

烟用香精香料中香豆素、黄樟素检测及迁移量的研究

鲁艳红 熊科 苏昕海 李茜 李宏

广西中烟工业有限责任公司柳州卷烟厂, 广西 柳州 545000

[摘要]简要介绍了烟用香精香料中香豆素、黄樟素的成因及危害,说明气相色谱-质谱联用法测定香豆素、黄樟素的操作过程,并测定了3种香精香料样品在4种迁移试验条件下豆素、黄樟素的迁移量,结果表明,通过对烟用香精香料香豆素、黄樟素含量的检测,发现不同样品在20℃、储存1天的条件下香豆素含量最高,随着温度降低及储存时间的增加,香精香料香豆素含量明显降低,迁移量变化更为显著,黄樟素含量变化不明显,均是未检出。通过试验可知温度及时间是影响香精香料香豆素的重要因素,应根据迁移规律,适当降低香精香料的储存温度及适当延长储存时间,进而降低香精香料中香豆素、黄樟素含量。

[关键词]烟用香精香料; 香豆素; 黄樟素; 气相色谱-质谱联用法; 迁移量

DOI: 10.33142/aem.v7i7.17384

中图分类号: O657

文献标识码: A

Study on the Detection and Migration of Coumarin and Safrole in Tobacco Essence

LU Yanhong, XIONG Ke, SU Xinhai, LI Xi, LI Hong

Liuzhou Cigarette Factory of China Tobacco Guangxi Industry Co., Ltd., Liuzhou, Guangxi, 545005, China

Abstract: This paper briefly introduces the causes and hazards of coumarin and safrole in tobacco essence, explains the operation process of determining coumarin and safrole by gas chromatography-mass spectrometry, and determines the migration amount of coumarin and safrole in three essence samples under four migration test conditions. The results show that through the detection of the content of coumarin and safrole in tobacco essence, it is found that the content of coumarin in different samples is the highest under the condition of 20 °C and storage for one day. With the decrease of temperature and the increase of storage time, the content of coumarin in essence significantly decreases, the migration amount changes more significantly, and the content of safrole changes Not obvious, all are not detected. It can be seen from the test that temperature and time are important factors affecting the coumarin of essence and flavor. According to the migration rule, the storage temperature of essence and flavor should be properly reduced and the storage time should be appropriately extended, so as to reduce the coumarin and safrole content in essence and flavor.

Keywords: essence for tobacco; coumarin; cinnamomum camphora; gas chromatography-mass spectrometry; migration volume

引言

烟用香精香料香豆素、黄樟素是卷烟行业质量检验的重要安全卫生指标,目前烟用香精香料是卷烟特色工艺用到的关键物料,生产需求量较大。

香精通常是由人工调配出来的香料混合物,可能含有两种以上乃至几十种香料,所以在原料目录中的这四个原料通常都是混合物。而在原料目录中,也包含有很多具体的香料成分,如芳樟醇、香兰素、肉桂醛、丁香酚等等。

由于香精香料的调配复杂性、保密性,以及其中有很多成分会造成致敏等人体不良反应,因此在做产品安全评估时,以上四个原料不能使用原料目录中的产品最高历史使用量进行评估。

1 香豆素和黄樟素

香豆素是南美洲的原生物种「零陵香豆」中所发现的物质,是一种附着于零陵香豆上的薄霜。它是一种有香气但挥发性很低的分子,不易于以蒸馏法萃取取得,大多以压榨法得到的柑橘类精油中较容易发现香豆素的成分。

黄樟素又称为黄樟油素,黄樟脑,有樟木气味,不溶

于水。黄樟素较多地存在于含挥发油成分的中药中,八角、茴香、石菖、细辛、桂皮等香料中也含有。国际权威机构已确认黄樟素对动物有致癌性,美国食品药品监督管理局曾有研究在大鼠饲料中加入100~500mg/kg的黄樟素,喂养两年,均出现不同程度的生长抑制、睾丸萎缩和胃萎缩,肝脏可出现肿大及脂肪变性,且见有不规则小结节形成,出现单个或多个肝肿瘤。根据报告显示给大鼠含500ppm的黄樟素饲料两年后,50只样本有19只发生肿瘤,其中14只为恶性肿瘤。因此,国外均已禁止黄樟素及其衍生物在食品中的应用。在香精、香料生产过程中有可能由天然植物精油带入香豆素、黄樟素等成分,香豆素是一种天然存在于多种植物中的芳香化合物,高浓度香豆素暴露可能导致头晕、头痛等神经系统症状,部分人群可能对香豆素或其衍生物(如肉桂醛)过敏,表现为口腔溃疡、皮肤刺激或呼吸道不适,美国食品和药品管理局(FDA)、英国食品标准化委员会及我国在早年一直将香豆素列为禁止在食品中使用的添加剂^[1]。黄樟素主要来源于植物精油,曾被用作食品中的香料^[2]。黄樟素是剧毒物质,可以直接

刺激皮肤，并能在肝组织中形成黄樟素-脱氧核糖核酸（DNA）加合物，食物中黄樟素的含量在 0.5% 以上时引起肝细胞瘤，具有致癌作用，是消化系统、血液系统、泌尿系统的强致癌物，世界各国均禁止使用^[3]。因此，从毒理学及卷烟生产工艺水平两方面综合考虑，烟草行业香精香料标准中规定香豆素 < 100mg/kg、黄樟素不得检出，并且在《Q/GY 108 021—2010/0 烟用添加剂香豆素、黄樟素的测定-气相色谱/质谱选择离子法》中规定了标准的检测方法^[4-5]。为了更好的保障卷烟的质量，深入研究香精香料香豆素、黄樟素的迁移规律，减少香豆素、黄樟素的有害组分，提升企业对烟用香精香料安全风险监测能力。

香豆素的应用主要包括以下方面：

香料与增香剂：香豆素广泛用于香水、食品、饮料、塑料及橡胶制品的增香，其气味特征随浓度变化，可呈现干草香、焦糖香或杏仁甜香。医药领域：抗凝血：香豆素类药物（如华法林）通过抑制维生素 K 环氧化物还原酶发挥抗凝血作用，用于心脑血管疾病治疗。香豆素与维生素 K 的结构相似。香豆素在肝脏与维生素 K 环氧化物还原酶结合，抑制维生素 K 由环氧化物向氢醌型转化，维生素 K 的循环被抑制。可以说香豆素是维生素 K 拮抗剂，或者是竞争性抑制剂（参见酶）。含有谷氨酸残基的凝血因子 II、VII、IX、X 的羧化作用被抑制，而其前体是没有凝血活性的，因此凝血过程受到抑制。抗菌抗炎：香豆素衍生物对多种细菌有抑制作用，例如新生霉素钠用于抗菌治疗。降血糖：研究发现香豆素对糖尿病肾病模型大鼠的肾脏指标有改善作用，显示其在防治糖尿病肾病方面的潜力。治疗实践：在芳香疗法的实践中，香豆素具有镇静、安眠、降压、抗凝血等功效，且对于皮肤没有损害。而另一种香豆素，而呋喃香豆素则具有光敏性。具有呋喃结构的化合物吸收紫外线后，会呈现激活状态，接着参与氧化反应，产生自由基与过氧化物，进而造成细胞损伤，也就是具有光敏性，让肌肤不只晒黑，还会晒伤。市面上有些会标榜去除呋喃香豆素，例如 FCF 标示的佛手柑精油，代表的是将内含的呋喃香豆素去除，减少精油的光敏性，可以使它在皮肤上的应用较为安全无虑，但此成分去除之后也会削弱佛手柑精油原有的芳疗效益和特殊气味。

荧光材料：香豆素衍生物用于生物荧光探针、荧光染料及有机发光材料，因其高量子产率适合标记钙离子等生物分子，强荧光可用于纺织增白，光稳定性好的衍生物则用于 OLED 显示技术。多用途：如七叶苷和七叶内酯具有抗菌作用；滨蒿内酯具有消炎利胆作用；东莨菪内酯有祛痰作用；岩白菜内酯具有止咳作用；补骨脂内酯类化合物具有光敏作用，可治疗白癜风；七叶内酯对菌痢有显著疗效。

用于评价的浓度取决于每个香精的强度。但是，也有某些可以遵从的一般性指导原则。天然食品香精评价时一般为 0.5%~1% 浓度，这一浓度是在 100 毫升品味介质中

加入 0.5~1mL 香精得到的。天然食品香精是指以果汁为基础的 Food-grade 食品香精。大多数调味香精和 WOF 香精（用其他天然食品香料强化的香精），以及多数人造食品香精在 10-50x10ml/ml 浓度下品尝。

为达到这一浓度，首先将 0.1mL 的香精加到 10mL 乙醇中，制得 1% 的溶液，再取 0.1~0.5mL 上述溶液加入 100mL 评味介质中。通常天然和 WOF 喷雾干燥香精在适当品尝介质中的浓度约为 1%，人造喷雾干燥食品香精一般为 50~100PPm 浓度范围内品尝。

1% 浓度的溶液可以用水代替乙醇，因为喷雾干燥香精是水溶性的，对于喷雾干燥香精来说，在品尝时其浓度要稍大于液体香精，这是因为喷雾干燥香精一般含有 80% 的惰性载体，而只有 20% 为有效香味成分。对于标准样品和新样品，两者要用同一浓度，这一点很重要。在这里 0.1mL 的差别，在评价时就会被看成香味强度的不同。

在适当介质中以适当浓度调配好样品后就可以进行评价。大多数香精公司只由一个人或二个人作出质量控制上的感官评价结论，虽然也有某些实验室对于发送给客户的香精，由一个专门小组进行感官评价。尽管组成小组作为评价更可取些，但到达质量控制实验室的样品太多，从而使这种做法几乎不可能。在一个较大的公司内，通常每天要评价 50 个以上的样品。

密度和折光率是香精香料重要的理化指标，实验室经常会在同一个样品中需要测试这两个值，实际上意味着需要逐个进行测定，针对这种情况，梅特勒托利多超越系列密度折光联用测定方案则大幅提高了测样效率。该方案不仅可以同步测定密度折光，如有需求还可以连接其他设备拓展实现同步测定密度、折光率、色度、电导和 pH 值。SC1 样品进样和清洗单元能够自动测定单个样品的密度和/或折光率，以及附加参数（色度、pH 值和/或电导率）。SC30 样品进样和清洗单元有 30 个样品位，可一次测量 30 个样品。SC 自动进样器是快速收回投资和得到最高精度结果的最佳保证。

在对原料进行评估时，同时应对不作为配方成分填报的极其微量成分（例如为了保证化妆品原料质量而在原料中添加的极其微量成分）逐一进行说明并进行充分的安全评估，确保该类成分不会影响原料的质量安全。

2 测定方法

2.1 试剂、材料

试剂：乙醇、香豆素、黄樟素、萘（内标）

材料：烟用香精香料

2.2 仪器及条件

2.2.1 使用仪器

Agilent 8890 气相色谱—5977B 质谱联用仪。

2.2.2 气相色谱-质谱联用仪条件

GC 条件：弹性熔融石英毛细管柱（30m×0.25mm×

0.25 μ m); 进样口温度 250℃; 程序升温: 100℃, 保持 1min; 以 4℃/min 速率升至 220℃, 保持 10min; 载气为氦气(纯度 $\geq$ 99.999%); 恒流流速 1.0mL/min; 进样量 1 μ L; 分流进样, 分流比 10:1。

MS 条件: 传输线温度 280℃; 电离能量 70eV; 离子源温度 230℃; 四极杆温度 150℃; 溶剂延迟 6min。

2.2.3 样品处理

称 0.5g ($\pm$ 0.1) 烟用香精香料试样, 放入 15mL 具塞玻璃离心管中; 准确加入 10mL 的乙醇, 并准确加入 50 μ L 的内标溶液; 涡旋振荡 10min, 离心机以 2000r/min 离心 10min; 静置后取上层清液, 并通过 0.45 μ m 有机滤膜过滤, 进行 GC-MS 分析, 同时做试剂空白试验。

3 迁移规律的结果与分析

3.1 烟用香精香料中香豆素、黄樟素的组分分析

将香豆素、黄樟素标样进样, 定性方法采用选择离子扫描, 定量分析采用积分于多离子比例定量, 为提高准确性, 每个化合物选择 1 个定量离子, 3 个定性离子。通过对香豆素、黄樟素组分的分析, 得到其信息汇总见表 1。

表 1 香豆素、黄樟素组分信息汇总

序号	目标化合物	英文缩写	保留时间/s	定量离子	定性离子
1	香豆素	XDS	27.47	146	118 89 90
2	黄樟素	HZS	14.76	162	131 104 135

3.2 烟用香精香料中香豆素、黄樟素的迁移量试验

为研究烟用香精香料中香豆素、黄樟素迁移规律的问题, 研究了 H/B16979、T310519 等香精香料样品, 并根据不同温度及储存时间选取了 4 种迁移试验条件, 即 20℃ 储存 1d、20℃ 储存 240d、4.5℃ 储存 7d、-20℃ 储存 3d。

3.3 温度及时间对烟用香精香料中香豆素、黄樟素迁移量的影响

测定烟用香精香料在 4 种迁移试验条件下香豆素、黄樟素组分的迁移量, 结果见表 2。

表 2 温度及时间对烟用香精香料香豆素、黄樟素组分迁移量的影响
单位: mg/kg

样品 不同条件	H/B16979 样品		T310519 样品	
	香豆素	黄樟素	香豆素	黄樟素
20℃ 1 天	7.969	-	32.467	-
20℃ 240 天	-	-	-	-
4.5℃ 7 天	-	-	-	-
-20℃ 3 天	-	-	-	-

注: “-” 表示未检出。

由表 2 可知, H/B16979 样品在 20℃ 储存 1d 的条件下, 香精香料中香豆素含量是 7.969 mg/kg, 20℃ 储存 240d、4.5℃ 储存 7d、-20℃ 储存 3d 的香豆素含量变成未检出; 香精香料中黄樟素含量在 4 种迁移试验条件下均是未检

出。T310519 样品中的香豆素含量在不同温度、不同时间的储存下变化尤为显著, 随着时间增长, 香豆素含量变为未检出, 随着温度降低, 香豆素含量也变为未检出, 黄樟素含量在 4 种迁移试验条件下均是未检出。因此, 从整体的迁移量角度出发, 发现: 20℃ 储存 1d 的条件下, 不同样品的香豆素含量最高, 随着温度的降低及储存时间的延长, 香精香料中香豆素含量变化显著, 黄樟素含量变化不明显。通过上述得出香精香料香豆素在较低的温度且较长的储存条件下, 更易发生含量的迁移。

4 结论

本次实验展示了一种使用固相萃取柱 (500mg/3mL) 对卷烟制品的有机溶剂萃取液, 进行净化, 最后由 GC/MS 气相色谱质谱联用仪进行检测, 目标物黄樟素和香豆素的回收率范围为 91.2%~109.5%, RSD4.5%~6.9%, 回收率和平行性良好, 说明固相萃取柱 (500mg/3mL) (能很好的完成方法中的净化工作, 并且结果稳定、可靠。

本试验研究通过采用气相色谱-质谱联用法测定香精香料中香豆素、黄樟素的含量, 并设计迁移试验, 不同样品在 20℃、储存 1d 的条件下香豆素含量最高, 随着温度降低及储存时间的增加, 香精香料香豆素含量明显降低, 迁移量变化更为显著, 可能是由于香豆素在储存过程中因氧化而发生分解, 导致香豆素含量显著下降。黄樟素含量均未检出, 可能是由于黄樟素是易挥发物质, 在温度过高或时间过长的条件下, 可能导致损失, 或者在光照条件下, 黄樟素可能降解, 尤其在未避光保存的样品中。也进一步说明温度及时间是香精香料中香豆素、黄樟素含量变化的重要因素, 也为供应商针对香精香料的储存提供了思路, 可以适当降低香精香料的储存温度, 并适当延长储存时间, 降低香豆素、黄樟素对烟用香精香料的影响。

【参考文献】

- [1] 凡实. 食品添加剂的使用要求与管理 [J]. 肉类研究, 2003(4):30-33.
 - [2] 孙凌峰, 汪洪武, 汤敏燕. 黄樟素的天然来源及其在合成香料中的利用 [J]. 香料香精化妆品, 1998(2):14-17.
 - [3] 章瑜, 陈跃进. 黄樟油的毒性研究 [J]. 苏州医学院学报, 1995, 15(2):241-242.
 - [4] 中国烟草总公司. Q/GY 104001-2024 烟用添加剂 [S]. 2024.
 - [5] 中国烟草总公司. Q/GY 108021-201 烟用添加剂中香豆素、黄樟素的测定气相色谱-质谱选择离子法 [S]. 2010.
- 作者简介: 鲁艳红, 女, 广西中烟工业有限责任公司柳州卷烟厂; 熊科, 男, 广西中烟工业有限责任公司柳州卷烟厂; 苏昕海, 男, 广西中烟工业有限责任公司柳州卷烟厂; 李茜, 女, 广西中烟工业有限责任公司柳州卷烟厂; 李宏, 男, 广西中烟工业有限责任公司柳州卷烟厂。