

巴戟天水溶性多糖热裂解产物研究

杨振民^{1,2}, 伊勇涛², 胡 军², 张 峰³, 范坚强³, 赵明月^{2*}

1. 中国科学院大连化学物理研究所 国家色谱中心, 辽宁 大连 116023

2. 中国烟草总公司郑州烟草研究院 香精香料研究室, 河南 郑州 450001

3. 龙岩烟草工业有限责任公司, 福建 龙岩 364021

摘 要: 目的 研究在无氧和有氧条件下, 巴戟天多糖模拟卷烟燃烧(300、600、900 °C)的热裂解行为。方法 利用 GC-MS 定性和半定量测定分析裂解产物。结果 比较了不同条件下裂解产物的差异。在无氧和有氧条件下, 巴戟天多糖在同一温度时, 裂解产物基本相同; 其中 5-羟甲基糠醛是主要的裂解产物。结论 首次对巴戟天多糖在不同温度下的热裂解行为进行研究。

关键词: 巴戟天多糖; 热裂解产物; GC-MS; 5-羟甲基糠醛; 卷烟

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)04-0656-05

Pyrolysates of water-soluble polysaccharide in *Morinda officinalis*

YANG Zhen-min^{1,2}, YI Yong-tao², HU Jun², ZHANG Feng³, FAN Jian-qiang³, ZHAO Ming-yue²

1. National Chromatographic R&A Center, Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023, China

2. Laboratory of Flavor & Fragrance, Zhengzhou Tobacco Research Institute of China National Tobacco Corporation, Zhengzhou 450001, China

3. Longyan Tobacco Industrial Co., Ltd., Longyan 364021, China

Key words: polysaccharide of *Morinda officinalis* How. (MOHP-I); pyrolysates; GC-MS; 5-hydroxymethyl-2-furancarboxaldehyde; cigarette

20 世纪 70 年代热裂解色谱分析技术(pyrolysis-gas chromatography, Py-GC) 已逐步被应用于烟草的研究, 烟草化学家们利用该技术测定卷烟燃烧的产物并预测其形成的机制, 此工作大大推动了烟草化学的发展。尤其是卷烟工业上使用的添加剂, 热裂解技术为其燃烧和裂解产物的研究提供了技术支持^[1]。

在烟草行业提出“增香保润”前提下, 开发中草药型添加剂成为研究趋势^[2], 多糖类物质凭借其在卷烟物理保润性的良好应用效果, 以及能够改善卷烟吸食品质, 成为研究的热点。巴戟天 *Morinda officinalis* How 是茜草科植物, 为我国著名的四大南药之一, 有补肾壮阳、强筋骨、祛风湿的作用^[3], 主要分布在广东、广西、福建、江西等省^[4]。巴戟天多糖是巴戟天主要活性成分之一, 朱孟勇等^[5]报道巴戟天多糖有促进骨质合成, 减少骨溶解作用。通过

实验分析, 发现其是一种良好的天然卷烟添加剂。

本实验通过分离纯化得到的巴戟天水溶性多糖(polysaccharide of *Morinda officinalis* How., MOHP-I), 为巴戟天多糖的主要组分, 由果糖和葡萄糖组成。采用热裂解技术研究 MOHP-I 在模拟卷烟燃烧条件下裂解的情况, 分析其在无氧和有氧条件下 300、600、900 °C 时裂解产物, 为巴戟天多糖在卷烟中应用提供参考。

1 实验部分

1.1 材料和仪器

MOHP-I (自制, 为菊淀粉型多糖)。6890N/5973N 气相色谱-质谱联用仪(美国 Agilent 公司), Pyroprobe 5200 热裂解仪(美国 CDS 公司), 配备热裂解专用石英管。

1.2 方法

1.2.1 巴戟天多糖的分离纯化和鉴定 将自然风干

收稿日期: 2010-06-10

作者简介: 杨振民(1978—), 男, 河南内黄县人, 在读博士, 主要从事植物化学和卷烟添加剂方面的研究。E-mail: yzhm78@126.com

*通讯作者 赵明月 E-mail: yuemingzhao58@126.com

的巴戟天样品,水洗除去样品表面的泥土,烘干,粉碎过40目筛,乙醇脱脂,滤渣加水煮,滤过,滤液浓缩,加无水乙醇沉淀、静置、滤过,得到巴戟天粗多糖。粗多糖加水复溶,Sevag法脱蛋白,30% H_2O_2 脱色、浓缩、沉淀,得巴戟天多糖样品。将巴戟天多糖配成5%水溶液,上到装有DEAE-fastflow琼脂糖凝胶的色谱柱(40 cm×3.5 cm)中,用纯水及0.2、0.5 mol/L NaCl溶液进行梯度洗脱,流动相的体积流量为2 mL/min,馏份收集管每2.5 min收集一管,每管5 mL。采用苯酚-硫酸法测定植物多糖中的糖量。粗多糖经过DEAE-Sephrose fastflow纯化,得到3个组分:MOHP-I、MOHP-II和MOHP-III。

MOHP-I配成1 mg/mL的溶液,在Waters 2695上用Ultrasphere 250 (300 mm×7.8 mm)柱检验纯度,检测器为示差检测器,流动相为超纯水,体积流量0.8 mL/min,进样量20 μL 。

按上述条件将6种相对分子质量(M)分别为1 000、5 000、12 000、25 000、50 000、80 000的葡聚糖对照品相继上样,记录保留时间 t_R ,以 t_R 为横坐标,lg M 为纵坐标绘制标准曲线,求得其回归方程,将待测样品MOHP-I进行同样操作,根据所得的 t_R ,通过回归方程计算MOHP-I的相对分子质量。

1.2.2 裂解条件 称取适量的MOHP-I样品,放入到裂解专用石英管中,两端塞入石英棉,然后置于热裂解仪的裂解头加热丝中。无氧裂解升温程序为:30 $^{\circ}\text{C}$ 保持1 min,再以10 $^{\circ}\text{C}/\text{ms}$ 升至300、600、900 $^{\circ}\text{C}$,保持15 s。裂解气为氦气,裂解产物直接由氦气导入GC-MS中进行定性和半定量分析。

有氧裂解升温程序为:30 $^{\circ}\text{C}$ 保持1 min,再以10 $^{\circ}\text{C}/\text{ms}$ 升至300、600、900 $^{\circ}\text{C}$,保持15 s;通入空气时间5 min,捕集管初始温度50 $^{\circ}\text{C}$,解吸温度280 $^{\circ}\text{C}$,解吸时间5 min。裂解仪传输线温度与阀温度280 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.2.3 气相色谱条件 DB-624柱(60 m×0.32 mm, 1.8 μm),进样口温度250 $^{\circ}\text{C}$,载气He,体积流量1 mL/min;升温程序:60 $^{\circ}\text{C}$ 保持1 min,以4 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至220 $^{\circ}\text{C}$,保持30 min,分流比10:1。

1.2.4 质谱条件 电子轰击离子源(EI)温度250 $^{\circ}\text{C}$;电子能量70 eV;扫描范围 m/z 40~350;传输线温度280 $^{\circ}\text{C}$ 。通过Nist05标准谱库检索定性,峰面积归一化法定量。

2 结果与讨论

多糖是大分子化合物,其纯度标准不能用通常小分子化合物的标准来衡量,纯度只代表某一多糖相似链长的平均分布,通常所说的多糖纯品实际上是一定相对分子质量范围的均一组分。

将收集到的MOHP-I冷冻干燥,得到白色粉末。MOHP-I配成1 mg/mL溶液,进Waters 2695,从图1可以看出,MOHP-I呈现单峰,并且对称。说明MOHP-I相对分子质量范围比较窄。根据MOHP-I的保留时间 t_R ,计算可得MOHP-I的 $M_n=2\ 150$, $M_w=2\ 536$, $D=1.18$ 。

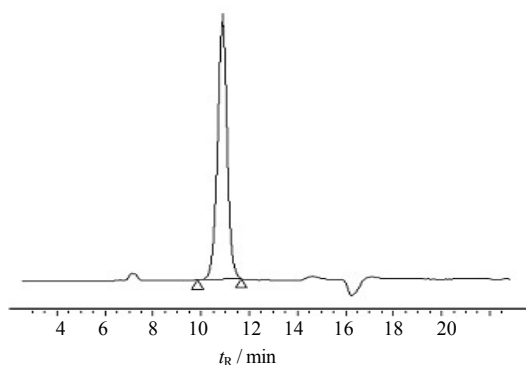


图1 在体积流量为0.8 mL/min下MOHP-I在HPGPC上的洗脱曲线

Fig. 1 Profile of MOHP-I in HPGPC with distilled water at 0.8 mL/min

卷烟在吸燃时,温度变化范围是从环境温度到900 $^{\circ}\text{C}$,其中3种典型温度300、600、900 $^{\circ}\text{C}$ 。由于吸阻效应裂解区处于缺氧环境,燃烧区有一些氧气进入,所以,本实验选择在无氧和大气氛围下,于300、600、900 $^{\circ}\text{C}$ 分别裂解MOHP-I。

分别测出300、600、900 $^{\circ}\text{C}$ 条件下MOHP-I无氧和有氧条件下裂解产物的总离子流图。用Nist05标准质谱库对裂解产物进行定性分析,结果见表1、2。

2.1 裂解产物成分分析

在无氧的条件下,300 $^{\circ}\text{C}$ 时,MOHP-I裂解出43个峰,鉴定出14个组分,占总面积的83.38%,主要为5-羟甲基糠醛、糠醛、D-阿洛糖、橙花醇、2,6-二甲基-2,6-辛二烯、苯基丙烯酸乙酯、2,5-二甲酰基呋喃、5-甲基糠醛,其中橙花醇、2,6-二甲基-2,6-辛二烯为300 $^{\circ}\text{C}$ 裂解特有物质,2个物质占总面积的9.73%;在600 $^{\circ}\text{C}$ 时,MOHP-I裂解出94个峰,鉴定出35个组分,占总面积的80.25%,与300 $^{\circ}\text{C}$

表1 无氧条件下 MOHP-I 的裂解产物

Table 1 Pyrolysates identified for MOHP-I in anaerobic conditions

序号	t_R/min	化合物	质量分数/%			序号	t_R/min	化合物	质量分数/%		
			300 °C	600 °C	900 °C				300 °C	600 °C	900 °C
1	5.51	2-甲基-1-丙烯			0.17	25	22.81	1,2-环戊二酮	0.21	0.7	0.49
2	6.37	呋喃		0.38	0.76	26	24.38	5-甲基糠醛	1.16	3.14	3.36
3	6.9	丙酮		1.2	1.06	27	24.95	苯并呋喃			0.41
4	7.35	1,3-环戊二烯		0.08	0.7	28	26.82	苯酚	0.4	0.4	0.66
5	8.70	2-甲基呋喃			0.93	29	26.92	1-苯基-1-丙炔			0.45
6	9.92	乙酸		0.93	0.88	30	27.15	甲基环戊烯醇酮		0.28	0.18
7	10.61	苯			1.56	31	27.28	5-甲基-2-乙酰基呋喃		0.21	0.18
8	10.96	2-丁烯醛		0.2	0.25	32	28.42	4-羟基-2,5-二甲基-3(2H)呋喃酮	0.14	0.18	0.15
9	11.52	2-乙基呋喃		0.08	0.07	33	29.25	邻甲基苯酚		0.12	0.23
10	11.66	2,5-二甲基呋喃		0.94	0.78	34	30.07	2,5-二甲酰基呋喃	2.52	3.05	3.44
11	12.04	羟基丙酮		0.56	0.45	35	31.14	2-甲基茚			0.22
12	12.65	乙烯呋喃		0.08	0.09	36	31.45	2-(2-甲基呋喃)-5-甲基呋喃		0.06	0.09
13	13.22	丙酸		0.12	0.14	37	32.47	2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4-氢-吡喃酮		2.11	1.68
14	14.13	4-甲基-2-戊烯		0.06	0.12	38	32.66	2,4-二甲基苯酚		0.21	0.24
15	14.37	甲苯		0.1	0.98	39	33.98	2,3-二甲基-苯酚			0.11
16	15.08	1,3-二甲基-1-环己烯		0.19	0.2	40	33.08	5-羟甲基糠醛	40.39	40.55	33.08
17	16.78	3-甲基苯酚		0.16	0.22	41	36.79	2,6-二甲基-2,6-辛二烯	3.67		
18	18.56	糠醛	17.47	17.04	17.14	42	38.01	橙花醇	6.06		
19	19.31	苯乙炔			0.09	43	38.27	5-乙酰氧基甲基-2-糠醛		0.56	0.42
20	19.70	2-呋喃甲醇		0.11	0.2	44	42.49	5-(2-甲基呋喃)-糠醛	0.22	0.18	0.24
21	19.83	苯乙烯			0.46	45	42.89	苯基丙烯酸乙酯	3.41	2.61	2.04
22	21.56	2-甲基环戊烯醇酮		0.09	0.08	46	45.24	乙酸丁香酚酯	0.1		
23	21.86	2-乙酰基呋喃		0.44	0.4	47	45.60	5-(5-甲基-糠醛)甲基糠醛		0.27	0.11
24	22.52	1-乙基-3-甲基苯			0.04	48	49.46	D-阿洛糖	7.63	2.86	1.94

表2 有氧条件下 MOHP-I 的裂解产物

Table 2 Pyrolysates identified for MOHP-I in aerobic conditions

序号	t_R/min	化合物	质量分数/%			序号	t_R/min	化合物	质量分数/%		
			300 °C	600 °C	900 °C				300 °C	600 °C	900 °C
1	5.28	乙醛		0.64	0.65	23	22.80	2-乙酰基呋喃		0.36	0.44
2	8.76	2-甲基呋喃		0.49	1.74	24	23.77	1,2-环戊二酮		0.45	0.56
3	9.21	2-丁酮			0.23	25	25.39	5-甲基糠醛	1.48	3.27	4.3
4	10.09	乙酸	3.69	1.93	1.56	26	27.83	苯酚	0.35	0.2	0.33
5	10.86	苯			0.27	27	28.22	3-甲基-1,2-环戊二酮		0.16	0.22
6	11.28	2-丁烯醛		0.19	0.28	28	28.35	5-甲基-2-乙酰基呋喃		0.16	0.24
7	11.88	2-乙基呋喃			0.08	29	29.15	4,5-二甲基-1,3-二氧环戊烯-2-酮		0.14	0.2
8	12.03	2,5-二甲基呋喃		0.65	1.08	30	29.27	间羟基苯甲醛		0.1	0.21
9	12.47	羟基丙酮		0.45	0.57	31	30.32	2-甲基苯酚		0.07	0.16
10	13.11	乙烯呋喃		0.1	0.15	32	30.67	2-甲基苯并呋喃			0.14
11	13.66	丙酸	0.17	0.14	0.13	33	31.10	4-氧代-戊酸	0.32	0.43	0.65
12	14.21	丙烯酸		0.09	0.07	34	31.25	2,5-二甲酰基呋喃	8.8	9.35	6.8
13	14.71	4-甲基-2-戊烯			0.06	35	32.55	2-(2-甲基呋喃)-5-甲基呋喃			0.11
14	14.94	甲苯			0.27	36	33.63	2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4-氢-吡喃酮	1.86	1.75	1.87
15	16.43	2,3,5-三甲基呋喃			0.09	37	33.79	2,4-二甲基苯酚			0.2
16	19.52	糠醛	17.91	15.23	14.3	38	36.87	5-乙酰氧基甲基-2-糠醛	1.2	1.66	1.88
17	20.55	2-呋喃甲醇		0.22	0.32	39	38.68	5-羟甲基糠醛	48.11	41.34	36.93
18	20.67	苯乙烯			0.1	40	39.03	5-乙酰氧基甲基-2-糠醛	0.39	0.42	0.36
19	21.29	5-甲基-2(3H)-呋喃酮		0.21	0.29	41	43.93	5-(2-甲基呋喃)-糠醛		0.14	0.16
20	21.93	2,5-呋喃二酮	0.22		0.08	42	44.32	苯基丙烯酸乙酯	3.83	1.6	0.98
21	22.49	2-甲基环戊烯醇酮		0.1	0.08	43	47.35	5-(5-甲基-糠醛)甲基糠醛		0.24	0.35
22	22.69	2-环戊烯-1,4-二酮		0.34	0.14	44	51.62	D-阿洛糖	0.97	0.61	0.37

相比, 增加很多低相对分子质量的物质, 主要为呋喃类化合物, 如 2,5-二甲基呋喃、5-乙酰氧基甲基-2-糠醛等; 还有一些低相对分子质量的醛类、酸类等, 如丙酮、乙酸等。在 900 °C 时, MOHP-I 裂解出 125 个峰, 鉴定出 45 个组分, 占总面积的 77.49%, 随温度增加后, 主要的组分物质和 600 °C 相似, 但是增加很多苯环类化合物, 如苯、苯乙烯、苯乙炔、1-乙基-3-甲基苯、苯并呋喃等, 大约占总面积的 3%。

在有氧条件下, 300 °C 时, MOHP-I 裂解出 31 个峰, 鉴定出 14 个组分, 占总面积的 89.3%, 主要为 5-羟甲基糠醛、糠醛、苯基丙烯酸乙酯、2,5-二甲酰基呋喃、乙酸、2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4-氢-吡喃酮、5-甲基糠醛、5-乙酰氧基甲基-2-糠醛; 在 600 °C 时, MOHP-I 裂解出 84 个峰, 鉴定出 33 个组分, 占总面积的 82.23%, 和无氧条件下 600 °C 的裂解产物一样, 与 300 °C 相比, 也是增加很多低相对分子质量的物质以及呋喃类化合物, 但是有氧条件下, 增加了二酮类物质, 如 2-环戊烯-1,4-二酮、3-甲基-1,2-环戊二酮、4-氧代-戊酸等含氧物质, 但它们的量都在 1% 以下, 既说明在有氧条件下, 产生了与无氧条件下不同的物质, 又说明在有氧条件下, 并没有改变 MOHP-I 的主要裂解反应; 在 900 °C 时, MOHP-I 裂解出 121 个峰, 鉴定出 44 个组分, 占总面积的 80%, 温度增加后, 也主要增加很多苯环类化合物, 如苯、苯乙烯、苯并呋喃等, 还有一些进一步裂解的小分子物质和进一步聚合的分子如 2-丁酮、4-甲基-2-戊烯、2,3,5-三甲基呋喃、2-(2-甲基呋喃)-5-甲基呋喃等。

2.2 裂解产物种类分析

从无氧和有氧条件分析鉴定的物质种类看, 以 900 °C 为例, 可以分为 3 大类, 第 1 类为杂环类化合物, 主要有呋喃类化合物, 其中又以糠醛类化合物为主。无氧和有氧条件下分别鉴定出的 45 和 44 个组分中, 呋喃类化合物有 17 和 19 种, 占 61.65% 和 69.52%。

从图 2 可见, 在有氧条件下, 生成的呋喃类化合物总物质的比例要多于无氧条件下, 在有氧条件下随温度增加, 呋喃类总量呈下降趋势, 这可能是葡萄糖和果糖的环状结构, 尤其是果糖的五环结构有利于裂解形成糠醛类化合物, 特别是 5-羟甲基糠醛的形成, 温度升高后甲基和羟甲基断裂生成糠醛; 而无氧时, 600 °C 量最高, 呈折线状, 是由于 600 °C,

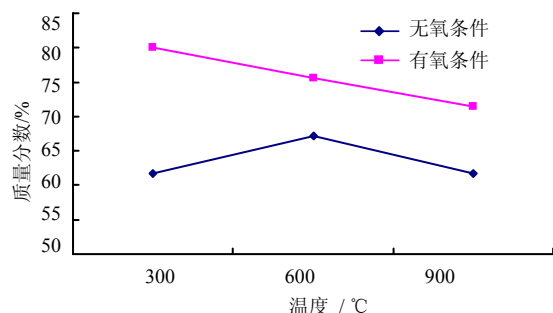


图 2 两种条件下呋喃类化合物量的变化

Fig. 2 Content changes of furan compounds in two conditions

5-羟甲基糠醛较 300 °C 时没有降低, 而其他小分子呋喃糠醛类增加了。5-羟甲基糠醛稳定性欠佳, 还可以随温度增加后进一步分解为小分子酸或是聚合。

第 2 类就是一些酮、醛、酯和酸类化合物, 如丙酮、2-丁烯醛、乙酸丁香酚酯、乙酸、丙酸等。在有氧条件下较无氧时, 主要增加了 2-环戊烯-1,4-二酮、3-甲基-1,2-环戊二酮、4-氧代-戊酸。

第 3 类是一些有害化合物苯及其同系物, 如苯、苯乙烯、苯乙炔、1-乙基-3-甲基苯、苯并呋喃等。由于高温提供大量的能量, 或通过自由基反应, 使低温燃烧裂解的小分子化合物产生聚合, 形成稳定性好的苯及同系物、稠环化合物, 同时也形成一些杂环的芳香化合物。

研究还发现, MOHP-I 裂解后产生很多对烟香有帮助的物质, 除一些小分子的挥发性物质外, 特别是 5-甲基糠醛、5-羟甲基糠醛对烟香有重要作用, 吡喃酮和呋喃酮类化合物能够提供给卷烟香气的甜烤香、焦糖香气^[6]。

2.3 裂解机制分析

对 MOHP-I 裂解产生主要的呋喃类化合物, 特别是糠醛类化合物要从结构上推理。多糖发生裂解过程时, 首先进行链剪切作用, 发生逆醇醛缩合反应, 再进行下一步的裂解, 形成小分子^[7]。因为巴戟天多糖 MOHP-I 经鉴定主要由果糖和葡萄糖组成, 摩尔比为 14:1, 所以其裂解产物主要由这两种糖裂解产生。以下就以果糖残基和葡萄糖残基的裂解分析呋喃类化合物的产生^[1]。从图 3 可以看出果糖残基通过链的剪切后, 失去 3 个水形成 5-羟甲基-2-糠醛, 与表 1、2 的结果一致, 即无论在有氧和无氧条件下, 量最大的物质为 5-羟甲基糠醛。而葡萄糖残基经过一系列脱水, 最后形成 2-呋喃甲醇, 从表 1、2 中的物质也可以看到, 但是由于在 MOHP-I

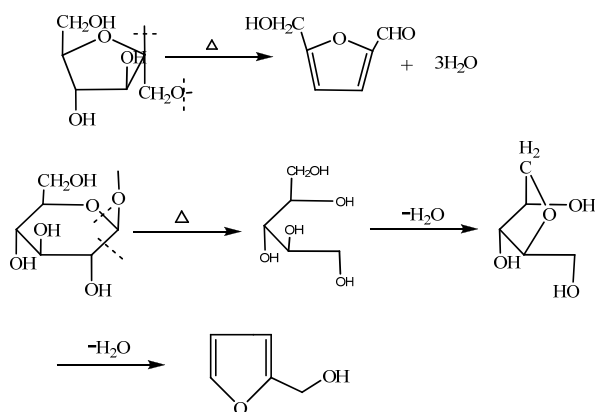


图 3 果糖残基和葡萄糖残基裂解形成呋喃类化合物的机制

Fig. 3 Pyrolysis mechanism of furan compounds from fructose residue and glucose residue

中占的比例较小, 故在裂解产物中其量也比较小。

另外, 5-羟甲基糠醛稳定性欠佳, 可进一步分解, 产生糠醛和一些小分子的酸类等, 这个可以从表 1、2 的结构得到验证。近年来有研究发现, 5-羟甲基糠醛具有抗氧化、抗心肌缺血等作用^[8]。

3 结论

首次对 MOHP-I 进行了裂解实验, 对无氧和有氧条件下产生的物质进行成分鉴定, 对裂解产物进行了归类分析和比较。在两种条件下, 裂解产物并

没有太大变化, 并且发现 MOHP-I 在裂解出的化学成分上, 有害成分不多, 主要在 900 °C 出现少量的苯的同系物, 但产生很多对烟气有好处的香味物质。

参考文献

- [1] 董宁宁. 碳水化合物热裂解气相色谱-质谱研究 [J]. 质谱学报, 2004, 25(1): 24-28.
- [2] 王彦亭. 依靠科技进步促进中式卷烟发展 [J]. 中国烟草学报, 2005, 11(1): 8-12.
- [3] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986.
- [4] 中国药材公司. 中国常用中药材 [M]. 北京: 科学出版社, 1995.
- [5] 朱孟勇, 赫长胜, 王彩娇. 巴戟天多糖对骨质疏松大鼠骨密度及血清微量元素的影响 [J]. 中草药, 2010, 41(9): 1513-1515.
- [6] 毛多斌, 马宇平, 梅业安. 卷烟配方和香精香料 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2001.
- [7] 钱和生, 林丹丽. 裂解气相色谱质谱法研究甲壳素裂解作用 [J]. 东华大学学报: 自然科学版, 2007, 33(4): 529-533.
- [8] 傅紫琴, 王明艳, 蔡宝昌. 5-羟甲基糠醛 (5-HMF) 在中药中的研究现状探讨 [J]. 中华中医药学刊, 2008, 26(3): 508-510.