



龙章德,王敏,薛云,等. 烟叶中 β -胡萝卜素高效降解菌株的筛选鉴定及发酵条件优化[J]. 轻工学报, 2022,37(4):86-93.

LONG Z D, WANG M, XUE Y, et al. Screening and identifying of β -carotene degrading strains from tobacco leaves and its optimization of fermentation conditions[J]. Journal of Light Industry, 2022,37(4):86-93.

DOI: 10. 12187/2022. 04. 012

烟叶中 β -胡萝卜素高效降解菌株的筛选鉴定及发酵条件优化

龙章德¹, 王敏², 薛云¹, 孙建生¹, 刘启斌¹, 刘鸿¹, 毛多斌², 魏涛²

1. 广西中烟有限责任公司 技术中心, 广西 南宁 530001;

2. 郑州轻工业大学 食品与生物工程学院, 河南 郑州 450001

摘要: 从新鲜的豫烟 13 烟叶中筛选能高效降解 β -胡萝卜素的菌株, 用 GC-MS 对其主要降解产物进行检测, 利用形态学和 16S rDNA 进化树对菌株进行鉴定, 通过单因素试验和正交试验对菌株的发酵条件进行优化。结果表明: 分离到的 YT-3 菌株为霍氏肠杆菌亚种(*Enterobacter hormanii* subsp.), 该菌株能高效降解 β -胡萝卜素, 其降解的主要产物为 β -紫罗酮、二氢猕猴桃内酯、 β -环柠檬醛等香味物质; YT-3 菌株的最佳发酵条件为蔗糖质量浓度 30 g/L、硝酸钠质量浓度 4 g/L、酵母粉质量浓度 3 g/L、初始 pH 值 7.0, 在该发酵条件下 β -胡萝卜素降解率达到 97.05%。

关键词: β -胡萝卜素; 降解菌株; 霍氏肠杆菌亚种; 发酵条件优化

中图分类号: TS49 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096-1553(2022)04-0086-08

0 引言

类胡萝卜素是存在于植物和微生物中的亲脂性异戊二烯类色素, 已知有 700 多种, 主要包括 β -胡萝卜素、 α -胡萝卜素、叶黄素、番茄红素等, 其中 β -胡萝卜素分布最广^[1-3]。 β -胡萝卜素因含有 3~15 个共轭双键而表现出高度不饱和性, 通过酶或光氧化可降解产生 C-13、C-11、C-10、C-9 等衍生物, 这些衍生物中包括 α -紫罗兰酮、 β -紫罗兰酮、二氢猕猴桃内酯等重要的香料物质, 因此 β -胡萝卜素及其降解产物在食品、化妆品、酒类风味发酵、烟草加工等行业均具有广泛应用^[4-5]。 β -胡萝卜素裂解产物

β -紫罗兰酮和 β -大马酮是西红柿的主要风味成分^[6]; β -胡萝卜素降解形成的类异戊二烯的 C-10 化合物组分对柑橘果汁的香气影响很大^[7]; 葡萄酒主要香气成分异戊二烯衍生物(如 β -突厥烯酮、 β -紫罗兰酮等)也是 β -胡萝卜素降解产物^[8]。新鲜烟叶中的类胡萝卜素种类除上文提及的外, 还具有新叶黄素、紫黄素、八氢番茄红素等, 类胡萝卜素总含量不高, 一般为 0.1%~1.1%, 将 β -胡萝卜素添加到烟丝中能有效提高卷烟香味品质^[9-10]。

目前 β -胡萝卜素的降解方式有物理降解、化学降解和生物降解^[11-12]。物理降解需要进行高温处理, 不便应用于实际生产; 化学降解需要加入化学试

收稿日期: 2021-09-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(31801535); 河南省高校科技创新人才项目(18HASTIT040); 广西中烟对外合作项目(2020450000340027)

作者简介: 龙章德(1970—), 男, 广西壮族自治区百色市人, 广西中烟工业有限责任公司工程师, 博士, 主要研究方向为烟草生物化工。E-mail: Longzd@163.com

通信作者: 魏涛(1980—), 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生物技术。E-mail: weit8008@zzuli.edu.cn

剂催化裂解,化学试剂难以去除,且产生的废液会污染环境^[4-5]。生物降解是利用微生物及其所产生的酶催化降解 β -胡萝卜素,具有降解专一性强、效率高、反应条件温和等特点,但是目前已报道的能降解 β -胡萝卜素的微生物还比较少,主要是酵母菌、芽孢杆菌和巴氏葡萄球菌等,能应用到工业生产中的菌株更少^[13-15]。

豫烟 13 是近年来培育的烤烟纯系新品种,烤后原烟颜色均匀、结构疏松、油分较足、化学成分协调,在我国黄淮烟区和东北部分烟区种植较为广泛。本研究拟从豫烟 13 烟叶中筛选能够降解 β -胡萝卜素的新型微生物菌种,通过单因素试验和正交试验对其发酵条件进行优化以提高菌株降解 β -胡萝卜素的能力,以期工业化降解 β -胡萝卜素提供新的菌种资源和理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

实验材料:三门峡烟区种植的新鲜豫烟 13 烟叶,自行采集得到。

主要试剂: β -胡萝卜素(纯度 96%),购于上海麦克林生化科技有限公司;蔗糖、酵母粉、磷酸氢二钾、硝酸钠,均为分析纯,购于国药集团有限公司。

富集培养基^[14]: K_2HPO_4 1 g/L, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5 g/L, 硝酸钠 3 g/L, KCl 0.5 g/L, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.01 g/L, 蔗糖 30 g/L, 酵母粉 3 g/L。

发酵培养基和分离培养基:在富集培养基的基础上添加质量浓度为 20 mg/L 的 β -胡萝卜素。

主要仪器:SW-CJ-IF 型单人双面净化工作台,苏州净化设备有限公司产;LDZX-50KBS 型立体压力蒸汽灭菌器,上海申安医疗器械厂产;UV-1500 紫外分光光度计,上海美析仪器有限公司产;5810R 型离心机,德国 Eppendorf 公司产;7890C 型 GC-MS 色谱联用仪,美国 Agilent 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 菌株筛选 初筛:称取 10 g 烟叶于 100 mL 无菌水中浸泡 24 h,取 2 mL 加入到富集培养基中,于 30 °C、150 r/min 条件下培养得到菌源液。对菌源液进行稀释涂布,每个浓度梯度涂布 3 个平行平板,以

添加 β -胡萝卜素空白平板为对照,置于 30 °C 条件下培养,每隔 12 h 观察平板褪色情况,挑选透明圈明显的、形态较好的单菌落,反复划线分离纯化。

复筛:挑选出透明圈明显的单菌落接种于发酵培养基中,于 30 °C、150 r/min 条件下发酵。通过对发酵液中 β -胡萝卜素降解率和降解产物的分析筛选出降解 β -胡萝卜素能力较强的菌株。

β -胡萝卜素降解率的测定方法: β -胡萝卜素降解率的测定采用分光光度法。以接种的发酵培养基作为实验组,未接种的发酵培养基作为对照组,发酵 12 h 后分别以培养基作为空白测定实验组和对照组的吸光度,降解率(R)计算公式^[17]如下。

$$R = \left(1 - \frac{C_{\text{实验}}}{C_{\text{对照}}} \right) \times 100\%$$

式中: $C_{\text{实验}}$ 为实验组中 β -胡萝卜素的质量浓度/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$; $C_{\text{对照}}$ 为对照组中 β -胡萝卜素的质量浓度/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$ 。

β -胡萝卜素降解产物检测方法:用 GC-MS 对发酵液中的 β -胡萝卜素降解产物进行检测。GC 检测条件^[16]为 HP-5 柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm);高纯氮气作载气,流速为 1 mL/min;程序升温:40 °C,保持 2.5 min,以 2 °C/min 的升温速度升至 280 °C 并保持 5 min;进样量为 1 μL ;不分流;采用全扫描模式。MS 检测条件为溶剂延迟时间 8 min;质量扫描范围 30~500 amu;进样口温度 250 °C;传输线温度 280 °C;离子源 EI 温度 230 °C,电离能 70 eV;检测器温度 280 °C;全离子扫描(Scan)模式。

1.2.2 菌株鉴定 将筛选出的菌株用结晶紫染色 2 分钟,分别在低倍镜、高倍镜和油镜下观察菌株菌落特征与形态。然后利用 16S rDNA 鉴定方法进行分子生物学鉴定。提取细菌核基因组 DNA,并以提取的 DNA 为模板,进行 16S rDNA 扩增,所用引物为 27F(正向引物:5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')和 1492R(反向引物:5'-TACGGCTACCTTGT-TACGACTT-3')。聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)扩增反应体系为:1.0 μL 基因组 DNA(20 ng/ μL), 39.0 μL ddH₂O, 5.0 μL 10 \times Buffer(含 2.5 mmol/L Mg²⁺), 1.0 μL Taq 聚合酶(5 U/ μL), 1.0 μL dNTP(10 mmol/L), 1.5 μL 27F 引物

(10 $\mu\text{mol/L}$), 1.5 μL 1492R 引物(10 $\mu\text{mol/L}$)。测序由上海派森诺生物科技有限公司完成。用 NCBI Blast 程序将拼接后的序列文件与 NCBI 16S 数据库中的数据进行比对, 得到与待测菌株序列相似性最大的物种信息, 以 16S rDNA 同源性为基础, 利用 MEGA7.0 软件进行系统分析。

1.2.3 菌株发酵条件优化 单因素试验: 在前期实验的基础上, 分别以碳源(蔗糖、麦芽糖、果糖、乳糖、葡萄糖)、碳源质量浓度(10 g/L、30 g/L、50 g/L、70 g/L、90 g/L)、氮源(胰蛋白胨、硝酸钠、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、尿素)、氮源质量浓度(1 g/L、3 g/L、5 g/L、7 g/L、9 g/L)、酵母粉质量浓度(1 g/L、3 g/L、5 g/L、7 g/L、9 g/L)、初始 pH 值(5.0、6.0、7.0、8.0、9.0)、温度(20 $^\circ\text{C}$ 、25 $^\circ\text{C}$ 、30 $^\circ\text{C}$ 、35 $^\circ\text{C}$ 、40 $^\circ\text{C}$)、接种量(1%、3%、5%、7%、9%)为考查因素, 研究单因素试验条件下 β -胡萝卜素的降解率。

正交试验: 在单因素试验的基础上, 以 β -胡萝卜素降解率为考查指标, 利用发酵培养基中适宜碳源的质量浓度(A)、适宜氮源的质量浓度(B)、酵母粉质量浓度(C)和初始 pH 值(D)4 个因素设计 $L_9(3^4)$ 正交试验。

数据处理: 采用 Excel 2016 对实验数据进行统计分析, 利用 SPSS 17.0 进行显著性差异分析。

2 结果与分析

2.1 菌株筛选结果

从烟叶中筛选到 9 株能降解 β -胡萝卜素的菌株, 其中菌株 YT-3 降解能力最强, β -胡萝卜素降解率为 81.65% (如图 1 所示)。用 GC-MS 检测菌株 YT-3 发酵液, 分析出发酵液中含有醛类、酮类、醇类、烯炔类、有机酸和酯类等多种化合物, β -胡萝卜素降解产物主要香味物质如表 1 所示, 其中 β -环柠檬醛(3.21%)、 β -紫罗兰酮(5.35%)和二氢猕猴桃内酯(12.26%)在改善烟叶品质和制备食品香料方面具有重要作用。因此, 进一步对菌株 YT-3 的 β -胡萝卜素降解能力进行研究。

2.2 菌株鉴定结果

2.2.1 菌株 YT-3 的菌落特征与形态 在固体培养基上划线培养菌株 YT-3, 其形态特征为菌落较

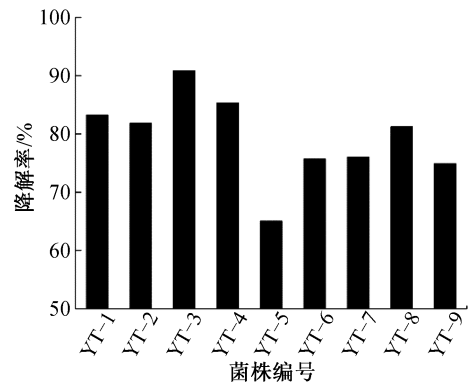


图 1 9 株降解 β -胡萝卜素菌株降解率比较
Fig. 1 Comparison of β -carotene degradation rate among 9 strains

表 1 菌株 YT-3 降解产物主要香味物质
Table 1 Main aroma substances of degradation products of strain YT-3

序号	保留时间/min	香味物质	相对含量/%
1	29.303	2,2,6-三甲基环己酮	0.48
2	31.180	异佛尔酮	0.24
3	43.126	β -环柠檬醛	3.21
4	45.620	2,6,6-三甲基-1-环己烯基乙醛	1.07
5	55.496	4-羟基- β -环柠檬醛	0.36
6	60.337	β -紫罗兰酮	5.35
7	63.854	二氢猕猴桃内酯	12.26

小, 色白, 表面光滑, 湿润, 边缘整齐, 不易挑起。经革兰氏染色在显微镜下观察, 菌体形态为短杆状, 菌体呈红色, 是革兰氏阴性(G^-)菌(如图 2 所示)。

2.2.2 菌株 YT-3 分子进化树分析结果 由分子鉴定结果可知, 菌株 YT-3 的 16S rDNA 序列长度为 1421 bp(如图 3 所示, 图中 1—3 为 16S rDNA, Maker 为 DNA 分子量标准)。将该 16S rDNA 序列在 NCBI Blast 同源序列检索, 结果表明, 该菌株与霍氏肠杆菌亚种 16S rDNA 基因序列同源性较高。菌株 YT-3 系统进化树如图 4 所示。由图 4 可知, 菌株 YT-3 与 *Enterobacter hormaechei* subsp. *xiangfangensis* strain 10-17 遗传距离较近, 结合形态学结果, 将 YT-3 菌株鉴定为霍氏肠杆菌亚种。目前, 霍氏肠杆菌 *Enterobacter hormaechei* A20 已被发现可以有效将叶黄素降解为 8-甲基- α -紫罗兰酮、3-羟基- α -紫罗兰酮、3-氧代- α -紫罗兰酮等^[18-19]。菌株 YT-3 是发现的另一株能够类降解胡萝卜素物质(β -胡萝卜素)的霍氏肠杆菌亚种。

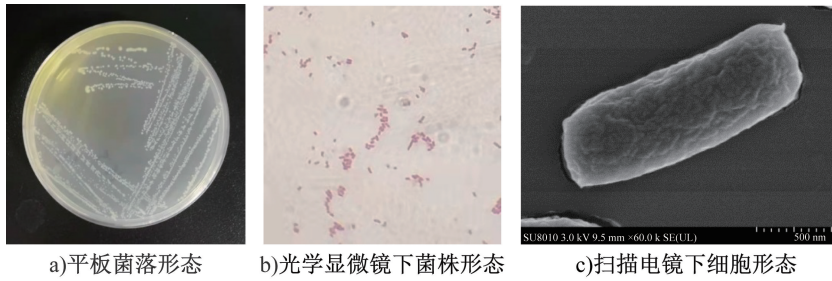


图 2 菌株 YT-3 的菌落和细胞形态

Fig. 2 Colony and cell morphology of strain YT-3

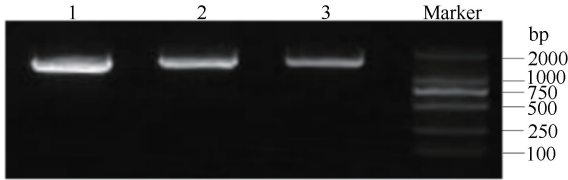


图 3 菌株 YT-3 PCR 扩增电泳图

Fig. 3 PCR amplification electrophoresis diagram of strain YT-3

2.3 菌株发酵条件优化结果

2.3.1 单因素试验结果 碳源种类和质量浓度对菌株 YT-3 的 β -胡萝卜素降解率和细胞干重的影响如图 5 所示。由图 5 可知,菌株 YT-3 在不同碳源下降解 β -胡萝卜素的活性为蔗糖>麦芽糖>葡萄糖>乳糖>果糖,以蔗糖为碳源 β -胡萝卜素降解率最高,达到 82.5%,菌株的细胞干重为 1.18 g/L。蔗糖是一种非还原性的双糖,既能为菌株的生长提供足够碳源和能源物质,又能保证菌株 YT-3 高效降解 β -胡萝卜素底物。当蔗糖质量浓度为 30 g/L 时, β -胡萝卜素降解率达到 82.90%,菌株能正常繁

殖生长且完全降解底物。因此,初步选择 30 g/L 蔗糖作为发酵培养基的碳源。

氮源种类和质量浓度对菌株 YT-3 的 β -胡萝卜素降解率和细胞干重的影响如图 6 所示。由图 6 可知,以硝酸钠为氮源时,菌株 YT-3 对 β -胡萝卜素的降解能力最大,降解率为 84.9%。硝酸钠质量浓度为 3 g/L 时,降解率最高为 87.7%,菌株的细胞干重为 1.66 g/L。氮源质量浓度过高,会使菌体生长过于旺盛,pH 值偏高,不利于代谢相关酶的产生和活力保持。因此,初步选择 3 g/L 硝酸钠作为发酵培养基的氮源。

酵母粉质量浓度、初始 pH 值、培养温度和接种量对 β -胡萝卜素降解率和菌株细胞干重的影响如图 7 所示。由图 7a) 可知,酵母粉质量浓度对 β -胡萝卜素降解率影响较大。当酵母粉质量浓度为 3 g/L 时,既能保证菌株 YT-3 快速生长,又能提高 β -胡萝卜素降解率,降解率最大达到 88.3%;当酵母粉质量浓度为 9 g/L 时,菌株生长状况最好,但是对 β -

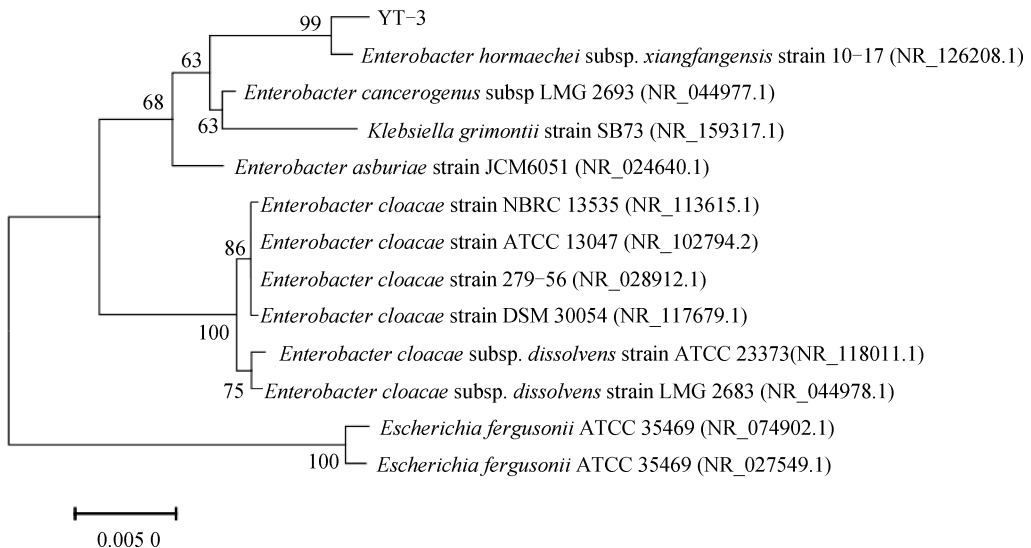


图 4 菌株 YT-3 系统进化树

Fig. 4 Phylogenetic tree of strain YT-3

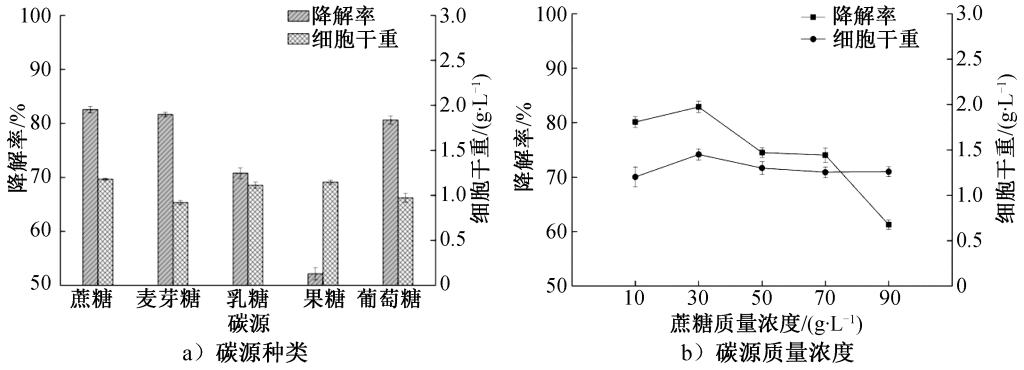


图5 碳源对菌株YT-3的β-胡萝卜素降解率和细胞干重的影响

Fig. 5 The effect of carbon source on the β-carotene degradation rate and cell dry weight of stain YT-3

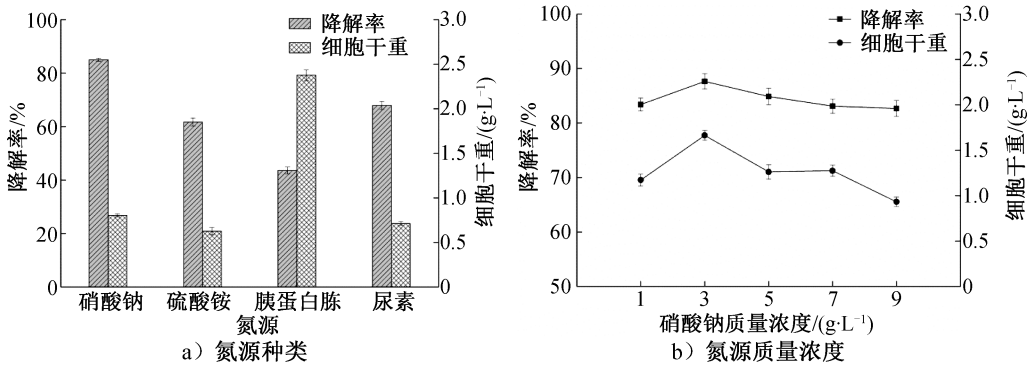


图6 氮源对菌株YT-3的β-胡萝卜素降解率和细胞干重的影响

Fig. 6 The effect of nitrogen source on the β-carotene degradation rate and cell dry weight of stain YT-3

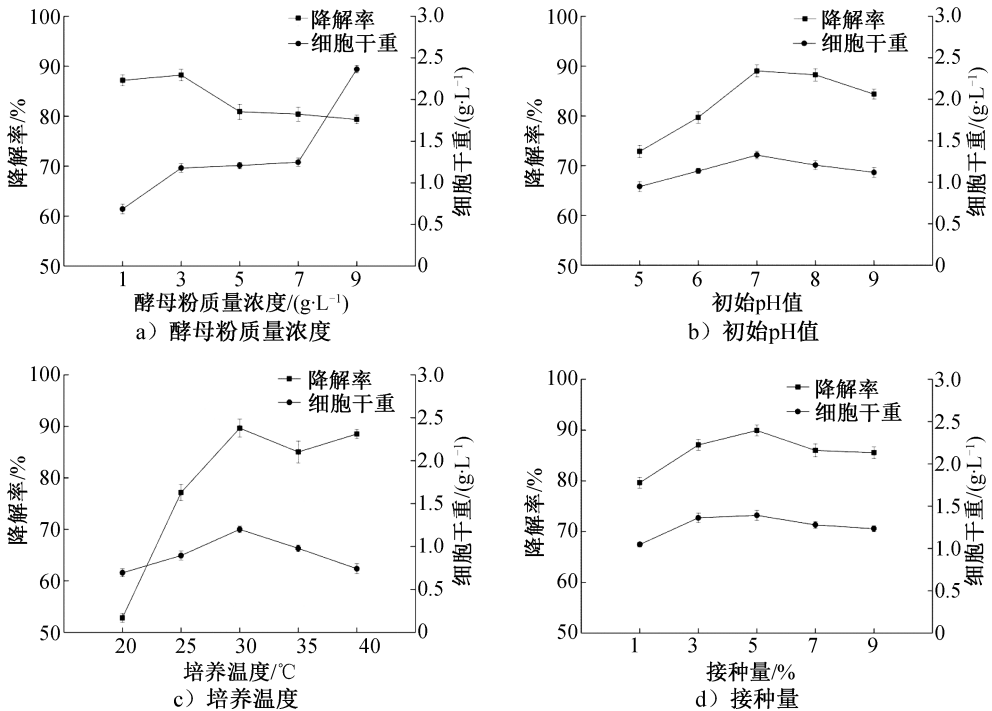


图7 酵母粉质量浓度、初始pH值、培养温度和接种量对菌株YT-3的β-胡萝卜素降解率和细胞干重的影响

Fig. 7 The effect of yeast powder concentration, initial pH, culture temperature and inoculation amount on the β-carotene degradation rate and cell dry weight of stain YT-3

胡萝卜素的降解能力最低。因此,初步选择酵母粉浓度为 3 g/L。由图 7b)可知,在初始 pH 值<7.0 时,随着 pH 值增大, β -胡萝卜素降解率随之增大;pH 值>7.0 时,降解率逐渐降低;pH 值为 7.0 时,降解率达到最高,为 89.1%,菌株的细胞干重也最高,为 1.33 g/L。因此,初步选择发酵初始 pH 值为 7.0。由图 7c)可知,培养温度小于 30 ℃时,随着温度升高,菌株新陈代谢加快,降解率提高;温度为 30 ℃时,降解率最大,为 89.6%,菌株的细胞干重较高,为 1.20 g/L;温度大于 30 ℃时,菌株生长繁殖受到一定影响,降解率呈下降趋势,但在 30~40 ℃时,降解率增大,可能是因为 β -胡萝卜素受高温影响发生热裂解^[5-6]。因此,温度过高或过低都不利于 β -胡萝卜素降解。可见,选择最适培养温度为 30 ℃。由图 7 d)可知,接种量小于 5%时,培养基中的营养物质得到有效利用,菌株能够良好生长,降解率随接种量增加而提高;接种量为 5%时,降解率达到最大为 89.9%,菌株的细胞干重亦达到较高值,为 1.39 g/L;接种量大于 5%时,降解率降低,可能是因为接种量过大导致发酵液供氧不足,造成菌株产酶下降^[20]。因此,选择最适接种量为 5%。

2.3.2 正交试验结果 在单因素试验的基础上,以发酵培养基中蔗糖质量浓度(A)、硝酸钠质量浓度(B)、酵母粉质量浓度(C)和初始 pH 值(D)4 个因素设计正交试验,因素水平见表 2。菌株 YT-3 降解 β -胡萝卜素发酵条件优化正交试验结果见表 3,方差分析见表 4。由表 3 可知,极差 R 的大小依次为 A>B>D>C,这说明各因素对降解的影响顺序是蔗糖质量浓度>硝酸钠质量浓度>初始 pH 值>酵母粉质量浓度。由表 4 可知,蔗糖质量浓度、硝酸钠质量浓度、初始 pH 值对 β -胡萝卜素降解率均有极显著影响。由所得数据预测最优发酵条件为 A₂B₃C₂D₂,即蔗糖质量浓度为 30 g/L,硝酸钠质量浓度为 4 g/L,

表 2 β -胡萝卜素降解条件优化正交试验因素水平表

Table 2 Orthogonal test factor level table for optimization of β -carotene degradation conditions

水平	因素			
	A/(g·L ⁻¹)	B/(g·L ⁻¹)	C/(g·L ⁻¹)	D
1	20	2	2	6.5
2	30	3	3	7.0
3	40	4	4	7.5

表 3 β -胡萝卜素降解条件优化正交试验结果
Table 3 Results of orthogonal test for optimization of β -carotene degradation conditions

试验号	A	B	C	D	β -胡萝卜素降解率/%
1	1	1	1	1	82.56
2	1	2	2	2	85.21
3	1	3	3	3	81.15
4	2	1	2	3	87.78
5	2	2	3	1	86.79
6	2	3	1	2	95.66
7	3	1	3	2	81.83
8	3	2	1	3	65.93
9	3	3	2	1	90.53
K ₁	248.92	252.17	244.15	259.89	
K ₂	270.23	237.93	263.52	262.69	
K ₃	238.29	267.34	249.78	234.86	
k ₁	82.97	84.06	81.38	86.63	
k ₂	90.08	79.31	87.84	87.56	
k ₃	79.43	89.11	83.26	78.29	
R	10.65	9.81	6.46	9.28	
主次顺序					A>B>D>C
最优组合					A ₂ B ₃ C ₂ D ₂

表 4 正交试验结果方差分析
Table 4 Analysis of variance of orthogonal test results

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
A	529.068	2	264.534	24.853	0.000 007
B	432.812	2	216.406	20.332	0.000 024
C	198.634	2	99.317	9.331	0.001 658
D	469.685	2	234.842	22.064	0.000 014
误差	191.589	18	10.644		
总和	193 061.923	27			

注:P<0.01 表示影响极显著。

酵母粉质量浓度为 3 g/L,初始 pH 值为 7.0。在该条件下进行验证实验, β -胡萝卜素降解率为 97.05%。

3 结论

本文从豫烟 13 烟叶中分离到一株能高效降解 β -胡萝卜素的菌株 YT-3,将该菌株在含有 β -胡萝卜素(20 mg/L)发酵培养基中培养, β -胡萝卜素可被有效降解为 β -紫罗兰酮、二氢猕猴桃内酯和 β -环柠檬醛等香味物质。根据经典形态学和 16 S rDNA 系统进化树分析,鉴定该菌株为霍氏肠杆菌亚

种(*Enterobacter hormanii* subsp. YT-3)。经单因素试验和正交试验优化得到菌株 YT-3 降解 β -胡萝卜素最佳发酵条件为:硝酸钠质量浓度 4 g/L、蔗糖质量浓度 30 g/L、酵母粉质量浓度 3 g/L、初始 pH 值 7.0,在该发酵条件下 β -胡萝卜素降解率达到 97.05%。本研究可为 β -胡萝卜素降解菌株的开发利用提供参考,也可为 β -胡萝卜素降解产物在食品、化学领域和香精香料行业中的应用提供技术基础。

参考文献:

- [1] SCHWEIGGERT R M, CARLE R. Carotenoid deposition in plant and animal foods and its impact on bioavailability [J]. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 2017, 57(9): 1807-1830.
- [2] DEMMIG-ADAMS B, LOPEZ-POZO M, STEWART J J, et al. Zeaxanthin and lutein: Photoprotectors, anti-inflammatories, and brain food [J]. *Molecules*, 2020, 25(16): 3607.
- [3] WALTER M H, STRACK D. Carotenoids and their cleavage products: Biosynthesis and functions [J]. *Natural Product Report*, 2011, 28(4): 663-692.
- [4] 朱明明,樊明涛,何鸿举. 类胡萝卜素降解方式的研究进展[J]. *食品科学*, 2017, 38(11): 308-317.
- [5] 许春平,王铮,郑坚强,等. 类胡萝卜素降解方式的研究综述[J]. *郑州轻工业学院学报(自然科学版)*, 2012, 27(4): 56-59.
- [6] 赵小皖,刘洵好,李慧勤,等. β -胡萝卜素的降解及其对食品体系的影响[J]. *食品工业科技*, 2011, 32(3): 417-421.
- [7] BALDERMANN S, NAIM M, FLEISCHMANN P. Enzymatic carotenoid degradation and aroma formation in nectarines (*Prunus persical*) [J]. *Food Research International*, 2005, 38(8/9): 833-836.
- [8] TUDPR C, PINTEA A. A Brief overview of dietary zeaxanthin occurrence and bioaccessibility [J]. *Molecules*, 2020, 25(18): 4067.
- [9] 魏涛,陈顺心,黄申,等. β -胡萝卜素降解菌 HC-3 发酵条件优化及其对再造烟叶浓缩液增香效果研究[J]. *轻工学报*, 2020, 35(2): 24-32.
- [10] 李爱军,代惠娟,娄本,等. 烟草类胡萝卜素研究进展[J]. *安徽农业科学*, 2008(6): 2364-2366.
- [11] WEI T, JIA B B, HUANG S, et al. Purification and characterization of a novel β -carotene-9', 10'-oxygenase from *Saccharomyces cerevisiae* ULI3 [J]. *Biotechnology Letter*, 2015, 37(10): 1993-1998.
- [12] ZORN H, LANGHOFF S, SEHEIBNER M, et al. Cleavage of β , β -carotene to flavor compounds by fungi [J]. *Applied Microbiology Biotechnology*, 2013, 62(4): 331-336.
- [13] 麻俊侠,樊明涛,王树林,等. β -胡萝卜素降解葡萄球菌化学合成培养基营养素的研究[J]. *食品科学*, 2013, 34(5): 137-141.
- [14] 贾蓓蕾,魏涛,黄申,等. α -胡萝卜素降解产香菌株的分离、鉴定及发酵条件优化[J]. *食品与发酵工业*, 2015, 41(1): 34-39.
- [15] 嵩洪欣,许园园,刘冬,等. 降解类胡萝卜素产香细菌的筛选及鉴定[J]. *食品科学*, 2014, 35(9): 152-156.
- [16] THMAS L D, BANDARA S, PARMAR V M, et al. The human mitochondrial enzyme BCO2 exhibits catalytic activity toward carotenoids and apocarotenoids [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2020, 295(46): 15553-15565.
- [17] 沈仲兴,王力. 去除全合成 β -胡萝卜素中二氯甲烷残留的工艺研究[J]. *浙江化工*, 2011, 42(8): 18-20.
- [18] 杨雪鹏,汪芳芳,崔君竹,等. 霍氏肠杆菌 A20 降解类胡萝卜素的条件优化[J]. *中国酿造*, 2016, 35(9): 125-128.

[19] ZHONG G F, WANG F F, SUN J H, et al. Bio-conversion of lutein by *Enterobacter hormaechei* to form a new compound, 8-methyl-alpha-ionone [J]. *Biotechnology Letter*, 2017, 39(7): 1019-

1024.

[20] 李文静, 李春生, 李来好, 等. 鱼露中高产蛋白酶耐盐菌株的筛选、鉴定及产酶条件优化[J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(23): 134-142.

Screening and identifying of β -carotene degrading strains from tobacco leaves and its optimization of fermentation conditions

LONG Zhangde¹, WANG Min², XUE Yun¹, SUN Jiansheng¹, LIU Qibin¹, LIU Hong¹, MAO Duobin², WEI Tao²

1. *Technology Center, China Tobacco Guangxi Industrial Co., Ltd., Nanning 530001, China;*

2. *College of Food and Bioengineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China*

Abstract: The strains that could degrade β -carotene with high efficiency were screened from fresh Yuyan 13 tobacco leaves, and the main degradation products were detected by GC-MS, the species of the strain were identified by morphology and 16S rDNA phylogenetic tree, the fermentation conditions of the strain were optimized by single factor test and orthogonal test. The results showed that YT-3 strain was *Enterobacter hormanii* subsp. which could degrade β -carotene with high efficiency. The main degradation products were β -ionone, dihydrokiwifruit lactone, β -cyclic citral (3.21%) and other flavor substances. The optimum fermentation conditions of YT-3 strain were as follows: NaNO_3 concentration 4 g/L, sucrose concentration 30 g/L, yeast powder concentration 3 g/L, initial pH value 7.0. Under these fermentation conditions, the degradation rate of β -carotene reached 97.05%.

Key words: β -carotene; degradation strains; *Enterobacter hormanii* subsp.; optimization of fermentation conditions

(责任编辑:吴晓亭)

(上接第 85 页)

Effect of cavity diameter on the mainstream smoke and sensory quality of cigarettes with circular cavity combined filter rods

WAN Jiqiang, HU Shaodong, CUI Chun, JI Peng, GU Liang, WANG Gaojie, TIAN Haiying, GAO Mingqi

Technology Center, China Tobacco He'nan Industrial Co., Ltd., Zhengzhou 450000, China

Abstract: Under the condition of the same cavity depth, four circular cavity combined filter rods with different cavity diameter were designed, and the influence of cavity diameter on the main physical and chemical indexes and sensory quality of cigarettes was studied. The results showed as follows: the release amounts of total particulate matter, tar and nicotine of circular cavity combined filter cigarettes increased with the increase of cavity diameter, and were higher than those of cigarettes with ordinary cellulose acetate filters. The nicotine interception in ordinary tow segment had little change, while the nicotine interception in the tow segment of the cavity filter rod and the nicotine interception per unit area gradually decreased with the increase of the cavity diameter. With the increase of cavity diameter, the hazard index of combined filter cigarettes increased, and the offset of cigarette hazard index gradually increased. The sensory quality evaluation score of combined filter cigarettes decreased with the increase of the cavity diameter.

Key words: circular cavity combined filter rods; cavity diameter; nicotine interception; hazard index

(责任编辑:吴晓亭)