

不同陈化时期烤烟叶片中酶活性及其相关化学成分分析

赵铭钦 王豹祥 邱立友 李芳芳 李晓强

(河南农业大学 农学院, 郑州 450002)

摘要 以3个烤烟品种为试材,研究了不同陈化时期烤烟叶片中多酚氧化酶、过氧化物酶、淀粉酶、蛋白酶酶活性及相关化学成分的动态变化。结果表明:随着陈化时间的延长,烟叶中多酚氧化酶、过氧化物酶、淀粉酶、蛋白酶酶活性呈现先升高后降低的单峰变化规律,3个烤烟品种中的4种酶分别在陈化6或9个月时酶活性达到47.7 u/g、54.27 u/g、12 mg/g和4.74 u/g的最大均值。不同陈化时期3个品种烟叶中酚类物质和色素类物质的含量整体呈现下降趋势,相对陈化初期含量分别平均降低了12.92%和17.85%;3个品种烟叶中淀粉、可溶性蛋白质含量则呈现一定幅度的降低,与陈化初期相比其含量分别平均降低了8.07%和45.47%。

关键词 烤烟; 陈化; 酶活性; 化学成分

中图分类号 S 572

文章编号 1007-4333(2006)04-0007-04

文献标识码 A

Analysis of enzyme activity and relevant chemical components of flue-cured tobacco in different stages of aging

Zhao Mingqin, Wang Baoxiang, Qiu Liyou, Li Fangfang, Li Xiaoqiang

(College of Agronomy, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract The dynamic change of polyphenol oxidase, peroxidase, amylase and protease activities as well as of relevant chemical composition of three flue-cured tobacco varieties were studied. The results showed that activity of polyphenol oxidase, peroxidase, amylase and protease increased at the earlier stage of aging and decreased at the later stage. This activity reached 47.7 u/g, 54.27 u/g, 12 mg/g and 4.74 u/g respectively after aged 6 or 9 months. The contents of polyphenols and pigments tended to decrease with the length of aging time, they decreased 12.92% and 17.85% respectively, compared with those in tobacco leaves at earlier stage. The contents of starch and soluble protein also tended to decrease with the length of aging time; they decreased by 8.07% and 45.47% respectively, compared with the contents in tobacco leaves at earlier stage.

Key words flue-cured tobacco, aging, enzyme activity, chemical components

烟叶陈化是烟叶质量形成的重要工艺环节,此时烟叶中发生了复杂的生物化学变化,其中烟叶内的酶起着重要作用。发酵过程中随着酶促反应进行^[1],烟叶中多酚氧化酶和过氧化物酶在有氧条件下,催化各种酚类氧化成醌,再进一步聚合形成黑色素化合物^[2],而这些色素类物质与烟叶颜色和香味有关;淀粉酶和蛋白酶与烟叶中大分子物质的降解有关,其降解产物发生的棕色化反应所形成的产物对提高烟叶香气质量具有重要作用。因此,研究陈化过程中烟叶酶活性和相关化学成分的动态变化以

及二者之间的相互作用关系对于揭示烟叶发酵的作用机理具有重要意义。笔者研究了烤烟陈化过程中化学成分的动态变化以及烟叶中酶活性的变化特点,探讨了烟叶中酶活性和化学成分之间的作用机制,旨在为进一步丰富烟叶的陈化理论提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

选用河南宜阳和襄城为供试材料,宜阳烟叶:品种为中烟100,等级为C₃F;襄城烟叶:品种为NC89

收稿日期:2006-01-15

基金项目:国家烟草专卖局资助项目(110200401014)

作者简介:赵铭钦,副教授,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

和中烟 101,等级均为 C₃F。

1.2 取样方法

将供试烟叶放入纸箱内,于河南农业大学烟草实验室内进行自然陈化,陈化过程中注意室内通风和防虫。分别在陈化 0、3、6、9 和 12 个月时取样进行酶活性分析及其相关化学成分的测定。

1) 酶活性测定。多酚氧化酶和过氧化物酶活性测定参照朱广廉等^[3]方法,淀粉酶活性测定参照邹琦^[4]方法,蛋白酶活性测定参照张树政^[5]方法。

2) 化学成分测定。淀粉和总酚类物质测定采用王瑞新^[2]方法,可溶性蛋白质和色素类物质采用邹琦^[4]方法。

2 结果与分析

2.1 不同陈化时期烟叶中几种酶活性的动态变化

1) 多酚氧化酶活性动态变化。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。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研究^[6-9]。对陈化过程中烟叶内多酚氧化酶活性的测定结果表明(图 1),不同陈化时期,3 个烤烟品种烟叶中的多酚氧化酶仍具有一定活性。陈化初期多酚氧化酶活性呈现逐渐升高的趋势,在 6 个月时达到最大值,中烟 100、中烟 101 和 NC89 烟叶中

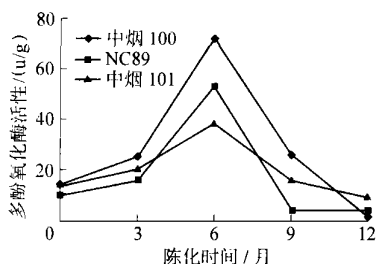


图 1 不同陈化时期不同品种烟叶多酚氧化酶活性变化

Fig. 1 Dynamic change of polyphenol oxidase activity at different stages of aging using different flue-cured tobacco varieties

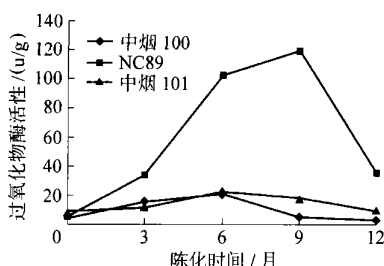


图 2 不同陈化时期不同品种烟叶过氧化物酶活性变化

Fig. 2 Dynamic change of peroxidase activity at different stages of aging using different flue-cured tobacco varieties

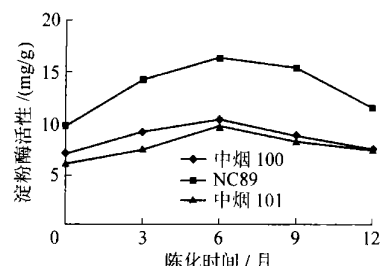


图 3 不同陈化时期不同品种烟叶蛋白酶活性变化

Fig. 3 Dynamic change of amylase activity at different stages of aging using different flue-cured tobacco varieties

品种烟叶的酶活性变化规律基本一致,3 个品种烟叶中淀粉酶活性均呈现陈化前期逐渐升高后期缓慢下降的单峰曲线变化规律,到陈化 6 个月时达到最大值,中烟 100、中烟 101 和 NC89 烟叶中的酶活性分别达到 10.10、9.68 和 16.22 mg/g,随后活性逐渐降低;当陈化 12 个月时,3 个品种的酶活性分别降低到 7.19、7.20 和 11.45 mg/g。陈化中后期烟叶中的酶仍比陈化初期(0 个月)表现出较高的活

的酶活性分别达到 62.76、33.59 和 46.75 u/g,之后降低;陈化 12 个月时,这 3 个烟草品种中的酶活性分别降低到 2.20、7.99 和 4.00 u/g。烟叶中多酚氧化酶的这种动态变化很可能与烟叶表面微生物的活性变化有关。烟叶陈化是一个经过烘烤、复烤之后不存在生命活性的干物体自然发酵过程,烟叶自身的多酚氧化酶活性在初烤阶段几乎全部被高温钝化失活^[10],烟叶自身的细胞结构也被破坏,因此不太可能合成新的多酚氧化酶。

2) 过氧化物酶活性动态变化。由图 2 可知,随着陈化时间的延长,3 个品种烟叶中过氧化物酶活性的变化与多酚氧化酶活性呈现的先升高后降低的变化趋势基本一致。中烟 100 和中烟 101 的酶活性在陈化 6 个月时达到最大值,分别为 21.2 和 23.6 u/g,比陈化开始时分别提高 4.82 和 2.57 倍,而后逐渐降低,到陈化 12 个月时,分别降低到 3.40 和 10.40 u/g;NC89 的酶活性在陈化 9 个月后达到最大值为 118.00 u/g,比陈化开始时提高 20.35 倍,然后随着陈化时间的延长酶活性下降,到陈化 12 个月时,酶活性降低到 34.80 u/g。不同陈化时期烟叶中过氧化物酶活性的存在,加速了陈化过程中烟叶内酶促反应,从而对提高烟叶品质起到重要作用。

3) 淀粉酶活性的动态变化。由图 3 结果可知,不同陈化时期烟叶表现出不同的酶活性,不同烤烟

性。烟叶中淀粉酶活性的这种变化趋势表明,烟叶叶面微生物的种类和数量是影响淀粉酶活性的动因。陈化前中期由于烟叶表面的微生物数量多,繁殖快,产淀粉酶的细菌较为活跃,从而使烟叶的酶活性增强;陈化后期,烟叶表面细菌数量减少,微生物新陈代谢强度降低,分泌的酶量减少,从而引起烟叶中淀粉酶活性的逐渐降低。

4) 蛋白酶活性的动态变化。图 4 表明,不同陈

化时期3个烤烟品种烟叶中蛋白酶活性变化规律与淀粉酶的变化规律基本一致。中烟100在陈化前期蛋白酶活性升高较快,陈化6个月时酶活性达到4.11 u/g的最高值,升高幅度达440.79%,随后也呈现较大幅度的降低,到陈化12个月时降低到1.29 u/g;而中烟101和NC89 2个烤烟品种变化趋势相对平缓,随陈化时间的延长,烟叶中的蛋白酶活性均呈现逐渐升高的趋势,在陈化6个月时达到最大值,分别为6.24和3.88 u/g,相对陈化初期升高幅度达到215.15%、88.35%,而后缓慢降低,到陈化12个月时,酶活性分别降低到2.28和2.67 u/g。3个烤烟品种在陈化3~12个月的过程中,酶活性相对陈化初期均有不同程度的提高。

2.2 不同陈化时期烟叶中化学成分含量的变化

1) 烟叶中多酚类物质含量的变化。由图5可知,不同品种烤烟中的酚类物质总体呈降低趋势,中

烟100、NC89和中烟101烟叶中多酚类物质含量分别从2.7%、2.61%和2.66%降低到2.44%、2.30%和2.20%。与陈化0个月相比,中烟100和中烟101在陈化3个月时表现较大幅度的下降,而在3~6个月时,又呈现一定幅度的上升,随后缓慢下降。NC89在陈化3个月时总酚类含量下降较快,在以后的陈化过程中总体表现为先升高后下降趋势,但变化幅度较小。

2) 色素类物质含量的变化。试验结果表明(图6),随着陈化进程的延伸,3个烤烟品种烟叶中色素类物质总含量均表现为下降,但下降特点有所不同。中烟100在陈化3个月以前呈上升趋势,到3个月时含量为0.415 mg/g,达到最大值,随后在3~9个月期间急剧降低,9个月之后降幅又趋于缓慢,到陈化12个月时,含量降到最低值(0.378 mg/g);中烟101在整个陈化过程中总体表现为缓慢下降趋势,

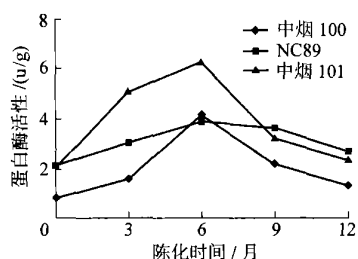


图4 不同陈化时期不同品种烟叶蛋白酶活性变化

Fig. 4 Dynamic change of protease activity at different stages of aging using different flue-cured tobacco varieties

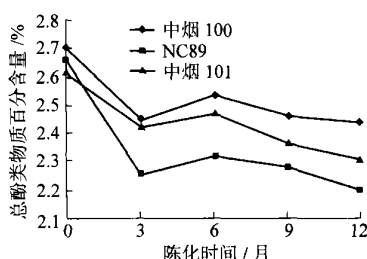


图5 不同陈化时期不同品种总酚类物质含量的变化

Fig. 5 Dynamic change of the contents of polyphenols at different stages of aging using different flue-cured tobacco varieties

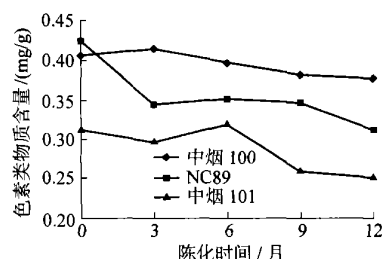


图6 不同陈化时期不同品种烟叶色素类物质含量变化

Fig. 6 Dynamic change of the contents of pigments at different stages of aging using different flue-cured tobacco varieties

陈化12个月与陈化0月相对比降幅为7.35%。NC89在陈化前期呈现小幅度下降趋势,而在陈化6个月时又表现为小幅度升高,随后缓慢下降,陈化12个月与陈化0个月相比降幅达到26.89%。色素类物质是烟叶中重要的香气前提物,其在陈化过程中大幅度降解以及降解产物的继续转化,形成了许多重要的致香物质,这些物质对提高烟叶的香气质量发挥了重要作用。

3) 淀粉含量的变化。由图7可知,3个烤烟品种烟叶中淀粉含量在不同陈化时期呈小幅度下降趋势,中烟100、中烟101和NC89的淀粉含量分别从9.61%、12.47%、12.26%降低到8.8%、11.54%、11.43%。不同品种烟叶中淀粉含量的变化特点不太一致,NC89在陈化初期降低幅度较大,随后趋于

平缓下降态势,中烟100和中烟101的变化特点基本一致,均呈缓慢下降趋势。烟叶中淀粉含量的这种变化趋势可能与淀粉酶的存在有关。

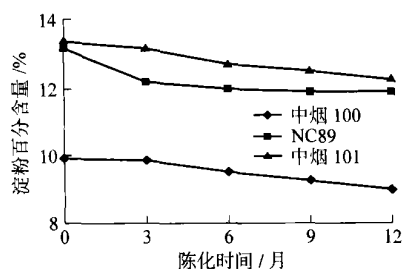


图7 不同陈化时期不同品种烟叶淀粉含量的变化

Fig. 7 Dynamic change of the contents of starch at different stages of aging using different flue-cured tobacco varieties

4) 可溶性蛋白质含量的变化。由图8可知,在

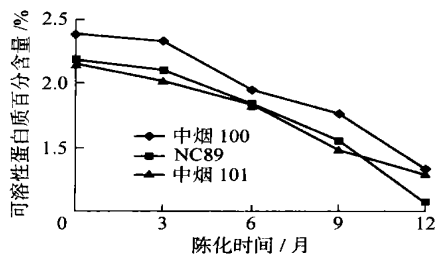


图8 不同陈化时期不同品种烟叶可溶性蛋白质含量的变化

Fig. 8 Dynamic change of the contents of soluble protein at different stages of aging using different flue-cured tobacco varieties

不同陈化时期,烟叶中的可溶性蛋白质含量呈现缓慢下降的趋势,中烟 100、NC89 和中烟 101 的可溶性蛋白质的含量分别从 2.38%、2.16% 和 2.19% 降低到 1.32%、1.28% 和 1.07%,降低幅度分别达到 44.5%、40.7% 和 51.1%。这种情况可能是由于蛋白酶的存在使烟叶中的可溶性蛋白质降解生成氨基酸所导致的。此外,由于烟叶表面存在大量可以降解蛋白质的微生物,烟叶中可溶性蛋白质的减少也可能与烟叶表面的微生物存在一定的相关性。

3 结论和讨论

研究表明,烟叶所处的陈化阶段不同,叶片内多酚氧化酶、过氧化物酶、淀粉酶、蛋白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,到陈化 6 个月时达到最大值,之后逐渐降低;这与文献[11-12]的研究结果基本一致。不同品种之间,陈化烟叶中多酚氧化酶和过氧化物酶活性的变化规律是一致的,表明陈化过程中酶活性的变化与烟草基因型关系不大。烟叶初烤后,其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,而在陈化前期,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,从而使烟叶的酶活性升高,并促进发酵改善烟叶的内在质量。

在烟叶的陈化过程中淀粉和可溶性蛋白质呈现一定幅度的下降趋势,这与烟叶中蛋白酶和淀粉酶的酶活性持续存在有一定的相关性。由于蛋白酶和淀粉酶的存在促进了烟叶中蛋白质和淀粉在酶的作用下分别水解成氨基酸和糖类物质;而氨基酸和糖

类物质又能发生非酶棕色化反应,生成的糖-氨基酸复合物,经过进一步降解能够产生多种致香物质,提高了烟叶的香气品质。陈化过程中多酚类物质和色素类物质的含量也表现为下降状态,多酚类物质含量的变化与烟叶中的多酚氧化酶和过氧化物酶的联合作用有关。研究认为^[2],烟叶中的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为有颜色的大分子物质,而这些有颜色的大分子物质是形成香气物质的前提物,对提高烟叶香气质量具有重要作用。烟叶中色素类物质的降低可能与其发生的氧化、还原及脱水反应有关,色素类物质的降解产物也是烟草最重要的香气来源之一。

参 考 文 献

- [1] 金闻博,戴亚主编.烟草化学[M].北京:清华大学出版社,1993
- [2] 王瑞新主编.烟草化学[M].北京:中国农业出版社,2003
- [3] 朱广廉主编.植物生理学实验[M].北京:北京大学出版社,1990
- [4] 邹琦主编.植物生理生化试验指导[M].北京:中国农业出版社,1998
- [5] 张树政主编.酶制剂工业[M].北京:北京科学出版社,1989
- [6] 黄明,彭世清.植物多酚氧化酶研究进展[J].广西师范大学学报,1998,16(2):65-70
- [7] Victoria M M, John R W. The biochemistry and control of enzymatic browning[J]. Trends in Food Science & Technology,1995,6:195-200
- [8] Osamu Nwgishi, Tesuo Ozawa. Inhibition of enzymatic browning and protection of sulfhydryl enzymes by thiol compounds[J]. Phytochemistry,2000,54:481-487
- [9] 林健巧,王炜军,穆虹,等.烟草多酚氧化酶的分离与固定化技术研究[J].中国生物化学与分子生物学报,1999,15(4):663-666
- [10] 宫长荣主编.烟叶烘烤原理[M].北京:科学出版社,1995
- [11] 赵铭钦,邱立友,长维群,等.陈化期间烤烟叶片中生物活性变化的研究[J].华中农业大学学报,2000,19(6):537-542
- [12] 韩锦峰,朱大恒,杨素勤,等.不同陈化时期烤烟几种酶活性及其相关化学成分分析[J].中国烟草科学,1999(1):1-2