

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2020.05.037

植物乳杆菌在改善各产区烟叶品质中的应用

Application of *Lactobacillus plantarum* in improving the quality of tobacco leaves from different regions

覃明娟¹ 陈森林² 赵强忠¹

QIN Ming-juan¹ CHEN Sen-lin² ZHAO Qiang-zhong¹

彭琛² 金保锋² 陶红²

PENG Chen² JIN Bao-feng² TAO Hong²

(1. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东 广州 510640;

2. 广东中烟工业有限责任公司技术中心, 广东 广州 510385)

(1. School of Food Science and Technology, South China University of Technology, Guangzhou, Guangdong 510640, China; 2. Technology Center, China Tobacco Guangdong Industrial Co., Ltd., Guangzhou, Guangdong 510385, China)

摘要:对植物乳杆菌发酵烟叶的最佳工艺条件进行优化,研究了发酵烟叶的化学成分、香气物质和感官评价。结果表明,植物乳杆菌发酵烟叶的最佳工艺为植物乳杆菌添加量0.80%、葡萄糖浆添加量5.0%、大豆蛋白肽添加量0.05%、发酵时间8 d,此工艺条件下,烟叶淀粉含量下降幅度最大,新增挥发性香气物质9种,烟碱含量下降5.58%。对比不同产地发酵烟叶后发现:外加植物乳杆菌及碳氮源可有效提高各产地烟叶的吸食品质,淀粉含量显著下降($P < 0.05$),水溶性总糖和还原糖含量明显提升,其中重庆产区烟叶变化幅度最大;总植物碱、总氮含量略微降低;感官评价显著提升($P < 0.05$),其中贵州产区烟叶提升效果最佳,总体提升1.875分。

关键词:烟叶;植物乳杆菌发酵;理化指标;感官评价

Abstract: Single factor combined with orthogonal test was employed to optimize the best technology for fermentation of tobacco leaves by *Lactobacillus plantarum* in this study. The chemical components, aroma substances and sensory evaluation of fermented tobacco leaves were analyzed. The optimal fermentation technology of tobacco leaves by *L. plantarum* was achieved when the addition of *L. plantarum*, glucose syrup and soy protein peptide was 0.80%, 5.0%, and 0.05% respectively, with

fermentation for 8 days. The starch content of tobacco leaves decreased to the most significantly, and 9 kinds of new volatile aroma substances were detected. The content of nicotine decreased by 5.58%. Fermented tobacco leaves from different regions was compared, and it was found that the addition of *L. plantarum*, carbon and nitrogen sources could effectively improve the smoking quality of tobacco leaves from various regions. The content of starch decreased significantly while that of soluble total sugar and reducing sugar increased significantly ($P < 0.05$), among which the tobacco leaves from Chongqing changed to the most extent. The total alkaloids and total nitrogen content of tobacco leaves decreased slightly while the sensory evaluation was enhanced significantly ($P < 0.05$), among which the tobacco leaves from Guizhou improved to the most extent by 1.875 points.

Keywords: tobacco leaves; *Lactobacillus plantarum* fermentation; physicochemical indicators; sensory evaluation

微生物生长和代谢过程中可降解烟叶中的多糖、蛋白质等大分子物质,产生酯类、酸类等致香小分子物质,如十四酸甲酯、辛酸等^[1],可有效提高烟叶吸食品质和缩短发酵时间。研究表明,鞘氨醇单细胞可降解烟叶中绿原酸及芸香苷等多酚物质,提高烟叶感官质量^[2],食源性乳酸菌可明显提高烟叶的抽吸品质^[3]。食品工业常用微生物有米曲霉、植物乳杆菌、黑曲霉,其中黑曲霉代谢产生蛋白酶、淀粉酶及果胶酶,可有效降低上部烟叶中的淀粉和蛋白质含量^[4];植物乳杆菌为同型发酵乳

基金项目:中国烟草总公司科技项目(编号:粤烟工[2018]科字第24号)

作者简介:覃明娟,女,华南理工大学在读硕士研究生。

通信作者:陶红(1971—),女,广东中烟工业有限责任公司副教授,博士。E-mail: Taoh@gdzygy.com

收稿日期:2020-03-05

酸菌,最适生长温度为 30~35 ℃,其产酸能力强,是制作泡菜、酸奶等食品的主要发酵剂,用于烟叶发酵可增加烟叶酸香及柔和烟气^[3];米曲霉可代谢产生淀粉酶、糖化酶、纤维素酶等,常用于发酵生产酱油和豆豉,用于制备口用型烟草制品可增强其劲头,让食用者得到满足^{[5]51}。

淀粉是烟叶中主要的碳水化合物,可被降解为还原糖,继而裂解产生酸性物质平衡碱性烟气,协调烟叶香气^[6-7]。在一定范围内,烟叶感官质量随淀粉含量的下降而提升^[8]。淀粉含量过高会影响烟叶的外观质量及燃烧性,过低会加重烟叶土腥味,因此淀粉含量可作为衡量烟叶品质的关键指标。有研究^[9-10]采用单一淀粉酶或混合酶制剂降解烟叶淀粉含量,经处理的烟叶在香气质、余味及杂气方面提升效果明显。

目前研究所采用微生物大多筛选自烟叶表面或土壤,主要为产香酵母或混合细菌^[11]。现有发酵技术在一定程度上可增加烟叶香气量及掩盖杂气,但仅调控选育阶段微生物生长环境,忽略了发酵过程中营养物质对微生物生长和代谢活动的影响,从而使烟叶发酵速度较慢、风味协调性欠缺及刺激性强。试验拟研究外加碳源、氮源,微生物种类和用量、发酵时间等发酵工艺参数对烟叶淀粉降解的影响,并在此基础上研究烟叶发酵后的主要化学指标、香气物质及感官评吸的变化,旨在为深入研究微生物发酵提升烟叶品质提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

复烤后烟叶:重庆 C2(2012)、贵州 FX2F(2012)、江西 B2(2013)、山东 C2(2012)、始兴 X2(2013)、永州 X2F(2013),广东中烟工业有限责任公司;

米曲霉、植物乳杆菌、黑曲霉:上海佳民酿造食品有限公司;

葡萄糖浆:广州双桥股份有限公司;

大豆蛋白肽:湖北健肽生物科技有限公司;

直链淀粉、支链淀粉标准品:美国 Sigma 公司;

碘、碘化钾:分析纯,上海润捷化学试剂有限公司;

氯化钠、无水乙醇、高氯酸、氢氧化钠:分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

恒温培养箱:BPH-9162 型,上海一恒集团广东分公司;

超声发生器:KH5200E 型,昆山禾创超声仪器有限公司;

磨烟机:CYCLOTEC 1093 型,福斯分析仪器公司;

鼓风干燥箱:DHG-9240A 型,上海齐欣科学仪器有

限公司;

紫外—可见分光光度计:L5 型,上海仪电分析仪器有限公司;

连续流动化学分析仪:AA3 型,德国 Bran+Luebbe 公司;

气相色谱—质谱联用仪:DSQ II 型,美国 Thermo 公司。

1.2 试验方法

1.2.1 烟叶发酵 参照谷月^{[5]19}的方法并修改,取 400 g 烟叶,去梗除杂,于(22±2) ℃、相对湿度 60%条件下平衡水分 48 h。将一定量的微生物与葡萄糖浆、大豆蛋白肽混合,加入无菌水充分溶解制成接种液。将接种液均匀喷洒在烟叶上后置于恒温培养箱中进行发酵,发酵结束后,40 ℃热风干燥 2 h。植物乳杆菌、米曲霉及黑曲霉均为商业直投式微生物,无需进行活化。所有对照样均为未加微生物样,其余添加物和处理工艺与试验样相同。

1.2.2 单因素试验

(1) 微生物种类对烟叶淀粉含量的影响:分别称取质量分数为 0.80%的米曲霉、植物乳杆菌和黑曲霉,与 5.0%葡萄糖浆及 0.05%大豆蛋白肽混合,加入 30%无菌水充分溶解制成接种液。称取重庆产区烟叶 400 g,将接种液均匀喷洒在烟叶上,30 ℃发酵 5 d。

(2) 植物乳杆菌接种量对烟叶淀粉含量的影响:分别称取质量分数为 0.30%、0.80%、1.00%、1.25%、1.50%的植物乳杆菌,与 5.0%葡萄糖浆及 0.05%大豆蛋白肽混合,加入 30%无菌水充分溶解制成接种液。称取重庆产区烟叶 400 g,将接种液均匀喷洒在烟叶上,30 ℃发酵 5 d。

(3) 碳源、氮源添加量对烟叶淀粉含量的影响:称取质量分数为 0.80%植物乳杆菌,与葡萄糖浆及大豆蛋白肽(具体添加量见表 1)混合,加入 30%无菌水充分溶解制成接种液。称取重庆产区烟叶 400 g,将接种液均匀喷洒在烟叶上,30 ℃发酵 5 d。

(4) 发酵时间对烟叶淀粉含量的影响:称取质量分数为 0.80%植物乳杆菌,与 5.0%葡萄糖浆及 0.05%大豆蛋白肽混合,加入 30%无菌水充分溶解制成接种液。称取重庆产区烟叶 400 g,将接种液均匀喷洒在烟叶上,30 ℃分别发酵 2,5,8,11,14 d。

1.2.3 因素交互作用影响试验 在单因素试验基础上,以植物乳杆菌接种量、碳源、氮源添加量及发酵时间为考察因素,设计三因素三水平因素交互作用影响试验,以烟叶淀粉含量为关键指标,优化烟叶发酵工艺。

1.2.4 常规化学成分及淀粉含量的测定

(1) 水溶性总糖及还原糖:按 YC/T 159—2002 执行。

表 1 葡萄糖浆与大豆蛋白肽添加量

Table 1 Addition amount of glucose syrup and soybean protein peptide

编号	葡萄糖浆	大豆蛋白肽
1	0.5	0.005
2	1.0	0.010
3	5.0	0.050
4	10.0	0.100
5	20.0	0.200
6	50.0	0.500

- (2) 总植物碱:按 YCT 160—2002 执行。
 (3) 总氮:按 YCT 161—2002 执行。
 (4) 淀粉:参照何其芳等^[12]的方法。

1.2.5 挥发性香气物质的测定 称取 3.000 g 烟末(过 40 目筛)于 10 mL 固相微萃取瓶中,将 85 μm 聚丙烯酸酯纤维头插入固相微萃取瓶中吸附样品,吸附温度 100 $^{\circ}\text{C}$,吸附时间 1 h,于进样口脱附,脱附温度 280 $^{\circ}\text{C}$,时间 60 s。采用 TR-5MS 弹性石英毛细色谱柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm)分离样品。升温条件:起始温度 40 $^{\circ}\text{C}$,以 4 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 120 $^{\circ}\text{C}$,保持 2 min,再以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 250 $^{\circ}\text{C}$,保持 5 min。气相色谱条件:载气为高纯氦气(1.0 mL/min);分流比 10:1。质谱条件:电子轰击电离(EI)离子源,离子化能量 70 eV;电子倍增器电压 350 V;传输线温度 250 $^{\circ}\text{C}$;离子源温度 230 $^{\circ}\text{C}$;质量范围 m/z 35~350;扫描速度 3.00 Scans/s。

1.2.6 感官评价 参照 YC/T 415—2011《烟草及烟草制品感官评价方法》采用的盲评方式,从香气量、香气质、余味、刺激性及杂气 5 个方面对烟叶品质按一定权重进行评价打分。

1.3 数据处理

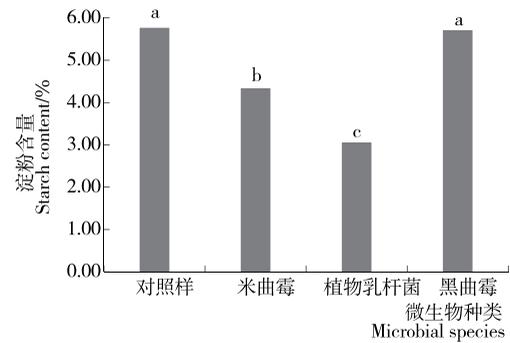
所有指标均平行测试 3 次,采用 SPSS 17.0 软件进行数据统计分析,并用 Excel 2013 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 最佳发酵条件优化

2.1.1 微生物种类对烟叶淀粉含量的影响 由图 1 可知,与对照样相比,植物乳杆菌和米曲霉发酵烟叶淀粉含量显著下降($P<0.05$),其中植物乳杆菌发酵烟叶下降幅度最大,为 47.1%,其次为米曲霉发酵烟叶,故在烟叶发酵过程中,植物乳杆菌降解淀粉效果优于米曲霉和黑曲霉。烟叶本身具有的微生物种类多、数量大,会抑制外加微生物的生长,而植物乳杆菌具有很强的发酵碳水化合物能力^[13],能快速产生乳酸,抑制其他不耐酸杂菌的活动,减少生存竞争,且更适用于植物发酵^[14-15]。

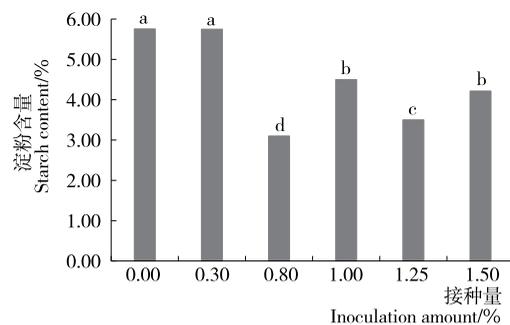
2.1.2 接种量对烟叶淀粉含量的影响 由图 2 可知,与对照样相比,当接种量为 0.30% 时,烟叶淀粉含量无显著



字母不同表示差异显著($P<0.05$)

图 1 微生物种类对烟叶淀粉含量的影响

Figure 1 Effect of microbial species on starch content of tobacco leaves



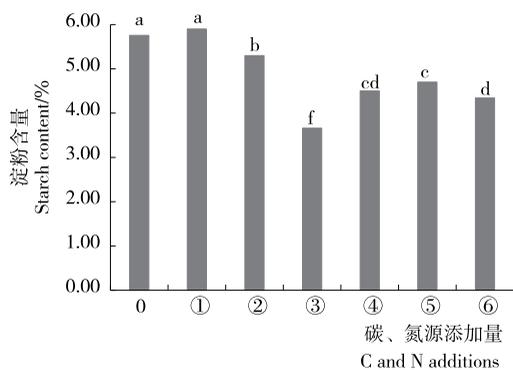
字母不同表示差异显著($P<0.05$)

图 2 接种量对烟叶淀粉含量的影响

Figure 2 Effect of inoculation amount on starch content of fermented tobacco leaves

变化($P>0.05$),说明接种量过小,淀粉未被植物乳杆菌消耗;当接种量达到 0.80% 时,烟叶淀粉含量下降幅度最大,达 46.1%;当接种量 $>0.80\%$ 时,淀粉含量下降幅度减小,为 21.8%~39.1%,说明接种量超过一定量时,植物乳杆菌消耗淀粉的能力并不会随着接种量的增加而增强,反而有所减弱。这可能是由于进一步增加接种量使得菌株间生存竞争增加^[16],微生物区系形成受阻碍,植物乳杆菌生长及代谢活动受抑制,不利于淀粉降解。

2.1.3 碳源、氮源添加量对烟叶淀粉含量的影响 由图 3 可知,未添加碳、氮源时,烟叶淀粉含量较高,主要原因是由于烟叶本身的碳源、氮源不易被植物乳杆菌利用,导致烟叶本身的营养物质不能提供足够的能量,致使植物乳杆菌生长与代谢速度缓慢;当碳、氮源添加量分别为 0.5%、0.005% 时,烟叶淀粉含量与对照样无显著性差异($P>0.05$),说明外加少量的营养物质同样不足以提供植物乳杆菌生长及代谢活动所需的能量,植物乳杆菌生长与代谢速度仍然较慢;当碳、氮源添加量分别为 1.0%、0.010% 时,烟叶淀粉含量显著降低($P<0.05$),说明外加的碳源和氮源可以提供较为丰富的营养物质,促进植物



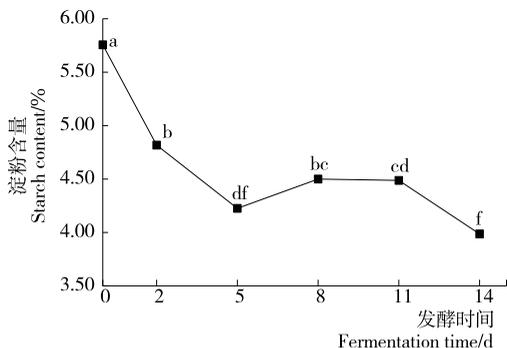
字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 3 碳、氮源添加量对发酵烟叶淀粉含量的影响

Figure 3 Effect of C and N additions on starch content of fermented tobacco leaves

乳杆菌生长,显著降低烟叶淀粉含量;当碳、氮源添加量分别为 5.0‰、0.050‰时,淀粉含量下降幅度最大,达 36.4%,说明补充了足够的碳、氮源,植物乳杆菌生长与代谢速度迅速提升,烟叶淀粉含量显著降低;当碳、氮源添加量分别 >5.0‰、0.050‰时,淀粉含量随添加量的增加无显著变化 ($P > 0.05$),是因为碳、氮源添加量过高时,降低了烟叶水分活度,导致植物乳杆菌生长及代谢环境渗透压升高^[17],不利于其生长。故碳、氮源的最适添加量分别为 5.0‰、0.050‰。

2.1.4 发酵时间对烟叶淀粉含量的影响 由图 4 可知,随着发酵时间的延长,烟叶淀粉含量逐渐降低,发酵 0~5 d 的下降速度最快;当发酵时间为 5 d 时,烟叶淀粉含量由最初的 5.76% 下降至 3.66%,降幅达 32.8%;当发酵时间为 5~11 d 时,烟叶淀粉含量变化较小;当发酵时间为 11~14 d 时,烟叶淀粉含量稍有下降。发酵前期 (0~5 d),有外加碳源和氮源的作用下,植物乳杆菌生长与代谢速度快,能快速代谢降解烟叶中的淀粉,使烟叶淀粉含量快速降低;发酵中期 (5~11 d),外加碳源和氮源基本消



字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 4 发酵时间对发酵烟叶淀粉含量的影响

Figure 4 Effect of fermentation time on starch content of fermented tobacco leaves

耗完,同时植物乳杆菌活力也出现了下降,致使烟叶淀粉含量变化较小;发酵后期 (11~14 d),外加碳源和氮源全部被消耗完,植物乳杆菌只能利用烟叶中淀粉作为碳源,因而烟叶淀粉含量继续下降。同时,发酵时间对烟叶的外观、香气等也有显著影响,发酵时间过短,烟叶发酵不充分,烟叶中淀粉降解不完全,烟叶发酵所特有的香气物质生成较少^[18];发酵时间过长会导致烟叶香气风格改变、色泽加深,同时烟叶组织结构被破坏,影响烟叶品质。

2.1.5 因素交互作用影响试验 以烟叶淀粉含量为指标,选用重庆烟叶,根据单因素试验结果设计因素交互作用影响试验,其因素水平表见表 2,试验结果与分析见表 3。

表 2 因素交互作用影响试验因素水平表

Table 2 Level table of influence of factor interaction

水平	A 植物乳杆菌 接种量/%	B 碳、氮添 加量/%	C 发酵时 间/d
1	0.30	1.0/0.01	2
2	0.80	5.0/0.05	5
3	1.00	10.0/0.10	8

表 3 因素交互作用影响试验结果与分析

Table 3 Results of influence of factor interaction

序号	A	B	C	淀粉含量/%
1	3	3	1	4.72
2	1	2	3	4.04
3	3	1	1	4.99
4	1	3	2	4.58
5	2	3	3	3.93
6	3	2	2	5.30
7	2	2	3	3.18
8	2	1	2	5.30
9	1	1	1	5.12

由表 3 可知,烟叶的最佳发酵条件为植物乳杆菌接种量 0.80‰、碳、氮源添加量分别为 5.0‰及 0.05‰、发酵时间 8 d,此时淀粉含量最低为 3.18%。

2.1.6 挥发性香气物质 烟叶中所含的大部分挥发性香气物质与烟叶香气和杂气呈显著正相关^[19]。由表 4 可知,发酵前后,烟叶中共检测到 65 种挥发性香气物质。其中酮类物质种类最多,为 19 种。 β -大马酮具有花香和果香,可以增加烟叶的香气浓度;茄酮特有的甜香味可以使烟叶香气醇和细腻。烟叶发酵新增乙醛、7-乙基-2-甲基-4-十一酮、异佛尔酮、辛酸、对甲氧基肉桂酸辛酯、2-甲基-1-丁醇等 9 种物质,其中辛酸增加量最大,对烟气的吸味和口感有积极作用。烟叶中烟碱含量最高,发酵后烟碱含量下降了 5.58%;新植二烯含量仅次于烟碱,是烟叶

表 4 发酵烟叶挥发性香气物质变化

Table 4 Changes in volatile aroma materials in fermented tobacco leaves

类型	香气物质名称	相对百分含量/%		类型	香气物质名称	相对百分含量/%		
		0 d	8 d			0 d	8 d	
醛类	乙醛	—	0.14	酯类	十四酸甲酯	0.11	0.05	
	糠醛	0.26	0.27		甲基反亚油酸酯	0.04	0.05	
	苯甲醛	0.27	0.28		己二酸二异辛酯	0.04	0.06	
	β -大马酮	0.17	0.24		亚麻酸甲酯	0.10	0.14	
	香叶基丙酮	1.02	0.58		亚油酸甲酯	0.09	0.08	
	7-乙基-2-甲基-4-十一酮	—	0.06		正癸酸正癸酯	0.07	0.05	
	巨豆三烯酮 A	0.34	0.35		邻苯二甲酸二异丁酯	0.34	0.11	
	巨豆三烯酮 B	2.40	2.05		2-乙酰基吡咯	0.01	0.03	
	巨豆三烯酮 C	0.46	0.88		氧杂	2-乙酰基呋喃	0.03	0.04
	巨豆三烯酮 D	0.10	1.07		环类	2,3-二氢-2-甲基苯并呋喃	0.11	0.10
酮类	植酮	1.12	0.83	醇类	四氢呋喃	0.02	0.01	
	5-戊基间苯二酚	0.22	0.13		2-甲基-1-丁醇	—	0.13	
	香柏酮	0.21	0.25		苯甲醇	0.11	—	
	β -大马士酮	0.19	0.30		苯乙醇	—	0.01	
	2,6,6-三甲基-2,4-环庚二烯酮	0.03	0.04		芳樟醇	0.09	0.09	
	4-甲基-3-乙基-1H-吡咯-2,5-二酮	0.16	0.04		香叶醇	0.16	—	
	R-(-)-3-羟基- β -紫罗兰酮	0.11	0.20		β -紫罗兰醇	0.06	0.05	
	2-十五酮	0.09	0.08		二氯甲苯	1.04	0.88	
	茄酮	1.12	1.83		8-丙基-3-己基-二环[4.3.0]十四烷	0.10	0.12	
	2-十七烷酮	0.04	0.05		烷烃及其衍生物类	十四烷	0.03	0.04
法尼基丙酮	0.30	0.23	十六烷	0.13		0.09		
异佛尔酮	—	0.08	十七烷	0.19		0.09		
棕榈酸	0.32	0.48	十八烷	0.12		0.08		
硬脂酸	0.12	0.18	二十烷	0.02		0.01		
亚油酸	0.33	0.41	新植二烯	29.89		30.75		
辛酸	—	1.17	烟碱	55.71		52.60		
壬酸	0.11	0.05	4-硝基邻苯二甲酰胺	0.12		0.11		
棕榈酸甲酯	0.58	0.73	油酰胺	0.03		0.03		
邻苯二甲酸二丁酯	0.28	—	吡啶	0.36		0.28		
酯类	9-甲基-3-羟基-4-烯-壬内酯	0.10	0.10	含氮化合物	二烯烟碱	0.11	0.28	
	硬脂酸甲酯	0.03	0.02		N-乙基对甲苯胺	—	0.14	
	对甲氧基肉桂酸辛酯	—	0.01		4-苯基吡啶	0.28	0.26	
	8,11-二十八烯酸甲酯	—	0.11					

中重要的中性香气物质,可有效减轻烟叶刺激性,柔和烟气。

2.2 最佳工艺发酵烟叶效果

2.2.1 常规化学成分 由表 5 可知,与对照样相比,各产区烟叶淀粉含量显著降低(P<0.05),其中重庆烟叶降低最显著,降低了 44.8%,贵州、江西、山东、始兴、永州产区烟叶分别降低了 41.5%,44.2%,31.3%,33.1%,25.2%,由于不同烟叶表面微环境不同,各菌株间生存竞争情况

有差异,导致淀粉消耗程度不同^[20];发酵样的水溶性总糖、还原糖含量明显增加,其中重庆产区烟叶增幅最大,分别为 45.6%,37.1%;总植物碱、总氮含量略微减少,植物乳杆菌生长代谢活动降解植物碱使其含量下降,氨基酸、蛋白质等含氮化合物分解为氨,氨挥发使烟叶总氮含量减少;糖碱比明显提升,氮碱比除始兴产区发酵样无明显变化外,其余产区发酵样稍有提升。水溶性总糖、还原糖及糖碱比的提升可增强烟叶的甜感,协调香气,总植物

表 5 发酵烟叶的常规化学成分

Table 5 Chemical composition of fermented tobacco leaves

烟叶产地	淀粉含量/%		水溶性总糖/%		还原糖/%		总植物碱/%		总氮/%		糖碱比		氮碱比	
	对照样	发酵样	对照样	发酵样	对照样	发酵样	对照样	发酵样	对照样	发酵样	对照样	发酵样	对照样	发酵样
重庆	5.76	3.18	12.31	17.92	11.91	16.33	2.84	2.41	2.55	2.27	4.33	7.43	0.90	0.94
贵州	6.61	3.87	12.43	13.71	11.62	12.51	1.06	0.99	2.10	2.02	11.70	13.84	1.98	2.04
江西	4.07	2.27	12.00	15.31	11.51	14.43	1.90	1.61	2.19	2.15	6.32	9.51	1.15	1.34
山东	5.56	3.82	12.05	14.71	11.49	13.42	1.92	1.62	1.99	1.73	6.27	9.08	1.04	1.07
始兴	4.96	3.32	12.71	14.21	12.11	13.71	1.82	1.72	2.35	2.20	6.98	8.26	1.29	1.28
永州	4.73	3.54	12.40	14.02	11.60	14.03	0.96	0.91	2.10	1.99	12.92	15.41	2.19	2.19

碱降低可改善烟叶烟气舒适性及刺激性,总氮含量下降可减轻烟气异味。

2.2.2 感官评价 由表 6 可知,各产区烟叶发酵后感官评价明显提升,主要表现为香气质、香气量的提升及杂气的减少。重庆、贵州、山东发酵烟叶感官评价提升效果优于始兴、江西、永州发酵烟叶,其中贵州发酵烟叶提升效果最佳,提升了 1.875 分,其次为山东发酵烟叶;贵州发酵烟叶香气质及香气量方面提升最明显,山东发酵烟叶降低杂气效果最明显,各产地发酵烟叶降低刺激性及增强余味效果差异不显著。研究^[21]表明,不同产区烟叶香气前体物质对感官评价有影响,烟叶香气、杂气等烟气特性与还原糖呈极显著正相关。

3 结论

以烟叶淀粉降解为关键指标,筛选外加碳、氮源及微生物等,采用单因素结合因素交互作用影响试验获得植物乳杆菌发酵烟叶的最佳发酵工艺,并研究了植物乳杆菌发酵烟叶的化学成分、香气物质和感官评价。结果表明,植物乳杆菌、米曲霉和黑曲霉发酵烟叶均可显著降低烟叶淀粉含量,其中植物乳杆菌降低烟叶淀粉的能力最强;发酵烟叶的最佳工艺为植物乳杆菌接种量 0.80%、葡萄糖浆添加量 5.0%、大豆蛋白肽添加量 0.05%、发酵时

表 6 发酵后烟叶较对照烟叶的感官评价提升值[†]

Table 6 Sensory evaluation of tobacco leaves after fermentation compared with control leaves

烟叶产地	香气质	香气量	杂气	刺激性	余味	总分
重庆	2.0	1.5	1.5	1.5	1.5	1.625*
贵州	2.5	2.0	1.5	1.5	1.5	1.875*
江西	1.5	1.0	1.5	1.0	1.5	1.300*
山东	2.0	1.5	2.5	1.0	1.0	1.675*
始兴	0.5	1.0	1.0	1.5	1.5	1.025*
永州	2.0	1.5	2.0	1.0	1.0	1.575*

[†] 总分=香气质×25%+香气量×25%+杂气×20%+刺激性×15%+余味×15%;*表示某一产地发酵样与对照样感官质量对比差异显著(P<0.05)。

间 8 d,此时烟叶的淀粉含量显著下降(P<0.05),其中重庆发酵烟叶下降幅度达 44.8%,水溶性总糖、还原糖含量明显增加;总植物碱、总氮含量略微减少;感官评价显著提升(P<0.05),其中贵州发酵烟叶香气量、香气质效果提升明显,山东发酵烟叶降低杂气效果明显。后续将对发酵过程中微生物代谢组学进行分析,明晰发酵过程中微生物代谢产物种类、数量及其变化规律。

参考文献

[1] 王颖. 固态发酵卷烟叶组理化 and 香气成分研究[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2013: 1-2.

[2] 冯颖杰, 袁岐山, 杨宗灿, 等. 一株鞘氨醇单胞菌对复烤后烟叶多酚物质的降解作用[J]. 中国烟草学报, 2019, 25(1): 23-28.

[3] 杨娟, 米其利, 熊文, 等. 食源性乳酸菌在改善烟叶品质中的应用[J]. 浙江农业学报, 2018, 30(5): 854-862.

[4] 全铭沁, 董惠忠, 沙云菲, 等. 黑曲霉发酵液改善上部烟叶风味品质的研究[J]. 中国酿造, 2019, 38(3): 170-176.

[5] 谷月. 发酵法制备口用型烟草制品烟丝及其品质变化研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2016.

[6] 王怀珠, 杨焕文, 郭红英, 等. 淀粉类酶降解鲜烟叶中淀粉的研究[J]. 中国烟草科学, 2005, 26(2): 37-39.

[7] 董维杰, 张忠锋, 窦玉青, 等. 烤烟烟叶淀粉含量影响因素及其与烟叶质量关系研究进展[J]. 广东农业科学, 2015, 42(8): 11-16.

[8] 王红刚, 董维杰, 窦玉青, 等. 烤烟烟叶淀粉含量与其感官质量的相关性研究[J]. 西南农业学报, 2017, 30(7): 1 533-1 537.

[9] 刘谋盛, 王平艳, 杨亚玲, 等. 活性物质降解烟叶中淀粉的工艺研究[J]. 精细化工, 2007, 24(9): 881-884.

[10] 沙云菲, 董惠忠, 张耀, 等. 降解上部烟叶大分子物质的复合酶配制与条件优化[J]. 中国烟草科学, 2018, 39(3): 83-91, 100.

[11] 胡志忠, 许春平, 姜宇, 等. 利用产香酵母发酵技术改善烟叶品质[J]. 食品与机械, 2018, 34(11): 200-204.

[12] 何其芳, 李荣华, 郭培国, 等. 烟叶中淀粉含量测定方法的比较[J]. 现代食品科技, 2012, 28(2): 229-232.

(下转第 226 页)

- Papaya seed represents a rich source of biologically active isothiocyanate[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(11): 4 407-4 413.
- [27] GARCÍA-SOLÍS P, YAHIA E M, MORALES-TLALPAN V, et al. Screening of antiproliferative effect of aqueous extracts of plant foods consumed in Mexico on the breast cancer cell line MCF-7 [J]. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2009, 60(S6): 32-46.
- [28] JAYAKUMAR R, KANTHIMATHI M S. Inhibitory effects of fruit extracts on nitric oxide-induced proliferation in MCF-7 cells[J]. *Food Chemistry*, 2011, 126(3): 956-960.
- [29] HIROSE M, YAMAGUCHI T, KIMOTO N, et al. Strong promoting activity of phenylethyl isothiocyanate and benzyl isothiocyanate on urinary bladder carcinogenesis in F344 male rats[J]. *International Journal of Cancer*, 1998, 77(5): 773-777.
- [30] ADEBIYI A, ADAIKAN P G, PRASAD R N V. Papaya (*Carica papaya*) consumption is unsafe in pregnancy: Fact or fable? Scientific evaluation of a common belief in some parts of Asia using a rat model[J]. *British Journal of Nutrition*, 2002, 88(2): 199-203.
- [31] 朱明月, 李伟, 鲁琰, 等. 番木瓜种子提取物异硫氰酸苄酯对肝癌细胞凋亡的影响[J]. *世界华人消化杂志*, 2014, 22(16): 2 277-2 284.
- [32] 周骊, 李泽友, 沈文涛, 等. 番木瓜种子中异硫氰酸苄酯(BITC)的抑癌试验[J]. *热带生物学报*, 2012, 3(2): 130-134.
- [33] KHUZHAEV V U, ARIPOVA S F. Pseudocarpaine from *Carica papaya* [J]. *Chemistry of Natural Compounds*, 2000, 36(4): 418-418.
- [34] RIVERA-PASTRANA D M, YAHIA E M, GONZÁLEZ-AGUILAR G A. Phenolic and carotenoid profiles of papaya fruit (*Carica papaya* L.) and their contents under low temperature storage[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2010, 90(14): 2 358-2 365.
- [35] JIAO Zhe, DENG Jian-chao, LI Gong-ke, et al. Study on the compositional differences between transgenic and non-transgenic papaya (*Carica papaya* L.) [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2010, 23(6): 640-647.
- [36] AFZAN A, ABDULLAH N R, HALIM S Z, et al. Repeated dose 28-days oral toxicity study of *Carica papaya* L. leaf extract in Sprague Dawley rats[J]. *Molecules*, 2012, 17(4): 4 326-4 342.
- [37] NISA F Z, ASTUTI M, MURDIATI A, et al. Anti-proliferation and apoptosis induction of aqueous leaf extract of *Carica papaya* L. on human breast cancer cells MCF-7[J]. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 2017(20): 36-41.
- [38] HADADI S A, LI Hai-wen, RAFIE R, et al. Anti-oxidation properties of leaves, skin, pulp, and seeds extracts from green papaya and their anti-cancer activities in breast cancer cells[J]. *Journal of Cancer Metastasis Treat*, 2018, 4: 25.
- [39] HUSIN F, YA'AKOB H, RASHID S N A, et al. Cytotoxicity study and antioxidant activity of crude extracts and SPE fractions from *Carica papaya* leaves[J]. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2019, 19: 101-130.
- [40] 赵毅蒙. 番木瓜籽中异硫氰酸苄酯的抑菌机理[D]. 天津: 天津科技大学, 2018.
- [41] 孔永强, 郑华, 张弘, 等. 我国异硫氰酸酯(ITCs)的开发现状及利用前景[J]. *化工进展*, 2011, 30(增刊 1): 291-294.
- [42] LI Meng-sun, ZHU Ming-yue, LI Wei, et al. 270P Benzyl-isothiocyanate induces apoptosis and inhibits migration and invasion of hepatocellular carcinoma cells in vitro [J]. *Annals of Oncology*, 2016, 27(S 9): 1-2.
- [43] TSAI T F, LIN Jin-feng, LIAO Piao-chun, et al. 304 Benzyl isothiocyanate induces reactive oxygen species-mediated autophagy and apoptosis in human prostate cancer cells[J]. *European Urology Supplements*, 2014, 13(1): e304-e304.
- [44] NAKAMURA Y, MIYOSHI N. Cell death induction by isothiocyanates and their underlying molecular mechanisms[J]. *Biofactors*, 2006, 26(2): 123-134.
- [45] 杜依登. 番木瓜籽异硫氰酸酯的制备及其特性研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2014: 14-21.
- [46] 朱华平, 赵毅蒙, 李超, 等. 番木瓜籽中异硫氰酸苄酯抗癌抑菌功能研究进展[J]. *现代食品科技*, 2018, 34(3): 270-275.
- [47] 秦臻. 番木瓜的应用价值与开发利用研究进展[J]. *食品工业*, 2017, 38(1): 234-237.

(上接第 204 页)

- [13] BUJALANCE C, JIMÉNEZ-VALERA M, MORENO E, et al. A selective differential medium for *Lactobacillus plantarum* [J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2006, 66(3): 572-575.
- [14] 李冬华. 直投式植物乳杆菌发酵剂生产工艺及应用的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2010: 8-9.
- [15] 曹承旭, 郭晶晶, 乌日娜, 等. 植物乳杆菌的生理功能和组学研究进展[J]. *乳业科学与技术*, 2018, 41(1): 33-39.
- [16] DI GIACOMO M, PAOLINO M, SILVESTRO D, et al. Microbial community structure and dynamics of dark fire-cured tobacco fermentation[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2007, 73(3): 825.
- [17] 李秀妮. 烟叶微生物及其在烟叶发酵和醇化中的作用研究进展[J]. *微生物学通报*, 2019, 46(6): 1 520-1 529.
- [18] 王勇, 王行, 贺广生, 等. 耐高温产淀粉酶芽孢杆菌在烟叶烘烤中降解淀粉的应用研究[J]. *中国烟草学报*, 2017, 23(4): 56-63.
- [19] 郭华诚, 张月华, 李阳光, 等. 烟丝挥发性香味物质与卷烟感官质量的相关性研究[J]. *食品与机械*, 2019, 35(1): 209-212.
- [20] 张蕊. 不同产区烤烟淀粉含量分布特点及与烟味香型和感官质量的关系[D]. 郑州: 河南农业大学, 2011: 19-20.
- [21] 陈颐, 杨虹琦, 杨佳玫, 等. 不同香型烤烟香气前体物特征及其对感官评吸的影响[J]. *云南农业大学学报*, 2016, 31(3): 489-497.