

再造烟叶中果胶降解条件优化及其应用研究

Condition optimization and application of pectin degradation in reconstituted tobacco

郝 辉¹ 王高杰¹ 许春平² 张 展¹

HAO Hui¹ WANG Gao-jie¹ XU Chun-ping² ZHANG Zhan¹

聂 聪¹ 孙斯文² 马宇平¹

NIE Cong¹ SUN Si-wen² MA Yu-ping¹

(1. 河南中烟工业有限责任公司技术中心, 河南 郑州 450000;

2. 郑州轻工业学院食品与生物工程学院, 河南 郑州 450000)

(1. Technical Center of China Tobacco Henan Industrial Co., Ltd., Zhengzhou, Henan 450000, China;

2. College of Food and Biology Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou, Henan 450000, China)

摘要:为降低造纸法再造烟叶中的果胶含量(质量分数),以造纸法再造烟叶工艺生产线上经解纤和浸提处理的梗末混合物为研究对象,通过单因素及正交试验对黑曲霉产果胶酶降解的果胶工艺条件进行优化;采用在线裂解—气相色谱/质谱法(PY—GC/MS)对酶解前后样品的热裂解产物进行分析,采用硅烷化—GC/MS法分析果胶质酶解前后的单糖组成,并将处理前后的样品添加至卷烟中进行感官评价。结果表明:果胶降解最佳反应条件为酶活力 3 700 U/mL、料液比 1:1(*m*:*V*)、酶解温度 50 ℃、酶解时间 1.5 h,在该条件下果胶质降解率为 32.47%;酶解后,样品果胶单糖组成中葡萄糖及半乳糖醛酸的含量降低。样品裂解产物的组成及含量有明显变化,酚类物质总量由(3.00±0.16)%降低至(2.46±0.11)%,醛酮类、醇类香味物质总量也有所降低,但杂环类、酯类香味物质总量增加;将酶解后的样品添加于卷烟后,卷烟烟气变得柔和,透发性好,刺激性降低,余味纯净舒适,但香气量及劲头略有不足。

关键词:黑曲霉;果胶酶;果胶质;降解率;造纸法再造烟叶;热裂解;GC/MS

Abstract: In order to reduce the pectin content (mass fraction) in reconstituted tobacco, the degradation conditions of tobacco stem end mixture from defiber and extraction during paper-making reconstitu-

tion process by pectinase from *Aspergillus niger* were optimized by single factor and orthogonal experiment methods. The pyrolysis products were investigated by on-line pyrolysis gas chromatography / mass spectrometry (PY—GC/MS) prior to and after enzymolysis. The monosaccharide composition of pectin prior to and after enzymolysis was analyzed by silanizing GC/MS. And sensory evaluation was investigated by adding the degraded tobacco sample into cigarette. The results showed that: the optimal reaction conditions of pectin degradation were: the enzyme activity 3 700 U/mL, the ratio of liquid to solid 1:1 (*m*:*V*), temperature 50 ℃, time 1.5 h. Under this conditions, the pectin degradation rate was 32.47%. After enzymolysis, the contents of glucose and galacturonic acid in the monosaccharide composition of pectin were decreased. The composition and content of pyrolysis of tobacco samples also changed obviously. Compared with the control, the phenol content was reduced from (3.00±0.16)% to (2.46±0.11)%, and the flavor contents of aldehyde ketones and alcohols was decreased while heterocyclic and ester aroma substances were increased. Sensory evaluation showed that after the enzymatic samples were added to the cigarettes, the smoke of the cigarettes became softer with better permeability, and the irritation was reduced, but the amount of aroma was slightly become less and strength was insufficient.

Keywords: *Aspergillus niger*; pectinase; pectin; degradation rate; reconstituted tobacco of paper-making process; pyrolysis; GC/MS

基金项目: 河南中烟工业有限责任公司对外合作项目(编号: HN2Y102014012)

作者简介: 郝辉,男,河南中烟工业有限责任公司技术中心工程师,硕士。

通讯作者: 马宇平(1965—),男,河南中烟工业有限责任公司技术中心研究员,硕士。E-mail: mayp@mail.dihao.cn

收稿日期: 2015-12-19

再造烟叶可以作为卷烟的填充料,既可以有效降低卷烟成本,又有助于提高卷烟的内在品质,降低有害成分释放量^[1-2]。烟梗作为再造烟叶和卷烟生产中的主要原料之一,果胶质含量较高,约占 11%~12%^[3]。由于果胶分子中含有

甲醇结构,在卷烟燃吸过程中会产生甲醛和甲酸等物质,造成烟气刺激性增强等不利影响^[4]。果胶质也是吸湿性物质,会影响烟叶的燃烧性能,导致焦油量升高,影响卷烟的吸味^[5]。烟梗果胶降解的方法主要包括物理方法、化学方法以及生物技术方法,但物理和化学方法会破坏烟梗结构^[3,6]。近年来,随着生物技术的不断发展,利用生物酶和微生物降解烟草果胶在卷烟生产中得到应用,以改善烟草吸食品质,如邓国宾等^[7]用 DPE-005 菌株所产含有果胶酶对玉溪 B3F 烟叶进行处理,化学成分检测和对比感官评吸结果表明,果胶含量降低了 18.15%,烟气中的杂气和刺激性减轻,吸味品质得到改善。但是目前对果胶酶在造纸法再造烟叶的应用研究还很少,还没有优化得到最佳的工艺条件,也没有对降解前后果胶化学组成进行研究^[8],因此,在前期研究的基础上^[9],从烟田土壤中分离出一株黑曲霉(*Aspergillus niger*) SW06,采用该菌株发酵培养得到的较高产量的粗果胶酶,以再造烟叶工艺生产线挤干机出口的梗末混合物(以下简称梗末)为材料,对果胶酶降解梗末果胶质的工艺条件进行优化研究,然后对酶解前后样品的热裂解产物和酶解前后样品的单糖组成进行分析,并将处理前后的样品添加至卷烟中进行感官评价,旨在降低再造烟叶中果胶质的含量,提高卷烟品质提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

黄金叶(硬帝豪)配方烟丝:河南中烟工业有限责任公司;

梗末样品:打浆度为(10±2)°SR,河南卷烟工业烟草薄片有限公司;

粗果胶酶液:由本实验室用黑曲霉菌株 SW06 发酵筛选得到,发酵培养基为果糖 48.90 g/L、蛋白胨 5.00 g/L、果胶粉 6.00 g/L,培养条件为 28 °C、160 r/min 下恒温培养 48 h,发酵后通过超滤、浓缩得到粗果胶酶液;

DNS:分析纯,天津市华东试剂有限公司;

无水乙醇:分析纯,天津市永大化学试剂有限公司;

D-半乳糖醛酸标准品:97%,美国 Sigma-Aldrich 公司;

果胶标准品:酯化度 67%~70%,美国 Sigma-Aldrich 公司;

咪唑:分析纯,天津市光复精细化工研究所;

甲醇、三氟乙酸、N,O-双(三甲基硅基)三氟乙酰胺(BSTFA)和三甲基氯硅烷(TMCA):色谱纯,东京化成工业株式会社;

电子天平:BS200S 型,德国 Sartorius 公司;

紫外分光光度计:UV-17001C 型,上海凤凰光学仪器有限公司;

气质联用仪:HP7890A/5973N 型,美国 Agilent 科技有限公司;

裂解仪:CDS Pyroprobe 5000 型,美国 CDS 公司。

1.2 方法

1.2.1 正交试验 根据预试验结果,结合果胶质含量的测

定结果,选择酶活力、反应时间、料液比、反应温度进行 4 因素 3 水平正交试验对果胶质降解条件进行优化及差异显著性分析。因素水平见表 1。

表 1 4 因素 3 水平正交试验表

Table 1 Four factors and three levels of orthogonal test

水平	A 酶活力/ (U·mL ⁻¹)	B 料液比 (m:V)	C 酶解温 度/°C	D 酶解时 间/h
1	29 000	1:1	45	1.5
2	10 000	1:3	50	2.0
3	3 700	1:5	55	2.5

1.2.2 果胶酶活力的测定 参考文献^[10]。取 1% 果胶溶液 0.4 mL 于试管中,并加入 0.04 mol/L Na₂HPO₄—0.02 mol/L 柠檬酸缓冲液 1.0 mL(pH 5.0),加入适当稀释的酶液 0.1 mL,45 °C 反应 30 min(对照组以煮沸失活的酶液代替),然后加入 DNS 溶液 3.0 mL 终止反应,沸水浴 5 min,冷却,定容至 15 mL,用分光光度计在 540 nm 波长下测吸光度,得到反应体系中产生的半乳糖醛酸的量。酶活力单位定义为:1 mL 酶液在 pH 5.0、45 °C 的条件下,每分钟降解底物产生 1 μg 半乳糖醛酸的酶量定义为 1 单位的果胶酶的酶活,以 U/mL 表示。酶活力按式(1)计算:

$$U = \frac{(C_{\text{试验}} - C_{\text{对照}}) \times N \times V_{\text{总}} \times 1\,000}{V_{\text{酶}} \times T}, \quad (1)$$

式中:

U——果胶酶活力,U/mL;

N——酶液稀释倍数;

V_总——反应总体积,mL;

V_酶——酶液体积,mL;

T——反应时间,min;

C_{试验}——加酶处理的烟梗中果胶水解生成的半乳糖醛酸的量,mg/mL;

C_{对照}——对照样中果胶水解生成的半乳糖醛酸的量,mg/mL。

1.2.3 果胶质含量的测定 采用咪唑比色法^[11]。果胶质含量按式(2)计算:

$$C = \frac{A \times V \times K \times 100}{W \times 10^6} \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

C——果胶质含量,%;

A——根据标准曲线求得的果胶提取稀释液的果胶质含量(质量浓度),μg/mL;

V——果胶质提取液体积,mL;

K——果胶质提取液稀释倍数;

W——样品质量,g。

果胶质降解率 E_i按式(3)计算:

$$E_i = \frac{C_0 - C_i}{C_0} \times 100\%, \quad (3)$$

式中:

E_i——果胶质降解率,%;

C_0 ——对照样中果胶质含量, %;

C_i ——酶解处理后样品中果胶质含量, %。

1.2.4 热裂解产物的测定 将酶解前后的梗末样品烘干、粉碎, 根据文献[12]的方法进行热裂解, 用 GC/MS 在线检测裂解产物, 重复测定 3 次。GC/MS 条件: DB-5MS 弹性石英毛细管柱(60 m×0.25 mm i. d. ×0.25 μm d. f.); 进样量 1 μL; 进样口温度 280 °C; 分流比 10:1; 载气为氦气; 升温程序: 50 °C 保持 2 min, 以 5 °C/min 升温至 280 °C, 并保持 10 min; EI 源电离能量 70 eV; 传输线温度 280 °C; 电子倍增器电压 1 600 V; 质量扫描范围 30~550 amu; 离子源温度 230 °C; 四极杆温度 150 °C; 利用 NIST11 标准谱库检索对采集到的质谱图进行化合物分析鉴定^[13-14]。

1.2.5 果胶质单糖组成分析 以 0.1 g/mL 的用量向果胶质提取液中加入活性炭, 于 45 °C 水浴条件下搅拌脱色^[15], 滤液在 70 °C 下旋蒸浓缩, 冷却, 加入 1.5 倍体积无水乙醇, 静置过夜, 离心, 得到果胶粗品, 冷冻干燥后得到果胶粉末。

称取 0.003 g 果胶粉末于具塞棕色小瓶中, 加入 2 mol/L 三氟乙酸 3 mL, 于 121 °C 下水解 2 h; 用 0.22 μm 水相滤膜过滤, 取 2 mL 清液, 蒸干, 加入 1 mL 甲醇再次蒸干, 重复 3 次; 加入 0.9 mL 吡啶及 0.1 mL 衍生化试剂 BSTFA: TMCA (99:1, V:V); 80 °C 密闭衍生化反应 2 h, 取样进行 GC/MS 分析^[16]。

GC/MS 条件: HP-5 MS 毛细管柱(60 m×0.25 mm i. d. ×0.25 μm d. f.); 进样量 0.1 μL; 分流比 50:1; 延迟时间 7 min; 升温程序: 60 °C 保持 2 min, 以 5 °C/min 升温至 280 °C, 并保持 20 min; 溶剂延迟 7 min; 其他条件同 1.2.4。

1.2.6 试验卷烟制备及感官质量评价 取配方烟丝及酶解前后的梗末, 于温度(22±2) °C、相对湿度(60±5)% 条件下平衡 48 h。将梗末按烟丝质量的 15% 与配方烟丝均匀混合后上机卷制。试验组为粗酶液酶解后的梗末, 对照组为高温灭活的粗酶液处理后的梗末(考察酶液成分对感官的影响), 对照组为蒸馏水处理的梗末。

将试验卷烟样品于温度(22±2) °C、相对湿度(60±5)% 的恒温恒湿箱中平衡 24 h, 从香气特性、烟气特性和口感特性 3 个方面进行卷烟感官质量评价。

2 结果与讨论

2.1 正交试验结果

根据表 1 的试验因素和水平, 正交试验结果和方差分析结果分别见表 2、3。

由表 1、2 可知, 极差 R 值大小顺序为 $D(9.98) > A(9.37) > B(9.27) > C(2.22)$, 因此各个因素对降解率的影响由大到小依次为: 反应时间 $D >$ 酶活力 $A >$ 料液比 $B >$ 酶解温度 C , 最优组合为 $A_3B_1C_2D_1$, 即酶活力 3 700 U/mL、料液比 1:1($m:V$)、酶解温度 50 °C、酶解时间 1.5 h。在该最优组合条件下进行验证实验(平行 3 次), 梗末果胶质降解率达到最大, 为(32.47±1.36)%。由表 3 可知, 酶活力、料液比和酶解时间对果胶质降解率有极显著影响, 而酶解温度无明显影响, 在试验设计中可根据需要选择合适的酶解温度。

表 2 果胶质中果胶降解率的正交试验结果

Table 2 Orthogonal test of pectin degradation by pectinase of *A. niger* ($n=3$)

试验号	A	B	C	D	降解率/%
1	1	1	1	1	29.23±3.05
2	1	2	2	2	19.15±2.34
3	1	3	3	3	11.63±1.83
4	2	1	2	3	26.48±2.35
5	2	2	3	1	31.85±1.25
6	2	3	1	2	14.14±3.33
7	3	1	3	2	29.41±1.45
8	3	2	1	3	27.15±0.85
9	3	3	2	1	31.55±2.45
k_1	20.00	28.37	23.51	30.88	
k_2	24.16	26.05	25.72	20.90	
k_3	29.37	19.11	24.30	21.75	
R	9.37	9.27	2.22	9.98	

表 3 方差分析[†]

Table 3 Analysis of variance

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	显著性
A	414.50	2	207.25	39.18	**
B	408.07	2	204.03	38.57	**
C	22.93	2	11.46	2.17	
D	556.07	2	278.03	52.56	**
e	95.26	18	5.29		
总和	1 496.83	26			

[†] $F_{0.01(2,18)} = 6.01$; ** . 表示极显著。

2.2 酶处理前后梗末的热裂解产物

梗末的裂解产物对比结果(见表 4)表明, 裂解产物成分在组成和相对含量方面均发生了明显的变化, 根据官能团不同, 对检出化合物进行分类, 见表 5。由表 5 可知, 与采用蒸馏水处理的对照组相比, 在最优酶解条件下酶解后的样品中, 酚类物质总量由(3.00±0.16)% 降低至(2.46±0.11)%。烟气中酚类物质的主要前体有纤维素、半纤维素、绿原酸、果胶、淀粉等, 酚类物质有促癌作用, 当与稠环芳烃一起作用时, 能增加稠环芳烃的致癌性, 果胶降解可能导致裂解产物中酚类物质的减少^[13]。醛酮类物质种类较多, 多为致香成分, 对烟草吸食品质影响较大^[17], 由表 4 可知, 试验组中新增 3-甲基环戊烷-1,2-二酮和壬醛, 但具有焦甜香、枫槭香及坚果香的甲基环戊烯醇酮, 含量由(2.33±0.08)% 降低至(0.71±0.10)%。杂环类香味物质总量增加, 由(5.14±0.15)% 增加至(5.80±0.09)%, 其中 5-甲基呋喃醛、糠醛增加明显, 它们透发甜味, 具有丰满烟香的作用。酯类物质是烟草制品的调味剂, 其含量增加 0.15%。醇类物质通常具有木香和清香, 其总体减少, 总量降低 1.34%。羧酸类物质(环丙甲酸)对烟气有不良影响, 经酶处理后未检出(表 4)。烟碱含量由(0.26±0.00)% 降低至(0.19±0.01)%, 可能会导致烟气劲头略显不足。

表4 梗末的裂解产物对比[†]Table 4 Comparison of pyrolysis products of pectin degradation of tobacco stem ($n=2$)

编号	保留时间/ min	裂解产物	匹配度/%	相对峰面积百分比/%	
				处理前	处理后
1	4.46	二氧化碳	94	63.50±0.10 ^a	63.35±0.12 ^a
2	5.42	丙醇	72	1.27±0.03 ^a	—
3	5.44	乙醛	72	—	1.48±0.06 ^a
4	5.54	2,3-丁二酮	52	2.83±0.11 ^a	2.65±0.13 ^a
5	6.38	环丙甲酸	38	1.12±0.05 ^a	—
6	6.52	1-羟基-2-丙酮	80	7.79±0.02 ^a	7.33±0.10 ^b
7	7.03	2,3-戊二酮	59	0.66±0.11 ^a	0.71±0.12 ^a
8	8.01	N-甲基吡咯	96	0.47±0.03 ^a	0.45±0.00 ^a
9	8.13	1,2-二甲基-1,3-环戊二烯	46	0.20±0.04 ^a	—
10	8.43	吡咯	81	1.03±0.03 ^a	1.07±0.09 ^a
11	8.82	甲苯	94	1.22±0.07 ^a	1.37±0.06 ^b
12	9.21	丙酮酸甲酯	52	1.40±0.05 ^a	1.62±0.06 ^b
13	9.47	环戊酮	64	0.39±0.04 ^a	0.37±0.08 ^a
14	9.65	N-(2-氨基乙基)吡咯烷	64	0.47±0.00 ^a	0.50±0.02 ^b
15	9.89	六甲基环三硅氧烷	53	0.24±0.05 ^a	0.26±0.02 ^a
16	10.60	环丁腈	50	0.19±0.03 ^a	0.23±0.02 ^b
17	10.73	糠醛	91	1.99±0.02 ^a	2.18±0.01 ^b
18	10.91	一氧化异戊二烯	60	0.27±0.07 ^a	—
19	10.92	3-乙烷基-1H-吡咯	64	—	0.31±0.13 ^a
20	11.07	反式-2-己烯醛	83	0.32±0.02 ^a	0.33±0.07 ^a
21	11.74	1-乙酰氧基-2-丙酮	72	1.22±0.08 ^a	1.25±0.09 ^a
22	11.92	5-甲基-2(3H)-呋喃酮	64	0.25±0.00 ^a	0.29±0.01 ^b
23	12.10	间二甲苯	95	0.36±0.10 ^a	0.36±0.07 ^a
24	12.49	4-环戊烯-1,3-二酮	87	0.41±0.04 ^a	0.43±0.05 ^a
25	12.91	苯乙烯	96	—	0.42±0.03 ^a
26	13.31	甲基环戊烯醇酮	93	2.33±0.08 ^a	0.71±0.10 ^b
27	13.59	顺式-2-己烯	53	—	0.74±0.06 ^a
28	14.13	2-羟基-2-环戊烯-1-酮	87	0.89±0.02 ^a	1.18±0.08 ^b
29	14.41	2-环己烯-1-酮	58	0.11±0.00 ^a	0.11±0.04 ^a
30	14.79	1-甲基-2-亚甲基-环己烷	90	0.09±0.03 ^a	0.14±0.05 ^a
31	15.39	1-乙酰氧基-2-丁酮	45	0.12±0.06 ^a	0.14±0.02 ^a
32	15.48	5-甲基呋喃醛	95	0.33±0.03 ^a	0.40±0.02 ^b
33	15.61	3-甲基-2-环戊烯-1-酮	95	0.64±0.01 ^a	0.65±0.03 ^b
34	15.92	2-糠酸甲酯	86	0.07±0.01 ^a	—
35	15.99	3-甲基-2-(5H)-呋喃酮	68	0.10±0.04 ^a	—
36	16.33	2-羟基-4-甲基嘧啶	50	0.10±0.01 ^a	—
37	16.55	苯酚	94	0.60±0.04 ^a	0.60±0.03 ^a
38	16.67	3-甲基吡嗪	85	0.16±0.01 ^a	—
39	16.68	2,3-二甲基-2-环戊烯酮	80	0.27±0.00 ^a	0.15±0.01 ^b
40	17.84	2,5-二甲基-2,4-己二烯	87	0.11±0.05 ^a	0.09±0.00 ^a
41	17.90	2-甲基-6-亚甲基-1,7-辛二烯	94	0.09±0.01 ^a	—
42	18.08	3-甲基环戊烷-1,2-二酮	93	—	1.41±0.01 ^a
43	18.18	右旋萜二烯	99	0.36±0.01 ^a	0.37±0.03 ^a
44	18.42	2,3-二甲基-2-环戊烯酮	93	0.45±0.00 ^a	0.42±0.06 ^a
45	18.72	4-甲基-2(H)-呋喃酮	62	—	0.13±0.00 ^a

续表 4

编号	保留时间/ min	裂解产物	匹配度/%	相对峰面积百分比/%	
				处理前	处理后
46	18.84	苯乙醛	46	0.22±0.03 ^a	0.22±0.01 ^a
47	19.11	2-羟基-3,4-二甲基-2-环戊烯酮	90	0.34±0.02 ^a	0.30±0.04 ^a
48	19.35	邻甲酚	98	0.38±0.03 ^a	0.37±0.04 ^a
49	19.68	2-己炔-1-醇	78	—	0.05±0.02 ^a
50	19.73	苯乙酮	60	0.06±0.00 ^a	0.06±0.00 ^a
51	19.91	乙烯环己醇	81	0.11±0.04 ^a	—
52	19.98	3-乙基-2-环戊烯-1-酮	90	0.17±0.01 ^a	0.17±0.01 ^a
53	20.09	3,4-二甲基-3-戊烯-2-酮	45	0.11±0.10 ^a	0.12±0.11 ^a
54	20.23	间甲酚	97	0.57±0.12 ^a	—
55	20.23	4-甲基苯酚	97	—	0.60±0.13 ^a
56	20.47	愈创木酚	93	0.30±0.00 ^a	0.31±0.03 ^a
57	20.60	2,4-二甲基苯乙烯	90	0.07±0.01 ^a	—
58	21.00	壬醛	49	—	0.27±0.01 ^a
59	21.43	麦芽醇	96	0.43±0.03 ^a	0.42±0.02 ^a
60	21.62	乙基环戊烯醇酮	96	0.37±0.01 ^a	0.38±0.03 ^a
61	22.55	苯乙腈	90	0.14±0.02 ^a	0.14±0.06 ^a
62	22.99	2,4-二甲基苯酚	96	0.14±0.06 ^a	0.13±0.04 ^a
63	23.07	2,3-二甲基苯酚	91	0.22±0.03 ^a	0.18±0.02 ^a
64	23.70	4-乙基苯酚	94	0.29±0.03 ^a	0.28±0.01 ^a
65	24.85	癸醛	58	0.04±0.00 ^a	0.06±0.00 ^a
66	25.51	1,4:3,6-二脱水- α -D-吡喃葡萄糖	91	0.24±0.05 ^a	0.26±0.08 ^a
67	26.25	2-乙基-5-甲基苯酚	87	0.03±0.01 ^a	—
68	26.25	4-乙基-3-甲基-苯酚	93	—	0.04±0.01 ^a
69	26.81	3-甲基-2(3H)-苯并呋喃酮	55	0.07±0.00 ^a	0.10±0.02 ^b
70	27.14	1,1-二甲基-1H-茛	91	0.07±0.00 ^a	0.07±0.01 ^a
71	27.49	2-异丙基-3-甲氧基吡嗪	87	0.11±0.01 ^a	0.11±0.04 ^a
72	27.71	邻异丙基苯硫酚	90	0.09±0.06 ^a	0.09±0.04 ^a
73	27.93	1-茛酮	94	0.17±0.04 ^a	0.11±0.02 ^b
74	28.50	氮茛	93	0.07±0.03 ^a	—
75	28.50	吡啶	95	—	0.25±0.01 ^a
76	28.85	对乙烯基愈创木酚	94	0.25±0.02 ^a	0.21±0.03 ^a
77	30.18	烟碱	97	0.26±0.00 ^a	0.19±0.01 ^b
78	31.28	1-十四烯	95	0.05±0.01 ^a	0.06±0.02 ^a
79	31.67	3-甲基吡啶	94	0.04±0.01 ^a	—
80	31.68	5-甲基吡啶	93	—	0.04±0.03 ^a
81	33.45	异丁香酚	98	0.15±0.02 ^a	0.14±0.04 ^a
82	34.75	十五烷	95	0.04±0.01 ^a	0.04±0.00 ^a

† 相对峰面积百分比即峰面积与总面积之比;裂解温度 600 °C;相同字母表示 95%置信水平无显著差异;— 未检出。

2.3 梗末果胶单糖组成

从酶解前后的梗末中提取果胶,并对其单糖组成进行 GC/MS 分析,以面积归一化法计算单糖含量,重复 3 次取平均值,结果见表 6。

果胶是由 D-半乳糖醛酸经 α -1,4-糖苷键相连聚合而成的大分子多糖,其中也常含有 L-阿拉伯糖、L-鼠李糖、D-半乳糖、D-木糖和 D-葡萄糖等其他糖类成分^[3],从梗末中提取的果胶单糖组成主要包括葡萄糖和半乳糖醛酸。葡萄

糖含量较高说明梗末果胶中含有大量的葡糖基,它们通过糖苷键连接在半乳糖醛酸主链上。酶解后再提取果胶,单糖的比例发生变化,其中阿拉伯糖、鼠李糖、木糖、半乳糖及甘露糖含量大幅增加,葡萄糖及半乳糖醛酸含量降低,可能是由于果胶酶作用位点不同,导致糖含量发生变化。样品经酶降解后糖类成分含量的变化可导致裂解产物的不同,这可能是引起裂解产物中羧酸类及醛酮类物质减少的原因。

表5 梗末裂解产物含量对比分析

Table 5 Comparison of classification and content of pyrolysis products

分类	对照组		试验组	
	含量/%	种类	含量/%	种类
烷烃和烯烃类	1.43±0.09	9	1.73±0.13	6
杂环类	5.39±0.15	13	6.09±0.09	13
醛酮类	19.51±0.11	21	19.11±0.90	20
羧酸类	1.12±0.02	1	0.00±0.00	0
酯和内酯类	1.47±0.06	2	1.62±0.06	1
醇类	1.81±0.18	3	0.47±0.13	2
酚类	3.00±0.16	10	2.46±0.11	9

表6 样品果胶酶解前后单糖的组成

Table 6 The composition of monosaccharide (n=2)

单糖	酶解前梗末/%	酶解后梗末/%
阿拉伯糖	1.83±0.02	2.79±0.01
鼠李糖	1.73±0.01	8.81±0.03
木糖	0.64±0.00	8.89±0.01
半乳糖	5.43±0.01	17.65±0.02
葡萄糖	44.52±0.03	22.03±0.02
甘露糖	5.95±0.00	20.13±0.01
半乳糖醛酸	39.89±0.02	19.71±0.00

2.4 试验卷烟的感官品质

由表7可知,将酶解后的梗末样品添加于卷烟后,卷烟的香气质有所提升,烟气细腻性增加,透发性也得到提高,刺激性减轻,甜润感增加,余味纯净舒适,感官品质提升。但与对照组和对照组相比,劲头稍有不足。

表7 试验卷烟感官质量评价结果

Table 7 Sensory evaluation results

卷烟样品	评析结果
对照组	烟气细腻稍欠柔和,烟气成团性较好,透发性一般,甜润度适中,刺激性较大,余味较纯净,劲头足
试验组	烟气细腻柔和,香气质提高,烟气成团性提高,透发性较好,甜润度适中,刺激性较小,余味更加纯净,木质气减少,但劲头略显不足

3 结论

通过正交试验得到了造纸法再造烟叶工艺生产线挤干机出口梗末混合物的最佳酶解反应条件,分析了果胶酶酶解后梗末裂解产物及单糖含量发生变化情况,最后研究了添加酶解后梗末对卷烟香气质的影响。试验说明果胶酶用于规模发酵和在卷烟工业中应用,可以在节约成本的条件下提高卷烟品质,继续向着“高香气、低危害”的发展方向发展中式卷烟。但对于果胶酶在再造烟叶工艺生产线上的在线应用方面还需进一步研究。

参考文献

[1] 缪应菊,刘维娟,刘刚,等.烟草薄片制备工艺的现状[J].中国造纸,2009,28(7):55-60.

[2] 许曰鹏,苏文强,段继生.烟草薄片的开发与应用[J].上海造纸,2008,39(5):46-49.

[3] 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):40-44.

[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):16-17.

[5] 周正红,高孔荣,张水华.烟草中化学成分对卷烟色香味品质的影响及其研究进展[J].烟草科技,1997(2):22-25.

[6] 王龙英,费笛波,皮雄娥.纺织用纤维素酶、果胶酶高产菌株选育与固态发酵及其应用[J].浙江农业学报,2006,18(4):260-263.

[7] 邓国宾,李雪梅,李成斌,等.降果胶菌改善烟叶品质研究[J].烟草科技,2003(11):17-18.

[8] 张军,曹茜,李新生,等.再造烟叶原料烟梗中果胶的去除[J].烟草科技,2011(9):5-11.

[9] 郝辉,孙斯文,宋金勇,等.响应面法优化黑曲霉(*Aspergillus niger*)SW06产果胶酶发酵培养基条件[J].广西农业科学,2015,42(14):83-89.

[10] 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(5):96-99.

[11] 杨海健,丁红营,于国东,等.咪唑比色法测定造纸法再造烟叶中的果胶含量[J].分析试验室,2012,31(6):100-102.

[12] Zimmermann R, Dorfner R, Ketrup A. Direct analysis of products from plant material pyrolysis[J]. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, 1999, 49(1/2): 257-266.

[13] 贺磊,欧阳春,刘攀,等.国产与进口烟草薄片的对比分析[J].中国造纸,2012,31(2):28-30.

[14] 周顺,徐迎波,王程辉,等.比较研究纤维素、果胶和淀粉的燃烧行为和机理[J].中国烟草学报,2011,17(5):1-9.

[15] 舒俊生,田振峰,陈开波,等.烟叶中多糖的分离及单糖组成[J].食品与机械,2013,29(3):34-36.

[16] 张颖,曾艳,张丽娟,等.蝇虫草菌糠多糖的分离纯化及结构组成分析[J].食品科学,2014,35(13):54-58.

[17] Schmeltz I, Hoffmann D. Nitrogen-containing compounds in tobacco and tobacco smoke[J]. Chemical Reviews, 1977, 77(3):295-311.

(上接第105页)

[5] 郭崇志,郭亚芳.受到焊缝加强的椭圆封头大开孔接管边界效应模型研究[J].化工机械,2011(3):287-291.

[6] 郭崇志,张造雄.带平齐接管的大开孔椭圆壳应力分析及强度设计[C]//第四届全国压力容器学术会议论文集.安徽:中国机械工程学会压力容器分会,1997:260-268.

[7] 黄战略.椭圆封头大开孔结构应力分析与实验研究[D].广州:华南理工大学,2001.

[8] 梁庆海,王巍.椭圆封头开孔接管局部应力分析[J].石油和化工设备,2011(1):2-5.

[9] 薛明德,陈伟,邓勇,等.圆柱壳大开孔的薄壳理论解[J].力学学报,1995,27(4):482-488.