

纳米涂料烤箱烘烤对烟叶细胞壁酶活性及组分和经济性状的影响

武圣江, 宋朝鹏, 霍开玲, 程 龙, 王战义, 宫长荣

(河南农业大学烟草学院, 郑州 450002)

摘要: 【目的】研究烘烤过程中纳米涂料对烟叶细胞壁主要酶活性、组分和经济性状的影响, 为优化烘烤工艺和大规模推广应用提供理论依据。【方法】采用河南农业大学设计的电热式温湿自控密集烤烟箱, 研究纳米涂料处理烤箱(处理)和普通烤箱(对照)对烟草上部叶细胞壁生理生化反应和经济性状的影响。【结果】纳米涂料烤箱烘烤烟叶的果胶甲酯酶(PME)、多聚半乳糖醛酸酶(PG)及纤维素酶活性峰值分别出现在42、48和38℃, 其中PG和纤维素酶活性峰值比对照提前出现, 但烘烤后期细胞壁酶活性均比对照偏低。处理的纤维素含量明显高于对照, 其中烤后样比对照高 $12 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。处理可溶性果胶、原果胶、总果胶含量42℃以后也明显高于对照, 其中处理的总果胶含量在42℃最高, 为6.34%。处理的上等烟和总产值比对照分别增加7.33%和16.56%, 差异均达到极显著水平, 同时单叶重比对照增加0.71 g, 差异显著。【结论】纳米涂料在烘烤过程中对上部叶细胞壁酶活性、组分和经济性状影响显著, 能增加经济效益。

关键词: 纳米涂料; 烤烟; 细胞壁酶活性; 细胞壁组分; 经济性状

Effect of Flue-curing on Enzymes Activities and Components of Cell Wall and Economic Characters of Tobacco Leaves with Nano Coating Barn

WU Sheng-jiang, SONG Zhao-peng, HUO Kai-ling, CHENG Long, WANG Zhan-yi, GONG Chang-rong

(College of Tobacco Science, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002)

Abstract: 【Objective】 The effect of nano coating on the main enzymes activities, components of cell wall and economic characters of tobacco leaves was studied during the flue-curing in order to provide a theoretical basis for optimization of curing technology and its application in large areas. 【Method】 Differences in physiological and biochemical reactions of cell wall and economic characters of upper leaves between the treatment of nano coating and control were studied by using the electric-heated flue-curing barn designed and made by Henan Agricultural University. 【Result】 The peaks of the pectin methylesterase, polygalacturonase and cellulase activities appeared at 42℃, 48℃ and 38℃, respectively. The peaks of the PG and cellulase activities appeared earlier than that of the control, but the enzymes activities of cell wall were lower than the control in the later curing. The content of cellulose in treatment was always obviously higher than the control and the cured sample of treatment was $12 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ higher than the control. The content of soluble pectin, protopectin and total pectin in treatment was also obviously higher than the control when the temperature was higher than 42℃. The highest content of total pectin in treatment was 6.34% at 42℃. High class leaf and total output value in treatment increased by 7.33% and 16.56% respectively as compared with the control and the differences between them were all highly significant. At the same time the weight per leaf was 0.71 g higher than the control and the difference was significant. 【Conclusion】 Nano coating had a great effect on enzymes activities and components of cell wall and economic characters of upper leaves. The result showed that it could improve economic benefit. It has provided a reference for further application of curing technology on the basis of the functions of nano coating and the change rules of physiological and biochemical reactions of cells of tobacco leaves with nano coating barn treatment.

Key words: nano coating; flue-cured tobacco; enzymes activities of cell wall; cell wall components; economic characters

收稿日期: 2009-01-17; 接受日期: 2009-04-24

基金项目: 国家烟草专卖局资助项目(3300806156)

作者简介: 武圣江(1983—), 男, 河南商丘人, 硕士研究生, 研究方向为烟草调制。E-mail: wushengjiang1210@163.com。通信作者宫长荣(1948—), 男, 河南荥阳人, 教授, 博士, 研究方向为烟草调制与加工。E-mail: gongchr009@126.com

0 引言

【研究意义】烤房作为烘烤工艺的载体,是烟叶烘烤的关键设备^[1]。但由于烘烤设备陈旧、调制技术落后等原因,导致烟叶感观质量一般,化学成分不太协调,烟叶品质和可用性降低^[2]。纳米技术是当今世界最有前途的技术之一,运用纳米技术可以将纳米材料研制成多种纳米功能涂料^[3]。据报道,纳米涂料具有改善烤房烘烤性能、降低烘烤成本、明显提高烟叶质量等功效,具有明显的社会效益和经济效益^[4]。不容置疑,纳米涂料在烘烤应用中新的突破,将会给烘烤工艺带来一场新的革命。【前人研究进展】用红外涂料烘烤烟叶,具有缩短烘烤时间、节约能源、提高烟叶产量和质量的明显效果^[5]。中国红外涂料运用于烟叶烘烤始于 20 世纪 90 年代,纳米涂料的发展起步于 20 世纪 90 年代末期,相关研究主要集中在改善涂料的耐候性和抗菌性方面,而在工业用涂料、航空航天用涂料以及功能性涂料的研究开发和产业化方面则落后于发达国家^[3]。近年来,纳米材料开始在卷烟工业中得到初步应用,并取得了一些阶段性成果,而且纳米涂料在烟叶烘烤中也有着广泛的应用前景^[4]。【本研究切入点】纳米涂料是当今高新技术研究的热点之一^[3],具有保温保湿等多种功能。红外涂料对烟叶经济性状的影响虽有研究^[5],但对烘烤中烟叶生理变化的研究还不够深入;有关纳米涂料对烘烤中烟叶经济性状的影响研究较少,尤其是有关纳米涂料对烘烤中烟叶细胞壁酶活性及组分变化影响的研究,国内外尚不多见。【拟解决关键问题】为此,笔者于 2007—2008 年进行了纳米涂料在烤烟烘烤上的应用效果试验,探讨纳米涂料对上部叶生理生化反应和经济性状的影响,旨在为纳米涂料在烤烟烘烤上的大面积推广应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于 2007—2008 年在河南省伊川县白元乡王耆店村进行,品种为新 NC89,试验田土壤肥力中等,规范化栽培管理。选择株高一致,叶片数相等,叶色基本一致,叶片充分开展,有典型“中棵烟”特征的烟株,以上部叶(第 16~18 位叶)为试验材料,依据成熟标准,烟叶成熟时按照叶位单叶采收。

1.2 试验设计和样品制备

选择 6 座河南农业大学设计规格相同的电热式温

湿自控密集烤烟箱,其中 3 座按照要求在装烟室内壁均匀涂抹纳米涂料两遍,另 3 座设为对照。纳米功能涂料由长沙瑞和新材料科技有限公司提供。

试验设计如下: A: 纳米涂料试验烤烟箱(简称处理, T); B: 对照烤烟箱(简称对照, CK)。装烟密度为 $70 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$,按照三段式烘烤工艺烘烤。分别在烟叶烘烤的关键温度点取样两份(烤前鲜样; 38°C 变黄八成叶片发软; 42°C 黄片青筋主脉发软; 48°C 黄片黄筋小卷筒; 54°C 叶片全干大卷筒; 烤后样),切去叶尖和叶基部,留叶中部分。一份用于生理生化指标的测定。另一份在烘箱中 105°C 杀青 5 min, 60°C 烘干、粉碎,过 60 目筛,用于组分的测定。重复 3 次。按照 GB2635—92 烤烟分级标准进行外观质量评价。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 烟叶水分百分含量(MP) 样品在 $100\sim 105^\circ\text{C}$ 的烘箱中烘 2 h,冷却称重。按如下公式计算^[6]:

$$\text{水分百分含量}(\%) = (\text{鲜重} - \text{干重}) / \text{鲜重}$$

1.3.2 果胶甲酯酶(PME)活性 pH 为 7.5, 30°C 恒温水浴,30 min 内所加 NaOH 的当量数就是酶作用后释放出游离羧基的当量数。定义在 30 min 内释放出 1 mmol 的 CH_3O^- 为一个酶单位^[7]。

1.3.3 多聚半乳糖醛酸酶(PG)活性 pH 为 3.5,酶液和果胶溶液 50°C 水浴 2 h,测定半乳糖醛酸的生成量。定义酶活力单位为每小时释放 $1 \mu\text{g}$ 半乳糖醛酸的量^[7-8] ($\text{U}\cdot\text{kg}^{-1}$ 蛋白质)。

1.3.4 纤维素酶活性 pH 值为 5.0, 50°C 水解羧甲基纤维素钠(CMC),在 530 nm 处比色测定,对照标准曲线计算葡萄糖的含量。定义酶活单位为每分钟水解 CMC 释放出 $1 \mu\text{g}$ 葡萄糖所需的酶量^[7] ($\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ 蛋白质)。

1.3.5 果胶 用 721 型分光光度计,在波长 530 nm 处用咪唑比色法测定果胶含量,以半乳糖醛酸表示,对照标准曲线计算其含量^[8]。

1.3.6 纤维素 用 80% 浓硫酸溶解纤维素,在 490 nm 处比色,对照标准曲线计算纤维素含量^[7]。

2 结果与分析

2.1 上部烟叶烘烤过程中细胞壁关键酶活性的变化

2.1.1 PME 活性的变化 PME 的作用是水解果胶分子中甲酯化的羧基,生成多聚半乳糖醛酸和甲醇^[9]。

从图 1 可以看出,处理 PME 活性 38°C 比对照高 $5.11 \text{ U}\cdot\text{kg}^{-1}$,差异极显著, 42°C 均达到峰值,以后逐步下降,但 48°C 后又稍有回升,并且对照 PME 活性 42°C

后逐步高于处理。处理和对照水分百分含量在 42℃ 以前相差不大，其后差距不断拉大；48 和 54℃ 水分含量差值分别为 10.24% 和 12.20%，差异均达到极显著水平。

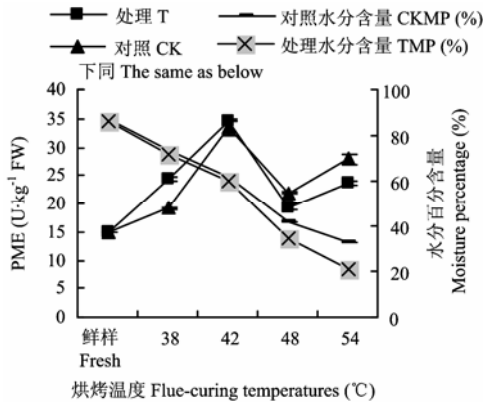


图 1 烘烤过程中 PME 活性和水分百分含量的变化
Fig. 1 Change of PME activity and moisture percentage during the flue-curing

2.1.2 PG 活性的变化 PG 是主要的果胶水解酶之一，能够水解植物细胞壁及胞间层的果胶物质^[10]，在细胞壁降解中起着重要的作用^[11-12]。从图 2 可以看出：处理 PG 活性 38℃ 比对照低 153.98 U·kg⁻¹，42~48℃ 明显高于对照，并在 48℃ 达到峰值，比对照高 108.66 U·kg⁻¹，差异极显著；54℃ 却比对照低 61.83 U·kg⁻¹，差异极显著。

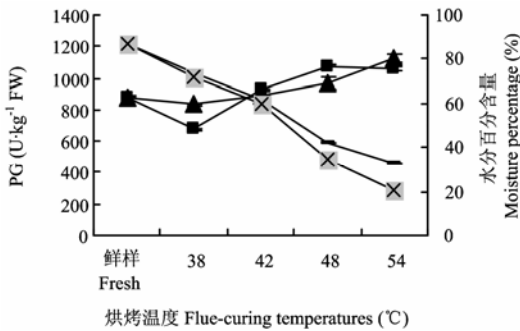


图 2 烘烤过程 PG 活性和水分百分含量的变化
Fig. 2 Change of PG activity and moisture percentage during the flue-curing

2.1.3 纤维素酶活性的变化 纤维素酶在促进纤维素的降解中起到重要的作用^[13]。从图 3 可以看出，

处理在 38℃ 酶活性为 176.23 U·g⁻¹，并达到峰值，与对照差异极显著。对照纤维素酶活性在 42℃ 达到峰值，为 165.01 U·g⁻¹，明显高于处理；42℃ 以后对照纤维素酶活性仍比处理高，且差异极显著。但处理酶活性在烘烤前期明显高于对照，并且要早一个时期。

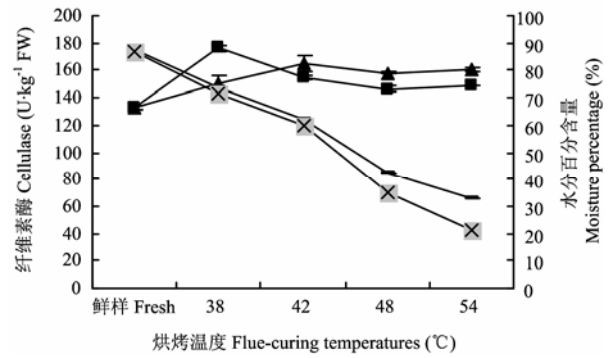


图 3 烘烤过程中纤维素酶活性和水分百分含量的变化
Fig. 3 Change of cellulase activity and moisture percentage during the flue-curing

2.2 上部烟叶烘烤过程中细胞壁主要成分含量的变化

2.2.1 果胶质的变化 烟叶果胶质含量集中在 5%~9% 之间^[14]，从图 4 可以看出，处理和对照可溶性果胶含量在 38℃ 分别为 2.54% 和 2.94%，且差异极显著。处理可溶性果胶含量 42℃ 以后明显高于对照。处理总果胶含量 42℃ 最高，为 6.34%。38℃ 以后处理原果胶、总果胶含量明显高于对照，并在 42℃、54℃

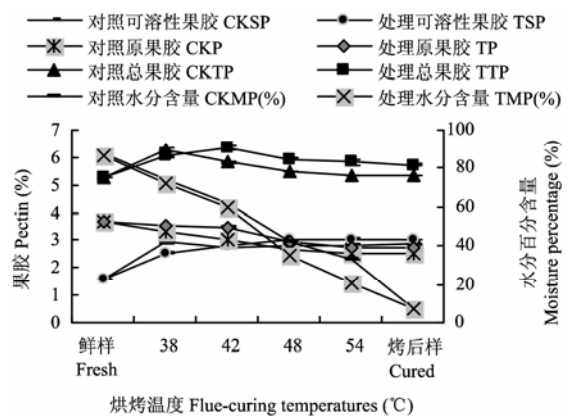


图 4 烘烤过程中果胶质含量和水分百分含量的变化
Fig. 4 Change of pectin content and moisture percentage during the flue-curing

和烤后样差异均达到极显著水平。其中处理总果胶烤后样含量比对照高 0.38%。

2.2.2 纤维素含量的变化 纤维素是构成烟叶细胞组织和骨架的基本物质,它随着烟叶等级的下降而增加^[14]。从图 5 可以看出,在烘烤过程中纤维素含量逐渐降低。38℃处理纤维素含量比对照高 39.81 mg·g⁻¹,差异极显著;42℃二者差距缩小;定色期处理又明显高于对照,烤后样比对照高 12 mg·g⁻¹。相关性分析表明:对照纤维素含量与水分含量呈极显著正相关,相关系数为 0.971,但处理相关性不显著。

2.3 纳米处理对上部烟叶经济性状的影响

由表得知:处理可明显提高上等烟比例,降低下等烟比例,处理上等烟比对照提高 7.33%,差异极显著;中上等烟比对照提高 9.48%,相反处理的下等烟明显低于对照,差异显著。处理单叶均重比对照高 0.71 g,产量比对照高 31.95 kg·hm⁻²,差异均达到显著水平。另外,由于处理明显改善了烟叶的外观质量,提高了

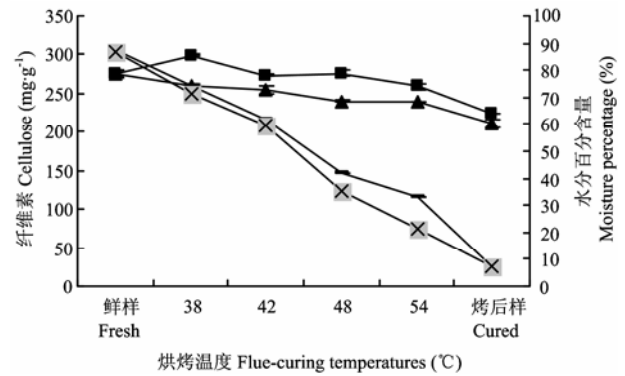


图 5 烘烤过程中纤维素含量和水分百分含量的变化

Fig. 5 Change of cellulose content and moisture percentage during the flue-curing

烟叶等级结构,使处理均价比对照高 1.3 元/kg。处理上部叶(第 16~18 位叶)总产值明显高于对照,在没扣除成本的情况下比对照增加 16.56%,差异极显著。

表 处理对上部叶经济性状的影响及与对照差异显著性分析

Table Economic characters of upper leaves affected by treatment and analysis of the significant differences between the control and treatment

项目 Item	上等烟叶 High class tobacco leaf (%)	中等烟叶 Middle grade tobacco leaf (%)	下等烟叶 Low grade tobacco leaf (%)	单叶重 Weight per leaf (g)	均价 Average price (yuan/kg)	产量 Yield (kg·hm ⁻²)	总产值 Total output value (yuan/hm ²)	总产值增加量 Quantity of total output value increased (%)
对照 CK	28.24A	52.20a	19.56a	12.65a	12.54A	569.25a	7138.70A	
处理 T	35.57B	54.35a	10.08b	13.36b	13.84B	601.20b	8319.71B	16.56

纳米涂料费用未计算入内。同列不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著;同列不同大写字母表示在 0.01 水平上差异显著
The cost of nano coating was not included in this table. The different small letter in the same column means significant differences at 5% level; the different capital letter in the same column means significant differences at 1% level

3 讨论

结果表明,处理能提高烘烤前期 PME、纤维素酶活性,定色后期和干筋期处理 PME、PG、纤维素酶活性由于受水分等因素的限制,不升高反而相对降低。但 PME 活性 48℃后又稍有回升,这可能与烟梗细胞结构被破坏,水分和酶底物变化有关,也可能是 PME 同工酶不同时间表达造成的,具体原因还有待进一步探讨。烘烤中 38、42 和 48℃是处理细胞壁酶活性较高的温度点。在此关键温度点延长烘烤时间,尤其是在 38 和 42℃延长烘烤时间,创造适宜的烘烤环境条件,保持较高的细胞壁酶活性,促使酶降解细胞壁物质,对增进和改善烟叶的内在品质,意义重大。

烘烤中烟叶变黄、失水、塌架、衰老是由细胞壁物质不断降解引起的^[15]。本试验结果表明,处理

在烘烤前期烟叶总果胶质含量较低,但后期相对较高。在整个烘烤中处理纤维素含量相对较高。差异显著性分析表明,处理对烟叶细胞壁酶、组分、水分影响较大,都达到显著水平。处理在烘烤前期为烟叶的生命活动提供了较为均匀的温湿度环境,较高的细胞壁酶活性,能加强烟叶的呼吸强度,促使细胞壁物质降解,促进烟叶变黄和失水,能抑制前期硬变黄和定色后期酶促棕色化反应的发生^[1]。但是,处理前期较高的细胞壁酶活性,加速了烟叶的过度失水和干燥进程,中后期细胞壁酶活性受到了极大限制,不能继续促进细胞壁物质的降解和细胞内生化反应的发生,致使细胞壁物质分解不完全,干物质含量升高,同时也增加了单叶重和产量(表)。

纳米涂料具有光催化、杀菌抑菌、净化空气、保温隔热、耐腐蚀、电磁辐射等功能^[3,16],对处理的经

济性状影响较大。涂料可抑制细菌的繁殖生长, 减少烘烤中烟叶的腐烂比例, 能提高能源的利用效率, 并且能使烤箱的温湿度易于调控。烘烤中随着烤房的升温过程, 电磁辐射传热就会大幅增加, 尤其在变黄期和定色前中期处理酶和组分变化较大, 可能与此相关。电磁辐射传热能穿入到烟叶内部, 加速烟叶内部分子的运动, 缩小烤房内部温差, 使热扩散和湿扩散的速度提高, 使内部水分连续不断地排出, 有助于全面提高烟叶的干燥速度, 缩短烘烤进程, 减少干物质的损失, 进而提高单叶重和产量(表)。

通过试验笔者发现, 细胞壁物质的降解可能还与细胞壁内酶的拮抗作用及各种成分的转化机制有关。另外, 处理对烟叶各种常规化学成分的影响, 对香气物质的生成和含量的影响, 对烟叶安全性的影响等重要评价指标, 目前尚不够全面, 还有待进一步的研究。

4 结论

纳米涂料烤箱对烘烤烟叶的细胞壁酶、组分和水分的影 响十分显著, 且有利于抑制前期烟叶发硬变黄和后期酶促棕色化反应的发生, 但中后期较低的酶活性不利于细胞壁物质的继续降解。该烤箱对上部烟叶的经济性状影响较大, 能增加烟叶产量和总产值, 明显提高烟叶的等级结构和均价, 有助于提高烟叶的干燥速度, 缩短烘烤进程。

References

- [1] 宫长荣. 烟草调制学. 北京: 中国农业出版社, 2003: 53-81, 153-195.
Gong C R. *Tobacco Curing*. Beijing: China Agriculture Press, 2003: 53-81, 153-195. (in Chinese)
- [2] 唐远驹. 关于烟叶的可用性问 题. 中国烟草科学, 2007, 28(1): 1-5.
Tang Y J. Issues of tobacco leaf usability. *Chinese Tobacco Science*, 2007, 28(1): 1-5. (in Chinese)
- [3] 王为宗, 陈 丽. 纳米涂料的研究与发展. 天津化工, 2007, 21(3): 13-15.
Wang W Z, Chen L. The study and development of nano coating. *Tianjin Chemical Industry*, 2007, 21(3): 13-15. (in Chinese)
- [4] 宋朝鹏, 张钦松, 杨 超, 李常军, 宫长荣. 纳米涂料在烟叶烘烤中的应用前景. 作物杂志, 2009, (1): 8-10.
Song Z P, Zhang Q S, Yang C, Li C J, Gong C R. The prospect of application of nanometer paint during the flue-cured tobacco curing. *Crops*, 2009, (1): 8-10. (in Chinese)
- [5] 陆必远, 刘大义. 烤烟远红外烘烤研究. 中国烟草科学, 1998, (3): 44-47.
Lu B Y, Liu D Y. Study on infrared curing technology of flue-cured tobacco. *Chinese Tobacco Science*, 1998, (3): 44-47. (in Chinese)
- [6] 朱广廉, 钟海文, 张爱琴. 植物生理学实验. 北京: 北京大学出版社, 1990: 80-82.
Zhu G L, Zhong H W, Zhang A Q. *Plant Physiology Experiment*. Beijing: Beijing University Press, 1990: 80-82. (in Chinese)
- [7] 宁正祥. 食品成分分析手册. 北京: 中国轻工业出版社, 1998: 45-49, 690-693.
Ning Z X. *Food Ingredient Analysis*. Beijing: China Light Industry Press, 1998: 45-49, 690-693. (in Chinese)
- [8] 韩雅珊. 食品化学实验指导. 北京: 北京农业大学出版社, 1992: 32-33, 109-111.
Han Y S. *A Laboratory Guidance of Food Chemistry*. Beijing: Beijing Agricultural University Press, 1992: 32-33, 109-111. (in Chinese)
- [9] Hagerman A E, Austin P J. Continuous spectrophotometric assay for plant pectinmethylesterase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1986, 34(3): 440-444.
- [10] Fischer R L, Bennett A B. Role of cell wall hydrolases in fruit ripening. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1991, 42: 675-703.
- [11] Yamada T, Kuroda K, Jitsuyama Y, Takezawa D, Arakawa K, Fujikawa S. Roles of the plasma membrane and the cell wall in the responses of plant cells to freezing. *Planta*, 2002, 215 (5): 770-778.
- [12] 林河通, 席焜芳, 陈绍军. 黄 花梨果实采后软化生理基础. 中国农业科学, 2003, 36(3): 349-352.
Lin H T, Xi Y F, Chen S J. Postharvest softening physiological mechanism of huanghua pear fruit. *Scientia Agricultura Sinica*, 2003, 36(3): 349-352. (in Chinese)
- [13] Huber D J. Strawberry fruit softening: the potential roles of polyuronides and hemicelluloses. *Journal of Food Science*, 1984, 49(5): 1310-1315.
- [14] 闫克玉, 闫洪洋, 李兴波, 毛文龙, 薄云川. 烤烟烟叶细胞壁物质的对比分析. 烟草科技, 2005, (10): 6-11.
Yan K Y, Yan H X, Li X B, Mao W L, Bo Y C. Comparative analysis of cell wall substances in flue-cured tobacco leaf. *Tobacco Science & Technology*, 2005, (10): 6-11. (in Chinese)
- [15] Jiang Y M, Zhang Z Q, Joyce D C, Ketsa S. Postharvest biology and handling of longan fruit (*Dimocarpus longan* Lour.). *Postharvest Biology and Technology*, 2002, 26(3): 241-252.
- [16] Prashant J, Pradeep T. Potential of silver nanoparticle-coated polyurethane foam as an antibacterial water filter. *Biotechnology and Bioengineering*, 2005, 90(1): 59-63.

(责任编辑 郭银巧)