

Научная статья

УДК 663.97:543.544.5

DOI: 10.17586/2310-1164-2022-15-4-25-30

## Количественное изменение никотина в табачном сырье в процессе естественной ферментации под прессом

И.В. Моисеев<sup>1</sup>, Д.А. Карманов<sup>2\*</sup>, В.В. Лёзный<sup>2</sup>, Д.Д. Кириллов<sup>1</sup><sup>1</sup>Московский государственный университет пищевых производств, Россия, Москва<sup>2</sup>Погарская сигаретно-сигарная фабрика, Россия, Брянская обл., Погар, \*denis.karmanov.91@mail.ru

**Аннотация.** Исследовали количественное изменение основного алкалоида табака – никотина, во время естественной ферментации табачного сырья под прессом с целью оценки его потребительских качеств. Разработали методику количественного определения никотина в табачном сырье методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с предварительным получением водных экстрактов по методу Сокслета. В качестве анализируемых образцов использовались трубочный и сигарный бленды. Процесс ферментации образцов осуществлялся при температуре 20°C и относительной влажности воздуха 70%. Определение никотина проводилось на жидкостном хроматографе со спектрофотометрическим детектором на длине волны 254 нм методом внешнего стандарта. Предварительно для внешнего стандарта были определены его хроматографические характеристики, такие как время удерживания, высота пика и площадь пика. Выявлена зависимость содержания никотина в образцах табака от времени ферментации в течение 6 месяцев. Показано, что в процессе ферментации наблюдается уменьшение содержания никотина для всех видов табачных смесей. При этом наиболее интенсивное количественное изменение происходит в интервале 1–3 месяца. Убыль никотина в этот период составила 21,0–26,9%. Полученные данные могут быть использованы для организации технологического процесса при формировании вкусоароматического профиля готовой табачной продукции.

**Ключевые слова:** табачное сырье; никотин; ферментация; высокоэффективная жидкостная хроматография

Original article

## Quantitative change of nicotine in tobacco raw materials during natural fermentation under pressure

Igor V. Moiseev<sup>1</sup>, Denis A. Karmanov<sup>2\*</sup>, Valerii V. Leznyy<sup>2</sup>, Daniil D. Kirillov<sup>1</sup><sup>1</sup>Moscow State University of Food Production, Moscow, Russia<sup>2</sup>Pogor Cigarette & Cigar Factory, Pogor, Bryansk region, Russia  
\*denis.karmanov.91@mail.ru

**Abstract.** Fermentation of tobacco raw materials is an integral part of the technological process, in which tobacco acquires its consumer qualities. During this period, there are significant qualitative and quantitative changes in its chemical composition. The purpose of this work was to study the quantitative change in the main alkaloid of tobacco – nicotine – during natural fermentation under pressure. For this purpose, a method was developed for the quantitative determination of nicotine in tobacco raw materials by high-performance liquid chromatography (HPLC) with preliminary preparation of aqueous extracts by the Soxlet method. Pipe and cigar blends were used as the analyzed samples. Fermentation of the samples was carried out at a temperature of 20°C and a relative humidity of 70%. Nicotine determination was carried out on a liquid chromatograph with a spectrophotometric detector at a wavelength of 254 nm by an external standard method. Previously, its chromatographic characteristics, such as retention time, peak height and peak area, were determined for the external standard. The studies revealed the dependence of the nicotine content in tobacco samples on the fermentation time for 6 months. Chromatography results showed that during fermentation there is a decrease in the nicotine content for all types of tobacco blends. At the same time, the most intense quantitative change occurs in the interval of 1–3 months. The decrease in nicotine during this time period was 21.0–26.9%. The obtained data can be used to manage the technological process at the formation of the flavor profile for finished tobacco products.

**Keywords:** tobacco; nicotine; fermentation; high-performance liquid chromatography

## Введение

Ферментация табачного сырья представляет собой комплекс сложных биохимических и физико-химических процессов, в результате которых табачное сырье приобретает необходимые товарные качества, а также устойчивость к хранению [1]. На данном технологическом этапе за счет реакций окисления и процесса диффузии закономерно снижается содержание никотина в табаке, что положительно влияет на его вкусовые характеристики [2].

Технологии ферментации табака различны, и условия подбираются в зависимости от поставленной задачи. Так, например, для ускорения ферментации разработан ряд технологий при повышенных температурах (50–60°C) в аэробных и анаэробных условиях [3–5]. Уменьшение времени ферментации интенсифицирует производство, что наиболее важно для реализации табачной продукции массового применения. Время процесса ферментации табака уменьшается на порядок и обычно не превышает 3–10 суток.

Однако, очевидное на первый взгляд преимущество данной технологии имеет значительный недостаток: нагревание ведет к деструкции и улетучиванию ароматических веществ, что ухудшает качество табачного сырья. В связи с этим во избежание потерь ароматических компонентов табака используется технология естественной ферментации в условиях близких к природным.

Естественная ферментация или «старение табака», с одной стороны, достаточно длительный процесс (6–18 месяцев), с другой – в полной мере сохраняет все вкусоароматические компоненты табака, что наиболее важно для ароматических сортов [6]. Такой деликатный подход характерен для производства табачной продукции премиум-класса.

Уменьшение времени процесса ферментации табака при нагревании объясняется с точки зрения химической кинетики гетерогенных процессов. Влияние температуры на скорость протекания гетерогенных реакций не однозначно, но в подавляющем большинстве случаев приводит к их ускорению. В то же время повышение давления также способствует росту скорости реакций, но без потери летучих ароматических веществ за счет термической деструкции.

В связи с этим, целью исследования стало изучение количественного изменения основного алкалоида табака – никотина, во время естественной ферментации под давлением (прессом).

Для достижения поставленной цели было необходимо проанализировать имеющиеся современные методы количественного анализа никотина, а при необходимости разработать собственную методику определения никотина в табачном сырье. Анализ научной литературы показал, что наиболее точные и достоверные результаты достигаются современными методами капиллярного электрофореза (КЭ) [7, 8], газовой хроматографии (ГХ) на капиллярных колонках [9], полярографии [10] и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) [11, 12]. Высокая селективность и чувствительность, возможность анализа неустойчивых и летучих веществ, быстрота и воспроизводимость, определили выбор метода ВЭЖХ как наиболее перспективного и удобного [13].

Однако, отсутствие в научной литературе какой-либо методики количественного определения никотина методом ВЭЖХ в растительном материале потребовало разработать собственную методику определения никотина в табачном сырье с предварительным получением водных экстрактов по методу Сокслета [14].

## Объекты и методы исследований

В качестве объектов исследований были взяты образцы табачного сырья (блендов) нескольких видов: трубочный табак, сигарный табак и тот же сигарный табак, обработанный глюкозо-фруктозным сиропом в количестве 10% от массы табачного сырья. Состав глюкозо-фруктозного сиропа включал в себя 40% фруктозы и 35% глюкозы, остальное – вода. Перед закладкой на ферментацию образцы сырья выравнялись по влажности до 13%.

Табачные смеси закладывались на естественную ферментацию под прессом на срок 6 месяцев при температуре 20°C и относительной влажности воздуха 70%. Каждый месяц отбирались пробы для определения в них количества никотина. Реперной точкой в выявлении зависимостей выбраны образцы после первого месяца ферментации. Это обусловлено тем, что в течение первого месяца достигается

необходимое для получения корректных результатов равновесное состояние. В этот период времени выравниваются влажность и давление между слоями спрессованного табака. Также, приложенное давление разрушает растительные клетки, что способствует высвобождению и смешиванию химических веществ (в том числе и никотина) между компонентами бленда.

Из навесок образцов методом Сокслета получали водные экстракты с дальнейшим их анализом на содержание никотина методом внешнего стандарта. Экстрагирование осуществлялось в аппарате Сокслета в течение 4 ч [15].

Определение никотина проводилось на жидкостном хроматографе Dionex Ultimate 3000 со спектрофотометрическим детектором на длине волны 254 нм, в обращенно-фазовом режиме изократического элюирования ВЭЖХ. Подвижная фаза – 15% ацетонитрила и 85% воды со скоростью потока 0,3 см<sup>3</sup>/мин и при температуре термостата колонок равной 30°C. Использовалась хроматографическая колонка Agilent Poroshell 120 EC-C18 (2,7 мкм; 2,1 x 150 мм). Для предотвращения загрязнения хроматографической колонки окрашенными продуктами и коллоидными частицами, аликвоту экстракта предварительно пропускали через предколонку Phenomenex C-8 ODS (4 x 3 мм). Перед получением хроматограмм колонку стабилизировали в течение 5–6 ч, промывая подвижной фазой. Аликвотная часть раствора объемом 20 мм<sup>3</sup> вводилась с помощью петлевого дозатора.

В качестве стандартного образца использовался никотин (CAS № 54-11-5) фирмы Sigma-Aldrich с чистотой основного вещества не менее 99,98%. Стандартный раствор никотина (0,264 г/дм<sup>3</sup>) готовили растворением навески никотина массой 0,0264 г в 100 см<sup>3</sup> дважды перегнанной дистиллированной воды.

Для стандартного образца были получены следующие хроматографические характеристики: время удерживания – 1,265 мин, интенсивность – 4697 мЕОП, площадь пика – 149,88 мЕОП·мин.

Хроматограмма стандартного образца никотина представлена на рисунке 1.

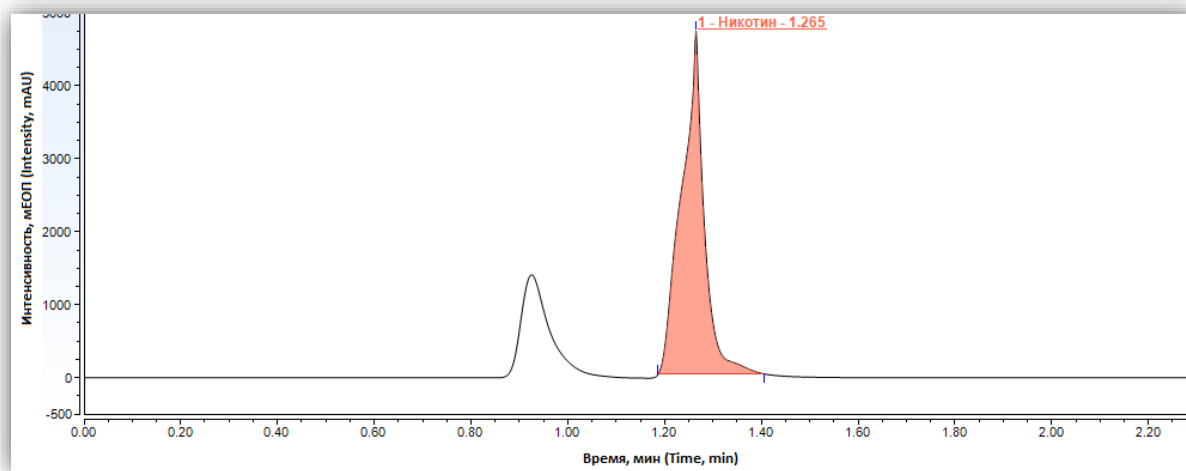


Рисунок 1 – Хроматограмма стандартного образца никотина  
Figure 1. Chromatogram of a standard nicotine sample

Концентрация никотина в экстрактах определялась из соотношения площадей пиков экстрактов табака и стандартного раствора никотина. Истинная концентрация определялась как среднеарифметическое значение трех повторных измерений. Исходя из навесок образцов табака с помощью дальнейших математических операций, был произведен перерасчет из концентрации никотина в экстрактах в массовую долю в табачном сырье.

## Результаты и обсуждение

Результаты хроматографии показали уменьшение содержания никотина во времени для всех образцов. При этом наиболее интенсивное количественное изменение происходит в интервале 1–3 месяца ферментации (рисунок 2).

Можно сделать вывод, что именно в первые три месяца происходит основное формирование вкусовых характеристик табака, обусловленных никотином. В этот период времени убыль никотина

для трубчатого табака составила 26,9%, для сигарного табака и того же сигарного табака, обработанного глюкозо-фруктозным сиропом, 23,4 и 21,0% соответственно.

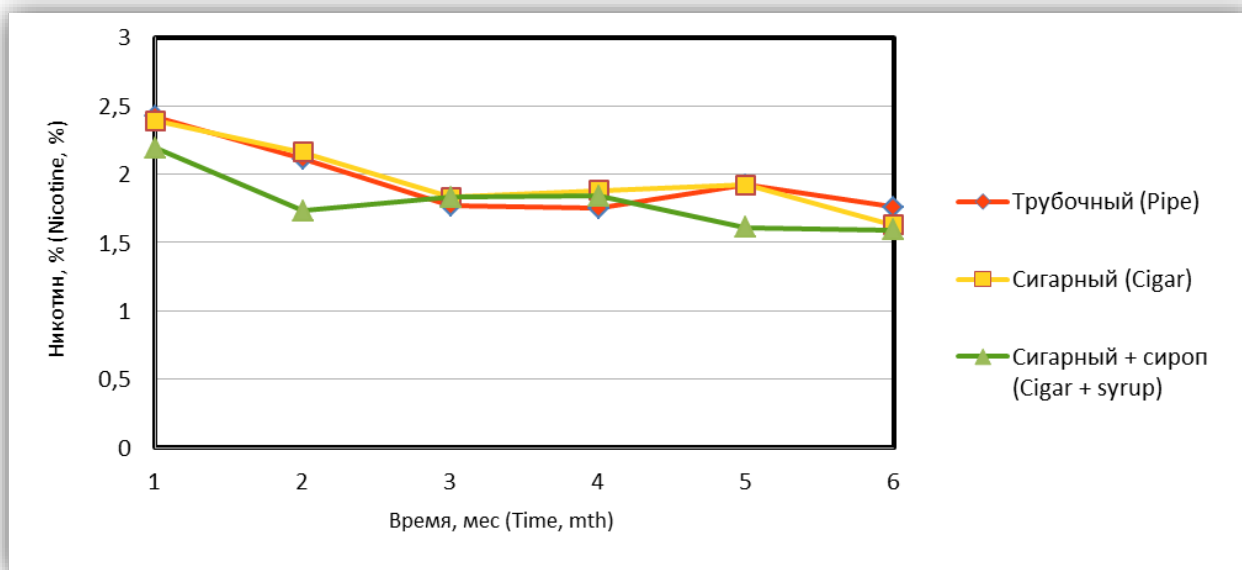


Рисунок 2 – Динамика количественного изменения никотина в образцах табака  
Figure 2. Dynamics of quantitative changes of nicotine in tobacco samples

Анализ образцов с последующей ферментацией (3–6 месяца) местами показал результаты, иногда с ростом никотина относительно предыдущих образцов. Это может быть связано с неравномерным распределением табаков в бленде с разным содержанием никотина, а также с падением интенсивности окислительных и диффузионных процессов до такой степени, что подобные изменения вписываются в погрешность метода анализа. Тем не менее, в общей картине динамика количественного изменения никотина при последующей ферментации вполне очевидна.

За остаточный период времени содержание никотина для трубчатого табака упало лишь на 0,4%. Следовательно, для данного бленда физико-химические процессы с участием никотина практически прекращаются и по истечении 3 месяцев дальнейшее «старение» подобного сырья не имеет практического значения.

Для сигарных блендов последующая ферментация хотя и имеет место, но ее интенсивность значительно снижается. Убыль никотина выросла еще на 8,4% для сигарного табака и 6,4% аналогичного табака, обработанного сиропом.

## Заключение

В целом, результаты исследований подтверждают общее положение об уменьшении содержания никотина в процессе «старения» табака. Следовало ожидать и падение интенсивности физико-химических процессов с участием никотина по мере уменьшения его массовой доли в табачном сырье.

Исследования показали, что повышение давления, пусть в меньшей мере чем температура, но существенно увеличивает скорость естественной ферментации. При этом, как было отмечено, отсутствуют побочные термоокислительные процессы и улетучивание ароматических веществ, присущие ферментации при повышенных температурах. Полученные данные, несомненно, имеют практический интерес и могут быть использованы для организации технологического процесса при формировании вкусоароматического профиля готовой табачной продукции.

Следует учитывать, что исследования проводились на табачном сырье с достаточно высоким содержанием никотина (более 2%). Таким образом, для аналогичного сырья можно ожидать улучшения его качества за счет снижения физиологической крепости. Для табака с низким содержанием никотина (до 1%) динамика количественного изменения может отличаться от выше представленной. К тому же сам

процесс «старения» для подобного сырья будет нежелательным – сырье станет «пустым», без каких-либо вкусоароматических свойств, присущих качественному табаку.

## Литература

1. Моисеев И.В., Еделев Д.А., Мойсеяк М.Б., Лёзный В.В., Приходько Р.П., Симдянова Т.П. Ферментативные изменения углеводного и белкового комплекса табачного сырья при изготовлении трубочного табака Кавендиш // Пиво и напитки. 2014. № 6. С. 48–52.
2. Моисеев И.В., Пуздрова Н.В., Кутуков С.А. Определение органолептических и химических характеристик трубочного табака // Пищевая промышленность. 2007. № 9. С. 76–77.
3. Кинцурашвили К.М., Мелкадзе Р.Г. Сравнительные показатели способов ферментации табака // Пиво и напитки. 2006. № 4. С. 58.
4. Адиев М.М., Сакиев А.Э. Совершенствование ферментации табака // Известия вузов. Пищевая технология. 1999. № 2-3. С. 74.
5. Эшанкулов С.С., Татарченко И.И., Мохначев И.Г. Особенности ферментации табачного сырья в условиях ограниченного доступа воздуха // Известия вузов. Пищевая технология. 1998. № 4. С. 31–33.
6. Кинцурашвили К.М. Процесс «старения» табачного сырья // Пиво и напитки. 2006. № 1. С. 46–47.
7. Виноградова А.К., Офицеров Е.Н. Определение никотина в растительном сырье при помощи капиллярного электрофореза // Успехи в химии и химической технологии. 2020. Т. 34. № 7. С. 56–57.
8. Никоноров В.В., Лифшиц Л.М., Киреева М.С. Определение никотина в табаке методом капиллярного электрофореза // Вестник Санкт-Петербургского университета. Физика и химия. 2014. Т. 1. № 2. С. 254–260.
9. Zuo Y., Zhang L., Wu J., Fritz J.W., Medeiros S., Rego C. Ultrasonic extraction and capillary gas chromatography determination of nicotine in pharmaceutical formulations. *Analytica Chimica Acta*. 2004, V. 526, Is. 1, pp. 35–39. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2004.09.035>
10. Hannisdala A., Mikkelsenb Ø., Schröderb K.H. Analysis of nicotine in antismoking pharmaceutical products by differential pulse polarography and voltammetry. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*. 2007, V. 72, Is. 9, pp. 1207–1213. DOI:10.1135/cccc20071207
11. Ведищева Д.В., Соболева И.Г. Изучение условий определения остаточных количеств неоникотиноидных инсектицидов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Сорбционные и хроматографические процессы. 2009. Т. 9, № 1. С. 154–163.
12. Shaik F.B., Nagajothi G., Swarnalatha K., Kumar C.S., Maddu N. Quantification of nicotine and cotinine in plasma, saliva, and urine by HPLC method in chewing tobacco users. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2019, V. 20, Is. 12, pp. 3617–3623. DOI: 10.31557/APJCP.2019.20.12.3617
13. Хацаюк А.С., Павлова О.Е., Эхова М.Э. Роль и значение высокоэффективной жидкостной хроматографии в практике высокотехнологичных лабораторных исследований // Здоровье. Медицинская экология. Наука. 2016. № 3. С. 215–219. DOI: 10.18411/hmes.d-2016-146
14. Jensen W.B. The origin of the Soxhlet extractor. *J. Chem. Educ.* 2007, V. 84, no. 12, pp. 1913–1914. <https://doi.org/10.1021/ed084p1913>
15. Федоренко Б.Н., Бородулин Д.М., Просин М.Д., Шафрай А.В., Лобасенко Б.А., Головачева Я.С. Определение рациональных технологических параметров работы экстрактора Сокслета при получении спиртовой настойки из ягод клюквы // Техника и технологии пищевых производств. 2020. Т. 50, № 1. С. 115–123. DOI: 10.21603/2074-9414-2020-1-115-123

## References

1. Moiseev I.V., Edelev D.A., Moiseyak M.B., Liozniy V.V., Prihodko R.P., Simdianova T.P. Enzymatic changes in carbohydrate and protein complex raw tobacco in the manufacture of pipe tobacco cavendish. *Beer and Beverages*. 2014, no. 6, pp. 48–52. (In Russian)
2. Moiseev I.V., Puzdrova N.V., Kutukov S.A. Determination of organoleptic and chemical characteristics of pipe tobacco. *Food Industry*. 2007, no. 9, pp. 76–77. (In Russian)
3. Kincurashvili K.M., Melkadze R.G. Comparative parameters of ways of tobacco fermentation. *Beer and Beverages*. 2006, no. 4, p. 58. (In Russian)
4. Adiev M.M., Sakiev A.E. Improving tobacco fermentation. *Izvestia Vuzov. Food Technology*. 1999, no. 2-3, p. 74. (In Russian)
5. Eshankulov S.S., Tatarchenko I.I., Mohnachev I.G. Features of fermentation of tobacco raw materials in conditions of limited air access. *Izvestia Vuzov. Food Technology*. 1998, no. 4, pp. 31–33. (In Russian)
6. Kincurashvili K.M. The process of "aging" of tobacco raw materials. *Beer and Beverages*. 2006, no. 1, pp. 46–47. (In Russian)

7. Vinogradova A.K., Ofitserov E.N. Determination of nicotine in natural raw materials by electrophoresis. *Uspekhi v khimii i khimicheskoi tekhnologii*. 2020, V. 34, no. 7, pp. 56–57. (In Russian)
8. Nikonorov V.V., Lifshits L.M., Kireeva M.S. Determination of nicotine in tobacco by capillary electrophoresis. *Vestnik of St. Petersburg University. Physics and Chemistry*. 2014, V. 1, no. 2, pp. 254–260. (In Russian)
9. Zuo Y., Zhang L., Wu J., Fritz J.W., Medeiros S., Rego C. Ultrasonic extraction and capillary gas chromatography determination of nicotine in pharmaceutical formulations. *Analytica Chimica Acta*. 2004, V. 526, Is. 1, pp. 35–39. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2004.09.035>
10. Hannisdala A., Mikkelsenb Ø., Schrøderb K.H. Analysis of nicotine in antismoking pharmaceutical products by differential pulse polarography and voltammetry. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*. 2007, V. 72, Is. 9, pp. 1207–1213. <https://doi.org/10.1135/cccc20071207>
11. Vedishcheva D.V., Soboleva I.G. The investigation of conditions of neonicotinoid insecticides residue detection by HPLC method. *Sorption and Chromatography Processes*. 2009, V. 9, no. 1, pp. 154–163. (In Russian)
12. Shaik F.B., Nagajothi G., Swarnalatha K., Kumar C.S., Maddu N. Quantification of nicotine and cotinine in plasma, saliva, and urine by HPLC method in chewing tobacco users. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2019, V. 20, Is. 12, pp. 3617–3623. DOI: 10.31557/APJCP.2019.20.12.3617
13. Hatsayuk A.S., Pavlova O.E., ECHOVA M.E. Role and importance of high-performance liquid chromatography in the practice of high-tech laboratory. *Health. Medical Ecology. Science*. 2016, no. 3, pp. 215–219. DOI: 10.18411/hmes.d-2016-146
14. Jensen W.B. The origin of the Soxhlet extractor. *J. Chem. Educ.* 2007, V. 84, no. 12, pp. 1913–1914. <https://doi.org/10.1021/ed084p1913>
15. Fedorenko B.N., Borodulin D.M., Prosin M.D., Shafray A.V., Lobasenko B.A., Golovacheva Ya.S. Rational technological parameters of the Soxhlet extractor in the production of alcoholic extracts from cranberries. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2020, V. 50, no. 1, pp. 115–123. DOI: 10.21603/2074-9414-2020-1-115-123 (In Russian)

#### Информация об авторах

Игорь Викторович Моисеев – д-р техн. наук, профессор кафедры кондитерских, сахаристых, субтропических и пищевкусковых технологий

Денис Александрович Карманов – руководитель научно-аналитической лаборатории

Валерий Владимирович Лёзный – заместитель генерального директора по технологии

Даниил Дмитриевич Кириллов – аспирант

#### Information about the authors

Igor V. Moiseev, Dr. Sci., Professor of the Department of Confectionery, Sugary, Subtropical and Food-Tasting Technologies

Denis A. Karmanov, Head of the Scientific and Analytical Laboratory

Valerii V. Leznyy, Deputy General Director for Technology

Daniil D. Kirillov, Postgraduate student

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflicts of interests

Статья поступила в редакцию 01.11.2022

Одобрена после рецензирования 28.11.2022

Принята к публикации 02.12.2022

The article was submitted 01.11.2022

Approved after reviewing 28.11.2022

Accepted for publication 02.12.2022