

徐菲菲,田海龙,李东亮,等. 复合酶法降低烟草薄片刺激性的研究[J]. 江苏农业科学,2020,48(14):227-233.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.14.043

# 复合酶法降低烟草薄片刺激性的研究

徐菲菲<sup>1</sup>, 田海龙<sup>2</sup>, 李东亮<sup>3</sup>, 王迅键<sup>1</sup>, 陈茂深<sup>1</sup>, 李 玥<sup>1</sup>, 钟 芳<sup>1</sup>

(1. 江南大学食品学院, 江苏无锡 214122; 2. 山东瑞博斯烟草有限公司, 山东临沂 276400;

3. 四川中烟工业有限责任公司技术中心, 四川成都 610066)

**摘要:**针对引起烟草薄片刺激性的果胶、蛋白质等大分子前体物,采用酶制剂进行降解。酶解最优条件为蛋白酶用量为 300 U/g,果胶酶用量为 400 U/g,酶解时间为 4 h。考察同时酶解(PP)、先蛋白酶后果胶酶(PrE-PE)、先果胶酶后蛋白酶(PE-PrE)等 3 种酶解方式对薄片品质的影响。酶解后提取率均得到提高,PE-PrE 处理可以获得最高的提取率。酶解后热重性质主要变化为纤维、果胶等大分子物质裂解失重效果减小,燃烧阶段失重效果变大。烟气常规考察发现,除 PP 处理外,2 种分步酶解处理方式的总粒相物、焦油含量均有所下降;3 种酶解方式的一氧化碳、烟碱含量降低,烟气水分和抽吸口数上升。气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)分析结果表明,经 PrE-PE、PE-PrE、PP 处理后,香气成分总量分别增加 22%、9%、16%。感官评吸结果表明,PrE-PE 处理感官品质最优,PE-PrE 处理感官品质较差。综合各个指标,PrE-PE 处理最优,可以在降低刺激性的同时,得到较好的烟气品质。

**关键词:**烟草薄片;复合酶法;刺激性;感官评定;酶解;香气成分

**中图分类号:** TS201.2<sup>+</sup>5;TS426

**文献标志码:** A

**文章编号:**1002-1302(2020)14-0227-07

烟草薄片(reconstituted tobacco,简称 RT)是利用烟梗、烟末、碎烟片等卷烟生产过程中的废弃物,外加植物纤维,经过重新组合而成的产品,也称为再造烟叶。20 世纪 90 年代末,我国才开始对造纸法烟草薄片进行系统研究。与国外产品相比还有一定差距,主要表现在干燥感严重,刺激性较大,烟气不协调,木质气严重<sup>[1]</sup>;虽然焦油等有害成分较低,但一氧化碳含量偏高<sup>[2]</sup>。蛋白质和果胶是烟末和烟梗中含量较高、对吸味及危害性影响较大的 2 种大分子物质。果胶含量过高时,在干燥环境下薄片易碎,果胶裂解时还会产生甲醇、甲醛、甲酸等,增加了烟气刺激性,也不利于安全性。蛋白质燃烧则会产生烧焦羽毛的气味,产生杂气,蛋白质也是氨气的重要前体物,易增加烟气刺激性。这些问题限制着薄片在卷烟产品中的应用,要提升其感官品质,烟气干燥感和刺激性是必须解决的两大直接而

突出的问题。

由于高效、绿色环保的优势,酶和生物技术在这方面发挥着越来越大的作用。于建军等利用不同用量果胶酶处理湖北 C3F 等级烟叶,发现果胶酶用量越大,果胶去除率越高,可达 15%;而总糖含量显著升高,苯甲醇、苯乙醇等烟叶中重要的致香成分含量显著升高,致香成分总量升高 29.94%,有利于烟叶香气质量改善<sup>[3-4]</sup>。韦杰等通过采用 4 种酶复合优化工艺处理烟末制备浸膏,发现处理后的浸膏中还原糖含量增加 123%,氨基酸含量增加 74%,膏烟气浓度和劲头明显增加,烟气柔和细腻,有润感和甜感,烟香丰富,有烘烤香和果甜<sup>[5]</sup>。但是现有研究多侧重于单纯的酶解条件的优化及香气物质的提升,却缺少对酶解产物其他方面性质,尤其是主流烟气刺激性成分及有害成分变化的考察。将酶应用于薄片的研究多见于对原料或成品涂布液的处理,缺少结合薄片生产工艺进行酶解研究,在萃取时进行处理的研究还较少见<sup>[6]</sup>。

本研究结合烟草薄片生产工艺,在烟末萃取过程中进行酶解。选择果胶酶、中性蛋白酶进行试验,考察酶用量、酶解时间、酶解方式等对酶解效果及所制备薄片感官品质的影响。进一步考察不同酶解方式对烟草薄片主流烟气常规成分、主流烟气挥发性物质含量(羰基化合物、氨气、一氧化碳)、感

收稿日期:2019-08-12

基金项目:四川中烟工业有限责任公司宽窄润甜香品类构建重大专项[编号:川烟工技(2018)95号];中国烟草总公司山东省公司科技重点项目[编号:鲁烟科(2018)10号]。

作者简介:徐菲菲(1984—),女,吉林吉林人,硕士,实验师,主要从事烟草化学研究。E-mail:xuff@jiangnan.edu.cn。

通信作者:陈茂深,博士,副教授,主要从事烟草化学研究。E-mail:chenmaoshen@jiangnan.edu.cn。

官品质与燃烧裂解性能的影响。最后,综合各个指标得出最优酶解工艺,以期为实际生产中进一步提升薄片品质提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

中性蛋白酶,活性为 61 500 U/mL[诺维信(中国)生物技术有限公司];果胶酶,活性为 40 000 U/g(上海创赛科技有限公司);烟梗、烟末(山东瑞博斯烟草有限公司);乙酸苯乙酯、苯甲醇、苯乙醇、苯甲醛、糠醛、糠醇、6-甲基-5-庚烯-2-酮、 $\beta$ -二氢大马酮、 $\beta$ -紫罗兰酮、5-甲基糠醛、5-羟甲基糠醛等(分析纯,北京百灵威科技有限公司);二氯甲烷、乙腈等为色谱纯,氯化钠、高氯酸、无水硫酸钠、2,4-二硝基苯肼、异丙醇、吡啶等为分析纯(国药集团化学试剂有限公司);剑桥滤片[博瓦特凯希(中国)有限公司];有机滤膜,孔径为 0.45  $\mu\text{m}$ (上海兴亚净化材料厂)。

### 1.2 主要仪器

HP6890A/5975C 气质联用仪(美国安捷伦科技公司);STA449C 热重分析仪(德国耐驰公司);同时蒸馏萃取仪(郑州烟草研究院);Dionex Ultimate 3000 液相色谱仪(戴安中国有限公司);RM200A 吸烟机[博瓦特凯希(中国)有限公司]。以上仪器由安徽中烟工业有限责任公司技术中心提供。

### 1.3 试验方法

1.3.1 蛋白酶与果胶酶同时酶解正交试验 选择蛋白酶用量(200、300、400 U/g)、果胶酶用量(300、400、500 U/g)和酶解时间(2、3、4 h)进行正交试验,考察提取率和感官评吸得分。

1.3.2 3 种不同的酶解方式 (1)果胶酶、蛋白酶同时酶解(PP):取一定量烟末于锥形瓶中,按照料液比 1:10 加入一定量去离子水,蛋白酶用量为 300 U/g,果胶酶用量为 400 U/g,50  $^{\circ}\text{C}$  酶解 2 h,取出后在 90  $^{\circ}\text{C}$  水浴锅中加热 15 min 灭酶,取出后用流水冷却,以 5 000 r/min 离心 3 min。(2)先用蛋白酶处理,后用果胶酶处理(PrE-PE 处理):用 1 mol/L 氢氧化钠溶液将初始 pH 值调为 6.5,加入 200 U/g 的蛋白酶,50  $^{\circ}\text{C}$  酶解 3 h 后取出,在 90  $^{\circ}\text{C}$  水浴锅中加热 15 min 灭酶。冷却后用 1 mol/L 盐酸调节初始 pH 值为 5.8,加入 400 U/g 果胶酶,50  $^{\circ}\text{C}$  酶解时间为 3 h,取出后于 90  $^{\circ}\text{C}$  水浴中加热 15 min 灭酶,以 5 000 r/min 离心 3 min。(3)先用果胶酶处理,后用

蛋白酶处理(PE-PrE 处理):先用 400 U/g 果胶酶于 50  $^{\circ}\text{C}$  水浴中酶解 3 h,之后 90  $^{\circ}\text{C}$  水浴下灭酶 15 min,冷却后用 1 mol/L 氢氧化钠调节 pH 值至 6.5,加入 200 U/g 蛋白酶,50  $^{\circ}\text{C}$  酶解 3 h,然后在 90  $^{\circ}\text{C}$  水浴中加热 15 min 灭酶,以 5 000 r/min 离心 3 min。

比较相关指标性质时,空白样品采用工业生产时的萃取条件,萃取结束后取出,于 90  $^{\circ}\text{C}$  水浴中加热 15 min,以 5 000 r/min 离心 3 min。

1.3.3 酶解制备涂布液的涂布与单料烟制备 将不同酶解处理的酶解液浓缩至固形物含量 40% 左右,稀释至一定体积,以 35% 的涂布率喷涂于片基,50  $^{\circ}\text{C}$  烘干。所得薄片于 22  $^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度为 60% 条件下平衡 48 h 后,用打烟器将其卷制为每支质量为 0.87 g 的薄片单料烟。然后放置于 22  $^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度为 60% 的条件下平衡。

1.3.4 酶解涂布液单料烟的感官评吸 参照 YC/T 498—2014《再造烟叶(造纸法)感官评价方法》进行感官评吸,评价项目有香气质、香气量、混浊、烟气浓度、细腻度、木质气、其他杂气、刺激、灼烧、纯净度、舒适度、干燥感等。请 10 位专家级评价员对每项感官指标进行打分,以 0.5 分为计算单位,每项满分为 10 分,总分为 120 分。

1.3.5 涂布液中中性香气成分的鉴定 香气成分的提取采用同时蒸馏萃取法。取 40 mL 浓缩涂布液至 1 000 mL 圆底烧瓶中,加入 350 mL 水和 90 g 氯化钠,接于同时蒸馏萃取一端,下装电热套加热。取 40 mL 二氯甲烷于 100 mL 圆底烧瓶,放入 60  $^{\circ}\text{C}$  水浴锅中加热。调整电热套加热功率,使得二氯甲烷开始回流时,样品溶液恰好开始沸腾,并迅速达到平衡,使分界面保持在“U”形管一侧中央位置。加热 2 h 后自然冷却,收集二氯甲烷萃取液。用吸管吸取部分上层水,加入无水硫酸钠过夜存放 12 h。将萃取液转移至烧瓶,加入 30  $\mu\text{L}$  浓度为 0.123 mg/mL 的乙酸苯乙酯溶液作为内标,在 50  $^{\circ}\text{C}$  浓缩至 1 mL,有机滤膜过滤后进行气相色谱-质谱联用(GC-MS)分析。GC-MS 分析条件参考文献[7]。

1.3.6 烟草薄片单料烟烟气常规成分的测定 按照 GB/T 19609—2004《卷烟 用常规分析用吸烟机测定 总粒相物和焦油》、YC/T 30—1996《卷烟 烟气相中一氧化碳的测定非散射红外法》、YC/T 156—2001《卷烟 总粒相物中烟碱的测定气相色谱

谱法》等测定烟草薄片单料烟烟气常规成分。

1.3.7 烟草薄片热失重行为 分析采用热重分析仪测定薄片的热失重行为。升温速率为 20 ℃/min, 加热范围为 20 ~ 900 ℃, 以氮气、氧气体积比为 9 : 1 进行裂解, 混合气体流速为 100 mL/min。

## 2 结果与分析

### 2.1 复合酶解正交试验结果

选择果胶酶用量、蛋白酶用量、酶解时间等 3 个因素进行优化, 结果见表 1。

表 1 正交试验因素水平表及试验结果

试验号	A:蛋白酶用量	B:果胶酶用量	C:酶解时间	提取率 (%)	感官评吸得分(分)
1	1(200 U/g)	1(300 U/g)	1(2 h)	41.2	83.1
2	1(200 U/g)	2(400 U/g)	2(3 h)	42.9	83.3
3	1(200 U/g)	3(500 U/g)	3(4 h)	42.8	80.6
4	2(300 U/g)	1(300 U/g)	2(3 h)	41.6	84.2
5	2(300 U/g)	2(400 U/g)	3(4 h)	41.8	85.3
6	2(300 U/g)	3(500 U/g)	1(2 h)	42.9	82.6
7	3(400 U/g)	1(300 U/g)	3(4 h)	39.1	83.8
8	3(400 U/g)	2(400 U/g)	1(2 h)	41.2	83.0
9	3(400 U/g)	3(500 U/g)	2(3 h)	43.6	81.5

极差分析结果见表 2, 果胶酶用量对提取率影响最大, 其次为酶解时间, 蛋白酶用量影响最小。由表 1 可知, 以提取率最高为标准, 最优工艺组合为 A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>, 即蛋白酶用量为 400 U/g, 果胶酶用量为 500 U/g, 酶解时间为 3 h。考察感官评吸得分可知, 影响最大的因素同样为果胶酶用量, 排第 2 位的因素变为蛋白酶用量, 酶解时间影响最小。以感官评吸得分最优为标准, 最优工艺组合为 A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>, 即蛋白酶用量为 300 U/g, 果胶酶用量为 400 U/g, 酶解时间为 4 h。可以发现, 感官品质最优对应的工艺条件组合与提取率最优时并不相同。随着提取率上

升, 酶解程度上升, 果胶、蛋白质降解程度加大。如果仅从细胞壁物质降解, 刺激性降低角度考虑, 感官品质会与提取率变化相一致。但是随着提取率发生变化以及酶解条件的不同, 酶解液中的可溶性糖、游离氨基酸等成分的含量和比例也会发生变化。要达到一个较高的感官品质, 烟草中糖类、蛋白质、游离氨基酸等成分须要相互协调, 相辅相成, 对涂布液来说是同样的。所以, 除了果胶、蛋白质的降解外, 成分间比例的协调也会影响最终的感官品质, 从而造成提取率与评吸得分的不一致。以感官品质提升为标准的最优条件为蛋白酶用量为 300 U/g, 果胶酶用量为 400 U/g, 酶解时间为 4 h。

表 2 正交试验极差分析结果

指标	项目	A	B	C
提取率 (%)	K <sub>1</sub>	127.00	121.90	125.30
	K <sub>2</sub>	126.30	125.90	128.10
	K <sub>3</sub>	123.90	129.40	123.70
	极差	1.04	2.49	1.45
主次因素		B > C > A		
感官评吸得分 (分)	K <sub>1</sub>	247.00	251.10	248.70
	K <sub>2</sub>	252.10	251.60	249.00
	K <sub>3</sub>	248.30	244.70	249.70
	极差	1.70	2.30	0.30
主次因素		B > A > C		

### 2.2 酶解方式对感官评吸及提取率的影响

由表 3 可知, 3 种酶解方式处理后, 感官评分及提取率大多数有所提高。其中 PrE - PE 处理组的感官品质最好, 其次为 PP 处理组。PE - PrE 处理的薄片刺激性评分虽然较高, 但是其他指标, 尤其是香气指标和纯净度、舒适度均低于其他 2 组, 导致最终评吸总分不高。PE - PrE 处理组的提取率最高, 另外 2 个酶处理组没有明显差异。

表 3 不同酶解方式对薄片单料烟感官评吸的影响

处理	得分(分)												总分 (分)	提取率 (%)
	香气			烟气		杂气		刺激		吸味				
	香气质	香气量	混浊度	烟气浓度	细腻程度	木质气	其他杂气	刺激	灼烧	纯净度	舒适度	干燥感		
空白	6.6	6.4	6.5	6.6	6.7	6.4	6.5	6.4	6.6	6.5	6.4	6.5	78.1	37.6
PrE – PE	7.3	7.4	7.2	6.9	7.3	7.1	7.1	7.1	7.0	7.3	7.5	7.2	86.4	42.6
PE – PrE	6.6	6.8	6.8	7.0	6.8	6.9	6.8	7.3	7.1	6.9	6.7	7.0	82.7	43.9
PP	7.4	7.2	7.2	6.9	7.1	7.0	6.9	6.9	7.0	7.4	7.3	7.2	85.5	42.2

PE - PrE 处理的提取率最高, 是因为其细胞壁物质降解较为彻底。在多篇关于非淀粉多糖酶与

蛋白酶复合降解植物细胞壁物质的文献中, 可以发现分步酶解可以取得较好的酶解效果, 尤其是先用

纤维素酶或果胶酶进行处理,再用蛋白酶处理的方式。这主要是由于在植物材料中,纤维素、果胶等多糖与蛋白质相互交织、包埋,用多糖酶将外层多糖酶解后,可以更有利于蛋白酶的进一步降解<sup>[8]</sup>。

2.3 酶解方式对中性香气成分的影响

烟叶香气成分是烟气香气质量的基础<sup>[9-10]</sup>。不同酶解方式对涂布液香气成分的影响结果如表 4 所示。由表 4 可以看出,3 种酶解方式处理后,香气成分总量都明显增加。其中,以 PP 和 PrE - PE 处

理 2 种方式所得酶解液的香气成分含量增加最多,分别增加 16%、22%。根据香气成分来源可以将其分为苯丙氨酸降解产物、美拉德反应产物、西柏烷烃降解产物、类胡萝卜素降解产物等。由结果可知,经过酶解后,涂布液中各类香气成分均有所增加。其中,又以美拉德反应产物、类胡萝卜素降解产物、新植二烯等的含量增加最为明显,对香气总量的增加贡献最大。

表 4 不同酶解方式对涂布液香气成分的影响

产物	香气成分	含量(μg/mL)			
		空白	PrE - PE	PE - PrE	PP
苯丙氨酸降解产物	苯甲醛	0.08	0.09	0.08	0.09
	苯乙醛	0.16	0.23	0.18	0.22
	苯甲醇	0.24	0.27	0.24	0.25
	苯乙醇	0.19	0.22	0.21	0.19
	苯丙氨酸降解产物总和	0.67	0.81	0.71	0.75
美拉德反应产物	6 - 甲基 - 5 - 庚烯 - 2 - 酮	0.02	0.06	0.04	0.05
	糠醛	0.21	0.46	0.38	0.45
	糠醇	0.07	0.25	0.14	0.19
	5 - 羟甲基糠醛	0.07	0.28	0.21	0.25
	5 - 甲基糠醛	0.06	0.26	0.20	0.25
	美拉德反应产物总和	0.43	1.31	0.99	1.19
类胡萝卜素降解产物	β - 紫罗兰酮	1.88	2.86	2.42	2.50
	β - 大马酮	0.21	0.33	0.36	0.32
	3 - 羟基 - 二氢大马酮	—	0.24	0.18	0.22
	二氢猕猴桃内酯	0.34	0.68	0.6	0.76
	巨豆三烯酮	0.22	0.52	0.49	0.47
	3 - 氧代 - α 紫罗兰醇	0.12	0.13	0.10	0.14
	类胡萝卜素降解产物总量	2.77	4.76	4.15	4.41
西柏烷烃降解产物	茄酮	2.25	2.44	2.31	2.41
	降茄二酮	0.68	0.89	0.83	0.75
	西柏三烯二醇	0.38	0.42	0.41	0.40
	西柏烷烃降解产物总量	3.31	3.75	3.55	3.56
其他	新植二烯	12.51	15.64	13.15	14.58
	烟碱	4.76	4.70	4.64	4.75
	香气成分总量	29.21	35.67	31.83	33.99

注:“—”指未检出。

酶解后,酶解液中可溶性总糖和游离氨基酸、短肽增多,这为酶解和浓缩时发生美拉德反应提供了丰富的原料。PP 和 PrE - PE 处理所产生的氨基酸和蛋白质比例适宜,反应时间充分,因而产生较多的产物。可以看出,酶解前后,新植二烯在所选香气成分中都占有较大比例,这与它在烟草原料中含量最多有关。新植二烯是叶绿素降解产物,虽然

其香气阈值高,香气不突出。但其裂解后转化为其他香气物质,并可以作为其他香气载体,因此其对卷烟香气的体现有重要作用<sup>[11]</sup>。经过酶解后,新植二烯含量有一定程度的升高,这主要是由于酶解过程中细胞壁物质降解,原料组织结构松散,香气物质易于从原料中转移到涂布液中。经过酶解后,烟碱含量有一定程度下降,这可能是由于酶解及浓缩

过程中,烟碱在加热或酸碱条件下发生降解所致。

## 2.4 酶解方式对烟气常规成分的影响

酶解过程影响了涂布液中可燃物总量及其相对比例,可能对薄片的主流烟气成分产生影响。不

同酶处理所得涂布液制备的卷烟的主流烟气成分见表 5,分步酶解样品的总粒相物、焦油等含量较对照均有降低,同时酶解(PP)处理的样品则比对照高。

表 5 不同酶解方式对薄片烟气常规的影响

处理	总粒相物含量 (mg/支)	焦油含量 (mg/支)	一氧化碳含量 (mg/支)	烟碱含量 ( $\mu\text{g}$ /支)	水分含量 ( $\mu\text{g}$ /支)	抽吸口数 (口/支)
空白	8.83 $\pm$ 0.14b	6.62 $\pm$ 0.17ab	20.50 $\pm$ 0.12a	0.49 $\pm$ 0.02a	1.89 $\pm$ 0.03b	6.09 $\pm$ 0.05c
PrE-PE	8.63 $\pm$ 0.17bc	6.39 $\pm$ 0.19bc	16.67 $\pm$ 0.16d	0.46 $\pm$ 0.02b	2.06 $\pm$ 0.04a	6.40 $\pm$ 0.06a
PE-PrE	8.36 $\pm$ 0.11c	6.04 $\pm$ 0.16c	18.30 $\pm$ 0.07c	0.41 $\pm$ 0.01b	2.14 $\pm$ 0.06a	6.23 $\pm$ 0.05b
PP	9.33 $\pm$ 0.21a	7.01 $\pm$ 0.22a	19.34 $\pm$ 0.11b	0.47 $\pm$ 0.02a	2.02 $\pm$ 0.05a	6.28 $\pm$ 0.02ab

注:同列数字后不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著。

酶解后,由于提取率的增加,涂布液中可溶性糖等成分显著增加。糖类物质的增加可导致焦油含量上升<sup>[12]</sup>,因此,在以相同体积涂布时,同时酶解后的涂布液产生了更多焦油。不同于同时酶解,分步酶解的总粒相物、焦油等含量均有所降低,这可能是由于酶解时加入了一定量的氢氧化钠。加入碱金属后,其催化裂解燃烧,使得焦油含量降低,残炭物含量增加<sup>[13]</sup>。主流烟气中烟碱由涂布液中的烟碱挥发而成,由于酶解及浓缩过程中烟碱发生降解转化,涂布液中烟碱含量减少,最终反映在烟气中。酶解之后,一氧化碳含量均有所降低,这与果胶、蛋白质的降解有关。果胶和蛋白质等大分子物质是一氧化碳的重要前体物<sup>[2]</sup>。而其降低程度的不同则反映出了酶解程度的不同。酶解之后,随提取率上升,可溶性糖含量上升,3 种酶解方式的抽吸口数均有所增加。同时,水溶性糖含量的增加又使得薄片在标准条件平衡时,平衡含水率上升,这有利于烟气水分上升。另外,烟气中近一半的水都来自于有机物的裂解燃烧,而单糖等可溶性糖裂解产生水分的产率较果胶、纤维素等大分子物质高,这也是烟气中水分增多的重要原因<sup>[14]</sup>。

## 2.5 酶解方式对薄片热失重行为的影响

作为一种特殊的消费品,烟草的品质特征须要通过燃烧体现,而酶解对涂布液成分的改变也会对薄片燃烧性质产生改变。因此,考察不同酶解处理方式对薄片热失重行为的影响。

薄片的热重曲线(TG 曲线)和一阶微商曲线(DTG 曲线)如图 1、图 2 所示,各个失重区间的特征参数见表 6。

如之前所述,薄片的热失重行为分为 4 个阶段:低温区水分及易挥发物的散失、有机物的裂解、残

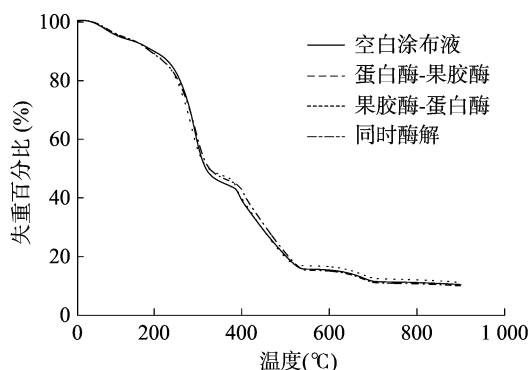


图 1 不同薄片的热重曲线(TG)

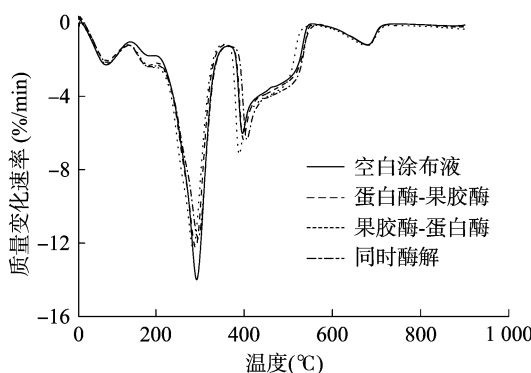


图 2 不同酶处理方式薄片的曲线 DTG

炭物质的氧化燃烧、结炭过程。不同酶解方式处理后,薄片的热失重区间同样可以划分为 4 个,但为突出酶解对单糖及简单糖裂解的影响,将单糖的裂解从有机物裂解区间中单独划分出,共 5 个阶段。由表 6 可知,酶解处理对不同热失重区间有不同的影响。对于水分及易挥发物的散失,酶解处理后,热失重峰值温度上升,最大热失重速率减小,失重百分比降低。这主要体现在不同薄片水分及可燃性有机物含量的相对比例,经过酶解后,可燃性有机物含量升高较水分多,因此水分失重百分比下降。对于第 2 阶段为单糖及简单糖的裂解,此阶段

表 6 不同酶处理方式薄片的热重参数

处理	第1阶段			第2阶段			第3阶段			第4阶段			第5阶段			残留量占比 (%)			
	$T_{p1}$ (°C)	$\Delta m_1$ (%)	$R_m$	$T_{p2}$ (°C)	$\Delta m_2$ (%)	$R_m$	$T_{p3}$ (°C)	$\Delta m_3$ (%)	$R_m$	$T_{p4}$ (°C)	$\Delta m_4$ (%)	$R_m$	$T_{p5}$ (°C)	$\Delta m_5$ (%)	$R_m$				
空白	87.5	-6.02	-2.32	185.5	-3.91	-1.80	199.3	292.3	-45.36	-14.50	164.7	363.8	394.7	-28.97	-6.71	189.5	681.1	-4.39	10.49
PrE-PE	88.8	-5.43	-2.10	182.0	-5.87	-2.32	204.2	289.8	-41.13	-12.26	153.6	357.8	398.3	-30.88	-6.36	211.1	679.2	-4.41	11.23
PE-PrE	88.5	-5.60	-2.17	192.5	-5.71	-2.36	204.9	284.8	-41.59	-12.22	147.3	352.3	389.5	-31.02	-7.09	207.6	675.6	-4.49	11.17
PP	90.6	-5.51	-2.17	187.3	-6.06	-2.40	205.3	295.2	-42.11	-11.76	158.8	364.2	406.3	-30.95	-6.35	192.5	680.4	-4.47	10.05

注:  $T_{ij}$  为第  $j$  阶段失重峰起始温度;  $T_{ij}$  为第  $j$  阶段失重峰值温度;  $\Delta T_j$  为第  $j$  阶段失重温度区间长度;  $\Delta m_j$  为第  $j$  阶段失重百分比;  $R_m$  为最大失重速率。

的失重百分比可以反映出单糖含量的相对比例。酶解之后,随提取率上升,单糖增多,失重百分比增大。

对于第 3 阶段,空白样品的纤维、果胶等大分子物质裂解起始温度最低,为 199.3 °C,酶解之后,起始温度均升高。说明蛋白质与果胶酶解后,由于在低温区裂解的单糖等小分子物质增多,大分子物质裂解起始温度被推迟。样品间最突出的差别反映在最大失重速率与失重百分比上。与空白样品相比,酶解之后,由于可溶性成分增多,果胶等大分子物质失重速率及失重百分比均有所下降。分步酶解效果更大,所以大分子裂解失重下降更多。考察此阶段的温度区间长度,可以发现,酶解之后,区间长度变短。总的来说,酶解使得纤维、果胶等大分子裂解失重效果减弱。

对于第 4 阶段,即燃烧阶段,酶解之后,热失重百分比均升高,其中,PE-PrE 处理升高最多。与裂解阶段的变窄不同,燃烧阶段显著变长,分步酶解较同时酶解(PP)增长更多。因此,酶解的进行增大了薄片在残碳燃烧阶段的热失重效果,放大了燃烧反应。

对于第 5 阶段,为结炭过程,在薄片中的主要体现为碳酸钙的分解。可以发现,添加涂布液后,酶解样品较空白涂布液样品的失重峰值温度下降,失重百分比上升,说明酶解的进行增加了碳酸钙分解失重效果,这可能和燃烧效果增强,所释放的热量增多有关。

考察残留量占比可以发现,相对于空白涂布液,不同酶解处理对残留质量影响不同。同时酶解处理后,残留量下降,分步酶解后,残留量则上升。除了分步酶解时添加氢氧化钠增加灰分外,钠也可能阻碍燃烧阶段残炭物的氧化燃烧,而增加残留质量<sup>[15]</sup>。

3 讨论与结论

本研究结果表明,以感官品质最优为评价标准,最优工艺组合为蛋白酶用量为 300 U/g,果胶酶用量为 400 U/g,酶解时间为 4 h。PrE-PE 处理取得最高感官评分,刺激性评分提升,且有较优的香气和吸味。酶解的增香效果明显,以 PP 和 PrE-PE 处理 2 种方式所得酶解液的香气成分增加最多,分别增加 16%、22%。酶解之后,各类香气成分都有所增加,其中又以美拉德反应产物、类胡萝卜素降

解产物、新植二烯等的含量增加最为明显,对香气总量的增加贡献最大。除同时酶解(PP)处理外,2种分步酶解处理方式的总粒相物、焦油含量均有所下降,3种酶解方式的一氧化碳、烟碱含量均降低,烟气水分和抽吸口数上升;酶解后羰基化合物和一氧化碳含量显著降低,尤以分步酶解的降低效果较好。

薄片涂布液萃取过程中加酶酶解可以有效降低大分子物质含量,从而提升涂布液品质,降低羰基化合物、一氧化碳含量,也可以在一定程度上改善薄片香气。烟气中羰基化合物产生于3个温度区间,分别对应薄片中原有羰基化合物的挥发、纤维等大分子物质裂解、残碳物质的燃烧<sup>[16-17]</sup>。3个温度区间相比,羰基化合物主要产生于裂解区间,说明羰基化合物主要来自纤维、果胶等大分子物质裂解。酶解后,果胶等大分子物质含量降低,使得烟气中羰基化合物含量降低。由于分步酶解可以取得更好的降解效果,所以分步酶解的羰基化合物含量降低更多,尤以PE-PrE处理降低最多。热重分析结果中,大分子物质裂解失重的减弱也说明了这一问题。从温度范围考虑,一氧化碳有2个产生区间:裂解区和燃烧区。一氧化碳主要来源于纤维、果胶等大分子物质的裂解,这是薄片与烟叶相比一氧化碳含量较高的原因。经过酶解后,果胶等前体物减少,使得一氧化碳含量降低,降低趋势与羰基化合物一致,这是因为它们的产生途径及前体物较相似。

分步酶解可以取得较好的酶解效果,有效降解果胶等大分子物质,从而使得主流烟气中羰基化合物含量降低。但对于氨气,不同的加酶顺序效果不同。PrE-PE处理可以在酶解和浓缩过程中利用美拉德反应有效降低氨基酸等氨气前体物,从而使得烟气中氨气含量保持在较低水平,最终感官品质较好。而PE-PrE处理则会使烟气中产生较多氨气,最终导致感官抽吸品质较差。烟叶、薄片及烟气中各种成分相互协调、相互作用,共同构成卷烟的整体吸味。烟叶感官品质的好坏并不取决于某种成分绝对含量。Sun等研究了4个烟区的陈化烟叶,发现感官品质与可溶性糖含量呈负相关关系,但主要是由于发生美拉德反应或裂解反应增加了香气物质,而不是由于糖直接降低了烟气品质<sup>[15]</sup>。因此,在采用酶解技术改善薄片品质时,对各个成分之间协调性的控制十分关键。

致谢:感谢安徽中烟工业有限责任公司技术中心以及感官评吸专家组的各位评价员对本研究给予的帮助,谨致谢意!

#### 参考文献:

- [1]戴路,陶丰,袁凯龙,等.造纸法再造烟叶的研究进展[J].中国造纸学报,2013,28(1):65-69.
- [2]Gaábor V,Zsuzsanna C,Liu C,et al. Thermogravimetric analysis of tobacco combustion assuming DAEM devolatilization and empirical char-burnoff kinetics[J]. Industrial & Engineering Chemistry Research,2010,49(4):1591-1599.
- [3]于建军,马海燕,杨寒文,等.利用果胶酶降解烟叶中果胶的研究[J].江西农业学报,2009,21(3):136-138.
- [4]黄天辉,桂金鹏,郑丽沙.利用酶制剂改善再造烟叶品质研究进展[J].东北农业大学学报,2015,46(10):102-108.
- [5]韦杰,冀志霞,陈守文.复合酶处理废次烟末制备烟草浸膏[J].现代食品科技,2012,28(2):176-181.
- [6]孙德坡,尚善斋,赵伟,等.造纸法再造烟叶萃取和涂布液工艺研究综述[J].郑州轻工业学院学报(自然科学版),2014,29(6):17-21.
- [7]孙伟峰.利用酶法和外加香料法对下部烟叶的增香提质研究[D].无锡:江南大学,2013.
- [8]姜绍通,郑娟,殷嘉忆.酶法提高芋头浆中淀粉水解率的工艺条件研究[J].食品工业科技,2014,35(8):170-175.
- [9]陈爱国,刘光亮,周道金,等.龙岩烤烟特征香气成分及其关键生态影响因子研究[J].江西农业大学学报,2018,40(2):295-305.
- [10]史宏志.烟草香味学[M].北京:中国农业出版社,2011.
- [11]张献忠.废次烟末中烟草香味物质提取、应用及生物活性[D].杭州:浙江大学,2013.
- [12]Talhout R,Antoon O,Amsterdam J V. Sugars as tobacco ingredient: effects on mainstream smoke composition[J]. Food and Chemical Toxicology,2006,44(11):1789-1798.
- [13]Leng E W,Yang W,Xun G,et al. Effect of KCl and CaCl<sub>2</sub> loading on the formation of reaction intermediates during cellulose fast pyrolysis[J]. Proceedings of the Combustion Institute,2017,36(2):2263-2270.
- [14]殷春燕.乳酸钾改善卷烟保润性能及烟气品质的研究[D].无锡:江南大学,2014.
- [15]Sun J G,He J W,Wu F G,et al. Comparative analysis on chemical components and sensory quality of aging flue-cured tobacco from four main tobacco areas of China[J]. Agricultural Sciences in China,2011,10(8):1222-1231.
- [16]Baker R R. The generation of formaldehyde in cigarettes - overview and recent experiments[J]. Food and Chemical Toxicology,2006,44(11):1799-1822.
- [17]Zhou S,Ning M,Xu Y B,et al. Effects of melamine phosphate on the thermal decomposition and combustion behavior of reconstituted tobacco sheet[J]. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry,2013,112(3):1269-1276.