

# 陈化烟叶产淀粉酶菌株的复筛及产酶条件优化

王宝强<sup>1</sup>, 吴 潇<sup>2</sup>, 季秀玲<sup>2</sup>, 魏云林<sup>2</sup>, 王旺田<sup>1</sup>

(1. 甘肃农业大学生命科学技术学院, 甘肃 兰州 730070; 2. 昆明理工大学生命科学与技术学院, 云南 昆明 650500)

**摘要:** 采用感官评吸的方法, 对从陈化烟叶上初筛分离获得的 224 株产淀粉酶菌株进行复筛, 得到 3 株能显著改善烟叶品质的产淀粉酶菌株 A-7、A-8 和 A-9。对不同浓度酶液改善烟叶品质的分析表明, 0.29 U/mL 的酶液 A-7、80.67 U/mL 的 A-8、213.33 U/mL 的 A-9 对烟叶评吸指标有所改善。以菌株 A-8 为进一步研究对象, 对其产酶条件进行了优化。结果表明, A-8 在 37 ℃、pH 6.0 的条件下, 震荡培养 36 h 生物量达到最大, 60 h 酶活达到最高, 发酵条件的优化可使其单位酶活力提高 2.7 倍。

**关键词:** 烟叶; 淀粉酶; 复筛; 产酶条件

**中图分类号:** S572 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2016)09-0013-06

[doi:10.3969/j.issn.1001-1463.2016.09.005](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1463.2016.09.005)

## Screen of Amylase-producing Bacterial Strains of Tobacco and Enzyme Production Conditions Optimize

WANG Baoqiang<sup>1</sup>, WU Xiao<sup>2</sup>, JI Xiuling<sup>2</sup>, WEI Yunlin<sup>2</sup>, WANG Wangtian<sup>1</sup>

(1. College of Life Science and Technology, Gansu Agriculture University, Lanzhou Gansu 730070, China; 2. Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming Yunnan 650500, China)

**Abstract:** Based on 224 of amylase-producing bacterial strains isolated from tobacco leaves and their screening for the production of amylase in our previous work, this study aimed to screen amylase-producing bacterial strains which could obviously improve tobacco interior quality by the assessment of sense organ with smoking, including amylase A-7, A-8, A-9. Different concentrations of the enzyme solution to improve the quality of tobacco leaves shows that 0.29 U/mL of the enzyme solution A-7, 80.67 U/mL of A-8, 213.33 U/mL of A-9 on tobacco smoking indicators have improved. The condition for enzyme production from strain amylase-producing bacterial A-8 is optimized. The result shows that A-8 at pH 6.0, 37 ℃ conditions, shaking culture 36 hours biomass maximum, 60 hours highest activity, the total enzyme activity could be improved by 2.7 times under the optimum conditions.

**Key words:** Tobacco; Amylase; Screen; Enzyme production conditions

烟草作为一类特殊的嗜好性用品, 是我国重要的经济作物之一。作为全球最大种植国、生产

国和消费国, 烟草行业的经济效益逐步成为我国财政收入的支柱性产业<sup>[1-2]</sup>。卷烟作为烟草行业的

收稿日期: 2016-06-30

基金项目: 云南中烟工业有限责任公司项目(S-6013067)部分内容。

作者简介: 王宝强(1984—), 男, 甘肃镇原人, 助教, 主要从事低温微生物相关研究。联系电话: (0)15769349189。E-mail: wangbq@gsau.edu.cn。

- [7] NEUMANN A, WERNER J, RAUBER R. Evaluation of yield-density relationships and optimization of inter-crop compositions of field-grown pea-oat intercrops using the replacement series and the response surface design [J]. *Field Crops Research*, 2009, 114(2): 286-294.
- [8] EVA STOLTZ, ELISABET NADEAU. Effects of inter-cropping on yield, weed incidence, forage quality and soil residual N in organically grown forage maize (*Zea-mays* L.) and fababean (*Vicia faba* L.). [J]. *Field Crops*

*Research*. 2014, 169: 21-29.

- [9] 赵建华, 孙建好, 陈 伟. 甘肃河西地区玉米不同间套作模式效益研究[J]. *甘肃农业科技*, 2011(3): 13-15.
- [10] 霍 琳, 王成宝, 姜万礼, 等. 兴电灌区主要间套作种植模式产量优势评价[J]. *甘肃农业科技*, 2012(11): 3-6.

(本文责编: 陈 伟)

主要产品, 需要按照生产标准经过一系列相对复杂的加工程序才能得到合格的产品, 其加工过程主要包括初烤、复烤及醇化等工序<sup>[3]</sup>。宫长荣等<sup>[4]</sup>的研究表明, 无论是在烟叶的生长发育过程中还是后期的醇化阶段, 其内部所含有的淀粉酶、转化酶及蛋白酶均能通过其生化作用对卷烟的品质产生重要影响。生物酶类物质不仅与烟叶内化学物质的分解转化有一定关系, 而且对其外观颜色和香味质量造成影响<sup>[5-7]</sup>。

以淀粉形式存在的多糖类物质在新鲜烟叶的物质组成中占有较大的比例, 平均水平可达 25%, 最高可达到 40%<sup>[8-9]</sup>。在烟草的调制环节, 通过淀粉酶的水解作用最终生成还原糖。但淀粉酶并不能完全彻底的降解淀粉, 最终会在烟叶中有一定比例的残留, 据考究, 我国烤烟淀粉含量比国外优质烟叶要高出 3% 左右<sup>[10-11]</sup>。由于这部分残余淀粉的存在, 使得烟叶的颜色、色泽等外观特性及香气、味道等内在品质也会有一定程度的下降<sup>[12]</sup>。邹焱等<sup>[13]</sup>的研究显示, 在烟叶变黄的过程中, 淀粉含量能在相对较短的时间内快速下降至变黄前的 50%, 而在同样的时间段内, 烟叶中淀粉酶的活性却有大幅度提升。由此说明, 低淀粉含量的烟叶更容易变黄, 而淀粉酶是重要的作用因子。烟草在燃吸过程中, 淀粉含量的高低会对燃烧快慢及能否完全燃烧产生一定的影响, 较高淀粉含量的烟支在吸食过程中会产生焦糊味, 从而降低吸食品质; 而淀粉酶水解淀粉形成的还原性糖类物质在吸食过程中发生裂解反应, 生成的酸性物质能在一定程度上中和由烟碱、蛋白质、酰胺等含氮化合物吸食时产生的碱性气体<sup>[14]</sup>, 提高烟叶香味质量。所以, 通过增加低等次烟叶中淀粉酶的含量, 可以促使残留淀粉快速降解为还原性糖, 变不利为有利, 提高烟叶使用率及吸食品质, 增强吸食安全性<sup>[15-16]</sup>。通过醇化的方式来改善烟叶的外在及内在品质是目前比较有效的手段, 而淀粉酶、蛋白酶等生物酶类物质的作用过程是其作用的重要机制<sup>[17]</sup>。

我们通过对玉溪 K326 B4F 陈化烟叶上初筛分离的 224 株产淀粉酶菌株进一步复筛, 获得 3 株能明显改善烟叶品质的菌株并分析不同菌株不同浓度酶液对烟叶吸食品质的影响, 同时以菌株 A-8 为研究对象, 对其产酶条件进行优化, 以期获得酶活较高的生物酶制剂应用于工业化生产。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验材料

产淀粉酶菌株由昆明理工大学生命科学与技术学院嗜极微生物实验室筛选并保藏。烟叶品种为 K326 B4F, 产自云南玉溪, 由云南玉溪红塔集团技术中心提供。实验试剂蛋白胨、酵母膏、NaCl 均为分析纯, 均由天津化学试剂三厂提供。本实验在红塔(烟草)集团有限责任公司技术中心完成。

### 1.2 实验方法

1.2.1 葡萄糖标准曲线的制作 分别取 100 ℃烘至恒重的葡萄糖 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 g 定容到 100 mL 容量瓶, 获得不同浓度的葡萄糖溶液(表1)。在不同浓度的葡萄糖溶液中加入 1.5 mL DNS 试剂, 在沸水浴反应 5 min, 冷却后加蒸馏水定容到 25 mL。1 号为空白, 作为调零管。用可见光分光光度计在 540 nm 波长处测定吸光光度值。

1.2.2 淀粉酶活力测定 采用 DNS 法测定淀粉酶活性<sup>[18]</sup>。

1.2.3 产酶菌株的复筛 ①酶液的制备。从初筛菌株中按照水解圈大小、菌落比值 2 个指标进行筛选, 获得 10 株指标性状优良的菌株, 通过活化、扩大培养、过滤除菌、超滤浓缩等工艺制得淀粉酶粗酶液, 用 DNS 法测定酶活<sup>[3]</sup>。②处理方法。从冷库中取出经过特定工艺处理的初烤烟叶, 50 ℃下烘干 15 min 后称取 50 g 进行处理, 处理方法为液体喷雾法, 即均匀喷洒酶液于供试烟叶表面, 喷洒酶液配方为在 4.825 g(烟叶质量的 9.65%) 无菌水中加入 0.175 g (0.35%) 酶液, 对照为喷洒 5.000 g 无菌水处理。混合均匀后于室温条件下密封发酵 48 h, 然后进行烘干(50 ℃, 25 min)处理降低水分含量, 切丝, 高温(90 ℃, 20 min)灭活, 最后经平衡(22 ℃, 相对湿度 55% 恒温恒湿箱平衡 24 h)处理降低实验误差。③感官质量评价。将处理后获得的平衡烟丝制成烟支进行评吸评价, 参照《玉溪优质烤烟单料烟感官质量评吸方法》(DB53/T 182.3-2006), 主要对香韵、香气量、香气质等指标进行描述<sup>[3]</sup>。

表 1 葡萄糖标准样配制

试剂	试管号						
	1	2	3	4	5	6	7
蒸馏水 / $\mu$ L	1,000	900	800	700	600	500	400
葡萄糖标准液 / $\mu$ L	0	100	200	300	400	500	600
葡萄糖浓度 / (mg/mL)	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6

1.2.4 酶液浓度对感官质量的影响 酶液制备及烟叶处理方法参照 1.2.3。

1.2.5 A-8 菌株发酵条件优化研究 ①发酵时间对产酶的影响。从斜面挑取淀粉酶菌株种子接种于液体培养基，在 37 ℃、150 r/min 振荡培养 8 d，待生物量达到要求后按照 1% 的比例接种于 LB 发酵培养基中，以此为计时起点，每 12 h 取样 1 次，测定 OD<sub>600</sub> 及淀粉酶活。②发酵温度对产酶的影响。将获得的种子液按比例接种于发酵培养基中，在不同的温度(25 ℃、37 ℃、45 ℃、55 ℃)下进行恒温振荡(150 r/min)培养 60 d，DNS 法测定淀粉酶活力。③ pH 对产酶的影响。将获得的种子液按比例接种于发酵培养基中，在不同的 pH (pH 为 5、6、7、8、9)条件下进行恒温(37 ℃)振荡(150 r/min)培养 60 d，DNS 法测定淀粉酶活力。

2 结果与分析

2.1 葡萄糖标准曲线

葡萄糖浓度和吸光度标准曲线见图 1。

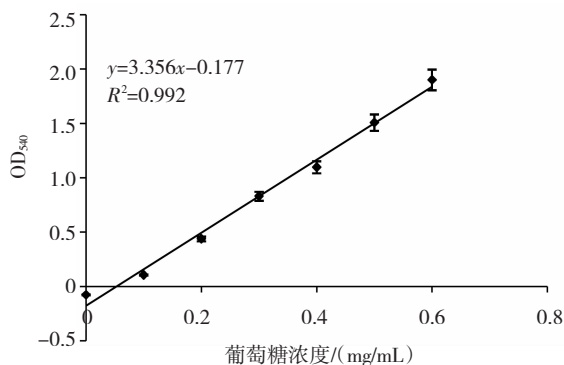


图 1 葡萄糖标准曲线

2.2 酶液酶活的测定

10 株细菌发酵浓缩淀粉酶液 A-1 ~ A-10 的酶活见图 2。由酶活测定结果可知，不同菌株所产淀粉酶的单位酶活具有较大的差异性，最高的可达 3 200 U/mL(A-9)，最低的仅有 4.2 U/mL(A-6)。

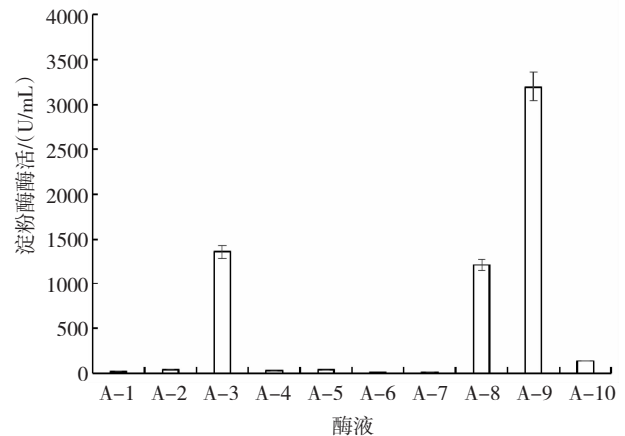


图 2 淀粉酶酶活性

2.3 感官质量评吸分析

不同细菌淀粉酶液处理烟叶评吸结果见表 2。结果显示，对照设置符合实验要求，LB 发酵培养基不会对评吸指标造成干扰。根据感官质量评吸结果并与对照比较，可分为感官质量有所改善、略有改善及不及对照 3 种类型。其中感官质量有所改善为经 A-7、A-8、A-9、A-10 处理的烟叶，酶液 A-7、A-8、A-9、A-10 对烟叶评吸指标的提提升比较明显，具体表现为香气质比对照增加而杂气减少，质感及口感提升，刺激性降低，回味提升。其中经 A-8 处理的烟叶香韵、香气量及香气

表 2 淀粉酶液处理 KB4F 烟叶感官质量评价<sup>①</sup>

酶液	香韵	香气量	香气质	浓度	刺激性	劲头	杂气	回味
对照	尚好	尚足	尚足	较浓	有	较大	有	欠适
A-1	尚好 -	尚足 -	尚足	中等	有	中等	有	欠适
A-2	尚好 -	尚足 -	较足	中等	有 +	较大	有	欠适
A-3	尚好	尚足 -	尚足	中等	有	有	有	欠适
A-4	尚好	尚足	较足	中等	有	较大	有	尚适
A-5	尚好	尚足	较足	中等	有	较大	有	尚适
A-6	尚好	尚足	较足	中等	有	较大	有	尚适
A-7	尚好	尚足	尚足	中等	有	较大	微有	尚适
A-8	较好	尚足	较足	较浓	有	较大	有	尚适
A-9	较好	尚好 -	较足	中等	微有	较大	微有	尚适
A-10	尚好	尚足	较足	较浓	有 +	中等	微有	尚适

① 对照为喷施无菌水的烟叶；上标 - / + 表示评吸效果比对照差。

质均有所提升, 口感较好, 糊焦气息下降, 综合表现较好。感官质量略有改善为经 A-4、A-5、A-6 处理的烟叶, A-4、A-5、A-6 处理烟叶后评吸分数与对照相比略有提高, 总体提升了香气质、回味, 但浓度均有所下降。感官质量不及对照为经 A-1、A-2、A-3 处理的烟叶, A-1、A-2、A-3 酶液处理的烟叶样品的各项评吸指标均与对照持平或下降, 对烟叶品质无明显改善。

#### 2.4 不同浓度的淀粉酶对烟叶感官质量的影响

2.4.1 不同浓度的淀粉酶 A-7 对烟叶感官质量的影响 由不同浓度酶液 A-7 处理烟叶评吸结果(表 3)可知, 酶液 A-7 经无菌水 40 倍稀释之后, 仍能明显改善烟叶的感官质量, 可以作为最适处理浓度应用。

2.4.2 不同浓度的淀粉酶 A-8 对烟叶感官质量的影响 由评吸结果(表 4)可知, 酶液 A-8 经无菌水稀释 15 倍后处理烟叶, 仍然能够保持与原酶液处理相当的评吸效果, 从而减少酶液使用量, 降低成本, 可以作为应用浓度使用。

2.4.3 不同浓度的淀粉酶 A-9 对烟叶感官质量的影响 由表 5 可知, 酶液 A-9 稀释 15 倍后处理烟叶, 香韵得到改善, 杂气减轻, 口感变好, 与原浓度酶液作用相当。

#### 2.5 A-8 菌株发酵条件优化结果

2.5.1 培养时间对产酶及生物量的影响 由图 3 可知, 培养时间在 0~60 h 时, 淀粉酶液 A-8 的酶活随培养时间的增长逐渐升高, 发酵 60 h 后酶活达到最高。培养时间对生物量的影响结果(图 4)

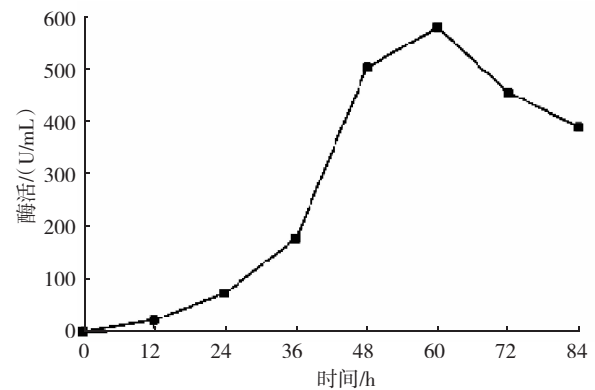


图 3 培养时间对 A-8 产酶的影响

表 3 A-7 酶处理 KB4F 烟叶感官质量评价<sup>①</sup>

酶液	酶活/(U/mL)	香韵	香气量	香气质	浓度	刺激性	劲头	杂气	回味
对照		尚好	尚足	尚足	较浓	有	较大	有	欠适
A-7	11.6	尚好	尚足	尚足	中等	有	较大	微有	尚适
A-7-15		尚好	尚足	尚足	较浓	有	较大	有	欠适
A-7-40		较好	尚足	较足	较浓	有	中等	微有	尚适

①对照为喷施无菌水的烟叶; A-7-15 表示 A-7 酶液用无菌水稀释 15 倍, A-7-40 表示 A-7 酶液用无菌水稀释 40 倍。

表 4 A-8 酶处理 KB4F 烟叶感官质量评价<sup>①</sup>

酶液	酶活/(U/mL)	香韵	香气量	香气质	浓度	刺激性	劲头	杂气	回味
对照		尚好	尚足	尚足	较浓	有	较大	有	欠适
A-8	1 210	较好	尚足	较足	较浓	有	较大	有	尚适
A-8-15		较好	尚足	较足	中等	有	中等	微有	尚适
A-8-40		尚好	尚足	尚足	中等	有 <sup>+</sup>	中等	有	欠适

①对照为喷施无菌水的烟叶; A-8-15、A-8-40 表示 A-8 酶液用无菌水分别稀释 15 倍、40 倍; 上标 -/+ 表示评吸效果比对照差。

表 5 A-9 酶制剂处理 KB4F 烟叶感官质量评价<sup>①</sup>

酶液	酶活/(U/mL)	香韵	香气量	香气质	浓度	刺激性	劲头	杂气	回味
对照		尚好	尚足	尚足	较浓	有	较大	有	欠适
A-9	3 200	较好	尚好 <sup>-</sup>	较足	中等	微有	较大	微有	尚适
A-9-15		较好	尚足	尚足	较浓	有	较大	微有	尚适
A-9-40		尚好	尚足	尚足	较浓	微有	较大	微有	欠适

①对照为喷施无菌水的烟叶; A-9-15、A-9-40 表示 A-9 酶液用无菌水分别稀释 15 倍、40 倍; 上标 -/+ 表示评吸效果比对照差。

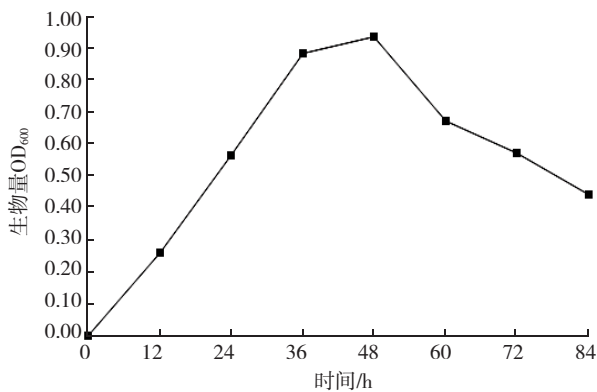


图4 培养时间对A-8细菌生物量的影响

表明, 培养48 h时菌株A-8的生物量达到最大。

2.5.2 培养温度对产酶的影响 由图5可知, 温度在25~45℃时, 菌株A-8都有淀粉酶产生, 其中37℃酶活最高, 可见其最适发酵温度为37℃。

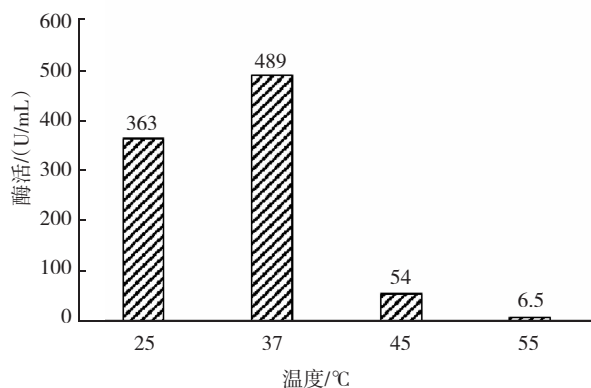


图5 温度对产酶的影响

2.5.3 pH对产酶的影响 pH对产酶的影响结果表明(图6), 在pH为6~9时, 都有淀粉酶酶活较高的酶液产生, 其中在pH为7、8、9条件下, 酶活基本保持稳定; pH为6时, 淀粉酶酶活达到最高, 因此判断, 菌株A-8产酶的最适pH为6。

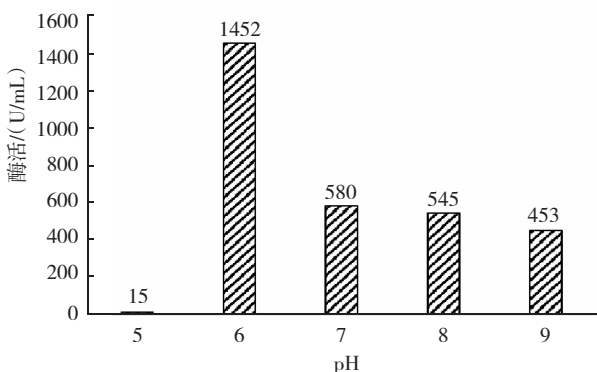


图6 pH对产酶的影响

### 3 结论

烟叶中的大分子化合物能够被微生物或生物

酶制剂分解和转化, 从而减少影响品质的物质含量, 有利于烟草品质改善<sup>[8]</sup>。赵铭钦等<sup>[19]</sup>通过技术手段筛选并验证了优势菌株对烟叶的增香效应。闫克玉等<sup>[20]</sup>研究发现,  $\alpha$ -淀粉酶能高效快速降解直链淀粉形成还原糖, 进而提升烟叶品质。本研究通过感官评吸法成功筛选了3株能够显著改善烟叶品质的产淀粉酶菌株A-7、A-8和A-9, 通过对不同浓度酶液改善烟叶品质的分析表明, 0.29 U/mL的酶液A-7、80.67 U/mL的A-8、213.33 U/mL的A-9对烟叶评吸指标有所改善。对菌株A-8的发酵条件优化结果表明, 在pH 6.0、37℃条件下振荡培养60 h, 其淀粉酶活力可达1452 U/mL, 相对于优化前酶活提高了2.7倍。

本研究仅对3株产淀粉酶菌株的作用效果仅通过感官评吸的方法进行了评价, 而且主要作用对象品种单一。下一步计划对3株菌株进行分类学鉴定, 构建系统发育树, 综合分析其改善烟叶品质的作用机理, 进而扩大淀粉酶制剂的应用范围。此外, 可以通过产酶条件的继续优化和作用条件的正交试验, 进一步提高酶液的生产能力, 确定最佳作用条件, 为酶制剂的工业化应用奠定基础。

### 参考文献:

- [1] 马玲玲. 同时高效降解烟叶中淀粉和蛋白质菌株的分离鉴定及其对烟叶理化成分的影响[D]. 西北农林科技大学, 2015.
- [2] 张严柱. 中国烟草行业发展战略选择问题研究[D]. 大连: 东北财经大学, 2012.
- [3] 吴潇. 酶制剂改善玉溪低次等烟叶内在品质的初步研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2011.
- [4] 官长荣, 刘东洋. 烤烟烟叶内几种酶活性变化及对化学成分的影响[J]. 中国烟草科学, 2003(1): 1-2.
- [5] 王传义, 孙福山, 王廷晓, 等. 不同成熟度烟叶烘烤过程中生理生化变化研究[J]. 中国烟草科学, 2009, 30(3): 49-53.
- [6] 蒋笃忠, 成勃松, 骆君华, 等. 烟叶主要化学成分在不同烘烤方式中的动态变化[J]. 中国农学通报, 2009, 25(1): 67-69.
- [7] 李富强, 宋朝鹏, 官长荣, 等. 烤烟烘烤环境条件对烟叶品质影响研究进展[J]. 中国烟草学报, 2007, 13(4): 70-74.
- [8] 黄天辉, 桂金鹏, 郑丽沙, 等. 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.
- [9] 邓云龙, 孔光辉, 武锦坤, 等. 氮素营养对烤烟叶片

# 14个花椰菜品种在兰州地区引种初报

刘明霞<sup>1</sup>, 胡立敏<sup>1</sup>, 陶兴林<sup>1</sup>, 朱惠霞<sup>1</sup>, 何贵文<sup>2</sup>

(1. 甘肃省农业科学院蔬菜研究所, 甘肃 兰州 730070; 2. 兰州泰和鑫农业科技发展有限公司, 甘肃兰州 730070)

**摘要:** 对14个花椰菜品种引种的试验结果表明: 凯瑞F1、凯越F1、卡迪、圣雪3号、圣雪4号这5个品种综合性状好, 球形圆整, 雪白, 光滑, 紧实, 生长势较强, 折合产量以圣雪3号最高, 为59 000.00 kg/hm<sup>2</sup>; 其次是卡迪, 为58 000.00 kg/hm<sup>2</sup>; 圣雪4号排第3, 为57 500.00 kg/hm<sup>2</sup>; 凯瑞F1排第4, 为57 000.00 kg/hm<sup>2</sup>; 凯越F1排第5, 为56 166.67 kg/hm<sup>2</sup>, 分别较对照品种利卡增产7.27%、5.45%、4.55%、3.64%、2.12%, 以上5个品种可在兰州地区推广应用。

**关键词:** 花椰菜; 引种; 兰州地区

**中图分类号:** S635.3 **文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-1463(2016)09-0018-04

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1463.2016.09.006

花椰菜 (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis* L.) 又称花菜、菜花或椰菜花, 属十字花科的蔬菜, 为甘蓝的变种<sup>[1]</sup>。因其质地细嫩, 味甘鲜美, 营养丰富, 是甘肃省西菜东调的主要蔬菜品种之一, 也是甘肃省高原夏菜的主栽品种, 随着市场需求量的逐步增加, 其种植面积也在逐年扩大。但目前生产上国内外育成的品种均有种植, 品种繁多, 良

莠不齐, 严重影响了甘肃省高原夏菜的外销<sup>[2-4]</sup>。为筛选更加适合兰州地区推广种植的花椰菜品种, 我们于2015年对新引进的14个花椰菜品种进行了试验, 现将试验结果报道如下。

## 1 材料与试验方法

### 1.1 试验地概况

试验地设在甘肃省农业科学院蔬菜研究所试

收稿日期: 2016-04-20

基金项目: 兰州市科技计划项目“花椰菜新品种圣雪三号示范推广”(2015-3-69)部分内容。

作者简介: 刘明霞 (1981—), 女, 甘肃庆阳人, 助理研究员, 主要从事花椰菜育种研究。联系电话: (0931)7754992。

E-mail: maggie@gsagr.ac.com。

- 淀粉积累及淀粉酶活性的影响[J]. 烟草科技, 2001 (11): 34-37.
- [10] 周正红, 高孔荣, 张水华. 烟草中化学成份对卷烟色香味品质的影响及其进展 [J]. 烟草科技, 1997 (2): 22-25.
- [11] ZHANG H L, GE C Y, MU H J. Tobacco analysis and detection [M]. Zhengzhou: Henan Science and Technology Press, 1993.
- [12] WEEKS W W. Chemistry of tobacco constituents influences flavor and aroma [J]. Rec. Adv. Tob. Sci., 1985 (11): 175-200.
- [13] 邹 焱, 谢已书, 卢贤仁, 等. 烟叶变黄过程中淀粉与多酚类物质及相关酶活性的变化 [J]. 湖北农业科技, 2015(13): 3163-3166.
- [14] 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.
- [15] 王 岚, 施红林, 李 忠, 等. 高效液相色谱法测定烟草中淀粉和果胶含量 [J]. 理化检验, 2006, 42 (3): 174-175; 178.
- [16] GONG C R, YUAN H T, CHEN J H, et al. Dynamics of environmental humidity and water content in tobacco leaf and metabolism of starch during curing [J]. Agricultural Sciences in China, 2003, 2(2): 149-153.
- [17] 周冀衡, 朱小平, 王彦亭, 等. 烟草生理与生物化学 [M]. 合肥: 中国科学技术大学出版社, 1995.
- [18] MALHOTRA R, NOORWEZ S M, SATYANARAYANA T. Production and partial characterization of thermostable and calcium-independent  $\alpha$ -amylase of an extreme thermophile *Bacillus thermooleovorans* NP54 [J]. Letters in Applied Microbiology, 2000, 31: 378-384.
- [19] 赵铭钦, 刘 云, 李芳芳, 等. 陈化烤烟叶面优势菌的筛鉴定与其增香效应 [J]. 微生物学报, 2009, 49 (5): 624-630.
- [20] 闫克玉, 赵 磊, 朱国成, 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.

(本文责编: 郑立龙)