

罗汉果提取物在丙纶滤棒中应用的研究

刘绍华¹, 黄泰松¹, 邹克兴¹, 李桂湘¹, 潘艳坤², 李日南¹,
胡志忠¹, 胡中军¹, 莫官林¹, 韦 1, 卢健萍¹

1 广西中烟工业有限责任公司技术中心, 广西柳州市学院路9号 545005;

2 广西测试分析中心, 广西南宁市星湖南路32号 530022

摘要:以干罗汉果为主要原料研制出一种新型丙纶滤棒添加剂, 添加到丙纶滤棒中, 具有显著降低丙纶滤咀卷烟在口腔和喉部出现的灼热感和刺辣感, 降低杂气, 提升烟香等功效。以 Hypersil ODS C₁₈柱 (250mm × 2.1mm 5 μ m) 采用高效液相色谱-电喷雾-质谱 (HPLC-ESI-MS) 法分别对新型丙纶滤咀和新型丙纶滤咀卷烟主流烟气粒相物中的有效成分罗汉果苷 V 进行定量分析。结果表明: 新型丙纶滤棒添加剂中有效成分罗汉果苷 V 在滤咀中的含量为 0.786 μ g/支 (RSD 3.32%), 在卷烟的吸食过程中向主流烟气中转移了 0.298 μ g/支 (RSD 2.81%), 转移率是: 37.95% \pm 4.71%。

关键词: 丙纶滤棒; 罗汉果; 罗汉果苷 V; 高效液相色谱-电喷雾-质谱; 烟气粒相物

doi: 10.3969/j.issn.1004-5708.2009.03.003

中图分类号: TS411.2

文献标识码: A

文章编号: 1004-5708(2009)03-0017-05

Study on the application of *Siraitia grosvenori* extract in cellulose polypropylene cigarette filter

LIU Shao-hua¹, HUANG Tai-song¹, ZOU Ke-xing¹, LI Gui-xian¹, PAN Yan-kun²,
LI Ri-nan¹, HU Zhi-zhong¹, HU Zhong-jun¹, MO Guan-lin¹, WEI Yi¹, LU Jiang-ping¹

1 Technical Center of China Tobacco Guangxi Industrial Co. Ltd., Liuzhou 545005, China;

2 Guangxi Center for Analysis and Test Research, Nanning 530022, China

Abstract: Extract of dry fruits of *Siraitia grosvenori* were used as raw material to develop new cigarette additive applied in cellulose polypropylene cigarette filters. Results showed that the additive played an important role in decreasing hot feeling and pungency at throat and irritation in mouth, providing tobacco smoke with rich and smooth sensation by covering up factors such as bad odor. Mogroside-V of the cigarette additives in cellulose polypropylene filter and particulate matter in cigarette smoke were qualitatively analyzed by HPLC-ESI-MS. The content of mogroside-V in cellulose polypropylene filter and particulate matter in cigarette smoke were determined by Hypersil ODS C₁₈ column (250mm × 2.1mm 5 μ m). The content of mogroside-V in the cellulose polypropylene filter was 0.79 μ g/filter (RSD 3.20%), and the particulate matter in cigarette smoke was 0.30 μ g/filter (RSD 2.88%). When cigarette was burned, active compound mogroside-V added in the cellulose polypropylene filter was converted to particulate matter in smoke with a converted ratio of 38.08% \pm 1.95%.

Key words: cellulose polypropylene cigarette filter; *siraitia grosvenori*; mogroside-V; HPLC-ESI-MS; particulate matter in cigarette smoke

作者简介: 刘绍华, 男, 博士后, 广西中烟工业公司技术中心高级工程师, 主要从事天然产物在卷烟中应用的研究。Tel: 0772-2088431-8431,

E-mail: lshaohua18@yahoo.com.cn

基金项目: 广西壮族自治区 2007 年度科技攻关重点项目“烟用中草药添加剂的开发”(桂科攻 0718002-2-19)。荣获 2007 年度广西中烟工业公司科技创新项目一等奖

收稿日期: 2008-04-07

应用丙纶滤咀替代醋纤滤咀的卷烟抽吸时会导致口腔和喉部出现明显的灼热感、刺辣感,以及杂气增加等不良现象,这一直是中国烟草企业的一个技术难题。针对这一问题,本研究筛选出一些天然植物添加剂原料如罗汉果等,经科学配伍,研制出一种新型丙纶滤棒添加剂,具有显著降低对口腔和喉部造成的灼热感和刺辣感,降低杂气,提升烟香等功效^[1-2]。

罗汉果 [*Siraitia grosvenori* (Swingle) C. Jeffrey exluet] 是广西桂北地区特产,性凉味甘,无毒,具有润肺、滑肠、通便、保肝等功效,主要用于祛痰剂,在治疗肺炎、百日咳、慢性气管炎、咽喉炎、胃肠疾病、便秘等疗效显著,还有增强免疫的作用^[3]。罗汉果苷(mogrosides)是罗汉果的甜味成分,主要包括罗汉果苷 III~VI (mogroside-III~VI)、11-氧代-罗汉果苷 V (11-oxo-mogrosides) 和赛门苷 I (siamenoside-I)。其中,罗汉果苷 V 是主要活性成分,其甜度约为蔗糖的 350 倍^[4]。98% 罗汉果苷有止咳、痰等作用^[5]。

本研究通过高效液相色谱-电喷雾质谱(HPLC-ESI-MS)检测了新型丙纶滤咀及烟气粒相物中罗汉果苷 V 的含量。对新型丙纶滤咀具有的功效提供了支持,为其应用提供了依据。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂与材料

1.1.1 仪器、试剂

RM200 吸烟机(德国 BORGWALDT 公司);剑桥滤片(92Φ);LCQDECA 高效液相色谱-电喷雾质谱联用仪(美国 Thermo 公司,配二极管阵列紫外检测器,ESI 离子源),乙腈、甲醇(色谱级 Fisher Chem. Alert Co.), AG204 型分析天平(感量 0.0001 g,瑞士 METTLER

TOLEDO 公司),CMB120 型卷烟机(德国 BURGHART 公司),SODIM 综合测试台(法国 SODIM 公司)。

1.2 材料

添加剂的主要原材料:罗汉果(广西柳州市医药公司),罗汉果苷 V(中国药品生物制品检定所);烟丝(广西中烟工业有限责任公司),丙纶丝束(广西中烟工业有限责任公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 添加剂的制备

将 1000 g 粉碎的罗汉果原料,用 95% 的食用乙醇 3000g 在 10000 mL 园底烧瓶中回流提取 2 h,过滤,滤渣用同样的方法再提取 2 次,合并提取液。滤液在 50℃ 下,减压(真空度 0.09 MPa)浓缩至膏状,制得新型丙纶滤棒添加剂,得率为 57.7%^[6]。

1.3.2 新型丙纶滤棒的制备

取新型丙纶滤棒添加剂 500g,溶于 8333.3 Kg 的丙纶滤棒粘结剂中,制成含新型丙纶滤棒添加剂 6×10^{-3} (添加剂/粘结剂)的新型丙纶滤棒胶,在 YL33-100 型丙纶滤棒成型机(浙江省临海烟草机械厂)上制成新型丙纶滤棒,在 70℃ 的烘房内烘烤 6 h,制成新型丙纶滤棒,其各项物理指标见表 1。

1.3.3 新型丙纶滤棒的物理指标分析

每次取新型丙纶滤棒 20 支,在 SODIM 综合测试台上,进行重量、吸阻、圆周和硬度等物理指标分析,每次分析 5 次,取其均值作为分析结果。

1.3.4 新型丙纶滤咀卷烟的制备

将制成的新型丙纶滤棒用于广西中烟工业有限责任公司生产的甲天下(醇和新)卷烟牌号试验,生产 4000 支卷烟。同时,用不加添加剂的丙纶滤咀做空白对照烟支,用于评吸和分析等试验。卷烟的规格和物理指标见表 2。

表 1 新型丙纶滤棒的物理指标

项目	长度/mm	圆周/mm	吸阻/Pa	硬度/%	圆度/mm	重量/(mg/支)
技术指标	120 ± 0.5	23.95 ± 0.2	4000 ± 600	90 ± 4	≤ 0.35	730 ± 30

表 2 新型丙纶滤咀卷烟及对照样品物理指标

项目	长度/mm	圆周/mm	吸阻/Pa	硬度/%	重量/g
新型丙纶滤咀卷烟物理指标	84 ± 0.5	24.30 ± 0.2	1150 ± 150	70 ± 0.8	0.875 ± 0.2
对照样品物理指标	84 ± 0.5	24.30 ± 0.2	1150 ± 150	70 ± 0.8	0.875 ± 0.2

1.3.5 新型丙纶滤咀卷烟的评吸试验

评吸小组由广西中烟工业有限责任公司技术中心的16位评委组成,根据国标 GB5606.4-2005《卷烟 第4部分:感官技术要求》进行评价。

1.3.6 新型丙纶滤咀及卷烟烟气粒相物中罗汉果苷 V 的检测

1.3.6.1 新型丙纶滤咀中罗汉果苷 V 分析样品的制备

选取40支新型丙纶滤咀卷烟产品的滤咀,剪碎,置于250 mL的锥形瓶中,加入200 mL甲醇,室温下超声30 min,提取液倒进500 mL的锥形瓶中。同样的方法再超声2次,合并提取液,过滤,滤液在50℃的条件下,减压(真空度0.09MPa)浓缩至约1.5 mL,浓缩物用甲醇定容至25.00 mL。同样的方法做空白样品。

1.3.6.2 新型丙纶滤咀卷烟烟气粒相物中罗汉果苷 V 分析样品的制备

选取单支烟重量 $0.95\text{g} \pm 0.02\text{g}$,吸阻 $1260\text{Pa} \pm 10\text{Pa}$ 的卷烟100支于 $22^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 和 $\text{RH } 60\% \pm 2\%$ 的平衡箱内平衡48 h,在 $22^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ 和 $\text{RH } 60\% \pm 5\%$ 的环境中和标准条件下,用RM200吸烟机抽吸卷烟样品,每次抽吸40支,用2张剑桥滤片(92Φ)捕集烟气粒相物,每张滤片捕集20支卷烟。吸毕,将滤片置于250 mL的锥形瓶中,加入200 mL甲醇,室温下超声30 min,提取液倒进500 mL的锥形瓶中。同样的方法再超声2次,合并提取液,过滤,滤液在50℃的条件下,减压(真空度90kPa)浓缩至约1.5 mL,浓缩物用甲醇定容至25.00 mL。同样的方法做空白样品。

1.3.6.3 新型丙纶滤咀和卷烟烟气粒相物中罗汉果苷 V 的 HPLC-ESI-MS 分析

分析条件为:色谱柱:Hypersil ODS C_{18} 柱(250 mm \times 2.1 mm, $5\mu\text{m}$);柱温:30℃;流动相:乙腈:水=23:77(V/V),0.2 mL/min;进样量:5.0 μL ;检测波长:210 nm;喷雾电压:4.5 kV;毛细管电压:-4.5 V;毛细管温度:300℃;鞘气(N_2)流量:1200 mL/min;扫描

范围:150~1500 amu。

由于被测物的含量很低,以选择离子(SIM)模式定性,以罗汉果苷 V 的分子离子峰 $[\text{M-H}]^-$ m/z 1285.58 作定量分析标准进行分析。采用 HPLC-ESI-MS 和 SIM 模式分别测定不同浓度的罗汉果苷 V 标准溶液中罗汉果苷 V 的分子离子峰 $[\text{M-H}]^-$ m/z 1285.58 的峰面积,并对峰面积(Y)和浓度(X)进行线性回归分析,得线性回归方程。通过被测样品的罗汉果苷 V 的分子离子峰 $[\text{M-H}]^-$ m/z 1285.58 离子的峰面积,用回归方程计算被测样品的浓度。

2 结果与讨论

2.1 新型丙纶滤棒的物理指标分析结果

新型丙纶滤棒各项物理指标符合(除试验4重量稍低)甲天下(醇和新)产品要求。结果见表3。

表3 新型丙纶滤棒的物理指标分析结果

试验次数	重量/g	吸阻/Pa	圆周/mm	硬度/%
1	0.701	3800	23.96	91.4
2	0.706	3830	23.97	92.5
3	0.702	3810	23.95	91.5
4	0.698	3780	23.92	90.6
5	0.705	3820	23.97	91.8
平均值	0.7024	3808	23.954	91.56
RSD/%	0.46	0.51	0.09	0.75

2.2 新型丙纶滤棒在提高卷烟吸食品质中的作用

评吸小组一致认为新型丙纶滤棒具有显著降低口腔和喉部的灼热感和刺辣感,增加卷烟香气量、提升香韵、衬托自然烟香,增强烟气生津感、提高舒适度,降低杂气,增加甜度等功效。这主要是添加剂中有效成分罗汉果苷 V 起作用,罗汉果苷 V 是一个多糖的苷类化合物,其甜度是蔗糖的350倍,易吸潮^[4,7-8],在卷烟的应用中具有较好保润效果^[2],在卷烟的燃吸过程中,并能随烟气挥发到口腔,具有增甜降刺、降辣等效果。评吸结果见表4。

表4 新型丙纶滤咀卷烟与空白卷烟样品对比评吸结果

样品	光泽 5	香气 32	协调 6	杂气 12	刺激性 20	余味 25	总分 100
空白卷烟	4.0	24.7	4.5	8.5	15.0	20.0	76.7
添加剂卷烟	4.0	25.5	4.5	9.0	15.4	20.5	78.9

2.3 质谱条件的选择

被测物的含量很低,所以采用选择离子(SIM)模式定性,通过待测物分子量和保留时间进行定性,这种方法比一般单纯采用保留时间进行定性的色谱分析法具有色谱图特征性强、选择性高、灵敏度好,更大可能地避免共流物的干扰。本研究选择罗汉果苷V的分子离子峰 $[M-H]^-$ m/z 1285.58 和罗汉果苷V出现的保留时间(21.61min)作为定量分析标准(图1),针对罗汉果苷V的准分子离子峰 $[M-H]^-$ 进行选择离子(SIM)扫描,以扫描的峰面积为标准与待测物品中罗汉果苷V的准分子离子峰 $[M-H]^-$ 进行选择离子(SIM)扫描的面积进行对比,得出待测样品中罗汉果苷V的含量。

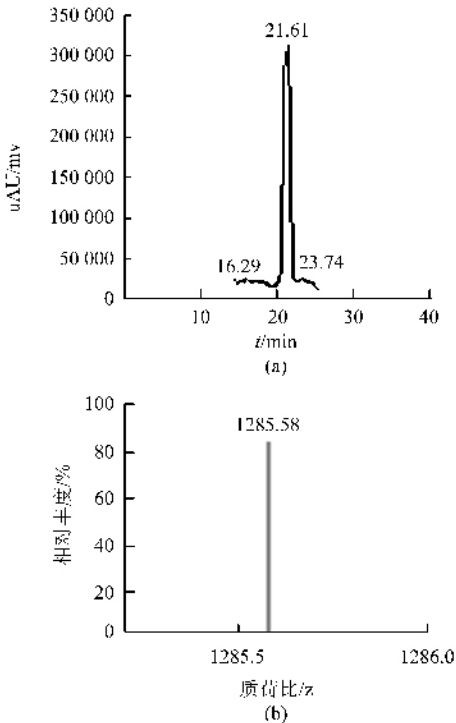


图1 烟气颗粒物甲醇提取液的 ESI-SIM 色谱图(a)及对应的质谱图(b)

2.4 烟气颗粒物中罗汉果苷V的二级质谱解析

为进一步确认烟气颗粒物提取液的 ESI-SIM-MS 一级图谱中 m/z 1285.58 峰为罗汉果苷V的分子离子峰 $[M-H]^-$ (图2(c)),又利用离子阱技术对一级图谱中的 m/z 1285.58 离子进行了二级碰撞诱导(CID),结果(图2(d))显示,二级质谱(ESI/MS²)信息: m/z 1123.52 和 961.52。其中, m/z 1123.52 为 $[M-H]^-$ 失去3或24位所键连的末端 β -D-葡萄糖吡喃糖基]形成

的离子峰,再失去一个 $[\beta$ -D-葡萄糖吡喃糖基]形成 m/z 961.52 离子峰。这些信息,与待测物中被检测物品是罗汉果苷V分子完全吻合^[9]。

因此,采用 HPLC-ESI-MS 对罗汉果苷V分析时用负离子扫描,选择离子(SIM)模式,以罗汉果苷V的分子离子峰 $[M-H]^-$ m/z 1285.58 作为定性和定量分析依据是确信可靠的^[9-10]。

ESI/MS² 所提供的糖链结构信息与罗汉果苷V的结构(图3)相符。因此,本试验 ESI/MS 检出的滤咀或烟气颗粒物甲醇提取液中的成分就是罗汉果苷V。

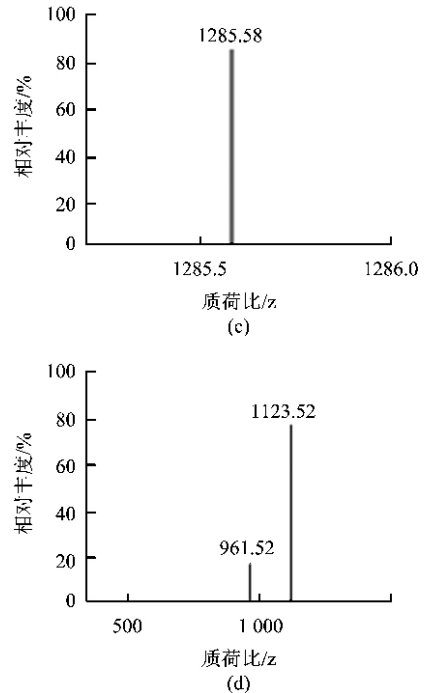


图2 烟气颗粒物中罗汉果苷V的 ESI/MS² 一~二级 MS 图

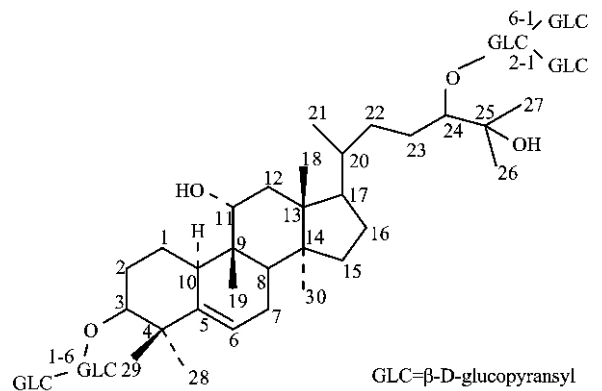


图3 罗汉果苷V的化学结构式

2.5 工作曲线及检测限

用 1:1(V/V) 甲醇水溶液配制浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的罗汉果苷 V 标准储备溶液,取 0.10、0.20、0.40、0.60、1.00、1.20 mL 标准储备溶液,分别置于 100.00 mL 容量瓶中,用 1:1(V/V) 甲醇/水)溶液稀释并定容,配制成浓度为 100、200、400、600、1000、1200 ng/mL 标准溶液。每次进样量 5.0 μL ,采用 SIM 模式,测定标准溶液的[M-H]⁻ m/z 1285.58 峰面积,并对峰面积(Y)和浓度(X)进行线性回归分析,得到其线性回归方程: $Y = 57639X - 760131$, $R^2 = 0.9979$,进样量在 0.5 ~

6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内线性关系好,适合本研究的用量范围。检出限:在加标样品中,以 3 倍信噪比计算检测方法的检出限即为检出限,本试验的检出限浓度为 105 ng/mL 。本方法的重现性好,准确性高。

2.6 新型丙纶滤咀中添加剂的有效成分罗汉果苷 V 向烟气中的转移率

分别取 40 支新型丙纶滤咀卷烟的滤咀和 40 支新型丙纶滤咀卷烟烟气颗粒物中添加剂有效成分罗汉果苷 V 的提取液进行了测定。每组试验平行进行 5 次,结果见表 5。

表 5 新型丙纶滤咀和卷烟烟气颗粒物中罗汉果苷 V 的含量

试验次数	1	2	3	4	5
新型丙纶滤咀中罗汉果苷 V 的含量($\mu\text{g}/\text{支}$)	0.78	0.82	0.80	0.75	0.78
平均含量($\mu\text{g}/\text{支}$)			0.786		
RSD/%			3.32		
新型丙纶滤咀卷烟烟气颗粒物中罗汉果苷 V 含量($\mu\text{g}/\text{支}$)	0.31	0.30	0.29	0.30	0.29
平均含量($\mu\text{g}/\text{支}$)			0.298		
RSD/%			2.81		

罗汉果苷 V 在卷烟吸食过程中向主流烟气的转移率(%): 37.95 ± 4.71 。

3 结论

罗汉果提取物用作丙纶滤咀添加剂具有显著降低丙纶滤咀卷烟在口腔和喉部引起的灼热感和刺辣感,降低杂气,提升烟香等功效。经 HPLC-ESI-MS 测定,添加剂中高甜度的有效成分罗汉果苷 V 在卷烟的吸食过程中向主流烟气的转移率(%): 37.95 ± 4.71 。

参考文献

- [1] 刘绍华,黄泰松,邹克兴,等.一种减少杂气、降低刺激、提升烟香的天然烟用添加剂[P],中国专利:200710052294.2,2007-05-25.
- [2] 刘绍华,黄泰松,邹克兴,等.一种增香保润的天然烟用添加剂[P],中国专利:200710052295.7,2007-05-25.
- [3] 中华人民共和国卫生部生药典委员会.中华人民共和国药典[M].北京:化学工业出版社,1995:183.
- [4] Takemoto Tsunematsu, Arihara Shigenobu, Nakajima Tadashi, et

al. Studies on the Constituents of Fructus Momordicae. On the Sweet Principle(I)(II)(III)[J]. Journal of the Pharmaceutical Society of Japan, 1983, 103: 1151-1170.

- [5] 王霆,黄志江,蒋毅珉,等.罗汉果甜苷的生物活性研究[J].中草药,1999,30(12):914-916.
- [6] 刘绍华,黄泰松,邹克兴,等.一种具有显著降低刺辣感的天然丙纶滤咀烟用添加剂[P],中国专利:200710035870.2,2007-09-30.
- [7] Kasai K, Nei R L, Nashi K, et al. Sweet cucurbitane glycosides from fruits of *Siratia grosvenor* a Chinese folk medicine[J]. Agricultural Biological Chemistry, 1989, 53(12):3374-3377.
- [8] Matsumoto K, Kasai R, Ohtani K, et al. Minor cucurbitane glycosides from fruits of *Siratia grosvenor*[J]. Chemical Pharmacological Bulletin, 1990, 38(7):20-30.
- [9] 刘绍华,黄泰松,邹克兴,等. HPLC/ESI/MS 法测定卷烟烟丝和烟气颗粒物中的罗汉果苷 V[J]. 烟草科技, 2008, (7):38-41.
- [10] 戚向阳,张俐勤,单夏锋,等.高效液相色谱-电喷雾质谱联用法分析罗汉果皂苷[J].中国农业科学,2005,38(10):2096-2101.