微反应器效果最好[8]。

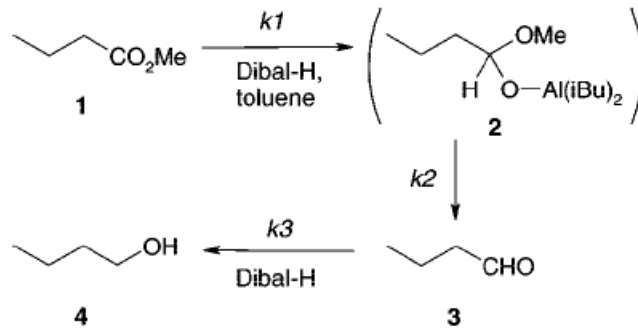


图2 微反应技术在Dibal-H还原反应中的成功应用

2.3 Michael 加成反应

Michael 加成反应在香料有机合成中是一类非常重要而且应用非常广泛的反应，主要是指亲核试剂对共轭羰基化合物等的1, 4加成反应。众所周知，虽然Michael加成是热力学更加稳定反应路线，但是在不少情况下会存在1, 2加成的副反应。此外，有些亲核试剂可以发生多次Michael反应但如果只求单取代产物，那么在常规反应器中反应物料的配比以及加料次序对结果影响很大而且副反应难于抑制（如会有二取代和三取代产物）。微反应工艺针对上述两种情况都可以实现工艺优化。一方面，微反应器传质换热的优势可以提升反应的选择性；另一方面，由于微反应器系统可以实现物料的瞬间均匀混和、避免局部过量，使副产物的产生减少到最低。H. Loewe 等人曾报道了利用连续化微反应工艺实现了几种仲胺对于共轭羰基化合物（或腈）的Michael加成反应，如图3所示。由于该类反应属于强放热反应，在传统间歇反应中为了控温和安全操作的目的需要将不饱和化合物慢慢滴加到稀释后的仲胺中；如40%二甲胺水溶液和丙烯腈的加成反应尽管可以获得大于85%的收率，但往往需要耗时17-25 小时。使用微反应工艺可以将反应速率极大地提升至几秒钟到半个小时而不影响反应的收率，这样微反应器的时空收率（space-time yield）较常规反应器可达650倍[9]。

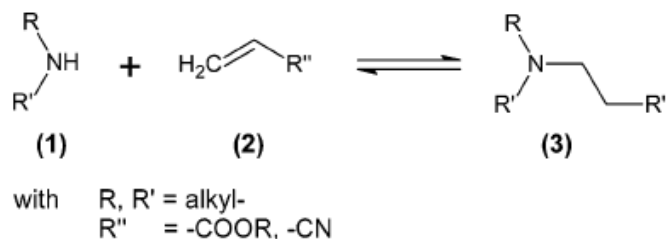


图3 微反应技术在Michael反应中的成功应用

2.4 活泼有机金属化合物参与的反应

香料合成化学中也有不少是活泼有机金属化合物参与的反应（如有机锂试剂和格式反应等）反应，由于反应非常剧烈往往要求在零下数十度甚至更低温度进行。这一类反应的共有特征是对温度要求比较严格，温度高出设定值会导致副产物生成，收率和选择性大幅下降。因此常规反应器一般采用在很低的反应温度下逐渐滴加的方式反应进行操作。微反应工艺对于这一大类反应体现出其他反应器无以比拟的优势，参见2.1.2 Swern 氧化反应和2.2 还原反应的描述。德国拜耳公司曾发表专利（WO 2007/054213 A1）报道了利用微反应工艺成功实现低温有机锂试剂参与的反应合成液晶材料中间体邻二氟甲苯。该生产工艺包括两步反应：首先，底物A与丁基锂在-70℃反应生成一个高度活泼的中间体；其次，上述中间体与另一原料B反应，生成最终产物。使用具有不同取代基的A与B，可以生产一系列具有不同分子结构的高价值液晶材料中间体，其工艺流程如图4所示。

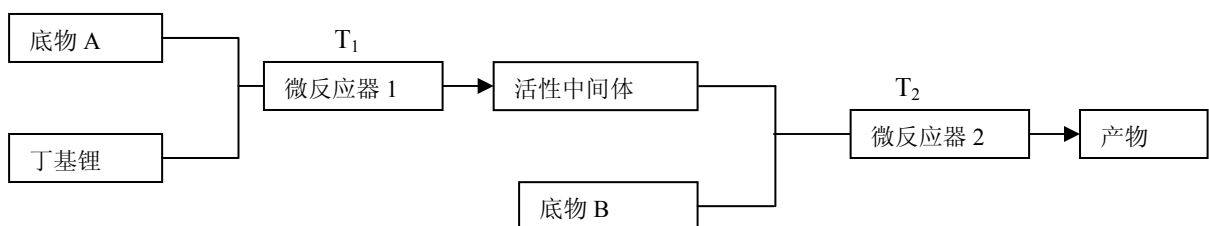


图4 拜耳微反应工艺合成液晶中间体合成

使用常规间歇式反应器进行生产由于需要在 -70°C 反应，对制冷设备要求高且能耗大；而且中间体非常活泼，反应很容易失控，因此存在很大的安全隐患。而微反应工艺可以解决上述工艺开发中的困难，具有安全性好、能耗低、体积小、收率高等优点。表 1 是微反应器技术与常规工艺在合成产品中中对设备、能耗的要求及产品质量的比较。

表 1 微反应工艺与常规间歇工艺在合成某液晶 中间体中的技术比较

	常规间歇式反应技术	微反应器技术
反应器体积	400 升	3 升
产量	24 公斤/天	40 公斤/天
选择性	89%	94%
安全性	反应体积大，安全隐患大	反应体积很小，安全隐患小
反应温度	-70°C	-40°C
对冷却设备要求	对制冷设备要求很高	不需要很复杂的制冷设备

2. 5 偶联反应

我们知道，对于有固体催化剂参与的非均相催化反应由于催化剂可以回收重复利用，因此在实际工业生产中应用非常广泛。但是，在常规间歇反应器中由于传质换热的局限，催化剂往往不能与其他物料有效接触而催化效率不高甚至容易失活。微反应技术由于其传质换热方面的优势以及对于反应工艺的精确控制同样对于非均相反应工艺优化提供了非常便利的条件。Pd/C 催化的 Heck 偶联反应在香料合成中应用日益增多，如 Beta-Lilial 的合成[10a]。拜耳 Ehrfeld 公司曾报道了将模块化的微反应技术应用到许多类型的均相和非均相催化反应工艺中，其独特的组装专利设计可以很方便的进行各种工艺的筛选以及满足不同规模生产的需求[10b]。其中，弹仓式或固定床式微反应器 (Catridge reactor or Fix-bed microreactor) 被成功地应用到 Pd/C 催化的碘苯和丙烯酸乙酯的 Heck 反应中，实现了连续化的微反应工艺，如图 5 所示。值得一提的是，不仅强放热、非常快速的反应而且中等速率的反应在该微反应体系中均顺利完成，并体现出不同于常规反应器的优势。

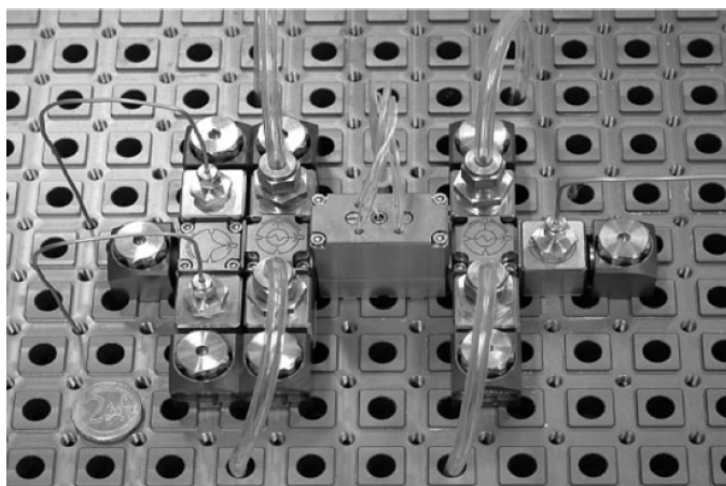


图5 拜耳微反应技术在非均相反应工艺中的应用

3 微反应器技术在香料、香精工业中的应用实例

近年来用微反应器进行化学反应的研究很多，但遗憾的是关于工业应用的研究则报道很少。这一点不难理解，因为新技术的应用往往为使用者带来竞争力的提升，为保护其商业利益，自然会对其商业机密严加保密。尽管如此，文献公开报道的微反应技术在香料合成中的一些应用实例仍然能为读者清晰解读微反应器技术的独特优势和广阔前景。

3. 1 利用光化学氧化反应合成 (-)-玫瑰醚

玫瑰醚又称为氧化玫瑰 (Rose Oxide)，主要用于调配玫瑰、香叶等花香型香精，现主要有瑞士 Firm 公司和德国 Dragoco 公司生产。制取玫瑰醚的合成路线很多，但是具有工业生产价值的是以香

茅醇为原料的合成路线。方法之一为德国专利 GE1137730 报道的将香茅醇进行光敏氧化，再将氧化产物用亚硫酸钠还原成醇，随后在硫酸介质中环化得到玫瑰醚的路线。该方法中第一步香茅醇光敏氧化反应是整个工艺的关键所在，Monnerie 等人曾发表论文专门对该步反应工艺进行过工业生产（产能为 100t/a）的经济性评估[11a]。

光化学反应由于在反应过程中有非常活泼的自由基中间体存在，属于强放热或有潜在爆炸风险的反应类型。已经有一些文献报道了利用微反应技术进行的光化学反应，以及在这些工艺中相对于常规反应器的优势[11b-f]。最近 Meyer 等人则利用微反应技术成功实现了香茅醇的光化学氧化工艺，如下图 6 所示。具体的工艺条件为：利用 LED 组作为光源、Ru(tbpy)3Cl2 作光敏剂，在一个玻璃材质的高通量微反应器（微通道尺寸为 1mm）进行单线态氧化得到过氧化物中间体(E)-7-7-hydroperoxy-3,7-dimethyloct-5-en-2-ol。相对于常规的 Schlenk 反应器，微反应工艺的光效率有比较大的提升（微反应器为 $4.8 \cdot 10^{-2}$ ，Schlenk 反应器为 $2.2 \cdot 10^{-2}$ ），同时其时空收率（space-time yield）在反应 20 min 后可高出一个数量级[11g]。

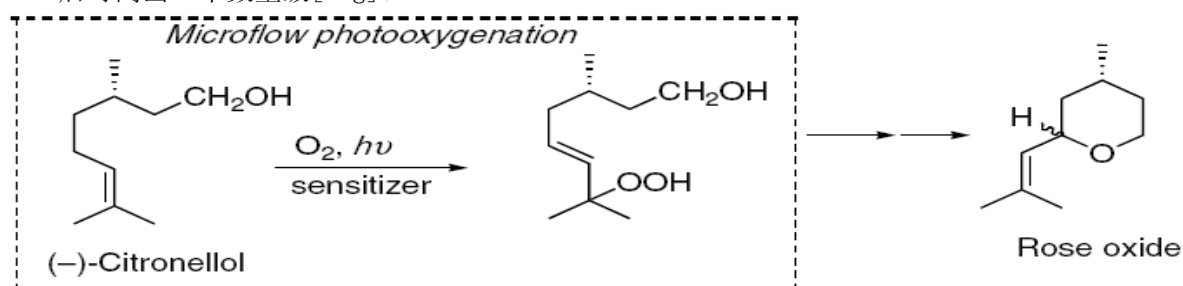


图6 利用微反应工艺进行光化学氧化反应合成 (-)-玫瑰醚

3.2 利用蒎烷醇的裂解反应合成芳樟醇

芳樟醇(Linalool)是香水香精、日化产品香精以及皂用香精的配方中使用频率最高的香料品种（全世界年产量 1 万吨左右），与香兰素和苯乙醇并列目前产量居世界前三位的香料产品。此外，芳樟醇还可以用于合成许多其他香料，并且还是合成维生素 E 的中间体。传统的制取芳樟醇的方法，是从富含芳樟醇的天然精油中分离而得的。目前在工业上采用较多的是以乙炔、丙酮为起始原料的全合成法，以及以 α -蒎烯和 β -蒎烯（来自来源极为丰富的松节油 turpentine）为原料的半合成法来大规模地生产芳樟醇。其中采用前一方法的主要有瑞士的 H&R 公司和德国的 BASF 公司，而后一方法以美国的 Glidden 公司和英国的 BBA 公司为代表。由于从松节油中分离 β -蒎烯的流程非常复杂，英国 BBA 公司在 1976 年开始用 α -蒎烯（首先经氢化为蒎烷，然后氧化得到蒎烷氢过氧化物；再还原成蒎烷醇，最后高温裂解反应）合成生产芳樟醇。

众所周知，裂解反应一般在非常高的温度下进行。在这类反应过程中由于反应过热或者中间体、产品不稳定极易发生后续副反应甚至导致反应失控。而微反应技术强大的传质换热能力以及其对于工艺过程的精确控制等相对常规反应器在这类易失控反应中的优势非常明显。最近南非的 CSIR Biosciences 研究机构获得政府 THRIP（Technology and Human Resources for Industry Programme）项目的专门资助，成功地开发了整套从 α -蒎烯经中间体芳樟醇、再到许多下游香料产品（如香茅醇、香茅醛、橙花醇、橙花醛、香叶醇和香叶醛等）的微反应合成工艺，而其中以蒎烷醇高温裂解生成芳樟醇的反应为其中最具挑战性的环节（见图 7）[12]。由于该裂解反应是在 500-650°C 的高温下进行，因此在常规反应器中一直有转化率提高就会导致产物芳樟醇分解进而降低反应选择性的问题。试验结果表明微反应工艺可以兼顾转化率和选择性两方面的优化，而且也不再需要碱性添加物用来抑制产物的分解。相对于常规的列管式反应器，微反应器的应用显著地提高反应的转化率（从 50%到 70%）和选择性（从小于 50%到大于 70%），并且反应速率也有极大提升（停留时间为几秒钟）。由于在南非，从造纸工业中每年产生约 420 吨的废料松节油硫酸盐（富含 α -蒎烯和 β -蒎烯），该微反应工艺成功开发的意义不言而喻。

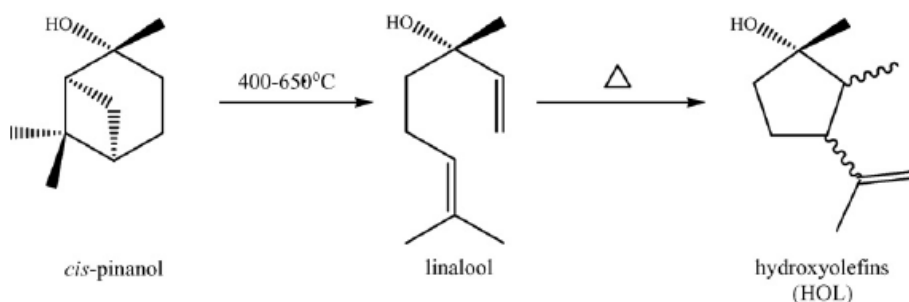


图7 利用微反应工艺进行蒎烷醇的裂解反应合成芳樟醇

3. 3 利用脂肪酶催化酯化反应合成乙酸异戊酯

乙酸异戊酯 (Isoamyl acetate) 可用于香皂、合成洗涤剂等日化香精配方中，但主要用于食用香精配方中调配各种果香型香精。乙酸异戊酯通常是由乙酸和异戊醇经酯化反应制成的，主要生产商有德国的 H&R 公司、德国的 BASF 公司、英国的 BBA 公司和俄国的 Rus 公司等。

酯化反应或酯交换反应通常情况下均为可逆反应，即使是使用酸催化剂或者酶催化剂也需要比较长的反应时间。微反应技术由于其过程强化作用可以有效地提高反应的速率[13a]，尤其对于一般不能通过升温加速的酶催化的反应而言，微反应技术的应用提供了一个良好的契机[13b]。日本资生堂 (Shiseido) 公司曾发表专利 JP2008290958 报道了从丙烯酸衍生物和脂肪酸化合物为原料出发在微反应器中制备高纯度不饱和有机化合物的方法，其中涉及到的有机反应主要有酯化反应和酰胺化反应。由于微反应体系过程强化的优势，该工艺可以在室温条件下、无需添加阻聚剂的情况下可以高收率合成高纯度的目标产品（最高反应收率可达 100%）。试验用的微反应装置示意图如图 8 所示。最近 Plaza 等人则报道了在微反应器中利用 CALB L 脂肪酶催化的乙酸酐和异戊醇的室温酯化反应，发现相对于常规间歇反应器其反应速率可以提升两倍多[13c-d]。此外，该研究还尝试了酯化反应后在微反应器中利用离子液体/有机溶剂两相体系在线连续萃取分离的工作，综合考虑反应和萃取两步工艺的要求选用了两个串联的微反应器组成的系统。前一个反应器中实现了反应和萃取（分层前）必需的有效混合，没有发现相分离；后一个反应器中配有膜式分离器用于两相分离。

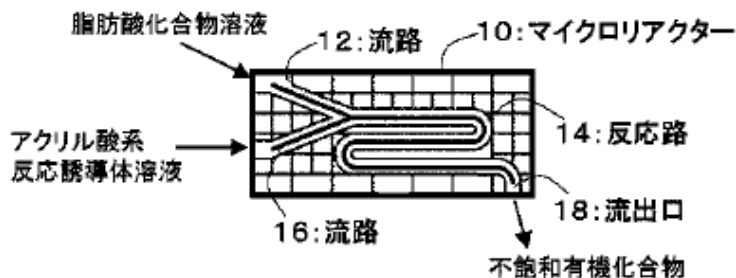


图8 利用微反应器制备高纯度不饱和有机化合物的专利报道

3. 4 利用微反应技术进行选择性非均相催化氢化反应合成不饱和醇

不饱和醇，尤其是烯丙基醇作为香料本身或者香料合成的关键中间体被大家所熟知，如茨烯基原醇 (Camphene carbinol)、檀香 206、檀香 208、合金欢醇 (Farnesol) 等。选择性还原不饱和醛（或酮）的催化氢化反应合成不饱和醇是精细有机合成中，尤其是香料和药物合成中一类非常重要的反应。但由于相对于 C=O 双键的还原来讲，C=C 双键的氢化是热力学更加占优势的竞争反应，因此在常规反应器中获得高的反应选择性是个挑战性的工作。

而微反应技术由于其传质换热方面优异的过程强化性能无论对于气-液-固三相（如 Pd/C 催化氢化去除保护基的反应[14a]、Pd 簇积物催化的炔醇的选择性还原氢化等[14b]）还是气-液两相催化氢化反应均表现出常规反应器无法比拟的优势。Claus 等人于 2005 年报道了利用毛细管微反应器 (Capillary Microreactor) 成功实现了含水多相体系中不饱和醛的选择性催化氢化还原反应。该体系集合了两组混合器以及一个毛细管式微反应器在 1.0-2.0MPa 和 60°C 下完成整个工艺，其中水溶性的均相催化剂 Ru(II)-TPPTS、有机相中的起始原料醛和还原剂 H₂ 三者形成了有序稳定的柱塞流（见图 9）。此外，作者也以实验为基础解释了减小反应器微尺寸或提高流体流速对于提升整个反应速率的现象，并设想了多相催化反应中的动力学模型[14c]。

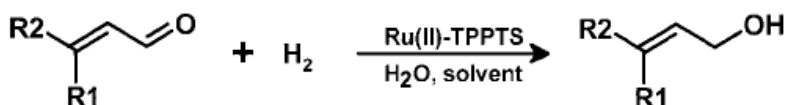


图 9 利用微反应技术进行选择性和非均相催化氢化反应合成不饱和醇

3. 5 微反应技术在微胶囊香精合成中的应用

由于香精挥发性高、留香时间短影响终产品的品质，所以香精香料的缓释和控释技术是目前国内外研究的热点和难点。微胶囊香精 (Perfume-Containing Microcapsules) 技术是香精香料的缓释和控释技术中非常重要的一种，主要是指制造固体香精的技术。它是指选择某些特殊材料以物理结合或化学结合关系与香精分子之间形成一定的包覆关系，从而减缓或控制香精香料在应用中的挥发性，延长香精香料的留香时间。目前商品化的微胶囊香精基本上由三聚氰胺-甲醛的界面聚合反应制得，但是该工艺中存在不少问题——使用了大型反应器、反应时间长、以环境不友好的化合物为原料，而且微胶囊强度不理想导致其储存稳定性不高。

而微反应器作为一类新兴的化工技术工具在许多化工领域都可以大展身手，通过过程强化的优势优化反应工艺。L. J. Esteller 等于 2008 年报道了一种集成了微反应器模块以及常规反应器单元操作模块的二元系统模型来模拟微胶囊香精的合成和表征；其中微反应部分由 MATLAB®模拟，而常规单元操作部分以 Aspen Plus®完成 [15]。该连续化的微胶囊生产技术是一种逆相沉积反应工艺 (phase inversion precipitation)，使用了两个微反应器，具体流程参见图 10。其中第一个反应器实现了聚合物相 (polymeric phase，包含聚砒、DME 和香料的混合物) 和连续相 (Continuous phase，环己烷) 的混合。由于这两相不相混溶，因此在第一步混合后产生了包含聚合物和香精微滴的乳状液。而在第二个反应器中再引入非溶剂相 (NonSolvent phase，水) 完成聚合物的沉积过程。这样香精就被包裹在聚合物基上形成了微胶囊香精。此外，该研究小组还完成了适用于该工艺的实验室规模微反应中试装置 (微反应通道在 23 微米左右)。

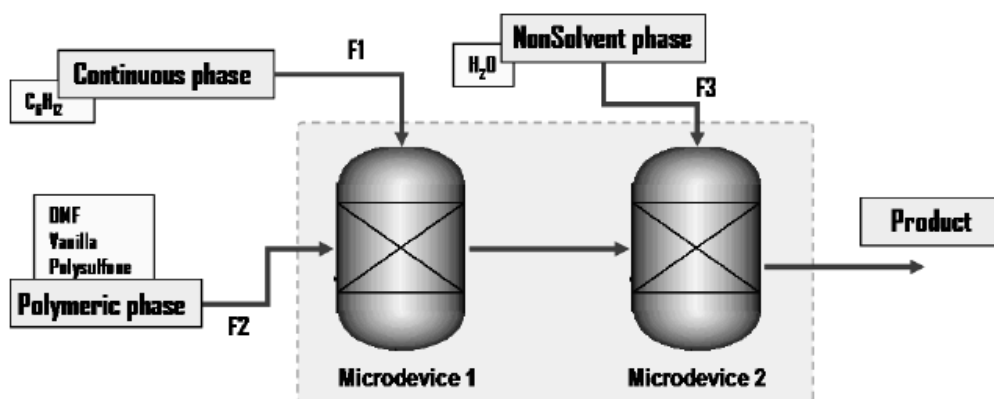


图 10 微胶囊香精合成中的微反应工艺流程

4. 结语和展望

相对于传统的间歇反应工艺，微反应器具有高速混合、高效传热、反应物停留时间的窄分布、重复性好、系统响应迅速而便于操控、几乎无放大效应以及在线的化学量量少，从而达到的高安全性能等优势。据统计，在精细化工反应中有大约 20% 的反应可以通过微反应技术在收率、选择性或安全性方面得到提升 [16]。综上所述，微反应技术为香料合成工艺过程的研究以及提高工艺过程的经济性开拓了新的思路。一方面，许多香料化学家和工程师将微反应技术视为寻求新的反应途径、合成新的化合物的独特工具（如目前为研究热点的多组分反应工艺等 [17]）；另一方面，通过微型化改造现有工艺、建立新的、更具经济性的微反应工厂也颇具吸引力。微反应技术在全世界范围内香料工业研发和生产上的应用正日益增多，在可以预见的未来，这一技术必将得到广泛应用。

参考文献:

- [1] a. Ehrfeld W, Hessel V, Loewe H. *Microreactors* [M], Wiley-VCH, Weinheim, 2000; b. Thomas Wirth, *Microreactors in Organic Synthesis and Catalysis* [M], Wiley-VCH, 2008.
- [2] a. Brian P. Mason, Kristin E. Price, Jeremy L. Steinbacher, Andrew R. Bogdan, and D. Tyler McQuade Greener Approaches to Organic Synthesis Using Microreactor Technology [J] *Chemical Reviews* **2007**, *107*, 2300-2318; b. 刘涛, 欧洲微反应器技术的发展与应用现状 [J], *现代化工*, 2007, 10, 66-68; c. Karolin Geyer, Jeroen D. C. Cod-e, and Peter H. Seeberger, Microreactors as Tools for Synthetic Chemists—The Chemists Round-Bottomed Flask of the 21st Century?[J] *Chem. Eur. J.* 2006, 12, 8434-8442; d. 李斌, 微反应器技术在精细化工中的应用[J], *精细化工*, 2006, 1, 1-7.
- [3] a. Volker Hessel, Christoph Knobloch and Holger Löwe Review on Patents in Microreactor and Micro Process Engineering Recent [J] *Patents on Chemical Engineering* 2008, *1*, 1-16; b. *Chem & Engineering News*[J] 88(9), March 01, 2010.
- [4] a. G. Reineccius, *Flavor Chemistry and technology* [M], 2nd ed., Taylor and Francis, 2006; b. 黄致喜, 王慧辰 *现代合成香料* [M], 中国轻工业出版社, 2009; c. 刘树文 *合成香料技术手册* [M], 中国轻工业出版社, 2009.
- [5] 骆广生, 陈桂光等. 微混和技术——颗粒材料制备的关键之一 [J]. *现代化工*, 2004, 24 (7) : 17 - 19; b. 郑亚峰, 赵阳, 辛峰. 微反应器研究与展望 [J]. *化工进展*, 2004, 23(5) : 461 - 466; c. 陈光文 微化工技术研究进展 [J]. *现代化工*, 2007, 27(10), 8-13.
- [6] a. L. Ducry, D. M. Roberge, Controlled Autocatalytic Nitration of Phenol in a Microreactor [J] *Angew. Chem. Int. Ed.* 2005, 44, 7972 - 7975; b. J. Pelleter, F. Renaud Facile, Fast and Safe Process Development of Nitration and Bromination Reactions Using Continuous Flow Reactors [J] *Organic Process Research & Development* 2009, 13, 698 - 705; c. A. A. Kulkarni, V. S. Kalyani, R. A. Joshi and R. R. Joshi Continuous Flow Nitration of Benzaldehyde [J] *Organic Process Research & Development* 2009, 13, 999 - 1002.
- [7] a. Jacobus J. M. van der Linden, Peter W. Hilberink, Claudia M. P. Kronenburg, and Gerardus J. Kemperman Investigation of the Moffatt-Swern Oxidation in a Continuous Flow Microreactor System [J] *Organic Process Research & Development* 2008, 12, 911 - 920; b. Kawaguchi T, Miyata H, Ataka K, et al. Room-temperature Swern oxidations by using amicroscale flow system [J]. *Angew Chem Int Ed*, 2005, 44: 2413 - 2416.
- [8] Laurent Ducry, and Dominique M. Roberge Dibal-H Reduction of Methyl Butyrate into Butyraldehyde using Microreactors [J] *Organic Process Research & Development* 2008, 12, 163 - 167.
- [9] H. Lwe, V. Hessel, P. Lb, and S. Hubbard Addition of Secondary Amines to α , β -Unsaturated Carbonyl Compounds and Nitriles by Using Microstructured Reactors [J] *Organic Process Research & Development* 2006, 10, 1144-1152.
- [10] a. Forsyth, S. A.; Gunaratne, H. Q. N.; Hardacre, C.; McKeown, A.; Rooney, D. W.; Seddon, K. R. Utilisation of ionic liquid solvents for the synthesis of Lily-of-the-Valley fragrance { β -Lilial®; 3-(4-t-butylphenyl)-2-methylpropanal} [J] *J. Mol. Catal. A: Chem.* 2005, 231; b. P. Seeberger, W. Ehrfeld et al. Modular Microreaction Systems for Homogeneously and Heterogeneously Catalytic Chemical Synthesis *Hel. Chim. Acta.* 2005, 88, 1-9.
- [11] a. Monnerie, N.; Ortner, J. Economic Evaluation of the Industrial Photosynthesis of Rose Oxide via Lamp or Solar Operated Photooxidation of Citronellol [J] *J. Solar Energy Eng.* 2001, 123, 171; b. *Pure and Applied Chemistry* 2007, 79, 1959 - 1968; c. H. Lu, M. A. Schmidt, K. F. Jensen, Lab Chip 1 (2001) 22 - 28; d. H. Ehrich, D. Linke, K. Morgenschweis, M. Baerns, K. Jahnisch, *Chimia* 56 (2002) 647 - 653; e. R. Gorges, S. Meyer, G. Kreisel, *J. Photochem. Photobiol. A* 167 (2004) 95 - 99; f. R. C. R. Wootton, R. Fortt, A. J. de Mello, *Org. Process Res. Dev.* 6 (2002) 187 - 189; g. Meyer, S., Tietze, D., Rau, S., Schaefer, B. and Kreisel, G. Photosensitized oxidation of citronellol in microreactors [J] *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, (2007) 186, 248-253.
- [12] Subash Buddoo, Njabulo Siyakatshana, Ben Zeelie, Jozef Dudas Study of the pyrolysis of

2-pinanol in tubular and microreactor systems with reaction kinetics and modeling[J] Chem. Eng. Proc. 2009, 48, 1419-26.

[13] a. Xingjun Yao, Jianfeng Yao, Lixiong Zhang, Nanping Xu Fast Esterification of Acetic Acid with Short Chain Alcohols in Microchannel Reactor[J] Catal Lett (2009) 132:147 - 152;

b. Urban P.L., Goodall D.M. and Bruce N.C., Enzymatic microreactors in chemical analysis and kinetic studies[J], Biotech Adv 2006, 24, 42-57; c. Pohar A, Plazl I, Znidarsic-Plazl P Lipase-catalyzed synthesis of isoamyl acetate in an ionic liquid/n-heptane two-phase system at the microreactor scale[J] LAB ON A CHIP 2009, 9(23), 3385-3390; d. Znidarsic-Plazl P, Plazl I Modelling and experimental studies on lipase-catalyzed isoamyl acetate synthesis in a microreactor [J] PROCESS BIOCHEMISTRY 2009, 44(10), 1115-1121.

[14] a. Franckevicius, V.; Knudsen, K. R.; Ladlow, M.; Longbottom, D. A.; Ley, S. V. *Synlett* 2006, 889; b. Evgeny V. Rebrov, Ekaterina A. Klinger, Angel Berenguer-Murcia, Esther M. Sulman, and Jaap C. Schouten Selective Hydrogenation of 2-Methyl-3-butyne-2-ol in a Wall-Coated Capillary Microreactor with a Pd₂₅Zn₇₅/TiO₂ Catalyst[J] Organic Process Research & Development 2009, 13, 991 - 998; c. Y. Oenal, M. Lucas, P. Claus Application of a capillary microreactor for selective hydrogenation of α, β -unsaturated aldehyde in aqueous multiphase catalysis[J] Chem. Eng. Technol. 2005, 28, 972-978.

[15] Rodolfo V. Tona Vásquez, Laureano Jiménez Esteller, Aaron David Bojarski Multiscale Modeling Approach for Production of Perfume Microcapsules[J] Chem. Eng. Technol. 2008, 31, No. 8, 1216-1222.

[16] Roberge D M, Ducry L, Bieler N, et al. Microreactor Technology: A Revolution for the Fine Chemical and Pharmaceutical Industries? [J]. Chem Eng Technol, 2005, 28(3): 318-323.

[17] C. Wiles, P. Watts An integrated microreactor for the multicomponent synthesis of α -aminonitriles[J] Org. Proc. Res. Dev. 2008, 12, 1001-1006.

探索辐照技术在香料及化妆品工业中的应用

龚 葵¹ 卢永凯² 张宏冰³

1. 北京服装学院材料科学与工程学院 北京 100029; 2. 清华大学医学院 北京 100084; 3. 中国医学科学院北京协和医学院 北京 100730

摘要: 辐照技术是近年来发展很快的一种非热力加工的新技术。它利用电离辐射(主要指钴-60的 γ 射线、加速器产生的电子束或X-射线)与物质的相互作用所产生的物理、化学和生物效应,对香料香精或其他化妆品进行加工处理,可修饰化妆品分子并降解化妆品中的有害物质,已经被证明是一种有效的提高化妆品安全性及延长保质期的“绿色加工”方法。研究表明,辐照仅引起化妆品分子的化学变化,并无放射性残留,对人体无害,安全可靠。与其他众多的加工方法相比,辐照技术具有很多突出优点。

关键词: 辐照技术; 化妆品化学; 香精香料科学

Exploring the Application of Irradiation Technology in the Perfumery and Cosmetics Industry

Yan GONG¹, Yongkai LU², Hongbing ZHANG³

1. College of Material Sciences and Engineering, Beijing Institute of Fashion, Beijing, 100029; 2. Medical School of Tsinghua University, Beijing, 100084; 3. Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing, 100730

Abstract: Irradiation technology is a novel non-thermal processing technology, which is developing rapidly in recent years. It uses the physical, chemical and biological effects produced by the interaction of ionizing radiation (mainly refers to Co60- γ -rays, electron beams produced by accelerator, or X-rays) and materials to process fragrance, flavors or other cosmetics. Irradiation technology can modify molecules and degrade harmful substances in cosmetics, which having been proven to be an effective “green processing” approach to enhance the safety and to extend the shelf-life of cosmetics. Studies have shown that irradiation only causes chemical changes of cosmetic elements and there is no radioactive residue harmful to humans. Therefore irradiation technology is safe and reliable. Comparing with many other processing methods, it has many outstanding advantages.

Key words: Irradiation Technology, Cosmetic Sciences, Flavors and Fragrances Sciences

1. 辐照技术简介

辐照技术,利用射线电离和激发产生的活化原子与活化分子,使之与物质发生一系列物理、化学、生物的变化,导致物质的降解、聚合、交联并发生改性。辐射加工技术,是指将电子加速器(0.2MeV~10MeV)产生的电子线或放射性同位素(Cs-137或Co-60)产生的 γ 射线的能量转移给被辐照物质。这些电离辐射作用到被辐照的物质上,产生电离和激发,从而释放出轨道电子,形成自由基。通过控制辐射条件,使被辐照物质的物理性能和化学组成发生变化,使其成为人们所需要的一种新的物质,或使生物体(微生物等)受到不可恢复的损失和破坏,以达到加工目的。



图 1. 钴 60 辐照实验室控制平台 (北京大学技物楼院内)

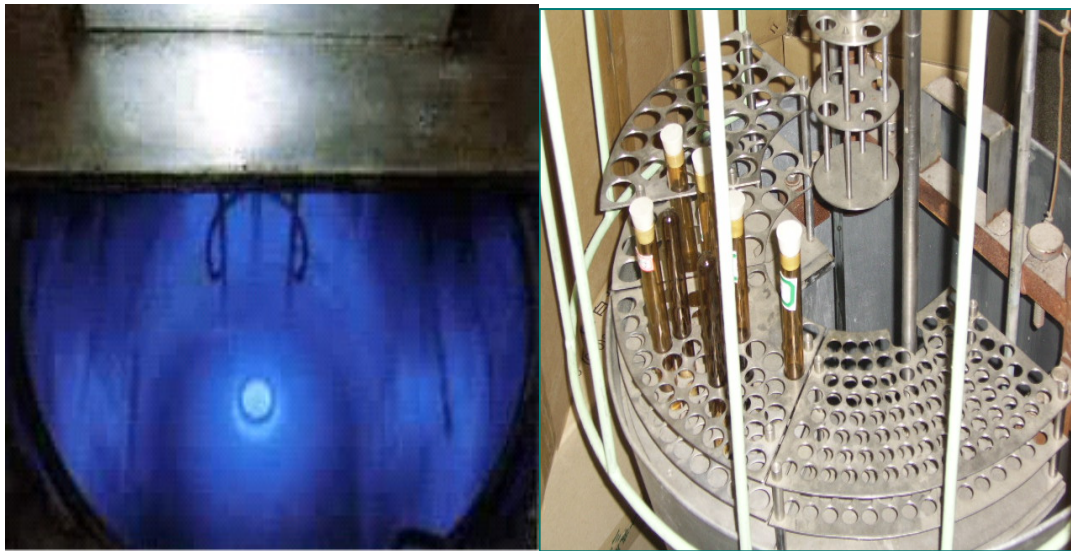


图 2. 水井中的钴源（左）和辐照实验使用的样品架（右）

常用辐照源分为同位素衰变（如钴 60 源）放射源和加速器源（如电子加速器源）两大类。钴 60 放射源由于投资小，性价比高，应用非常广泛，常用于辐射育种、刺激增产、辐射防治虫害和食品辐照保藏与保鲜等；在工业上，常用于无损探伤、辐射消毒、辐射加工、辐射处理废物，以及用于厚度、密度、物位的测定和在线自动控制等；在医学上，常用于癌和肿瘤的放射治疗。

前段时间公众开始关注和担忧钴 60 放射源安全事故引发的辐照安全隐患问题，笔者为此专门撰文“揭开钴-60 的神秘面纱”在《光明日报》上发表，强调辐照加工后的产品不存在放射性残余，可以放心使用和食用。

2. 辐照技术在香精及化妆品中的应用

辐射技术最早应用于军事，尔后逐步进入了人类社会的各个领域，特别是在香料工业中已经受到人们的广泛关注。香料作为食品工业、化妆品和制药工业的重要原料，香料工业的发展离不开高新技术的应用。下面对辐照技术在香料工业的应用研究进展，特别是香料植物的辐照净化技术和香料化合物的辐照萃取技术进行简要介绍。

2.1 辐照净化技术

化妆品原料的一个发展趋势是多功能的天然提取物。但相比化学合成原料而言，从动植物中提取的天然原料更容易被细菌、霉菌所污染。如果在化妆品中大量添加防腐抗菌剂（一般含量 0.5-5%），不仅仅让化妆品原本标榜的“纯天然”黯然失色，而且也容易导致皮肤过敏等副作用。天然化妆品的防腐抗菌成为困扰化妆品开发的重点难题，辐照净化技术的使用可以大大减少化妆品防腐抗菌剂的使用。许多天然产物提取物会由于温度升高发生挥发变质和副反应，所以加温加热等净化方法都不可行。香精及化妆品在辐照过程中温度不会大幅提高，所以辐照技术对于控制香精香料、天然化妆品和日化清洁用品等净化处理过程中的品质非常有利。电离辐照实验已被证实可减少不同化妆品的致病细菌数目（如李斯特菌、大肠杆菌、沙门氏菌、肉毒杆菌、副溶血性弧菌等），并且这种辐照处理可在化妆品被包装后再进行，大大方便了化妆品生产，减少了防腐剂的用量，同时降低了生产成本。

香料、香草和其他香味调合剂的价值，在于其独特的味道、颜色和香味。不过，环境及生产过程往往会令这类食品受到微生物污染。在上世纪八十年代以前，香料和香草大多是利用熏蒸方法，并使用环氧乙烷等作为消毒气体进行消毒。不过，由于环氧乙烷已被证实可致癌症，多个国家已禁止使用。

于是，辐照技术便渐渐取代熏蒸方法，广受食物业界采用以消除干制食物配料中的微生物污染。辐照净化技术除了可提高不同食物的卫生质量外，还可用来消除草药中的污染微生物。

2.2 辐照萃取技术

笔者近期的研究发现，辐照还可能提高天然玫瑰精油的萃取产率。用辐照诱导萃取法萃取天然玫瑰精油，其较佳工艺是 10g 玫瑰花瓣在被钴 60 源 γ 射线辐照后，用正己烷提取 50 秒，玫瑰精油的萃取得油率提高了 41%。

通过正交重复试验发现，辐照诱导萃取法具有有效成分提取率高、质量优、萃取时间短、操作成本低等优点，减少了原料预处理费用，无害于环境，因此辐照萃取技术将有更为广阔的应用前景。

3. 总结

2009 年，我国化妆品工业生产年销售额达到了 1200 亿元，这一数字是 30 年前改革开放初期的 342 倍。中国化妆品市场竞争的升级必然促使高层次的优化组合，包括学科的组合、资本的组合、产业的组合以及企业的组合。

辐照技术作为高新技术领域中的一支奇葩，必将在化妆品行业中得到更为广泛的应用。

致谢

感谢北京服装材料研究开发与评价北京市重点实验室提供的资金支持，资助项目编号：(2008ZK-01)；感谢北京市教委资助项目：生态纺织品质量监控与管理体的研究(PHR200906122)。同时感谢北京大学王文清、吴季兰两位教授对于辐射化学知识和实验的悉心指导。

参考文献：

- [1] 龚研. 揭开钴-60 的神秘面纱. 光明日报, 2009 年 8 月 10 日
- [2] 刘晓庚, 陈优生, 陈梅梅 等. 微波辐射相转移催化合成苹果醋. J. 香料香精化妆品, 2002, 5: 18~21.
- [3] 吴肖, 彭小红. Maillard 反应合成成味香精研究进展. J. 食品工业科技. 2006, 5: 182~188.
- [4] Kimberly Janice. Charles H. Manley, Regulating process flavor [M]. American chemical society, 2005: 41—55.
- [5] Huanlu Song, Lingjun Xia. Aroma extract dilution analysis of a beef flavouring prepared from flavour precursors and enzymatically hydrolysed beef [J]. Flavour and fragrance journal, 2008 (23): 185-193.
- [6] Gedye R, Smith F, Westaway K, et al. The use of microwave ovens for rapid organic synthesis [J] Tetrahedron Lett. 1986(27): 279—282.