

陈化期间不同地区烤烟叶片中酶活性变化研究

赵铭钦¹, 王付锋¹, 张志逢¹, 陈秋会²

(1. 河南农业大学 烟草学院 河南 郑州 450002; 2. 浙江大学 环境与资源学院, 浙江 杭州 310029)

摘要:探索在河南气候条件下陈化的不同地区烤烟中多酚氧化酶(PPO)、过氧化物酶(POD)、脂氧合酶(LOX)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的变化规律。结果表明:(1)在不同陈化阶段,国内4个烟区烟叶中各酶活性表现为在烟叶陈化初期呈现逐渐增加的趋势,到陈化6个月或者9个月时酶活性达到最大值,之后酶活性逐渐降低。(2)在24个月的陈化进程中,各地区的烟叶中4种酶的酶活均较其陈化初始降幅有所不同,其中湖南烟区烤烟过氧化物酶和苯丙氨酸解氨酶活性降低幅度最大,分别约为77.01%和14.15%;多酚氧化酶则以云南烟叶降幅最大,为66.67%;贵州烟叶的脂氧合酶活性降低最多,为68.93%。(3)津巴布韦烟区烤烟各酶活在15~39个月时逐渐降低,且活性相对较低,以脂氧合酶活性降幅最大。

关键词:烤烟;陈化;酶活性

中图分类号:S572.01 文献标识码:A 文章编号:1000-2286(2010)01-0015-05

A Study on the Enzymatic Activity in Flue-cured Tobacco Leaf in Different Areas during the Aging Stage

ZHAO Ming-qin¹, WANG Fu-feng¹, ZHANG Zhi-feng¹, CHEN Qiu-hui²

(1. College of Tobacco Science, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China; 2. College of Environment and Resources, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract: In order to explore the changing laws of the activity of the polyphenol oxidase, peroxidase, lipoxygenase and phenylalanine ammonia-lyase in the flue-cured tobacco leaves during the aging stage in different areas under the Henan atmosphere condition. The results showed that: (1) at different aging times, the activity of every enzyme gradually increased in the beginning period, and the amount peaked at the aging of the 6th or 9th months, then diminished gradually; (2) the activities of enzymes in different areas had different decreasing amplitudes during the 24 months course of aging, the decreasing amplitudes of the activity of POD and PAL were the largest in Hunan area, they decreased by 77.01% and 4.15% respectively; the activity of PPO in Yunnan area had the largest decreasing amplitude, and reached 66.67%; the activity of LOX in the flue-cured tobacco leaves in Guizhou had the largest decreasing amplitude (68.93%); (3) the activity of every enzyme in the flue-cured tobacco leaves in Zimbabwe decreased gradually during the 15th stage from the to the 39th months and the activity was comparatively lower, especially the activity of LOX had the largest decreasing amplitude.

Key words: flue-cured tobacco; aging; enzyme activity

收稿日期:2009-09-22 修回日期:2009-11-09

基金项目:吉林烟草工业有限责任公司重大科技攻关资助项目(JY2006012)

作者简介:赵铭钦(1964-),男,教授,主要从事烟草化学、烟草发酵与烟草加工工艺研究, E-mail:mqzhao999@tom.com。

烟叶陈化是卷烟加工过程中改善烟叶香吃味品质关键环节之一。由于当年采收调制的新烟叶都存在不同程度的缺点,如香气粗糙,青杂气、土杂气较重,刺激性大,吸味辛辣,烟气不够细腻等,不宜直接用于制造卷烟,必须经过适当的自然陈化以促进烟叶内在化学成分的降解转化,提高烟叶香吃味质量,从而达到符合卷烟工业及消费者对吸食品质的要求^[1-3]。

酶类在陈化过程中的作用是烟叶陈化的机理之一^[4],是提高烟叶发酵质量的动力。在烤烟陈化期间,烟叶中多种物质在酶类的作用下氧化分解形成重要的香气成分。多酚氧化酶、过氧化物酶、脂氧合酶、苯丙氨酸裂解酶是烟叶中几种主要的酶类,对促进烟叶发酵进程、提高烟叶品质具有积极作用。前人^[5-11]曾对烟叶陈化期间的酶活性进行了研究,但对不同地区烤烟在陈化期间酶活性的变化规律尚未见报道。针对这一问题,笔者研究了不同地区烤烟在陈化过程中多酚氧化酶、过氧化物酶、脂氧合酶、苯丙氨酸裂解酶活性的变化,旨在为进一步丰富烟叶陈化理论、完善烟叶陈化技术提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

于 2005 年 10 月~2007 年 10 月进行,分别选用 2005 年产河南、云南、湖南、贵州和 2004 年产津巴布韦复烤片烟为供试材料,等级为 C₃F,每产地烟叶选取 25 kg。

1.2 取样方法和管理

烟叶样品用纸箱包装存放于河南农业大学科技园。在陈化过程中每隔 3 个月取样 1 次,用于酶活性的测定。在烟叶陈化过程中,注意控制烟叶的含水量和烟包温度,经常对烟包进行检查。在多雨和高温季节 5~7 d 检查 1 次,其它季节半个月检查 1 次。为防止霉变和生虫,应及时进行熏蒸和通风。在烟叶自然陈化过程中,采用干湿球温度计定期测定烟叶陈化仓库环境的温湿度条件(表 1)。

1.3 测定方法

多酚氧化酶、过氧化物酶采用朱广廉^[12]的方法测定;脂氧合酶采用宫长荣等^[13]的方法测定;苯丙氨酸裂解酶采用张志良等^[14]的方法测定。

2 结果与分析

2.1 不同地区烤烟烟叶在陈化过程中过氧化物酶活性的动态变化

对陈化过程中过氧化物酶的测定结果(图 1)显示,在不同陈化时期,烤烟烟叶中过氧化物酶仍具有一定的酶活性,并随陈化时间的延长,国内烤烟烟叶在陈化过程中过氧化物酶活性呈先上升后下降的趋势,在 6 个月时活性值最高,其中湖南烟叶的酶活性上升幅度最大,达 73.42%。至 18 个月时河南烟叶 POD 活性下降速率趋于平缓,云南、贵州烟叶酶活性至 21 个月时有所缓慢,湖南烟叶酶活性则在 24 个月时较最高值降低幅度最大,约为 86.74%。在陈化 24 个月时,各地烤烟烟叶酶活性较初始均有所下降,湖南烟叶酶活性下降了 77.01%,其次是河南、贵州、云南烟叶,酶活性分别下降 64.94%、60.42%、53.70%。津巴布韦烟叶的 POD 活性在陈化期间一直较低,陈化 39 个月时活性较陈化 15 个月时降低 42.8%。

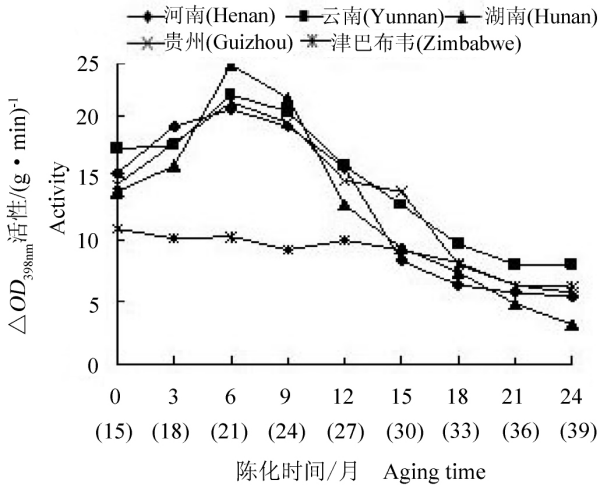
2.2 不同地区烤烟烟叶在陈化过程中多酚氧化酶活性的动态变化

多酚氧化酶是一类广泛存在于植物体内的含铜氧化还原酶^[1]。由于它与许多农产品及工业原料的加工、贮藏等密切相关,并影响其品质、色泽和口感,人们很早就开始对它进行深入细致的研究^[15-16]。

表 1 烟叶陈化仓库环境温湿度测定结果

Tab. 1 The result of the temperature and humidity measurements in the aging tobacco warehouse environment

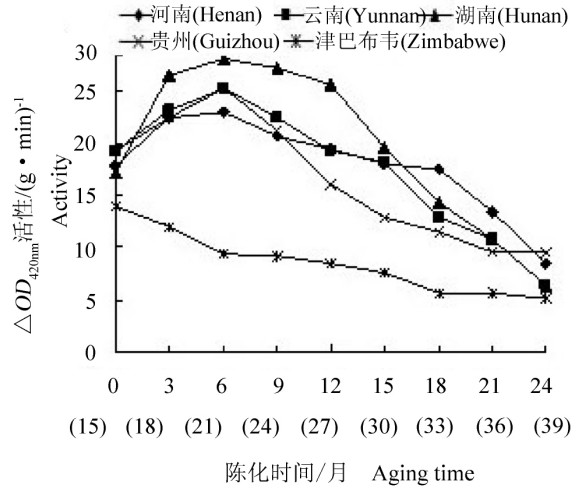
月份 Month	温度/℃ Temperature	相对湿度/% Humidity
1	5.3	55.3
2	11.6	53.6
3	16.8	57.4
4	22.9	62.7
5	27.6	65.3
6	29.8	66.6
7	30.9	71.3
8	32.1	69.4
9	25.5	68.5
10	19.7	63.8
11	11.5	60.2
12	7.0	46.7
年平均	20.1	61.7



括号内的数字为津巴布韦烟叶陈化时间。

图 1 不同地区烤烟在陈化过程中 POD 的变化

Fig.1 Changes of POD during the aging stage in different areas



括号内的数字为津巴布韦烟叶陈化时间。

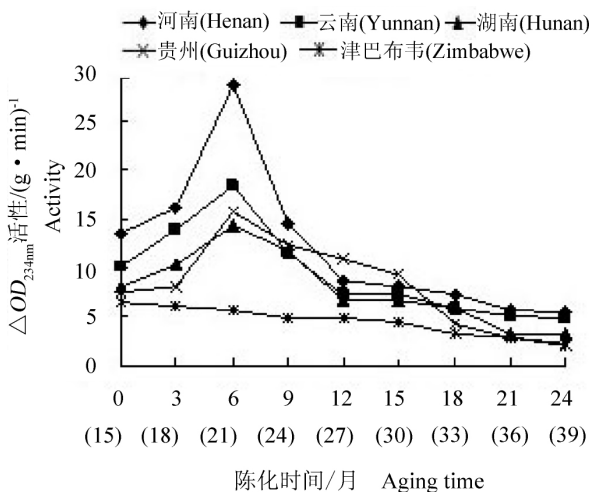
图 2 不同地区烤烟在陈化过程中 PPO 的变化

Fig.2 Changes of PPO during the aging stage in different areas

由图 2 可知,随着陈化进程的推进,国内烟区烤烟 PPO 活性呈现“升-降”趋势,在 6 个月时升至最高值,其中湖南烟叶在 6 个月时 PPO 活性较其它地区高,比陈化初始升高约 62.79%;河南烟叶则上升幅度较小(29.21%),之后有较大幅度的下降;在 24 个月时,湖南烟叶酶活性降幅最大,约为 77.14%;贵州烟叶酶活性在 21 个月时降速有所缓慢。不同地区烟叶 PPO 活性在 24 个月的陈化过程中,云南烟叶酶活性较未陈化时降低最大,达 66.67%;津巴布韦烤烟在陈化过程中 PPO 活性下降了 63.57%。

2.3 不同地区烤烟烟叶在陈化过程中脂氧合酶活性的动态变化

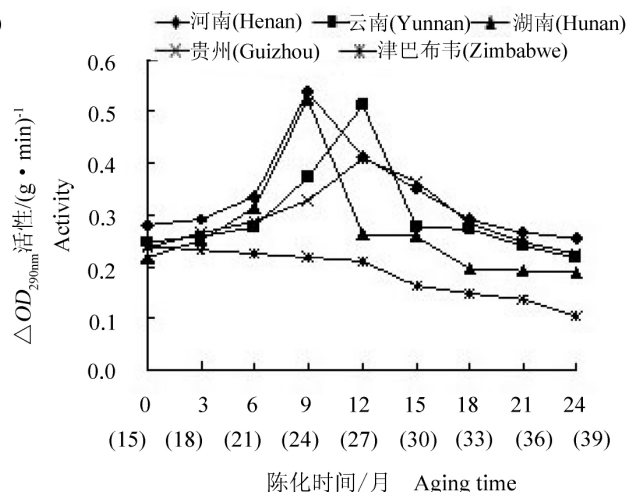
从图 3 可以看出,不同地区烤烟在陈化过程中脂氧合酶活性与多酚氧化酶和过氧化物酶活性变化一致,呈先升高后下降趋势。国内烟区(河南、云南、湖南、贵州)烟叶 LOX 活性在 6 个月时升至最高值,且河南烟叶酶活性明显高于其他烟区,较陈化初始高 1.11 倍;其次是云南烟叶酶活性增加了 80.75%,之后酶活性有较大的降幅。在 12~24 个月的陈化期间,河南、湖南、云南烟区烤烟脂氧合酶活性下降速率有所减缓,贵州烟叶则在 18 个月后酶活下降速率减缓。津巴布韦烟叶酶活性则在陈化过程中一直处于缓慢下降趋势,约为 67.71%。



括号内的数字为津巴布韦烟叶陈化时间。

图 3 不同地区烤烟在陈化过程中 LOX 的变化

Fig.3 Changes of LOX during the aging stage in different areas



括号内的数字为津巴布韦烟叶陈化时间。

图 4 不同地区烤烟在陈化过程中 PAL 的变化

Fig.4 Changes of PAL during the aging stage in different areas

2.4 不同地区烤烟烟叶在陈化过程中苯丙氨酸解氨酶活性的动态变化

从图 4 可以看出,PAL 活性变化与 POD、PPO、LOX 变化规律相同,呈“升-降”趋势。河南、湖南烟叶 PAL 活性在 9 个月时上升至最高点,其中湖南烟叶是陈化初始的 1.4 倍,河南烟叶酶活也增加了 92.95%,

尤其在 6~9 个月时上升幅度较大。云南和贵州烟叶则在 12 个月时酶活性达峰值,分别较未陈化烟叶增加 107% 和 72.83%。在陈化 24 个月时,国内烤烟烟叶内苯丙氨酸解氨酶活性均较陈化初始烟叶略有下降,湖南烟叶酶活性下降幅度最大,约 14.15%;津巴布韦烟叶酶活性在陈化时持续下降了 56.8%。

3 结论与讨论

烟叶中多酚类物质在多酚氧化酶和过氧化物酶的作用下,氧化成为醌类物质,醌类物质又与氨基酸、蛋白质以及其他化合物缩合成大分子物质,而这些大分子物质是形成香气物质的前体物,赋予烟草制品优雅的香气、增加香气量、改善余味,对提高烟叶品质具有良好的作用^[1,17]。在烤烟陈化过程中,国内烤烟内多酚氧化酶和过氧化物酶活性变化趋势一致,呈现“升-降”规律;津巴布韦烟叶因较国内烟叶提前陈化了 15 个月,其 PPO 和 POD 活性一直处于下降趋势,然而各地烤烟酶活变化幅度有所不同。在陈化 24 个月时,云南 PPO 活性,湖南烟区 POD 活性较陈化开始时降低幅度最大。

脂氧合酶是脂类氧化降解代谢的重要酶,类胡萝卜素在脂氧合酶作用下氧化分解的中间产物香叶醇、紫罗兰酮、紫黄质、黄质醛等是烟叶重要的致香物质^[18]。苯丙氨酸裂解酶是烟叶苯丙氨酸代谢中的重要酶,烟叶中许多重要挥发性香气成分如苯甲醇、苯乙醇等的形成与其代谢有密切关系^[19]。脂氧合酶和苯丙氨酸裂解酶活在陈化前期处于上升趋势,尤其是河南烟叶内脂氧合酶活性上升速率较快,这就有助于香气前体物的氧化,使得香气物质大量形成,对烟叶香味品质改善具有重要作用;之后酶活性的迅速下降则缩短烟叶陈化时间,陈化过程在 18~24 个月时基本维持稳定。

总体而言,烟叶所处的陈化阶段不同,叶片内多酚氧化酶、过氧化物酶、苯丙氨酸解氨酶和脂氧合酶活性的变化规律基本一致,表现为在烟叶陈化初期 4 种酶的酶活性呈现逐渐增加的趋势,分别在陈化 6 个月、9 个月、12 个月时酶活性达到最大值,之后酶活性逐渐降低,这与前人^[19]的研究结果一致。然而不同烟区间酶活性变化幅度存在一定的差异,表明陈化过程中酶的活性变化与烟草产地有一定的关系,不同产地烟叶酶活和表面微生物量有所不同。烟叶初烤后,烟叶中仍然存在一定的酶活性,这可能与酶的抗逆性不同,使得抗逆性较强的酶类在烘烤过后得以存活。而随着陈化时间的延长,酶活性逐渐增加则可能与烟叶表面微生物的活动有关,因为微生物在合适的条件下可以产生一定量的氧化酶类和水解酶类,来分解和利用生长基质,然而不同产地的烟叶由于各自不同的生长环境,其烤后烟叶的物理特性和内在化学成分必然存在差异,也就是会造成烟叶表面微生物的生长基质产生差异,微生物和酶的活性就会不同,当然陈化条件的影响也不容忽视,所以各地的烤后烟叶中相关酶的变化和降幅则就不同。叶面微生物和酶一起构成了烟叶的生物活性,而烟叶的生物活性是烟叶发酵的催化剂。烟叶中增加的酶活性有可能是烟叶表面微生物分泌的酶,从而使烟叶的酶活性发生变化,因此烟叶表面的微生物的分泌物可能是加速烟草陈化的“催化剂”,促进陈化改善烟叶的内在质量。微生物及其酶系的配方对于进行烟叶的人工陈化以缩短自然陈化周期是有效可行的;而对于不同的烟叶品种和不同地区的烟叶,可以采用不同的微生物及其酶系的配方进行不同时间的人工陈化,这方面的研究有待进一步的深入。

参考文献:

- [1] 王瑞新. 烟草化学[M]. 北京:中国农业出版社, 2003.
- [2] 高春亮, 王书声, 申国明. 陈化期间空气湿度对山东和贵州 C₃F 烟片质量的影响[J]. 中国烟草科学, 2008, 29(5):32-36.
- [3] 周显升, 董小卫, 李成富. 烤烟复烤烟叶自然陈化过程中感官质量变化研究[J]. 中国烟草科学, 2007, 28(3):16-20.
- [4] 官长荣, 刘霞, 郭瑞. 淀粉代谢及影响烤烟淀粉含量的因素[J]. 云南农业大学学报, 2006, 21(6):745-746.
- [5] 张西仲, 徐晓燕, 韩志明. 烤烟片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.
- [6] 钱卫, 田敏, 李丽莉. 烤烟叶面微生物 5 种水解酶的产生、温度稳定性及其在烟叶人工陈化中的应用[J]. 山东大学学报, 2006, 41(5):158-160.
- [7] 赵铭钦, 王豹祥, 邱友友, 等. 不同陈化时期的烟叶酶活性变化及其同工酶谱分析[J]. 烟草科技, 2006(3):52-54, 61.
- [8] 赵铭钦, 陈秋会, 陈红华. 不同温湿度处理对烤烟陈化过程中酶活性的影响[J]. 江西农业大学学报, 2008, 30(4):614-617.
- [9] Ruan A, Min H. Studies on microbiological degradation of tobacco tar[J]. J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng, 2005, 40(11):2073-2083.
- [10] Ruan A, Min H, Peng X, et al. Isolation and characterization of *Pseudomonas* sp. Strain HF-1, capable of degrading nic-

- otine [J]. Res Microbiol 2005, 156(516):700-706.
- [11] Sachelaru P, Schiltz E, Igloi G L, et al. An alpha/beta - fold C - C bond hydrolase is involed in a central step of nicotine catabolism by arthrobacter nicotinovorans [J]. J Bacteriol, 2005, 187(24):8516-8519.
- [12] 朱广廉. 植物生理学实验 [M]. 北京:北京大学出版社, 1990.
- [13] 宫长荣, 李艳梅, 杨立均. 水分胁迫下离体烟叶中脂氧合酶活性、水杨酸与茉莉酸积累的关系 [J]. 中国农业科学, 2003, 36(3):269-272.
- [14] 张志良. 植物生物化学技术与方法 [M]. 北京:农业出版社, 1996.
- [15] Victoria M M, John R W. The biochemistry and control of enzymatic browning [J]. Trends in Food Science & Technology, 1995(6):195-200.
- [16] Osamu Nwgishi, Tesuo Ozawa. Inhibition of enzymatic browning and protection of sulfhydryl enzymes by thiol compounds [J]. Phytochemistry 2000(54):481-487.
- [17] 李从民. 植物多酚对烟草制品品质的影响 [J]. 烟草科技, 2000(1):27-28.
- [18] 史宏志, 刘国顺. 烟草香味学 [M]. 北京:中国农业出版社, 1998.
- [19] 朱大恒, 陈锐, 陈再根, 等. 烤烟自然醇化与人工发酵过程中微生物变化及其与酶活性关系的研究 [J]. 中国烟草学报, 2001, 7(2):26-30.

(上接第 14 页)

- [4] 谭德水, 金继运, 黄绍文. 长期施钾与秸秆还田对西北地区不同种植制度下作物产量及土壤钾素的影响 [J]. 植物营养与肥料学报, 2008, 14(5):886-893.
- [5] 陈长青, 何园球, 卞新民, 等. 基于特征向量的旱地连续种植模式土壤肥力综合评价 [J]. 植物营养与肥料学报, 2007, 13(4):620-624.
- [6] 伍芬琳, 张海林, 李琳, 等. 保护性耕作下双季稻农田甲烷排放特征及温室效应 [J]. 中国农业科学, 2008, 41(9):2703-2709.
- [7] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 北京:中国农业出版社, 2000:25-97.
- [8] Wagger M G, Cabrea M L, Ranells N N. Nitrogen and carbon cycling in relation to cover crop residues quality [J]. Soil and Water Cons, 1998, 53(3):214-218.
- [9] Odland T E, Knoblauch H C. The value of cover crops in continuous corn culture [J]. J Am Soc Agron, 1938(30):22-29.
- [10] Allison M F, Armstrong M J, Jaggard K W, et al. Integration of nitrate cover crops into sugarbeet (*Beta vulgaris*) rotations. I: Management and effectiveness of nitrate cover crops [J]. The Journal of Agricultural Science, 1998, 130(1):53-60.
- [11] Barthes B, Azontonde A, Blanchart E, et al. Effect of a legume cover crop (*Mucuna pruriens* vat. utilis) on soil carbon in an Ultisol under maize cultivation in southern Benin [J]. Soil Use and Management, 2004, 20(Suppl):231-239.
- [12] 焦彬. 中国绿肥 [M]. 北京:农业出版社, 1980.
- [13] Sainju U M, Singh B P, Whitehead W F. Cover crops and nitrogen fertilization effects on soil carbon and nitrogen and tomato yield [J]. Canadian Journal of Soil Science, 2000, 180(3):523-532.
- [14] 谢红梅, 朱钟麟, 郑家国, 等. 不同种植模式对水稻生长特性的影响 [J]. 核农学报, 2006, 20(1):79-82.
- [15] 陈启德, 汪云滨, 曾庆曦, 等. 稻田种植绿肥的增产效果及对土壤肥力的影响 [J]. 西南农业学报, 1995(8):117-123.
- [16] 高菊生, 徐明岗, 王伯仁, 等. 长期有机无机肥配施对土壤肥力及水稻产量的影响 [J]. 中国农学通报, 2005, 21(8):211-214, 259.