

酶技术改善烟叶品质的研究进展

陶红^{1,2}, 沈光林¹, 赵谋明², 饶国华¹

(1. 广东中烟工业公司技术中心, 广东 广州 510145) (2. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东 广州 510640)

摘要: 酶在烟叶调制、陈化和贮存期间起着非常重要的作用。近年来关于如何利用外加酶改善烟叶内在品质已经成为烟草行业的热点话题。利用酶制剂可以降解烟叶中过量的淀粉、蛋白质、细胞壁物质和果胶质, 增加香气和改善质量品质。另外, 酶制剂在烟草添加剂、烟草香料、烟草薄片中的应用, 酶制剂和微生物配合使用的研究也在增加。

关键词: 烟叶; 外加酶; 品质

中图分类号: S572; 文献标识码: A; 文章篇号: 1673-9078(2008)07-0737-05

Review of Researches on Tobacco Quality Improvement with Enzymatic Methods

TAO Hong^{1,2}, SHEN Guang-lin¹, ZHAO Mou-ming², RAO Guo-hua¹

(1. Technology Center, China Tobacco Guangdong Industrial Corporation, Guangzhou 510145, China)

(2. College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: Enzyme plays an important role in tobacco curing, aging and storing management. How to use the enzyme to improve smoking quality has become a hot topic in tobacco industry in recent years. Enzyme can degrade the excessive starch, protein, cell wall substances and the pectin in tobacco leaves, enhance the fragrances and improve the quality of the tobacco. Besides, the applications of enzymes on the tobacco additives, tobacco flavor and reconstituted tobacco production are reviewed and researches on the combination of enzyme and microorganism used in tobacco industry are also introduced here.

Key words: tobacco; enzyme; quality

建国以来尤其是改革开放 20 多年来, 中国烟草行业取得了举世瞩目的成就, 卷烟和烟叶产量已位居世界第一位, 烟叶生产技术和生产水平也有了长足的进步, 但我国烟叶质量与国际先进水平相比还有较大差距, 还不能完全满足卷烟工业的需要。

烟叶的内在品质质量是指烟叶或烟丝在燃烧时所产生的烟气特性, 是烟草在燃吸时对人的生理及精神满足感的最终反映。目前, 世界上衡量烟草内在品质质量仍然是通过感官即靠人的口、喉、舌、鼻等感官进行鉴定, 称为评吸。据研究表明, 烟草的色、香、味及其可用性在很大程度上决定于和影响于烟草的某些主要化学成分, 即水溶性糖、蛋白质、总氮、烟碱、无机物等。

随着酶学研究的深入, 利用酶制剂改善烟草品质已成为烟草行业的研究热点, 国内外许多专家和学者应用外源酶改善烟叶质量尤其是香气质、香气量和各种化学成分的协调性方面进行了许多有意义的探索

收稿日期: 2008-02-19

作者简介: 陶红: 副教授, 研究方向: 食品生物技术, 烟草化学

[1-3]。本文对近年来有关酶技术在改善烟叶品质的研究进展进行概述。

1 通过酶处理降低烟叶中蛋白质含量

蛋白质是烟叶的基本组成成分, 它的水解产物和进一步转化的产物是许多烟草香气物质的原始物质, 但蛋白质含量高会使燃吸时产生一种如同羽毛燃烧的蛋白质臭味, 也会降低烟叶的燃烧性, 而且是烟气中有害物质的前体, 包括奎琳、HCN 和其他含氮化合物, 严重影响烟叶的香味品质 and 安全性^[4-5]。因此, 利用生物和生化技术降解初烤烟中残留的淀粉和蛋白质并应用于烟草的工业生产就显得十分重要。

在这一领域的研究中, Gaisch 等^[6]将蛋白酶加入烟草和水的混合体系中降解烟草中的蛋白质, 通过微生物代谢作用去除水溶液中的多肽等, 去掉了烟草中 50% 以上的蛋白质。Bernasek 等^[7]利用蛋白酶降低烟草蛋白质含量并制成低蛋白质含量的烟草薄片。Bright 等^[8]用膨润土吸附去除酶降解后的烟草水溶液中可溶性蛋白质。Grandpre 等^[9]则利用十二烷基磺酸钠去除

经酶降解的烟草水溶液中蛋白质碎片均取得了良好的效果。

我国学者中,姚光明研究了不同种类蛋白酶降低烟叶中的蛋白质效果,结果表明中性蛋白酶对烟叶中蛋白质的降解作用最明显;在45℃,烟叶水分为25%,作用时间为4 h的条件下喷洒120 U/g酶可降解蛋白质12%左右,且烟叶的燃吸质量得到了明显改善^[10]。

马林应用商业蛋白酶和微生物处理低次上部烤烟B3K烟叶,可降解烟叶中41.34%的蛋白质;烟气中有害气体HCN、NO、CO分别减小了76.19%、71.43%、42.33%,焦油生成量减少26.01%。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^[11]。王革等对植物蛋白酶和微生物蛋白酶对烟叶的作用效果进行了比较,发现植物蛋白酶优于微生物蛋白酶所起的作用^[12]。闫克玉等研究了 α -淀粉酶、糖化酶、蛋白酶的不同用量对烤烟内部化学成分和评吸质量的影响。结果表明酶的加入,使得总糖含量增加,总氮、蛋白质含量降低。烟叶评吸结果表明,当酶用量分别为: α -淀粉酶10 mL/kg,糖化酶160 U/g,蛋白酶80 U/g时,可提高烟叶的评吸质量^[13]。

周瑾等^[14]以微生物高活性蛋白酶作用于烟叶碎末,对氨基酸含量随时间的变化及其与葡萄糖的美拉德产物进行了研究。结果表明发酵时间为7 d的样品拥有最高的氨基酸含量,添加一定量的葡萄糖后,于115~125℃反应30 min,获得了具有类似于可可香味和烘烤香味的反应产物。经GC/MS分析,产物中含有二氢-2-甲基-咪喃酮、甲基吡嗪等杂环化合物及烟碱、巨豆三烯酮、新植二烯等烟草特征致香成分,经卷烟加香评吸试验表明该反应物能显著提升卷烟品质。

2 通过酶处理降低烟叶中淀粉含量

淀粉在鲜烟叶中含量最高,一般在25%左右,调制过程中降解为单糖,有利于烟草制品品质的改善。国外优质烤烟淀粉含量约为1%~3%,我国烟叶中淀粉含量约为4%~6%^[15]。烟叶中若存在淀粉形态的碳水化合物,一方面会影响燃烧速度和燃烧的完全性,另一方面淀粉在燃吸时会产生焦糊气味,对烟气产生不良影响。因此,利用 α -淀粉酶和糖化酶作用于烟叶使烟叶中残留的淀粉降解为水溶性糖,就可有效地改善烟叶质量,提高烟叶的可用性。

姚光明等和李晓等^[16,17]分别研究了向烟叶中施加 α -淀粉酶和糖化酶可使烟叶中的淀粉降解为水溶性糖,降解后烟叶中水溶性糖可增加21.4%左右,在真空破膜条件下,效果更为明显。王怀珠等^[18,19]为降低烤后

烟叶中淀粉含量,研究了烘烤过程中外加淀粉类酶对淀粉降解的影响。结果表明,烘烤过程中,通过外加淀粉类酶来降解烤烟中的淀粉是有效的。烤后烟叶淀粉含量随外加酶用量的增加而减少,水溶性糖和还原糖含量随外加酶用量的增加而增加。牛燕丽等^[20]采用外加淀粉酶和糖化酶的办法对河南初烤烟叶B2F.C F和X2.1进行了处理。结果表明,经酶处理后各个等级烟叶的淀粉含量均有所降低,并且针对不同部位烟叶提出了最佳处理条件。

李祥麟等^[21]研究了用淀粉酶和过氧化氢的混合溶液喷洒烟叶表面来促进其发酵,处理后的烟叶,其总糖量增加,不利因素如总氮、蛋白质、尼古丁等含量降低,霉变走油的烟叶经处理后,其霉斑、霉气全部消失,低次烟颜色可提高1~2级,其色、香、味显著提高。刘谋盛等^[22]用ALG、 β -环糊精等材料将 α -淀粉酶和糖化酶固定化,用以降低低次烟叶中淀粉的含量,降低酶制剂的使用成本,可降解烟叶中30%的淀粉。

3 通过酶处理降低烟叶中细胞壁物质含量

对于烟草制品来说,细胞壁物质(果胶质和纤维素)是一种不利于吸味质量的化学成分。细胞壁物质在燃吸过程中不仅会给烟气带来刺激性,而且不利于吸烟的安全性。如果细胞壁物质酶解成一系列较小分子的碳水化合物,就可以有效地改善烟草制品的吸味品质^[23]。

阎克玉等^[24]向烟叶中施加一定量的纤维素酶和果胶酶,结果表明可使细胞壁物质降解为水溶性糖,可降解细胞壁物质5%至10%左右。邓国宾等^[25]以玉溪B3F烟叶为材料,以黄曲霉DPE-005菌株产生的果胶酶对上部烤烟烟叶进行了处理试验,在50℃贮存12 h。经化学成分检测 and 对比评吸结果表明,果胶质降低了18.15%,烟气中的杂气和刺激性减轻,抽吸品质得到提高。

4 降解烟碱

烟碱是烟草中一种独特的、重要的物质。适当降解烟碱可以改善烟草的品质,消除烟草废料对环境的污染。目前关于烟碱降解,还多集中在微生物降解方面^[26-29],对于外加酶的研究还较少。1982年Ravishanker等对生物酶与总植物碱合成、调控的关系进行了研究,他们认为,鸟氨酸转氨酶(OAT)与总植物碱的合成呈正相关,而鸟氨酸转甲酰化酶与总植物碱的合成呈负相关关系^[30]。陈洪等利用微生物优选、超临界二氧

化碳破壁后得的多酶体系应用于烟叶,发现烟碱的降低速度比自然陈化的提高了几十倍至几百倍,在酶用量一定的条件下,烟碱的降低量随着作用时间的延长而增大;在作用时间一定的条件下,烟叶中的烟碱含量与酶用量基本上呈负相关关系;酶法在降解烟草烟碱方面优于微生物法,并且具有可控制性^[31]。

5 改善香气

烟叶和烟气的香味是多种微量致香物质成分共同作用的结果,不同致香物质具有不同的化学结构和性质,因而对人的嗅觉可产生不同的刺激作用,形成不同的嗅觉反应,对总体香气的量、质、型有不同的贡献。

从上世纪60年代至今,通过国内外烟草研究者的研究,基本确定了烟叶和烟气中的致香成分,尤其是挥发性的香味物质,综合他们的研究成果,烟草致香物质成分主要分为七大类,即酸类、醇类、羰基类、酯类和内酯、酚类、氮杂环类和酰胺及亚胺类。酶技术使烟叶中香气成分的增加,可能是由于酶制剂的加入,烟叶中的大分子物质如色素、多酚类物质、类萜烯类物质降解为小分子物质,使烟叶中的萜烯类、醇类、酮类、醛类、酯类、酚类、低级脂肪酸类物质得到提高造成的^[32,33]。

任军林等在打叶复烤时以复合酶加在叶片中,露天存放3个月。评吸后,加酶烟叶香气量增加,烟气较柔顺,杂气减轻,辣味基本消除,余味改善,烟叶感官质量得到较大提高。用固相微萃取气质联用技术分析加酶组和对照组中62种挥发性致香成分的百分含量,加酶组挥发性致香成分和酚类物质的总量增加,其中丙酮、新植二烯、 α -甲基苄醇、芳樟醇、类胡萝卜素的降解产物—二氢猕猴桃内酯的含量加酶组明显高于对照组^[34]。Izquierdo Tamayo A.等发现,用酶接种的烟叶香气和性状均得到改善^[35]。C. F. Bailey和A. W. Peetre对在-9~39 °C和相对湿度为80%~100%范围内用硝酸盐还原酶和蔗糖转化酶处理的烟叶进行了细致的研究,发现发酵10天的烟叶具有调制干草样的甜香,12天后甜香更浓,并带有香豆素的气息。此时停止发酵,将烟叶置于18~25 °C的室温下,3天后香气不变。燃吸时烟气柔和、干味极轻,且涩味亦很小。又经过数天,除上述香气外,烟气还具有淡淡的清香。将这种处理后的样品取一小部分,除去0.5%的水,并于-9 °C下放置14 h,结果除质量改善外,香气仅稍有提高。然而这种开始就发酵的烟叶,是此试验阶段得到的最佳样品。开始就冷藏的烟叶样品产生甜香的速

度较为缓慢,19天后,烟气甜香、柔和,具有轻微的刺激性。将这种烟叶取一部分于18~25 °C温度下放置6天,甜香消失,烟味变浓。另一部分于21 °C下放置7天,甜香未变,但产生一种淡淡的丁酸气息^[36]。赵铭钦等利用4种由优势增香菌种和高生物活性的 α -淀粉酶、蛋白酶等配制而成的烟草发酵增质剂对人工发酵和自然陈化过程中的烤烟烟叶的增质增香效果进行了研究。结果表明,烟草发酵增质剂具有促进烟叶内部有机物质的分解与转化,加速烟叶发酵进程、缩短发酵周期等作用。与对照相比,经过发酵增质剂处理后的烟叶香气质改善,香气量增加,烟叶固有的杂气和刺激性减轻,烟叶内部的糖、氮、碱等主要化学成分及其比值趋于协调、平衡^[37]。张立昌不仅从理论上分析了烟叶用酶处理后对其吸味品质改善的可行性,而且经试验验证取得较好的效果,所得酶制剂适合在打叶复烤时添加,对自然醇化和人工发酵烟叶的质量有明显的改善作用。评吸结果显示,只要加酶催化得当,所得酶制剂可明显增加卷烟香气,减轻青杂气和刺激性,改善卷烟吸味品质^[38]。

6 提高烟梗的可用性

Henri C. Silberman的发明提出,在压梗前,利用多糖水解酶(纤维素分解酶)处理烟梗烟梗于20~80 °C温度下陈化15 min~24 h。再按常规方法压切烟梗。酶处理的烟梗柔软,易于压扁、切丝,且其梗丝的填充力和挥发物的量显著增大,总粒相物大幅度降低,掺兑此梗丝的卷烟比掺兑未处理梗丝的卷烟受评吸专家们喜爱^[39]。周元清等探讨了用生物技术,即使用木质素降解微生物及木质素降解酶,处理烟梗,可明显去除烟梗的木质气、刺激性,填充值增加35.2%~42.8%,焦油降低率在27.6%~36.1%之间,一氧化碳降低值在54.3%~58.1%之间木质素含量明显降低,可满足中高档烟的添加要求^[40]。杨述元等将烟梗浸入复合酶制剂(主要木质素酶、果胶酶、纤维素酶、淀粉酶、蛋白酶、酯酶等)中然后贮存。评吸结果表明,经复合酶处理后的梗丝各项评吸指标,如香气质、香气量、余味等均显著高于对照产品,尤其是杂气和刺激性均大幅下降,杂气下降达25%~60%,刺激性下降达20%~50%^[41]。

在1980年以前,酶对烟草的研究主要集中在晾晒烟工艺上,对在烤烟上的研究相对滞后。烤烟自然陈化的主要变化与晾晒烟有明显的区别,烤烟残存活性酶是以氧化还原酶为主。长期以来许多研究都试图用较容易制取的水解酶制剂来改善烤烟品质,但由于受

烤烟低含水量及其它一些条件的限制, 以及其它一些还在进一步研究和探索中的问题, 酶制剂尚没有实现卷烟工业规模化的运用。其中, 最主要的原因是人们对烟草在整个工艺过程中有利于品质转化的机制还不十分清楚; 其次是卷烟工业特定的工艺条件往往限制了酶制剂的应用。因此, 酶制剂在卷烟特别是烤烟型卷烟工业上的应用, 有待于进一步的深入探讨。

随着人们对卷烟品质要求的日益提高, 酶制剂在卷烟工业上的研究, 也已逐步引起了人们的广泛兴趣和关注。开展酶制剂在卷烟工业上的应用研究, 对卷烟工业的发展具有重要的现实意义。

参考文献

- [1] 李晓,刘凤珠.酶解法改善烟叶吸味品质的试验[J].烟草科技,2002,(3):14-17
- [2] 杨虹琦,周冀衡,罗泽民,等.微生物和酶在烟叶发酵中的应用[J].湖南农业科学,2003,(6):63-66
- [3] Bablers. Method of deterning the activity of protenlytic enzymes in dry tobacco [J]. TA, 1958, (2):1959
- [4] 阮祥稳,任平陈,卫锋.酶对烟叶发酵内在品质的影响[J].食品研究与开发,2005,26(2):67-68
- [5] 毛多斌,何景福,等.生物技术卷在卷烟工业中的应用[J].郑州轻工业学院学报(自然科学版), 2005, 20(3): 32-34, 73
- [6] Gaisch, Helmut, Ghiste, et al. Process for the preparation of tobacco and tobacco prepared according to this process [P]. US Patent: 4407307, 1983-10-04.
- [7] Bernasek , Edward ,Bridle ,et al. Tobacco processing[P] . US Patent: 4887618, 1989-12-19
- [8] Bright, Martyn A. Cigarette disposal bin [P]. US Patent: 5601095, 1997-02-11.
- [9] De Grandpre, Yves D, et al. Tobacco extract treatment with insoluble adsorbent [P]. US Patent: 5311886, 1994-05- 17.
- [10] 姚光明.降低烟叶中蛋白质含量的研究[J].烟草科技,2000, 148(9):6-8
- [11] 马林.利用生物技术改变烟草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):40-42
- [12] 王革,邓斌,王笛,等.蛋白酶处理降低烟叶蛋白质研究[J].烟草科学研究,2000, (3):54-57
- [13] 闫克玉,赵磊,等.混合酶制剂改善上部烟叶品质研究[J].郑州轻工业学院学报(自然科学版),2004,19(1):52-55
- [14] 周瑾,等.利用高蛋白酶活性微生物水解烟叶蛋白及其产物的 Maillard 反应研究[J].烟草科学研究,2002, (1):43-47
- [15] 张槐苓,葛翠英,穆怀静.烟草分析与检测[M].郑州:河南科学技术出版社,1994
- [16] 姚光明,阎克玉,李晓,等.烤烟中残留淀粉的酶降解研究[J].郑州轻工业学院学报(自然科学版), 2000, 15(3), 25-27
- [17] 李晓,刘凤珠,姜凌,等.淀粉类酶在烟叶中降解条件的研究[J].生物技术,2001,11(2), 44-46
- [18] 王怀珠,杨焕文,郭红英.烘烤过程中外加淀粉类酶对烤烟淀粉降解的影响[J].生物技术, 2004, 14(5): 67-69
- [19] 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, (2): 37-39
- [20] 牛燕丽,张鹏,宋朝鹏.酶法降解河南烤烟烟叶B2F、C3F 和 X2L淀粉的初步试验[J]. 烟草科技, 2005, (3): 26-28,32
- [21] 李祥麟,李国祥,周浦檀.烟叶的变色发酵剂.中国专利: 14F, GK86102596. 1986- 10-08
- [22] 刘谋盛,王平艳,刘维涓,等.固定化酶降解烟叶中淀粉的研究[J].化学与生物工程,2007, 24(5), 42-44
- [23] 阎克玉.烟草化学.郑州:郑州大学出版社,2002
- [24] 阎克玉,刘凤珠.酶降解烟叶中细胞壁物质[J].生物技术, 2001,11(4):19-22
- [25] 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,2003,196,17-18, 20
- [26] Rossi S, Altieri P, Barca L. 烟尘废料中烟碱的生物降解-嗜烟碱微生物法[J].刘百战译.世界烟草动态,1995,(1):27
- [27] 马林,武怡,曾晓鹰.降解烟碱微生物的筛选及其酶在烟草中的应用[J].烟草科技,2005,218(9): 6-8,19
- [28] Civilini M, Domenis C, Sebastianutto N, et al. Nicotine decontamination of tobacco agro2industrial waste and its degradation by micro2organisms. Waste Manage Res, 1997, 15: 349-358
- [29] Wada E, Yamasaki K. Degradation of nicotine by soil bacteria. J. Am. Chem. Soc, 1954, 76: 155-157
- [30] Ravishankar G A,Metha A R. Regulation of nicotine biogenesis.3. Biochemical basis of increased nicotine biogenesis by urea in tissue cultures of tobacco. Can. J. Bot. 1982, 60: 2371-2374.
- [31] 陈洪,许平,马清仪,等.微生物酶法降解烟草总植物碱试验[J]. 烟草科技, 2004, (4): 12-16
- [32] 尹国华.利用细菌处理烟叶诱香增质的研究[D].山东农业大学硕士学位论文,2004
- [33] 史宏志,刘国顺.烟草香味学[M].中国农业出版社,1998

(下转第708页)