

# 生物技术应用于造纸法再造烟叶生产的研究进展

李丹, 刘熙

(广东中烟工业有限责任公司技术中心, 广东广州 510385)

**摘要:** 生物技术应用于再造烟叶生产有着广阔的发展空间。本文从微生物发酵技术和酶技术两个方面综述了生物技术在造纸法再造烟叶生产中应用的研究情况。首先, 介绍了微生物发酵技术在原料预处理和烟草萃取物处理中的应用; 其次, 介绍了酶技术在原料预处理、烟草萃取工序、烟草萃取液及涂布工艺中的应用, 最后对上述技术在再造烟叶中的应用研究进行了展望, 以期应用生物技术方法提高再造烟叶品质提供理论依据。

**关键词:** 生物技术; 微生物发酵; 酶; 再造烟叶

文章编号: 1673-9078(2013)6-1463-1466

## Application of Biotechnology in Paper-making Reconstituted Tobacco Production

LI Dan, LIU Xi

(Technology Center, China Tobacco Guangdong Industrial Co., Ltd., Guangzhou, 510385)

**Abstract:** Production of reconstituted tobacco by biotechnology showed promising potential in tobacco field. This paper summarized the research progress of the application of biotechnology in reconstituted tobacco production. The application of microbial fermentation in the pretreatment of raw material and concentrated tobacco extracts were reviewed and the application of enzyme technology in the pretreatment of raw material, extraction process, concentrated tobacco extracts and paper coating were also discussed. Furthermore, the prospect of this application was introduced to promote the application of biotechnology in the reconstituted tobacco production.

**Key words:** biotechnology; microbial fermentation; enzyme; reconstituted tobacco

再造烟叶, 又称烟草薄片、重组烟叶, 它是以烟梗、烟叶碎片、烟末等卷烟生产下脚料为原材料通过不同的加工工艺制成的再生产品, 可用作卷烟填充料。再造烟叶的作用主要有以下两个方面: 降焦减害和作为烟叶原料替代品。目前, 再造烟叶在卷烟中应用逐渐得到重视<sup>[1-2]</sup>。国家局“十二五”科技规划为“卷烟上水平”和减害降焦的需要, 提出造纸法再造烟叶重大专项研究。造纸法再造烟叶已经成为卷烟产品不可或缺的重要原料, 但再造烟叶的内在质量及吸味特点还存在一些不足, 表现为烟气较为干燥, 香气量不足, 刺激杂气较大等, 如何提高再造烟叶内在品质是各卷烟企业关注焦点。

生物技术尤其是酶和微生物发酵技术在烟草中的应用研究, 是当前科技工作者关注的热点。针对提升再造烟叶品质方面国内外许多学者做了很多研究, 研究结果表明将生物技术应用于再造烟叶生产工艺有着广阔的发展空间<sup>[3-4]</sup>。本文从微生物发酵和酶技术两个方面综述生物技术在再造烟叶生产中应用的研究情

况, 并进行展望, 以期应用生物技术提高再造烟叶品质提供理论依据。

### 1 造纸法再造烟叶生产工艺

早在 1857 年, 再造烟叶的概念的提出, 但其真正生产则始于 20 世纪 50 年代, 制造方法主要有三种, 分别为辊压法、稠浆法、造纸法, 这三种方法也是再造烟叶发展所经历的不不断改进的三个过程<sup>[5-6]</sup>。造纸法再造烟叶较前两者设备复杂, 是迄今为止技术含量最高、应用最广泛、产品使用效果最好的再造烟叶加工技术, 其在物理性状和内在品质方面, 或者说是在卷烟工业生产中的可用性, 明显优于其它类型的再造烟叶。

典型的造纸法也叫两步造纸法, 第一步是将烟草原料进行固、液分离, 第二步是再将固、液结合, 是一种利用现代的制浆造纸技术和机械设备发展而成的再造烟叶制造技术。造纸法再造烟叶的主要原料为烟末、烟梗、梗签、烟碎和质量较差的残次烟叶; 辅料主要有木浆纤维、麻浆纤维、填料、增香剂和调味剂等。其中萃取、浓缩、制浆抄造、涂布干燥是其主要

收稿日期: 2013-01-20

作者简介: 李丹 (1985-), 女, 研究方向: 烟草化学、卷烟产品

的生产过程<sup>[6]</sup>,造纸法再造烟叶生产的工艺流程如图1所示。

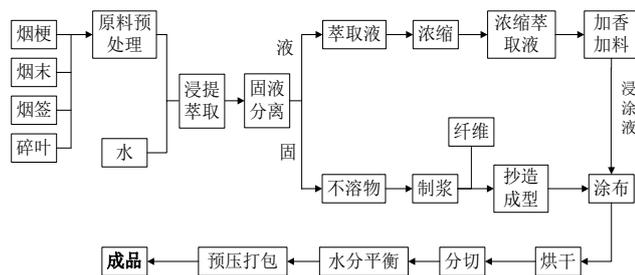


图1 造纸法再造烟叶生产的工艺流程

Fig.1 Technological process of paper-making reconstituted tobacco

## 2 微生物发酵技术应用于再造烟叶生产

微生物技术应用于烟草发酵的研究在国外开展较早,利用微生物改良烤烟品质的研究在国内也越来越多<sup>[7]</sup>。在造纸法再造烟叶生产过程中,微生物发酵技术主要应用于原料和萃取液或浓缩萃取液的处理方面。

### 2.1 微生物发酵技术应用于原料预处理

造纸法再造烟叶用的原料含有蛋白质、淀粉、果胶、木质素等大分子物质,化学成分较为复杂,具有一定的不协调性。用微生物发酵技术对原料进行预处理,分解生产原料中对品质不利的成分,从而降低造纸法再造烟叶的木质气与刺激性,改善其口感,提高其内在品质和可用性。Gravely等<sup>[8]</sup>提出用*E. caratavora*培养液降解烟草中的果胶和用*Asetgillus*及*Aspergnlusoryzae*降解烟梗中的纤维素的微生物消化方法。于兴伟等<sup>[9]</sup>直接用微生物发酵法处理生产再造烟叶的烟梗,采用黑曲霉对烟梗进行固态发酵,以发酵后烟梗中果胶残留率为指标,对其发酵条件进行了优化,并放大到150L固态发酵罐。通过黑曲霉酶解作用,使烟梗转变为水溶性物质及固形物两大部分,其中,固形物中的大分子物质(如果胶、蛋白质等)得到有效降解,这两种物料均可作为再造烟叶的基础物料。郭刚<sup>[10]</sup>提出了使用木质素降解菌及降烟碱杆菌发酵处理造纸法烟草薄片生产原料,发现上述菌种均可在一定程度上改善再造烟叶内在品质,而双菌种混合发酵能明显改善再造烟叶的内在品质。原料经发酵粗酶液处理后,木质素和烟碱含量下降,刺激性明显减轻,口感变好,香气变浓,内在品质明显提高。

### 2.2 微生物发酵技术应用于萃取液处理

造纸法再造烟叶生产过程中利用水浸提萃取烟草原料得到萃取液,再经多效浓缩制备得到浓缩萃取液。上述制造工艺在很大程度上只是原材料物理性质的改

变,原料的固有化学性质并未完全改变,燃吸时仍存在木质气较重、辛辣灼热感较明显、余味差等质量缺陷。应用微生物发酵技术可在一定程度上改善上述问题,主要有以下三个方面的作用:合理调节化学成分的组成;增加香气成分;降低烟碱。

#### 2.2.1 合理调节化学成分的组成

为了合理调节造纸法再造烟叶中化学成分,提高再造烟叶的品质,有研究利用微生物对萃取液或萃取浓缩液进行处理,并检测其植物碱、总糖、还原糖、总氮等成分,发现经微生物发酵处理后的再造烟叶的糖含量明显下降,糖碱比、糖氮比趋于合理,处理后再造烟叶的整体吃味质量有所提升<sup>[11-12]</sup>。

#### 2.2.2 增加香气成分

烟草中酸性香气物质能够改善烟草草酸碱度,赋予烟气味和芳香特征,使烟气柔和、适口。常用中性香气成分含量来衡量烟叶香气的强度。烟草中主要的中性香气物质有 $\beta$ -大马酮、3-庚酮、茄酮、新植二烯等。碱性香气物质包括烟碱、吡咯、呋喃等<sup>[13-14]</sup>。程昌合等<sup>[15]</sup>将烟草萃取浓缩液在45℃醇化处理数日,经过醇化处理后烟末浓缩液中的挥发性组分增多,且主要致香成分含量均有不同程度的增加。处理后烟草薄片的香气量、协调性、木质杂气和余味等方面有较明显地改善。但究竟是何种微生物在醇化过程中起作用(包括增加香气成分的作用),论文并未给出明确的结论。张晨等<sup>[16]</sup>利用酿酒酵母对造纸法再造烟叶生产过程中的烟草萃取液进行了转化增香处理,处理后的萃取液增香效果明显,其挥发性致香成分增加一倍。酿酒酵母处理对再造烟叶的烟气平衡作用明显,且增加了香味物质,处理后的再造烟叶烟气协调性更好,余味明显改善,并且含有香气成分。可见,微生物在烟草萃取液中的转化应用值得深入研究。

#### 2.2.3 降低烟碱

烟碱含量过高制约烟草薄片的发展和运用。目前,国外研究者已从环境中分离了多种烟碱降解菌,对节杆菌属细菌代谢烟碱的机理研究较多<sup>[17]</sup>;国内主要集中在烟碱降解菌的分离和上部烟叶中烟碱的降解等方面<sup>[18-19]</sup>。实践证明,微生物降解法是去除或减少烟草中烟碱的有效途径。袁勇军课题组从种植烟草的土壤中分离到一株高效烟碱降解细菌DN2<sup>[18]</sup>,并初步报道了该菌在烟草薄片制备液中的应用情况<sup>[20]</sup>,之后又研究利用菌株DN2降解烟草薄片制备液中的烟碱<sup>[21]</sup>。结果表明烟草薄片制备液中烟碱降解的最适条件是:添加0.1%的酵母膏,使用氨水将pH调节到7.0,接种15%种子液,培养温度30℃。在上述条件下,采用30L发酵罐对烟草薄片制备液进行3个批次的半连

续发酵,烟碱的平均降解速率为 140.55 mg/L/h,高于其他烟碱降解菌株,为其工业化应用提供了技术性参考。但目前采用微生物技术来降解烟草薄片中的烟碱的研究还相对较少。

### 3 酶技术应用于再造烟叶生产

随着酶学研究的深入,利用酶技术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酶技术改善再造烟叶品质方面也进行了许多探索。酶技术应用在造纸法再造烟叶方面的报道主要集中在原料预处理、浸提萃取工序(包括洗梗工序)、萃取液或浓缩萃取液中添加酶,个别也有应用于涂布工序的研究报道。

#### 3.1 酶技术应用于原料预处理

在浸提之前对原料进行加酶处理,在一定程度上起着降低其中的不利成分,增加原料或其浸提液的香气成分,提高浸提率等作用。林翔等<sup>[22]</sup>利用复合酶液对烟梗的梗丝进行喷撒处理,发现经复合酶处理 2 h 的梗丝,总糖含量提高至 22.8%,糖氮比和糖碱比均得到了提高,主要香气成分总量提高了 27%,梗丝的香气品质得到了改善,感官总体质量有了较大提高。闫亚明等<sup>[23]</sup>在烟草原料中加入酶制剂,对不易水解的大分子化合物进行酶解,再将酶解后的烟草原料进行浸取、浓缩,浸提率得到大幅度提高。葛少林等<sup>[24]</sup>发明了一种造纸法烟草薄片的制造方法,首先采用酸性蛋白酶、果胶酶、淀粉酶对烟草原料进行生物降解,使得烟草萃取液中美拉德反应底物的含量得以提高。

#### 3.2 酶技术应用于浸提萃取工序

为了减少造纸法再造烟叶中的不利成分,很多研究用酶作用于再造烟叶的浸提萃取工序。基于现有制梗丝技术和洗梗工艺条件,有研究尝试通过加酶洗梗处理,对烟梗的主要组成成分进行适量降解,发现果胶酶、纤维素酶、复合蛋白酶对烟梗的降解效果非常显著,有助于提高再造烟叶品质<sup>[25-26]</sup>。针对造纸法薄片刺激性大、木质气重、口感差等问题,郑小嘎等<sup>[27]</sup>通过在造纸法再造烟叶生产工艺烟梗浸提过程中添加复合酶制剂,梗丝经酶处理后,刺激性明显减轻,口感变好,香气变浓,内在质量也得到显著提升。李鲁等<sup>[28]</sup>指出在烟草水溶液中用米曲霉的真菌蛋白酶,在适宜的条件下随着酶添加量与酶解时间的增加,烟草蛋白质含量逐渐降低,同时酶解液中可溶性氮以及游离氨基酸含量逐步增加。在烟梗和烟末萃取过程中加入果胶酶、半纤维素酶和蛋白酶,研究发现在适宜的酶处理萃取条件下,烟梗和烟末的蛋白质、总纤维素、果胶的转化率和还原糖含量比热水萃取有大幅提升

<sup>[29]</sup>。可见将酶技术应用于浸提萃取工序可有效将烟梗中大分子物质进行转化分解,但具体的工艺条件需要进一步优化。

#### 3.3 酶技术用于萃取液处理

在萃取液中应用酶技术同样也可以将果胶、蛋白质等大分子物质进行生物酶降解、转化,在一定程度上优化化学组成、降低烟碱、增加了萃取液中的致香物。马林<sup>[30]</sup>研究了烟碱脱氢酶在造纸法烟草薄片中的应用。发现在烟草薄片提取液中加入 2%的烟碱脱氢酶酶液(*m/m*,酶浓度 1.0 mg/mL)及过量的 NAD,40 °C 下反应 16 h 后,烟碱降解率为 50.58%。经过烟碱脱氢酶处理的烟草薄片的烟气品质得到提高。马东萍等<sup>[31]</sup>将酸性蛋白酶、复合果胶酶、复合中性纤维素酶和中性脂肪酶配制成改性添加剂,可烟梗提取液中导致烟草燃烧后出现糊焦气、木质气、蛋白焦臭气的淀粉、纤维素、蛋白质、果胶等大分子化合物降解为水溶性的小分子化合物。

#### 3.4 酶技术应用于涂布工序

有研究报道<sup>[32]</sup>将酶制剂用于制作涂布料应用于再造烟叶中,得到的再造烟叶的总糖、还原糖含量增加,内在吸味的甜度感相应提高;总烟碱增加,劲头提升;蛋白质减少,杂气减轻;氯、钾、钙、镁含量也减少,对再造烟叶造成的负面影响相应降低;重要致香物质都有了较大幅度的增加。将其应用于卷烟产品中,口感更舒适,满足感更强,烟气细腻、飘逸、协调,焦油量和一氧化碳含量也明显下降。

## 4 展望

综上所述,将微生物发酵、酶处理等生物技术应用于原料预处理、浸提萃取工序、萃取液处理等方面的研究均取得成效,能够有效的降解再造烟叶中的蛋白质、果胶及多糖类等生物大分子,调节其内在化学成分组成,增加再造烟叶中的主要致香成分,降低烟碱,从而改善再造烟叶的内在质量,降低再造烟叶的杂气,提高再造烟叶香气以及协调性。但这些研究大多局限于单一技术的应用,且停留于试验研究阶段。郑勤安<sup>[4]</sup>证实了同时应用增香菌、干酵母、蛋白酶处理萃取浓缩液也可有效改善再造烟叶质量,因此如何利用不同生物技术并对其进行集成应用于再造烟叶生产中有待进一步研究。另外,生物技术应用研究的作用机理比较复杂,需要适当的作用条件下才可达到最佳效果,实际生产中存在的影响因子也会影响微生物的发酵和酶的活性。今后在研究中应充分发挥其在造纸法再造烟叶生产中的价值,实现工业化规模生产。相信随着再造烟叶内在质量的不断提升,可以提高再

造烟叶在卷烟配方中的使用比例,使其真正起到烟叶替代品的作用,有效缓解烟叶原料需求紧张的形势,实现产品配方的稳定性。

### 参考文献

- [1] 闫克玉.烟草化学[M].郑州:郑州大学出版社,2002
- [2] 段孟,李仙,李正勇,等.一株产木质素降解酶真菌在造纸法再造烟叶中的应用[J].中国烟草科学,2009,30(3):69-72
- [3] 朱国成.酶处理技术在造纸法烟草再造烟叶中的应用研究[D].北京:中国农业大学,2006
- [4] 郑勤安.造纸法再造烟叶生产过程中微生物增质剂的应用研究[J].浙江工业大学学报,2004,32(4):442-446
- [5] 韩文佳,赵传山.造纸法烟草薄片发展现状[J].黑龙江造纸,2007,4:47-49
- [6] 吴宇航,李思东.造纸法烟草薄片的研究进展[J].2012,39(5):90-92
- [7] 赵铭钦,岳雪梅,邱立友,等.微生物发酵增质剂对卷烟酸性组分含量及品质效应的影响[J].中国烟草科学,2000,1:11-14
- [8] Gravely L E, Geiss V L, et al. Microbial digestion of tobacco materials using mixed cultures [P]. US Patent: 4476881, 1984
- [9] 于兴伟,许赣荣,汤朝起.黑曲霉固态发酵及酶解烟梗条件的研究[J].2012,33(24):195-198,201
- [10] 郭刚.双菌种发酵提高造纸法烟草薄片品质的研究[J].宁夏农林科技,2012,53(11):104-105
- [11] 王建兵,王得强,占小林.特定真菌在造纸法再造烟叶中的应用研究[J].食品工业,2012,33(9):70-72
- [12] 戴丽君,黄申元,郑彬,等.酵母在造纸法再造烟叶中的初步应用研究[J].江西农业学报,2011,23(1):18-19
- [13] 刘百战,宗若雯,岳勇,等.国内外部分白肋烟香味成分的对比分析[J].中国烟草学报,2000,22(6):1-6
- [14] 汪耀富,高华军,刘国顺,等.不同基因型烤烟叶片致香物质含量的对比分析[J].中国农学通报,2005,21(5):117-120
- [15] 程昌合,吴继忠,廖付,等.浓缩液醇化处理对烟草薄片致香成分及感官质量的影响[J].安徽农学通报,2011,17:142-144
- [16] 张晨,许赣荣,严新龙.利用酿酒酵母改进烟草萃取液的气味特性[J].食品工业科技,2012,33(20):137-141
- [17] Brandsch R. Microbiology and biochemistry of nicotine degradation [J]. App Microbiol Biotechnol, 2006, 69(5): 493-498
- [18] 袁勇军,陆兆新,黄丽金,等.烟碱降解细菌的分离、鉴定及其降解性能的初步研究[J].微生物学报,2005,45(1):181-184
- [19] 李雪梅,杨伟祖,祝明亮,等.烟碱降解菌的选育及改善上部烟叶品质研究[J].工业微生物,2006,36(1):16-22
- [20] Yuan Y J, Lu Z X, Huang L J, et al. Biodegradation of nicotine from tobacco waste extract by *O. intermedium* DN2 [J]. J Ind Microbiol Biotechnol, 2007, 34(8): 567-570
- [21] 袁勇军,陆兆新,戚向阳.菌株 DN2 对烟草薄片制备液中烟碱的降解[J].生物工程学报,2009,25(6):897-902
- [22] 林翔,陶红,沈光林,等.利用复合酶改善烟梗品质的研究[J].安徽农业科学,2011,39(4):2064-2066
- [23] 闫亚明,常纪恒,罗登山,等.造纸法再造烟叶浸取、浓缩工艺 [P].CN:200610017685.6.2006-04-24
- [24] 葛少林,徐迎波,王程辉,等.造纸法烟草薄片的制造方法 [P].CN:101695407,2010-4-21
- [25] 林凯.酶法对烟梗丝降解效果的研究[J].安徽农业科学,2011,39(11):6500-6501
- [26] 戴丽君,施建在,郑彬,等.应用复合酶工艺技术提高烟梗浸膏品质的研究[J].江西农业学报,2012,24(6):135-138
- [27] 郑小嘎,赵昌政,韦绪伦,等.酶法改善造纸法烟草薄片品质初探[J].山东食品发酵,2010,1:11-13
- [28] 李鲁,葛少林.烟草薄片蛋白质的酶解研究[J].安徽农业科学,2009,37(27):13079-13086
- [29] 吴亦集,沈光林,陶红,等.造纸法原料的加酶萃取[J].烟草科技,2011,7:33-36
- [30] 马林.嗜烟碱节杆菌烟碱脱氢酶性质及其在烟草加工中的应用研究[D].北京:中国农业大学,2005
- [31] 马东萍,卫青,周瑾,等.一种再造烟叶改性添加剂及其制备和使用方法:中国,CN
- [32] 宋凌勇,李志华,刘远涛,等.应用生物酶制剂改善再造烟叶内在品质的研究[J].广西农学报,2009,24(5):33-36

## 更正说明

由于作者原因,在本刊2013年第3期第621页《明月草营养成分的分析及评价》一文的通讯作者应为杨焱,特此更正!