固态发酵低次烟叶制备的提取液成分分析

王宜君[1]，汤朝起[2]，严新龙[3]，许赣荣[*1]

（1. 江南大学 生物工程学院 / 工业生物技术教育部重点实验室，江苏 无锡 214122；2. 上海烟草集团有限责任公司，上海 200082；3. 江苏太仓海烟烟草薄片有限公司，江苏 苏州 215400）

摘要：对低次烟叶分别进行高温高水分好氧和厌氧发酵，烘干，陈化一周后制备提取液，应用顶空固相微萃取气质联用 HS-SPME-GC-MS 对不同提取液中的挥发性致香成分进行分析比较，并将浓缩后提取液涂布于片基上进行评吸。结果表明，经高温高水分好氧和厌氧发酵低次烟叶制备的提取液中挥发性致香成分种类分别为 52 种、51 种，合计质量浓度分别为 43.38 μg/mL、40.16 μg/mL。而未经发酵低次烟叶制备的提取液中挥发性致香成分种类为 34 种，合计质量浓度为 23.61 μg/mL；低次烟叶经固态发酵后所得提取液中酸类、酯类、酮类、醇类、醛类、杂环类等致香成分均有不同程度的增加，增香除杂效果明显，能够改善烟草薄片的吸食品质。

关键词：低次烟叶；发酵；萃取液；香气成分

中图分类号：TS 444　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1673—1689(2016)07—0757—08

Composition Analysis of Extracts Prepared by Solid-State Fermentation From Discarded Tobacco Leaves

WANG Yijun[1]，　*TANG Zhaoqi*[2]，　*YAN Xinlong*[3]，　*XU Ganrong*[*1]

（1. School of Biotechnology / Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. Shanghai Tobacco Group Co. Ltd., Shanghai 200082, China; 3. Taicang Haiyan Reconstituted Tobacco Co. Ltd., Suzhou 215400, China）

Abstract: The fermented extracts were prepared from discarded tobacco leaves using aerobic and anaerobic fermentation with high temperature and high moisture, followed by one-week aging after drying. The volatile components in the extracts were comparatively analyzed by headspace solid-phase micro-extraction (HS-SPME) associated with capillary gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The concentrated extracts were coated on film base for smoking quality analysis. There were totally 52 volatile aroma components detected in the aerobic fermentation tobacco extracts with a concentration of 43.38 μg/mL, and for extracts from anaerobic fermentation, there were 51 kinds of 40.16 μg/mL. For the control sample without fermentation, there were 34 components with concentration of 23.61 μg/mL. The contents of acids, esters, ketones, aldehydes, heterocycles were increased at different levels after fermentation. The significant effect of aroma enhancement and impurities removal confirmed that the smoking quality could be improved by

收稿日期：2015-01-08

基金项目：上海烟草集团有限责任公司科技项目(SZBCW201000744)。

***通信作者：**许赣荣(1957—)，男，江西赣州人，工学博士，教授，博士研究生导师，主要从事发酵工程与生物化工研究。

E-mail：grxu123@126.com

fermentation treatments.
Keywords: discarded tobacco leaf, fermentation, extraction, volatile aroma components

低次烟叶是卷烟生产中质量较差的产品,合理开发利用这些产品用于造纸法再造烟叶,可产生巨大的经济和环境效益[1-2]。已知低次烟叶中含有3 000多种化合物,包括糖类、氨基酸、蛋白质、有机酸等以及各种烟草致香物质。对低次烟叶进行综合利用,已成为烟草、化工、香精、医药等行业科研工作者关注的问题。但研究重点集中在如何提取其相应化学成分上,如提取烟碱和茄尼醇,或采用各种萃取技术制备烟用香精香料。而对烟草发酵产香的开发利用也仅限于制备一些烟用浸膏[3]。

在造纸法再造烟叶生产工艺中,一般是以烟梗、烟末及碎烟叶等作为原料,通过提取工艺制备提取液,经浓缩后用于烟草薄片的涂布液。这一过程主要是物理加工过程。低次烟叶含有大量的糖类、蛋白质等物质,可被微生物利用;将低次烟叶在一定条件下进行发酵,促进有益微生物在低次烟叶上的生长及发酵,则在发酵过程中,会降解烟叶中的部分化合物,同时产生一定量的代谢产物,因而经过发酵的低次烟叶,提取后有可能得到品质更优良的提取液。作者以固态发酵低次烟叶为原料,制备提取液[4],以期提高提取液的品质、降低烟草薄片的青杂气、刺激性,提高相应烟草本香香味物质种类和含量。

利用微生物发酵低次烟叶产香具有原料易得、成本低、可操作性强等优点[5-6]。深入开展低次烟叶的基础及应用研究,开发出适用于中式卷烟的新型烟草薄片,是造纸法再造烟叶技术研究的重点工作之一[7]。考虑到再造烟叶是以水对烟草原料进行提取,故本实验以高温、高水分为发酵条件对低次烟叶分别进行好氧和厌氧固态发酵,并以其为原料制备烟草提取液,采用顶空固相微萃取气质联用方法,分析不同萃取液中的挥发性致香成分,并与未经发酵的低次烟叶制备的提取液进行对比,以期为低次烟叶发酵在造纸法再造烟叶领域中的应用提供科学依据[8-10]。

1 材料与方法

1.1 原料

低次烟叶:2012年福建烟叶上海烟草集团有限责任公司提供;浓硫酸、浓盐酸、氢氧化钠、硫酸铜、硼酸、醋酸、硫酸钾、3,5-二硝基水杨酸:中国国药集团化学有限公司产品。

1.2 设备

UV3000型-可见光分光光度计:日本Hitachi公司产品;红外智能8孔消化炉:上海沛欧分析仪器有限公司产品;SKD-200凯氏定氮仪:上海沛欧分析仪器有限公司产品;DZF-6050型真空干燥箱改造培养箱:上海博讯实业有限公司医疗设备厂产品;YHG-300BS型鼓风恒温干燥箱:上海康路仪器设备有限公司产品;同时蒸馏装置:上海达丰玻璃仪器厂产品;甘蔗榨汁机:上海中造机械有限公司产品;RE52-3旋转蒸发器:上海沪西分析仪器厂有限公司产品;气相色谱—串联质谱联用仪:Trace1300/TSQ8000美国Thermo公司产品;自制数显可控恒温水浴加热固态发酵装置。

1.3 固态发酵方法

烟叶分为3组:未发酵的低次烟叶,高温高水分好氧发酵低次烟叶和高温高水分厌氧发酵低次烟叶。

1.3.1 高温高水分好氧发酵低次烟叶条件 取低次烟叶2 kg,预先测定其水分含量,将烟叶摊开在不锈钢盘中,用喷壶喷洒一定量的水至烟叶,并混匀,使烟叶最终水分为50%,将潮湿烟叶装入自制的固态发酵装置中,置于50 ℃发酵6 d,取出低次烟叶于60 ℃鼓风干燥箱中烘干3 h至烟叶水分12%左右,室温自然陈化一周。

1.3.2 高温高水分厌氧发酵条件 取低次烟叶0.5 kg,喷水方法同上,至水分50%,装入自封袋中,排出空气,置于真空干燥箱改造的培养箱中45 ℃发酵4d,取出低次烟叶置于60 ℃鼓风干燥箱中烘干至烟叶水分12%左右,室温自然陈化一周。

1.3.3 萃取液的制备 以水为萃取剂,低次烟叶为原料,料水质量体积比(1 g:10 mL),置于3 L烧杯中,玻璃棒间隔10 min搅拌一次,放入60 ℃恒温水浴箱中提取1.5 h后,以甘蔗榨汁机挤压物料,得到提取液。

1.4 分析方法

1.4.1 烟草常规化学成分的测定 还原糖、总糖的测定—DNS 法[11];粗蛋白及总氮的测定—凯氏定氮法[12];烟碱的测定—紫外分光度法[13];内标法(乙酸苯乙酯)定量分析[14];可溶性固形物含量的测定:取提取液 100 mL 于 500 mL 圆底烧瓶中,于旋转真发仪 60 ℃真空浓缩至无游离水后,105 ℃干燥箱中烘干至恒重,称量。

1.4.2 致香成分的测定 样品前处理: 取 100 mL 提取液放入圆底烧瓶中, 加入 20 mL 二氯甲烷,置于同时蒸馏萃取装置进行萃取,得到二氯甲烷萃取液,干燥浓缩至 1 mL,加入乙酸苯乙酯作为内标物进行 GC-MS 分析。SPME 分析条件: 取 8 mL 萃取液,置于顶空瓶中,采用 50 μm DVB/CAR/PDMS 萃取头,萃取头吸附样品后在孵化池中预热 5 min,50 ℃萃取 30 min。取出萃取头,立即插入 GC-MS 仪进样口(温度 250 ℃)中解吸 7 min,进行 GC-MS 分析。GC-MS 分析条件:色谱柱:7G-5MS 30 m×0.25 mm×0.25 μm;进样口温度:250 ℃;程序升温:初温 40 ℃,保持 3 min,以 8 ℃/min 升至 120 ℃,再以 10 ℃/min 升至 230 ℃, 保持 8 min; 载气:He, 流量 1 mL/min;EI 离子源温度:230 ℃;分流比:10:1;电离能量:70 eV;扫描范围:33~450。

1.5 涂布还原烟草薄片评吸

将 100 mL 浓缩后的提取液均匀涂布于片基上,涂布率为 30%,置于 80 ℃鼓风干燥箱中快速烘干后,放入恒温恒湿培养箱(温度 25 ℃、相对湿度 60%) 中维持烟草薄片含水率在 12%左右 48 h,切丝分别卷成 10 只单料烟,由 10 人专业评吸小组分别对香气量、甜润感、刺激性、青杂气、灼烧感、透发性、余味等 7 个指标进行评吸。

2 结果与讨论

以下所有结果中Ⅰ组表示未发酵的低次烟叶制备的烟草提取液;Ⅱ组表示高温高水分好氧发酵低次烟叶制备的烟草提取液;Ⅲ组表示高温高水分厌氧发酵低次烟叶制备的烟草提取液。

2.1 烟草萃取液基本理化成分分析

检测 3 种低次烟叶制备的烟草提取液基本物理和化学指标。结果如表 1 所示。

表 1 未浓缩烟草提取液的基本理化性质

Table 1 Chemical composition and physical properties of tobacco extracts before concentration

检测指标	可溶性固形物质量分数/%	pH	还原糖/(mg/mL)	总糖/(mg/mL)	总氮/(mg/mL)	烟碱/(mg/mL)	两糖差	HTJ 值	还原糖/总氮
Ⅰ组	8.5	5.68	16.84	20.60	5.02	0.94	3.76	17.91	3.35
Ⅱ组	9.0	4.95	14.32	17.90	5.89	1.27	3.58	11.27	2.43
Ⅲ组	9.0	5.03	15.08	18.63	5.92	1.32	3.65	11.42	2.54

注:HTJ 值=还原糖/烟碱两糖差=总糖-还原糖

从表 1 可知,经过发酵的Ⅱ组和Ⅲ组与未发酵的Ⅰ组相比, 其可溶性固形物含量增加和 pH 值降低,说明低次烟叶自身的大分子物质经微生物发酵后降解为更易于提取的小分子物质,或酸性代谢产物使得提取液中的 pH 降低;Ⅱ、Ⅲ两组的 HTJ 值较Ⅰ组更趋于合理,若提取液中糖高烟碱低,则利用它涂布后的烟草薄片燃吸时烟气劲头低, 吸味平淡,香气不足。相反若烟碱高糖低,则烟气劲头大,不醇和吸后无舒适感。一般 HTJ 值维持在 10~15:1 较为合理;Ⅰ组的两糖差值比Ⅱ、Ⅲ两组略高,即其还原糖相对于总糖含量高,能有效提高提取液涂布后的烟草薄片吃味。从提取液基本的理化指标分析来看,经过高温高水分发酵的Ⅱ、Ⅲ两组与Ⅰ组相比品质有所提高。

2.2 烟草提取液香气成分的分析比较

利用顶空固相微萃取的方法(SPME)富集烟草提取液中的挥发性香气成分, 采用 GC-MS 对萃取头中吸附的挥发性成分进行测定,将得到的图谱经 NIST 谱库检索后确定其化学成分。按峰面积归一化法求得各成分相对质量百分含量, 采用内标法(乙酸苯乙酯)进行定量分析。分析结果见图 1、图 2、图 3 所示。

2.2.1 酸类物质分析比较 酸类物质可以减少杂气和刺激性,提高细腻度和圆润感,改善余味。

由表 2 可知,未经发酵低次烟叶制备的提取液Ⅰ组中酸类物质有 4 种,总量为 0.69 μg/mL;经高

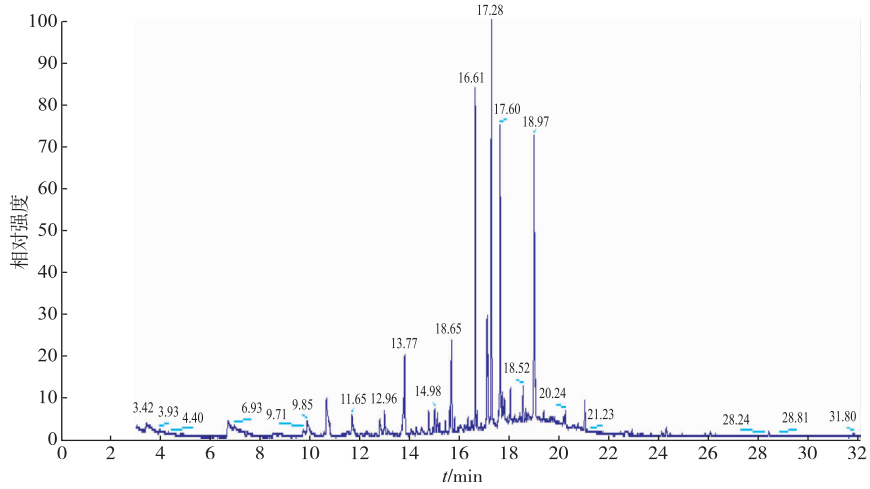


图 1　Ⅰ组烟草提取液挥发性成分的 GC-MS 总离子图

Fig. 1　Total ionic chromatogram of volatiles intobacco extracts (group Ⅰ) by GC-MS

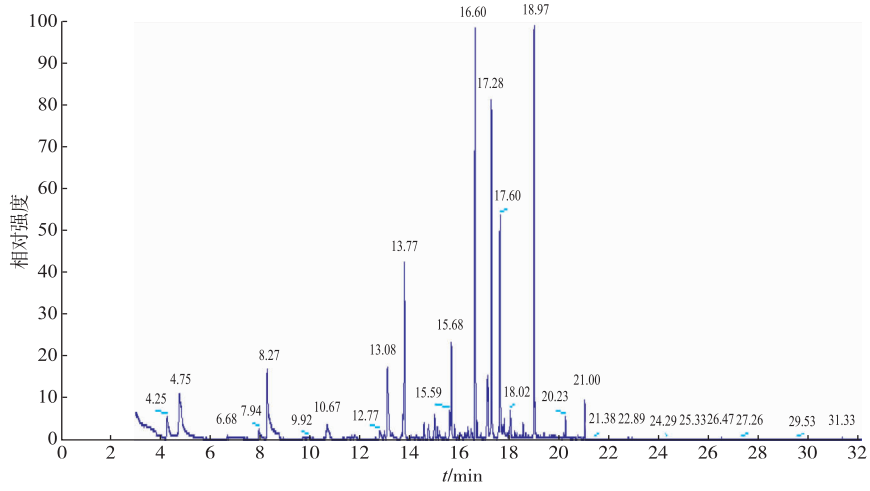


图 2　Ⅱ组烟草提取液挥发性成分的 GC-MS 总离子图

Fig. 2　Total ionic chromatogram of volatiles intobacco extracts (group Ⅱ) by GC-MS

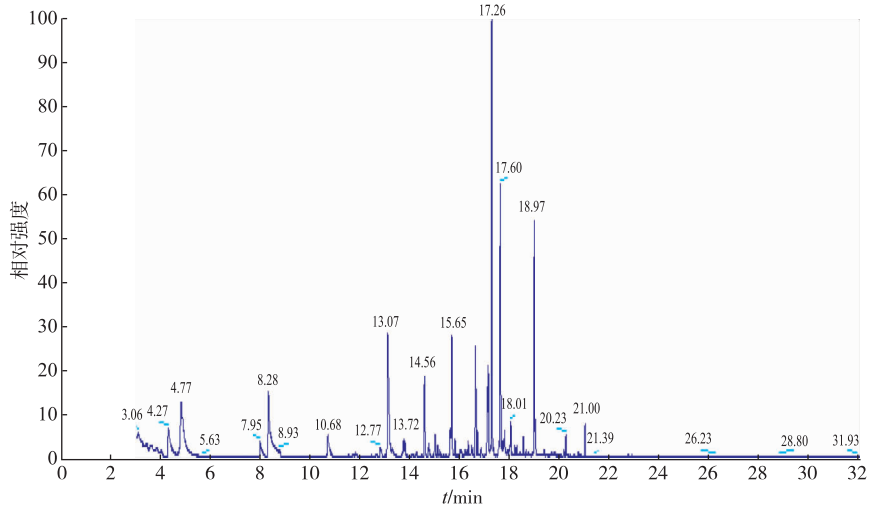


图 3　Ⅲ组烟草提取液挥发性成分的 GC-MS 总离子图

Fig. 3　Total ionic chromatogram of volatiles intobacco extracts (group III) by GC-MS

表 2　烟草提取液中酸类致香成分分析比较

Table 2　Comparison of the acids in tobacco extracts

序号	保留时间/min	化合物名称	匹配度/%	质量浓度/(μg/mL)		
				Ⅰ组	Ⅱ组	Ⅲ组
1	3.26	乙酸	82	—	0.14	0.20
2	4.75	异丁酸	76	—	0.26	0.24
3	6.68	4-羟基-丁酸	66	—	0.08	0.11
4	14.98	辛酸	72	0.18	0.06	0.05
5	18.02	油酸	68	0.08	0.04	0.05
6	21.00	肉豆蔻酸	27	0.37	0.41	0.49
7	24.29	棕榈酸	83	0.06	0.07	0.09
		总量		0.69	1.06	1.23

温高水分发酵低次烟叶制备的提取液Ⅱ、Ⅲ两组中酸类物质有 7 种,总量分别为 1.06、1.23 μg/mL。主要增加了乙酸 (0.14、0.20 μg/mL)、异丁酸(0.26、0.24 μg/mL)等酸类致香成分。

2.2.2　醇类物质分析比较　醇类物质可以有效的减少烟气的刺激性,使吸味柔和。

由表 3 可知,未经发酵低次烟叶制备的提取液Ⅰ组中醇类物质有 7 种,总量为 1.44 μg/mL;而经高温高水分发酵低次烟叶制备的提取液Ⅱ、Ⅲ两组中醇类物质种类均为 11 种,总量分别为 8.14、11.13 μg/mL;其中Ⅱ、Ⅲ两组中增加的主要醇类致香物质有 1-戊醇(0.08、0.02 μg/mL)、糠醇(0.02、0.03 μg/mL)、芳樟醇(0.56、0.49 μg/mL)、香茅醇(1.28、1.53 μg/mL)等,这些醇类致香物质可以使得提取液涂布后的烟草薄片烟气更加成熟、柔和。

2.2.3　酯类物质的分析比较　酯类物质香气清新、飘逸能够较好的去除青杂气,同时酯类物质的性质与其分子大小具有很重要的关系,性质变化很大,其对烟气的贡献与各物质自身结构有关[15]。

由表 4 可知,未经发酵低次烟叶制备的提取液Ⅰ组中酯类致香成分有 8 种,总量为 6.06 μg/mL;而经高温高水分发酵低次烟叶制备的提取液Ⅱ、Ⅲ两组中酯类致香成分种类均为 13 种,总量分别达到 9.52、8.87 μg/mL;Ⅱ、Ⅲ两组与Ⅰ组相比,从无到有增加的主要酯类致香成分有:二氢猕猴桃内酯、棕榈酸乙酯、己酸乙酯、异丁酸乙酯、戊酸乙酯等。

2.2.4　酮类物质分析比较　酮类物质能调和烟香,增加烟气生津感,改善烟草薄片吸味。

表 3　烟草提取液中醇类致香成分分析比较

Table 3　Comparison of the alcohols in tobacco extracts

序号	保留时间/min	化合物名称	匹配度/%	质量浓度/(μg/mL)		
				Ⅰ组	Ⅱ组	Ⅲ组
1	3.05	环氧丙醇	86	0.05	0.10	0.15
2	4.25	戊醇	89	0.09	1.03	0.73
3	4.27	1-戊醇	85	—	0.08	0.02
4	4.40	2-甲基丁醇	78	0.62	—	—
5	5.63	2,3-丁二醇	81	0.08	0.82	1.53
6	13.08	β-苯乙醇	94	0.05	2.30	2.63
7	13.26	环辛醇	71	—	0.08	0.09
8	13.51	正辛醇	85	0.47	1.68	3.76
9	14.02	糠醇	87	—	0.02	0.03
10	17.65	芳樟醇	75	—	0.56	0.49
11	18.02	香茅醇	85	—	1.28	1.53
12	22.53	植物醇	63	0.08	0.19	0.17
		总量		1.44	8.14	11.13

表 4　烟草提取液中酯类致香成分分析

Table 4　Comparison of the esters in tobacco extracts

序号	保留时间/min	化合物名称	匹配度/%	质量浓度/(μg/mL)		
				Ⅰ组	Ⅱ组	Ⅲ组
1	2.45	乙酸乙酯	91	—	0.05	0.07
2	4.53	异丁酸乙酯	74	—	0.07	0.08
3	5.04	乙酸异丁酯	84	0.02	0.08	0.06
4	7.39	乙酸异戊酯	92	0.01	0.21	0.32
5	7.94	戊酸乙酯	83	0.18	0.37	0.42
6	8.28	乙酸戊酯	81	0.08	1.18	0.36
7	10.64	己酸乙酯	86	0.15	0.57	0.68
8	10.68	戊酸乙酯	84	—	0.91	0.52
9	10.81	二十烷酸乙酯	74	0.35	0.68	0.16
10	14.56	辛酸乙酯	89	0.02	0.12	0.61
11	17.26	乙酸苯乙酯	92	5.25	4.97	5.29
12	21.30	棕榈酸乙酯	75	—	0.03	0.01
13	23.61	二氢猕猴桃内酯	83	—	0.28	0.29
		总量		6.06	9.52	8.87

由表 5 可知,未经发酵低次烟叶制备的提取液Ⅰ组中酮类致香成分有 8 种，总量为 9.28 μg/mL;经高温高水分发酵低次烟叶制备的提取液Ⅱ、Ⅲ两组中酮类致香成分均为 10 种，总量分别为 16.46、13.22 μg/mL;其中Ⅱ、Ⅲ两组中增加的香叶基丙酮(0.06、0.02 μg/mL)、α-紫罗兰酮(0.58、0.72 μg/mL)具有浓而甜润的花香,并有良好的扩散性,能使经提取液涂布的烟草薄片香气甜醇，改善其粗劣气,增加天然感和厚实感;巨豆三烯酮、β-大马酮、β-紫罗兰酮、β-二氢大马酮等致香酮类物质的含量,Ⅱ、Ⅲ两组较Ⅰ组均有所提高。

2.2.5　醛类和杂环类物质分析比较　醛类和杂环类是烟草中重要的增香物质,能够提高卷烟的丰满度和香气质。

由表 6 可知,未经发酵低次烟叶制备的提取液Ⅰ组中醛类和杂环类致香成分有 7 种,含量为 6.14 μg/mL；经高温高水分发酵低次烟叶制备的提取液Ⅱ、Ⅲ组中醛类和杂环类致香成分分别为 11 种、10 种,含量分别为 8.20、5.71 μg/mL;2-乙基吡嗪、藏红花醛等香味物质Ⅰ组中均无出现,Ⅱ、Ⅲ两组中有出现,可赋予提取液丰满柔和的风味,协调薄片烟气。

表 5　烟草提取液中酮类致香成分分析

Table 5　Comparison of the ketones in tobacco extracts

序号	保留时间/min	化合物名称	匹配度/%	质量浓度/(μg/mL)		
				Ⅰ组	Ⅱ组	Ⅲ组
1	4.14	1-戊烯-3-酮	68	0.08	0.16	0.15
2	6.67	3-庚酮	85	0.72	0.43	0.29
3	17.12	茄酮	95	0.53	3.72	2.45
4	17.33	香叶基丙酮	90	—	0.06	0.02
5	17.60	β-大马酮	87	3.07	2.65	3.36
6	18.02	β-紫罗兰酮	86	0.72	1.97	1.06
7	18.31	苯乙酮	89	0.02	0.18	0.12
8	19.79	α-紫罗兰酮	76	—	0.58	0.72
9	20.73	巨豆三烯酮	88	0.25	1.69	1.38
10	18.97	β-二氢大马酮	81	3.89	5.02	3.67
		总量		9.28	16.46	13.22

表 6　烟草提取液中醛类和杂环类致香成分分析

Table 6　Comparison of the aldehydes and heterocycles in tobacco extracts

序号	保留时间/min	化合物名称	匹配度/%	质量浓度/(μg/mL)		
				Ⅰ组	Ⅱ组	Ⅲ组
1	4.77	2-甲基吡嗪	68	—	0.09	—
2	6.14	2-乙基吡嗪	72	—	0.03	0.02
3	9.86	苯甲醛	86	0.82	0.71	0.78
4	11.66	苯乙醛	73	0.12	0.09	0.07
5	14.83	藏红花醛	78	—	0.27	0.24
6	14.96	4-(1-甲基乙烯基)-1-环己烯-1-甲醛	82	0.16	0.09	0.12
7	15.57	糠醛	78	1.25	0.34	0.40
8	16.60	烟碱	91	3.64	5.16	2.38
9	18.81	2,4-二叔丁基苯酚	78	—	0.51	0.68
10	18.84	2,4-二叔丁基对甲酚	76	0.06	0.72	0.78
11	19.38	香兰素	83	0.09	0.19	0.24
		总量		6.14	8.20	5.71

2.3　评吸结果

由表 7 评吸结果可以看出,将低次烟叶原料经发酵后制得的提取液涂布片基后,与未发酵低次烟叶制备提取液涂布片基相比,烟草薄片吸食品质有一定程度的改善;Ⅰ组中的薄片香气弱、刺激性大、木质气较重、略有烧焦味;Ⅱ组中的薄片香气量增加、质感强、细腻度和舒适度有所提升;Ⅲ组中的薄片甜润感提升、烟气骨架感好、香气量和香气质明显增强。

表 7　烟草提取液涂布片基吸食评价

Table 7　Smoking quality evaluation of the tobacco using film base coated with tobacco extracts

评吸项目	不同提取液涂布还原后的烟草薄片		
	Ⅰ组	Ⅱ组	Ⅲ组
香气量	较少	尚足	尚足
甜润感	差	中等	较好
刺激性	较大	弱	弱
青杂气	略重	较轻	较轻
灼烧感	有	无	无
透发性	弱	较大	较大
余味	滞舌	尚适	尚适

3　结　语

未经发酵的原低次烟叶制备的提取液中香气物质种类为 34 种,质量浓度仅为 23.61 μg/mL。而经高温高水分好氧固态发酵低次烟叶制备的提取液中香气物质种类为 52 种,质量浓度提高到 43.38 μg/mL;经高温高水分厌氧固态发酵低次烟叶制备的提取液中香气物质种类为 51 种,质量浓度为 40.16 μg/mL;两组发酵后的低次烟叶制备的提取液与未发酵的相比,其挥发性香气物质种数由多到少的顺序为:酯类 >醛类和杂环类>醇类>酮类>酸类。

作者仅说明固态发酵后的低次烟叶所制备的提取液的化学成分发生了一定的变化,这对提高涂布液的品质有一定的效果,至于如何将生物技术应用于造纸法再造烟叶生产工艺中,如利用微生物发酵技术转化提取液增香,改进薄片性能等,还有待进一步的研究。

参考文献:

[1] LAWRENCE E,GRAVELY,LOUISVILLE K Y,et al. Process for reduction of nitrate and nicotine content of tobacco by microbial treatment[P].US Patent,4557280,1985-12-10.

[2] 朱荣誉,于学玲,史劲松. 烟草废弃物的综合利用[J]. 中国野生植物资源,2000,18(3):25-27.
ZHU Rongyu,YUXueling,SHIJingsong. The utilization of tobacco waste [J]. **Chinese Wild Plant Resources**,2000,18(3):25-27.(in Chinese)

[3] 甄达文,于铁妹,朱珊珊,等. 利用酶法与微生物发酵法制备烟用香料[J]. 食品与工业科技,2009,11(12):268-272.

ZHEN Dawen, YU Yiemei, ZHU Shanshan, et al. Preparation of natural tobacco flavor by enzyme and microorganism[J]. **Science and Technology of Food Industy**, 2012, 11(12): 268-272. (in Chinese)

[4] 张晨, 许赣荣, 严新龙. 利用酿酒酵母改进烟草萃取液的香气特性[J]. 食品工业科技, 2012, 33(20): 137-141.
ZHANG Chen, XU Ganrong, YAN Xinlong. Improve the aroma characteristics of the tobacco extracts by saccharomyces cerevisiae[J]. **Science and Technology of FoodIndustry**, 2012, 33(20): 137-141. (in Chinese)

[5] 李士林, 王宜君, 张薄博, 等. 高水分固态发酵上部烟叶对其生物量和化学成分的影响[J]. 食品与生物技术学报, 2014, 33(12): 1319-1325.
LI Shilin, WANG Yijun, ZHANG Bobo, et al. Preliminary study of high moisture solid-state fermentation of the upper leaves of flue-cured tobacco[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2014, 33(12): 1319-1325. (in Chinese)

[6] 许春平, 杨琛琛, 方金辉, 等. 低次烟叶发酵制备烟草香料的研究[J]. 郑州轻工业学院学报: 自然科学版, 2013, 28(1): 34-37.
XU Chunping, YANG Chenchen, FANG Jinhui, et al. Preparation of tobacco flavor from discarded tobacco leaves by fermentation[J]. **Journal of Zhengzhou University of Light Industry: Natural Science**: 2013, 28(1): 34-37. (in Chinese)

[7] 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.
ZHENG Qinan. Study of Application of microorganism quality-Enhancer in manufacturing tobacco slice by papermaking process [J]. **Journal of Zhejiang University of Technology**, 2004, 32(4): 442-446. (in Chinese)

[8] CORNELL A, CARTWRIGHT W F, BERTINUSON T A. Influence of microoganisms (fermentation) on the chemistry of tobacco [J]. **Recent Advances in Tobacco Science**, 1979, 36: 27-32.

[9] 黄嘉礽. 烟草工业手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1993.

[10] 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.

[11] 尹建雄, 卢红, 谢强, 等. 3, 5- 二硝基水杨酸比色法快速测定烟草水溶性总糖、还原糖及淀粉的探讨[J]. 云南农业大学学报, 2007, 22(6): 829-833.
YIN Jianxiong, LU Hong, XIE Qiang, et al. A study on rapid colorimetric determination of water soluble total sugar, reducing sugar and starch in tobacco with 3, 5-dinitrosalicylic acid [J]. **Journal of Yunnan Agricultural University**, 2007, 22 (6): 829-833. (in Chinese)

[12] GB 5099.5-2010. 食品中蛋白质的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.

[13] 肖协忠. 烟草化学[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1997.

[14] 郭灵燕, 海洋, 朱大恒, 等. 废次烟叶生物发酵香料中挥发性香气成分的研究[J]. 化学与生物工程, 2009, 26(11): 76-79.
GUO Lingyan, HAI Yang, ZHU Daheng, et al. Volatile Aroma components in flavor extract of fermented waste tobacco [J]. **Chemistry & Bioengineering**, 2009, 26(11): 76-79. (in Chinese)

[15] 刘善宇. 酯类烟用潜香物质的合成与加香效应研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2010.

会　议　信　息

会议名称(中文): 第十届全国研究生生物质能研讨会

所属学科: 生物技术与生物工程,再生能源技术与工程

开始日期: 2016-10-14　　结束日期: 2016-10-16

所在城市: 北京市　东城区

主办单位: 中国可再生能源学会生物质能专业委员会 生物质能源产业技术创新战略联盟、北京化工大学

摘要截稿日期: 2016-08-30　　全文截稿日期: 2016-08-30

联系人: 伍芷毅　　联系电话: 15510395511

E-MAIL: wuzhiyi1006@foxmail.com

会议网站: http://icbe.csp.escience.cn/dct/page/70044