



引用格式:许春平,曲利利,姜宇,等.微紫青霉果胶酶降解再造烟叶高浓混合浆中果胶的研究[J].轻工学报,2019,34(1):27-35.

中图分类号:TS41 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2019.01.004

文章编号:2096-1553(2019)01-0027-09

微紫青霉果胶酶降解再造烟叶 高浓混合浆中果胶的研究

Study on the pectin from high-concentrated mixed slurry of reconstituted tobacco degraded by pectinase of *Penicillium janthinellum*

许春平¹,曲利利¹,姜宇¹,马宇平²,孙斯文¹,王宣静¹,
熊亚妹¹,王小飞³,郝辉^{1,2}

XU Chunping¹,QU Lili¹,JIANG Yu¹,MA Yuping²,SUN Siwen¹,WANG Xuanjing¹,
XIONG Yamei¹,WANG Xiaofei³,HAO Hui^{1,2}

1. 郑州轻工业大学 食品与生物工程学院,河南 郑州 450001;
2. 河南中烟工业有限责任公司 技术中心,河南 郑州 450002;
3. 河南卷烟工业烟草薄片有限公司,河南 许昌 461100

1. College of Food and Biology Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China;

2. Technical Center, China Tobacco He'nan Industrial Co., Ltd., Zhengzhou 450002, China;

3. He'nan Cigarette Industry Tobacco Sheet Co., Ltd., Xuchang 461100, China

关键词:
微紫青霉;果胶酶;再
造烟叶;果胶降解率

Key words:
Penicillium
janthinellum;
pectinase; reconstituted
tobacco; pectin
degradation rate

摘要:为降低再造烟叶中的果胶含量,采用单因素试验和正交试验对微紫青霉产果胶酶降解果胶的工艺条件进行优化,分析了酶解前后样品的热裂解产物,并将酶解后样品抄造制丝添加至卷烟中进行感官评价,结果表明:微紫青霉产果胶酶降解果胶的最佳反应条件为酶活力 3000 U/mL,高浓混合浆干重与粗酶液体积的料液比 1:1,反应温度 50 ℃,处理时间 3 h. 在此条件下果胶降解率达到最大,为 28.63%,相对分子量由 341 kDa 减小到 55 kDa. 酶解后样品裂解产物的组成和含量发生明显变化,除醇类物质外,其他香味物质酚类、醛酮类、酯类、杂环类减少. 将酶解后的样品抄造制丝添加于卷烟中,香气质丰满细腻,透发性、甜润感增强,刺激性减小,余味纯净舒适,吸食品质得以改善,但劲头略有不足.

收稿日期:2017-12-25;修回日期:2018-11-01

基金项目:国家自然科学基金联合基金项目(U1604176);河南中烟有限责任公司对外合作项目(HN2Y102014012)

作者简介:许春平(1977—),男,河南省焦作市人,郑州轻工业大学教授,博士,主要研究方向为烟草工程.

通信作者:郝辉(1979—),男,河南省许昌市人,河南中烟工业有限责任公司工程师,主要研究方向为烟草化学.

Abstract: In order to reduce the content of pectin in reconstituted tobacco, the degradation process of pectin by pectinase of *Penicillium janthinellum* was optimized by single factor method and orthogonal design. Then the pyrolysis products of samples prior to and after enzymatic hydrolysis were analyzed. Moreover, the enzymatic hydrolysis samples were added to the cigarette for sensory evaluation. The results showed that the optimum conditions for pectin degradation by pectinase of *penicillum janthinellum* were as follows: enzyme activity 3000 U/mL, the ratio of liquid to solid 1 : 1, reaction temperature 50 °C, treatment time 3 h. Under this condition, the degradation rate of pectin reached 28.63%. After enzymolysis, the molecular weight of pectin reduced from 341 kDa to 55 kDa. The composition and content of pyrolysis products changed obviously. Besides alcohols substance, other flavor components decreased such as phenols, aldehydes and ketones, esters and heterocyclic. When the enzymatic hydrolysis samples were added to the cigarette, the aroma of cigarette sucking was rich and delicate, the penetration and sweetness increased, the irritation decreased and the after-taste was pure and comfortable, thereby improving the quality of cigarette sucking with slightly weak strength.

0 引言

果胶是构成烟草细胞壁的主要物质之一,在烟草中的含量约占 5% ~ 13% (若无特指,百分数均为质量分数),它是以半乳糖醛酸为主链,并连接着 2 - 吡喃型鼠李糖基的复合多糖类物质^[1-3]. 这类物质在热解时会产生甲醇,并进一步氧化为甲醛、甲酸等,这些氧化产物会增加烟草燃吸时的刺激性,对烟草的内在品质和安全性产生不利影响^[4-6],对人体有害. 因此,适当降低烟叶中果胶的含量,对于提升烟叶品质、降低卷烟危害,具有重要的意义.

烟草果胶降解通常采用生物酶解方法. 施林燕^[7]通过对烟梗丝施加复合酶,使烟梗丝中的果胶含量降低 13.08%. 于建军等^[8]研究发现,对烟叶施加果胶酶后会使烟草香气物质含量增加 29.94%,可能是由于施加果胶酶后使烟叶中总糖含量增加所致. 于兴伟等^[9]采用固态发酵法用黑曲霉处理烟梗,发现烟草中果胶含量也明显降低. 马东萍等^[10]选用复合中性纤维素酶、酸性蛋白酶、复合果胶酶和中性脂肪酶配制成一种改性添加剂,这种改性添加剂可对烟梗中果胶、蛋白质等大分子化合物进行有效的生物降解和转化,从而改善萃取液中的致香物质. 柏婷^[11]利用生物酶解技术和化学技术对

果胶进行降解. 结果表明,当果胶酶质量分数为 0.5% 时,烟草中果胶含量由 18.61% 降低至 9.52%,且再造烟叶烟香较浓,刺激性明显下降,感官品质也得到明显改善. 然而,利用微紫青霉生产果胶酶并将其应用于烟草果胶降解的报道则相对较少^[12-14]. 鉴于此,本研究拟采用从烟田土壤中分离出的微紫青霉 (*Penicillium janthinellum*) sw09 菌株,根据该菌株高产果胶酶的特性,利用其粗酶液对造纸法再造烟叶混合浆料进行果胶降解处理,并进一步开展化学分析和感官质量评价,以期对烟叶品质提升和卷烟危害成分降低研究提供参考和借鉴.

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

供试材料:配方烟丝,河南中烟工业有限责任公司提供;高浓混合浆,取自河南烟草工业薄片有限公司工艺生产线;果胶酶为由郑州轻工业大学食品科学与工程学院实验室筛选的微紫青霉 sw09 产出的粗果胶酶液,即发酵上清液.

试剂:3,5 - 二硝基水杨酸 (DNS),天津市光复精细化工研究所产;果胶标准品(酯化度 67% ~ 70%), Sigma-Aldrich 公司产;D - (+) - 半乳糖醛酸一水化合物标准品(纯度 97%) 和 0.15% 的咪唑溶液,天津市光复精细化工研究所产.

仪器: ATY124 型电子分析天平, 日本岛津公司产; Ultra3400 型紫外分光光度计, 北京普源精电科技有限公司产; HH-2 型电热恒温水浴锅, 北京科伟永兴仪器有限公司产; Agilent6890/5973 型气质联用仪, 安捷伦科技有限公司产; CDSPYROPROBE2000 裂解仪, 上海光谱仪器有限公司产。

1.2 实验方法

1.2.1 微紫青霉产果胶酶粗酶液的获取 将活化后的微紫青霉 sw09 接种至发酵培养基(质量浓度分别为葡萄糖 50 g/L, 酵母浸粉 3 g/L, KH_2PO_4 1 g/L, 果胶 2 g/L, pH = 5)^[15]。发酵条件为: 5 L 发酵罐培养, 搅拌速度 150 r/min, 通气量 2 V/(V · min), 发酵温度 32 °C, 初始 pH = 5, 发酵时间 72 h。待发酵结束后, 将发酵液离心取上清液, 即为果胶酶粗酶液^[16]。

1.2.2 微紫青霉产果胶酶粗酶液降解混合浆中果胶单因素试验 酶活的定义为: 在 45 °C, pH = 5 条件下, 1.0 mL 酶液每 min 分解果胶产生 1.0 μg 的 D-半乳糖醛酸, 即为一个酶活单位(1 U/mL)。通过单因素试验研究不同酶活力、酶解时间和反应温度条件下, 微紫青霉产果胶酶粗酶液对混合浆中果胶含量的降解情况。

1.2.2.1 不同酶活力的粗酶液降解果胶能力的试验^[17] 将不同酶活力的粗酶液(14 000 U/mL, 6000 U/mL, 3000 U/mL, 1000 U/mL, 700 U/mL 和 450 U/mL), 以料液比(m (混合浆干重/g) : V (粗酶液体积/mL), 下同)为 1 : 3 的比例均匀喷施于 10 g 混合浆上, 在 50 °C 下酶解 2.0 h。待酶解结束后, 置于 70 °C 烘箱中使酶灭活, 测定各处理组样品果胶含量, 每组试验重复 3 次。

1.2.2.2 不同酶解时间下粗酶液降解果胶能力的试验 将酶活力为 14 000 U/mL 的粗酶液, 以料液比 1 : 3, 均匀喷施于 10 g 混合浆上, 在 50 °C 下分别酶解 0.5 h, 1.0 h, 1.5 h, 2.0 h,

2.5 h 和 3.0 h。待酶解结束后, 置于 70 °C 烘箱中使酶灭活, 测定各处理组样品果胶含量, 每组试验重复 3 次。

1.2.2.3 不同料液比降解果胶能力的试验

将酶活力为 14 000 U/mL 的粗酶液, 以不同料液比(1 : 1, 1 : 3, 1 : 5, 1 : 7 和 1 : 9)均匀喷施于 10 g 混合浆上, 在 50 °C 下酶解 2.0 h。待酶解结束后, 置于 70 °C 烘箱中使酶灭活, 测定各处理组样品果胶含量, 每组试验重复 3 次。

1.2.2.4 不同反应温度下粗酶液降解果胶能力的试验

将酶活力为 14 000 U/mL 的粗酶液, 以料液比 1 : 3, 均匀喷施于 10 g 混合浆上, 分别在 30 °C, 35 °C, 40 °C, 45 °C, 50 °C 和 55 °C 条件下酶解 2.0 h。待酶解结束后, 置于 70 °C 烘箱中使酶灭活, 测定各处理组样品果胶含量, 每组试验重复 3 次。

1.2.3 正交试验设计 根据单因素试验结果设计正交试验, 以果胶降解率为优化目标, 对酶活力、酶解时间、料液比、反应温度等果胶降解条件进行优化。

1.3 测定方法

1.3.1 果胶含量测定方法 分别称取 5 g(精确至 0.001 g)经果胶酶处理前后的样品进行粉碎, 过 250 目筛。然后参考刘玉佳等^[18]的方法对样品中的果胶含量进行定量分析。

根据咔唑比色法测定果胶含量, 以 D-(+)-半乳糖醛酸一水化合物为标准品。首先移取 1 mL 待测液于装有 6 mL 浓 H_2SO_4 的试管, 摇匀。在 85 °C 水浴条件下加热 15 min。待试管冷却后, 加入 0.3 mL 0.15% 的咔唑无水乙醇溶液, 摇匀, 暗置 30 min 后在 530 nm 下测吸光度值。根据咔唑比色法标准曲线和下列公式, 计算待测液中果胶含量^[19]。

$$\text{果胶含量} = C \times V \times K \times 100 / (W \times 10^6)$$

式中, C 为对照标准曲线求得的果胶提取稀释液的果胶含量/($\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-1}$), V 为果胶提取液原

液体积/ mL , K 为果胶提取液稀释倍数, W 为样品质量/ g , 10^6 为质量单位换算系数。

实验组和对照组果胶含量的测定按照上述方法进行, 果胶降解率的计算公式如下:

$$E_i = (C_0 - C_i) / C_0 \times 100\%$$

式中, E_i 为果胶的降解率/ $\%$, C_0 为空白对照样中果胶水解生成的半乳糖醛酸的质量浓度/ $(\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1})$, C_i 为加酶处理的样品中果胶水解生成的半乳糖醛酸的质量浓度/ $(\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1})$ [13]。

1.3.2 果胶相对分子量的测定 在 1.3.1 中总果胶提取液中加入质量浓度为 0.1 g/mL 的活性炭进行脱色, 脱色完成后离心提取上清液进行旋蒸, 待旋蒸至原体积 $1/5$ 后加入 1.5 倍体积的无水乙醇用于沉淀果胶, 静置、离心得到果胶粗品后再复溶以 Sevage 法 [18] 除蛋白, 再经醇沉、离心、冷冻干燥得到果胶粉末。

用浓度为 0.2 mol/mL 的 NaCl 缓冲液平衡 Sepharose CL-6B 凝胶柱, 每 5 min 收集一管洗脱液, 洗脱速度为 1.5 mL/min 。用 2 mL 质量浓度为 5 mg/mL 的标准葡聚糖 ($T-150, T-70, T-40, T-10$) 分别上样, 采用苯酚-硫酸法 [20] 在波长 490 nm 处跟踪显色, 峰值处为洗脱体积 V_e , 标准糖的分配系数 $K_{av} = (V_e - V_0) / (V_t - V_0)$, 其中 V_t 为柱床体积/ mL , V_0 为外水体积/ mL 。以 K_{av} 为横坐标, 葡聚糖标准品分子量的对数 ($\log M$) 为纵坐标绘制标准曲线。在相同条件下测定酶解前后果胶的 V_e/mL , 根据标准曲线计算其相对分子量。

1.3.3 热裂解产物的测定 称取一定量酶解前后的样品置于裂解装置中, 对裂解产物进行重复测定。裂解条件参考郝辉等 [13] 的方法。试验重复 3 次, 结果取平均值。

1.4 感官评价

在正交试验得到的最佳酶解条件下, 对高浓混合浆进行酶解, 然后抄造切丝, 按烟丝重量

15% 的比例与配方烟丝均匀混合后上机卷制。酶解处理后的样品作为试验组, $100 \text{ }^\circ\text{C}$ 煮沸灭活酶液处理后的样品作为对照组, 蒸馏水处理后的样品作为空白组。

按照标准要求 [21], 将处理前后的烟丝进行卷制, 然后在 $(22 \pm 2) \text{ }^\circ\text{C}$, $(60 \pm 5)\%$ 相对湿度的恒温恒湿箱中平衡 48 h 后进行感官评价。

2 结果与分析

2.1 果胶酶解的单因素试验结果

图 1 为酶活力、酶解时间、料液比和反应温度对果胶降解率的影响。由图 1 可以看出, 随着酶活力的减小, 样品中果胶的降解率呈现逐渐减小的趋势。当酶活力达到 3000 U/mL 后, 进一步增加酶活力对样品果胶的降解率无明显影响。因此选择酶活力为 14000 U/mL , 6000 U/mL , 3000 U/mL 的粗酶液作为正交试验设计中酶活力的 3 个水平。果胶的降解率随酶解时间的延长而增大。当酶解时间增加到 2.5 h 时, 样品中果胶的降解率达到最大值, 接近 28% 。因此选择酶解时间 2.0 h , 2.5 h 和 3.0 h 作为正交试验设计中酶解时间的 3 个水平。料液比对样品中果胶的降解率的影响不大, 因此选择料液比 $1:1, 1:3, 1:5$ 作为正交试验设计中料液比的 3 个水平。随反应温度的升高, 样品中果胶的降解率呈现先增大后减小的趋势。当反应温度为 $45 \text{ }^\circ\text{C}$ 时, 果胶的降解率达到最大值, 接近 28% 。因此选择温度 $40 \text{ }^\circ\text{C}$, $45 \text{ }^\circ\text{C}$ 和 $50 \text{ }^\circ\text{C}$ 作为正交试验设计中反应温度的 3 个水平。

2.2 正交试验优化结果

根据以上单因素试验结果, 选取酶活力 (A), 料液比 (B), 酶解温度 (C), 反应时间 (D) 4 种因素设计 $L_9(3^4)$ 的正交试验方案, 试验结果和方差分析结果分别见表 1 和表 2。

对表 1 中极差 R 值大小进行比较可知, 各个因素对降解率的影响由大到小依次为: 反应

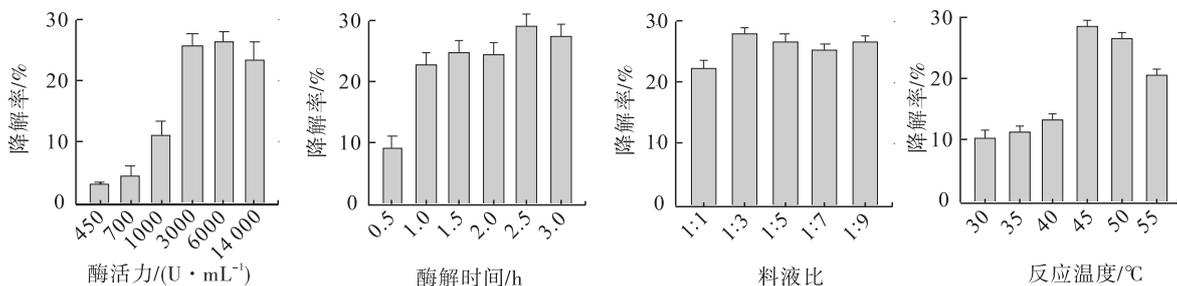


图1 酶活力、酶解时间、料液比和反应温度对果胶降解的影响

Fig. 1 Effect of enzymatic activity, hydrolysis time, solid-liquid ratio and reaction temperature on pectin degradation

表1 微紫青霉果胶酶降解高浓混合浆中果胶的正交试验结果

Table 1 Orthogonal test results of pectin degradation in high-concentrated mixed slurry by pectinase of *P. janthinellum*

试验号	A /(U · mL ⁻¹)	B	C/℃	D/h	果胶降解率/%
1	14 000	1 : 1	40	2.0	18.12 ± 0.58
2	14 000	1 : 3	45	2.5	15.26 ± 1.78
3	14 000	1 : 5	50	3.0	28.40 ± 2.62
4	6000	1 : 1	45	3.0	27.50 ± 3.52
5	6000	1 : 3	50	2.0	25.58 ± 1.53
6	6000	1 : 5	40	2.5	12.90 ± 4.45
7	3000	1 : 1	50	2.5	26.24 ± 1.25
8	3000	1 : 3	40	3.0	27.34 ± 0.99
9	3000	1 : 5	45	2.0	19.49 ± 2.56
R	3.73	3.66	7.32	9.65	
较优水平	A ₃	B ₁	C ₃	D ₃	
主次因素		D > C > A > B			

A₃B₁C₃D₃. 在该最优组合条件下进行验证,果胶的降解率达到最大 28.63%. 杨慧芳^[22]以酶活力 1 467.29 U/mL 的青霉 JXY-17 发酵粗酶液在 50 ℃ 条件下酶解烟梗 12 h, 果胶质降低 29.38%. 与其结果相比,本研究的酶活力更高,降解效果相似,但酶解时间大大缩短,更适用于工业生产. 施林燕^[7]以工业复合酶酶解烟梗丝 4 h,果胶降解 13.08%. 与其结果相比,本研究的降解效果大大提升.

从表 2 可以看出,反应温度和反应时间的 *F* 值均大于 $F_{0.01}(2, 18) = 6.01$, 说明反应温度和反应时间对果胶的降解率影响极显著;酶活力和料液比的 *F* 值均大于 $F_{0.05}(2, 18) = 3.55$, 但小于 $F_{0.01}(2, 18) = 6.01$, 说明酶活力和料液比对果胶的降解率影响显著.

2.3 相对分子量的测定结果

以分配系数(K_{av})为横坐标、葡聚糖标准品分子量的对数($\log M$)为纵坐标作标准曲线,结果如图 2 所示. 其线性回归方程为

时间 > 反应温度 > 酶活力 > 料液比. 其中酶活力以 3000 U/mL 为最优,料液比以 1 : 1 为最优,酶解温度以 50 ℃ 为最优,反应时间以 3.0 h 为最优,4种因素对果胶降解率的最优组合为

表2 方差分析结果

Table 2 Results of variance analysis

变异来源	平方和	自由度	均方	<i>F</i> 值	F_{α}	显著性
A	65.84	2	32.92	5.83	$F_{0.05}(2, 18) = 3.55$	*
B	60.36	2	30.18	5.34		*
C	275.17	2	137.59	24.35	$F_{0.01}(2, 18) = 6.01$	**
D	426.21	2	213.11	37.72		**
误差	101.63	18	5.65			
总和	929.22	26				

$$y = -5.4858x + 6.5379 \quad R^2 = 0.9937$$

由此计算得出的高浓混合浆中果胶相对分子量为 341 kDa, 经果胶酶处理后样品中果胶的平均相对分子量明显降低至 55 kDa, 说明经微紫青霉果胶酶处理后, 样品中果胶大分子得到有效降解。

2.4 样品酶处理前后热裂解产物分析

实验选择 300 °C、600 °C 和 900 °C 共 3 个温度对高浓混合浆酶解前后的热裂解产物进行裂解分析。结果发现, 在裂解温度为 600 °C 时裂解物质最多, 裂解效果最好, 因此本实验仅列出热裂解温度为 600 °C 的结果。根据官能团不同, 将检测出的化合物分为 7 类, 分析结果见表 3。

从表 3 可以看出, 与原样品相比, 混合浆经酶解后香气组分和含量均发生了变化。其中, 18 种酚类物质总量由 7.10% 减少到 0.63%, 以苯酚、邻甲酚、对甲酚的减少最为明显, 酚类物质含量的下降有助于减少杂气的生成。果胶热裂解生成乙酸^[8], 酶解后的果胶含量降低, 乙酸含量由 12.71% 减少到 10.65%, 减轻了烟气吸味的刺激性。烟气中酚类物质和羧酸类物质部分来自于果胶的分解, 由于果胶被果胶酶酶解, 导致裂解产物中酚类物质和羧酸类物质下降^[23]。酶解后含氮杂环类物质总含量降低, 由 5.98%

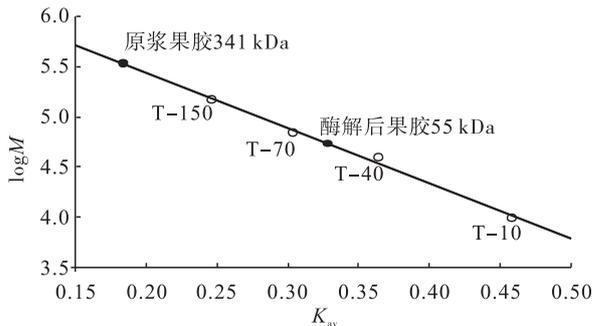


图2 凝胶过滤法测定酶解前后混合浆中果胶相对分子量

Fig. 2 Molecular weight of pectin in mixed slurry before and after enzymatic hydrolysis determined by gel filtration

降至 4.28%, 其中烟碱由 2.2% 降低至 1.88%, 减少了有毒物质的生成。酶解后醇类物质总量由 2.51% 增加到 2.83%。酶解后样品中醛酮类含量由 16.27% 减少到 15.45%, 由于烟草热裂解过程中产生的大部分挥发性羰基类物质是在纤维素、半纤维素、木质素和果胶等裂解之后的燃烧过程中形成的, 因此果胶被降解, 会导致烟草热裂解后挥发性羰基类物质含量下降^[24], 醛酮类物质含量下降有可能会影响卷烟的风格特性, 但是可以通过加香加料或者增加配方烟丝的用量进行弥补。

2.5 感官评价结果

感官评吸结果见表 4。由表 4 可知, 将经过微紫青霉产果胶酶处理的高浓混合浆抄造制丝加入卷烟后, 卷烟香气质丰满细腻, 烟气透发性更好, 甜润感增强, 刺激性减轻, 也减少了烟气中的杂气, 口感发涩程度减小且余味纯净舒适, 吸食品质得以改善, 但劲头略有不足。

3 结论

本文通过单因素试验和正交试验对微紫青霉产果胶酶降解高浓混合浆中果胶的工艺条件进行了优化, 对酶解前后样品的热裂解产物进行了分析, 并将酶解后样品添加至卷烟中进行感官评价, 得到如下结论。

1) 微紫青霉酶降解高浓混合浆中果胶的最优条件为: 酶活力 3000 U/mL, 料液比 1:1, 酶解温度 50 °C, 处理时间 3 h, 此时样品中果胶降解率为 28.63%, 果胶分子量由 341 kDa 降低至 55 kDa。

2) 酶解后样品的热裂解产物中, 除醇类外, 其他香味物质醛酮类、酯类、杂环类等的含量均减少。

3) 将酶解后的高浓混合浆抄造制丝加入卷烟后, 卷烟香气质丰满细腻, 烟气透发性更好, 甜润感增强, 刺激性减轻, 也减少了烟气中

表3 高浓混合浆酶解处理前后样品裂解产物分析结果

Table 3 Results of pyrolysis products of pectin degradation in high-concentrated mixed slurry before and after pectinase treatment

类别	裂解成分	匹配度/%	相对峰面积百分比* /%	
			原样品	酶处理后
烷烃 烯烃类	顺-1,3-戊二烯	90	6.85 ± 0.01 ^a	5.42 ± 0.02 ^b
	2-己烯	83	0.38 ± 0.03 ^a	—
	环庚烷	89	0.40 ± 0.10 ^a	—
	1,2-二甲基环己烯	96	0.17 ± 0.11 ^a	—
	1-癸烯	93	—	0.06 ± 0.10 ^a
	2,4-己二烯	80	0.09 ± 0.02 ^a	—
	右旋萘二烯	99	0.97 ± 0.07 ^a	—
	双戊烯	98	—	0.13 ± 0.00 ^a
	顺-2-壬烯	84	—	0.18 ± 0.00 ^a
	1-异丙基-1-环己烯	83	0.09 ± 0.01 ^a	—
	1,4-戊二烯	80	—	0.01 ± 0.01 ^a
	1-十一烯	87	0.03 ± 0.02 ^a	—
	1-十二烯	97	—	0.07 ± 0.00 ^a
	1-十三烯	98	0.05 ± 0.02 ^a	0.08 ± 0.02 ^a
	3-十四碳烯	97	0.10 ± 0.00 ^a	—
	1-十四烯	99	0.23 ± 0.00 ^a	0.08 ± 0.02 ^b
	1-十五烯	99	—	0.04 ± 0.01 ^a
	正十五烷	95	0.04 ± 0.00 ^a	—
合计	18种		9.40 ± 0.21 ^a	6.04 ± 0.18 ^b
醇类	丙醇	92	0.65 ± 0.00 ^a	—
	1,3-丙二醇单甲醚	92	—	1.72 ± 0.02 ^a
	甲基乙二醇	84	0.27 ± 0.01 ^a	—
	糠醇	98	0.72 ± 0.00 ^a	1.11 ± 0.01 ^b
	反-2-癸烯-1-醇	68	0.61 ± 0.04 ^a	—
	甲基苯甲醇	80	0.26 ± 0.06 ^a	—
合计	6种		2.51 ± 0.09 ^a	2.83 ± 0.11 ^b
醛酮类	2,3,4-三甲氧基-6-甲基苯酚	87	2.72 ± 0.00 ^a	—
	1-羟基-2-丙酮	83	5.27 ± 0.03 ^a	10.59 ± 0.02 ^b
	甲基仲丁基酮	84	0.77 ± 0.02 ^a	—
	过氧化乙酰丙酮	92	1.52 ± 0.02 ^a	1.58 ± 0.02 ^b
	4-环戊烯-1,3-二酮	91	0.38 ± 0.00 ^a	0.53 ± 0.02 ^a
	2-羟基-2-环戊烯酮	87	0.59 ± 0.03 ^a	1.30 ± 0.01 ^a
	2-环己烯-1-酮	70	0.09 ± 0.02 ^a	—
	1-(乙酰氧基)-2-丁酮	83	0.21 ± 0.03 ^a	0.09 ± 0.02 ^b
	3-甲基-2-环戊烯酮	95	0.58 ± 0.01 ^a	—
	2-甲基-2-环己烯-1-酮	90	0.11 ± 0.01 ^a	—
	3-甲基环戊烷-1,2-二酮	93	1.42 ± 0.02 ^a	—
	甲基环戊烯醇酮	96	0.68 ± 0.01 ^a	0.85 ± 0.03 ^b
	2,3-二甲基-2-环戊烯-1-酮	94	0.49 ± 0.02 ^a	—
	苯甲醛	76	0.16 ± 0.03 ^a	0.11 ± 0.02 ^a
2-羟基-3,4-二甲基-2-环戊烯-1-酮	76	0.33 ± 0.00 ^a	—	
甲基苯基酮	84	0.12 ± 0.02 ^a	—	
3-乙基-2-环戊烯-1-酮	87	0.24 ± 0.03 ^a	—	
3-乙基-2-羟基-2-环戊烯-1-酮	96	0.45 ± 0.01 ^a	0.21 ± 0.03 ^b	
3'-甲基苯乙酮	93	—	0.20 ± 0.02 ^a	
1-茛酮	94	0.12 ± 0.01 ^a	—	
合计	20种		16.27 ± 0.22 ^a	15.45 ± 0.10 ^a

续表3
Table 3

类别	裂解成分	匹配度/%	相对峰面积/%	
			原样品	酶处理后
含氮及杂环类	1-甲基-1H-吡咯	94	0.08 ± 0.00 ^a	0.66 ± 0.06 ^b
	吡啶	91	0.32 ± 0.01 ^a	—
	吡咯	86	1.28 ± 0.03 ^a	0.83 ± 0.01 ^b
	2-甲基嘧啶	73	0.08 ± 0.02 ^a	—
	4-氧代丁腈	70	0.18 ± 0.03 ^a	—
	3-甲基吡咯	94	0.20 ± 0.03 ^a	—
	2-乙酰基呋喃	80	0.17 ± 0.00 ^a	—
	5-甲基-2-糠醛	97	0.36 ± 0.04 ^a	0.80 ± 0.02 ^b
	3-乙烯基吡啶	87	—	0.10 ± 0.01 ^a
	5-氨基-3,4-二甲基异噻唑	70	0.08 ± 0.10 ^a	—
	2-乙基吡咯	84	0.12 ± 0.12 ^a	—
	1-茛酮	94	0.12 ± 0.03 ^a	—
	吡啶	96	0.08 ± 0.00 ^a	—
	烟碱	97	2.20 ± 0.02 ^a	1.88 ± 0.03 ^b
	合计	14种		5.98 ± 0.02 ^a
酯类及内酯类	丙酮酸甲酯	92	1.49 ± 0.03 ^a	1.72 ± 0.05 ^b
	1,2-乙二醇单乙酸酯	70	1.08 ± 0.01 ^a	1.72 ± 0.03 ^b
	γ-丁内酯	87	0.30 ± 0.02 ^a	—
	α-亚甲基-γ-丁内酯	73	0.48 ± 0.02 ^a	—
	乙酸异胡薄荷酯	72	—	0.20 ± 0.02 ^a
合计	5种		2.39 ± 0.02 ^a	1.92 ± 0.03 ^b
苯环及酚类	苯酚	97	0.87 ± 0.03 ^a	0.27 ± 0.04 ^b
	邻甲酚	98	0.45 ± 0.00 ^a	—
	对甲酚	97	0.68 ± 0.02 ^a	0.06 ± 0.01 ^a
	甲基儿茶酚	94	0.72 ± 0.01 ^a	0.14 ± 0.01 ^b
	甲基麦芽酚	96	0.32 ± 0.01 ^a	0.16 ± 0.03 ^b
	1,3-二甲苯-4-酚	96	0.17 ± 0.00 ^a	—
	连邻二甲苯酚	89	0.14 ± 0.01 ^a	—
	对乙基苯酚	94	0.36 ± 0.00 ^a	—
	4-甲基愈创木酚	95	0.37 ± 0.00 ^a	—
	2-甲氧基-4-乙基苯酚	87	0.14 ± 0.01 ^a	—
	邻异丙基苯硫酚	88	0.10 ± 0.02 ^a	—
	2-甲氧基-4-乙烯基苯酚	93	0.35 ± 0.01 ^a	—
	邻苯三酚 1,3-二甲醚	91	0.06 ± 0.00 ^a	—
	异丁香酚	98	0.15 ± 0.01 ^a	—
	甲苯	94	1.49 ± 0.02 ^a	—
	氯苯	86	0.47 ± 0.00 ^a	—
	茛	82	0.12 ± 0.02 ^a	—
	2-丁烯基苯	84	0.12 ± 0.01 ^a	—
合计	18种		7.10 ± 0.11 ^a	0.63 ± 0.09 ^a
羧酸类	乙酸	91	12.71 ± 0.02 ^a	10.65 ± 0.02 ^b
	环丙甲酸	78	1.15 ± 0.01 ^a	—
	异戊酸	77	—	0.14 ± 0.00 ^a
	植醋酸	80	0.1 ± 0.00 ^a	—
合计	4种		13.96 ± 0.12 ^a	10.79 ± 0.06 ^b

注:同行均为上角码^a时,表示5%水平上无显著性差异;同行为上解码^a和^b时,表示5%水平上差异显著;—表示未检出

表4 感官评价结果

Table 4 Results of sensory evaluation 分

组别	香气质	香气量	杂气	浓度	劲头	刺激性	余味
试验组	4	4	5	3	3	5	4
对照组	4	4	4	4	4	4	3
空白组	3	4	4	4	4	3	3

的杂气,口感发涩程度减小且余味纯净舒适,吸食品质得以改善,但劲头略有不足。

参考文献:

- [1] 刘蓓. 微生物发酵降解造纸法烟草薄片有害前体物的研究[D]. 广州:华南理工大学, 2013:53-54.
- [2] 刘耀飞,常纪恒,于川芳. 烟梗中果胶的酶法降解[J]. 烟草科技,2013(8):40.
- [3] KAR F, ARSLAN N. Effect of temperature and concentration on viscosity of orange peel pectin solutions and intrinsic viscosity-molecular weight relationship[J]. Carbohydrate Polymers, 1999, 40:277.
- [4] 王月侠,葛善礼,贾涛. 烟梗化学组成的分析[J]. 烟草科技,1996(3):16.
- [5] 闫克玉. 烟草化学[M]. 郑州:郑州大学出版社,2002.
- [6] 吴玉萍,杨光宇,王东丹. 高效液相色谱法测定烟草中的果胶含量[J]. 光谱实验室,2004, 21:183.
- [7] 施林燕. 微生物发酵及酶解烟梗物料的研究[D]. 无锡:江南大学:2012:37-38.
- [8] 于建军,马海燕,杨寒文,等. 利用果胶酶降解烟叶中果胶的研究[J]. 江西农业学报,2009(3):136.
- [9] 于兴伟,许赣荣,汤朝起. 黑曲霉固态发酵及酶解烟梗条件的研究[J]. 食品工业科技, 2012,24(24):195.
- [10] 马东萍,卫青,周谨,等. 一种再造烟叶改性添加剂及其制备和使用方法:1947606A[P]. 2006-10-23.
- [11] 柏婷. 造纸法再造烟叶果胶降解技术研究[D]. 昆明:昆明理工大学,2014.
- [12] 许春平,郝辉,孙斯文,等. 果胶酶高产菌微紫青霉 SW09 的鉴定及发酵特征[J]. 湖北农业科学,2016,55(2):337.
- [13] 郝辉,陈芝飞,宋金勇,等. 微紫青霉(*Penicillium janthinellum* sw09)发酵产果胶酶降解烟梗果胶的条件优化及产物分析[J]. 西南农业学报,2015,28(6):2756.
- [14] 马宇平. 微紫青霉(*Penicillium janthinellum* sw09)发酵产果胶酶降解烟梗果胶产物对比分析[C]//中国化学会、国家自然科学基金委员会. 中国化学会第二届全国质谱分析学术报告会会议摘要集. 北京:中国化学会、国家自然科学基金委员会,2015:1.
- [15] 郝辉,李萌姍,张展,等. 果胶酶降解混合浆果胶的条件优化及热裂解分析[J]. 湖北农业科学,2016,55(3):710.
- [16] 刘战民,陆兆新,吕凤霞,等. 毕赤酵母工程菌原果胶酶的分离纯化[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2006(1):79.
- [17] 王天龙,仇宏伟,陈海华,等. 3,5-二硝基水杨酸法测定果胶酶活力的条件研究[J]. 食品与机械,2008,36(3):96.
- [18] 刘玉佳,孔繁东,刘兆芳,等. 桔梗多糖 Sevag 法除蛋白工艺的研究[J]. 中国调味品,2014(4):5.
- [19] 柯斧,孙莹莹. 秦山巴区野生豆腐木叶片中果胶含量的测定[J]. 陕西农业科学,2013(5):36.
- [20] 范海涛,张虎成,曲伟,等. 结合换算因子的苯酚-硫酸法测定红茶菌培养液中水溶性多糖含量的研究[J]. 天然产物研究与开发,2014(26):715.
- [21] 国家烟草专卖局科技教育司. GB5606—2005《卷烟》系列国家标准宣贯教材[M]. 北京:中国标准出版社,2005.
- [22] 杨慧芳. 降解烟梗果胶质微生物筛选及产果胶酶的研究[D]. 无锡:江南大学,2012:41-42.
- [23] 李晓亮,郑赛晶,王志华,等. 烟草及其主要组分的热分析质谱研究[J]. 化学研究与应用, 2013,25(5):670.
- [24] 胡永华,宁敏,张晓宇,等. 不同热失重阶段烟草的裂解产物[J]. 烟草科技,2015,48(3):66.