

# 不同调制方法对晒黄烟叶绿素降解和脂氧合酶活性的影响

刘国庆<sup>1</sup>, 魏建荣<sup>1</sup>, 招启柏<sup>1</sup>, 胡钟胜<sup>1</sup>, 张天兵<sup>1</sup>, 杨奋宇<sup>1</sup>, 符云鹏<sup>2</sup>

1 江苏中烟工业有限责任公司, 南京 210019;

2 河南农业大学, 郑州 450002

**摘要:** 为提高晒黄烟外观质量, 以湖南宁乡晒黄烟全晒方法为对照, 在全晒过程中分别引入捂晒、烤晒的方法, 研究了调制过程中叶绿素 a、叶绿素 b 和脂氧合酶 (LOX) 活性的变化。结果表明: 烤晒可以提高 LOX 的活性峰值, 捂晒可以有效延长 LOX 作用时间。叶绿素 a 含量、叶绿素 b 含量与 LOX 活性均呈显著负相关关系。三种调制方式叶绿素降解发生的阶段不同, 但调制结束时降解率均达到 90% 以上, 相对而言, T1 捂晒效果最好, 调制结束叶绿素总量为  $0.05 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{DW}$ , 降解率为 97.73%。

**关键词:** 晒黄烟; 脂氧合酶; 叶绿素

**引用本文:** 刘国庆, 魏建荣, 招启柏, 等. 不同调制方法对晒黄烟叶绿素降解和脂氧合酶活性的影响 [J]. 中国烟草学报, 2015, 21 (2)

晒黄烟是我国特有的晾晒烟类型之一<sup>[1]</sup>, 也是我国发展“中式卷烟”的特色原料之一<sup>[2-3]</sup>。湖南宁乡晒黄烟属于浅色晒烟, 在混合型卷烟、烤烟型卷烟配方中都可适量配用<sup>[4]</sup>, 在烤烟型卷烟中还能使焦油量降低<sup>[5]</sup>。目前对晒黄烟的研究相对较少, 主要集中在栽培与管理<sup>[6-8]</sup>、烟叶品质等方面<sup>[9-13]</sup>, 在调制理论和调制技术方面报道较少<sup>[14-15]</sup>。在生产上, 采用传统全晒方法生产的晒黄烟叶面常存在浮青、死青, 一定程度上影响到烟叶的商品等级及外观品质。脂氧合酶 (Lipoxygenase, LOX) 是一种氧合酶, 是一种含非血红素铁的蛋白, 酶蛋白由单肽链组成, 它专门催化具有顺, 顺-1, 4-戊二烯结构的不饱和脂肪酸的加氧反应, 生成具有共轭双键的氢过氧化物, 在植物中其底物主要是亚油酸和亚麻酸。LOX 具有对叶绿体色素的漂白作用<sup>[16-17]</sup>, 研究调制过程中叶绿素的变化对于改进调制方法, 提高外观质量有着重要的意义。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验设计

本试验设三个处理, T0 对照, 为传统的全程晒制, T1 捂晒 (凋萎变黄期捂晒结合、定色干叶期晒制、干筋漂白期晒制), T2 烤晒 (凋萎变黄期捂晒结合、定色干叶期烤制、干筋漂白期晒制)。试验设在湖南宁乡, 晒黄烟品种为寸三皮, 所用烟叶为中部生理成

熟叶。晒黄烟的调制不同于烤烟和晾烟, 没有密闭或半密闭的调制场所, 充分利用白天自然光、热、风资源, 协调烟叶失水与变黄, 晚上收堆存放。为了反映晒制和捂晒的作用, 在取样时主要依据出晒时间、堆捂时间和烟叶变化进程取样, 而没有采用等时间距取样。按照烟叶失水和外观的变化, 将烟叶调制过程划分为三个阶段<sup>[12]</sup>, 依次为凋萎变黄期 (0 h ~ 28h), 定色干叶期 (28 h ~ 73h), 干筋漂白期 (73 h ~ 169h)。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 脂氧合酶的测定

采用分光光度法<sup>[18]</sup>。底物的制备: 100 mL 0.05 mol/L 柠檬酸-磷酸缓冲液 (pH=6.3) 加入 0.1 mL Tween20, 摇匀, 加入 0.25 mL 亚油酸, 摇匀乳化。酶液的提取: 称样 0.2 g, 加磷酸缓冲液 (pH=7.0) 6.0 mL, 冰水浴中研磨, 匀浆, 单层纱布过滤。12000 rpm 离心 20 min, 取上清液与底物混合, 以无水乙醇终止反应, 以 A234nm 的变化值表示生成的产物, 用鲜重  $\Delta \text{OD}_{234} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1} \text{FW}$  来表示酶活力。

#### 1.2.2 叶绿素的测定

采用分光光度法<sup>[19]</sup>。

#### 1.2.3 数据处理及作图

采用 Microsoft Excel 2007 进行, 相关分析采用 SPSS17.0。

**作者简介:** 刘国庆 (1975—), 硕士研究生, 农艺师, 主要从事烟叶基地建设工作, Email:nj01777@163.com

**通讯作者:** 符云鹏 (1964—), 博士, 副教授, 主要从事烟草栽培及生理生化研究, Email:ypfu01@163.com

**收稿日期:** 2014-01-21

## 2 结果与分析

### 2.1 调制方法对叶绿素的影响

#### 2.1.1 叶绿素 a

调制过程中, 三个处理叶绿素 a 的含量趋势见表

1。调制结束, 三个处理的叶绿素 a 含量差别不大。但从各阶段降解率看, T0 对照、T1 捂晒的叶绿素 a 降解主要发生在凋萎变黄期和定色干叶期, T2 烤晒的叶绿素 a 降解则三个阶段较为均衡。

表 1 调制过程中叶绿素 a 含量的变化

Tab.1 Changes of chlorophyll-a content in tobacco leaves during the curing process

调制阶段	调制时间 h	叶绿素 a 含量 /( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{DW}$ )			叶绿素 a 降解率 /%		
		T0 对照	T1 捂晒	T2 烤晒	T0 对照	T1 捂晒	T2 烤晒
凋萎变黄期	0	1.77	1.77	1.77	0	0	0
	6	1.05	1.51	1.51	40.68	14.69	14.69
	22	0.93	1.39	1.39	47.46	21.47	21.47
	28	0.84	1.04	1.04	52.54	41.24	41.24
定色干叶期	28	0.84	1.04	1.04	52.54	41.24	41.24
	49	0.37	0.48	0.86	79.10	72.88	51.41
	54	0.33	0.4	0.61	81.36	77.40	65.54
	73	0.29	0.22	0.56	83.62	87.57	68.36
干筋漂白期	73	0.29	0.22	0.56	83.62	87.57	68.36
	97	0.17	0.08	0.18	90.40	95.48	89.83
	169	0.05	0.02	0.03	97.18	98.87	98.31

#### 2.1.2 叶绿素 b

调制过程中, 三个处理叶绿素 b 的含量变化趋势见表 2, 调制结束, 三个处理的叶绿素 b 含量差别不

大。但从各阶段降解率看, T0 对照叶绿素 b 降解在三个阶段较为均衡, T1 捂晒主要发生在定色干叶期, T2 烤晒主要发生在干筋漂白期。

表 2 调制过程中叶绿素 b 含量的变化

Tab.2 Changes of chlorophyll-b content in tobacco leaves during the curing process

调制阶段	调制时间 h	叶绿素 b 含量 / $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{DW}$			叶绿素 b 降解率 /%		
		T0 对照	T1 捂晒	T2 烤晒	T0 对照	T1 捂晒	T2 烤晒
凋萎变黄期	0	0.43	0.43	0.43	0	0	0
	6	0.34	0.37	0.37	20.93	13.95	13.95
	22	0.31	0.35	0.35	27.91	18.60	18.60
	28	0.29	0.32	0.32	32.56	25.58	25.58
定色干叶期	28	0.29	0.32	0.32	32.56	25.58	25.58
	49	0.21	0.14	0.25	51.16	67.44	41.86
	54	0.19	0.13	0.21	55.81	69.77	51.16
	73	0.18	0.12	0.2	58.14	72.09	53.49
干筋漂白期	73	0.18	0.12	0.2	58.14	72.09	53.49
	97	0.11	0.05	0.16	74.42	88.37	62.79
	169	0.03	0.03	0.04	93.02	93.02	90.70

2.1.3 叶绿素 a/b

调制过程中，三个处理叶绿素 a/b 比值呈现明显减少趋势（见表 3），说明叶绿素 a 比叶绿素 b 降解得要快，调制结束，三个处理间也有差异，T0 对照叶绿素 a/b 比值最大，T1 捂晒最小，T2 烤晒居中。从各阶段看，三个处理叶绿素 a/b 的比值也呈现了不同的变化，在凋萎变黄期，T0 对照叶绿素 a/b 比值的减少幅度大于 T1 捂晒、T2 烤晒；在定色干叶期，

T1 捂晒叶绿素 a/b 比值的减少幅度最大，T0 对照次之，T2 烤晒最小；在干筋漂白期，T2 烤晒叶绿素 a/b 比值的减少幅度最大，T1 捂晒次之，T0 对照最小。据上，T0 对照叶绿素 a/b 比值快速下降的时期发生在凋萎变黄期和定色干叶期，T1 捂晒叶绿素 a/b 比值快速下降的时期发生在定色干叶期和干筋漂白期，T2 烤晒叶绿素 a/b 比值快速下降的时期发生在干筋漂白期。

表 3 调制过程中叶绿素 a/b 比值的变化

Tab.3 Chl.a/Chl.b changes in tobacco leaves during the curing process

调制阶段	调制时间 h	叶绿素 a/b		
		T0 对照	T1 捂晒	T2 烤晒
凋萎变黄期	0	4.12	4.12	4.12
	6	3.09	4.08	4.08
	22	3	3.97	3.97
	28	2.9	3.25	3.25
定色干叶期	28	2.9	3.25	3.25
	49	1.76	3.43	3.44
	54	1.74	3.08	2.9
干筋漂白期	73	1.61	1.83	2.8
	73	1.61	1.83	2.8
	97	1.55	1.6	1.13
	169	1.67	0.67	0.75

2.2 调制方法对 LOX 活性的影响

调制过程中，三个处理 LOX 活性总体呈现增高趋势（见图 1），T0 对照、T2 烤晒呈现先增加后减少的抛物线型，T1 捂晒呈现一直增加的趋势。在凋萎变黄期，T0 对照 LOX 活性最高，其它两个处理 LOX 活性接近；在定色干叶期，T0 对照 LOX 活性最高，T1 捂晒 LOX 活性最低，T2 烤晒 LOX 活性居中；在干筋漂白期，T2 烤晒 LOX 酶活最高，T0 对照 LOX 活性最低，T1 捂晒 LOX 活性居中。在调制的 73h，T0 对照的 LOX 活性已经呈现明显下降趋势，而在 169h，T1 捂晒、T2 烤晒 LOX 还保持着较高的活性，说明捂晒、烤晒处理能够有效延长 LOX 保持较高活性的时间，这对于叶绿素的降解有着积极的意义。

2.3 叶绿素含量和 LOX 活性的相关分析

调制过程中三个处理 LOX 活性总体呈增高趋势，叶绿素含量则呈明显下降趋势。对 LOX 活性和叶绿素 a、叶绿素 b 含量分别作相关性分析，均为负相关（如表 3）。三个处理的叶绿素 a、b 含量与 LOX 活性的相关性均有统计学意义。

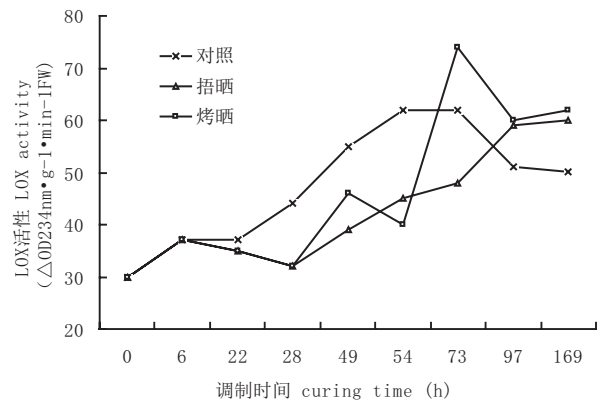


图 1 调制过程中脂氧合酶活性的变化

Fig. 1 Changes of LOX activity in tobacco leaves during the curing process

表 4 脂氧合酶活性与叶绿素含量的相关分析

Tab.4 Correlation analysis of LOX activity and chlorophyll content

处理	叶绿素 a	叶绿素 b
T0 对照 LOX	-0.849**	-0.723*
T1 捂晒 LOX	-0.871**	-0.903**
T2 烤晒 LOX	-0.841**	-0.833**

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

### 3 结论与讨论

比较了全晒, 捂晒和烤晒三种调制方法, 发现捂晒处理中, 叶绿素降解的更早, 在定色干叶期末, 降解率显著高于其他两个处理, 而且最终也更为充分, 调制结束时 T0 对照叶绿素总量为  $0.08\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{DW}$ , 含量最高, T1 捂晒叶绿素总量为  $0.05\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{DW}$ , 含量最低。

叶绿素 a 含量、叶绿素 b 含量与 LOX 活性均呈显著负相关, 而采用捂晒方法能够延长 LOX 保持较高活性的时间, 这或许是捂晒处理有利于叶绿素充分降解的原因之一。

### 参考文献

- [1] 王宝华, 吴帼英, 刘宝法, 等. 地方晾晒烟普查鉴定及利用的研究 [J]. 中国烟草学报, 1992(2): 45-54.
- [2] 朱贵明. 论晒黄烟的品质特点及其开发利用 [J]. 中国烟草, 1996(4): 34-38.
- [3] 刘国顺, 汪耀富, 符云鹏, 等. 建立“名、优、特”烟叶产区提高烟叶品质和可用性 [J]. 烟草科技, 2011(8): 35-37.
- [4] 欧阳文, 张强, 胡红斌, 等. 湖南晒黄烟在卷烟配方中的应用研究 [J]. 烟草工业科技 2011(1):121-126.
- [5] 杨大光. 低焦油卷烟原料探析 [J]. 中国烟草科学, 1998(2):41-42.
- [6] 唐国强, 姜水红. 名优晒黄烟品种“寸三皮”的特征特性及栽培技术 [J]. 湖南农业科学, 2011(7): 28-30.
- [7] 何命军, 符云鹏, 艾永峰, 等. 生长发育过程中晒黄烟的养分吸收和干物质积累 [J]. 烟草科技, 2006 (6) :48-53.
- [8] 艾永峰. 不同氮用量和施氮方法对晒黄烟生长发育及品质的影响 [D]. 郑州: 河南农业大学, 2006.
- [9] 赵立红, 黄学跃. 采收时期、调制方法对两个晒黄烟品种品质的影响 [J]. 云南农业大学学报, 2005, 20 (4) : 522-526.
- [10] 孙福山, 王传义, 刘伟, 等. 南雄优质晒黄烟品质评价指标 [J]. 中国烟草科学, 2006, 27 (3) : 32-35.
- [11] 程向红. 醇化过程中晒黄烟化学成分及感官质量的变化 [J]. 广西农业科学, 2009, 40(10): 1339-1341.
- [12] 刘国庆, 方明, 符云鹏, 等. 调制过程中晒黄烟的物理变化和化学变化 [J]. 烟草科技, 2004(7): 37-39,43.
- [13] 于建军, 杨永锋, 李琳, 等. 不同温湿度发酵条件对晒黄烟中性致香物质的影响 [J]. 农业工程学报, 2008, 24 (12) : 279-282.
- [14] 付宪奎, 冯全福, 贾兴华, 等. 特香型烤烟品种烘烤调制技术初探 [J]. 中国烟草科学, 2004(3): 11-14.
- [15] 孙在军, 易建华, 成志军, 等. 晒黄烟调制过程中失水率对呼吸作用的影响 [J]. 中国烟草科学, 2003(2): 32-34.
- [16] 苏行, 林植芳, 孙谷畴. 脂氧合酶对黄瓜叶片光合电子传递活性的影响 [J]. 植物学报, 1996, 38 (4) : 287-294.
- [17] 王阳光, 采后青梅果实叶绿素降解机制及保绿措施的研究 [D]. 浙江大学, 2003:31.
- [18] 徐向群. 儿茶酚类物质对大豆脂氧合酶的影响 [J]. 中国茶叶, 1989 (3) : 8-9.
- [19] 王瑞新, 韩富根, 杨素勤, 等. 烟草化学品质分析法 [M]. 郑州: 河南科学技术出版社, 1998: 151-158.

## Effect of different curing methods on chlorophyll degradation and lipoxidase activity in yellow sun-cured tobacco

LIU Guoqing<sup>1</sup>, WEI Jianrong<sup>1</sup>, ZHAO Qibai<sup>1</sup>, HU Zhongsheng<sup>1</sup>, ZHANG Tianbing<sup>1</sup>, YANG Fenyu<sup>1</sup>, FU Yunpeng<sup>2</sup>

<sup>1</sup> China Tobacco Jiangsu Industrial Co. Ltd, Nanjing 210019, China;

<sup>2</sup> Henan Agriculture University, Zhengzhou 450002, China

**Abstract:** Chlorophyll-a and chlorophyll-b content and the dynamic of lipoxygenase activity, which are important to sensory quality of yellow sun-cured tobacco, were studied by using different curing methods. Results indicated that flue-curing measure could increase Lipoxygenase activity and bulking measure could extend effective time of Lipoxygenase. There was a significant negative correlation between lipoxygenase activity and chlorophyll-a, chlorophyll-b content respectively. Degradation rate of chlorophyll reached up to 90% when treated with yellow sun-curing, flue-curing and bulking measures. Bulking measure was the best as chlorophyll content reached  $0.05\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{DW}$  and its degradation rate was 97.73%.

**Keywords:** yellow sun-cured tobacco; lipoxidase; chlorophyll

**Citation:** LIU Guoqing, WEI Jianrong, ZHAO Qibai, et al. Effect of different curing methods on chlorophyll degradation and lipoxidase activity of yellow sun-cured tobacco [J]. Acta Tabacaria Sinica, 2015,21 (2)