



引用格式:许春平,俞金伟,冉盼盼,等.烟草花蕾的酶解条件优化及其烟用香料制备研究[J].轻工学报,2018,33(5):37-43.

中图分类号:TS41<sup>+</sup>3 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2018.05.005

文章编号:2096-1553(2018)05-0037-07

# 烟草花蕾的酶解条件优化及其烟用香料制备研究

## Optimization of enzymatic hydrolysis conditions of tobacco flower buds and preparation of tobacco flavor

许春平<sup>1</sup>,俞金伟<sup>1</sup>,冉盼盼<sup>1</sup>,白家峰<sup>2</sup>,马扩彦<sup>3</sup>,姚延超<sup>1</sup>,  
刘绍华<sup>2</sup>

XU Chunping<sup>1</sup>, YU Jinwei<sup>1</sup>, RAN Panpan<sup>1</sup>, BAI Jiafeng<sup>2</sup>, MA Kuoyan<sup>3</sup>,  
YAO Yanchao<sup>1</sup>, LIU Shaohua<sup>2</sup>

1. 郑州轻工业学院 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;

3. 重庆中烟工业有限责任公司 技术研发中心,重庆 400060

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

2. Technical Center, China Tobacco Guangxi Industrial Co., Ltd., Nanning 530001, China;

3. Technical Center, China Tobacco Chongqing Industrial Co., Ltd., Chongqing 400060, China

### 关键词:

酶解条件;  
美拉德反应;  
烟草花蕾;烟用香料

### Key words:

enzymatic hydrolysis  
condition;  
Maillard reaction;  
tobacco flower bud;  
tobacco flavor

**摘要:**通过正交试验对烟草花蕾在纤维素酶、半纤维素酶、果胶酶和蛋白酶的作用下的酶解条件进行优化,利用美拉德反应和同时蒸馏萃取方法提取其中的香味成分,并用 GC-MS 对所提取的香味成分分析。结果表明:1)酶解温度为50℃,酶解时间为6 h,酶解 pH 值为6,加酶量为1% (质量分数)时,氨基酸含量和还原糖含量最高,分别为2.89 mg/g 和 0.88 mg/g; 2)香味物质主要有65种,其中肉豆蔻酸、二氢猕猴桃内酯、氧化石竹烯、烟草烯、植酮、大马士酮、巨豆三烯酮、油酸酰胺、2-正戊基咪喃等香气阈值较低,是烟草中关键的致香物质,对烟草香气贡献突出; 3)氨基酸、还原糖含量与香味物质总量的相关性不明显,与香味物质的种类数量呈正相关。

收稿日期:2017-07-06;修回日期:2018-01-05

基金项目:国家自然科学基金项目(U1604176);广西中烟合作项目(20141011)

作者简介:许春平(1977—),男,河南省焦作市人,郑州轻工业学院教授,博士,主要研究方向为烟草工程与生物催化。

通信作者:刘绍华(1962—),男,广西壮族自治区桂林市人,广西中烟工业有限责任公司研究员,博士后,主要研究方向为天然产物在卷烟中的应用。

**Abstract:** The enzymatic hydrolysis conditions of tobacco flower buds under the action of cellulase, hemicellulase, pectinase and protease were optimized by orthogonal test. The flavor components were extracted by Maillard reaction and simultaneous distillation extraction. The extracted aroma components were analyzed by GC-MS. The results showed that 1) the enzymatic hydrolysis temperature was 50 °C, the enzymatic hydrolysis time was 6 h, the enzymatic hydrolysis pH was 6, and the enzyme content was 1% (mass fraction), the amino acid content and reducing sugar content were the highest, respectively 2.89 mg/g and 0.88 mg/g. 2) There were mainly 65 kinds of aroma substances, including myristic acid, dihydro kiwi lactone, oxidized carbenene, tobacco alkene, phytonone, damasthone, giant bean ketone, oleic acid amide, 2-n-pentyl group. The low aroma threshold such as furan in these substances was a key aroma substance in tobacco and contributed to tobacco aroma. 3) The correlation between amino acid and reducing sugar content and the total amount of aroma substances was not obvious, and it was positively correlated with the number of aroma substances.

## 0 引言

我国是烟草资源十分丰富的国家,烟草植物的种植面积和产量均居世界首位.我国卷烟工业多选取优质烟叶为原料,其中将近25%的烟叶、烟末等下脚料会被废弃<sup>[1]</sup>.对这些烟草废弃物的再利用,不仅可以从中获得有用的产品,为企业带来更大经济效益,也可以减轻由其带来的各种环境污染.近年来,我国科研人员在利用酶制剂改善烟叶品质方面进行了一些研究.其中,张立昌<sup>[2]</sup>利用从酵母菌 B13 中分离纯化的酶制剂处理打叶复烤后的烟叶烟丝,评吸结果显示,经酶制剂处理后的烟丝可明显改善卷烟香气,减轻杂气和刺激性,提高低次烟叶的等级.马林<sup>[3]</sup>将酶解和微生物发酵技术综合应用于改善低次烤烟的品质,评吸结果表明,处理后的烟叶香气增加,刺激性显著降低,余味干净,杂气轻微.可见,利用酶制剂和微生物发酵制备烟用香料,能明显改善卷烟香气,使烟气醇和饱满,并可以减少卷烟杂气和刺激性.

美拉德反应又被称为非酶棕色化反应,它是羰基化合物(还原糖类)和氨基化合物(氨基酸和蛋白质)之间发生的反应,经过复杂的历程最后生成棕色甚至是黑色的大分子物质类黑精(或称拟黑素),所以又被称为羰胺反应<sup>[4]</sup>,此反应可以提升烟叶品质.目前,将酶解技术和

美拉德反应结合运用的报道较少,本研究拟将酶解技术和美拉德反应综合应用于制备烟用香料:以烟草花蕾为原料,采用纤维素酶、半纤维素酶、果胶酶和蛋白酶降解烟草花蕾中纤维素、半纤维素、果胶和蛋白质,通过正交试验设计,以降解产物氨基酸和还原糖为指标,优化酶解条件,然后进行美拉德反应,同时以蒸馏萃取法提取香味成分,讨论氨基酸、还原糖含量与香味物质含量的相关性,为进一步研究烟用香料提供参考.

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料、试剂与仪器

供试材料:云烟 87 烟草花蕾.

试剂:葡萄糖,天津市大茂化学试剂厂产;谷氨酸,上海麦克林生化科技有限公司产;Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>,NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>,天津市科密欧化学试剂有限公司产;3,5-二硝基水杨酸钠,天津市光复精密化工研究所产;丙二醇,CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>,天津市富宇精细化工有限公司产;1 mol/L NaOH,1 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,开封市芳晶化学试剂有限公司产;0.8221 mg/mL 乙酸苯乙酯,北京市百灵威科技有限公司产.以上试剂均为分析纯.

仪器:Q-100A3 旗箭粉碎机,上海冰都电器有限公司产;HS-4 恒温水浴锅,上海医疗器械五厂产;PL203 电子分析天平(0.0001 g),

德国赛多利斯集团产;RIGOL Ultra - 3400 紫外分光光度计,梅特勒 - 托利多仪器上海有限公司产;DGX - 9143 电热恒温鼓风干燥箱,上海福玛设备有限公司产;BIORIDGE 卢湘仪, TGL - 16M 离心机, 6890 /5973 气相色谱/质谱联用仪,安捷伦科技有限公司产.

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 氨基酸和还原糖标准曲线方程的求取

1) 茚三酮法测水溶性氨基酸.

茚三酮显色液的制备:称取 2 g 茚三酮加入 100 mL 蒸馏水中,溶解,放入棕色瓶中保存(应每次使用前配置);pH = 8 缓冲液的制备:量取 94.7 mL 的 0.2 mol/L  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  和 5.3 mL 的 0.2 mol/L  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  混合均匀,备用<sup>[6]</sup>.

取 0.2 mg/mL 谷氨酸标准溶液按表 1 加入试剂,沸水浴中加热 15 min,冷却后定容至 10 mL,摇匀,在 570 nm 波长处测氨基酸吸光度,并求得其标准曲线方程.

表 1 氨基酸标准溶液成分

Table 1 Standard solution composition of

		amino acid			mL
编号	标准氨基酸	蒸馏水	缓冲液	茚三酮	
1	0	1.0	1.0	1.0	
2	0.2	0.8	1.0	1.0	
3	0.4	0.6	1.0	1.0	
4	0.6	0.4	1.0	1.0	
5	0.8	0.2	1.0	1.0	
6	1.0	0	1.0	1.0	

2) DNS 法测水溶性还原糖.

3,5 - 二硝基水杨酸钠试剂(DNS)<sup>[5]</sup>的制备:将 6.5 g 的 3,5 - 二硝基水杨酸钠和 2 mol NaOH 加到 500 mL 含有 182 g 酒石酸钾钠的热水中,再加入 5 g 苯酚和 5 g 亚硫酸钠,搅拌溶解,冷却后加蒸馏水定容至 1000 mL,贮存于棕色瓶中室温放置 7 ~ 10 d 后标定使用.

取葡萄糖标准溶液,按表 2 加入 DNS 试剂沸水浴中加热 5 min,冷却后定容至 25 mL 摇

匀,在 520 nm 波长测还原糖吸光度,并求得其标准曲线方程.

### 1.2.2 酶解条件正交试验设计方法

烟草花蕾打粉后,按照  $m$  (烟草花蕾) :  $m$  (水) = 1 : 10 的比例混合,加入纤维素酶、半纤维素酶、果胶酶和蛋白酶(质量比 1 : 1 : 1 : 1),在一定温度、pH 值、时间的条件下进行酶解.

对单因素温度(40 °C, 50 °C, 60 °C)、酶解 pH 值(6, 7, 8)、酶解时间(4 h, 5 h, 6 h)、加酶量(1%, 1.5%, 2%)酶解条件进行优化.采用正交试验设计的方法,选用  $L_9(3^4)$  正交表对酶解条件(酶解温度  $A$ , 酶解时间  $B$ , 酶解 pH 值  $C$ , 加酶量  $D$ )进行正交试验优化设计,正交试验因素水平表见表 3.

### 1.2.3 美拉德反应处理方法

经酶解试验后的样品中各加入 20 mL 丙二醇,调整 pH = 7. 用封口膜封口放入烘箱,于

表 2 还原糖标准溶液成分

Table 2 The standard solution composition of

		reducing sugar		mL
编号	葡萄糖标准溶液	蒸馏水	DNS 试剂	
0	0	2.0	1.5	
1	0.2	1.8	1.5	
2	0.4	1.6	1.5	
3	0.6	1.4	1.5	
4	0.8	1.2	1.5	
5	1.0	1.0	1.5	
6	1.2	0.8	1.5	
7	1.4	0.6	1.5	
8	1.6	0.4	1.5	

表 3 正交试验因素水平表

Table 3 Factors and levels of orthogonal experiment design

水平	因素			
	$A/^\circ\text{C}$	$B/\text{h}$	$C$	$D/\%$
1	40	4	6	1
2	50	5	7	1.5
3	60	6	8	2

70 ℃条件下反应 12 h<sup>[7]</sup>.

### 1.2.4 同时蒸馏萃取提取香味物质的方法

将美拉德反应产物倒入同时蒸馏萃取装置一端的平底烧瓶中,加入 100 mL 蒸馏水,用电子调温电热套加热,装置的另一端蒸馏瓶中注入 50 mL 的 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>,于 60 ℃水浴中加热.同时蒸馏萃取 2.5 h,在 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 萃取液中加入质量浓度为 0.8221 mg/mL 的乙酸苯乙酯 1 mL 和适量无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,静置过夜.然后于 35 ~ 40 ℃条件下浓缩至 1 mL 转至样品瓶中,低温密封保存,用 GC-MS 法进行定量分析.

### 1.2.5 GC-MS 条件的确定

色谱条件:色谱柱为 HP-5MS 色谱柱 (30 m × 250 μm × 0.25 μm),进样口温度 280 ℃,分流比 10 : 1,进样量 1 μL,载气为氦气,载气流量 3 mL/min,升温程序:起始温度 50 ℃,以 4 ℃/min 升至 280 ℃.

质谱条件:EI 源,接口温度 270 ℃,电子能量 70 eV,四极杆温度 150 ℃.采集模式:扫描;质量扫描范围:35 ~ 550 m/z<sup>[8]</sup>.

## 2 结果与分析

### 2.1 氨基酸和还原糖的标准曲线方程

通过实验可得氨基酸的标准曲线方程为  $y = 0.5509x - 0.2106$  ( $R^2 = 0.9929$ ),还原糖的标准曲线方程为  $y = 0.4182x + 0.0087$  ( $R^2 = 0.9973$ ),两者的  $R^2$  均大于 0.99,可用作烟草中氨基酸和还原糖含量的检测标准.

### 2.2 酶解条件正交试验结果分析

正交试验结果见表 4.从表 4 中极差分析可知:4 种因素对氨基酸含量影响顺序为酶解温度 > 酶解时间 > 加酶量 > 酶解 pH 值,最优组合为 A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>1</sub>D<sub>1</sub>,即当酶解温度为 50 ℃,酶解时间为 6 h,酶解 pH 值为 6,加酶量为 1% 时,氨基酸含量达到最高,为 2.89 mg/g;4 种因素对还原糖含量影响顺序为酶解温度 > 酶解 pH 值 > 加酶量 > 酶解时间,得出最优组合 A'<sub>2</sub>B'<sub>3</sub>

C'<sub>1</sub>D'<sub>1</sub>,即当酶解温度为 50 ℃,酶解时间为 5 h,酶解 pH 值为 6,加酶量为 1% 时,还原糖含量达到最高 0.88 mg/g.

表 4 酶解条件正交试验结果

Table 4 Orthogonal results of enzymolysis conditions

试验号	A	B	C	D	氨基酸含量 / (mg · g <sup>-1</sup> )	还原糖含量 / (mg · g <sup>-1</sup> )
1	1	1	1	1	2.72	0.45
2	1	2	2	2	2.76	0.44
3	1	3	3	3	2.70	0.33
4	2	1	2	2	2.80	0.73
5	2	2	3	3	2.85	0.57
6	2	3	1	1	2.89	0.88
7	3	1	3	2	2.74	0.49
8	3	2	1	3	2.79	0.69
9	3	3	2	1	2.80	0.54
k <sub>1</sub>	2.74	2.75	2.80	2.80		
k <sub>2</sub>	2.85	2.80	2.79	2.77		
k <sub>3</sub>	2.78	2.81	2.78	2.79		
R	0.11	0.06	0.02	0.03		
k' <sub>1</sub>	0.41	0.56	0.67	0.62		
k' <sub>2</sub>	0.73	0.57	0.57	0.55		
k' <sub>3</sub>	0.57	0.58	0.46	0.53		
R'	0.32	0.02	0.21	0.09		

注:k, R 分别是氨基酸含量的平均值和极差, k', R' 分别是还原糖含量的平均值和极差

### 2.3 香味成分物质分析

依据上述最优酶解条件,在 70 ℃条件下进行美拉德反应,然后用同时蒸馏萃取方法提取香味成分,并用 GC-MS 法分析所提取的香味成分,得到香味物质成分见表 5.从表 5 可以看出,提取的香味物质成分主要有 65 种,包括醇、醛、酸、酯、酮、烯几类,其他还有酚、酰胺、呋喃、吡啶、吡啶、腈等.从香味物质总量来看,样品 9<sup>#</sup>在酸、醇、烯、酮类别香味物质中总量最高;但从香味物质种类来看,样品 6<sup>#</sup>的香味物质种类最丰富,为 41 种;从烟碱含量来看,样品 9<sup>#</sup>含量较高,样品 6<sup>#</sup>的烟碱含量适中.氨基酸与反应体系中还原糖的比例会对美拉德反应产生明显的影响:当氨基酸量不足时,会导致美拉德反应程度不完全<sup>[9]</sup>;当还原糖含量升高时,对美拉德

表5 香味物质成分

Table 5 The composition of aroma substances

μg/g

类别	物质成分	样品编号								
		1 <sup>#</sup>	2 <sup>#</sup>	3 <sup>#</sup>	4 <sup>#</sup>	5 <sup>#</sup>	6 <sup>#</sup>	7 <sup>#</sup>	8 <sup>#</sup>	9 <sup>#</sup>
酸类	软脂酸	83.48	97.93	82.68	120.60	100.24	125.14	114.70	104.10	147.46
	硬脂酸	10.76	6.71	5.39	—	—	20.82	—	—	—
	亚油酸	68.48	19.03	15.77	1.58	1.43	0.92	1.04	0.92	—
	癸酸	—	1.59	—	1.66	—	2.40	—	1.55	2.90
	肉豆蔻酸	7.55	9.17	5.87	9.79	5.69	11.05	6.80	9.46	12.19
	十三烷酸	—	2.76	—	—	—	—	—	—	—
	正十五酸	1.41	7.39	—	8.30	—	8.40	—	8.32	11.30
	总量	202.34	172.69	122.02	171.59	147.74	186.33	171.38	145.93	207.17
醇类	苯乙醇	24.48	23.82	21.96	21.99	19.87	22.35	19.97	22.78	24.77
	苯甲醇	17.45	16.45	13.66	16.04	13.12	16.51	13.21	16.89	18.32
	1,5,9-3-甲基-12-(1-甲基乙基)-4,8,13-环十四烷烯-1,3-2-二醇	15.75	10.02	16.91	37.89	43.32	33.80	47.83	29.13	47.29
	异蒲勒醇	—	—	—	—	—	—	0.29	—	—
	顺-3-壬烯醇	—	—	—	—	—	0.39	—	—	—
	顺-3-壬烯-1-醇	0.97	1.77	1.65	6.16	—	8.85	—	—	9.07
	1-(2-甲氧基-1-甲基乙氧基)异丙醇	5.57	5.05	3.30	6.79	2.34	6.16	4.94	6.32	7.98
	兰桉醇	1.18	—	—	—	—	—	—	—	—
	总量	65.39	57.10	57.46	88.86	78.65	88.06	86.25	75.11	107.43
	酯类	邻苯二甲酸二丁酯	1.25	1.40	1.43	2.52	2.28	2.58	2.21	3.21
乙酸苏合香酯		0.34	—	—	—	—	—	—	—	—
己二酸二辛酯		1.04	2.09	4.43	1.47	0.96	1.63	2.49	6.00	2.32
丙位壬内酯		—	—	1.05	—	—	—	—	—	—
环十五内酯		1.09	—	—	—	—	—	—	—	—
棕榈酸甲酯		4.73	4.83	5.20	6.97	6.22	7.78	6.35	7.96	8.45
硬脂酸甲酯		—	1.99	1.87	—	3.70	—	—	—	—
邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯		—	—	—	1.27	2.95	0.62	0.81	—	—
亚麻酸甲酯		—	4.55	4.56	6.00	5.23	6.89	5.62	—	—
二氢猕猴桃内酯		2.67	3.14	3.07	3.33	3.25	3.19	4.02	3.32	4.24
总量	11.12	18.01	21.62	21.57	24.59	22.70	21.49	20.50	15.01	
烯类	1-石竹烯	—	—	—	4.88	4.48	5.20	4.89	5.69	5.43
	1-十八烷烯	—	—	2.30	—	0.67	—	—	—	0.75
	三环烯	68.80	33.47	38.42	75.62	77.28	73.88	77.20	80.43	86.01
	氧化石竹烯	3.46	3.48	2.83	5.01	2.74	3.53	4.95	3.74	4.30
	1-二十二烯	—	0.51	0.47	—	—	—	—	—	—
	烟草烯	3.86	10.07	8.15	—	—	3.96	—	4.33	—
	1-十九烷烯	—	—	—	0.60	—	—	—	0.71	0.86
	别香枝烯	—	—	0.71	—	—	—	4.90	—	—
总量	76.12	47.53	52.88	86.11	85.17	86.57	91.94	94.90	97.34	
酮类	植酮	5.45	7.30	6.15	7.04	6.90	7.42	7.44	8.14	8.97
	邻甲基苯乙酮	0.92	—	—	—	—	0.86	0.79	—	0.90
	间甲基苯乙酮	—	1.19	1.07	0.78	0.69	—	—	—	—
	2-壬酮	—	—	1.47	1.14	1.10	—	—	—	0.88
	2-羟基环十五酮	—	—	—	1.92	—	2.05	—	—	2.50
	乙位紫罗兰酮	—	—	—	—	—	0.85	—	—	0.91
	大马士酮	0.58	0.55	0.49	1.02	0.72	—	0.59	1.65	1.53
	大马酮	—	—	—	—	—	1.53	—	—	—
巨豆三烯酮	0.62	—	—	0.96	0.60	0.87	3.92	0.94	1.05	

续表 5

类别	物质成分	样品编号								
		1 <sup>#</sup>	2 <sup>#</sup>	3 <sup>#</sup>	4 <sup>#</sup>	5 <sup>#</sup>	6 <sup>#</sup>	7 <sup>#</sup>	8 <sup>#</sup>	9 <sup>#</sup>
醛类	总量	7.58	9.04	9.18	12.85	10.00	13.58	12.74	10.73	16.75
	对甲基苯甲醛	—	0.74	—	—	0.82	—	—	1.04	1.14
	苯乙醛	17.15	18.69	18.66	14.15	11.62	18.59	8.04	17.27	13.24
	邻甲基苯甲醛	0.85	—	—	0.91	—	—	0.88	—	—
	反,顺-2,6-壬二烯醛	1.68	—	1.26	1.30	—	1.34	1.32	1.38	1.43
	正十五碳醛	—	1.50	1.50	2.19	1.83	2.44	1.76	2.92	2.81
	反式-2-癸烯醛	2.40	—	—	—	—	2.13	—	—	—
	2-苯基巴豆醛	0.54	0.48	—	0.51	0.58	0.67	0.58	0.66	0.76
	反-2,6-壬二醛	—	1.32	—	—	1.33	—	—	—	—
总量	22.63	22.73	21.42	19.06	16.18	25.17	12.58	23.28	19.38	
其他	邻硝基苯酚	0.87	3.20	2.87	—	—	—	—	—	—
	邻甲氧基苯酚	2.54	—	—	—	—	—	—	—	—
	4-乙基-2-甲氧基苯酚	2.09	—	—	5.27	5.10	6.58	4.32	6.06	6.16
	N-乙基-2-甲基苯胺	2.53	2.28	—	—	—	—	1.80	—	1.73
	N-乙基间甲苯胺	—	—	2.07	1.84	1.69	—	—	—	—
	芥酸酰胺	1.29	—	1.75	1.29	1.27	1.58	1.84	8.28	—
	油酸酰胺	2.41	3.30	3.64	2.86	2.41	3.06	2.33	5.87	5.76
	N-异丙基苯胺	—	—	—	—	—	1.96	—	—	—
	2-正戊基咪喃	2.35	1.72	1.44	2.18	1.97	2.54	1.90	2.74	2.81
	叔丁基吡啶	—	—	—	—	—	—	—	1.92	—
	吡啶	4.39	3.13	3.43	5.91	5.59	6.16	5.72	6.36	7.20
	2,3-2-苯基吡啶	—	—	—	—	0.81	—	0.85	0.75	0.93
	苯甲腈	0.93	1.56	1.34	—	—	—	—	—	—
	苯乙腈	0.85	0.85	0.84	1.66	1.02	1.57	1.23	1.67	—
	烟碱	30.66	28.12	12.31	29.66	40.39	17.60	48.84	21.59	33.31
总量	20.23	16.03	17.39	21.01	19.85	23.45	19.98	33.66	24.58	
香味物质总量	405.41	343.14	301.98	421.07	382.19	445.85	416.37	404.10	487.65	
香味物质类别总和/种	40	39	38	39	37	41	36	35	36	

反应有促进作用. 样品 6<sup>#</sup>中氨基酸、还原糖含量比较高,比例合适,反应比较完全,所以香味物质种类比较多. 综合权衡香味物质种类、含量和烟碱含量,样品 6<sup>#</sup>所处条件为最佳酶解条件.

其中肉豆蔻酸、二氢猕猴桃内酯、氧化石竹烯、烟草烯、植酮、大马士酮、巨豆三烯酮、油酸酰胺、2-正戊基咪喃等香气阈值低,是烟草中关键的致香物质,对烟草香气贡献突出<sup>[10-11]</sup>.

### 2.3 氨基酸、还原糖含量与香味物质含量的相关性分析

从表 4 和表 5 可知,试验 6 条件下氨基酸、

还原糖含量最高;但从醇、醛、酸、酯、酮、烯类别香味物质总量来看,样品 6<sup>#</sup>的各类别香味物质并非总量最高,只有醛类总含量最高,其他类别含量均仅次于最高含量,所有香味物质总含量仅次于样品 9<sup>#</sup>;但从香味物质种类来看,样品 6<sup>#</sup>的香味物质种类最为丰富. 这说明氨基酸、还原糖含量与香味物质总量相关性不明显;但氨基酸、还原糖含量与香味物质种类数量呈正相关.

### 3 结论

本文以烟草花蕾为原料,通过纤维素酶、半纤维素酶、果胶酶和蛋白酶进行酶解,采用正交

试验对酶解条件进行优化,并在一定温度条件下进行美拉德反应,然后用同时蒸馏萃取方法提取香味成分,用 GC-MS 法加以分析,得到如下结论.

1)当酶解温度为 50 ℃,酶解时间为 6 h,酶解 pH 值为 6,加酶量为 1% 时,氨基酸和还原糖含量最高,分别可达 2.89 mg/g 和 0.88 mg/g.

2)提取的主要香味物质有 65 种,包括醇、醛、酸、酯、酮、烯、酚、酰胺、呋喃、吡啶、腈等物质.其中肉豆蔻酸、二氢猕猴桃内酯、植酮和大马士酮、巨豆三烯酮、氧化石竹烯、烟草烯、油酸酰胺、2-正戊基呋喃等香气浓度大,香气阈值低,是烟草中关键的致香物质,对烟草香气贡献突出.

3)氨基酸、还原糖含量与香味物质总量相关性不明显,但与香味物质种类数量呈正相关.本文主要根据氨基酸、还原糖含量与香味物质种类选择最优酶解条件,在具体试验中可以根据目的的不同而选择相应的最优酶解条件.

将烟草花蕾通过酶解和美拉德反应制备烟用香料,可为烟草花蕾的重新利用提供一条切实可行的途径.本文方法所开发的香料运用于调香工艺,有助于形成卷烟产品的独特风格,下一步的工作重点将通过外加不同的单糖,优化美拉德反应条件并揭示其反应机理,进一步提升以烟草花蕾为原料的烟用香料的品质.

#### 参考文献:

[1] 彭靖里,马敏象,吴绍情,等.论烟草废弃物的

综合利用技术及其发展前景[J].中国资源综合利用,2001,12(8):18.

[2] 张立昌.烟叶酶处理的作用效果[J].烟草科技,2001(4):7.

[3] 马林.利用生物技术改变烟叶化学组分提高其吸食品质和安全性的研究[J].郑州工程学院学报,2001,22(3):40.

[4] CARDOSO J C, PEREIRA N L, NUNES P S, et al. Effect of the Maillard reaction on properties of casein and casein films [J]. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2010, 104 (1):249.

[5] 李环,陆佳平,王登进. DNS 法测定山楂片中还原糖含量的研究[J].食品工业科技,2013(18):75.

[6] 郭兴凤.蛋白质水解度的测定[J].中国油脂,2000,25(6):176.

[7] 张鹏,于静洋,龙章德,等.美拉德反应改善烟草薄片质量的应用研究[J].食品与机械,2016,32(3):39.

[8] 谢剑平,赵明月,吴鸣,等.白肋烟重要香味物质组成的研究[J].烟草科技,2002(10):3.

[9] 唐胜,沈光林,饶国华,等.利用烟末酶解液制备烟用美拉德反应香精的研究[J].食品工业科技,2011,32(4):268.

[10] 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.

[11] 史宏志,刘国顺.烟草香味学[M].北京:中国农业出版社.1998.