

研究报告 Original Papers

装烟密度对烟叶烘烤过程中几种抗氧化酶活性的影响

王卫峰¹ 王松峰² 陈江华³ 王爱华² 毋丽丽¹ 黄永城¹ 景延秋¹ 官长荣^{1,*}¹河南农业大学农学院, 郑州 450002; ²中国农业科学院烟草研究所青岛研究发展中心, 山东青岛 266101; ³中国烟叶公司, 北京 100055

摘要 采用河南农业大学设计的电热式温湿自控密集烤烟箱, 检测装烟密度对烟叶中过氧化物酶(POD)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、谷胱甘肽还原酶(GR)以及丙二醛(MDA)含量影响的结果表明, 装烟密度为 55~65 kg·m⁻³ 的 POD、APX 和 GR 的活性较强, MDA 含量较低。方差分析结果表明, 各指标处理间差异不大。烟叶的外观和内在品质有提高。

关键词 密集烤房; 装烟密度; 抗氧化酶; 品质

Effects of Loading Density on the Activities of Several Antioxidant Enzymes of Tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) Leaves in Bulk Curing Barn

WANG Wei-Feng¹, WANG Song-Feng², CHEN Jiang-Hua³, WANG Ai-Hua², WU Li-Li¹, HUANG Yong-Cheng¹, JING Yan-Qiu¹, GONG Chang-Rong^{1,*}

¹College of Agronomy, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China; ²Qingdao Research and Exploit Centre, Tobacco Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Qingdao, Shandong 266101, China; ³China National Tobacco Corporation, Beijing 100055, China

Abstract The changes in the activities of peroxidase (POD), ascorbate peroxidase (APX) and glutathione reductase (GR) and malondialdehyde (MDA) contents in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) leaves with different loading densities in bulk curing barn were studied by using the electric-heated flue-curing barn. The results indicated that the activities of POD, APX and GR were higher and MDA content was lower with 55–65 kg·m⁻³ of loading density. The results of variance analysis indicated that there were not difference among the loading densities in every index. The appearance and quality of tobacco leaves were improved.

Key words bulk curing; loading density; antioxidant enzyme; quality

烟叶烘烤调制过程的实质就是在人为调控的脱水条件下烟叶中生理生化变化的过程, 其间相关酶活性的高低和作用时间对烟叶品质的优劣可能有决定性作用。近年来, 有关烟叶生长过程和初加工的烘烤过程中不同生理条件对其生理指标的影响已有所报道(官长荣等 1998, 2000; 严重玲等 1997; 朱祝军等 1998; 江力等 2000; 韩锦峰等 1994)。但密集烤房中装烟密度对烟叶生理指标的影响研究较少, 本文检测了烟叶初加工的烘烤过程中几种抗氧化生理指标的变化, 以期能为密集烤房中的烟叶烘烤提供参考。

材料与amp;方法

试验于 2003~2004 年进行。试验田设在河南省襄城县, 土壤为潮土两合土, 土壤肥力中等,

pH 值 6.45, 土壤有机质含量 1.54%, 碱解氮含量 49.79 mg·kg⁻¹, 速效磷含量 8.42 mg·kg⁻¹, 速效钾含量 139.73 mg·kg⁻¹。试验用氮量为 52.5 kg·hm⁻²; N:P₂O₅:K₂O=1:1:3.5; 基追肥比例为 85:15。烟草(*Nicotiana tabacum* L.)品种 ‘NC89’ 于 4 月 25 日移栽, 种植行距 120 cm, 株距 50 cm。烟田规范化管理, 成熟时采收。取中部叶(第 11~12 位叶), 用河南农业大学设计的电热式温湿自控密集烤烟箱进行烘烤。

试验设 4 种装烟密度, 即 A₁: 35~45 kg·m⁻³; A₂: 45~55 kg·m⁻³; A₃: 55~65 kg·m⁻³; A₄: 65~75

收稿 2005-12-07 修定 2006-08-17

资助 国家烟草专卖局项目(110200302007)。

*通讯作者(E-mail: gongchr009@126.com, Tel: 0371-63558380)。

$\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$ 。所有处理烟叶在 $35\sim 38\text{ }^\circ\text{C}$ 、相对湿度 $80\%\sim 85\%$ 下变黄, 之后在干球温度为 $42\text{ }^\circ\text{C}$, 湿球温度为 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 下完成凋萎; 以 $0.5\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{h}^{-1}$ 升温, 直至干球温度达到 $54\sim 55\text{ }^\circ\text{C}$ 和湿球温度达到 $38\sim 40\text{ }^\circ\text{C}$ 时完成定色; 然后以 $1\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{h}^{-1}$ 升温, 直至干球温 $68\text{ }^\circ\text{C}$ 、湿球温度 $40\sim 42\text{ }^\circ\text{C}$ 使叶片干燥。上述烘烤工艺的实施工通过相应的通风排湿完成。

烘烤过程中每隔 12 h 取样 1 次, 每次取 5 片烟叶, 留叶中部 1/3 区域并除去主脉和侧脉, 余下的叶片用于测定酶活性。过氧化物酶 (peroxidase, POD) 活性用愈创木酚法 (张志良 2000) 测定, 抗坏血酸过氧化物酶 (ascorbate peroxidase, APX) 活性用滴定法 (李合生等 2000) 测定, 谷胱甘肽还原酶 (glutathione reductase, GR) 活性按 Arnon (1949) 的方法测定, 丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 用硫代巴比妥酸法 (李合生等 2000) 测定。

烟叶外观质量的评定方法按烤烟国家标准 (GB2635-92) 进行。

烟叶中的烟碱采用紫外分光光度法 (王瑞新等 1998) 测定, 总糖含量采用蒽酮比色法 (李合生等 2000) 测定, 还原糖含量采用苦味酸法 (李合生等 2000) 测定, 总氮含量采用浓硫酸-双氧水消化法 (王瑞新等 1998) 测定, 钾含量采用火焰光度法 (王瑞新等 1998) 测定, 淀粉含量采用酸解法 (何钟佩 1993) 测定。

结果与讨论

1 装烟密度对 POD 活性的影响

从表 1 可以看出, 4 种装烟密度的烟叶在烘烤过程中 POD 均呈下降趋势。其中, 在烘烤的 $0\sim 12\text{ h}$ 的 POD 活性快速下降; 之后, A_1 和 A_2 的活性下降较快, A_3 和 A_4 的活性下降较慢; 4 种处理的 POD 活性大小依序为 $A_3>A_4>A_2>A_1$, 装烟密度为 $55\sim 65\text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$ 的烟叶中 POD 的活性较高。经分析, 在烘烤 12、24、36、48、60 和 72 h 的 A_3 和 A_4 中 POD 活性差异不显著, 与 A_1 、 A_2 的相比除 72 h 外均达到显著水平。烘烤 84 h 的 A_3 中 POD 活性与 A_1 、 A_2 、 A_4 差异达到显著水平, 其他 3 个处理之间差异不显著。

2 装烟密度对 APX 活性的影响

如表 2 所示, 在整个烘烤过程中, 各密度的

表 1 不同装烟密度中烟草的 POD 活性变化

Table 1 Changes in POD activities with different loading densities of tobacco leaves

处理	烘烤时间/h							
	0	12	24	36	48	60	72	84
A_1	1.89 ^a	1.45 ^b	1.24 ^c	0.96 ^c	0.84 ^c	0.59 ^c	0.30 ^b	0.03 ^b
A_2	1.89 ^a	1.50 ^b	1.40 ^b	1.08 ^b	0.93 ^{bc}	0.67 ^b	0.33 ^{ab}	0.05 ^b
A_3	1.89 ^a	1.66 ^a	1.56 ^a	1.22 ^a	1.02 ^a	0.82 ^a	0.38 ^a	0.09 ^a
A_4	1.89 ^a	1.60 ^{ab}	1.49 ^{ab}	1.19 ^a	0.99 ^{ab}	0.76 ^a	0.35 ^a	0.06 ^b

小写字母表示 $\alpha=0.05$ 的显著水平, 下表同此。

表 2 不同装烟密度中烟草的 APX 活性变化

Table 2 Changes in APX activities with different loading densities of tobacco leaves

处理	烘烤时间/h						
	0	12	24	36	48	60	72
A_1	0.13 ^a	0.62 ^c	0.87 ^b	1.06 ^b	1.29 ^b	0.76 ^b	0.83 ^b
A_2	0.13 ^a	0.68 ^{bc}	0.95 ^{ab}	1.16 ^{ab}	1.38 ^{ab}	0.65 ^c	0.74 ^c
A_3	0.13 ^a	0.86 ^a	1.02 ^a	1.24 ^a	1.50 ^a	0.65 ^c	0.72 ^c
A_4	0.13 ^a	0.72 ^b	0.96 ^{ab}	1.16 ^{ab}	1.44 ^a	0.85 ^a	0.92 ^a

APX 活性呈先升后降再升高的趋势。烘烤 $0\sim 48\text{ h}$ 内的 APX 活性以 A_3 为最高, A_1 最低, 各密度处理均在 48 h 左右达到最高点。48~60 h 内的 APX 活性下降, 以 A_3 下降最快。60 h 后, 各处理的 APX 又缓慢上升。结果表明, 在烘烤 12 h 的 A_3 中 APX 活性与 A_1 、 A_2 、 A_4 差异达到显著水平。在烘烤 24、36 和 48 h 的 A_3 中 APX 活性与 A_2 、 A_4 的差异不显著, 与 A_1 的差异达到显著水平。烘烤 60 和 72 h 的 A_3 中 APX 活性与 A_1 、 A_4 的差异显著, 与 A_2 的差异不显著。

3 装烟密度对 GR 活性的影响

随着烘烤过程的进行和水分的不断散失, GR 活性呈逐渐下降趋势, 在烘烤 $0\sim 24\text{ h}$ 内各处理的 GR 活性均下降缓慢, $24\sim 60\text{ h}$ 内急剧下降, 60 h 后活性下降直至消失 (表 3)。装烟密度导致 GR 活性下降的大小依序为 $A_3>A_2>A_1>A_4$ 。以 A_3 的 GR 活性最强, 且维持时间最长。经分析, 在烘烤 12 和 24 h 的 A_3 中 GR 活性与 A_1 、 A_2 无差异, 与

A₄ 差异达到显著水平。36 和 72 h 的 A₃ 中 GR 活性与 A₁、A₂、A₄ 差异均达到显著水平。48 和 60 h 的 A₃ 中 GR 活性与 A₂ 差异不显著, 与 A₁、A₄ 差异达到显著水平。

4 装烟密度对 MDA 含量的影响

在烘烤过程中, MDA 含量逐渐增加, 在 0~36 h 内增加缓慢, 36 h 后积累增多, 72~84 h 内各密度处理均达到最高水平, 4 种密度处理烟叶的 MDA 含量大小顺序为 A₁>A₂>A₄>A₃。经分析, 烘烤 0 和 12 h 的 MDA 含量各处理无差异。在烘烤

24、36、60 和 72 h 的 A₃ 中 MDA 含量与 A₄ 差异不显著, 与 A₁、A₂ 差异达到显著水平。48 和 84 h 的 A₃ 中 MDA 含量与 A₂、A₄ 差异不明显, 与 A₁ 差异达到显著水平。

5 装烟密度对烟叶品质的影响

烟叶外观质量与其内在化学成分紧密相关, 是烟叶品质优劣的表现。从表 5 可知, 各个处理的烟叶外观质量以 A₃ 为最好, 烟叶呈橘黄色, 有油分, 身份适中, 结构疏松, 光泽好, 综合评定优于其他处理。

表3 不同装烟密度中烟草的GR活性变化

Table 3 Changes in GR activities with different loading densities of tobacco leaves

处理	烘烤时间/h						
	0	12	24	36	48	60	72
A ₁	0.52 ^a	0.47 ^{ab}	0.45 ^{ab}	0.25 ^{bc}	0.11 ^{bc}	0.05 ^b	0.03 ^c
A ₂	0.52 ^a	0.49 ^{ab}	0.47 ^{ab}	0.27 ^b	0.13 ^{ab}	0.06 ^a	0.05 ^b
A ₃	0.52 ^a	0.51 ^a	0.48 ^a	0.30 ^a	0.13 ^a	0.06 ^a	0.06 ^a
A ₄	0.52 ^a	0.46 ^b	0.44 ^b	0.22 ^c	0.10 ^c	0.04 ^c	0.02 ^d

表4 不同装烟密度中烟草的MDA含量变化

Table 4 Changes in MDA contents with different loading densities of tobacco leaves

处理	烘烤时间/h							
	0	12	24	36	48	60	72	84
A ₁	38.68 ^a	41.16 ^a	47.18 ^a	51.58 ^a	67.46 ^a	73.06 ^a	76.16 ^a	77.68 ^a
A ₂	38.68 ^a	40.77 ^a	44.51 ^b	49.97 ^a	64.14 ^{ab}	72.16 ^{ab}	74.28 ^{ab}	75.64 ^{ab}
A ₃	38.68 ^a	38.98 ^a	41.62 ^c	45.45 ^b	60.47 ^b	67.42 ^c	71.63 ^b	72.24 ^b
A ₄	38.68 ^a	39.15 ^a	42.83 ^{bc}	46.18 ^b	62.52 ^b	68.46 ^{bc}	73.14 ^{ab}	74.51 ^{ab}

表5 不同装烟密度烤后烟叶的品质

Table 5 Quality of cured tobacco leaves with different loading density

处理	成熟度	颜色	油分	身份	结构	光泽
A ₁	成熟	浅橘黄	稍有	稍厚	疏松	较弱
A ₂	成熟	橘黄	有	适中	疏松	较强
A ₃	成熟	橘黄	有	适中	疏松	中等
A ₄	成熟	浅橘黄	稍有	稍薄	疏松	中等

烟草等级为 C₃F。按烤烟国家标准 (GB2635-92), 成熟度分为完熟、成熟、尚熟、欠熟、假熟; 颜色分为柠檬黄、橘黄、浅橘黄、红棕、青黄、杂色; 油分分为多、有、稍有、少; 身份分为稍厚、厚、适中、薄、稍薄; 结构分为疏松、尚疏松、稍密、紧密; 光泽分为强、较强、中等、较弱、弱。

表6 不同装烟密度烤后烟叶几种物质的含量

Table 6 Several substances contents in cured tobacco leaves with different loading densities

处理	淀粉含量/%	总糖含量/%	还原糖含量/%	烟碱含量/%	总氮含量/%	钾含量/%	糖碱比	氮碱比
鲜烟叶	33.53	8.86	7.42	3.35	2.40	2.01	—	—
A ₁	7.54 ^a	24.54 ^b	22.15 ^{ab}	3.13 ^a	2.36 ^{ab}	1.91 ^a	7.84 ^b	0.75 ^a
A ₂	7.11 ^b	25.67 ^a	22.64 ^{ab}	3.06 ^{ab}	2.21 ^{bc}	1.95 ^a	8.39 ^b	0.72 ^a
A ₃	6.41 ^c	25.91 ^a	22.92 ^a	2.87 ^b	2.13 ^c	1.97 ^a	9.03 ^a	0.74 ^a
A ₄	6.86 ^b	24.18 ^b	21.86 ^b	2.98 ^{ab}	2.43 ^a	1.94 ^a	8.11 ^b	0.82 ^a

表6结果表明,烘烤后的烟叶中淀粉含量明显下降,总糖和还原糖含量大幅度增加,烟碱、总氮和钾含量变化不大。4种装烟密度处理的烟叶,除钾含量和氮碱比外,其他化学成分的差异均达到显著水平。烟碱含量以A₁含量最高,A₂次之,A₃最低,A₁和A₃间达到显著性差异。总糖和还原糖含量均以A₃最高,A₂次之,A₄最低。A₃的总糖含量与A₁和A₄之间差异达到显著水平;A₃还原糖含量与A₄间差异也达到显著水平。总氮含量以A₄为最高,A₁次之,A₃最低,A₃与A₁和A₄之间差异显著。淀粉含量以A₁为最高,A₂和A₄次之,A₃最低,A₃与其他3个处理差异均达显著水平。糖碱比以A₃为最大,A₂和A₄次之,A₁最小,A₃与其他3个处理间差异均达显著水平。

参考文献

宫长荣,陈江华,汪耀富(1999).烘烤中的膜脂过氧化作用及其对烟叶内在质量的影响.中国烟草学报,(3):11~15
 宫长荣,李艳梅,李常军(2000).烘烤过程中烟叶脂氧合酶活性与膜脂过氧化物的关系.中国烟草学报,(1):39~41
 宫长荣,孙福山,汪耀富,程占省(1998).烟叶烘烤中不同变黄温

度对某些生理生化特性的影响.中国烟草科学,(2):6~7
 韩锦峰,汪耀富,林学梧(1994).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.中国烟草学报,(1):20~24
 何钟佩(1993).农作物化学控制实验指导.北京:北京农业大学出版社
 江力,汤一卒,张荣铎,王伟(2000).肥料吸收活化剂对烟叶抗坏血酸-谷胱甘肽循环系统及钾含量的影响.南京农业大学学报,23(4):13~16
 李合生,孙群,赵世杰(2000).植物生理生化实验原理和技术.北京:高等教育出版社
 王瑞新,韩富根,杨素勤(1998).烟草化学品质分析法.郑州:河南科学技术出版社
 严重玲,付舜珍,方重华,沈芹,洪业汤,雷基(1997).Cd、Pb胁迫对烟草叶片中活性氧清除系统的影响.生态学报,17(5):488~492
 张志良(2000).植物生理学实验指导.第2版.北京:高等教育出版社,154~155
 朱祝军,喻景权,Gerendas J, Sattelmacher B(1998).氮素形态和光照强度对烟草生长和H₂O₂清除酶活性的影响.植物营养与肥料学报,4(4):379~385
 Aronon D(1949).Copper enzymes in isolated chloroplast. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol, 24: 1~15