

烤烟粗脂肪提取工艺优化 及光谱测定方法研究

杨正锋¹, 陈薪宇¹, 崔一丹¹, 杨金清¹, 汤丹瑜², 赵正雄^{3,*}, 保志娟^{1,*}

(1. 云南农业大学烟草学院, 云南昆明 650201;

2. 云南中烟工业有限责任公司技术中心, 云南昆明 650202;

3. 云南农业大学资源与环境学院, 云南昆明 650201)

摘要:为优化索氏提取法测定烤烟中粗脂肪的工艺条件,在单因素实验的基础上,通过 Box-Behnken 试验设计,研究称样量、回流时间、烘干时间对粗脂肪提取量的影响,并建立一种快速测量粗脂肪含量的紫外可见吸收光谱方法。结果表明,干燥温度为 105 ℃ 时,预测最佳的粗脂肪提取条件为:称样量 3.08 g,回流时间 6 h,烘干时间 1.5 h,粗脂肪含量为 6.27%。在 0.276~2.211 g/L ($\lambda = 326$ nm) 或 0.276~2.763 g/L ($\lambda = 415$ nm) 范围内,烟叶粗脂肪溶液的浓度与吸光度有较好的线性关系 ($R_{326\text{ nm}}^2 = 0.9982$, $R_{415\text{ nm}}^2 = 0.9993$),检出限分别为 0.128 和 0.093 g/L,定量限分别为 0.387 和 0.281 g/L。利用响应面优化的索氏提取工艺及建立的粗脂肪紫外分光光度测定法,简便省时,且重复性和精密度较好,适合批量烟叶粗脂肪的分析测定。

关键词:烤烟,粗脂肪,索氏提取,紫外可见吸收光谱

Optimization of Extraction Technology and Spectrophotometric Determination Method of Crude Fat in Flue-cured Tobacco

YANG Zheng-feng¹, CHEN Xin-yu¹, CUI Yi-dan¹, YANG Jin-qing¹,

TANG Dan-yu², ZHAO Zheng-xiong^{3,*}, BAO Zhi-juan^{1,*}

(1. College of Tobacco Science, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;

2. R&D Center of China Tobacco Yunnan Industrial Co., Ltd., Kunming 650202, China;

3. College of Resources and Environment, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: In order to optimize the determination parameters of crude oil from flue-cured tobacco leaves extracted by Soxhlet extraction, the single factor tests and a Box-Behnken design were applied to study the effects of sample weight, reflow time, and drying time on the extraction rate of crude oil. And a new UV absorption spectroscopic method of determination crude oil was established. The results showed that when the drying temperature was set at 105 ℃, the predictable optimum extraction conditions for crude oil were as follows: Sample weight 3.08 g, reflow time 6 h, and drying time 1.5 h. Under the optimum condition, the total extraction yield was 6.27%. The linear relationships between values of absorption and mass concentration of crude oil at 326 and 415 nm wavelength were good ($R_{326\text{ nm}}^2 = 0.9982$, $R_{415\text{ nm}}^2 = 0.9993$), with linearity ranges of 0.276~2.211 g/L (326 nm wavelength) and 0.276~2.763 g/L (415 nm wavelength). The detection limits were 0.128 and 0.093 g/L, and quantification were 0.387 and 0.281 g/L, respectively. The optimum Soxhlet extraction process and contents determination of crude fat in tobacco were established by response surface methodology and UV spectrophotometry. The method was simple, time-saving, and had good repeatability and precision, which would be suitable for analysis crude fat of batch tobacco sample.

Key words: flue-cured tobacco; crude fat; Soxhlet extraction; UV-Vis absorption spectrum

中图分类号: TS251.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2020)24-0219-07

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020030083

引文格式: 杨正锋, 陈薪宇, 崔一丹, 等. 烤烟粗脂肪提取工艺优化及光谱测定方法研究[J]. 食品工业科技, 2020, 41(24): 219-225.

YANG Zheng-feng, CHEN Xin-yu, CUI Yi-dan, et al. Optimization of Extraction Technology and

收稿日期: 2020-03-09

作者简介: 杨正锋(1997-), 男, 本科, 研究方向: 烟草化学分析, E-mail: 675684543@qq.com。

* 通信作者: 保志娟(1978-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品和烟草分析, E-mail: baozhijuan@aliyun.com。

赵正雄(1971-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 绿色优质烟叶研究, E-mail: zhaozx0801@163.com。

基金项目: 云南省重点研发计划项目(2018530000241017); 云南农业大学大学生科技创新创业基金资助(2019ZKY195)。

Spectrophotometric Determination Method of Crude Fat in Flue-cured Tobacco[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(24): 219-225. (in Chinese with English abstract) <http://www.spgykj.com>

脂质类化合物是生物体中的一类化合物,包括油脂和类脂。脂质类化合物通常采用石油醚进行提取,因为提取出的物质除了油脂、类脂、甾醇和萜类等高分子的脂质类,还包括一些低分子的挥发油、色素、醛等成分,因此也常称为粗脂肪或石油醚提取物^[1]。烟草的粗脂肪与烟草的香味和协调性密切相关,是衡量烟草香味的重要指标之一^[2-4]。烤烟品种、部位、颜色、栽培技术及生态条件都会影响烟草粗脂肪的含量^[5-9],因此研究烟草中粗脂肪的含量具有一定的意义。目前食品中粗脂肪测定多采用索氏提取法^[10-12],烟草粗脂肪的行业标准方法 YC/T 176-2003 也是基于此原理^[13]。该方法中所使用的器皿和样品皆需要干燥,整个实验时间要 16 h 以上才能完成^[14],不适用于批量烟草样品的快速分析测定。为了缩短实验时间,一些研究者对该方法进行了改进。邵金良等将样品提前浸泡过夜,并将称量介质由索氏提取器的接受瓶改为滤纸筒,该方法显著减少了设备、试剂用量和能耗,但整个实验除去浸泡时间,仍然需要 12 h^[15]。也有研究者用超声波辅助索氏提取粗脂肪^[16-17],或是将索氏提取改为直接萃取,手动提取改为自动萃取仪提取^[18-19],极大的减少了实验时间。虽然粗脂肪的提取已经有了一些改进,但是经典的索氏提取法仍然需要进一步优化。

一般条件下,粗脂肪的测定是将索氏提取的残留物烘干冷却称重。这个步骤虽然操作简便,但也要耗时 3~4 h。近年来,有研究者采用近红外光谱法进行粗脂肪的快速测定^[20-22],但该方法存在建模困难的问题,且对小规模样品分析有一定的局限性^[18]。紫外可见吸收光谱法具有操作简单、快速和成本低的优点,已广泛应用于各种成分的分析 and 油脂的鉴定^[23-25]。烟叶的粗脂肪中包含甾醇、萜类和色素等化合物,故粗脂肪的石油醚溶液会吸收特定波长的光,可以考虑利用其产生的紫外-可见吸收光谱进行测定以提高效率。

响应面分析是一种解决多变量问题的统计方法,已经在各种提取工艺优化中得到了应用^[26-29]。基于响应面分析和粗脂肪的吸收光谱,本研究采用索氏法提取粗脂肪,以称样量、回流时间、烘干时间为考察因素,研究了不同提取参数对粗脂肪含量的影响,通过 Box-Behnken 设计优化提取条件;并利用烤烟粗脂肪溶液在不同波长处的吸光度值与浓度成正比的关系,建立一种快速测量粗脂肪含量的光谱方法,以期对烟草粗脂肪的分析研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

烘烤烟叶 来自云南玉溪的 4 种云烟 87 和 2 种 K326(初次烘烤),剔除主脉剪碎于 40 ℃烘箱内干燥 2~3 h,用粉碎机粉碎,过 40 目筛,密封避光保存;石油醚(沸程 30~60 ℃) 国产分析纯。

UV-6100A 紫外可见分光光度计 上海元析仪器

有限公司;BS210S 电子天平(感量 0.1 mg) Sartorius 公司;WGLL-230BE 恒温干燥箱(室温~300 ℃) 天津市泰斯特仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 烘烤烟叶粗脂肪的提取及含量计算 准确称取一定质量的烟叶粉末样品,分成两份并用脱脂滤纸包好,放入 105 ℃恒温干燥箱中干燥至恒重后,将样品放入索氏提取器中,加入 200 mL 石油醚,在 (75 ± 1) ℃水浴加热回流提取一定时间后,回收石油醚,并将接收瓶外部洗净于 105 ℃烘箱内烘干 1~3.5 h 后,放置于干燥器中冷却至恒重进行称重。粗脂肪的含量计算公式:

$$\text{粗脂肪含量}(\%) = \frac{(m_2 - m_1)}{m_{\text{样}} \times (1 - w)} \times 100$$

式中: m_2 表示接受瓶加粗脂肪的质量,g; m_1 表示接受瓶质量,g; $m_{\text{样}}$ 表示烟样取样量,g; w 表示样品含水率,%。

1.2.2 烟叶粗脂肪提取条件的优化

1.2.2.1 单因素实验 在回流 6 h,105 ℃烘干 2 h 的条件下,考察称样量(1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5 g)对烟叶粗脂肪含量的影响;在称量样为 2.0 g,在 105 ℃烘干 2 h 的条件下,考察回流时间(4、5、6、7、8、9 h)对烟叶粗脂肪含量的影响;在称量样为 2.0 g,回流 6 h 的条件下,考察烘干时间(1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5 h)对烟叶粗脂肪含量的影响。

1.2.2.2 响应面分析法优化工艺 在单因素实验的基础上,以上述 3 个因素为 Box-Behnken 试验设计自变量,以粗脂肪含量为试验设计的响应值,优化烟叶粗脂肪提取工艺条件。响应面设计实验因素及水平见表 1。

表 1 Box-Behnken 试验设计的因素和水平

Table 1 Variables and levels in Box-Behnken experimental design

水平	因素		
	A 称样量 (g)	B 回流时间 (h)	C 烘干时间 (h)
-1	2.5	6	1.5
0	3.0	7	2.0
1	3.5	8	2.5

1.2.3 烟叶粗脂肪的光谱测定 在最优条件下提取烟叶粗脂肪,测定粗脂肪的质量(同时采用行业标准方法^[13]进行质量确认)后,加入石油醚溶解并定容于 50 mL 干燥的容量瓶中,作为测定的母液,取部分母液用石油醚稀释为不同的溶液;以石油醚作为空白,经紫外可见分光光度计扫描后得到各梯度溶液和母液的紫外吸收光谱。选择最佳的工作波长,测定烤烟粗脂肪梯度溶液的吸光度,绘制标准曲线。同时,取 1 份云烟 87 和 2 份 K326 样品按照优化的条件进行测定,考察光谱测定方法的适用性。

1.3 数据处理

每组实验重复 3 次,采用 Microsoft Excel 2013、Design-Expert.V8.0.6 和 Origin 6.1 软件进行数据处理和分析。

2 结果与分析

2.1 烟叶粗脂肪提取单因素实验结果

2.1.1 称样量对粗脂肪提取的影响 固定其它条件,改变一个提取因素进行单因素实验,每个条件平行 3 次,考察称样量对粗脂肪含量的影响。图 1 所示,随着称样量的增加,粗脂肪含量呈先升高后降低的趋势,在 3.0 g 处达到最大值。但是样品量大于 3.5 g 后,粗脂肪提取不完全,故测定的脂肪含量降低。因此实验选定 2.5、3.0、3.5 g 烟样重量为 Box-Behnken 实验的三个水平。

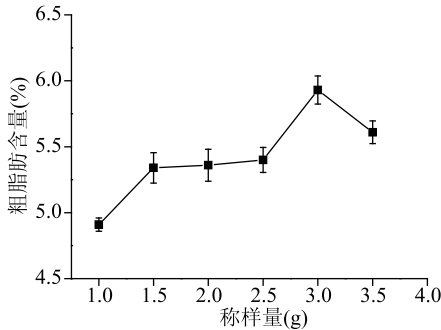


图 1 称样量对粗脂肪提取的影响

Fig.1 Effect of sample weight on the contents of crude fat

2.1.2 回流时间对粗脂肪提取的影响 图 2 是回流时间对粗脂肪提取的影响。从图 2 中可以看出,回流时间为 4~7 h 时,粗脂肪的含量随时间增加而增加,超过 7 h 后粗脂肪的含量变化较小,这表明 7 h 以后粗脂肪不再溶出。考虑到回流时间过长,会抽提出更多的杂质,因此实验以 7 h 作为 Box-Behnken 实验的零水平。

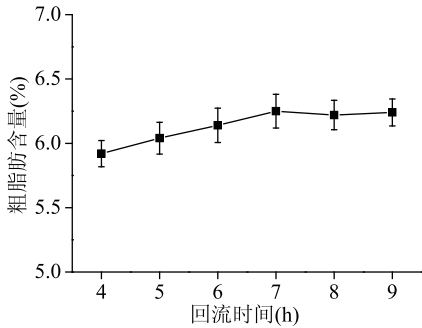


图 2 回流时间对粗脂肪提取的影响

Fig.2 Effect of reflux time on the contents of crude fat

2.1.3 烘干时间对粗脂肪提取的影响 固定其它提取条件,考察了不同烘干时间对粗脂肪含量的影响。从图 3 可以看出,烘干时间在 1.0~3.0 h,随着烘干时间的增加粗脂肪含量不断下降,当烘干时间大于 3 h 后,粗脂肪的含量变化较小。考虑到烘干时间不够,会导致提取物未完全干燥,而烘干时间过久会造成提取物挥发损失,因此实验参考前人研究^[19]和行业标准^[13],以 2 h 为干燥时间的 0 水平。

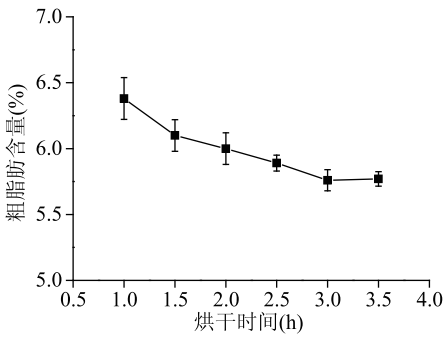


图 3 烘干时间对粗脂肪提取的影响

Fig.3 Effect of drying time on the contents of crude fat

2.2 烟叶粗脂肪提取工艺优化

2.2.1 Box-Behnken 试验设计和优化结果 根据单因素实验,采用 Box-Behnken 试验设计,并利用 Design-Expert.V8.0.6 软件进行数据拟合,优化粗脂肪的提取工艺,实验结果如表 2 所示。

表 2 Box-Behnken 设计粗脂肪试验结果
Table 2 Results of crude fat extraction with Box-Behnken experimental design

实验号	A	B	C	粗脂肪含量 (%)
1	-1	1	0	6.16
2	1	-1	0	6.15
3	0	-1	-1	6.33
4	0	-1	1	6.04
5	0	0	0	6.04
6	0	0	0	6.07
7	-1	1	0	5.98
8	1	1	0	5.88
9	0	1	-1	5.90
10	0	1	1	6.15
11	0	0	0	6.09
12	0	0	0	6.09
13	-1	0	-1	6.04
14	1	0	-1	6.04
15	-1	0	1	6.03
16	1	0	1	5.95
17	0	0	0	6.06

2.2.2 回归模型的建立与显著性检验 利用软件对表 2 中的数据进行多元回归拟合,获得粗脂肪含量 (Y) 对自变量一称样量 (A)、回流时间 (B)、烘干时间 (C) 的二次多元回归模型方程: $Y = 6.07 - 0.024A - 0.096B - 0.017C - 0.023AB - 0.020AC + 0.14BC - 0.059A^2 + 0.031B^2 + (3.75 \times 10^{-3})C^2$ 。

回归方程的方差分析数据见表 3,回归模型差异极显著 ($P < 0.0001$),失拟检验值不显著 ($P = 0.2590 > 0.05$),说明模型可以拟合实验结果,拟合度良好。决定系数 (R^2) 0.9751 和调整决定系数 (R^2_{Adj}) 0.9432,表明预测值和实测值之间具有高度的相关性;CV 值为 0.42%,说明模型方程具有可重复性。回归方程系数的显著性检验结果显示:模型中一次

表3 回归模型的方差分析

Table 3 Analysis results of regression variance of the method

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	0.180	9	0.020	30.50	<0.0001	***
A	4.513E-003	1	4.513E-003	7.06	0.0326	*
B	0.074	1	0.074	115.93	<0.0001	***
C	2.450E-003	1	2.450E-003	3.83	0.0911	
AB	2.025E-003	1	2.025E-003	3.17	0.1183	
AC	1.600E-003	1	1.600E-003	2.50	0.1577	
BC	0.073	1	0.073	114.03	<0.0001	***
A ²	0.015	1	0.015	22.73	0.0020	**
B ²	4.112E-003	1	4.112E-003	6.43	0.0389	*
C ²	5.921E-005	1	5.921E-005	0.093	0.7697	
残差	4.475E-003	7	6.393E-004			
失拟	2.675E-003	3	8.917E-004	1.98	0.2590	
纯误差	1.800E-003	4	4.500E-004			
总变异	0.180	16				
R ²	0.9751		R ² _{Adj}	0.9432		
CV%	0.420					

注：* 差异显著($P < 0.05$)；** 差异较显著($P < 0.01$)；*** 差异极显著($P < 0.001$)。

项(B)和交互项(BC)对响应值的影响极显著($P < 0.001$)；二次项(A^2)对响应值的影响较显著($P < 0.01$)；一次项(A)和二次项(B^2)对响应值的影响显著($P < 0.05$)。三个提取因素对粗脂肪含量影响为：回流时间 > 称样量 > 烘干时间；且回流时间和烘干时间的交互作用对响应值的影响极显著($P < 0.01$)。

2.2.3 响应面图分析 响应面图是回归方程的形象描述,能直接反应各因素与响应值的关系及各个因素间的交互作用。曲面坡度陡峭、等高线呈椭圆形表示两因素交互影响大,而坡度平缓、等高线呈圆形则与之相反^[30]。图4直观反映了称样量、回流时间、烘干时间两两交互作用对粗脂肪含量的影响。从图4a中可以看出,回流时间(B)和称样量(A)的交互作用显著性较弱,回流时间在高水平时,粗脂肪含量的响应面抛物曲线的最高点处于较低水平,随着回流时间的下降,粗脂肪含量的响应抛物曲线最高点向高水平方向移动。称样量比较低时,粗脂肪含量的响应面抛物曲线的最高点处于较高水平。由图4b可知,粗脂肪含量的响应面坡度比较平缓,表明称样量和烘干时间的交互作用较弱,且称样量的影响因素大于烘干时间。由图4c可知,粗脂肪含量的响应面坡度比较陡峭,回流时间和烘干时间的交互作用显著,且响应面的响应值在回流时间和烘干时间较短时较高,这与回归分析结果相一致。

2.2.4 模型优化与验证试验 由 Design - Expert. V8.0.6 软件回归模型分析,得出的粗脂肪的最佳提取条件是:称样量 3.08 g,回流时间 6 h,烘干时间 1.5 h,此时粗脂肪含量的预测值为 6.355%。在此条件下做了五次验证试验,得粗脂肪含量品平均值为 6.27%,与预测值的相对误差为 1.34% < 5%,说明该模型较好地预测实际提取量。

分别取 3 种云烟 87 烟样,用标准 YC/T 176-2003 的索氏提取法和本方法进行测定,结果如表 4 所示。

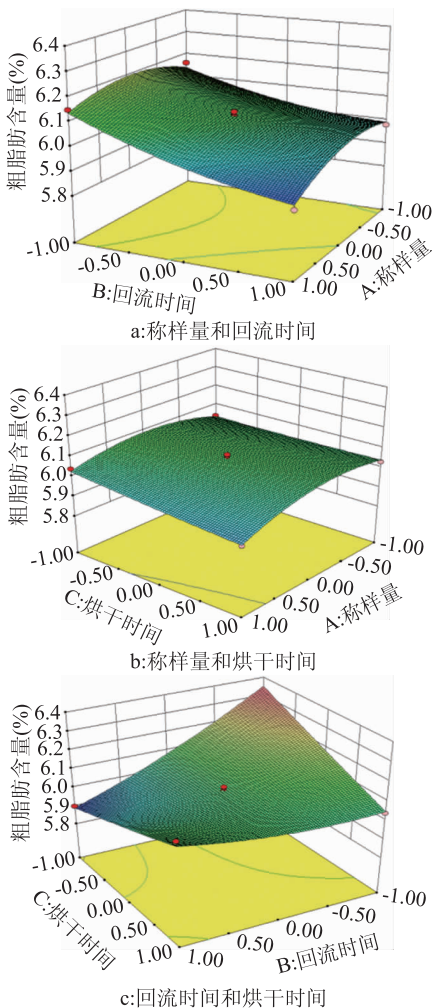


图4 两因素交互作用对粗脂肪含量影响的响应面图
Fig.4 Response surface map of the interaction of two factors on crude fat content of tobacco leaves

表4 烟叶粗脂肪传统方法与本法测定结果比较

Table 4 Determinative results of crude fat in tobacco comparison between traditional method and this method

样次	含量(%)					
	样品1		样品2		样品3	
	标准法	本法	标准法	本法	标准法	本法
1	5.86	6.19	5.09	5.10	3.97	4.00
2	5.89	6.14	4.85	5.00	4.15	4.16
3	6.22	6.00	4.95	4.90	3.99	4.08
4	6.32	6.20	5.16	5.17	4.15	4.19
5	6.38	6.07	5.02	5.07	4.29	4.26
平均值	6.13	6.12	5.01	5.05	4.11	4.14
RSD(%)	3.97	1.38	2.40	2.04	3.21	2.43
F 检验	F = 0.91, F _{0.05} = 5.32		F = 0.23, F _{0.05} = 5.32		F = 0.14, F _{0.05} = 5.32	

从表中可以看出来,标准法和本法的测定结果之间没有显著性差异($F < F_{0.05}$),且本法的标准偏差比标准法小,故本方法具有较好的可行性和实用价值。

2.3 烟叶粗脂肪光谱测定方法

2.3.1 烟叶粗脂肪的紫外可见吸收光谱 将浓度为2.763 g/L的粗脂肪母液用石油醚稀释为0.276、0.55、1.105、1.658、2.211 g/L的溶液,分别扫描6个溶液在200~600 nm 波长范围内的吸收光谱。在图5中,在280~500 nm 的波长范围,各溶液的光谱显示有5个明显的吸收峰,最大吸收波长分别为298.5、326、415、435、475 nm。其中298.5 nm 的吸收峰随着溶液浓度的增加蓝移至290 nm。

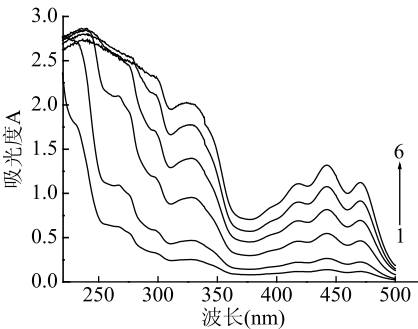


图5 烟叶粗脂肪溶液的紫外可见光谱

Fig.5 UV-Vis spectra of crude fat solution in tobacco leave residues

注:1~6表示0.276、0.553、1.105、1.658、2.211、2.763 g/L。

2.3.2 工作波长的选择及标准曲线 将浓度为2.763 g/L的粗脂肪溶液配制成系列浓度的工作液,

分别测定290、298.5、326、415、435、475 nm 处的吸光度,以粗脂肪浓度为横坐标,溶液吸光度为纵坐标进行回归分析,得到的回归方程如表5所示。在一定的浓度范围内,各波长下溶液的吸光度值与浓度线性关系良好,相关系数 R^2 值在0.9938~0.9996。按公式 $LOD = 3.3 \sigma / S$, $LOQ = 10 \sigma / S$ 求出各波长下的检出限和定量限,其中 σ 指回归工作曲线的残余标准偏差,S 指回归方程的斜率。计算各波长的检出限为0.074~0.238 g/L,定量限为0.223~0.721 g/L。随着波长的增加,拟合曲线的相关系数增加,样品的检出限和定量限减小。考虑到样品浓度较低时,长波长下吸光度值测定的准确性,因此工作波长在326~475 nm较好。

2.3.3 方法的重复性 重复性试验取云烟87样品,按1.2.3 下进行处理,平行测定6次,求得各波长下吸光度的RSD 分别为1.56%、1.77%、2.02%、2.73%、2.44%和2.94%,皆<3%(表6)。结果表明,本方法的重复性良好。

2.3.4 光谱方法的准确度试验 选取了3个烟叶样品,参照YC/T 176-2003 方法提取粗脂肪,测定准确质量后,加入石油醚定容一定体积,用上述光谱试验方法测定粗脂肪含量,每份样品平行测定3次,结果见表7。从表中可以看出,不同波长测定样品的相对误差不同。其中,用326和415 nm 波长处吸光度计算的3种样品粗脂肪溶液浓度与实际浓度的相对误差在-8.4%~7.7%之间,并且云烟87样品的吻合度较好。而K326样品因为含有的成分不同,用其它波长测量的相对误差较大。因此,有多品种样品同

表5 烤烟粗脂肪的标准曲线及检出限

Table 5 Calibration curves, correlation coefficients, LOD, and LOQ of tobacco crude fat

波长(nm)	回归方程	相关系数(R^2)	线性范围(g/L)	LOD(g/L)	LOQ(g/L)
290	$y = 0.9765x + 0.11528$	0.9938	0.276~2.211	0.238	0.721
298.5	$y = 0.9412x + 0.08235$	0.9966	0.276~2.211	0.177	0.535
326	$y = 0.7978x + 0.04177$	0.9982	0.276~2.211	0.128	0.387
415	$y = 0.3967x + 0.0094$	0.9993	0.276~2.763	0.093	0.281
435	$y = 0.4420x + 0.0091$	0.9994	0.276~2.763	0.089	0.269
475	$y = 0.3843x + 0.0064$	0.9996	0.276~2.763	0.074	0.223

表6 粗脂肪溶液吸光度的重复性(n=6)
Table 6 Absorbency repeatability of cut fat solution

波长(nm)	吸光度						平均值	RSD (%)
	重复1	重复2	重复3	重复4	重复5	重复6		
290	1.2270	1.2815	1.271	1.2722	1.2417	1.2449	1.2563	1.56
298.5	1.1503	1.2131	1.1989	1.2055	1.1762	1.1817	1.1876	1.77
326	0.9103	0.9675	0.9507	0.9664	0.9417	0.9456	0.9470	2.02
415	0.4275	0.463	0.4496	0.4654	0.451	0.4499	0.4511	2.73
435	0.4788	0.5145	0.5003	0.5161	0.4998	0.5019	0.5019	2.44
475	0.4042	0.441	0.429	0.4429	0.4287	0.4303	0.4294	2.94

表7 不同样品粗脂肪的测定结果
Table 7 Determination results of crude fat in different samples

波长(nm)	样品1(云烟87)			样品2(K326)			样品3(K326)		
	实际浓度(g/L)	测定浓度(g/L)	相对误差(%)	实际浓度(g/L)	测定浓度(g/L)	相对误差(%)	实际浓度(g/L)	测定浓度(g/L)	相对误差(%)
290	0.8304	0.8613	3.7	0.8272	0.9207	11.3	0.4216	0.4761	10.3
298.5	0.8304	0.8612	3.7	0.8272	0.9124	10.3	0.4216	0.4510	7.0
326	0.8304	0.8636	4.0	0.8272	0.8909	7.7	0.4216	0.4203	-0.3
415	0.8304	0.8609	3.7	0.8272	0.8792	6.3	0.4216	0.3863	-8.4
435	0.8304	0.8632	4.0	0.8272	0.8652	4.6	0.4216	0.3550	-15.8
475	0.8304	0.8594	3.5	0.8272	0.8692	5.1	0.4216	0.3765	-10.7

时测定时,采用326和415 nm波长处的吸光度定量较好;但若只有相同品种烟样时,建议采用较长的波长,如475 nm等进行测定,方法的检测限较低。

3 结论

利用响应面分析法对烤烟中粗脂肪的提取工艺进行了优化,最佳条件为:称样量3.08 g,回流时间6 h,烘干时间1.5 h,此时粗脂肪含量为6.27%。与传统索氏提取方法相比,优化的方法缩短了测定时间,且方法的重复性和精密度较好,具有较好的可行性和实用价值。

利用烤烟粗脂肪溶液在290、298.5、326、415、435、475 nm波长处的吸光度值与浓度正比的关系,建立了一种快速测量粗脂肪含量的光谱方法。烟叶粗脂肪溶液的浓度在0.276~2.211或0.276~2.763 g/L范围内与吸光度有较好的线性关系。在多品种烟叶样品测试中,选用326和415 nm波长来进行测定较佳。本方法与索氏法相比,粗脂肪不需要干燥,因此比较简便和省时,且适合大批量烟叶粗脂肪的分析测定。另外,进一步研究后,本方法也有望发展成为烟叶粗脂肪的鉴定方法。

参考文献

- [1] 李先红,廖恒,曹本福,等.磷、硫、硼肥用量对烟叶石油醚提取物含量及品质的影响[J].天津农业科学,2019,25(1):9-13.
- [2] 祁林,陈伟,王政,等.浓香型烟叶不同分切区位石油醚提取物的含量[J].烟草科技,2014(1):53-55,76.
- [3] 王振国.不同生态区K326主要致香物质的比较研究[J].轻工科技,2019(8):134-136.
- [4] 王可.不同土壤水分含量对成熟期烤烟主要矿质元素和石油醚提取物的影响[J].安徽农业科学,2018,46(11):

29-31.

- [5] 孟寒冬,姬兴杰.气候变化对河南烟区烤烟石油醚提取物的影响[J].中国农业科技导报,2019,21(12):140-150.
- [6] 苟剑渝,孟源,刘京,等.腐植酸对烟叶腺毛密度、石油醚提取物及品质的影响[J].湖南农业科学,2018(5):40-44.
- [7] 李艳平,刘国顺,丁松爽,等.混合有机肥用量对烤烟石油醚提取物和中性致香物质的影响[J].江西农业学报,2016,28(3):11-15.
- [8] 余洁,陆引罡,周建云,等.硫硼营养对烟叶石油醚提取物合成的影响[J].中国土壤与肥料,2012(3):81-84.
- [9] 陈海生,刘国顺.豫中烤烟种植区烟叶石油醚提取物含量与土壤养分的空间变异性分析[J].核农学报,2013,27(1):108-117.
- [10] Gu L B, Zhang G J, Du L, et al. Comparative study on the extraction of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge (yellow horn) seed oil using subcritical n-butane, supercritical CO₂, and the Soxhlet method[J]. LWT, 2019, 111: 548-554.
- [11] Mohammadpour H, Sadrameli S M, Eslami F, et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction of *Moringa peregrina* oil with response surface methodology and comparison with Soxhlet method[J]. Industrial Crops and Products, 2019, 131: 106-116.
- [12] 楚屹然,郭静,卢美娟.索氏抽提法测美国大豆粗脂肪含量的影响因素分析[J].现代食品,2019(24):170-173.
- [13] 全国烟草标准化委员会.YC/T 176-2003 烟草及烟草制品 石油醚提取物的测定[S].北京:中国标准出版社,2003.
- [14] 刘刚,陈新亚,丁超,等.快速测定烟草及烟草制品中石油醚提取物总量[J].农产品加工·学刊,2010(9):98-100.
- [15] 邵金良,黎其万,刘宏程,等.烟草中石油醚提取物测定方法改进[J].中国烟草科学,2010,31(1):41-43.
- [16] 吴鸣建,杨浩宇,李国富,等.超声辅助索氏提取法提取

- [16] Luo A W, Bai J Q, Li R, et al. Effects of ozone treatment on the quality of kiwifruit during postharvest storage affected by *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum* [J]. Journal of Phytopathology, 2019, 167(7/8): 470–478.
 - [17] Wong M, Stanton D W. Nonenzymic browning in kiwifruit juice concentrate systems during storage [J]. Journal of Food Science, 54(3): 669–673.
 - [18] 王卫东, 孙月娥. 果胶酶及其在果蔬汁加工中的应用[J]. 食品研究与开发, 2006, 27(11): 222–226.
 - [19] Chou T D, Kokini J L. Rheological properties and conformation of tomato paste pectins, citrus and apple pectins [J]. Journal of Food Science, 1987, 52(6): 1658–1664.
 - [20] 曹霞敏, 毕秀芳, 李仁杰, 等. 超高压和热杀菌对草莓浊汁及清汁品质的影响[J]. 高压物理学报, 2014, 28(5): 631–640.
 - [21] 王菲, 梁云峰, 刘长江. 软枣猕猴桃总黄酮体外抗氧化活性[J]. 食品科学, 2011(17): 175–178.
 - [22] 杜国荣. 猕猴桃、柿和苹果果实的抗氧化能力及其抗氧化活性成分的分析[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2009.
 - [23] Liu Q, Zhao N, Zhou D, et al. Discrimination and growth tracking of fungi contamination in peaches using electronic nose [J]. Food Chemistry, 2018, 262: 226–234.
 - [24] Du Dongdong, Wang Jun, Wang Bo, et al. Ripeness prediction of postharvest kiwifruit using a MOS E-Nose combined with chemometrics [J]. Sensors, 2019, 19(2): 419.
 - [25] 刘玉革, 徐金龙, 赵维峰, 等. 菠萝果实香气成分分析及电子鼻评价[J]. 广东农业科学, 2012(20): 103–106.
 - [26] Qiu S S, Gao L P, Wang J. Classification and regression of ELM, LVQ and SVM for e-nose data of strawberry juice [J]. Journal of Food Engineering, 2015, 144: 77–85.
 - [27] 王卓, 潘磊庆, 吴永进, 等. 基于电子鼻评价不同贮藏期蜜桔鲜榨汁品质的研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(9): 327–330, 339.
 - [28] 张婷, 李琛, 罗安伟, 等. 8种猕猴桃不同组织部位的体外抗氧化活性[J]. 食品科学, 2016, 37(19): 88–93.
 - [29] 朱春华, 龚琪, 李进学, 等. 猕猴桃果实加工综合利用研究进展[J]. 保鲜与加工, 2013, 13(1): 57–62.
 - [30] 张龙飞, 陈梦颖, 高雅, 等. 红心猕猴桃果肉饮料的生产工艺研究[J]. 美食研究, 2019, 36(2): 67–71.
 - [31] 左丽丽, 安婷, 戴美娇, 等. 基于模糊数学评价法优化软枣猕猴桃果汁工艺[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(2): 127–131.
 - [32] 张春岭, 刘慧, 刘杰超, 等. 基于主成分分析与聚类分析的中、早熟桃品种制汁品质评价[J]. 食品科学, 2019, 40(17): 141–149.
 - [33] 王靓钰, 夏其乐, 陈剑兵, 等. 基于主成分分析的不同品种柑橘制汁适应性研究[J]. 果树学报, 2019, 36(4): 504–513.
 - [34] 邓健康, 毕金峰, 刘璇, 等. 苹果汁品质评价方法研究进展[J]. 中国果菜, 2014, 34(2): 56–61.