

响应面优化烟叶多糖磷酸化工艺及保润性评价

艾绿叶, 任天宝, 冯雪研, 宋晶, 姬小明*

(河南农业大学 烟草学院, 河南 郑州 450002)

摘要: 采用超声辅助提取烟叶多糖, 在单因素基础上, 以响应面法优化磷酸化烟叶多糖的工艺条件, 再分别以磷酸化烟叶多糖、烟叶多糖、蒸馏水和丙二醇为保润剂, 对比其在烟丝上的持水性能, 最后, 对烟叶多糖和磷酸化烟叶多糖进行评吸。结果表明: 制备磷酸化烟叶多糖的最佳工艺条件为: 反应时间 6.1 h、反应温度 95 °C、pH=9.0, 磷酸化烟叶多糖中磷酸根质量分数平均为 11.68%。持水性能大小为磷酸化烟叶多糖>烟叶多糖>丙二醇>蒸馏水。感官评价结果显示: 添加磷酸化烟叶多糖对改善卷烟评吸品质效果显著。

关键词: 响应面法; 烟叶多糖; 磷酸化; 保润; 感官评价; 香料与香精

中图分类号: TQ464.1 文献标识码: A 文章编号: 1003-5214(2018)12-2065-07

Response Surface Methodology for Optimization Tobacco Leaf Polysaccharides Phosphorylation Process and Evaluation of Its Humectant Properties

AI Lü-ye, REN Tian-bao, FENG Xue-yan, SONG Jing, JI Xiao-ming*

(College of Tobacco Science, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, Henan, China)

Abstract: Tobacco leaf polysaccharides were extracted by ultrasonic-assisted extraction technology. Based on the single factor experiment, the conditions of phosphorylated tobacco polysaccharides were optimized with response surface methodology. The effects of phosphorylated tobacco leaf polysaccharides, tobacco leaf polysaccharides, distilled water, and propylene glycol on the moisturizing capacity of cut tobacco were studied, respectively. Finally, the sensory quality of tobacco leaf polysaccharides and phosphorylated tobacco leaf polysaccharides were tested. The results showed that the optimum technological conditions for preparing phosphorylated tobacco leaf polysaccharides were obtained. The mass fraction of phosphate ions could reach 11.68% under the conditions of pH=9.0, reaction time 6.1 h, temperature 95 °C. The moisturizing capacity was phosphorylated tobacco leaf polysaccharides > tobacco leaf polysaccharides > propylene glycol > distilled water. The sensory evaluation results demonstrated that the addition of phosphorylated tobacco leaf polysaccharides had a significant effect on improving cigarette smoking quality.

Key words: response surface methodology; tobacco leaf polysaccharides; phosphorylation; humectant properties; sensory evaluation; perfumes and essences

Foundation items: Applied Technology Project of Hubei Zhongyan Industry Co., Ltd. (2017B024XL01); Key Scientific and Technological Project of Science & Technology Department of Henan Province (152102210059); Science and Technology Project of Hunan Province Tobacco Company (18-20Aa01); Fujian Tobacco Company Longyan City Company Science and Technology Project (201835080027071)

目前, 用于烟草领域的保润剂甘油、丙二醇等有一定的吸湿性, 但保湿性能差^[1], 且当卷烟燃吸时, 部分甘油、丙二醇等会进入烟气, 形成焦油,

这不利于卷烟品质的保障^[2]。因此, 寻找高效且能够改善卷烟吸食品质的烟草保润剂, 成为行业发展的重要课题。

收稿日期: 2018-05-10; 定用日期: 2018-07-30; DOI: 10.13550/j.jxhg.20180340

基金项目: 湖北中烟工业有限责任公司应用科技类项目(2017B024XL01); 河南省科技厅重点科技攻关项目(152102210059); 湖南省烟草公司科技项目(18-20Aa01); 福建省龙岩市烟草公司科技项目(201835080027071)

作者简介: 艾绿叶(1994—), 女, 硕士生。联系人: 姬小明(1972—), 女, 博士, 教授, E-mail: jxm0371@163.com。

多糖作为天然植物中一种重要的功能成分，其分子中大量羟基能与水分子相互结合形成氢键，从而具备较好的保润效果。因此，从植物中提取多糖，并将其作为保润剂应用于烟草领域的文献被大量报道^[3-9]。Stoilova^[10]等将从水果中提取的含有多糖的果胶用作烟草保润剂，结果表明，这种含有多糖的保润剂能够抑制卷烟燃吸时焦油和 CO 的产生。陶陶^[11]等以葫芦巴为原料，经提取纯化获得葫芦巴多糖，将其溶解后作为保润剂用于卷烟中，发现葫芦巴多糖可以降低卷烟的刺激性，减少杂气，提高甜润度和舒适度。黄芳芳^[12]等报道卤地菊多糖能有效地提高烟丝的保润性，减缓卷烟中水分的散失。然而，多糖分子量大，溶解性差，致使其活性受限，进而影响它们的应用，而采用适当的方法对多糖进行化学修饰^[13-19]，有望解决这一问题。磷酸化作为多糖的重要化学修饰之一，对研究多糖的构效关系有着重要意义。目前，已有研究证明磷酸化修饰多糖能够改善多糖的水溶性及保湿性^[20]。但烟叶多糖的磷酸化修饰及其保润性能的研究鲜见报道。

基于以上研究，本实验以烟叶多糖为原料，以响应面法优化磷酸化烟叶多糖的制备工艺，再以蒸馏水和丙二醇作对比，对它们的持水性能进行分析，最后，对磷酸化烟叶多糖进行感官评价，以期磷酸化烟叶多糖在烟草保润领域的进一步开发应用提供理论基础。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

X2F 云烟 87，2016 年 10 月取自河南省内乡县余关乡；评吸单料烟丝为河南烤烟样品 C3F，国家烟草栽培生理生化基地提供；其余试剂均为国产分析纯。

HC-2518 高速离心机，安徽中科中佳科学仪器有限公司；KPCJ-1 数显磁力搅拌器，郑州凯鹏实验仪器有限公司；RE-52AA 旋转蒸发器，上海亚荣生化仪器厂；KBF240 恒温恒湿箱，香港路易企业有限公司；KQ5200DE 数控超声波清洗器，昆山市超声仪器有限公司；Sephadex G-100 凝胶色谱柱、3500 Da 透析袋，北京索莱宝科技有限公司。

1.2 烟叶多糖的提取

称取 30 g 烟末，加入 1050 g 蒸馏水，即在 $m(\text{水}) : m(\text{烟末}) = 35 : 1$ 、超声功率为 400 W、超声温度为 60 °C 和超声时间为 10 min 的条件下进行提取，超声后，抽滤取滤液，于 60 °C 旋转蒸发浓缩至 270 mL。取浓缩液，加入 1100 mL 的无水乙醇，醇析过夜。再经 8000 r/min 离心 10 min，取沉淀。

沉淀用蒸馏水溶解，采用 Seavage 法 $V(\text{氯仿}) : V(\text{正丁醇}) = 4 : 1$ 脱蛋白^[21]，离心取上清液，再次醇析过夜，离心取沉淀，经真空干燥，得到烟叶粗多糖，再使用浓度为 0.1 mol/L 的 NaCl 对烟叶粗多糖进行洗脱，收集洗脱液，透析 72 h 后，冷冻干燥，得到烟叶多糖，提取率为 3.18%。

1.3 磷酸化烟叶多糖的制备

称取烟叶多糖 0.1 g 溶于 10 mL 蒸馏水中，加入 2 mL 质量分数为 5% 的 Na_2SO_4 ，再加入质量浓度为 100 g/L，按照 $m(\text{三聚磷酸钠}) : m(\text{三偏磷酸钠}) = 5 : 2$ 配好的磷酸化试剂 10 mL，调 pH 后，在一定温度下反应一段时间。反应结束后，用 60 mL 乙醇沉淀反应液 24 h，离心取沉淀。沉淀复溶于蒸馏水中，复溶溶液放入透析袋透析，检测电导率的变化，当电导率下降至 160 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 时停止透析。反应液旋转蒸发浓缩后，真空干燥得到烟叶多糖磷酸化衍生物。

1.4 磷酸根标准曲线

以磷酸根标准液浓度为横坐标，吸光度值为纵坐标，绘制标准曲线，如图 1 所示。

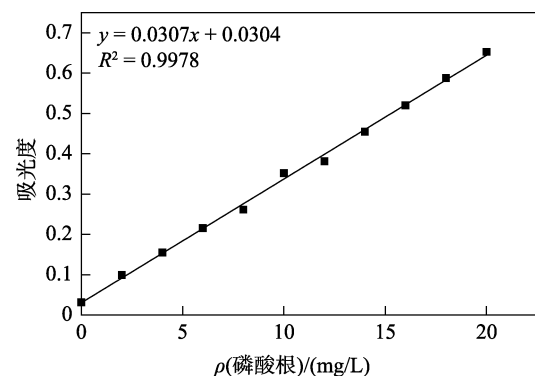


图 1 磷酸根标准曲线

Fig. 1 Standard curve of phosphate ions

1.5 磷酸根标准曲线绘制及质量分数测定

1.5.1 磷酸根标准曲线绘制

根据钼蓝比色法^[22]绘制磷酸根标准曲线，为了提供烟叶多糖磷酸化后磷酸根质量分数的对照依据，本文在单因素实验前，首先测定了未经磷酸化修饰的烟叶多糖的磷酸根质量分数为 1.635%。

1.5.2 样品磷酸根质量分数的测定

取 0.10 g 样品于烧杯中，加入 1 mL 浓硫酸和 1 mL 浓硝酸，加热至冒烟，冷却后加入 1 mL 体积分数为 30% 的 H_2O_2 溶液，再缓慢加热，重复以上步骤直至烧杯内不再冒烟，溶液呈无色透明或淡黄色。冷却后加入 1 mL 浓度为 6 mol/L 的盐酸，加热使酸彻底分解，转移至 50 mL 容量瓶中定容。取 5 mL 上述溶液，按照标准曲线绘制的操作方法得到吸光

度, 并从标准曲线获得磷酸根浓度, 算出磷酸根质量, 根据下列公式求出磷酸根质量分数:

$$w(\text{PO}_4^{3-})/\% = \frac{m \times 10^{-3}}{m_0} \times 100$$

式中: m 为样品在 580 nm 处测得的吸光度对应的磷酸根质量, mg; m_0 为样品的质量, g。

1.6 响应面分析实验设计

按照 Box-Behnken 的中心组合实验设计原理, 在单因素实验的基础之上, 以 PO_4^{3-} 质量分数为响应值, 选取反应时间、反应温度和 pH 这 3 个对反应具有较大影响的单因素进行响应面实验, 优化烟叶多糖磷酸化工艺条件, 单因素水平见表 1。

表 1 响应面实验因素与水平

Table 1 Experimental factors and levels of response surface

因素	水平		
	-1	0	1
A: 反应时间/h	5	6	7
B: 反应温度/°C	80	90	100
C: pH	8	9	10

1.7 持水能力测试

取适量空白烟丝置于温度 (22 ± 1) °C、相对湿度 $60\% \pm 2\%$ 的环境中平衡 48 h 后, 等量称取 5 组烟丝, 每组 20 g, 取其中 1 组采用烘箱法^[23]测量烟丝初始含水率。剩余 4 组烟丝分别均匀喷洒配好的烟叶多糖、磷酸化烟叶多糖、丙二醇溶液和蒸馏水各 1 g [$w(\text{烟叶多糖})=5\%$, $w(\text{磷酸化烟叶多糖})=5\%$, $w(\text{丙二醇})=5\%$]。将这 4 组烟丝每组分为 2 等份, 将其中 1 份放入相对湿度为 $40\% \pm 2\%$ 的硫酸干燥器中, 并将干燥器放入温度 (22 ± 1) °C、相对湿度 $40\% \pm 2\%$ 的恒温恒湿干燥箱中, 剩下 1 份放入相对湿度为 $80\% \pm 2\%$ 的硫酸干燥器中, 并将干燥器放入温度 (22 ± 1) °C、相对湿度 $80\% \pm 2\%$ 的恒温恒湿干燥箱中, 参照差量法^[24], 测量含水率 (前 36 h 每隔 12 h 取样 1 次, 36 h 后, 每隔 24 h 取样 1 次, 直到烟丝质量不再变化), 每份样品进行 2 次平行实验取平均值, 得到烟丝即时含水率, 根据图表对比磷酸化烟叶多糖、烟叶多糖、蒸馏水、丙二醇对烟丝的持水能力。

1.8 单料烟感官评定^[25]

取在温度 (22 ± 1) °C、相对湿度 $60\% \pm 2\%$ 环境中平衡好的河南烟丝 C3F (每份 100 g) 9 份, 按照烟丝质量的 0.01%、0.05%、0.1% 和 0.5% 分别称取烟叶多糖和磷酸化烟叶多糖, 并分别溶解到 5 mL 的蒸馏水中, 将配好的溶液用微量喷雾器均匀地喷洒到其中 8 份烟丝中, 最后 1 份喷洒等量的蒸馏水

作空白对照, 将其在 (40 ± 5) °C 的环境中平衡 4 h, 再放至 (100 ± 2) °C 环境中将烟丝含水率平衡到 $12.5\% \pm 0.5\%$ ^[26], 用卷烟器将烟丝卷成烟丝均匀, 硬度合适的烟支, 放至温度 (22 ± 1) °C、相对湿度 $60\% \pm 2\%$ 的环境中平衡 48 h, 由 7 名专家组成评吸小组进行评吸。

2 结果与讨论

2.1 磷酸化烟叶多糖单因素实验

2.1.1 反应时间对磷酸根质量分数的影响

在反应温度为 80 °C 和 pH=7.0 条件下进行实验, 分别考察反应时间为 4.0、5.0、6.0、7.0、8.0 h 的反应结果, 如图 2 所示。

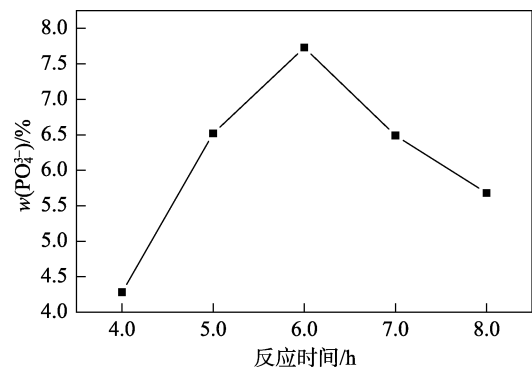


图 2 反应时间对磷酸根质量分数的影响

Fig. 2 Effect of reaction time on the mass fraction of phosphate ions

由图 2 可知, 随着反应时间的增加, 磷酸根质量分数逐渐升高, 在反应时间 6.0 h 时磷酸根质量分数最高。当反应时间超过 6.0 h 后, 延长反应时间, 磷酸根质量分数反而降低。可能是随着时间的增加, 烟叶多糖的溶解更加充分, 反应物的有效接触更多, 利于反应的进行, 但时间过长, 部分烟叶多糖可能发生降解, 致使反应产率降低。因此, 选择 5.0、6.0、7.0 h 作为响应面优化的 3 个水平。

2.1.2 反应温度对磷酸根质量分数的影响

在反应时间为 6.0 h 和 pH=7.0 条件下进行实验, 分别考察反应温度为 70、80、90、100、110 °C 的反应过程, 如图 3 所示。

如图 3 所示, 反应温度在 70~90 °C 时, 磷酸根质量分数随温度的增加而升高, 在 90 °C 时达到最大, 当反应温度超过 90 °C 后, 磷酸根质量分数反而降低。可能是反应温度升高, 加快了反应速率, 但反应温度进一步增加, 烟叶多糖产生了焦化反应, 导致产率降低。因此, 选择 80、90、100 °C 作为响应面优化的 3 个水平。

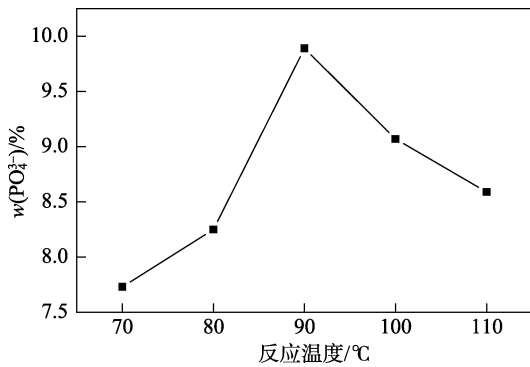


图 3 反应温度对磷酸根质量分数的影响

Fig. 3 Effect of reaction temperature on the mass fraction of phosphate ions

2.1.3 pH 对磷酸根质量分数的影响

在反应时间为 6.0 h 和反应温度为 90 °C 条件下进行实验，分别考察 pH=7.0、8.0、9.0、10.0、11.0 的反应过程，如图 4 所示。

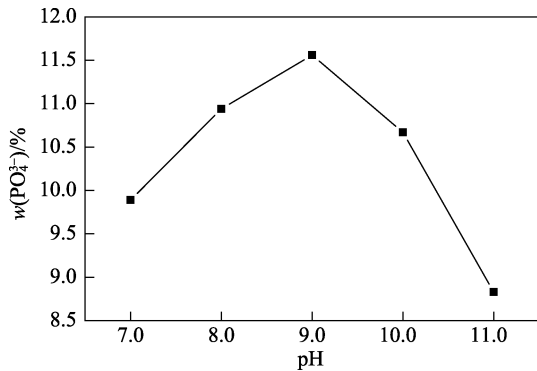


图 4 pH 对磷酸根质量分数的影响

Fig. 4 Effect of pH value on on the mass fraction of phosphate ions

由图 4 可知，反应 pH=7.0~9.0 时，磷酸根质量分数随 pH 的增加而升高，在 pH=9.0 时达到最大值，随后随着 pH 的增加，磷酸根质量分数开始降低。可能是在适当 pH 范围内，磷酸化试剂对反应起到催化作用，当 pH 过高，已经磷酸化的烟叶多糖在过碱环境下出现了降解。因此，选择 pH=8.0、9.0、10.0 作为响应面优化的 3 个水平。

2.2 磷酸化烟叶多糖工艺条件优化结果

在单因素实验的基础之上，参照 Box-Behnken 中心组合实验设计原理，对烟叶多糖进行三因素三水平实验设计，结果见表 2。

采用 Design-Expert 8.06 软件对响应面优化实验得到的结果进行分析研究，按照各因素对磷酸根质量分数 (Y) 的影响进行二次方程拟合，方差分析结果见表 3。

由表 3 方差分析结果得到拟合二次多项式方程：
 $Y = 11.45 + 0.604A + 0.723B - 0.461C + 0.108AB + 0.15AC - 0.028BC - 3.518A^2 - 0.645B^2 - 1.468C^2$

表 2 响应面实验设计及结果

Table 2 Respond surface experimental design and results

实验编号	因素			w(PO ₄ ³⁻)/%
	A	B	C	
1	-1	1	0	7.23
2	0	0	0	11.47
3	-1	0	1	5.38
4	1	1	0	8.65
5	0	-1	1	7.98
6	0	-1	-1	9.11
7	-1	-1	0	6.14
8	1	0	1	6.89
9	0	1	-1	10.75
10	0	0	0	11.54
11	1	-1	0	7.13
12	-1	0	-1	6.34
13	0	0	0	11.46
14	1	0	-1	7.25
15	0	1	1	9.51
16	0	0	0	11.5
17	0	0	0	11.28

表 3 回归模型方差分析结果

Table 3 Variance analysis results of regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F	P
模型	76.161	9	8.462	272.95	<0.0001
A	2.916	1	2.916	94.06	<0.0001
B	4.176	1	4.176	134.70	<0.0001
C	1.702	1	1.702	54.90	0.0001
AB	0.046	1	0.046	1.49	0.0261
AC	0.09	1	0.09	2.90	0.1322
BC	3.025×10 ⁻³	1	3.025×10 ⁻³	0.10	0.7639
A ²	52.096	1	52.096	1680.32	<0.0001
B ²	1.752	1	1.752	56.50	0.0001
C ²	9.068	1	9.068	292.47	<0.0001
残差	0.217	7	0.031	—	—
失拟误差	0.177	3	0.059	5.90	0.0596
纯误差	0.04	4	0.01	—	—
总和	76.378	16	—	—	—

注：P<0.0001 为极显著，P<0.05 为显著；—为无数据。

F 越大对磷酸根质量分数影响越大，由表 3 可以看出，回归方程的 F 为 272.95，P<0.0001，表明模型极显著。失拟误差的 P 为 0.0596>0.05，失拟项不显著，表明该方程对实验拟合情况好，实验误差小。按照拟合模型得到的回归方程，考察其因变量与自变量之间的线性相关系数后发现， $r=76.161/76.378=0.9971 \approx 1$ ，这一点表明用该数学模型来评估各相关因素对磷酸根质量分数的影响的可信值较

高。其中,各因素对实验结果的影响大小为 $B>A>C$, 即反应温度对磷酸根质量分数的影响最大, 其次为反应时间, pH 的影响最小。AB 对磷酸根质量分数的影响显著 ($P<0.05$), AC、BC 对磷酸根质量分数不显著 ($P>0.05$)。

2.3 响应面图分析

采用 Design-Expert 软件根据多元回归拟合分析处理 3 个因素对磷酸根质量分数的响应面分析结果, 如图 5~7 所示。

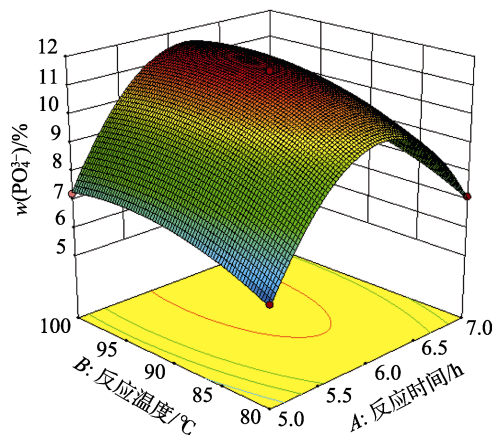


图 5 反应时间和反应温度对磷酸根质量分数影响的响应面图

Fig. 5 Response surface diagram of reaction time and reaction temperature on the mass fraction of phosphate ions

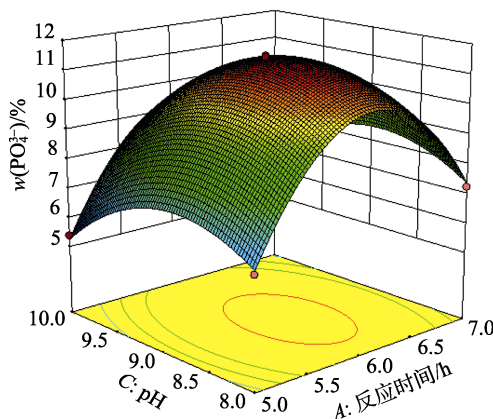


图 6 反应时间和 pH 对磷酸根质量分数影响的响应面图
Fig. 6 Response surface diagram of reaction time and pH value on the mass fraction of phosphate ions

在 $\text{pH}=9.0$ 时, 考察反应时间和反应温度对磷酸根质量分数影响的响应曲面图见图 5。从图 5 看出, 在反应时间为 5.5~6.5 h 和反应温度为 85~95 °C 的范围内, 磷酸根质量分数较高, 且响应面坡度变化明显, 说明反应时间和反应温度的交互作用对磷酸根质量分数影响明显, 这与表 3 结果一致。当反应温度 <95 °C 时, 随着反应时间的增加, 磷酸根质量分数逐渐升高, 当反应温度超出该值时, 磷酸根质量

分数呈下降趋势。

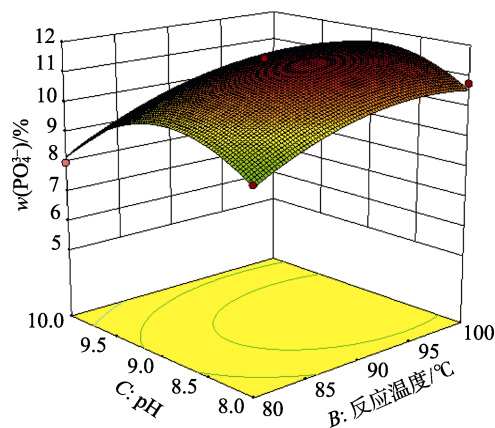


图 7 反应温度和 pH 对磷酸根质量分数影响的响应面图
Fig. 7 Response surface diagram of reaction temperature and pH value on the mass fraction of phosphate ions

图 6 是反应温度为 90 °C 时, 反应时间和 pH 对磷酸根质量分数影响的响应曲面图。在反应时间为 5.5~6.5 h 和 pH 为 8.5~9.5 的范围内, 磷酸根质量分数较高。响应面坡度变化相对平缓说明反应时间和 pH 的交互作用对磷酸根质量分数影响不显著, 这与表 3 分析结果一致。当反应时间 <6.5 h 时, 随着 pH 的增加, 磷酸根质量分数升高, 反应时间超出 6.5 h 时, 磷酸根质量分数降低。

图 7 是反应时间为 6.0 h 时, 反应温度和 pH 对磷酸根质量分数影响的响应曲面图。在反应温度为 85~95 °C 和 pH 为 8.5~9.5 的范围内, 响应面坡度平缓, 说明反应温度和 pH 的交互作用对磷酸根质量分数影响不显著, 这与表 3 结果一致。

通过响应面法预测得到的回归模型分析, 可预测得到烟叶多糖磷酸化修饰的最优合成工艺条件是: 反应时间是 6.09 h, 反应温度是 95.77 °C, $\text{pH}=8.82$, 此条件下, 磷酸根质量分数的预测值是 11.72%。

2.4 磷酸化烟叶多糖验证实验

按照上述预测的结果, 从实验操作的可操作性考虑, 按实际操作微调上述工艺条件为: 反应时间 6.1 h, 反应温度 95 °C, $\text{pH}=9.0$ 。在微调后的磷酸化修饰的工艺条件下, 用 1.0 g 烟叶多糖进行 3 次烟叶多糖磷酸化平行实验, 获得磷酸化烟叶多糖的平均值为 0.87 g, 得到磷酸化烟叶多糖的磷酸根质量分数的平均值是 11.68%, 实验结果表明, 通过回归方程预测得到的工艺条件与实际操作工艺条件十分吻合。

2.5 磷酸化烟叶多糖持水能力测定结果

2.5.1 解湿实验测定结果

将烟叶多糖、磷酸化烟叶多糖、丙二醇和蒸馏水分别添加到 4 组烟丝中, 采用差量法对温度 (22 ± 1) °C, 相对湿度 40% $\pm 2\%$ 环境下的解湿过程

的烟丝含水率进行了测试, 结果如图 8 所示。在 0~36 h, 4 组样品烟丝的即时含水率均下降较快, 36~72 h 内, 烟丝即时含水率下降速度变慢, 72~120 h 烟丝含水率变化较小。在解湿过程中, 4 份样品烟丝含水率由大到小为磷酸化烟叶多糖>烟叶多糖>丙二醇>蒸馏水。说明在干燥的环境中, 添加适量的磷酸化多糖使烟丝具备较好的保水效果。

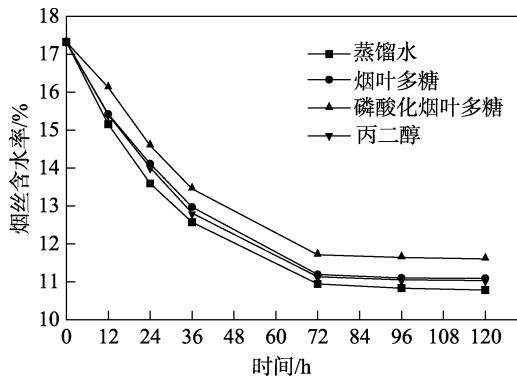


图 8 4 组样品烟丝解湿过程含水率变化图

Fig. 8 Moisture content variation in the course of the desorption equilibrium

2.5.2 吸湿实验测定结果

将烟叶多糖、磷酸化烟叶多糖、丙二醇和蒸馏水分别添加到 4 组烟丝中, 采用了差量法对温度 (22±1) °C, 相对湿度 80%±2% 环境下的吸湿过程的烟丝含水率进行了测试, 结果见图 9。如图 9 所示, 在 0~36 h, 4 组样品烟丝的即时含水率均上升较快, 36~72 h 烟丝含水率上升较为缓慢, 72~120 h 烟丝含水率变化较小。在烟丝吸湿过程中, 蒸馏水样品的烟丝含水率最高, 这可能是烤烟在潮湿环境中易霉变的原因。多糖样品的含水率略低于丙二醇样品, 但总体上差异不大, 而磷酸化烟叶多糖样品的烟丝含水率明显低于其他 3 组样品, 说明添加磷酸化烟叶多糖以后, 烟丝具备了一定的防潮能力, 防潮效果由大到小为磷酸化烟叶多糖>烟叶多糖>丙二醇>蒸馏水。

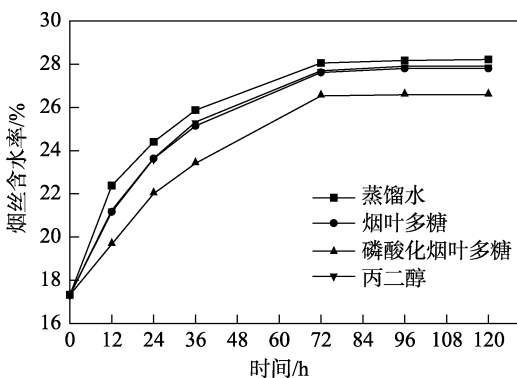


图 9 4 组样品烟丝吸湿过程含水率变化图

Fig. 9 Moisture content variation in the course of the absorption equilibrium

磷酸化烟叶多糖的保水和防潮效果均优于其他样品, 这可能与引入的磷酸基团有关, 其中, 磷酸基为亲水基团, 固水性能强, 低湿环境下, 磷酸基团与水发生溶剂化作用^[27], 使烟丝在低湿条件下不致于大幅失水。当湿度过高, 磷酸化烟叶多糖形成封阻性薄膜, 有效阻止水分子进入烟丝, 因此, 添加磷酸化烟叶多糖的烟丝含水率在高湿条件下增长幅度比其他样品慢, 这与冯小玲^[20]研究结果一致。

2.6 感官评价结果

将空白对照编号为 CK, 烟叶多糖的添加量分别为烟丝质量的 0.01%、0.05%、0.1%、0.5%, 按照添加量的增加, 依次将其编号为 I-1、I-2、I-3、I-4, 磷酸化烟叶多糖的添加量分别为烟丝质量的 0.01%、0.05%、0.1%、0.5%, 按照添加量的增加, 依次将其编号为 II-1、II-2、II-3、II-4, 评吸结果见表 4。由表 4 可知, 添加烟叶多糖对增加回甜感, 提高烟气的细腻柔和程度有一定的作用, 但对改善余味效果不明显。添加磷酸化烟叶多糖对增强回甜感, 提高烟气的细腻柔和程度效果较好, 且能够改善卷烟的吸味, 降低干燥感。总体来看, 添加磷酸化烟叶多糖对改善卷烟评吸品质效果更好, 当磷酸化烟叶多糖的添加量为烟丝质量的 0.05%~0.1% 时评吸结果较好, 添加量为烟丝质量的 0.1% 时效果最好。结合吸湿过程和吸湿过程中烟丝的含水率及单料烟感官评吸结果来看, 磷酸化烟叶多糖有较好的保润性能。

表 4 添加不同量多糖的单料烟感官评吸结果
Table 4 Sensory evaluation results of single smoke with different amounts polysaccharides

序号	评吸结果
CK	香气较粗糙, 香气量尚足, 稍有杂气, 有刺激性, 余味稍舒适
I-1	微有回甜感, 其他感官特征无明显变化
II-1	微有回甜感, 其他感官特征无明显变化
I-2	香气量略增, 烟气尚柔和, 刺激和杂气略减轻, 回甜感增强, 余味尚适
II-2	香气量略增, 烟气柔和, 刺激性和杂气减轻, 回甜感增强, 余味较舒适
I-3	香气量进一步增加, 烟气较细腻、较柔和, 杂气和刺激性微有, 回甜感进一步增强, 余味尚适
II-3	香气量进一步增加, 烟气细腻柔和, 杂气和刺激性低, 回甜感明显, 无干燥感, 余味舒适
I-4	刺激性增强, 余味变差, 有残留
II-4	刺激性有, 余味尚舒适, 微有残留

3 结论

(1) 通过超声辅助提取得到烟叶粗多糖, 烟叶

粗多糖经过醇析、洗脱等步骤, 得到提取率为 3.18% 的烟叶多糖。Box-Behnken 法制备磷酸化烟叶多糖的最佳工艺条件为: 反应时间 6.1 h、pH=9.0, 反应温度 95 °C, 此条件下, 磷酸化烟叶多糖的磷酸根质量分数达到 11.68%。

(2) 采用差量法测量添加磷酸化烟叶多糖、烟叶多糖、丙二醇和蒸馏水的烟丝含水率, 持水效果为: 磷酸化烟叶多糖>烟叶多糖>丙二醇>蒸馏水。对磷酸化烟叶多糖和烟叶多糖进行卷烟评吸, 发现磷酸化烟叶多糖的评吸结果优于烟叶多糖, 且当添加量为烟丝质量的 0.05%~0.1% 时, 能有效改善卷烟吸食品质。推测可能的原因是引入的磷酸基团改变了烟叶多糖的理化性质, 导致磷酸化烟叶多糖在持水和改善卷烟吸食品质方面有着较好的效果。具体机理有待下一步研究。

(3) 响应面法制备磷酸化烟叶多糖的工艺简单, 原料易得, 在今后开发中有一定的优势, 这为磷酸化烟叶多糖在工业中的应用提供了一定的基础。

参考文献:

- [1] Cui Haibin (崔海滨), Wang Xuejuan (王学娟), Zhao Shixing (赵世兴), *et al.* Development of humectant SLT and its application in cigarette production[J]. Acta Tabacaria Sinica (中国烟草学报), 2011, 17(1): 38-41.
- [2] Carmines E L, Gaworski C L. Toxicological evaluation of glycerin as a cigarette ingredient[J]. Food and Chemical toxicology, 2005, 43(10): 1521-1539.
- [3] Romdhane M B, Haddar A, Ghazala I, *et al.* Optimization of polysaccharides extraction from watermelon rinds: Structure, functional and biological activities[J]. Food Chemistry, 2017, 216: 355-364.
- [4] Ju Xingrong (鞠兴荣), Shui Dan (税丹), He Rong (何荣), *et al.* Study on the optimization of the extraction technology of polysaccharides from rapeseed Meal by acid using response surface method[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association (中国粮油学报), 2012, 27(3): 89-93.
- [5] Wang X, Zhang Y, Liu Z, *et al.* Purification, characterization, and antioxidant activity of polysaccharides isolated from cortex periplocae[J]. Molecules, 2017, 22(11): 1866.
- [6] Guo X, Shang X, Zhou X, *et al.* Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from Rhododendron aganniphum: Antioxidant activity and rheological properties[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2017, 38: 246-255.
- [7] Hromadkova Z, Ebringerova A, Valachovič P. Ultrasound-assisted extraction of water-soluble polysaccharides from the roots of valerian (*Valeriana officinalis*L.)[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2002, 9(1): 37-44.
- [8] Xu M, Yao X, Wang J. Study on extraction technology of polysaccharides from Jujube by microwave method[J]. Open Access Library Journal, 2017, 4(3): 1-4.
- [9] Bhotmange D U, Wallenius J H, Singhal R S, *et al.* Enzymatic extraction and characterization of polysaccharide from Tuber aestivum [J]. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre, 2017, 10: 1-9.
- [10] Stoilova A, Kratchanova M, Kratchanov C. Comparative investigations of the influence of polyvalent alcohols and fruit extracts on the physicochemical properties of tobacco[J]. Beiträge zur Tabakforschung/Contributions to Tobacco Research, 1994, 16(1): 1-9.
- [11] Tao Tao (陶陶), He Fan (贺凡), Ji Xiaoming (姬小明), *et al.* Response surface methodology for optimization of flash extraction for fenugreek (*trigonella foenum-graecum* L.) polysaccharides and research of its humectant properties[J]. Fine Chemicals (精细化工), 2016, 33(6): 666-673.
- [12] Hung Fangfang (黄芳芳), Jiang Jian (蒋健), LI Xueqing (李雪青), *et al.* Ultrasonic extraction technique for polysaccharide from wedelia prostrate and moisture retentivity of polysaccharide in cigarettes[J]. Tobacco Science & Technology (烟草科技), 2014, (2): 44-48.
- [13] Zhang Yin (张颖), Zeng Yan (曾艳), Zhang Lijiao (张丽姣), *et al.* Chemical modification of levan from *Bacillus amyloliquefaciens* and antioxidant and antitumor activity of its products[J]. Science and Technology of Food Industry (食品工业科技), 2016, 37(13): 96-100.
- [14] Chen Y, Zhang H, Wang Y, *et al.* Acetylation and carboxymethylation of the polysaccharide from *Ganoderma atrum* and their antioxidant and immunomodulating activities[J]. Food chemistry, 2014, 156: 279-288.
- [15] Wang J, Guo H, Zhang J, *et al.* Sulfated modification, characterization and structure-antioxidant relationships of *Artemisia sphaerocephala* polysaccharides[J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 81(4): 897-905.
- [16] Jiang J, Meng F Y, He Z, *et al.* Sulfated modification of longan polysaccharide and its immunomodulatory and antitumor activity in vitro[J]. International journal of biological macromolecules, 2014, 67: 323-329.
- [17] Nagasawa C, Nishimura-Uemura J, Tohno M, *et al.* Oral administration of phosphorylated dextran regulates immune response in ovalbumin-immunized mice[J]. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 2010, 23(1): 106-115.
- [18] Lin Xiuzhu (林秀珠), Luo Zhimin (罗志敏), Ma Xiuling (马秀玲), *et al.* Preparation and properties of alkylated pullulan[J]. Journal of Fujian Normal University: Natural Science Edition, (福建师范大学学报: 自然科学版), 2007, (2): 62-66.
- [19] Wei Yiming (韦毅铭), He Zhou (何舟), Tian Haifen (田海芬), *et al.* Optimization of preparation of carboxymethylated polysaccharides from Longan (*Dimocarpus longan*) pulp by response surface methodology and their antioxidant activity and immunoregulatory activity[J]. Food Science (食品科学), 2017, 38(22): 275-283.
- [20] Feng Xiaoling (冯小玲), Fang Zhaohua (方兆华), Liu Jianxin (刘建欣), *et al.* Preparation and properties of schizophyllan polysaccharide phosphorylated derivative[J]. China Surfactant Detergent & Cosmetics (日用化学工业), 2017, (11): 637-640.
- [21] Yu Xiaohong (于晓红), Wu Xianling (吴宪玲), Fu Wei (付薇), *et al.* Decoloration and deproteinization of polysaccharides from american ginseng[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology (中国食品学报), 2017, (11): 145-149.
- [22] Huang Weikun (黄伟坤). Food inspection and analysis[M]. Beijing: China Light Industry Press (中国轻工业出版社), 1989, 185-187.
- [23] Tobacco and tobacco products-preparation of test sample and determination of water content—Over method (烟草及烟草制品试样的制备和水分的测定-烘箱法): YC/T31—1996[S]. 1996.
- [24] He Baojiang (何保江), Liu Qiang (刘强), Zhao Mingyue (赵明月), *et al.* Method of testing hygroscopicity of tobacco[J]. Tobacco Science & Technology (烟草科技), 2009, (2): 25-28.
- [25] Qiao Xueyi (乔学义), Wang Bin (王兵), Ma Yuping (马宇平), *et al.* Method developed for sensory evaluation of quality and style characteristics of flue-cured tobacco leaf[J]. Tobacco Science & Technology (烟草科技), 2014, (9): 5-9.
- [26] Liu Yang (刘洋), Liu Shan (刘珊), Hu Jun (胡军), *et al.* Extraction of cactus polysaccharide and its application in cigarette[J]. Tobacco Science & Technology (烟草科技), 2010, (10): 8-11.
- [27] Blennow A, Nielsen T H, Baunsgaard L, *et al.* Starch phosphorylation: A new front line in starch research[J]. Trends in plant science, 2002, 7(10): 445-450.