晾晒烟叶发酵研究进展

王　洁[1],曾代龙[2],符　雷[3],祝春岗[4],时向东[1]*
(1.河南农业大学 烟草学院,河南 郑州 450002;2.川渝中烟工业有限责任公司,四川 什邡 618400;
3.中国烟草总公司 海南省公司,海南 海口 571000;4.海南省烟草公司 儋州公司,海南 儋州 578000)

摘要:随着烟草行业降焦减害工作的开展,卷烟香气质、香气量下降的问题日渐显著,加大晾晒烟在配方中的应用可以改善这一问题。发酵是决定晾晒烟质量的重要因素,通过发酵处理,晾晒烟叶中内含物质发生一系列化学或生物化学变化而趋于协调,使烟草特征香气更加显露,青杂气和刺激性下降,减少了原烟某些品质缺陷,吸食品质及可用性都显著提高。综述了晾晒烟发酵机制、发酵过程中晾晒烟烟叶化学成分的变化以及微生物和酶在晾晒烟烟叶发酵中的应用研究进展。今后应加强对晾晒烟发酵工艺和发酵理论方面的探索和研究,为卷烟降焦减害提供原料。

关键词:晾晒烟;发酵;酶;微生物
中图分类号:S572　　**文献标志码**:A　　**文章编号**:1004-3268(2014)04-0001-04

Research Progress of Air-cured Tobacco Fermentation

WANG Jie[1],ZENG Dai-long[2],FU Lei[3],ZHU Chun-gang[4],SHI Xiang-dong[1]*
(1. College of Tobacco Science,Henan Agricultural University,Zhengzhou 450002,China;
2. China Tobacco Chuanyu Industry Co.,Ltd,Shifang 618400,China;
3. Hainan Provincial Tobacco Company of CNTC,Haikou 571000,China;
4. Danzhou Branch of Hainan Tobacco Company,Danzhou 578000,China)

Abstract: With the tobacco industry to carry reduction of tar harm,the problem that cigarette aroma quality and aroma increasingly decline is significant. In order to solve this problem,the tobacco industry commonly increases the application of air-cured tobacco in the formulation. Fermentation is the important factor that determines the quality of air-cured tobacco. Through fermentation, substances in the air-cured tobacco show a series of chemical or biochemical changes and tend to coordinate. Therefore,fermentation can improve the quality of raw tobacco,but also improve the suction quality and availability of air-cured tobacco. This article makes a review of the mechanism of air-cured tobacco fermentation,the change of chemical elements during tobacco fermentation and the role of microorganisms and enzymes in tobacco fermentation. It is considered that exploration and research should be strengthened on the process and theoretics of fermentation so that the cigarette industry rationally use raw material to decrease tar and harm of cigarettes.

Key words: air-cured tobacco; fermentation; enzyme; microorganism

随着烟草行业降焦减害的开展,卷烟香气质、香气量下降的问题日渐显著,加大晾晒烟在卷烟配方中的应用可以改善这一问题。晾晒烟叶中白肋烟类的总挥发碱、总烟碱及总氮含量相对较高;香料烟类的总糖及还原糖含量较高,总烟碱及总氮含量较低[1];马里兰烟类的焦油含量低,燃烧性好,香吃味俱佳。因此,卷烟配方中合理使用晾晒烟叶是改善卷烟质量,提高卷烟安全性的方法之一。颜克亮等[2]研究了晾晒烟叶模块在烤烟型卷烟中的应用,结果表明,在配方中添加晾晒烟叶模块能提高卷烟浓度、香气丰富性、透发性及甜润感,降低焦油及CO的含量,协调香气,同时对主流烟气中部分关键

收稿日期:2013-11-03
基金项目:国家烟草总公司重点项目(110201202013)
作者简介:王　洁(1988-),男,河南商丘人,在读硕士研究生,研究方向:烟草栽培生理。E-mail:wj29518@163.com
*通讯作者:时向东(1966-),男,河南南阳人,副教授,硕士生导师,主要从事烟草栽培生理研究。E-mail:yancaoshixd@163.com

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

致香成分含量也有一定影响。

晾晒烟鲜烟叶通过晾晒后，决定烟叶质量的基础物质被固定下来，此时的烟叶称为原烟。由于晾晒烟叶的调制方式是自然晾制，调制环境较温和，原烟不同程度地带有多种品质缺陷，例如烟叶生青且杂气较重、刺激性较大导致烟气不柔和、香气质单调和香气量不足等，还达不到直接用于工业加工的品质要求，因此，人们要通过发酵处理来改善这些品质缺陷。在自然条件或人工强化的适宜条件下，原烟经过一段时间的发酵，烟叶品质可以得到不同程度的提高。烟叶内含物质发生一系列化学或生物化学变化而趋于协调，使烟草特征香气更加显露，青杂气和刺激性下降，原烟某些品质缺陷减少，吸食品质及可用性都显著提高。当今市场对晾晒烟的需求逐渐增大，质量要求也越来越高，因而使得晾晒烟叶发酵技术研究变得尤为迫切。为此，综述了晾晒烟发酵的相关研究结果，旨在为晾晒烟发酵的进一步研究提供理论依据。

1 晾晒烟陈化发酵机制

1.1 晾晒烟发酵过程烟叶内含物的主要转化途径

从某些角度上讲，晾晒烟的发酵是调制过程的延续，调制过程中各种物质的分解转化在发酵过程中依然存在，并且进一步发生。发酵过程中烟叶内含物的主要转化途径有：残存叶绿素降解生成吡咯类化合物；还原糖和氨基酸在一定条件下产生分子重排，形成类黑素，即 Maillard 反应；烟叶中逐渐形成的挥发性小分子，如醛、醇、酸、氨、挥发碱（包括游离态烟碱）等逐步挥发；萜烯类化合物降解，包括西柏烷类的降解和类胡萝卜素的降解，氨氮化合物脱去氨基，形成有机酸和 NH_3；游离烟碱转化降解为中性成分烟酸和其他类似物；果胶质缓慢降解为果胶酸和其他成分；调制中积累的多酚类物质发生氧化[3]。经过以上几种物质转化途径，烟叶内含物种类和含量均发生变化，化学成分趋于平衡，对烟叶质量的提高有很大作用。人工发酵的实质就是人工操控外界因素使烟叶发酵过程中物质转化途径顺利、快速地进行，从而提高烟叶质量。

1.2 晾晒烟发酵的主要催化因子

1.2.1 **酶类** Frankenburg 等[4-5]、Andersen 等[6]提出了酶催化烟叶发酵的学说，指出在烟叶发酵各阶段烟叶中原有的蛋白质约有 1/2 被烟叶中的酶水解，产生了相当数量的氨基酸。酶的化学本质是一种蛋白质，其活性很强，只要有少量酶存在，就可以显示出巨大的生物化学活性。晾晒烟调制方式有别于烤烟，调制环境较烤烟温和，使得调制后的烟叶中保存大量有活性的酶，其中包括大量的水解酶和氧化还原酶[7]。张燕等[8]研究了香料烟在调制过程中淀粉酶的动态变化，发现淀粉酶的活性在调制期间呈升高－降低－升高的变化趋势。调制结束时，淀粉酶的活性并不是调制过程中最低的。

在晾晒烟发酵过程中，这些酶类也将继续发挥重要作用，催化原烟中的物质发生一系列生物化学变化。关于晾晒烟发酵过程中酶活性的变化规律研究较少，但对烤烟在该方面的研究很多。韩锦峰等[9]和张西仲等[10]研究表明，烤烟发酵初期烟叶中多酚氧化酶活性较高，在前 12 个月下降明显，之后其变化逐渐趋于稳定；α-淀粉酶、蛋白酶和脂氧合酶活性都呈现先升高后降低的动态变化。孙敬国等[11]研究表明，随发酵时间的延长，苯丙氨酸解氨酶和多酚氧化酶的活性呈下降趋势，而淀粉酶活性随醇化时间的延长表现为先上升后下降。

1.2.2 **微生物** 19 世纪 80 年代，小什列晋格提出了微生物作用假说[12]，认为在发酵过程中微生物首先发挥作用。Reid 等[13]率先发现，在雪茄烟叶表面存在大量细菌和霉菌。Tamayo 等[14]从烟叶上筛选出了芽孢杆菌和球菌等微生物。邱立友等[15]具体研究了红大、NC89 和 K326 3 个烤烟品种在不同陈化时间的 10 个烟样叶面微生物的数量和种类，结果表明，在自然发酵条件下，烤烟叶面微生物中细菌占绝对优势，放线菌和霉菌尤其是放线菌数量较少。细菌中优势菌群是芽孢杆菌，霉菌中优势菌群为曲霉。由此可见，烟叶表面存在大量的微生物。

微生物在自身生长发育过程中可生成多种酶类物质，这些物质和某些代谢产物可直接作用于烟叶，诱导或激活烟叶内的多种酶系统，催化烟叶内在化学成分（主要为多糖和蛋白质）发生分解或转化，使其转变成为小分子的香气物质，如羧基类、醇类、酯类、内酯类、酚类、羰基类、氮杂环类、酰胺类和亚胺类等各种香味化合物前体物或中间产物。这些小分子的香气物质在改善烟叶香气的同时，也使烟叶内化学成分变得更加协调[16]。在微生物降解烟碱途径中，Baitsch 等[17]对嗜烟碱节杆菌降解的代谢途径进行了详细研究，结果表明，烟碱的生物降解是在微生物产生的几种不同酶的作用下逐步完成的。微生物在自身代谢过程中还可以合成单萜类、内酯类以及氮杂环类香味物质。因此，烟叶上的微生物是催化烟叶发酵的重要因素之一。

2 发酵对晾晒烟化学成分的影响

晾晒烟内在化学成分经过发酵后会发生很大变

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

化。在发酵过程中,大分子物质,如淀粉、还原糖、蛋白质、氨基酸、总氮、烟碱、类胡萝卜素和总脂质等进一步降解,因此其含量会下降。糖类、蛋白质和脂类分解成有机酸和糖苷等中间物质,使总有机酸、挥发性酸、挥发性羰基化合物和粗糖苷含量增大。朱大恒等[18]研究了醇化过程中白肋烟香味成分含量的变化,发现在所测定的 17 种中性香味成分中,糠醛、糠醇、苯乙醇、苯甲醛、氧化异佛尔酮、金合欢基丙酮和巨豆三烯酮等中性香味成分含量呈明显增加趋势,有助于提高烟气香气量和香气质;白肋烟中性香味成分中的二氢猕猴桃内酯含量变化不大,而 5-甲基糠醛、异佛尔酮和新植二烯含量则呈下降趋势。在所测定的 12 种碱性香味成分中,吡啶、2,3-二甲基吡嗪、2,5-二甲基吡嗪、2,3,5-三甲基吡嗪、四甲基吡嗪、2-乙酰基吡啶 6 种重要碱性香味成分含量明显增加,这有助于提高烟气香味浓度和丰满度,增强烟叶风格特征,但碱性成分总含量在醇化过程中呈大幅下降趋势。于建军等[19]研究表明,晒红烟在自然陈化过程中,新植二稀和西柏烷类降解产物呈显著增加的趋势,类胡萝卜素降解产物和美拉德反应产物则呈缓慢增加的趋势,只有芳香族氨基酸代谢产物呈增加—减少—增加的趋势。非挥发性有机酸和高级脂肪酸的含量呈下降趋势,且不饱和脂肪酸的降解程度大于饱和脂肪酸。时向东等[20]研究了雪茄外包皮烟发酵过程中香味物质的变化规律,结果表明,香气物质含量呈 2 条不同的峰值曲线,其中茄酮、大马酮、香叶基丙酮、苯乙醇、苯乙醛、二氢猕猴桃内酯、6-甲基-5-庚烯-2-酮含量在发酵第 15 天达到峰值;而新植二烯、苯甲醇、5-甲基-2-糠醛、西柏三烯二醇、金合欢基丙酮、吲哚、黑松醇和香气物质总含量则在发酵第 25 天达到最大值,烟叶发酵 15～25 d 时香气物质总量最高。雷丽萍等[21]研究发现,发酵过程中菌剂可导致白肋烟各部位烟叶烟碱含量大幅减少,一般可使烟碱降解率达 40% 以上,最高可达 54.22%,最低亦达 7.12%;菌剂还可使可溶性总糖、还原糖含量增加,蛋白质、总氮含量下降,施木克值、糖碱比和氮碱比的比值均呈上升趋势,烟叶化学成分更为协调。

3　环境条件对晾晒烟发酵的影响

在晾晒烟发酵过程中,不管是烟叶内含物的转化还是酶和微生物催化作用的发生,都需要适宜的环境条件提供保障。对烟叶发酵影响最大的环境条件是温度和湿度。烟叶发酵的几个主要物质转化途径对温度的要求各不相同。以反应速度而论,烟叶中多酚氧化最快时所需温度为 47 ℃,Maillard 反应的最适温度为 90～110 ℃,在 105 ℃时合成的类黑素最具纯正陈化香气。温度越高,杂气挥发越快,香气损失也随之加快[3]。不同的发酵方法,不同种类的晾晒烟,最适宜的发酵温度不同。以雪茄烟的发酵为例,堆积发酵法预定温度要求芯烟为 55～65 ℃,外包皮烟为 40～50℃,内包皮烟比外包皮烟略高;装箱发酵法要求温度保持在 30 ℃左右;糊米发酵法要求烟堆温度达到 50 ℃左右时要翻动,以防霉烂变质[22]。香料烟陈化过程中的最佳温度为 20～30 ℃,且以 20 ℃最为合适[23]。香料烟叶发酵时的空气相对湿度要求保持在 70%～80%[24]。

4　酶在晾晒烟发酵中的应用

酶是晾晒烟发酵过程中的一类重要催化因子。为了探索酶对晾晒烟发酵的影响,科研人员做了大量的研究工作。李晓等[25]采用酶解法降低烟叶的蛋白质含量,结果表明,中性蛋白酶对烤烟烟叶中蛋白质的降解作用最为显著,一定条件下喷洒 120 U/g 可降解蛋白质的 12%左右;白肋烟施酶量为 180 U/g 时,降解淀粉的效果最佳。白肋烟被蛋白酶酶解后,蛋白质质量分数降低,其杂气、刺激性得到部分去除或降低,而由于蛋白酶本身也是蛋白质,所以经酶解后的烟叶尽管蛋白质氮含量降低,但总氮含量略有增加,这对提高我国白肋烟的总氮含量、总氮/总烟碱值,改变我国白肋烟“有劲无味”的状况是有益的[26]。阮祥稳等[27]在 48 ℃、相对湿度 65%的条件下,采用复合酶(纤维素酶和蛋白酶)发酵烟叶 12 h,可使烟叶总糖含量提高 14.9%,蛋白质含量降低 15.6%,烟叶质量得到提高。寇明钰等[28]研究了蛋白酶处理对雪茄芯叶蛋白质含量和芯叶品质的影响,结果表明:单一蛋白酶处理时,中性蛋白酶和碱性蛋白酶效果较好,芯叶蛋白质含量分别降低 18.98% 和 17.54%;组合蛋白酶处理时,最佳发酵条件为雪茄芯叶用组合蛋白酶(中性蛋白酶 120 U/g+碱性蛋白酶 4×10^{-4} AU/g)于 45 ℃、85%湿度下处理 8 h。经组合蛋白酶处理后,芯叶蛋白质含量降低 25.38%,化学成分更加协调,感官品质得到提高。

5　微生物在晾晒烟发酵中的应用

目前对于微生物在晾晒烟叶发酵中的应用研究,大多集中在探索微生物对烟叶化学成分的影响方面。李宁等[29]研究发现,在雪茄烟叶堆积发酵过程中添蜡样芽孢杆菌可明显降低烟叶含氮化合物含量,发酵结束时烟叶总氮降低 21.64%、蛋白质降低

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

13.53%、总植物碱降低 36.38%、挥发碱降低 24.05%；感官评吸结果显示，烟叶劲头、刺激性改善最为明显，同时杂气减轻、香气增加。谢和等[30]在 45 ℃、相对湿度为 65%条件下，应用枯草芽孢杆菌使烟叶发酵 8 d，化学成分分析结果显示，烟叶中还原糖含量显著增加，总蛋白氨基酸含量显著降低；感官评吸结果表明，施加微生物的烟叶发酵后，青杂气减少，刺激性有所降低，香味略有增加，余味舒适。周瑾等[31]在灭菌后的低次烤烟碎片上接种从优质烤烟中分离筛选得到的微生物菌 Yu-1(假丝酵母属真菌)，在 28 ℃下发酵 6 d，结果表明，烟叶碎片中还原糖含量明显下降，有机酸增多，酸值提高，烟叶的刺激性降低，吸味得到改善。

6 展望

我国烟草市场以烤烟型卷烟为主，有关烤烟发酵的研究较多并取得了较大进展，但对于晾晒烟，该方面的研究较少。目前对晾晒烟发酵的研究主要集中在特定温湿度的环境下外加酶或微生物对烟叶内在物质的影响，以期找到一种能够使烟叶内在物质较为协调的发酵工艺。随着烟草行业对降焦减害要求的日益迫切，晾晒烟原料在卷烟配方中的应用将会越来越广泛，因此，今后对晾晒烟发酵工艺和发酵理论方面的探索和研究也会变得更加重要，进而研究出晾晒烟叶特有的发酵方法，使晾晒烟叶发酵理论更加丰富和完善。

参考文献：

[1] 伍锦鸣，卓浩廉，赵瑞峰，等. 2 种方法制备的伊兹密尔香料烟致香组分成分分析及应用[J]. 河南农业科学，2012，41(10)：49-52.

[2] 颜克亮，曾晓鹰，胡巍耀，等. 晾晒烟叶模块在烤烟型卷烟中的应用[J]. 中国烟草学报，2012，18(1)：19-25.

[3] 韩富根. 烟草化学[M]. 2 版. 北京：中国农业出版社，2010.

[4] Frankenburg W G. Chemical changes in the harvested tobacco leaf(Ⅱ)—Chemical and enzymic conversions during fermentation and aging[J]. Adv Enzymology，1950，10：325-441.

[5] Frankenburg W G，Gottscho A M. Nitrogen compounds in fermented cigar leaves[J]. Ind Eng Chem，1952，44(2)：301-305.

[6] Andersen R A，Kasperbauer M J，Burton H R，*et al*. Changes in chemical composition of homogenized leaf cured and air cured burley tobacco *Nicotiana tabacum* cultivar Ky-14 stored in controlled environment[J]. Agric Food Chem，1982，30(4)：663-668.

[7] 周冀衡. 烟草生理与生物化学[M]. 合肥：中国科学技术大学出版社，1996.

[8] 张燕，李宗飞，宗会，等. 香料烟调制期间淀粉酶等生理生化指标动态变化[J]. 中国烟草科学，2004(4)：23-26.

[9] 韩锦峰，朱大恒，杨素勤，等. 不同陈化时期烤烟几种酶活性及相关化学成分的分析[J]. 中国烟草科学，1999(1)：1-2.

[10] 张西仲，徐晓燕，韩忠明，等. 烤烟片烟陈化过程中化学成分及相关酶活性的分析[J]. 贵州农业科学，2008，36(6)：24-26.

[11] 孙敬国，闰铁军，司辉，等. 烤烟醇化过程中酶的作用与变化特征研究进展[J]. 湖北农业科学，2008，47(10)：1207-1211.

[12] 宫长荣，于建军. 烟草原料初加工[M]. 北京：中国轻工业出版社，1993.

[13] Reid J J，Mckinstry D W，Haley E E. Studies on the fermentation of tobacco I. The microflora of cured and fermenting cigar-leaf tobacco[J]. Pennsylvania Agricultural Experiment Station Bulletin，1933，356：1-17.

[14] Tamayo A I，Cancho F G. Microbiology of the fermentation of Spanish tobacco[J]. International Congress of Microbiology，1953，6：48-50.

[15] 邱立友，赵铭钦，岳雪梅，等. 自然发酵烤烟叶面微生物区系的分离鉴定[J]. 烟草科技，2000(3)：14-17.

[16] 赵铭钦，李晓强. 烟叶微生物发酵机理及生物制剂应用研究进展[J]. 甘肃农业大学学报，2007，42(6)：84-91.

[17] Baitsch D，Sandu C，Brandsch R，*et al*. A gene cluster on pA01 of *Arthrobacter nicotinovorans* involved in the degradation of the plant alkaloid nicotine：Cloning，purication and characterization of 2，6-dihydroxypyridine 3-hydroxylase[J]. J Bacterial，2001，183：5262-5267.

[18] 朱大恒，胡有持，吴鸣，等. 醇化过程中白肋烟香味成分含量的变化[J]. 烟草科技，2002(9)：17-21.

[19] 于建军，李琳，任晓红，等. 晒红烟陈化过程中中性致香物质含量的变化[J]. 郑州轻工业学院学报，2006，21(2)：29-32.

[20] 时向东，张晓娟，汪文杰，等. 雪茄外包皮烟人工发酵过程中香气物质的变化[J]. 中国烟草科学，2006(1)：1-4.

[21] 雷丽萍，李梅云，郭荣君，等. 自选菌株对白肋烟叶质量的影响初报[J]. 云南农业大学学报，2006，21(2)：201-204.

[22] 金敖熙. 雪茄烟生产技术[M]. 北京：轻工业出版社，1982.

[23] 赵铭钦，陈红华，刘国顺，等. 不同温度条件对陈化期间香料烟内在质量的影响[J]. 浙江农业科学，2007(5)：607-612.

[24] 杨振义. 晾晒烟叶人工发酵研究[J]. 西北烟草，1991(1)：36-38.

[25] 李晓，刘凤珠，姚光明. 酶解法改善烟叶吸味品质的试验[J]. 烟草科技，2002(3)：6-8.

[26] 李晓，姚光明，杜荣杰. 酶解法处理白肋烟的实验研究[J]. 郑州轻工业学院学报，2006，21(2)：33-34.

[27] 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(1)：67-68.

[28] 寇明钰，汪长国，戴亚，等. 蛋白酶处理对雪茄芯叶品质的影响[J]. 西南大学学报：自然科学版，2011，33(10)：149-153.

[29] 李宁，汪长国，曾代龙，等. 蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)筛选鉴定及在雪茄烟叶发酵中的应用研究[J]. 中国烟草学报，2012，8(2)：65-69.

[30] 谢和，韩忠礼，赵维娜. 微生物发酵对烤烟内在品质的影响[J]. 山地农业生物学报，1999，18(4)：227-230.

[31] 周瑾，李雪梅，许传坤，等. 利用微生物发酵改良烤烟碎片品质的研究[J]. 烟草科技，2002(6)：3-5.

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net