

韦克苏,李德仑,潘文杰,等.散叶烘烤下部烟叶成熟度对抗氧化酶及经济性状的影响[J].江苏农业科学,2013,41(10):234-236.

散叶烘烤下部烟叶成熟度对抗氧化酶及经济性状的影响

韦克苏,李德仑,潘文杰,武圣江,姜均,李国彬,谢已书

(贵州省烟草科学研究院,贵州贵阳 550081)

摘要:以烤烟品种 K326 为材料,分析散叶密集烘烤过程中不同成熟度(尚熟、成熟、完熟)下部烟叶中几种抗氧化酶活性和丙二醛的动态变化趋势,并统计初烤烟叶的经济性状指标差异情况,研究密集烤房中成熟度对下部烟叶抗氧化酶(POD、SOD、CAT)、丙二醛(MDA)及烤后烟叶经济性状的影响,为进一步优化散叶烘烤工艺和提高烟叶烘烤质量提供参考。结果表明:在变黄期,MDA 含量随着烘烤进程缓慢上升,不同成熟度烟叶间差异不大;MDA 含量在定色前期(72 h)迅速上升后下降,表现为完熟烟叶 > 成熟烟叶 > 尚熟烟叶。不同成熟度下部烟叶抗氧化酶(POD、SOD、CAT)活性高峰期基本上均在变黄中期(24 h)至定色前期(72 h),在烘烤 72 h 之后迅速降低。整体而言,密集烘烤中下部烟叶抗氧化酶活性表现为完熟烟叶 > 成熟烟叶 > 尚熟烟叶,成熟烟叶中的酶活性变化较完熟烟叶更为剧烈。从经济性状指标上看,成熟烟叶烤后经济性状优于尚熟和完熟烟叶,佐证了成熟度因素在烟叶品质形成中的重要性。研究表明,为了获得较为优质的烟叶,散叶烘烤下部烟叶适宜的成熟度应为成熟至完熟。

关键词:烤烟;成熟度;抗氧化酶;经济性状;散叶密集烘烤

中图分类号:TS45 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2013)10-0234-03

密集烤房因其在省工、节本和提质方面的优越性而逐渐成为中国烤烟烘烤的发展方向^[1]。然而,散叶密集烤房装烟量大,每次采烤叶片数较多,加上烟农对烟叶成熟度把握能力的欠缺,时常引起单炕烟叶成熟度差异较大,导致烤后烟叶香气质的降低^[1-2]。近年来,国内外烟草科研工作者对烤烟密集烘烤中不同成熟度烟叶的生理生化变化、叶片组织结构、细胞超微结构等方面均作了较多研究,均认为变黄期和定色期是烟叶质量形成的关键时期^[3-5]。在生产和科研实践中,人们普遍更为关注中上部烟叶的质量和产量,而对散叶下部烟叶的烘烤质量重视程度不足,种种因素导致下部烟叶烘烤质量下降,初烤烟叶叶片薄、颜色浅、内含物匮乏、内在化学成分不够协调及可用性低的现状^[6-7]。已有研究基本明确,密集烘烤中烟叶内化学物质能否充分转化与其体内细胞结构的完整性有密切关系,而细胞结构的完整性在很大程度上与膜脂过氧化水平、膜系统中各种酶活性的大小有关^[8-9]。鉴于上述原因,本研究对散叶密集烘烤中不同成熟度(尚熟、成熟、过熟)的下部烟叶体内细胞抗氧化酶(POD、SOD、CAT)活性及膜脂过氧化产物(MDA)含量进行动态研究,旨在探讨成熟度对下部烟叶品质形成因素的影响,为完善散叶密集烘烤理论和提高烟叶原料水平提供参考和借鉴。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2012 年,试验在贵州省烟草科学研究院福泉基地进行,

收稿日期:2013-03-18

基金项目:国家烟草专卖局特色优质烟叶开发重大科技专项(编号:中烟叶生[2011]126 号、TS-02-20110016)。

作者简介:韦克苏(1982—),男,广西宜州人,博士,助理研究员,从事烟叶调制品质生理研究。E-mail: wks132117205@163.com。

通信作者:谢已书,研究员。E-mail: yishuxie@sina.com。

供试烤烟品种为 K326,于 2012 年 1 月 20 日播种,于 4 月 25 日移栽烟苗,田间管理按当地优质烟叶标准化生产管理进行,7 月中旬采收下部烟叶(第 3~5 叶位)进行散叶烘烤。

1.2 试验设计

试验采用贵州省烟草科学研究所设计的烘烤试验专用烤房,该烤房为长 3.5 m、宽 1.35 m 的双层远红外电加热烤房。装烟密度 75 kg/m³,烟叶变化以烤房第 2 层为准。共设 3 个处理,即 3 个成熟度(尚熟、成熟、完熟)烟叶。其中,下部烟叶尚熟标准为叶面大部分为绿色,叶尖部和基部呈黄绿色,叶色较为平滑;成熟烟叶标准为叶尖部和基部呈浅黄色,主脉发白,叶面较为平滑;完熟烟叶标准为叶面大部分呈浅黄色,主脉发白,主、侧脉附近呈黄绿色,叶尖部和基部较薄且泛黄^[2]。散叶烘烤工艺为变黄期干球温度 38 ℃,湿球温度 36 ℃;定色期干球温度 50 ℃,湿球温度 37 ℃。取样时间分别为烤后 0(鲜样)、12、24、48、72、96 h,切去烟叶尖部和基部,留中间部分,迅速放入液氮中冷冻,之后转移至 -80 ℃冰箱保存备用。利用烤后烟叶进行经济性状指标统计。

1.3 指标检测及数据分析

丙二醛含量、抗氧化酶活性以及酶蛋白含量测定均参照南京建成生物工程研究所提供的试剂盒测定方法进行,其中丙二醛(MDA)含量、过氧化物酶(POD)活性、超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化氢酶(CAT)活性和酶蛋白含量测定方法的编号分别为 A003-2、A084-2、A001-1、A007-2、A045-2。初烤烟叶按照国家现行标准(GB 2635—1992)进行分级定级,统计烟叶质量、均价、产值与上中等烟率等指标。

试验数据用 Excel 2003 和 SPSS 16.0 进行分析。

2 结果与分析

2.1 密集烘烤烟叶中丙二醛(MDA)含量的动态变化

丙二醛(MDA)是膜脂过氧化最重要的产物之一,与活性氧积累诱发的膜质过氧化作用密切相关,通过丙二醛含量可

以了解膜脂过氧化的程度,可间接测定膜系统受损程度以及植物的抗逆性大小^[10]。如图 1 所示,烘烤前(即鲜烟叶)不同成熟度烟叶细胞内的丙二醛含量几乎一致,未发现明显差异。整体而言,定色前期(72 h)烟叶中的丙二醛含量随着烘烤进程逐渐上升,并在烘烤 72 h 时达到峰值,随后急剧下降。然而,就不同成熟度而言,烟叶中的丙二醛含量在变黄期由高到低基本表现为完熟、成熟、尚熟,但差异未达显著水平。进入定色期后,不同成熟度烟叶中的丙二醛含量差异迅速加大,在烘烤 72 h 时完熟、成熟、尚熟烟叶中的丙二醛含量分别达到 12.04、9.99、8.55 nmol/mg,表明在定色中后期,随着烘烤温度的上升及空气湿度的降低,烤烟烟叶细胞中的膜脂过氧化程度加剧,甚至可能导致细胞结构的破坏。

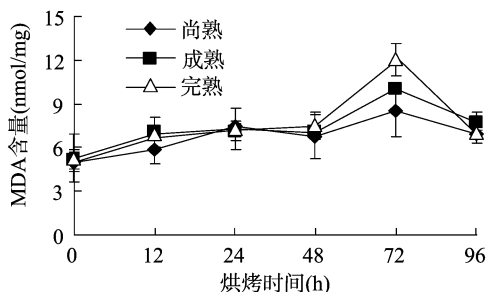


图1 密集烘烤烟叶中的丙二醛(MDA)含量变化

2.2 密集烘烤烟叶中过氧化物酶(POD)活性的动态变化

POD 是以过氧化氢为电子受体催化底物氧化的酶,是植物抗逆保护酶的重要成员之一^[10]。如图 2 所示,密集烘烤中下部烟叶的 POD 活性峰值基本出现在变黄中期(24 h)至定色前期(72 h),呈双峰模式。成熟烟叶和完熟烟叶中的 POD 活性均明显高于尚熟烟叶。成熟烟叶中 POD 活性峰值分别出现在烘烤 24 h 和 72 h,而完熟烟叶中的 POD 活性峰值分别出现在 12 h 和 48 h,均较成熟烟叶 POD 活性峰值提前,这可能与不同成熟度烟叶中的自由水和束缚水比例有关。

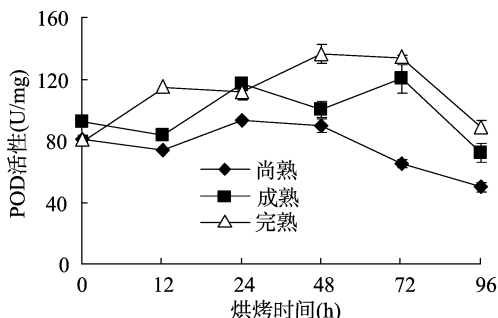


图2 密集烘烤烟叶中的过氧化物酶(POD)活性变化

2.3 密集烘烤烟叶中超氧化物歧化酶(SOD)活性的动态变化

SOD 是植物体内清除活性氧自由基的关键酶,能催化超氧阴离子自由基的歧化反应,生成 O_2 和 H_2O_2 ,从而减轻 $O_2^{\cdot-}$ 对植物的毒害,其活性的强弱与植物抗氧化能力密切相关^[10]。如图 3 所示,密集烘烤尚熟烟叶中的 SOD 活性低于成熟烟叶和完熟烟叶。其中,尚熟烟叶中的 SOD 活性呈单峰模式,其峰值出现在烘烤 24 h 处,达到 232.56 U/mg;而成熟和完熟烟叶中 SOD 活性呈明显的双峰模式,其活性峰值均出

现在烘烤 24 h 和 72 h 处。相对于完熟烟叶,密集烘烤成熟烟叶体内的 SOD 活性变化幅度更为剧烈,尤其是在变黄中期至定色前期,这可能与不同成熟度烟叶中水分含量变化情况有关,说明成熟烟叶体内细胞酶活性变化更为剧烈。

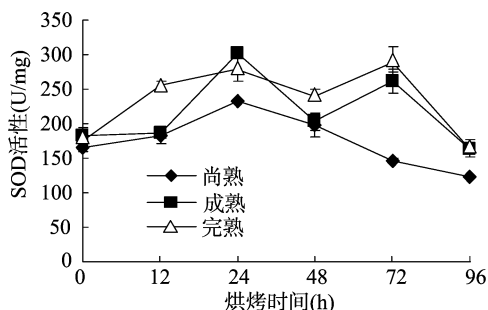


图3 密集烘烤烟叶中的总超氧化物歧化酶(SOD)活性变化

2.4 密集烘烤烟叶中过氧化氢酶(CAT)活性的动态变化

CAT 是植物体内 H_2O_2 等活性氧的清除酶,它与 SOD 协同作用维持体内活性氧代谢平衡^[11]。如图 4 所示,鲜烟叶中的 CAT 活性基本一致,烘烤开始后,随着烟叶自身水分和空气水分含量的变化,下部烟叶中的 CAT 活性变化比较剧烈。其中,成熟烟叶和尚熟烟叶中的 CAT 活性迅速降低,不同的是成熟烟叶 CAT 活性在烘烤 12 h 之后迅速上升,并保持在较高水平,直至定色前期(72 h)才明显降低;而尚熟烟叶 CAT 活性则在烘烤 24 h 之后才上升,随后又急剧降低,这可能是由于成熟烟叶对烘烤环境温湿度的适应能力强于尚熟烟叶。与尚熟烟叶、成熟烟叶不一样的是,完熟烟叶 CAT 活性在烘烤开始就呈上升趋势,并一直保持在较高的活性水平。

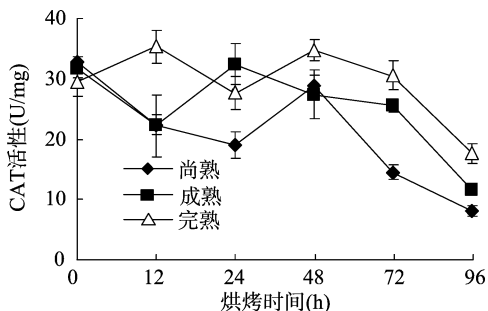


图4 密集烘烤烟叶中的过氧化氢酶(CAT)活性变化

2.5 初烤烟叶经济性状差异

对比不同成熟度下部烟叶烤后经济性状可以发现,成熟烟叶烤后质量和均价均明显高于尚熟烟叶和完熟烟叶。其中,成熟烟叶上等烟率达到 52.1%,分别比尚熟烟叶、完熟烟叶高 25.9、7.9 百分点;而其下等烟率仅为 13.4%,明显低于其他 2 个成熟度的烟叶;成熟烟叶烤后均价为 20.3 元/kg,也明显高于尚熟烟叶和完熟烟叶(表 1)。不同成熟度下部烟叶烤后经济性状对比分析结果表明,成熟烟叶的烘烤质量优于其他 2 种成熟度处理,完熟烟叶次之,这也说明了严格控制好下部烟叶采收成熟度的重要性。

3 讨论

烟叶烘烤调制的实质是人为地提供适宜温度、湿度及时间条件,促使烟叶凋萎、变黄、干燥的初烟叶加工过程,也就是

表 1 不同成熟度烤后烟叶经济性状指标比较

处理	上等烟率 (%)	中等烟率 (%)	下等烟率 (%)	橘黄烟率 (%)	均价 (元/kg)
尚熟	26.2	35.8	38.0	62.9	14.7
成熟	52.1	34.5	13.4	89.7	20.3
完熟	44.2	31.3	24.5	83.1	18.3

给烟叶施加了“逆境”环境^[2,12]。在逆境条件下,植物有序的代谢规律发生障碍,活性氧大幅度增加,高水平的活性氧可使膜脂过氧化及大分子蛋白质发生聚合,导致膜结构和功能的破坏或蛋白质变性,引起膜结构的变化及电解质外渗^[10,13]。生物膜与植物抗性关系密切,丙二醛的含量可以间接说明细胞膜系统受损的程度^[10]。本研究中,丙二醛含量随着烘烤进程而逐渐升高,也就表明了细胞膜受损程度随着烘烤时间而加剧,结果与前人研究^[8,14-15]相吻合。植物体内活性氧的清除由酶促和非酶促两大系统完成,其中 POD、SOD、CAT 是植物体内抗氧化酶系统(酶促)中的主要成员,可以有效清除活性氧,它们的活性水平也基本决定了膜脂过氧化反应的程度^[9-11]。针对密集烘烤中不同成熟度烟叶体内抗氧化体系,国内外学者也进行了一些研究。王传义等研究认为,当烤房内干球温度为 40~46℃时,成熟度适宜的烟叶 SOD、POD 等保护酶活性较高,PPO 活性较低,可以在一定程度上防止棕色化反应的发生^[16]。武圣江等发现,在密集烘烤中,低湿和高湿引起的 SOD、POD 活性表达不利于烤烟烘烤质量的形成,成熟度对初烤烟叶品质形成的影响大于烤房湿度^[17]。本试验研究结果表明,密集烘烤中下部烟叶体内的 POD、SOD、CAT 活性因烟叶成熟度和烘烤阶段而异,但高峰期基本上处于烘烤后 24~72 h 间,即变黄中期至定色前期,而在定色后期急剧下降,这与王传义等研究结果一致。此外,本研究发现不同成熟度烟叶中 3 个保护酶活性由大到小顺序整体表现为成熟>成熟>尚熟,表明了散叶烘烤中成熟烟叶和过熟烟叶体内的抗氧化酶系统能更好地保护细胞的完整性,这与王传义等认为成熟度适宜(成熟)烟叶中 SOD、POD 活性高于成熟度偏低(尚熟)烟叶的结论也是相符的,同时也与武圣江等认为成熟度适宜烟叶中保护酶活性并不一定高的结论相一致。然而需要说明的是,王传义等认为成熟度过高(完熟)烟叶体内的保护酶活性在 44℃以后迅速降低,且活性低于成熟烟叶,而本研究中完熟烟叶体内的 3 个保护酶活性均略高于成熟烟叶,直至定色中后期(48℃)才出现迅速降低的趋势。笔者推测这主要有两方面的原因:一是由于研究材料的差异造成。王传义等的研究中所采用的材料为中部烟叶,本研究中采用的材料为下部烟叶,而下部烟叶和中部烟叶的成熟度定义本身就存在差异。二是由于密集烘烤装烟方式差异引起。本研究采用的是散叶密集烘烤,在装烟量和装烟方式上与以往的密集烘烤有所不同。以往常规密集烘烤也认为下部烟叶最佳的成熟度应为尚熟至成熟^[2],而本研究采用散叶密集烘烤,证实符合该装烟方式的最佳成熟度应为成熟至完熟烟叶。以上 2 点因素也是本研究的意义所在,更加说明了针对下部烟叶研究的必要性和重要性。

在本研究中,成熟烟叶烤后质量在各个经济指标上均表现明显的优势,表明了成熟度在烟叶品质形成中的关键作用,

这一结论与前人的研究^[16,18]相一致。左天觉等甚至提出,成熟采收对烟叶质量的贡献占整个烤烟生产技术环节的 1/3^[19]。然而,密集烘烤中不同成熟度烟叶品质的形成除了与烟叶中的酶促反应有关外,还与各种成熟度烟叶的脱水干燥进程、色素(尤其是类胡萝卜素)降解速率及致香物质重新组合等密切相关^[16-17,20]。因此,为更好地了解密集烘烤中成熟度中烟叶品质形成的规律及机理,尚须进行更深入而全面的研究和解析。

参考文献:

[1] 谢已书,邹 焱,李国彬,等. 密集烤房不同装烟方式的烘烤效果[J]. 中国烟草科学,2010,31(3):67-69.

[2] 谢已书. 烤烟成熟采收与密集烘烤[M]. 贵阳:贵州科学技术出版社,2012:1-12,附录 4.

[3] Bacon C W, Raymond Wenger, Bullock J F. Chemical changes in tobacco during flue-curing[J]. Ind Eng Chem,1952,44(2):292-296.

[4] 官长荣,袁洪涛,陈江华. 烤烟烘烤过程中淀粉酶活性变化规律及色素降解规律的研究[J]. 中国烟草学报,2002,8(2):16-20.

[5] 官长荣,袁红涛,陈江华. 烘烤过程中环境湿度和烟叶水分与淀粉代谢动态[J]. 中国农业科学,2003,36(2):155-158.

[6] 刘海轮,张振平,常 丽. 烤烟成熟采收标准与质量关系的研究[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2002,30(2):32-36.

[7] 官长荣,李 巍,杨立均. 不同采收期对烤烟下部叶质量的影响[J]. 烟草科技,2002(8):39-40.

[8] 官长荣,陈江华,汪耀富. 烘烤中的膜脂过氧化作用及其对烟叶内在质量的影响[J]. 中国烟草学报,1999(3):11-16.

[9] 韩锦峰,汪耀富,林学梧,等. 烤烟叶片成熟度与细胞膜脂过氧化及体内保护酶活性关系的研究[J]. 中国烟草学报,1994(1):20-24.

[10] 宗学风,王三根. 植物生理研究技术[M]. 重庆:西南师范大学出版社,2011:166-168.

[11] 张桂莲,陈立云,张顺堂,等. 高温胁迫对水稻剑叶保护酶活性和膜透性的影响[J]. 作物学报,2006,32(9):1306-1310.

[12] 官长荣. 烟草调制学[M]. 北京:中国农业出版社,2003:1-7.

[13] Prasad T K. Mechanisms of chilling-induced oxidative stress injury and tolerance; change in antioxidant system, oxidation of proteins and lipids and protease activities[J]. Plant J, 1996, 10(6):1017-1026.

[14] 王卫峰,王松峰,陈江华,等. 装烟密度对烟叶烘烤过程中几种抗氧化酶活性的影响[J]. 植物生理学通讯,2006,42(5):817-820.

[15] 赵铭钦,刘云,卢叶,等. 不同成熟度对烤烟叶片膜脂过氧化特性的影响[J]. 江西农业学报,2010,22(4):39-42.

[16] 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.

[17] 武圣江,谢已书,潘文杰,等. 不同湿度条件下不同成熟度烤烟散叶密集烘烤生理变化研究[J]. 云南农业大学学报:自然科学版,2012,27(5):733-739.

[18] 朱尊权. 提高烤烟质量与分级标准的相互关系[J]. 烟草科技,1988(2):2-4.

[19] 左天觉,朱尊权. 烟草的生产、生理和生物化学[M]. 上海:上海远东出版社,1993:22.

[20] 瞿莹莹,韩志忠,孙福山,等. 烤烟烘烤过程中品种间的生理生化反应差异研究[J]. 中国烟草科学,2011,32(1):61-65.