



引用格式:许春平,孙懿岩,姜宇,等.芽孢杆菌生物制剂对复烤后烟叶化学成分的影响[J].轻工学报,2019,34(3):34-41.

中图分类号:TS41 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2019.03.004

文章编号:2096-1553(2019)03-0034-08

芽孢杆菌生物制剂对复烤后烟叶化学成分的影响

Effects of *Bacillus* biologics on chemical composition of redried tobacco

许春平¹,孙懿岩¹,姜宇¹,刘鸿²,邹克兴²,苏赞²,孙建生²,
李季刚²,杨龙彦²,龙章德²

XU Chunping¹,SUN Yiyang¹,JIANG Yu¹,LIU Hong²,ZOU Kexing²,SU Zan²,
SUN Jiansheng², LI Jigang², YANG Longyan², LONG Zhangde²

1. 郑州轻工业大学 食品与生物工程学院,河南 郑州 450001;
2. 广西中烟工业有限责任公司 技术中心,广西 南宁 530001
1. College of Food and Bioengineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China;
2. Technical Center, China Tobacco Guangxi Industrial Co., Ltd., Nanning 530001, China

关键词:

芽孢杆菌生物制剂;
固态发酵;烟叶化学成分;
香味物质;石油醚提取物

Key words:

Bacillus biologics; solid-state fermentation;
tobacco chemical composition;
aromatic substance;
petroleum ether extract

摘要:从烟叶表面筛选出3株可能用于烟叶增香提质的菌株,即高地芽孢杆菌Y2(*Bacillus altitudinis*)、地衣芽孢杆菌D3(*Bacillus licheniformis*)、枯草芽孢杆菌L1(*Bacillus subtilis*),将其组成单一和复配生物制剂对烟叶进行固态发酵,研究芽孢杆菌生物制剂对烟叶常规化学成分、香味物质和石油醚提取物含量的影响。结果表明:采用单一菌株对烟叶进行固态发酵后,烟叶的总糖和还原糖含量均下降,烟叶中的羰基类、酸类、酯类等香味物质含量均增加,香味成分也更为丰富。采用复配菌株生物制剂对烟叶进行固态发酵后,烟叶的总糖和还原糖含量均下降,Y2+L1复配处理可有效降低烟碱的含量并提高糖碱比;但菌株复配后并未呈现对香味成分产生影响的叠加效应,而是在一些香味物质上表现出完全相反的趋势。D3处理或者Y2+D3复配处理能提高石油醚提取物含量,表现出较强的生香作用。

收稿日期:2019-01-04

基金项目:广西中烟有限责任公司对外合作项目(20171540)

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:龙章德(1970—),男,广西省桂林市人,广西中烟工业有限责任公司高级农艺师,博士,主要研究方向为烟草工程。

Abstract: Three strains screened from the surface of tobacco leaves could be used for improving tobacco aroma: *Bacillus altitudinis* (Y2), *Bacillus licheniformis* (D3), and *Bacillus subtilis* (L1). They were prepared to single and compound biologics for solid-state fermentation of tobacco, then the routine chemical components, aroma substances of tobacco and petroleum ether extract were detected. The results showed that: the total sugar and reducing sugar content of tobacco leaves decreased after solid-state fermentation of tobacco was inoculated with single strains. The content of aroma substance such as carbonyls, acids and esters in tobacco leaves increased, and the aroma components were also richer. After solid-state fermentation with compound biological agents, the total sugar and reducing sugar content of tobacco leaves decreased, and the treatment consisting of Y2 + L1 compound treatment could effectively reduce the content of nicotine and increase the ratio of sugar to alkali. It did not show superposition effect on the aroma components and, on the contrary, it exhibited a completely opposite trend on some aroma substances. D3 treatment or Y2 + D3 compound treatment could increase the content of petroleum ether extract and showed strong aroma producing effect.

0 引言

烟草发酵是烟叶采收后的重要加工步骤,可利用微生物改善烟叶品质.小什列晋格最早提出微生物发酵假说^[1],他认为,烟草发酵初期由微生物起主导作用,后续过程才是在无机催化剂的作用下进行的.烟叶在发酵过程中表面存在大量且种类繁多的微生物,这些微生物可以将烟叶中的一些大分子物质(如蛋白质、淀粉等)降解为单糖、氨基酸等一些小分子物质,然后这些小分子物质再经过一系列反应生成醇、醛、酸、酯、酮等香味成分,从而提升烟叶的吸食品质^[2].

烟叶发酵过程中,如何利用接种微生物加快其发酵速度、提升烟叶香气和品质等,前人已有较多的研究.J. J. Reid等^[3]发现,烘烤后的雪茄烟叶表面存在大量的细菌和霉菌.J. B. C. Koller等^[4]最先尝试在烟叶上接种微生物,发现在雪茄烟叶接种酵母菌可以加速发酵进程,使发酵更为彻底.黄静文等^[5]从烟叶表面分离出一种短小芽孢杆菌,用于烟叶发酵可以提升烟香、醇和烟气、降低刺激性并掩盖杂气.此外,在烟叶发酵过程中利用微生物来降低烟叶中烟碱含量的报道也较多.X. W. Gong等^[6]从种植烟草的土壤中分离出一株红球菌(*Rhodococcus*

sp.),该细菌可以有效降解烟叶中的烟碱.C. M. Chen等^[7]从醇化多年的烟叶表面分离出一株假单胞菌Nic22(*Pseudomonas sp.*),并将其接种至以烟碱为唯一碳源和氮源的培养基,在30℃,220 r/min的摇床中发酵2 d,烟碱的降解率超过70%(质量分数,下同).然而,利用芽孢杆菌组成的复配生物制剂对烟叶香味成分的影响与单一微生物制剂施加效果的对比研究较少.鉴于此,本研究拟利用从烟叶表面分离得到的3株芽孢杆菌组成单一和复配生物制剂对烟叶进行固态发酵,考察其对烟叶主要化学成分和香味物质的影响,旨在为研究微生物固态发酵烟叶,改善烟叶内在品质提供理论依据和数据支撑.

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

2016年兴义B3F复烤烟叶,广西中烟提供;高地芽孢杆菌Y2(*Bacillus altitudinis*),地衣芽孢杆菌D3(*Bacillus licheniformis*),枯草芽孢杆菌L1(*Bacillus subtilis*),上述菌株均由烟叶表面分离得到;复配菌株,由上述菌株按体积比1:1两两复配制成;沸程30~60℃的石油醚(分析纯),烟台市双双化工有限公司产;无水硫酸钠(分析纯),天津市瑞金特化学品有限公司产;LB培养基,北京奥博星有限公司产.

SPX-1000F 生化培养箱,上海一恒科学仪器有限公司产;HH-S4 电热恒温水浴锅,天津市泰斯特仪器有限公司产;SW-CJ-2FD 型洁净工作台,苏净集团苏州安泰空气技术有限公司产;JT-K6 水分测定仪,上海佑科仪器仪表有限公司产;Ultra3400 型紫外分光光度计,北京普源精电科技有限公司产;Agilent 6890/5973 型气质联用仪,美国 Agilent 公司产;AA3 型连续流动分析仪,德国 SEALAnalytical 公司产。

1.2 实验方法

1.2.1 烟叶发酵

用接种环将菌株从固体培养基中接种 2 环到 100 mL LB 液体培养基,在 37 °C,120 r/min 摇床中培养 24 h。然后将得到的种子液在 4 °C,10 000 r/min 条件下离心 10 min,弃上清液,收集湿菌体,用无菌去离子水对湿菌体进行重悬,用分光光度计确定稀释倍数,稀释至 $OD_{600} = 1.45$,也就是菌体浓度稳定在 10^8 cfu/mL。吸取 10 mL 菌悬液均匀喷洒在 40 g(湿基)烟叶上,对照组喷洒等量无菌去离子水,将处理好的烟叶置于 37 °C,相对湿度 75% 的条件下发酵 48 h 后备用。

复配菌株制备方法:将上述重悬稀释后菌体浓度稳定在 10^8 cfu/mL 的纯种菌悬液各量取 5 mL,两两进行复配,组成 10 mL 复配制剂,复配方案见表 1,1[#]为对照组(CK)。

1.2.2 常规化学成分和香味物质测定 分别

表 1 菌株复配方案

Table 1 Strain compounding scheme

编号	接种菌株	复配比例	用量/mL
1 [#]	无菌去离子水	—	10
2 [#]	Y2	—	10
3 [#]	D3	—	10
4 [#]	L1	—	10
5 [#]	Y2 + D3	1 : 1	5 + 5
6 [#]	Y2 + L1	1 : 1	5 + 5
7 [#]	D3 + L1	1 : 1	5 + 5

采用《烟草及烟草制品总植物碱的测定 连续流动法》(YCT 160—2002)^[8]、《烟草及烟草制品氯的测定 连续流动法》(YCT 162—2011)^[9]和《烟草机烟草制品中钾的测定法 火焰光度法》(YCT 173—2003)^[10]测定烟草中的烟碱、钾和氯;采用紫外分光光度计测定总糖和还原糖^[11]。

香味物质采用气相色谱-质谱联用仪测定,分析流程为:称取处理后的样品 30 g 进行粉碎,过 60 目筛,同时蒸馏萃取 2.5 h,萃取剂为 CH_2Cl_2 。同蒸结束后,待萃取液冷却至室温后加入 1 mL 内标,然后加入无水硫酸钠静置一晚后浓缩至 1 mL,置于色谱瓶中进行 GC-MS 检测。

GC-MS 检测色谱条件:HP-5MS(60 m × 0.25 mm × 0.25 μm) 色谱柱;载气为高纯氦气;进样口温度 280 °C;流速 3 mL/min;分流比 5 : 1。升温程序:起始温度 50 °C 保持 2 min,以 8 °C/min 升至 200 °C,再以 2 °C/min 升至 280 °C,保持 10 min。

质谱条件:接口温度 270 °C,离子源温度 230 °C,四极杆温度 150 °C,离子化方式 EI,电子能量 70 eV,质量扫描范围 35 ~ 550 m/z 。

1.2.3 石油醚提取物的测定

采用文献[12]的方法测定石油醚提取物的含量。

1.2.4 数据处理

将测定的化学指标采用 SPSS 和 EXCEL 进行数据处理和图形绘制。

2 结果与分析

2.1 芽孢杆菌生物制剂对烟叶常规化学成分的影响

使用芽孢杆菌生物制剂对烟叶进行固体发酵,分别对发酵前后烟叶中总糖、还原糖、烟碱、钾和氯的含量进行测定,结果见表 2。由表 2 可知,与对照组 1[#]相比,实验组烟叶中的总糖和还原糖含量均有所下降,这可能是由于烟叶表

面接种的微生物以烟叶中的糖作为碳源用于自身的生长发育而导致的变化;接种单一或复配菌株进行固态发酵后,只有编号6[#]烟碱含量下降,其余编号的均有不同程度的升高;编号4[#]的钾氯比相比对照组增大,燃烧性增强;编号6[#]糖碱比最佳,为9.08.

表2 经芽孢杆菌生物制剂发酵
前后烟叶常规化学成分含量

Table 2 Routine chemical constituents of tobacco leaves before and after solid-state fermentation of *Bacillus biologics*

编号	总糖/%	还原糖/%	烟碱/%	钾/%	氯/%	钾氯比	糖碱比
1 [#]	25.47	20.86	2.84	1.77	0.55	3.22	8.97
2 [#]	23.38	18.62	2.98	1.83	0.59	3.10	7.85
3 [#]	24.21	20.38	3.09	1.72	0.71	2.42	7.83
4 [#]	25.21	20.43	2.85	1.79	0.54	3.31	8.85
5 [#]	24.57	20.12	2.91	1.67	0.61	2.74	8.44
6 [#]	24.76	18.86	2.73	1.78	0.65	2.74	9.08
7 [#]	24.71	21.49	2.96	1.76	0.55	3.20	8.35

2.2 芽孢杆菌生物制剂对香味物质含量的影响

为了进一步分析接种菌株对烟草品质的影响,将经芽孢杆菌生物制剂处理后的样品进行香味物质的GC-MS分析,利用Nist11谱库进行检索,使用人工解析对烟叶中的香气成分进行定性分析,并采用归一化法对烟叶中的香气成分进行定量,共检测出86种香味成分,根据官能团的不同将其分成8类,包括醇类10种、羰基类25种、酸类9种、酯类和内酯15种、烃类17种、杂环类6种、酚类1种、酰胺和亚胺类2种、新植二烯,各类物质含量如表3所示.编号1[#]—7[#]的样品分别检测出46种、56种、59种、57种、61种、60种和61种香气成分,说明经处理后的烟叶香味成分更加丰富.

除编号5[#]之外,其余各编号中香味物质总量均高于对照组,趋势为编号4[#] > 编号2[#] > 编号3[#] > 编号6[#] > 编号7[#] > 编号1[#] > 编号5[#].由

单一菌株发酵后,羰基类、酸类、酯类和内酯、烃类、杂环类及酚类含量均升高,编号3[#]醇类含量增加,编号2[#]和编号3[#]酰胺和亚胺类物质含量增加.新植二烯是烟叶中性挥发物中最为丰富的成分,其本身具有清香气,而且在抽吸时可以直接进入烟气,具有降低刺激性醇和烟气的作用,并且可以增进烟的吃味和香气^[13],编号2[#]和编号4[#]新植二烯含量增加,其中编号2[#]含量最高,达到了816.04 μg/g.菌株复配后,并未呈现出单一菌株对香味成分影响的叠加效应,例如编号3[#]和编号4[#]中羰基类物质含量均有所增加,但菌株复配后(编号7[#])烟叶羰基类物质含量下降;编号2[#]和编号4[#]中的醇类物质含量均低于对照组,复配后(编号6[#])醇类物质含量却升高.

菌落在生长发育过程中为了满足自身对碳、氮的需求,消耗烟叶中的某些物质作为养分,同时分泌多种胞外酶,分解转化烟叶中的纤维素、果胶、蛋白质等致香前体物,从而引起烟叶中性香气成分的变化^[14].瞿娇娇等^[15]利用从豆豉中分离得到的一株枯草芽孢杆菌接种到A2C2等级的烟叶后进行发酵,发现酸类、酯类和新植二烯含量分别增加102.7%,22.3%和2.5%;在本研究中,接种单一枯草芽孢杆菌的编号4[#]酸类、酯类和新植二烯含量分别增加126.3%,10.1%和2.3%;两者研究结果一致.而利用地衣芽孢杆菌固态发酵烟叶的研究还鲜有报道.

当菌株复配后,烟叶的部分化学成分呈现出了与单一菌株相反的趋势,比如高地芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌均会使烟叶新植二烯含量升高,糖碱比和醇类物质含量降低,组成复配制剂后却导致新植二烯含量降低,但糖碱比和醇类香味物质均升高且高于对照.刘洋^[16]将从烟叶表面分离得到的高地芽孢杆菌和解淀粉芽孢杆菌进行1:1复配后对烟叶进行固态发酵后测定

表3 经芽孢杆菌生物制剂发酵前后烟叶香味物质的含量

Table 3 Aroma constituents of tobacco leaves before and after solid-state fermentation of *Bacillus* biologics

类型	香味物质名称	μg/g						
		1 [#]	2 [#]	3 [#]	4 [#]	5 [#]	6 [#]	7 [#]
醇类	香叶基香叶醇	—	—	1.09	3.45	—	6.25	0.86
	松油醇	—	—	—	—	0.51	0.50	—
	金合欢醇	8.69	0.16	9.47	—	—	—	9.25
	芳樟醇	1.27	1.35	1.36	1.36	1.31	1.38	1.36
	苯乙醇	1.27	1.51	1.94	1.78	1.67	1.81	1.90
	苯甲醇	2.13	2.56	3.81	3.49	3.16	3.02	3.43
	(±)-6-甲基-5-庚烯基-2-醇	—	0.11	0.14	0.16	0.16	0.16	0.16
	(1S,2E,4R,7E,11E)-2,7,11-西柏三烯-4-醇	—	—	—	—	2.68	0.92	5.27
	(2Z,6E)-3,7,11-三甲基十二碳-2,6,10-三烯-1-醇	—	0.74	—	—	—	—	—
	3-呋喃甲醇	—	—	—	—	—	0.17	0.19
合计10种	13.36	6.43	17.81	10.24	9.49	14.21	22.42	
羰基类	十五烷醛	—	—	2.64	2.82	2.54	2.46	—
	壬醛	—	—	—	—	0.11	—	—
	螺岩兰草酮	6.47	4.73	7.13	6.14	4.89	4.19	4.51
	环庚三烯酮	—	—	—	—	—	—	0.18
	庚二烯醛	—	—	—	—	—	0.19	0.13
	反-2,6-壬二醛	—	—	0.19	0.21	0.28	0.30	0.21
	法尼基丙酮	—	—	—	0.77	—	—	—
	橙花基丙酮	1.65	—	1.61	1.70	—	—	1.49
	苯乙醛	3.55	3.51	3.36	3.52	3.97	3.55	3.44
	β-紫罗兰酮	—	—	—	1.30	—	—	—
	β-环柠檬醛	—	—	—	0.17	—	—	—
	β-大马酮	12.06	13.69	12.54	12.12	12.54	12.17	12.04
	α-大马酮	0.92	1.08	1.02	1.04	0.98	1.03	1.04
	2-(4-甲基-3-环己烯基)丙醛	—	—	—	—	—	0.17	—
	2,6,6-三甲基-1,3-环己二烯-1-甲醛	0.35	0.37	0.32	0.36	0.35	0.35	0.38
	2,6,6-三甲基-1,4-环己二酮	—	—	—	—	—	—	0.09
	2-吡啶甲醛	—	—	—	0.24	0.26	0.25	0.26
	4,7,9-巨豆三烯-3-酮	28.75	31.72	30.89	29.15	29.77	27.62	26.01
	4-羟基-β-二氢大马酮	1.67	1.93	2.99	2.81	2.12	2.72	2.52
	5-甲基糠醛	0.72	0.65	0.78	0.78	1.25	0.88	0.99
	6-甲基-5-庚烯-2-酮	0.42	0.31	0.39	0.37	0.35	0.34	0.35
	3-吡啶甲醛	—	—	0.16	—	—	—	0.27
	4-吡啶甲醛	—	—	—	—	0.28	0.28	—
	6,10,14-三甲基-2-十五烷酮	3.94	4.06	4.02	—	3.39	3.35	3.51
	6,10-二甲基-5,9-十一双烯-2-酮	—	1.73	—	—	1.67	1.58	—
合计25种	60.5	63.78	68.04	63.5	64.75	61.43	57.42	
酸类	棕榈酸	55.91	72.62	101.86	111.14	69.67	123.39	106.25
	正十四碳酸	3.21	5.19	5.77	4.88	4.53	—	3.38
	硬脂酸	—	2.91	3.24	3.61	2.13	4.17	3.66
	亚油酸	—	6.23	8.98	11.65	5.79	11.16	10.45
	辛酸	—	—	0.16	—	—	0.16	—
	十七烷酸	1.31	—	—	1.98	1.46	—	—
	壬酸	—	—	—	—	0.26	—	—
	α-亚麻酸	10.79	15.24	25.47	27.89	13.02	34.65	27.48
	2-吡啶甲酸	—	—	0.23	—	—	—	—
合计9种	71.22	102.19	145.71	161.15	96.86	173.53	151.22	

续表 3
Continued table 3

类型	香味物质名称	1 [#]	2 [#]	3 [#]	4 [#]	5 [#]	6 [#]	7 [#]	μg/g
酯类和内酯	棕榈酸甲酯	15.02	16.62	15.90	16.69	14.29	16.33	15.81	
	硬脂酸甲酯	1.70	2.32	2.14	2.51	1.73	2.74	2.67	
	亚油酸甲酯	6.24	—	7.62	—	—	9.26	8.53	
	亚麻酸甲酯	11.72	15.83	15.41	15.93	11.99	21.65	17.09	
	十四酸甲酯	0.52	0.60	—	0.57	0.55	0.56	0.53	
	三甲基硅烷基棕榈酸酯	5.04	4.93	5.32	5.89	3.86	—	—	
	三甲基硅烷基十五烷酸酯	2.04	2.22	2.72	3.35	1.89	—	3.52	
	三甲基硅烷基肉豆蔻酸酯	3.75	5.15	6.54	6.39	4.63	6.05	5.59	
	邻苯二甲酸二乙酯	17.09	17.28	—	—	—	—	—	
	二氢猕猴桃内酯	4.13	—	6.15	5.32	5.07	—	—	
	γ-十一烷酸内酯	2.51	2.66	—	—	—	—	2.66	
	O2-丁基 O1-(2-甲基丙基)苯-1,2-二羧酸酯	—	—	15.00	12.76	13.80	18.87	16.65	
	(7E,10E,13E)-7,10,13-十六碳三烯酸甲酯	1.03	—	2.29	—	1.80	3.67	2.72	
	12-甲基十三烷酸甲酯	—	—	0.53	—	—	—	—	
	9,12-十八碳二烯酸甲酯	—	7.34	—	8.56	6.17	—	—	
合计 15 种		70.79	74.95	79.62	77.97	65.78	79.13	75.77	
烃类	(+)-香橙烯	—	—	0.75	0.75	—	1.07	—	
	(E)-4-六癸烯-6-炔	3.63	0.86	2.61	—	—	—	—	
	(Z)-4-六癸烯-6-炔	—	3.36	—	4.21	0.10	—	—	
	1,2,3,4-四甲基萘	—	1.91	—	—	1.97	2.03	—	
	1,5,8-三甲基-1,2,3,4-四氢萘	—	0.55	0.80	—	0.80	0.65	—	
	1-氯十八烷	—	0.14	0.18	0.19	0.22	0.16	0.35	
	紫罗烯	2.23	3.03	3.47	3.55	3.70	3.16	3.11	
	α-芹子烯	—	1.44	1.10	—	0.19	1.77	1.31	
	二十烷	0.85	1.69	1.03	0.73	1.34	1.61	2.68	
	环氧石竹烯	—	1.03	—	1.09	0.62	—	1.28	
	角鲨烯	—	—	0.26	0.27	—	0.31	—	
	十八烷	0.74	1.44	0.87	0.62	1.24	1.16	0.86	
	十六烷	0.51	0.72	0.41	0.70	0.70	0.68	0.41	
	十七烷	0.52	1.05	0.57	0.77	0.87	0.75	0.74	
	十四烷	0.54	0.67	0.55	0.58	0.75	0.57	0.63	
	十五烷	—	0.69	0.17	0.51	0.61	0.69	0.69	
	西柏烯	2.46	1.85	—	—	1.53	2.03	2.05	
合计 17 种		11.48	20.43	12.77	13.97	14.64	16.64	14.11	
杂环类	吡啶嗪	—	0.07	—	—	—	—	0.31	
	吡啶	0.18	0.72	1.16	1.01	0.71	0.89	0.79	
	烟碱	16.88	17.65	31.56	22.35	16.80	21.03	30.75	
	2-乙酰基吡咯	0.46	0.61	1.25	1.46	1.64	1.61	1.75	
	2-乙酰基咪唑	0.44	0.34	0.52	0.51	0.83	0.54	0.56	
	2-正戊基咪唑	0.33	0.25	—	—	—	—	0.32	
合计 6 种		18.29	19.64	34.49	25.33	19.98	24.07	34.48	
酚类	4-乙烯基愈创木酚	—	4.05	4.69	4.77	4.72	5.21	4.41	
	合计 1 种		—	4.05	4.69	4.77	4.72	5.21	4.41
酰胺和亚胺类	油酰胺	4.22	5.75	10.04	3.10	5.67	5.11	5.74	
	硬脂酰胺	—	—	0.57	—	—	—	—	
合计 2 种		4.22	5.75	10.61	3.10	5.67	5.11	5.74	
其他	新植二烯	740.78	816.04	735.71	757.64	698.87	724.05	718.13	
总计 86 种		990.64	1 113.26	1 109.45	1 117.87	980.76	1 103.57	1 083.9	

注:“—”表示未检出

其香气物质,结果表明大部分香气成分含量均有增加,与本研究结果也较为接近.单一和复配生物制剂对烟叶化学组分的影响情况十分复杂,还需要进一步研究.

2.3 芽孢杆菌生物制剂对石油醚提取物含量的影响

烟叶石油醚提取物是以石油醚作为溶剂,对烟叶样品进行萃取后得到的混合物,主要包括挥发油、树脂、油脂、脂肪酸、蜡质、类脂物、甾醇、色素等^[17].这一类物质在烟叶成熟、调制、陈化和燃吸过程中,会经过一系列的分解、转化形成致香物质,产生香气,所以石油醚提取物含量越高,其香气物质越多^[18].因此石油醚提取物含量常作为衡量烟叶品质和香气的重要指标^[19].发酵前后烟叶石油醚提取物含量如下(不同组别的字母不同代表组间在5%水平具有显著差异):编号1[#]为5.12% c;编号2[#]为5.28% bc;编号3[#]为5.31% b;编号4[#]为5.26% bc;编号5[#]为5.53% a;编号6[#]为4.91% d;编号7[#]为5.13% bc.由此可知,由单一菌株处理后的烟叶,只有编号3[#]表现出了较强的生香作用,经复配后,编号6[#]对石油醚提取物的含量没有贡献,甚至会使石油醚提取物含量降低,而编号5[#]石油醚提取物含量最高,为5.53%.

3 结论

本研究采用从烟草表面筛选出的3株可能用于烟叶增香的芽孢杆菌组成单一和复合生物制剂对烟叶进行固态发酵,研究了生物制剂对烟叶常规化学成分、香味物质和石油醚提取物含量的影响.结果表明,经单一菌株发酵的烟叶化学成分含量与菌株种类有密切关系,3种菌株均会使烟叶的糖碱比不同程度地降低;高地芽孢杆菌对烟叶中新植二烯含量有较大影响;

地衣芽孢杆菌对烟叶中醇类香味物质和石油醚提取物含量贡献较大.当菌株复配后,化学成分没有呈现叠加变化,甚至部分呈现出与单一菌株相反的趋势,具体原因还需进一步研究.另外,还需对复配比例和发酵条件进行优化,以期获得较好的芽孢杆菌复配生物制剂.

参考文献:

- [1] 官长荣,于建军.烟草原料初加工[M].北京:中国轻工业出版社,1993:183-237.
- [2] ALISON D H, PAUL C. Colouring our foods in the last and next millennium[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2000, 35:5.
- [3] REID J J, GRIBBONS M F, HALEY D E. The fermentation of Cigar-leaf tobacco[J]. Science, 1937, 86(2235):404.
- [4] KOLLER J B C. Der tabak in naturwissenschaftlicher[M]. Augsburg: Land WirtsChaftlicher and Technischer Beziehung, 1858.
- [5] 黄静文,段焰青,者为,等.短小芽孢杆菌改善烟叶品质的研究[J].烟草科技,2010(8):61.
- [6] GONG X W, YANG J K, DUAN Y Q, et al. Isolation and characterization of *Rhodococcus* sp. Y22 and its potential application to tobacco processing[J]. Research in Microbiology, 2009, 160(3):200.
- [7] CHEN C M, LI X M, YANG J K, et al. Isolation of nicotine-degrading bacterium *Pseudomonas* sp. Nic22, and its potential application in tobacco processing[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2008, 62(3):226.
- [8] 国家烟草专卖局.烟草及烟草制品 总植物碱的测定连续流动(硫氰酸钾)法:YCT 160—2002[S].北京:中国标准出版社,2002.
- [9] 国家烟草专卖局.烟草及烟草制品 氯的测定

- 连续流动法:YCT 162—2011[S].北京:中国标准出版社,2011.
- [10] 国家烟草专卖局.烟草及烟草制品 钾的测定火焰光度法:YCT 173—2003[S].北京:中国标准出版社,2003.
- [11] 尹建雄,卢红,谢强,等.3,5-二硝基水杨酸比色法快速测定烟草水溶性总糖、还原糖及淀粉的探讨[J].云南农业大学学报,2007(6):829.
- [12] 邵金良,黎其万,刘宏程,等.烟草中石油醚提取物测定方法改进[J].中国烟草科学,2010,31(1):41.
- [13] 胡皓月,许自成,苏永士,等.影响烟草新植二烯含量因素的研究进展[J].江西农业学报,2010,22(1):17.
- [14] 周红杰,李家华,赵龙飞,等.渥堆过程中主要微生物对云南普洱茶品质形成的研究[J].茶叶科学,2004(3):64.
- [15] 瞿娇娇,邹晓,张晓敏,等.枯草芽孢杆菌对烟叶主要致香物质的影响[J].贵州农业科学,2014,42(6):150.
- [16] 刘洋.烟叶增香提质微生物的筛选及其应用[D].武汉:华中农业大学,2011.
- [17] 陈海生,刘国顺.豫中烤烟种植区烟叶石油醚提取物含量与土壤养分的空间变异性分析[J].核农学报,2013,27(1):108.
- [18] 简永兴,杨磊,谢龙杰,等.种植海拔对烤烟石油醚提取物及常规化学成分的影响[J].烟草科技,2005(7):3.
- [19] 史宏志,刘国顺.烟草香味学[M].北京:中国农业出版社,1998.