

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

贺帆¹, 王涛², 王战义³, 史龙飞⁴, 杨晓亮¹, 官长荣¹

1 河南农业大学烟草学院, 郑州 450002;

2 曲靖市烟草公司师宗分公司, 曲靖 655700;

3 安徽华环国际烟草有限公司, 滁州 233121;

4 四川烟叶复烤有限责任公司, 成都 610041

摘要: 为合理调控烟叶蛋白质含量、提高烟叶质量, 研究不同温湿度对烟叶蛋白质降解和蛋白酶、内肽酶、谷草转氨酶、谷丙转氨酶活性的变化规律。结果表明, 密集烘烤过程中, 变黄期不同温湿度下烟叶水分、蛋白质、氨基酸及其相关酶活性的变化规律基本一致; 水分和蛋白质含量呈下降趋势, 氨基酸含量一直增加, 蛋白酶和内肽酶活性呈先升高后降低而后再升高的“双峰曲线”变化; 谷丙转氨酶和谷草转氨酶活性在烘烤开始时有小幅度增加, 并出现一个小的峰值, 然后呈下降趋势, 从60 h起急剧升高并达到最大值; 且内肽酶活性与可溶性蛋白质相关性显著, 和游离氨基酸相关性极显著; 谷丙转氨酶只和游离氨基酸相关性显著。密集烘烤低温中湿变黄处理烟叶中性蛋白酶、内肽酶、谷草转氨酶和谷丙转氨酶活性高且作用时间较长, 有利于烟叶内蛋白质的降解和氨基酸的合理转化。

关键词: 密集烘烤; 烟叶; 蛋白质; 氨基酸; 内肽酶; 转氨酶

doi:10.3969/j.issn.1004-5708.2014.05.013

中图分类号: S572.09

文献标志码: A

文章编号: 1004-5708 (2014) 05-0080-07

Effects of temperature and humidity on protein degradation and related enzyme activities in tobacco leaf in yellowing stage

HE Fan¹, WANG Tao², WANG Zhanyi³, SHI Longfei⁴, YANG Xiaoliang¹, GONG Changrong¹

1 College of Tobacco Science, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China;

2 Qujing Shizong Tobacco Company, Qujing 655700, China;

3 Huahuan International Tobacco Limited Company, Chuzhou 233121, China;

4 Sichuan Tobacco Leaf Redrying Co. Ltd., Chengdu 610041, China

Abstract: Effects of temperature and humidity on protein degradation and activity of protease, endopeptidase, glutamic oxaloacetic transaminase(GOT), glutamic pyruvic transaminase(GPT) were studied. Results showed that the variation trend of content of water, protein and amino acid and related enzyme activities was similar under different temperature and humidity in yellowing stage. Contents of water and protein showed downward trend. Content of amino acid showed rising trend. Activities of protease and endopeptidase displayed the bimodal curve. Activities of GOT and GPT increased a little at the start of yellowing before showing downward trend, and then increased drastically from 60h. Endopeptidase activity exhibited significant and highly significant relation with soluble protein and free amino acid respectively. GPT activity had significant relation only with free amino acid. Low temperature and average humidity could enable higher activities and longer action time of protease, endopeptidase, GOT and GPT in tobacco leaves in yellowing stage, thus favorable for protein degradation and rational conversion of amino acid.

Keywords: bulk curing; tobacco leaves; protein; amino acid; endopeptidase; transaminase

基金项目: 国家烟草专卖局重大专项资助项目 (TS-01-2011006)

作者简介: 贺帆 (1975—), 博士, 副教授, 主要从事烟草调制与加工研究, Email: hefanyc@163.com

通讯作者: 官长荣 (1948—), 教授, 博士生导师, 主要从事烟草调制与加工研究, Email:gongchr009@126.com

收稿日期: 2013-09-25

蛋白质既是细胞结构的重要组分也是细胞生物功能的执行者^[1]。而烟叶内的蛋白质对于其吸味品质却有不利的影响；烟叶内的蛋白质含量过高，燃吸时会产生如同燃烧羽毛的臭味，辛辣和苦涩的感觉增加；但蛋白质降解产生的氨基酸能与还原糖类发生酶催化或非酶催化反应或其自身可直接分解形成一系列对烟叶品质有利的香味物质^[2]。目前，相关研究指出，烘烤前通过苗期适当剪叶^[3]、田间光照强度^[4]和光质变化^[5]，烤后通过喷施微生物^[6]或酶制剂^[7]均能一定程度上降低烟叶蛋白质含量。目前普遍认为，烘烤过程中烟叶蛋白质降解量为鲜烟叶的60%以上。因此，通过合理调控密集烘烤环境对促进烟叶内蛋白质的降解和烟叶品质的提高具有重要意义。宫长荣^[8-9]等研究表明，烘烤环境温湿度对烟叶蛋白酶活性具有重要影响，而蛋白酶的活性对蛋白质的降解和氨基酸的积累影响显著。目前，植物体内蛋白质的降解被普遍认为先由内肽酶起作用，将蛋白质水解成小肽，再由外肽酶将小肽水解成氨基酸^[10-11]。同时植物体内的转氨酶对氨基酸的种类和含量有重要影响^[12]。但有关密集烘烤过程中烘烤环境温湿度对蛋白质和氨基酸含量及其与蛋白酶、内肽酶和转氨酶活性变化关系的研究鲜有报道。本试验通过研究密集烘烤条件下不同变黄温湿度对烟叶蛋白质降解规律及其相关酶活性的变化关系，旨在为特色优质烟叶烘烤关键技术优化和提高烟叶质量提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于2010~2011年在河南省许昌市襄城县王洛镇谢庄村进行，试验田土壤肥力中等。供试品种中烟100，5月10日移栽，行距120 cm，株距50 cm，田间管理按优质烤烟栽培生产技术规范进行。以中部叶（第9~12位叶）为试验材料，烟叶成熟时按照叶位进行采收。

1.2 试验设计

采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，烘烤时装烟密度 $65 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$ 。变黄期共设置6个处理，T1：低温低湿变黄（变黄期干球温度 38°C ，相对湿度75%~70%）；T2：低温中湿变黄（变黄期干球温度 38°C ，相对湿度85%~80%）；T3：低温高湿变黄（变黄期干球温度 38°C ，相对湿度95%~90%）；T4：高温低湿变黄（变黄期干球温

度 40°C ，相对湿度75%~70%）；T5：高温中湿变黄（变黄期干球温度 40°C ，相对湿度85%~80%）；T6：高温高湿变黄（变黄期干球温度 40°C ，相对湿度95%~90%）。处理开始前与结束后按照三段式烘烤技术进行正常烘烤。每个处理分别于烘烤过程中每隔12h取一次样，切去叶尖和叶基部，留叶中部分，用于水分、蛋白质、氨基酸含量和相关酶活性的测定。

1.3 测定项目与方法

水分含量的测定采用烘干称重法^[13]，可溶性蛋白和游离氨基酸含量分别采用考马斯亮兰和茚三酮比色法测定^[14]，中性蛋白酶活性采用段辉国方法改进后测定^[15]，内肽酶活性参照Reimerdes的方法^[16]，转氨酶活性采用吴良欢方法测定^[17]。

1.4 数据处理

采用Microsoft Excel进行数据处理和绘图，用SPSS17.0进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 烘烤过程中烟叶水分含量的变化

由图1可知，烘烤过程中，变黄期不同温湿度处理烟叶水分含量变化趋势相同。在0~24 h平均失水速度为 $0.16\%/h$ ，24 h~84 h平均失水速度为 $0.99\%/h$ 。各处理之间，失水量和失水速度 $T4>T5>T6>T1>T2>T3$ 。其中，高温变黄的3个处理烟叶失水速度和失水量明显高于低温变黄；而相同变黄温度下，低湿处理的烟叶水分变化明显快于中湿处理和高湿处理。84 h以后叶片基本干燥，失水速度明显减慢，各处理之间差异明显减小。

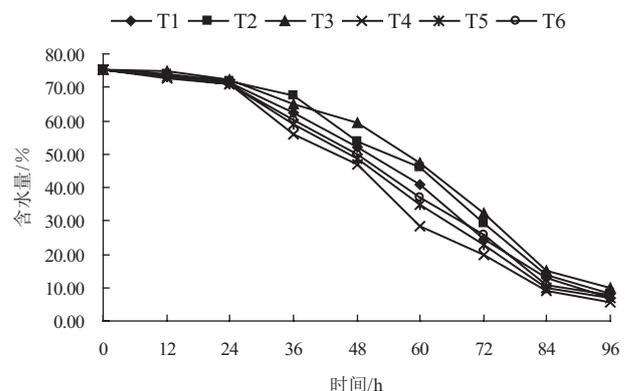


图1 烘烤过程中烟叶水分含量变化

Fig. 1 Changes of water content in tobacco leaves during flue-curing

2.2 烘烤过程中烟叶蛋白质和氨基酸含量变化

2.2.1 烘烤过程中可溶性蛋白质含量变化

密集烘烤过程中,烟叶中可溶性蛋白质含量逐渐降低。由图2-1可知,可溶性蛋白质降解速度呈现“慢~快~慢”的变化规律。高温变黄条件下,可溶性蛋白质降解程度低,不同湿度处理的可溶性蛋白质含量高于低温各处理。低温变黄条件3个湿度处理中以中湿变黄处理可溶性蛋白质分解最多,可溶性蛋白质含量最低。

2.2.2 烘烤过程中游离氨基酸含量变化

由图2-2可知,密集烘烤环境变黄期温湿度条件对烘烤游离氨基酸的变化速度和含量影响显著。随着烘烤进程的推进,6个变黄温湿度处理游离氨基酸的含量均呈上升趋势,但上升幅度不同。其中游离氨基酸含量都在0~36 h缓慢上升,各处理间差异不大,36 h后游离氨基酸含量急剧上升。在低温变黄条件下,游离氨基酸含量积累较多,烟叶内游离氨基酸含量T2>T3>T1。在高温变黄条件下,3个湿度处理游离氨基酸含量上升幅度不大,积累较少。

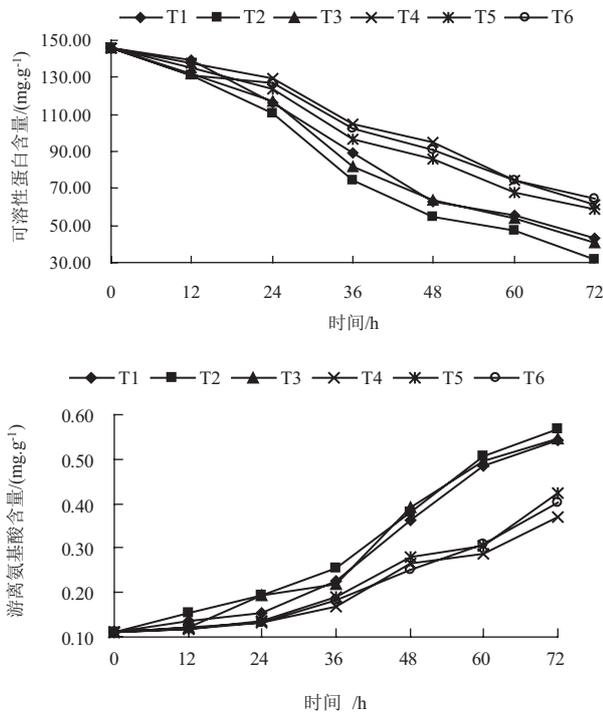


图2 烘烤过程中可溶性蛋白质和游离氨基酸含量变化
Fig. 2 Changes of soluble protein and free amino acid during flue-curing

2.3 烘烤过程中烟叶蛋白质降解相关酶活性变化

2.3.1 烘烤过程中中性蛋白酶活性变化

由图3可知,密集烘烤过程中各处理之间烟叶中性蛋白酶活性变化趋势基本一致,呈先升高后降低再升高的“双峰曲线”。其中,在低温变黄条件下,蛋白酶活性在烘烤的开始阶段较低,随着烘烤进程的推进,酶活性不断升高,24 h后达到第1个峰值,此后略有降低,但不久又重新上升,在60 h左右达到第2个峰值。在高温条件下,烘烤开始中性蛋白酶活性急剧上升,在12 h后达到高峰,随后急剧下降;在48 h时出现第2个高峰,但是上升幅度很小;高温变黄处理中性蛋白酶活性的峰值比低温变黄处理提前12 h左右出现。在相同变黄温度条件下,不同湿度处理之间酶活性呈现相同的规律,但酶活性之间略有差异;其中在24 h及以后均以T2处理酶活性较高;T4、T5和A6处理酶活性除12 h前后酶活性较高外,24 h后酶活性均较低。

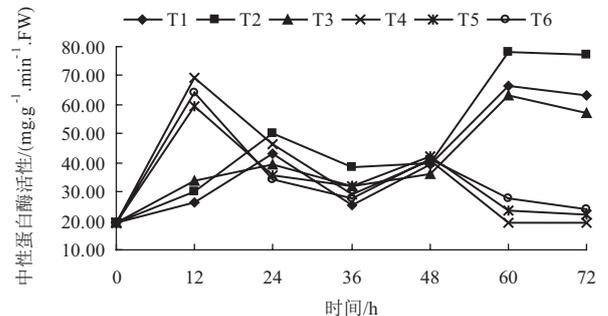


图3 烘烤过程中中性蛋白酶活性变化

Fig. 3 Changes of neutral protease activity during flue-curing

2.3.2 烘烤过程中内肽酶活性变化

对密集烘烤过程中烟叶内肽酶活性进行分析表明(图4),内肽酶活性与中性蛋白酶活性的变化趋势相似,呈先升高然后降低而后再升高的“双峰曲线”变化。烘烤过程中变黄期的温湿度条件对内肽酶活性影响较大,在低温变黄条件下,内肽酶活性逐渐升高,24 h后达到第1个峰值,此后稍有降低,但不久又逐渐升高,在60 h左右达到第2个高峰。在高温变黄条件下,内肽酶失活较快,活性较低;烘烤开始后,3个处理在12 h左右就出现一个高峰,但随后急剧下降,虽在48 h时略有上升,但酶活性较低。在相同变黄温度条件下,不同湿度处理间酶活性大小略有差异;在中湿变黄条件下,内肽酶活性总体维持较高,24 h以后以T2酶活性最高,T3其次,T1最低;在

高温变黄条件下, 12 h 以后内肽酶活性较低且维持时间较短, 但也以中湿处理酶活性略高。

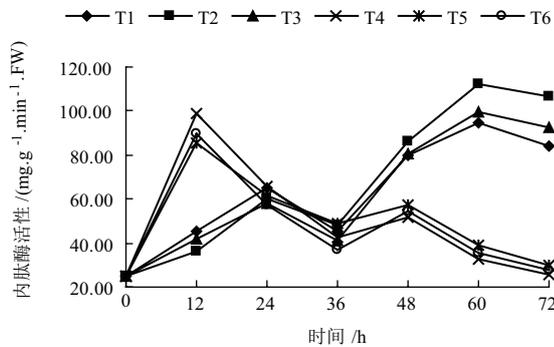


图4 烘烤过程中内肽酶活性变化

Fig.4 Changes of endopeptidase activity during flue-curing

2.3.3 烘烤过程中转氨酶活性变化

转氨酶催化氨基酸和丙酮酸之间的氨基转移反应, 是生物体内蛋白质代谢的关键酶之一, 谷草转氨酶 (GOT) 可以催化 L- 谷氨酸与草酰乙酸合成 L- 天门冬氨酸, 谷丙转氨酶 (GPT) 催化谷氨酸与丙酮酸合成丙氨酸。

2.3.3.1 烘烤过程中谷草转氨酶活性变化

密集烘烤过程中烟叶内谷草转氨酶活性变化呈先升高后下降而后再升高的趋势 (图 5-1)。其中, 低温变黄的 3 个不同湿度处理均在 36 h 时达到第 1 个峰值, 然后下降, 并在 72 h 时达到第 2 个峰值并为最大; 高温变黄的 3 个不同湿度处理在 24 h 时达到峰值, 也在 72 h 达到第 2 个峰值并为最大; 且整个烘烤过程中高温变黄处理酶活性整体上较低温变黄偏低。在高温条件下, 谷草转氨酶活性上升, 在 24 h 后达到一个高峰随之下降, 虽在 72 h 出现第 2 个高峰, 但是上升幅度不大。在相同变黄温度条件下, 不同湿度处理的酶活性略有差异; 其中相同变黄温度的中湿变黄处理谷草转氨酶活性明显高于低湿和高湿处理。各个处理中以低温中湿变黄条件 (T2) 下, 谷草转氨酶活性总体维持较高。

2.3.3.2 烘烤过程中谷丙转氨酶活性变化

由图 5-2 可知, 密集烘烤过程中谷丙转氨酶活性与谷草转氨酶活性变化相似, 在烘烤开始时有小幅度增加, 并出现一个小的峰值, 然后呈下降趋势, 从 60 h 起急剧升高并达到最大值。其中, 低温变黄的 3 个处理在 36 h 时达到第 1 个峰值, 而高温变黄的 3 个处理在 24 h 时达到第 1 个峰值; 且 24 h 以前低温变黄的 3 个处理烟叶谷丙转氨酶活性整体上较高温变

黄处理略低, 24 h 以后整体上以低温变黄处理酶活性较高; 而 6 个处理中又以低温中湿变黄 (T2) 处理整体酶活性最高。相同变黄温度的不同湿度下, 低温变黄, 整体上以中湿处理烟叶酶活性最高, 其次为高湿处理; 高温变黄, 整体上也以中湿处理烟叶酶活性最高, 但在 48 h 以前以低湿处理其次, 48 h 以后高湿处理烟叶酶活性略高于低湿处理。

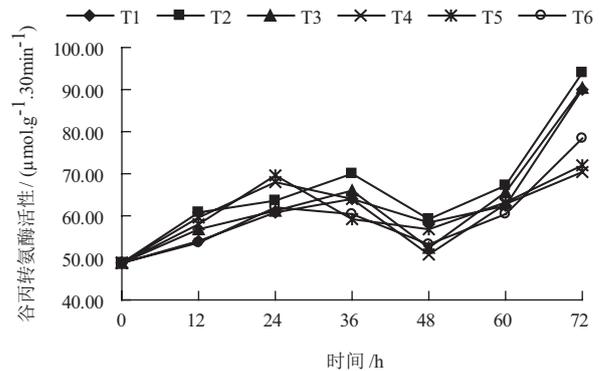
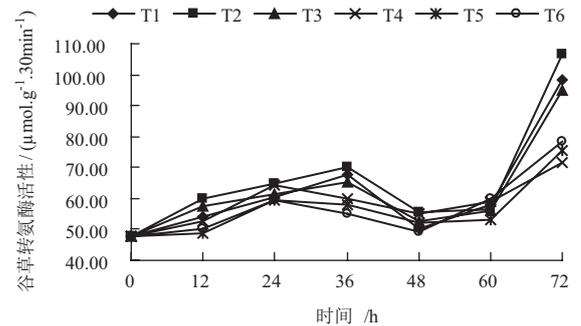


图5 烘烤过程中转氨酶活性变化

Fig.5 Changes of glutamic pyruvic transaminase activity during flue-curing

2.4 烘烤过程中烟叶蛋白质降解与相关酶活性的关系

对烘烤过程中烟叶可溶性蛋白质、游离氨基酸与相关酶活性进行相关分析 (表 1) 可知, 不同处理间蛋白质降解相关组分与其酶活性之间相关性存在明显差异, 低温变黄 3 个处理的相关性明显优于高温变黄的 3 个处理。其中低温变黄不同湿度 3 个处理, 含水量与谷草转氨酶活性均呈负相关但不显著, 与谷丙转氨酶活性显著负相关, 与可溶性蛋白质和游离氨基酸含量成绩显著相关; T1 和 T2 处理的含水量与中性蛋白酶活性相关性不显著, 但 T3 呈显著负相关; 中性蛋白酶活性与谷草转氨酶和谷丙转氨酶活性之间相关性不显著, 与可溶性蛋白质之间呈负相关且相关性较高, 与内肽酶呈极显著相关, 而与游离氨基酸呈显著

正相关；内肽酶活性与谷草转氨酶和谷丙转氨酶活性之间相关性不显著，与可溶性蛋白质均呈显著负相关，T1处理中与游离氨基酸含量呈显著正相关，但在T2和T3处理中呈极显著正相关；谷草转氨酶活性与谷丙转氨酶活性均呈极显著正相关，但与可溶性蛋白质和游离氨基酸相关性均不显著；T1和T2处理谷丙转

氨酶活性与可溶性蛋白质之间相关性均不显著，与游离氨基酸显著正相关，T3处理的谷丙转氨酶活性与可溶性蛋白质和游离氨基酸相关性不显著；可溶性蛋白质与游离氨基酸含量之间极显著负相关；且高温变黄3个处理，可溶性蛋白质与游离氨基酸也呈极显著负相关。

表1 烟叶蛋白质降解与相关酶活性的关系

Tab. 1 Relationship between protein degradation and different enzymes activities

处理	指标	含水量	可溶性蛋白质	游离氨基酸	中性蛋白酶	内肽酶	谷草转氨酶	谷丙转氨酶
T1	含水量	1.000	0.933**	-0.986**	-0.811	-0.869*	-0.733	-0.845*
	可溶性蛋白质	0.933**	1.000	-0.954**	-0.732	-0.856*	-0.583	-0.734
	游离氨基酸	-0.986**	-0.954**	1.000	0.831*	0.884*	0.618	0.755*
	中性蛋白酶	-0.811	-0.732	0.831*	1.000	0.935**	0.162	0.565
	内肽酶	-0.869*	-0.856*	0.884*	0.935**	1.000	0.135	0.625
	谷草转氨酶	-0.733	-0.583	0.618	0.162	0.135	1.000	0.975**
	谷丙转氨酶	-0.845*	-0.734	0.755*	0.565	0.625	0.975**	1.000
T2	含水量	1.000	0.902**	-0.979**	-0.787	-0.959**	-0.693	-0.803*
	可溶性蛋白质	0.902**	1.000	-0.950**	-0.729	-0.885*	-0.572	-0.736
	游离氨基酸	-0.979**	-0.950**	1.000	0.840*	0.970**	0.596	0.756*
	中性蛋白酶	-0.787	-0.729	0.840*	1.000	0.893*	0.209	0.666
	内肽酶	-0.959**	-0.885*	0.970**	0.893*	1.000	0.008	0.505
	谷草转氨酶	-0.693	-0.572	0.596	0.209	0.008	1.000	0.961**
	谷丙转氨酶	-0.803*	-0.736	0.756*	0.666	0.505	0.961**	1.000
T3	含水量	1.000	0.912**	-0.959**	-0.834*	-0.898*	-0.745	-0.837*
	可溶性蛋白质	0.912**	1.000	-0.951**	-0.719	-0.848*	-0.574	-0.682
	游离氨基酸	-0.959**	-0.951**	1.000	0.824*	0.955**	0.564	0.682
	中性蛋白酶	-0.834*	-0.719	0.824*	1.000	0.897*	0.247	0.658
	内肽酶	-0.898*	-0.848*	0.955**	0.897*	1.000	0.030	0.393
	谷草转氨酶	-0.745	-0.574	0.564	0.247	0.030	1.000	0.967**
	谷丙转氨酶	-0.837*	-0.682	0.682	0.658	0.393	0.967**	1.000
T4	含水量	1.000	0.991**	-0.977**	0.444	0.400	-0.638	-0.422
	可溶性蛋白质	0.991**	1.000	-0.967**	0.392	0.352	-0.678	-0.459
	游离氨基酸	-0.977**	-0.967**	1.000	-0.355	-0.346	0.639	0.358
	中性蛋白酶	0.444	0.392	-0.355	1.000	0.990**	0.054	0.206
	内肽酶	0.400	0.352	-0.346	0.990**	1.000	0.116	0.310
	谷草转氨酶	-0.638	-0.678	0.639	0.054	0.116	1.000	0.895**
	谷丙转氨酶	-0.422	-0.459	0.358	0.206	0.310	0.895**	1.000

续表 1

T5	含水量	1.000	0.971**	-0.987**	0.252	0.233	-0.664	-0.555
	可溶性蛋白质	0.971**	1.000	-0.949**	0.191	0.148	-0.631	-0.572
	游离氨基酸	-0.987**	-0.949**	1.000	-0.191	-0.190	0.714	0.564
	中性蛋白酶	0.252	0.191	-0.191	1.000	0.970**	-0.134	0.160
	内肽酶	0.233	0.148	-0.190	0.970**	1.000	0.063	0.385
	谷草转氨酶	-0.664	-0.631	0.714	-0.134	0.063	1.000	0.821*
	谷丙转氨酶	-0.555	-0.572	0.564	0.160	0.385	0.821*	1.000
T6	含水量	1.000	0.976**	-0.996**	0.194	0.287	-0.757*	-0.737
	可溶性蛋白质	0.976**	1.000	-0.960**	0.108	0.190	-0.692	-0.702
	游离氨基酸	-0.996**	-0.960**	1.000	-0.172	-0.264	0.787*	0.765*
	中性蛋白酶	0.194	0.108	-0.172	1.000	.978**	-0.239	-0.109
	内肽酶	0.287	0.190	-0.264	0.978**	1.000	-0.139	-0.012
	谷草转氨酶	-0.757*	-0.692	0.787*	-0.239	-0.139	1.000	0.986**
	谷丙转氨酶	-0.737	-0.702	0.765*	-0.109	-0.012	0.986**	1.000

注: * 表示相关性有统计学意义 ($P < 0.05$), ** 表示相关性有高度统计学意义 ($P < 0.01$)。

3 讨论

密集烘烤是使烟叶在人为创造的环境中实现其脱水干燥和生理生化变化相统一,从而最大程度的彰显烟叶质量特色。相关研究^[18-20]认为,密集烘烤变黄期是烟叶内生理生化反应最剧烈的阶段,是淀粉、蛋白质和色素等大分子物质降解的关键时期;因此,变黄期的温湿度对烟叶质量具有重要影响。研究结果表明,烘烤过程中,不同变黄温湿度下烟叶水分、蛋白质及其相关酶活性的变化规律基本一致;水分和蛋白质含量呈下降趋势,氨基酸含量一直增加,蛋白质酶活性均双峰曲线变化。其中,李常军^[21]、曾志三^[22]等研究结果也表明,烘烤过程中蛋白酶活性呈先升后降再升的变化趋势,氨基酸含量随着蛋白质含量的下降呈上升趋势。不同变黄温湿度处理下,高温变黄处理烟叶失水量和失水速度明显增加;中性蛋白酶活性虽在 12 h 时达到峰值,但随后急剧下降;而蛋白质和氨基酸的降解速度和增加积累量明显较低温变黄处理较低。这主要是由于高温下变黄,烟叶失水率高,膜脂过氧化作用较强,变黄持续时间短,失水速度快;低温变黄下,呼吸代谢旺盛,膜脂过氧化作用较弱,变黄持续时间长,有利于生理生化反应的进

行^[23]。且李常军等^[8]研究结果也表明,高温变黄条件下,烟叶蛋白酶失活较快,导致蛋白质降解缓慢,降解量少,氨基酸积累速度较慢,积累量少。而相同变黄温度下,高湿处理水分散失速度和散失量虽然较小,但酶活性较低;中湿处理下其中性蛋白酶活性较高,蛋白质降解较快,氨基酸积累量多。但李常军等^[9]认为在高湿的环境下有利于蛋白质降解和氨基酸的积累。这主要是由于,李常军等试验较早,是以普通烤房为标准,装烟密度较小;而本试验是以现行密集烘烤为标准,装烟密度大。

目前普遍认为,植物叶片中蛋白质含量下降的直接原因是由于内肽酶活性增强的结果^[24-26]。而谷草转氨酶和谷丙转氨酶主要承担转氨作用,调节氮元素从谷氨酸向其他氨基酸转移^[27]。研究结果表明,烘烤过程中烟叶内肽酶活性与中性蛋白酶活性相似,呈先升高然后降低而后再升高的“双峰曲线”变化;谷丙转氨酶与谷草转氨酶活性在烘烤开始时有小幅度增加,并出现一个小的峰值,然后呈下降趋势,从 60 h 起急剧升高并达到最大值;且内肽酶活性与可溶性蛋白质相关性显著,和游离氨基酸相关性极显著;谷丙转氨酶只和游离氨基酸相关性显著。而在其他作物的研究^[28-29]中也证明,通过相关农业措施提高作物体

内内肽酶活性能够显著促进可溶性蛋白质降解和氨基酸的积累。

4 结论

密集烘烤低温中湿变黄处理烟叶所处的逆境胁迫程度较轻, 烟叶中性蛋白酶、内肽酶、谷草转氨酶和谷丙转氨酶活性高且作用时间较长, 有利于烟叶内含氮化合物的降解。而蛋白质经过蛋白酶和内肽酶的分解转化后, 转氨酶的活性迅速提高, 叶内的氨基酸得到合理的转化, 从而有利于烟叶质量的提高。

参考文献

- [1] 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.
- [2] 宫长荣. 烟草调制学[M]. 2版. 北京: 中国农业出版社, 2011: 186-194.
- [3] 邓世媛, 谢文婷, 罗福命, 等. 苗期剪叶次数对烤烟大田生长氮代谢的影响[J]. 华北农学报, 2012, 27(3): 208-212.
- [4] 王丹, 杨虹琦, 周冀衡, 等. 光照强度昼变化对烟叶蔗糖转化酶和蛋白酶活性的影响[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2007, 33(3): 294-297.
- [5] 陈伟, 蒋卫, 梁贵林, 等. 光质对烤烟生长发育、主要经济性状和品质特征的影响[J]. 生态环境学报, 2011, 20(12): 1860-1866.
- [6] 冯志珍, 陈太春, 胡喜怀, 等. 烟叶表面高效降解蛋白质芽孢杆菌的分析筛选及其鉴定[J]. 中国烟草学报, 2012, 18(1): 101-105.
- [7] 谢会雅, 朱列书, 牛艳丽, 等. 利用酶制剂降解烤烟烟叶中淀粉和蛋白质的研究[J]. 中国烟草科学, 2008, 29(6): 23-26.
- [8] 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.
- [9] 李常军, 宫长荣, 陈江华, 等. 烘烤湿度条件对烟叶氮代谢的影响[J]. 华北农学报, 2001, 16(2): 141-144.
- [10] Rui Q, Xu L L. Characterization of endopeptidases during wheat leaf senescence[J]. Acta Botanica Sinica, 2003, 45: 1049-1054.
- [11] 芮琪, 张鹏, 董汉松, 等. 小麦叶片衰老期间内肽酶同工酶的变化[J]. 江苏农业学报, 2010, 26(4): 686-690.
- [12] 谢桂先, 刘强, 荣湘民, 等. 不同栽培法对食用稻子粒氨基酸含量的影响及其机理初探[J]. 植物营养与肥料学报, 2007, 13(5): 781-788.
- [13] 李合生, 孙群, 赵世杰. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [14] 白宝璋. 植物生理学测试技术[M]. 北京: 中国科学出版社, 1990.
- [15] 段辉国. 亚精胺对小麦离体叶片中蛋白质含量与蛋白酶的影响[J]. 四川师范学院学报, 2000, 21(1): 44-47.
- [16] Reimerdes E H, Klostermeyer H. [3] Determination of proteolytic activities on casein substrates[J]. Methods in Enzymology, 1976, 45: 26-28.
- [17] 吴良欢, 蒋式洪, 陶勤南. 植物转氨酶(GOT和GPT)活度比色测定方法及其应用[J]. 土壤通报, 1998, 29(3): 136-138.
- [18] 宋朝鹏, 宫长荣, 武圣江, 等. 密集烘烤过程中烤烟细胞生理和质地变化[J]. 作物学报, 2010, 36(11): 1967-1973.
- [19] 武圣江, 宋朝鹏, 贺帆, 等. 密集烘烤过程中烟叶生理指标和物理特性及细胞超微结构变化[J]. 中国农业科学, 2011, 44(1): 125-132.
- [20] 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.
- [21] 李常军, 宫长荣, 李锐, 等. 烘烤过程中烟叶蛋白质与硝态氮代谢规律研究[J]. 河南农业大学学报, 2000, 34(1): 47-49.
- [22] 曾志三. 不同变黄环境对烤烟蛋白酶活性及其他几种化学组分的影响[D]. 贵州大学, 2008.
- [23] 董志坚, 陈江华, 宫长荣. 烟叶烘烤过程中不同变黄和定色温度下主要化学组成变化的研究[J]. 中国烟草科学, 2000, (3): 21-24.
- [24] 张鹏, 王飞, 张列峰, 等. 丝氨酸内肽酶在黄瓜叶片衰老中的作用[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2006, 32(5): 593-599.
- [25] Buchanan-Wollaston V, Ainsworth C. Leaf senescence in Brassica napus: cloning of senescence related genes by subtractive hybridization[J]. Plant Mol Biol, 1997, 33: 821-834.
- [26] Beers E P, Woffenden B J, Zhao C S. Plant proteolytic enzymes: possible roles during programmed cell death[J]. Plant Mol Biol, 2000, 44: 399-415.
- [27] 范雪梅, 姜东, 戴廷波, 等. 花后干旱和渍水下氮素供应对小麦籽粒蛋白质和淀粉积累关键调控酶活性的影响[J]. 中国农业科学, 2005, 38(6): 1132-1141.
- [28] 丛日晨, 赵喜亭, 高俊平. 失水胁迫对切花月季‘贝拉米’内肽酶的影响[J]. 园艺学报, 2003, 30(3): 352-354.
- [29] 邱然, 杨文洲, 张春玲, 等. 萌发大麦种子内肽酶活力、醇溶蛋白及氨基酸含量变化[J]. 食品与生物技术学报, 2007, 26(5): 48-52.