

邓奕龙, 苗晓辉, 顾少龙, 等. 密集烤房变温调控对烤烟上部叶氮代谢生理的影响[J]. 江苏农业科学, 2024, 52(6): 191–198.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.06.025

# 密集烤房变温调控对烤烟上部叶氮代谢生理的影响

邓奕龙<sup>1</sup>, 苗晓辉<sup>2</sup>, 顾少龙<sup>3</sup>, 施守杰<sup>3</sup>, 张小全<sup>1</sup>, 王建安<sup>1</sup>

(1. 河南农业大学烟草学院, 河南郑州 450000; 2. 河南中烟工业有限公司, 河南郑州 450000; 3. 云南省烟草公司临沧市公司, 云南临沧 677000)

**摘要:**以云烟 87 为试验材料, 采用烘烤比较试验, 设置 3 个处理, 即 CK, 云南当地常规烘烤工艺; T1, 变温幅度  $\pm 1.0^{\circ}\text{C}$ 、变温频率 3 h; T2, 变温幅度  $\pm 1.5^{\circ}\text{C}$ 、变温频率 5 h, 探索密集烤房变温调控对烤烟上部叶氮代谢生理的影响。利用曲线估算、通径分析对烟叶可溶性蛋白质、游离氨基酸含量及氮代谢相关酶活性进行系统分析, 研究烘烤过程中变黄期变温处理对烟叶蛋白质降解机理的影响。结果表明, 2 个变温工艺处理下, 烟叶中性蛋白酶、内肽酶活性呈“M”形曲线变化, 转氨酶活性呈先升后降再升的变化趋势, 与常规工艺处理有所差异; 烘烤变黄结束时, T1 变温处理烟叶的中性蛋白酶、内肽酶、谷草转氨酶、谷丙转氨酶活性分别为 0.058 6、0.081 6、31.113 9、36.714 8 U/g, 高于或显著高于 CK、T2 处理。在变温幅度  $1^{\circ}\text{C}$  和变温频率 3 h 处理条件 (T1) 下, 对烟叶可溶性蛋白质、游离氨基酸含量影响的主要因素是谷草转氨酶、内肽酶活性; 烘烤变黄结束时, T1 变温处理下的可溶性蛋白质含量最低, 游离氨基酸含量为 380.667 9  $\mu\text{mol/g}$ , 显著高于 CK、T2 处理。对密集烤房烘烤变黄期变温幅度和变温频率进行合理调控, 有利于氮代谢相关酶活性维持较高水平, 促进蛋白质的充分降解和游离氨基酸的有效积累, 可明显影响烟叶品质。

**关键词:**烤烟; 烘烤工艺; 温度变化; 含氮化合物; 酶活性; 通径分析

**中图分类号:**TS44<sup>+</sup>1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2024)06-0191-07

含氮化合物是烤烟烟叶中的重要组分之一, 对烟叶内的能量代谢和物质转化具有调节作用<sup>[1-2]</sup>。烟叶中的主要含氮化合物为蛋白质和游离氨基酸, 对烟叶品质和烟气质量具有重要影响<sup>[3-5]</sup>。若烟叶中蛋白质含量过高, 卷烟燃吸时会产生烧焦的羽毛味、辛辣和苦涩感, 对卷烟燃烧性会产生不良影响<sup>[6-7]</sup>。在烟叶烘烤过程中, 蛋白酶能够将大部分可溶性蛋白质降解为游离氨基酸, 而这些游离氨基酸能与还原糖类发生酶促和非酶促棕色化反应, 进而产生有利于烟叶品质的香气物质<sup>[8-9]</sup>。在烟叶烘烤过程中, 合理调控烘烤工艺参数, 对协调烟叶蛋白质含量、蛋白酶活性和最终提高烟叶品质具有重要意义。李婷婷等对烤烟进行不同烘烤方式的研究, 发现烟叶中蛋白酶活性在“两炖一停”的密集烘烤条件下有明显提高; 该方法还能促进淀粉和蛋白质的降解, 从而提高烟叶的化学品质<sup>[10]</sup>。陈颐等对

烟叶烘烤过程中蛋白质含量的变化进行研究, 发现适当增加变黄期 (36~38  $^{\circ}\text{C}$ ) 的烘烤时长, 可有效保持烟叶的内肽酶活性, 极大减少不同成熟度烟叶中的蛋白质含量<sup>[11]</sup>。贺帆等研究认为, 密集烘烤低温中湿变黄处理可以显著增加烟叶的中性蛋白酶、内肽酶、转氨酶活性, 并延长它们的作用时间, 从而有助于有效降解烟叶中的蛋白质, 并促进氨基酸的合理转化<sup>[12]</sup>。烟叶中蛋白质降解的程度主要受蛋白酶活性水平的影响, 而蛋白酶活性受温湿度条件的制约; 蛋白质的降解实质上是在特定温湿度条件下, 通过相关酶的作用而产生的<sup>[13-14]</sup>。传统的普通烤房烤烟, 依靠燃煤和木材自然燃烧, 烤房内温度受燃料燃烧特性的影响, 在固定变黄温度下经常出现周期性上下浮动的变化, 与现代烤烟控制仪通过燃料鼓风机燃烧控温具有明显区别。基于此, 本试验以云南新烟区主栽品种云烟 87 的上部叶为研究对象, 针对当前阶段性温度固定的烟叶变黄方式, 在烟叶烘烤前期采用烟叶变温变黄方式, 对烟叶蛋白质降解规律及其相关酶活性的变化进行研究, 旨在为密集烤房优化上部烟叶烘烤工艺提供理论依据。

收稿日期: 2023-05-12

基金项目: 河南中烟工业有限责任公司资助项目 (编号: 2021410000340261、2022410000340099)。

作者简介: 邓奕龙 (1998—), 男, 福建三明人, 硕士研究生, 主要从事烟草调制与加工研究。E-mail: dy119980321@gmail.com。

通信作者: 王建安, 博士, 高级实验师, 主要从事烟草调制与加工研究。E-mail: wjanwyh@163.com。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于 2022 年 10 月在河南农业大学烟草实验室进行。试验取样地点位于云南沧源县(99°34'E, 23°17'N),海拔为 1 780 m,试验地土壤为砖红壤,前茬作物为玉米,土壤肥力均匀且处于中上水平。其中,烘烤变黄期月均温为 22 ℃,月均降水量为 240 mm。选取烟叶采收成熟度和叶片大小一致、烘烤特性较好的云烟 87,以顶部从上往下 3~5 叶位烟叶代表上部叶作为试验材料。试验使用 3 台自动化烟叶烘烤箱,容量为装烟叶鲜重 165~195 kg,装烟 1 100~1 300 片。根据当地烟叶成熟度,以上部叶充分成熟为采收标准,各项烤前工作在 1 d 内完成。

1.2 试验设计

采用烘烤比较试验,设置常规烘烤和变温烘烤

2 类处理,共 3 个处理,在变黄期主变黄 38 ℃的基础上进行正弦式程序变温,烘烤工艺试验处理见图 1、表 1。具体处理为:CK,当地常规烘烤工艺;T1,变温幅度  $\pm 1$  ℃、变温范围 37~39 ℃、变温频率 3 h、变温总时长 32 h;T2,变温幅度  $\pm 1.5$  ℃、变温范围 36.5~39.5 ℃、变温频率 5 h、变温总时长 31 h。当密集烤房内温度从 42 ℃开始升温进入定色期后,按照当地定色期和干筋期的烘烤工艺进行处理。烘烤过程中各处理烘烤时间分别为 0、36、48、60、72、84、96 h,共进行烟叶取样 7 次,取样后烟叶立即置于液氮中保存,后序用于含氮化合物含量和氮代谢相关酶活性的测定。取样结束后,空出的烟叶间隙用适量麻布补回,来避免由于装烟密度变化导致的干、湿球温度和烟叶间风速变化而影响烟叶的烘烤效果。

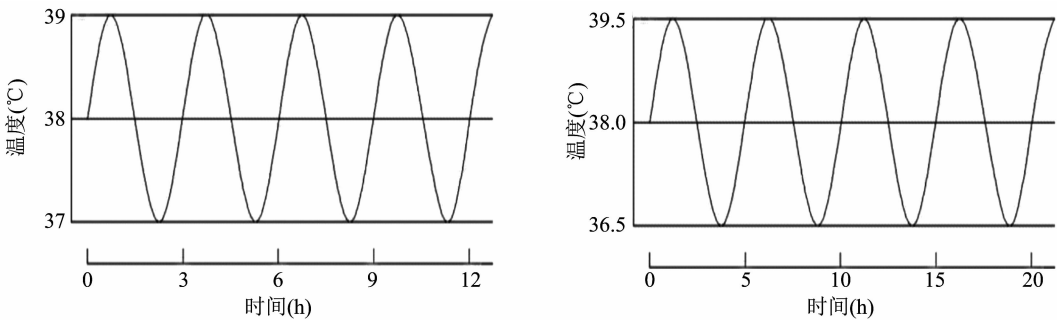


图1 烘烤工艺变温指导原则

表 1 各处理烘烤时间及其温度记录 ℃

处理	0 h	36 h	48 h	60 h	72 h	84 h	96 h
CK	26.0/23.6	37.9/35.6	38.2/35.3	38.4/35.8	40.7/35.8	41.8/36.0	43.2/35.6
T1	26.0/23.6	38.8/35.0	37.4/34.8	38.9/34.9	41.3/35.8	41.9/36.0	43.7/36.4
T2	26.0/23.6	36.9/34.9	38.6/35.1	37.9/35.1	41.4/36.3	42.0/36.0	44.3/36.1

1.3 测定项目与方法

1.3.1 含氮化合物含量的测定 可溶性蛋白质含量采用考马斯亮蓝法进行测定<sup>[15]</sup>。游离氨基酸含量采用茚三酮比色法进行测定<sup>[16]</sup>。

1.3.2 氮代谢相关酶活性的测定 中性蛋白酶活性采用中性蛋白酶活性检测试剂盒(型号 BC2295,北京索莱宝科技有限公司)进行测定。内肽酶活性采用植物内肽酶检测试剂盒(型号 YJ602258,上海酶联生物科技有限公司)进行测定,采用双抗体一步夹心法酶联免疫吸附试验(ELISA)。谷草转氨酶活性采用谷草转氨酶活性检测试剂盒(型号 BC1565,北京索莱宝科技有限公司)进行测定。谷丙转氨酶活性采用谷丙转氨酶活性检测试剂盒(型

号 BC1555,北京索莱宝科技有限公司)进行测定。

1.4 统计与数据分析

根据烟叶中可溶性蛋白质、游离氨基酸含量及中性蛋白酶、内肽酶、谷草转氨酶、谷丙转氨酶活性在不同烘烤工艺处理中的变化规律,对其使用曲线估算拟合出最优曲线,其中  $Y$  是不同工艺处理烟叶的可溶性蛋白质含量(mg/g)、游离氨基酸含量( $\mu\text{mol/g}$ )、中性蛋白酶活性(U/g)、内肽酶活性(U/mL)、谷草转氨酶活性(U/g)、谷丙转氨酶活性(U/g), $x$  是烘烤时间(h),通过  $F$  检验得到回归方程的  $P$  值均小于 0.01,达到极显著水平,表明拟合方程具有统计学意义。不同烘烤工艺处理的各指标拟合特征参数见表 2、表 3、表 4。

表 2 变温烘烤过程中烟叶含氮化合物含量的拟合特征参数

处理	含量指标	数量关系	$r^2$	$F$ 值
CK	可溶性蛋白质	$Y_1 = 2.005 - 0.009x - 0.033x^2$	0.956	349.162 **
	游离氨基酸	$Y_2 = 70.704 + 2.704x$	0.978	1 497.224 **
T1	可溶性蛋白质	$Y_3 = 2.006 - 0.015x$	0.965	918.487 **
	游离氨基酸	$Y_4 = 65.945 + 3.802x - 0.007x^2$	0.981	805.108 **
T2	可溶性蛋白质	$Y_5 = 2.004 - 0.007x - 0.053x^2$	0.965	435.607 **
	游离氨基酸	$Y_6 = 73.580 + 2.790x$	0.982	1 795.924 **

注: \* 表示显著相关( $P < 0.05$ ), \*\* 表示极显著相关( $P < 0.01$ )。表 3、表 4 同。

表 3 变温烘烤过程中烟叶中性蛋白酶和内肽酶活性的拟合特征参数

处理	活性指标	数量关系	$r^2$	$F$ 值
CK	中性蛋白酶	$Y_1 = 0.038 + 0.001x - 0.010x^2 + 0.003x^3$	0.735	28.700 **
	内肽酶	$Y_2 = 0.051 + 0.001x - 0.017x^2 + 0.001x^3$	0.817	46.069 **
T1	中性蛋白酶	$Y_3 = 0.037 - 0.005x^2$	0.841	84.928 **
	内肽酶	$Y_4 = 0.050 + 0.001x - 0.010x^2$	0.908	158.177 **
T2	中性蛋白酶	$Y_5 = 0.038 - 0.007x^2$	0.768	53.034 **
	内肽酶	$Y_6 = 0.050 + 0.001x - 0.011x^2$	0.906	154.677 **

表 4 变温烘烤过程中谷草转氨酶和谷丙转氨酶活性的拟合特征参数

处理	活性指标	数量关系	$r^2$	$F$ 值
CK	谷草转氨酶	$Y_1 = 5.386 + 0.181x$	0.754	100.877 **
	谷丙转氨酶	$Y_2 = 4.592 + 0.205x$	0.733	90.388 **
T1	谷草转氨酶	$Y_3 = 4.853 + 0.106x + 0.002x^2$	0.906	154.865 **
	谷丙转氨酶	$Y_4 = 2.911 + 0.316x$	0.859	201.080 **
T2	谷草转氨酶	$Y_5 = 4.059 + 0.199x$	0.827	157.215 **
	谷丙转氨酶	$Y_6 = 3.817 + 0.239x$	0.853	191.087 **

采用 Excel 2016、DPS 7.05、SPSS 26.0 进行数据处理、绘图和统计分析。

2 结果与分析

2.1 变温烘烤过程中烟叶含氮化合物含量变化

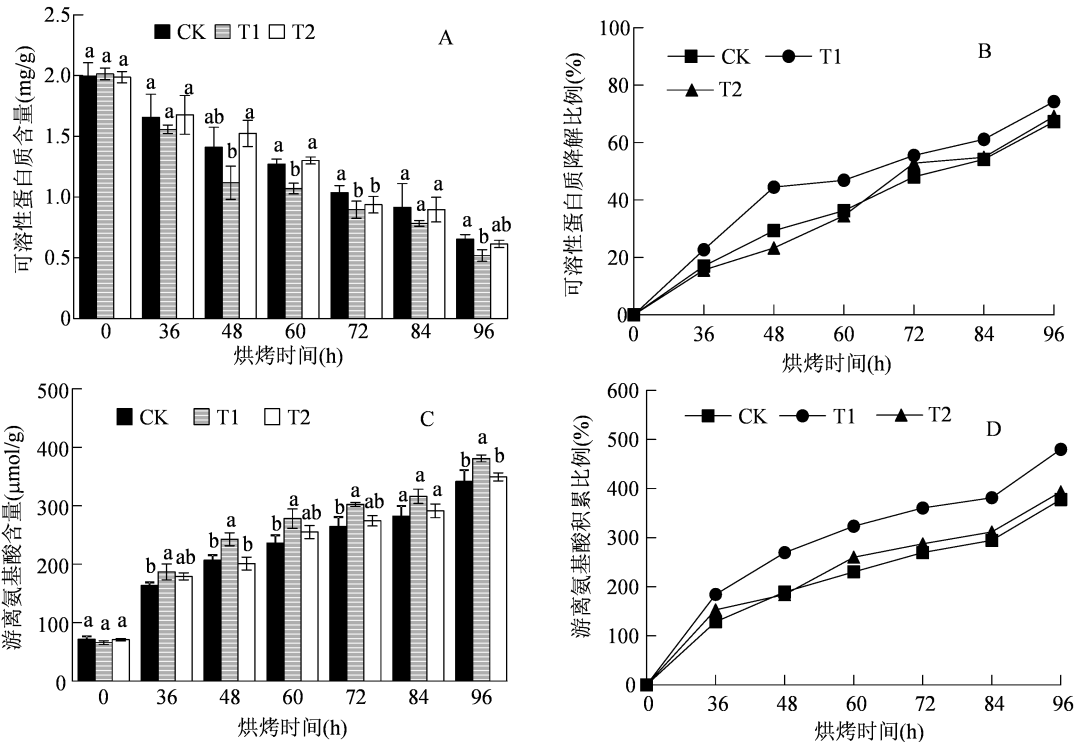
2.1.1 可溶性蛋白质含量变化 3 种工艺处理烘烤过程中,烟叶中可溶性蛋白质含量均呈逐渐降低的变化规律。由图 2 - A 可知,烟叶中可溶性蛋白质的降解速率在烘烤过程中表现为“快 - 慢”的变化规律。烟叶烘烤变黄结束时,T1 工艺处理的烟叶可溶性蛋白质含量最低,显著低于 CK。由图 2 - B 可知,烟叶中可溶性蛋白质降解比例均呈持续升高的变化规律,T1 工艺处理的可溶性蛋白质降解比例整体上均高于 CK、T2。T1 变黄处理条件下,可溶性蛋白质降解程度均高于 CK、T2 工艺处理。因此,T1 工艺处理能够有效地促进烟叶中可溶性蛋白质的

降解。

2.1.2 游离氨基酸含量变化 3 种工艺处理烘烤过程中,烟叶的游离氨基酸含量均不断增加,但上升程度有所差异。由图 2 - C 可知,变黄期变温处理对烟叶游离氨基酸含量的影响显著。烟叶烘烤变黄结束时,T1 工艺处理的烟叶游离氨基酸含量最高,显著高于其他处理。由图 2 - D 可知,烟叶中游离氨基酸积累比例均呈“快—慢—快”持续增加的变化规律,T1 工艺处理的烟叶游离氨基酸积累比例整体上均高于 CK、T2。由此可见,变黄期 T1 变温处理更有利于烟叶中游离氨基酸的积累。

2.2 变温烘烤过程中烟叶氮代谢相关酶活性的变化

2.2.1 中性蛋白酶活性的变化 由图 3 - A 可知,烘烤过程中,CK 处理烟叶的中性蛋白酶活性呈先升后降再升而后又降的“三波峰曲线”,T1、T2 处理



柱上不同小写字母表示同一烘烤时间下处理间差异显著( $P < 0.05$ )。图 3、图 4 同  
图 2 变温烘烤过程中烟叶含氮化合物含量的变化

则基本一致呈现出先升后降的“M”形变化趋势。在烟叶的烘烤过程中,2 个变温工艺处理使得烟叶的中性蛋白酶活性出现高峰的时间比 CK 处理更晚;且 CK 处理变黄前期中性蛋白酶活性大于 2 个变温处理。烘烤变黄结束时,各工艺处理下烟叶的中性蛋白酶活性表现为  $T1 > T2 > CK$ ,其中 T1 处理烟叶的中性蛋白酶活性显著大于 CK。由此可见,T1 变温工艺处理对烟叶的中性蛋白酶活性具有显著影响,有利于大分子蛋白质物质的降解。

**2.2.2 内肽酶活性变化** 烘烤过程中烟叶内肽酶活性的分析结果(图 3 - B)表明,内肽酶活性表现出的变化规律与中性蛋白酶活性具有一定相似性。变黄前期烘烤过程中,各工艺处理下烟叶内肽酶活

性均在 0 ~ 36 h 迅速升高,2 个变温处理下内肽酶活性的第 1 个高峰晚于 CK,且内肽酶活性均在 36 h 显著低于 CK。T1 变温处理的第 2 个内肽酶活性高峰出现在变黄 72 h 时,此时内肽酶活性与其他 2 个处理存在显著性差异。烘烤变黄结束时,各工艺处理的烟叶内肽酶活性表现为  $T1 > T2 > CK$ ,且 T1 处理的烟叶内肽酶活性显著大于 CK、T2。由此可见,T1 变温工艺处理对烟叶内肽酶活性具有显著影响,有利于大分子蛋白质物质的降解和游离氨基酸的积累。

**2.2.3 谷草转氨酶活性的变化** 由图 4 - A 可知,T1、T2 变温处理的烟叶谷草转氨酶活性呈先升后降而后又升的变化趋势,CK 处理的烟叶谷草转氨酶

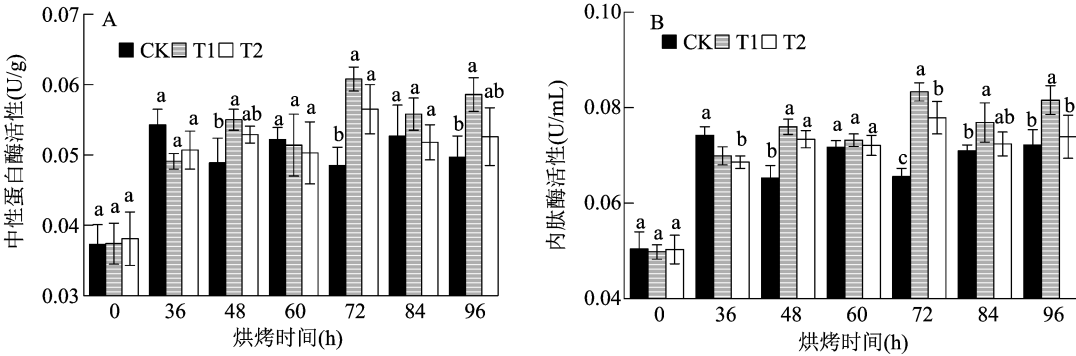


图 3 变温烘烤过程中烟叶中性蛋白酶和内肽酶活性变化

活性则呈先升后降再升而后再降的“M”形变化趋势。2 个变温处理的烟叶谷草转氨酶活性在变黄前期整体上低于 CK 处理,在 72 h 时酶活性迅速上升。烘烤变黄期结束时,T1 变温处理的烟叶谷草转氨酶活性显著高于其他处理。

2.2.4 谷丙转氨酶活性变化 烘烤过程中烟叶谷丙转氨酶活性的分析结果(图 4-B)表明,谷丙转

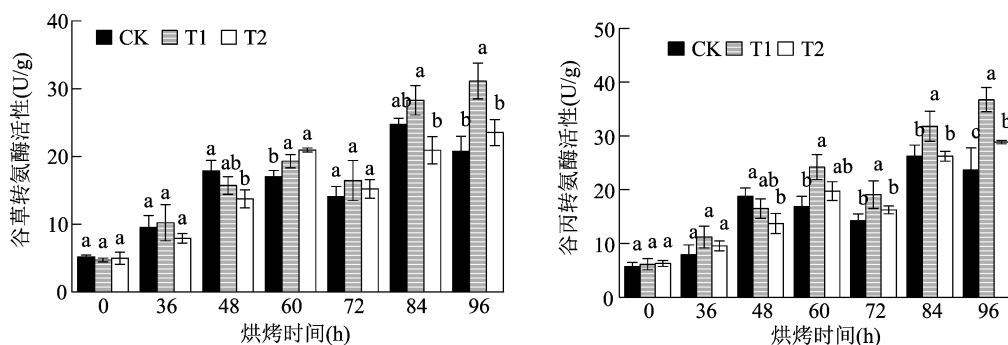


图4 变温烘烤过程中谷草转氨酶和谷丙转氨酶活性变化

2.3 变温烘烤过程中烟叶氮代谢物质含量与相关酶活性的通径分析

2.3.1 可溶性蛋白质含量与相关酶活性的通径分析 为研究烘烤变黄过程中烟叶的中性蛋白酶、内肽酶、谷草转氨酶、谷丙转氨酶活性对可溶性蛋白质含量变化的具体影响,对其进行通径分析,结果表明不同工艺处理下,烟叶各酶活性因素与可溶性蛋白质含量变化均为负相关关系。由表 5 可知,CK 处理的各类酶活性因素与可溶性蛋白质含量的相关系数绝对值表现为谷丙转氨酶 > 谷草转氨酶 > 内肽酶 > 中性蛋白酶,谷丙转氨酶活性对可溶性蛋白质含量变化的直接影响最大,其余酶活性因素的直接影响相对较小。T1 变温处理的各类酶活性因素与可溶性蛋白质含量的相关系数绝对值表现为谷草转氨酶 > 谷丙转氨酶 > 内肽酶 > 中性蛋白酶,谷草转氨酶活性对可溶性蛋白质含量变化的直接影响大于内肽酶;说明随着烘烤变黄期的推进,谷草转氨酶活性对可溶性蛋白质含量变化处于主导地位。T2 变温处理的各类酶活性因素与可溶性蛋白质含量变化的相关系数绝对值表现为谷丙转氨酶 > 谷草转氨酶 > 内肽酶 > 中性蛋白酶,其中谷丙转氨酶活性对烟叶可溶性蛋白质含量的直接影响最大,对可溶性蛋白质的降解起到重要作用。

2.3.2 游离氨基酸含量与相关酶活性的通径分析 为研究烘烤变黄过程中烟叶的中性蛋白酶、内肽酶、谷草转氨酶、谷丙转氨酶活性对游离氨基酸含

量变化的具体影响,对其进行通径分析,结果表明不同工艺处理下,烟叶的各类酶活性因素与游离氨基酸变化均为正相关关系。由表 6 可知,CK 处理的各类酶活性因素与游离氨基酸含量的相关系数表现为谷草转氨酶 > 谷丙转氨酶 > 内肽酶 > 中性蛋白酶,其中谷丙转氨酶活性对游离氨基酸含量变化的直接作用最大,谷草转氨酶通过谷丙转氨酶对游离氨基酸的间接影响作用最大。T1 处理的各类酶活性因素与游离氨基酸含量的相关系数表现为谷草转氨酶 > 内肽酶 > 谷丙转氨酶 > 中性蛋白酶,其中内肽酶活性对游离氨基酸含量变化具有较大的直接影响,中性蛋白酶活性对游离氨基酸含量变化的总间接影响作用最大。T2 变温处理的各类酶活性与游离氨基酸含量变化的相关系数表现与对可溶性蛋白质含量的表现一致,谷丙转氨酶活性对游离氨基酸含量变化影响的直接作用大于内肽酶,处于主导地位,而谷草转氨酶活性在游离氨基酸的积累过程中起到很大程度上的间接影响。

### 3 讨论与结论

烟叶烘烤是一种处理烟叶的方法,可以通过在人为调控,在特定环境中对烟叶进行干燥和生理生化变化处理,以彰显烟叶的质量特色。变黄期是淀粉、蛋白质和色素等大分子物质降解最为关键的时期,烟叶内的物质反应在该过程中最为强烈<sup>[17-19]</sup>。烘烤后烟叶中残留的蛋白质会对烟叶的色、香、味

表 5 氮代谢相关酶活性对可溶性蛋白质含量影响的通径分析

处理	指标	相关系数	间接通径系数				
			中性蛋白酶活性	内肽酶活性	谷草转氨酶活性	谷丙转氨酶活性	总计
CK	中性蛋白酶活性	-0.515 0	<u>-0.165 3</u>	-0.159 4	0.402 8	-0.593 1	-0.349 7
	内肽酶活性	-0.600 8	-0.150 9	<u>-0.174 5</u>	0.452 7	-0.728 1	-0.426 4
	谷草转氨酶活性	-0.819 3	-0.087 5	-0.103 8	<u>0.760 6</u>	-1.388 5	-1.579 8
	谷丙转氨酶活性	-0.826 4	-0.069 3	-0.089 8	0.746 8	<u>-1.414 1</u>	0.587 7
T1	中性蛋白酶活性	-0.883 1	<u>-0.161 9</u>	-0.324 5	-0.286 0	-0.110 6	-0.721 1
	内肽酶活性	-0.891 9	-0.154 6	<u>-0.339 8</u>	-0.287 2	-0.110 2	-0.552 0
	谷草转氨酶活性	-0.918 3	-0.114 3	-0.241 0	<u>-0.405 1</u>	-0.157 9	-0.513 2
	谷丙转氨酶活性	-0.904 6	-0.111 7	-0.233 5	-0.399 0	<u>-0.160 3</u>	-0.744 2
T2	中性蛋白酶活性	-0.647 5	<u>-0.007 7</u>	-0.312 5	0.275 3	-0.602 6	-0.639 8
	内肽酶活性	-0.719 7	-0.006 7	<u>-0.360 4</u>	0.353 6	-0.706 3	-0.359 4
	谷草转氨酶活性	-0.861 0	-0.004 1	-0.246 1	<u>0.517 7</u>	-1.128 5	-1.378 8
	谷丙转氨酶活性	-0.913 8	-0.003 9	-0.214 3	0.492 0	<u>-1.187 5</u>	0.273 8

注:表中标有下划线的数据为直接通径系数。表 6 同。

表 6 氮代谢相关酶活性对游离氨基酸含量影响的通径分析

处理	指标	相关系数	间接通径系数				
			中性蛋白酶活性	内肽酶活性	谷草转氨酶活性	谷丙转氨酶活性	总计
CK	中性蛋白酶活性	0.579 7	<u>0.105 5</u>	0.278 5	-0.317 5	0.513 2	0.474 2
	内肽酶活性	0.674 4	0.096 3	<u>0.304 9</u>	-0.356 8	0.629 9	0.369 5
	谷草转氨酶活性	0.839 1	0.055 8	0.181 5	<u>-0.599 5</u>	1.201 3	1.438 6
	谷丙转氨酶活性	0.836 0	0.044 2	0.157 0	-0.588 7	<u>1.223 4</u>	-0.387 4
T1	中性蛋白酶活性	0.891 6	<u>0.061 2</u>	0.456 5	0.094 2	0.279 7	0.830 4
	内肽酶活性	0.909 6	0.058 4	<u>0.478 1</u>	0.094 6	0.278 5	0.431 5
	谷草转氨酶活性	0.914 8	0.043 2	0.339 0	<u>0.133 4</u>	0.399 3	0.781 5
	谷丙转氨酶活性	0.907 4	0.042 2	0.328 5	0.131 4	<u>0.405 3</u>	0.502 1
T2	中性蛋白酶活性	0.733 6	<u>0.119 7</u>	0.276 7	-0.044 5	0.381 7	0.613 8
	内肽酶活性	0.813 1	0.103 8	<u>0.319 1</u>	-0.057 2	0.447 4	0.494 0
	谷草转氨酶活性	0.912 7	0.063 7	0.217 9	<u>-0.083 7</u>	0.714 8	0.996 4
	谷丙转氨酶活性	0.923 1	0.060 8	0.189 8	-0.079 6	<u>0.752 2</u>	0.171 0

产生不利影响,蛋白质的降解情况是评估烟叶质量的一个重要方面。在烟叶烘烤过程中,氮代谢相关酶的活性变化直接决定蛋白质的降解程度<sup>[20-21]</sup>。因此,在密集烘烤过程中须精准控制温湿度等环境参数,以确保烟叶质量达到最佳状态。本试验结果表明,不同烘烤工艺处理条件下,烟叶的可溶性蛋白质、游离氨基酸含量及氮代谢相关酶活性的变化规律在整体上具有相似性。可溶性蛋白质在变黄期不断降解,游离氨基酸活性与可溶性蛋白质含量表现出相互制约的关系,并且呈逐渐增加的变化规律,这与陈颐等的研究结果<sup>[11,22]</sup>一致。

本试验结果表明,烘烤过程中 CK 处理烟叶的中性蛋白酶活性呈先升后降再升而后又降的“三波峰曲线”,这与艾复清等的研究结果<sup>[23]</sup>不一致,可能

与当地烘烤工艺、烤烟品种、装烟容量等不一致有关。T1、T2 变温处理条件下,烟叶的中性蛋白酶活性变化与艾复清等的研究结果<sup>[23]</sup>基本一致。内肽酶、中性蛋白酶活性的变化趋势相互吻合,这与贺帆等的研究结果<sup>[12]</sup>一致。谷草转氨酶、谷丙转氨酶活性在变黄烘烤过程中的变化趋势整体上基本一致,其中 CK 处理下呈先升后降再升而后又降的“M”形变化趋势;而 T1、T2 变温处理条件下转氨酶活性在变黄期并未表现出“M”形的变化趋势,且转氨酶活性高峰出现时间晚于 CK 处理,这可能是由于 2 个变温工艺处理处于变温初始阶段,控制器干球温度升高,烟叶水分散失较多,膜脂过氧化作用较强,烟叶转氨酶失活较快引起。变黄阶段的温湿度条件对烘烤过程中烟叶氮代谢相关酶类的活性

产生显著影响,适宜的温湿度条件可使烟叶处于氧化还原的平衡状态,从而有利于提高氮代谢相关酶类的活性,促使烟叶中大分子含氮化合物充分降解<sup>[24-25]</sup>。T1、T2 这 2 个变温工艺处理下,烟叶氮代谢相关酶活性在变黄初期低于 CK 处理,这是由于在变温初始阶段,干球温度升高,不利于烟叶内酶活性维持较高水平,此时可溶性蛋白质降解程度小,游离氨基酸积累量较少。当变温工艺处理在 38 ℃ 的基础上开始降温,引起烤房干球温度降低,使烟叶酶活性表达量达到较高水平,此时烟叶中蛋白质等含氮大分子化合物降解程度大,游离氨基酸积累量较多。李常军等的研究结果也表明,在较高温度条件下烘烤变黄,烟叶蛋白酶活性散失迅速,导致蛋白质降解速度减慢,降解量也相应减少;同时,氨基酸的积累速度和积累量也会受到极大影响<sup>[26-27]</sup>。T1 变温处理的游离氨基酸含量在大部分时期高于 T2,这可能是由于 T2 变温处理在降温过程中温度降至过低,升温过程中温度升至过高,使烟叶内各类酶活性处于不适宜温度环境中,致使可溶性蛋白质降解速率和程度变小,游离氨基酸积累量少。王爱华等的研究结果也表明,烟叶内部的各种物质变化反应受适宜范围内温度的影响,主要酶类的活性和作用时间也是如此,从而对大分子物质的降解产生影响<sup>[28]</sup>。

在云南当地常规烘烤工艺主变黄温度 38 ℃ 的基础上,通过设置不同变温幅度和变温频率,对变黄期烟叶进行 2 个变温处理。本试验认为,对密集烤房烘烤变黄期变温幅度和变温频率进行合理调控,可明显影响烟叶品质。在变温幅度为  $\pm 1$  ℃ 和变温频率为 3 h 的处理条件(T1)下,烟叶的中性蛋白酶、内肽酶、转氨酶活性保持较高水平,并且存在相对较长的作用时间,这有利于烟叶可溶性蛋白质的降解和游离氨基酸的积累,对烟叶品质的形成具有重要作用。有关密集烤房烘烤过程中烟叶氮代谢酶相关基因表达,还有待进一步研究。

#### 参考文献:

- [1]冯新维,黄莺,陈东,等. 烤烟氮代谢研究进展[J]. 分子植物育种,2022,7(2):1-26.
- [2]杜国华,张立军,樊金娟,等. 高等植物蛋白质的特异性降解系统[J]. 分子植物育种,2010,8(3):567-576.
- [3]邓世媛,谢晋,周立非,等. 精量施氮对烤烟成熟期叶片碳氮代谢的影响[J]. 烟草科技,2013,46(9):76-81.
- [4]梁太波,尹启生,张艳玲,等. 施用纳米碳对烤烟氮素吸收和利用的影响[J]. 生态学报,2014,34(6):1429-1435.
- [5]Lei B, Chang W, Zhao H N, et al. Nitrogen application and differences in leaf number retained after topping affect the tobacco (*Nicotiana tabacum*) transcriptome and metabolome[J]. BMC Plant Biology,2022,22(1):38.
- [6]官长荣. 烟草调制学[M]. 2 版. 北京:中国农业出版社,2011:186-194.
- [7]姚光明. 降低烟叶中蛋白质含量的研究[J]. 烟草科技,2000,33(9):6-8.
- [8]陈颐,杨佳玫,王玉平,等. 贵州不同仓贮环境对醇化片烟蛋白质及氨基酸含量的影响[J]. 中国烟草科学,2016,37(6):82-89.
- [9]Jutras P V, Goulet M C, Lavoie P O, et al. Recombinant protein susceptibility to proteolysis in the plant cell secretory pathway is pH-dependent[J]. Plant Biotechnology Journal, 2018, 16(11):1928-1938.
- [10]李婷婷,陆新莉,苟正贵,等. 烘烤方式对烤烟蛋白酶和淀粉酶活性及化学成分的影响[J]. 山地农业生物学报,2018,37(3):69-73.
- [11]陈颐,张笑,杨志怀,等. 烟叶烘烤过程中蛋白质的降解及相关酶活性的变化[J]. 中国烟草学报,2019,25(5):70-76.
- [12]贺帆,王涛,王战义,等. 变黄期不同温湿度对烘烤中烟叶蛋白质降解及酶活性的影响[J]. 中国烟草学报,2014,20(5):80-86.
- [13]李常军,官长荣,肖鹏,等. 施氮水平和烘烤条件对烤后烟叶品质和含氮组分的影响[J]. 中国烟草科学,2001,22(1):4-7.
- [14]Masclaux C, Valadier M H, Brugière N, et al. Characterization of the sink/source transition in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) shoots in relation to nitrogen management and leaf senescence[J]. Planta, 2000,211(4):510-518.
- [15]陈美林,陈业,张玉婷,等. 衰减全反射中红外光谱测定马铃薯中可溶性蛋白含量[J]. 中国粮油学报,2018,33(12):118-126.
- [16]Wang N F, Zhang X J, Wang S W, et al. Structural characterisation and immunomodulatory activity of polysaccharides from white asparagus skin[J]. Carbohydrate Polymers,2020,227:115314.
- [17]He X, Liu T X, Ren K, et al. Salicylic acid effects on flue-cured tobacco quality and curing characteristics during harvesting and curing in cold-stressed fields[J]. Frontiers in Plant Science, 2020,11:580597.
- [18]王涛,贺帆,田斌强,等. 密集烘烤过程中烤烟上部叶淀粉颗粒结构与酶解力变化[J]. 中国农业科学,2012,45(13):2704-2710.
- [19]高相彬,宗胜杰,孟智勇,等. 变黄期温湿度对豫烟 10 号碳代谢及烤后品质的影响[J]. 西南农业学报,2019,32(10):2454-2458.
- [20]王松峰,王爱华,王金亮,等. 密集烘烤定色期升温速度对烤烟生理生化特性及品质的影响[J]. 中国烟草科学,2012,33(6):48-53.
- [21]Chen Y J, Zhou J F, Ren K, et al. Effects of enzymatic browning

郭绍雷,许建兰,张斌斌,等. 基于广泛靶向代谢组的桃果实衰老软化过程差异代谢物筛选与鉴定[J]. 江苏农业科学,2024,52(6):198-205.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.06.026

# 基于广泛靶向代谢组的桃果实衰老软化过程 差异代谢物筛选与鉴定

郭绍雷,许建兰,张斌斌,张好艳,沈志军,马瑞娟,俞明亮

(江苏省农业科学院果树研究所/江苏省高效园艺作物遗传改良重点实验室,江苏南京 210014)

**摘要:**筛选与鉴定参与调控桃果实采后贮藏过程衰老软化相关代谢物质,以深入了解桃果实采后衰老软化相关生理生化机制。常温贮藏条件下,萘乙酸处理可加速霞晖 8 号七成熟桃果实衰老软化,采用超高液相色谱串联质谱技术,检测桃果实贮藏 0、3、6 d 代谢物质的变化,选取差异倍数(≥2 或≤0.5),采用正交偏最小二乘判别分析模型所获得的变量重要性投影值(≥1)的代谢物为差异代谢物。结果表明,在霞晖 8 号桃果实 5 组样品中共检测到 816 种代谢物,可被分为 11 类,其中检测到酚酸类物质 160 种,占比最高。通过比较在各分组中代谢物定量信息的差异倍数变化前 10 的代谢物,结合 KEGG 信号通路的差异代谢物聚类分析,筛选并鉴定到可能参与桃果实软化的各种代谢物 29 种,其中脂质与酚酸类物质鉴定到最多,各有 7 种。

**关键词:**桃果实;衰老软化;代谢组;差异代谢物

**中图分类号:**S662.101 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2024)06-0198-08

桃[ (*Prunus persica* L.) Batsch ]原产于中国,在世界多地广泛栽种,依据联合国粮食及农业组织统计( <https://www.fao.org/faostat/zh/#data/QCL> ),2021 年我国桃栽培面积和产量占全球比重超过 50%,均位列世界第一。然而,桃是典型的呼吸跃变型水果。常温下,成熟桃果实软化迅速,不方便采

运,货架期较短,果实易损耗<sup>[1]</sup>,造成重大经济损失,是制约我国桃产业进一步发展的因素之一。桃果实衰老软化相关机理的探究,将为桃果实采后保鲜技术的进步及耐贮新品种的选育提供理论依据。

乙烯的生物合成和信号转导,以及下游的细胞壁降解,是存在于果实衰老软化中的复杂生理生化过程<sup>[2-4]</sup>。研究表明,乙烯可通过调控木葡聚糖内糖基转移酶/水解酶、 $\beta$ -半乳糖苷酶、果胶甲酯酶以及多聚半乳糖醛酸酶等细胞壁降解相关酶活性,参与调控果实衰老软化<sup>[5-7]</sup>。还有研究表明,包括 MADS-box、NAC、ERF 等在内的转录因子,可通过调控乙烯生物合成或信号转导,影响果实衰老软化进程<sup>[8-9]</sup>。在桃果实中,多聚半乳糖醛酸酶是决定果实衰老软化进程的主要因素之一,通过外源乙烯

收稿日期:2023-10-23

基金项目:现代农业产业技术体系建设专项(编号:CARS-30);江苏省种业振兴“揭榜挂帅”项目(编号:JBGS[2021]082)。

作者简介:郭绍雷(1988—),男,山东郯城人,博士,助理研究员,主要从事桃种质资源与新品种选育工作。E-mail:guoshaolei0305@126.com。

通信作者:俞明亮,博士,研究员,主要从事桃种质资源与新品种选育工作。E-mail:mly@jaas.ac.cn。

reaction on the usability of tobacco leaves and identification of components of reaction products [J]. Scientific Reports, 2019, 9:17850.

[22]王万能,项钢燎,翟羽晨,等. 烤烟烟叶烘烤中蛋白质的降解动态变化规律研究[J]. 浙江农业学报,2017,29(12):2120-2127.

[23]艾复清,陈丽萍,韦 谊. 烟叶烘烤过程中蛋白酶活性及蛋白质变化规律[J]. 贵州农业科学,2010,38(2):42-43,47.

[24]宫长荣,刘 霞,王卫峰. 密集烘烤温湿度条件对烟叶生理生化特性和品质的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2007,35(6):77-82,88.

[25]Zong J J,He X A,Lin Z L,et al. Effect of two drying methods on chemical transformations in flue-cured tobacco [J]. Drying Technology,2022,40(1):188-196.

[26]李常军,宫长荣,周义和,等. 烤烟烘烤过程中变黄温度对氮素代谢的影响[J]. 中国烟草学报,2001,7(2):31-35.

[27]赵高坤,任 可,陈妍洁,等. 不同成熟度烟叶烘烤过程中大分子物质代谢动态研究[J]. 西南农业学报,2020,33(9):1950-1957.

[28]王爱华,徐秀红,王松峰,等. 变黄温度对烤烟烘烤过程中生理指标及烤后质量的影响[J]. 中国烟草学报,2008,14(1):27-31.