

卢绍浩, 张嘉雯, 赵喆, 等. 晾制湿度对雪茄烟叶碳氮代谢关键酶活性及品质的影响[J]. 中国烟草学报, 2020, 26(4). LU Shaohao, ZHANG Jiawen, ZHAO Zhe, et al. Effects of air-curing humidity on key enzyme activities related to carbon and nitrogen metabolism and quality of cigar tobacco leaves [J]. Acta Tabacaria Sinica, 2020, 26(4). doi: 10.16472/j.chinatobacco.2019.369

晾制湿度对雪茄烟叶碳氮代谢关键酶活性及品质的影响

卢绍浩¹, 张嘉雯¹, 赵喆¹, 钟秋², 王俊², 宋朝鹏¹, 邹宇航², 张华述², 赵铭钦¹

1 河南农业大学烟草学院, 河南 郑州 450002;

2 四川省烟草公司德阳市公司, 四川 德阳 618400

摘 要: 【目的】为调控雪茄烟叶晾制过程中碳氮代谢水平, 改善雪茄烟叶质量。【方法】以德雪 1 号为试验材料, 研究了不同晾制湿度条件下雪茄烟叶水分、化学成分、碳氮代谢相关酶活性的变化规律。【结果】1) 不同晾制湿度条件下烟叶中主要化学成分及碳氮代谢相关酶活性变化规律基本一致; 2) 水分、总糖、还原糖、淀粉、总氮、蛋白质以及质体色素含量呈下降趋势, 氨基酸和烟碱含量呈先升高后下降变化, 淀粉酶和中性转化酶活性呈单峰变化, 但到达峰值的时间略有差异; 3) 硝酸还原酶和谷氨酰胺合成酶活性呈下降趋势。4) 雪茄烟叶晾制过程湿度控制在凋萎期 80%~85%、变黄期 75%~80%、变褐期 70~75%、定色期 65%~70%、干筋期 45%~50% 范围内, 烟叶淀粉酶、转化酶、硝酸还原酶和谷氨酰胺合成酶活性高, 各化学成分含量适宜, 整体物理特性和感官质量较好。【结论】在一定范围内通过调控晾制湿度有利于提高烟叶碳氮代谢能力, 促进烟叶内含物质转化, 改善烟叶内在品质, 提高烟叶的可用性。

关键词: 晾制湿度; 雪茄烟叶; 碳氮代谢; 酶活性; 化学成分; 感官质量

雪茄是由烟叶卷制的一种特殊烟草制品, 具有香气醇厚丰满, 吃味香苦透甜, 满足感强的特点^[1]。烟草调制作为烟叶生产工艺中的一个重要环节, 合理的调制手段能在一定程度上弥补田间生长所带来的不足^[2]。烟叶在调制期间发生的一系列酶促反应对温湿度条件十分敏感, 适宜的温湿度能够改善烟叶的内在成分、外观质量和内在品质^[3]。

碳氮代谢作为烟草生命活动中两大初生代谢过程, 主要包括碳水化合物与含氮化合物分解、转化、消耗及积累, 二者间协调程度对烟叶的内在品质具有重要影响^[4]。调制过程中碳水化合物和含氮化合物发生显著变化, 其中以淀粉和蛋白质变化最为明显。在烟草调制阶段淀粉含量由调制初期的 29.3% 降至 5.52%, 而蛋白质含量降解约 75%, 且淀粉和蛋白质的降解均与调制过程中的湿度紧密相关^[5-6]。调制后烟叶残留的淀粉不利于烟叶品质和色泽的形成, 而

调制后蛋白质含量过高, 燃吸时将会产生烧焦的羽毛味并产生辛辣感^[7-8]。合理调控晾制过程中环境湿度对促进雪茄烟叶内碳水化合物和含氮化合物的转化及内在品质的提高具有重要意义。贺帆等^[9]研究表明, 密集烘烤低温中湿环境下烟叶中氮代谢相关酶能保持较高活性, 有利于烟叶内含氮化合物的转化。王怀珠等^[10]发现, 低温低湿变黄, 慢升温定色有利于保持较高碳代谢相关酶活性, 调制后烟叶淀粉含量较低且各化学成分较协调。国内外学者就不同烘烤条件对烤烟碳水化合物和含氮化合物的影响进行了大量研究^[11-12], 而对雪茄烟叶晾制过程湿度变化对烟叶品质的影响报道甚少。本试验通过研究晾制过程中不同湿度下雪茄烟叶碳氮代谢变化规律及相关酶活性的变化, 旨在为优化雪茄烟叶调制技术提供理论依据。

基金项目: 中国烟草总公司四川省公司资助项目“四川优质雪茄烟叶调制设施及配套调制技术研究”(SCYC201809)

作者简介: 卢绍浩(1995—), 在读硕士研究生, 研究方向为烟草栽培与生理, E-mail: lushaohao0714@163.com

通讯作者: 赵铭钦(1964—), 教授, 博士生导师, 主要从事卷烟调香的教学科研工作, E-mail: zhaomingqin@henau.edu.cn

收稿日期: 2019-11-07; **网络出版日期:** 2020-03-24

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验田土壤为水稻土，有机质 $3.01\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，碱解氮 $120\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，速效钾 $89\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，速效磷 $38.1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，pH 为 5.8~7.0。试验品种为德雪 1 号。

1.2 试验设计

试验于 2019 年在四川什邡市大泉坑村雪茄烟叶生产基地（东经 $104^{\circ}09'$ ，北纬 $31^{\circ}18'$ ）进行。烟苗于 4 月 30 日移栽，行距 120 cm，株距 40 cm，按照当地优质雪茄烟叶生产技术规范统一管理，烟田施氮量为 $180\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ （烟草专用复合肥），N: P_2O_5 :

$\text{K}_2\text{O} = 1: 0.5: 3$ 。采收时选取大田长势基本一致、叶片成熟度相对一致的烟株，以中部叶（第 10-12 叶位）为试验材料，将采收烟叶分别挂入高湿、中湿、低湿三种梯度的恒温恒湿箱中进行晾晒，各处理重复 3 次，温湿度设定见表 1。分别在雪茄烟晾晒的 6 个时期（鲜烟 S1、凋萎期 S2、变黄期 S3、变褐期 S4、定色期 S5、干筋期 S6）取样，每次选取各处理烟叶 30 片分成三份，一份用于烟叶含水率的测定；一份用锡箔纸和纱布包裹后放于液氮中，用于相关酶活性的测定；一份去除主脉和叶尖杀青后，将其烘干磨碎过 60 目筛，用于化学成分的测定。

表 1 晾晒过程温湿度设定
Tab. 1 Temperature and relative humidity during airing process

处理 Treatment	凋萎期 Withering stage			变黄期 Yellowing stage			变褐期 Browning stage			定色期 Fixing stage			干筋期 Dry tending stage		
	温度 /℃ Temperature	相对湿度 /% Relative humidity	天数 /d Days	温度 /℃ Temperature	相对湿度 /% Relative humidity	天数 /d Days	温度 /℃ Temperature	相对湿度 /% Relative humidity	天数 /d Days	温度 /℃ Temperature	相对湿度 /% Relative humidity	天数 /d Days	温度 /℃ Temperature	相对湿度 /% Relative humidity	天数 /d Days
T1	25	90-95	2	30	85-90	3	30	80-85	3	32	75-80	10	35	55-60	7
T2	25	80-85	2	30	75-80	3	30	70-75	3	32	65-70	10	35	45-50	7
T3	25	70-75	2	30	65-70	3	30	60-65	3	32	55-60	10	35	35-40	7

1.3 测定指标与方法

1.3.1 含水率测定方法

将整片烟叶叶尖 1/3 处和叶基 1/3 处去除，放入 $(100\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 的烘箱中，采用烘箱法^[13]测定雪茄烟叶的含水率。

1.3.2 碳氮代谢关键酶活性及质体色素含量

淀粉酶（amylase, AL）、中性转化酶（neutral invertase, NI）、硝酸还原酶（nitrate reductase, NR）谷氨酰胺合成酶（glutamine synthetase, GS）活性采用紫外分光光度法利用 AL、NI、NR 及 GS 活性测定试剂盒（苏州科铭生物技术有限公司）测定。叶绿素和类胡萝卜素含量采用丙酮浸提比色法^[14]测定。

1.3.3 化学成分含量测定方法

总糖、还原糖、淀粉、总氮、烟碱、蛋白质含量采用流动分析法测定^[15]。氨基酸含量采用紫外分光光度法利用氨基酸含量测定试剂盒（苏州科铭生物技术有限公司）测定。

1.3.4 物理特性及感官质量评价

烟叶物理特性参照吉书文等^[16]方法检测。将不

同湿度处理的烟叶卷成单料烟，感官评吸鉴定聘请什邡雪茄厂顾问时向东教授为首的 7 名评吸专家，依据《YC/T415—2011 烟草在制品感官评价方法》进行感官评吸鉴定^[17]。

1.4 数据分析处理

采用 Microsoft Excel 2007 进行数据整理及作图，运用 SPSS 21.0 进行数据分析。

2 结果

2.1 晾晒过程不同湿度对雪茄烟叶含水率的影响

由表 2 可知，随着晾晒的进行，不同处理雪茄烟叶失水速率均呈现“慢—快—慢”的下降趋势，水分含量逐渐降低。晾晒过程中，T1 处理所处的晾晒环境湿度较大，含水率始终保持在较高水平，而 T3 处理湿度较低，烟叶水分散失过快，含水率较低，表明了晾晒湿度的高低对烟叶水分的散失有一定影响。在变黄期开始烟叶含水率迅速降低，其中以 T3 降幅最高，T1 次之，T2 最低，分别为 63.77%、51.11% 和 50.93%。表明雪茄烟叶在变色期水分快速散失。

表 2 不同晾制湿度对雪茄烟叶含水率的影响

Tab. 2 Effect of air curing humidity on moisture content of cigar tobacco leaves

指标 Norm	处理 Treatment	鲜烟叶 Fresh tobacco leaf	凋萎期 Withering period	变黄期 Yellowing period	变褐期 Browning period	定色期 Fixing period	干筋期 Dry gluten period
含水率 Moisture content / %	T1	88.697±1.512a	82.009±0.579a	79.776±2.632a	39.010±2.981a	29.108±2.224a	18.230±3.526a
	T2	88.697±1.512a	79.071±4.485a	68.390±2.056b	33.564±4.098a	22.130±2.140b	15.25±1.782a
	T3	88.697±1.512a	68.564±4.014b	59.196±3.491c	21.444±3.451b	17.844±2.202b	13.846±2.154a

注：同一列中标以不同小写字母的值在 $P<0.05$ 水平差异显著。（下同）

Note: The values followed by lowercase letters in the same column are significantly different at $P<0.05$. (The same below)

2.2 晾制过程不同湿度对雪茄烟叶碳氮代谢相关酶活性的影响

由图 1 可知，烟叶中碳代谢相关酶 NI 和 AL 活性在晾制期间先升高后降低，而氮代谢相关酶 NR 和 GS 活性一直呈下降趋势。不同湿度处理酶活性在晾制前期无显著差别，随晾制的进行差异逐渐增大，均以 T2 处理最高。在晾制过程中各处理 NI 活性均呈先上升后急剧下降的变化趋势（图 1A），在定色期达到最高值，此时随湿度的降低烟叶内 NI 活性分别为 $1554.99 \mu\text{g}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $1900.08 \mu\text{g}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $1245.78 \mu\text{g}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ ，且各处理差异显著；烟叶定色后（S5）NI 活性迅速降低，各处理差异不大。如图 1B 所示，不同处理烟叶 AL 活性具有相同的变化趋势，均呈单峰波动变化，在变褐期达到峰值，其中 T1、T2 和 T3 处理 AL 活性分别比晾制初期升高了 41.71%、94.84% 和 64.66%，之后活性逐渐下降；在干筋期之前 T2 处理 AL 活性均高于 T1 和 T3 处理，且与 T1 处理达到显著差异，之后处理间差异减小。这说明碳代谢相关酶活性在 T2 处理下较高，能够加强叶片内碳水化合物代谢，促进淀粉等大分子物质降解。

NR 和 GS 是植物氮代谢的限速酶，对氮代谢的强弱起着关键作用。不同处理雪茄烟叶 NR 活性具有相同的变化趋势（图 1C），均呈下降趋势。在晾制凋萎期活性剧烈降低，以 T3 处理降解幅度最大，T1 处理次之，T2 处理最低，降解幅度分别为 62.48%、53.67% 和 43.77%，处理间差异达到显著水平，之后各处理 NR 活性趋于平缓且差异不大。与 NR 活性相比，整个晾制期间，烟叶内 GS 活性始终高于 NR 活性（图 1D），各处理 GS 活性均呈下降趋势，且降幅较平缓。变褐期之前 T2 处理烟叶 GS 活性显著高于其他处理，之后至晾制结束各处理间无显著差异。表明在晾制期间氮代谢能力逐渐降低，而中湿度处理有利于烟叶酶活性相对提高。

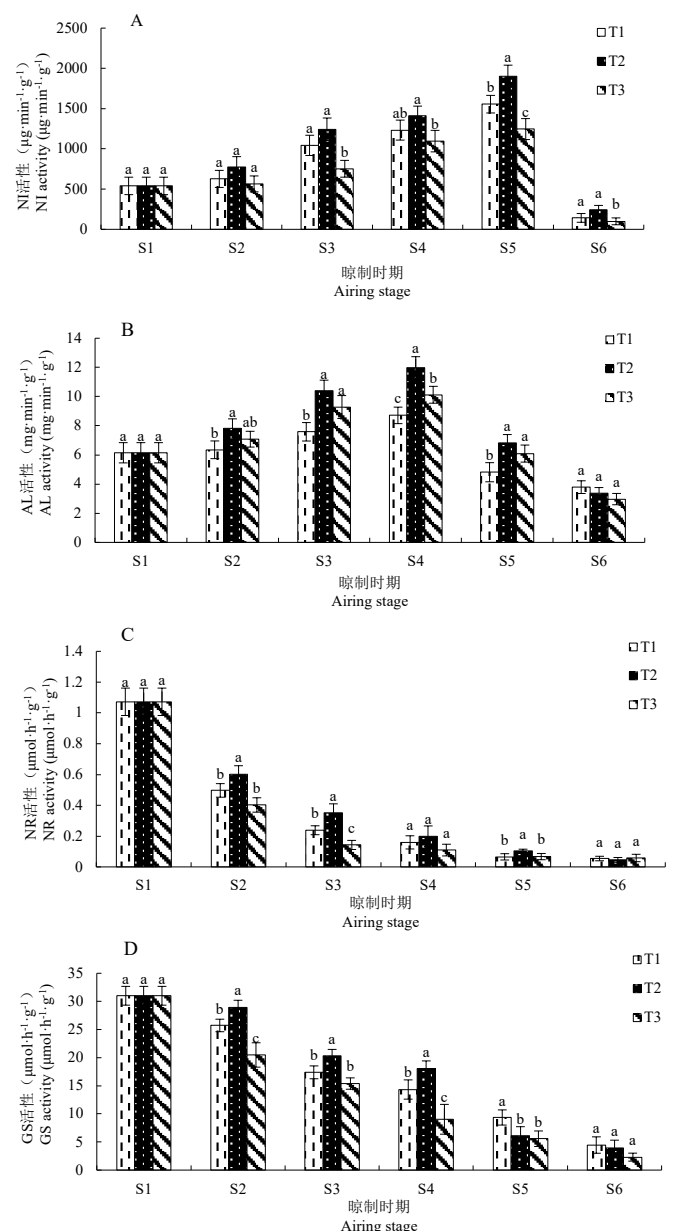


图 1 不同晾制湿度的雪茄烟叶 NI(A)、AL(B)、NR(C)、GS(D) 活性

Fig. 1 Activities of NI(A), AL(B), NR(C) and GS(D) in cigar tobacco leaves with different air curing humidity

2.3 晾晒过程不同湿度对雪茄烟叶碳水化合物含量的影响

如图 2A 所示, 不同湿度处理处理雪茄烟叶调制过程中总糖含量变化趋势一致, 即呈逐渐下降趋势, 且降解幅度较均匀。晾晒初期, 各处理间总糖含量差异不大, 随着晾晒的进行各处理总糖含量表现为 $T2>T3>T1$, 且差异显著。干筋期时随着湿度的降低总糖含量分别为 0.66% (T1)、1.31% (T2) 和 0.96% (T3)。晾晒期间还原糖含量与总糖含量变化基本一致, 呈下降趋势 (图 2B), 干筋期与晾晒初期相比各处理下降幅度分别为 77.11% (T1)、58.72% (T2) 和 68.13% (T3)。整个晾晒过程中 T2 处理烟叶还原糖含量始终最高, 在凋萎期和干筋期与其它处理差异显著。表明晾晒期间烟叶内碳水化合物大量消耗, 而中湿度处理的烟叶总糖和还原糖含量较高, 能缓解碳水化合物的消耗, 有利于提高调制后的烟叶品质。由图 2C 可知, 不同湿度条件下雪茄烟叶

淀粉含量均呈下降趋势, 在凋萎期内淀粉含量下降较快, 之后趋于平缓, 在相同时间内 T2 处理淀粉含量均显著低于 T1 和 T3 处理。晾晒结束 (S6) 时以 T3 处理淀粉含量最高, T1 次之, T2 最低, 分别为 1.61%、1.29% 和 0.81%, 这说明过高和过低的晾晒湿度均不利于烟叶中淀粉的降解。

2.4 晾晒过程不同湿度对雪茄烟叶含氮化合物含量的影响

不同湿度条件下雪茄烟叶总氮含量在晾晒过程中呈递减趋势 (图 3A), 但变化幅度小。不同湿度条件下以 T3 处理烟叶总氮含量降解最多, T2 处理烟叶总氮含量降解最少, 整个晾晒期间各处理总氮含量差异未达到显著水平, 说明不同晾晒湿度对总氮含量变化影响较小。由图 3B 表明, 晾晒期间雪茄烟叶烟碱含量先升高后降低, 各湿度处理烟叶均在变黄期达到峰值, 此时 T1、T2、T3 烟碱含量分别为 4.88%、4.17%、3.61%, 且处理间差异显著, 之后烟碱含量随时间推移逐渐降低。晾晒过程中 3 个处理烟碱含量表现为 $T1>T2>T3$, 表明中湿度处理使烟叶中烟碱含量保持在较适宜的水平, 有利于提高烟叶的感官品质。

晾晒过程中蛋白质降解动态如图 3C 所示。晾晒结束时 (S6), 自高到低各湿度处理蛋白质含量降幅为 18.00%~6.76%、18.00%~4.01% 和 18.00%~5.70%, 分别降低了 2.66 倍、4.49 倍和 3.16 倍。晾晒期间 T2 处理的烟叶蛋白质含量显著低于 T1 和 T3 处理。晾晒过程中不同湿度条件下雪茄烟叶氨基酸含量呈单峰曲线变化 (图 3D), T1、T2、T3 各湿度处理的峰值均在变黄期, 分别为 $106.49 \mu\text{mol}\cdot\text{mg}^{-1}$ 、 $180.21 \mu\text{mol}\cdot\text{mg}^{-1}$ 、 $142.47 \mu\text{mol}\cdot\text{mg}^{-1}$, 且达到了显著差异; 相比于晾晒初期各处理分别升高了 1.81 (T1)、3.07 (T2)、2.42 (T3) 倍, 之后含量逐渐降低。说明了 T2 处理有利于蛋白质的降解, 并且促进了氨基酸的积累。

2.5 晾晒过程不同湿度对雪茄烟叶质体色素含量的影响

质体色素是评价烟叶可用性以及品质的重要指标之一, 其降解产物与致香成分紧密相关。由表 3 可知, 随着晾晒时间的增加, 各处理叶绿素和类胡萝卜素含量均呈下降变化, 其中类胡萝卜素降幅远小于叶绿素。各处理相比较, 烟叶质体色素含量降幅表现为: $T3>T2>T1$, 且整个晾晒过程中 T1 与 T3 均达到显著差异水平, 但 T2 与 T3 除个别时期外差异均不显著, 表明在晾晒过程中适当降低环境湿度有利于促进质体色素充分降解, 从而提高雪茄烟叶品质。

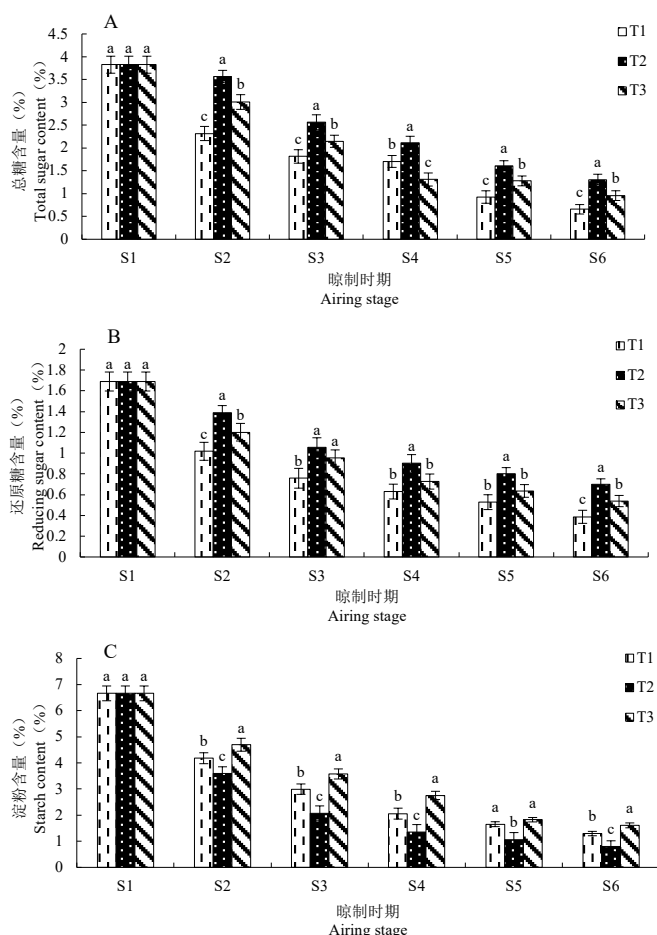


图 2 不同晾晒湿度对总糖 (A)、还原糖 (B) 及淀粉 (C) 含量的影响

Fig. 2 Effect of air curing humidity on contents of total sugar(A), reducing sugar(B) and starch(C)

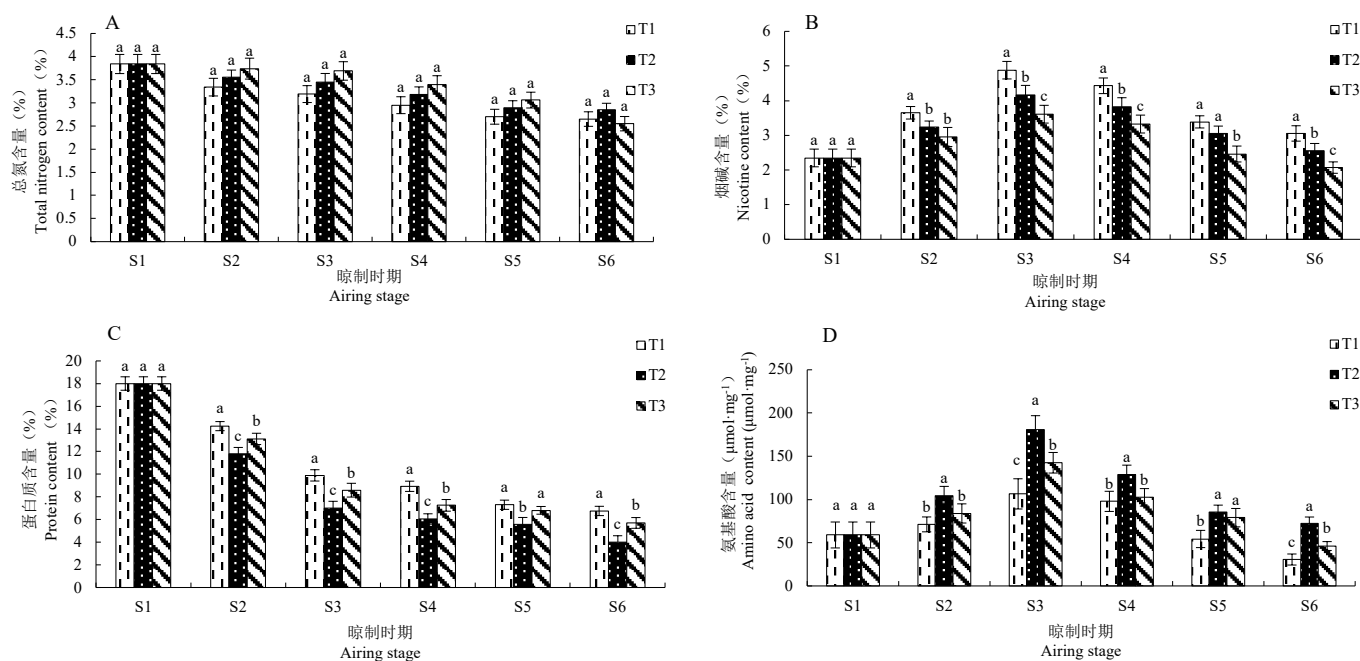


图3 不同晾制湿度对总氮(A)、烟碱(B)、蛋白质(C)和氨基酸(D)含量的影响

Fig. 3 Effect of air curing humidity on contents of total nitrogen(A), nicotine(B), protein(C) and amino acid(D)

表3 不同晾制湿度对质体色素含量的影响

Tab. 3 Effect of air curing humidity on plastid pigment content

指标 orm	处理 Treatment	鲜烟叶 Fresh tobacco leaf	凋萎期 Withering period	变黄期 Yellowing period	变褐期 Browning period	定色期 Fixing period	干筋期 Dry gluten period
叶绿素 Chlorophyll / (mg·g ⁻¹)	T1	4.023±0.200a	3.407±0.129a	1.250±0.121a	0.553±0.131a	0.383±0.093a	0.301±0.041a
	T2	4.023±0.200a	2.986±0.190b	0.832±0.115b	0.294±0.106b	0.181±0.071b	0.147±0.026b
	T3	4.023±0.200a	2.562±0.153c	0.499±0.099c	0.192±0.045b	0.129±0.008b	0.084±0.031b
类胡萝卜素 Carotenoid / (mg·g ⁻¹)	T1	0.636±0.039a	0.618±0.025a	0.526±0.031a	0.412±0.020a	0.358±0.022a	0.269±0.016a
	T2	0.636±0.039a	0.569±0.016b	0.451±0.023b	0.393±0.020a	0.312±0.012b	0.228±0.012b
	T3	0.636±0.039a	0.521±0.022c	0.404±0.029b	0.352±0.031b	0.271±0.027b	0.215±0.027b

注：同一列中标以不同小写字母的值在 $P<0.05$ 水平差异显著。（下同）

Note: The values followed by lowercase letters in the same column are significantly different at $P<0.05$. (The same below)

2.6 不同湿度对晾制后雪茄烟叶物理特性及感官质量的影响

从表4可以看出,不同处理雪茄烟叶叶质量重、叶厚、拉力以及平衡含水率均以T2处理最大,而含梗率则以T2处理最小,这可能是调制期间中湿度条件适宜,可防止烟叶中的物质过度转化,使烟叶的厚度及叶质重均可保持在一个较高水平,以至于叶片含

梗率相对较低。而高湿和低湿条件下叶片偏薄,这样会影响到烟叶的弹性及抗拉强度。因此,中湿度条件下烟叶的工业使用价值较高。由表5可知,随着晾制湿度的增加,雪茄烟叶香气质、香气量、刺激性、燃烧性及总分呈现先增加后降低的趋势。表明适当增加晾制期间环境湿度有利于提升烟叶感官质量,主要表现在香气量足、香气质好、刺激性小及燃烧性高。

表 4 不同晾晒湿度雪茄烟叶物理特性比较

Tab. 4 Comparison of physical characteristics of cigar tobacco leaves with different air curing humidity

处理 Treatment	叶质重 Leaf weight /(g/m ²)	叶厚 Leaf thickness /μm	拉力 Pull /N	含梗率 Stem ratio /%	平衡含水率 Equilibrium moisture content /%
T1	22.89	45.53	1.33	21.49	14.87
T2	27.85	58.25	1.44	17.36	16.20
T3	24.62	49.21	0.97	19.86	14.23

表 5 不同晾晒湿度雪茄烟叶感官质量比较

Tab. 5 Comparison of sensory quality of cigar tobacco leaves with different air curing humidity

处理 Treatment	香气质 (9) Quality of aroma	香气量 (9) Volume of aroma	浓度 (9) Concentration	劲头 (9) Strength	刺激性 (9) Irritating	杂气 (9) Offensive taste	余味 (9) Aftertaste	灰色 (9) Ash	燃烧性 (9) Combustibility	总分 (81) Total score
T1	6.1	6.1	6.3	6.3	6.2	6.4	6.6	6.1	6.5	56.6
T2	6.5	6.4	6.3	6.4	6.9	6.4	6.4	6.6	6.9	58.8
T3	6.3	6.1	6.4	6.5	6.5	6.1	6.5	6.6	6.3	57.3

3 讨论

烟草调制的实质是在人为给予特定的温湿度条件下烟叶脱水干燥与生理生化反应相统一的过程。在调制期间烟叶中蛋白质、淀粉、多酚和色素等大分子物质的降解是烟叶质量风格形成的关键^[18]。与烤烟相比雪茄烟叶的晾晒是烟叶自然凋亡的过程且环境条件温和，因此环境中的湿度对雪茄烟的质量形成具有极大影响。本试验表明，雪茄烟晾晒期间湿度条件对烟叶化学成分有较大影响。晾晒后的雪茄烟叶中色素含量不仅影响烟叶的外观质量，还直接或间接地影响烟叶的内在品质^[19]。试验结果表明，雪茄烟叶质体色素在晾晒期间含量逐渐降低，T3 处理叶绿素和类胡萝卜素含量降解幅度较大，说明在晾晒过程中适当降低环境湿度有利于促进质体色素充分降解。烟叶糖含量是影响烟气醇和度和吃味的主要因素，水溶性糖含量高的烟叶富有弹性且色泽鲜亮，但淀粉含量过高会影响烟叶的燃烧速度和香吃味，越低表明转化为单糖越完全^[20]。本试验结果表明，在晾晒过程中雪茄烟叶水溶性糖及淀粉含量均呈下降趋势，说明晾晒期间可溶性糖和淀粉作为呼吸作用的基础物质而被消耗。不同湿度比较，中湿度处理下烟叶总糖和还原糖含量较高，淀粉含量低，且与其它处理达到显著水平。过高和过低的湿度均不利于晾晒期间水溶性总糖的积累

以及淀粉的转化，从而对烟叶的香吃味和燃烧性有不良影响，这与柳昕等^[21]在白肋烟上的研究结果相一致。可能是由于中湿度更有利于碳代谢的进行，淀粉酶以及转化酶活性较高，从而促进淀粉等大分子向小分子化合物的转化。

晾晒后的雪茄烟叶作为直接卷制的雪茄原料，其烟碱含量对烟叶香味品质、风格程度和安全性有重要影响^[22]。杨焕文等^[23]研究表明，深色晾烟品种 KY171 在晾晒过程中烟碱含量先增加后降低。本试验表现出相似的变化规律，晾晒期间不同湿度雪茄烟叶烟碱含量呈先升高后降低的趋势，均在变黄期达到峰值。这可能是由于呼吸作用导致干物质损失使其相对含量增加，而后期由于烟碱的降解致使含量降低^[24]。本试验中随环境湿度增加，烟叶中烟碱含量逐渐增加，这与李宗平等^[25]在白肋烟上的研究不同。原因可能是烟草生物碱属于植物次生代谢产物，是植物防御机制中的有效物质，而本试验烟叶所处空间较小的密闭环境中，随湿度的增加，烟叶易发生霉变，导致烟叶需保持较高的生物碱含量来抵御环境胁迫^[26]。同时湿度对生物碱代谢相关酶活性有一定影响，对烟碱含量造成差异^[27]。高湿度下烟碱含量高使得抽吸时刺激性增强，产生辛辣味，低湿度下烟碱含量低则吸食淡而无味。中湿度条件下烟碱和总氮含量处于

适宜的水平,能够给予吸食者以适当的生理强度和香味^[28]。氨基酸对调制后烟叶的色泽、香味和抽吸感觉有重要影响。王树声等^[29]研究表明烟叶中氨基酸含量与香气量和劲头有正相关关系,与刺激性和杂气呈负相关。李常军^[30]等研究发现,烤烟在烘烤过程中氨基酸含量在变黄期增加,到定色期含量降低。本试验结果表明雪茄烟具有相似的规律,晾制前期蛋白质含量急剧降低,而此时氨基酸含量逐渐升高,这是由于水解酶使蛋白质降解成氨基酸,引起氨基酸含量的积累。后期蛋白质含量变化趋于稳定,而氨基酸含量则开始下降,这可能由于此时氨基酸自身发生降解,同时与糖发生非酶棕色化反应,致使含量降低^[31]。高林等^[32]研究表明,白肋烟在中湿度晾制条件下各种酶活性较高,烟叶内蛋白质降解量较大。这与本试验研究结果相一致,高湿或低湿条件下蛋白质含量在晾制期间一直保持在较高的水平,而氨基酸含量较低,说明高湿或低湿环境会使烟叶霉烂或干燥过快而降低蛋白酶活性,不利于烟叶中蛋白质的转化,从而使氨基酸含量较低^[32]。中湿度环境硝酸还原酶活性较高,更有利于蛋白质的降解和氨基酸的形成。氨基酸含量较高时,在适宜的湿度条件下容易与糖类物质发生非酶促棕色化反应,进而提高烟叶香气物质的含量^[21]。

AL 和 NI 均是碳代谢中的关键酶类,其活性可作为衡量碳代谢强度的重要指标,可将烟叶生育期积累的淀粉、蔗糖等大分子催化水解为小分子化合物,同时 NI 也参与细胞胁迫响应^[33],对烟草品质起着重要作用。本研究中,随着晾制的进行,环境温度逐渐增加,AL 和 NI 活性提高,碳代谢强度增加,碳的固定和转化代谢提高;之后随着烟叶的缓慢死亡,酶活性逐渐丧失。NR 和 GS 是氮代谢过程中十分重要的酶,其作为植物氮素同化水平的重要生理指标,用于氨基酸、蛋白质等含氮化合物的合成^[34-35]。本试验结果表明,高湿度和低湿度处理均使碳氮代谢关键酶活性一直处于较低的水平,这是因为高湿度环境烟叶含水率较高,且随着晾制的进行温度升高,易导致烟叶霉变,而低湿度处理烟叶失水速率较快,因此两种条件下烟叶内活性氧大量增加,烟叶内酶系统紊乱,使烟叶碳氮代谢相关酶活性较低^[36]。因此,晾制期间中湿度环境使酶活性相对较高,有利于提高烟叶碳氮代谢的能力,保持碳水化合物以及含氮化合物的充分转化,最终促使烟叶各化学成分协调,进而提高烟叶的内在品质。

4 结论

在晾制过程中,不同湿度雪茄烟叶 AL 和 NI 活性先升高后降低,而 NR 和 GS 活性逐渐降低;烟叶含水率、质体色素、碳水化合物、总氮、蛋白质含量呈下降趋势,烟碱和氨基酸含量呈先升高后降低的变化。处理间比较,中湿度条件下即湿度控制在凋萎期 80%~85%、变黄期 75%~80%、变褐期 70%~75%、定色期 65%~70%、干筋期 45%~50% 范围内,碳氮代谢酶活性以及水溶性糖和氨基酸含量最高,淀粉和蛋白质含量最低,从而有助于烟叶内碳水化合物及含氮化合物的转化,且总体物理特性较好,感官质量更优越,提高了调制后烟叶质量。本文研究了不同晾制湿度条件下雪茄烟叶碳氮代谢相关酶活性及化学成分动态规律,为优化雪茄烟叶晾制工艺提供理论依据。

参考文献

- [1] 陈栋,李猛,王荣浩,等.国产雪茄茄芯烟叶研究进展[J].扬州大学学报(农业与生命科学版),2019,40(01):83-90.
CHEN Dong, LI Meng, WANG Ronghao, et al. Progress of the domestic cigar filler tobacco[J]. Journal of Yangzhou University(Agricultural and Life Science Edition), 2019, 40(01): 83-90.
- [2] 张燕,李天飞,宗会,等.香料烟调制期间淀粉酶等生理生化指标动态变化[J].中国烟草科学,2004(04):23-26.
ZHANG Yan, LI Tianfei, ZONG Hui, et al. Dynamic changes of some physiological and biochemical characteristics in oriental tobacco leaves during air-curing[J]. Chinese Tobacco Science, 2004(04): 23-26.
- [3] 徐世杰,王洁,王慧方,等.调制过程中不同温湿度条件对海南雪茄茄衣烟叶质量的影响[J].山东农业科学,2016,48(01):29-34.
XU Shijie, WANG Jie, WANG Huifang, et al. Effects of temperature and humidity on cigar-wraper tobacco quality in hainan province during curing[J]. Shangdong Agricultural Sciences, 2016, 48(01): 29-34.
- [4] 过伟民,程森,张骏,等.烤烟表面微观结构特征与外观品质的关系[J].烟草科技,2015,48(08):1-6.
GUO Weimin, CHENG Sen, ZHANG Jun, et al. Relationship between surface microstructure characteristics and appearance quality of flue-cured tobacco leaves[J]. Tobacco Science & Technology, 2015, 48(08): 1-6.
- [5] 王行,凌寿军,宋守晔,等.烘烤过程中温湿度与烟叶淀粉含量及淀粉酶活性变化的关系[J].烟草科技,2004(11):33-35.
WANG Xing, LING Shoujun, SONG Shouye, et al. Relationships of starch content and amylase activity to temperature and humidity during curing process[J]. Tobacco Science & Technology, 2004(11): 33-35.
- [6] 左伟标.烘烤温湿度条件和时间对烤烟烟叶内含物及品质的影响[D].郑州:河南农业大学,2010.
ZUO Weibiao. Effects of Curing Temperature, Humidity, and Time on Inclusions and Quality of Flue-cured Tobacco Leaf[D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2010.
- [7] Leffingwell J C. Chemical and sensory aspects of tobacco flavor an overview[J]. Recent Advances in Tobacco Science, 1988, (14): 169.

- [8] 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(03): 567-576.
DU Guohua, ZHANG Lijun, FAN Jinjuan, et al. Protein specific degradation systems in higher plants[J]. Molecular Plant Breeding, 2010, 8(03): 567-576.
- [9] 贺帆, 王涛, 王战义, 等. 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[J]. 中国烟草学报, 2014, 20(05): 80-86.
HE Fan, WANG Tao, WANG Zhangyi, et al. Effects of temperature and humidity on protein degradation and related enzyme activities in tobacco leaf in yellowing stage[J]. Acta Tabacaria Sinica, 2014, 20(05): 80-86.
- [10] 王怀珠, 杨焕文, 郭红英. 烘烤过程中温湿度对烤烟淀粉降解及相关酶活性的影响[J]. 作物学报, 2006(02): 313-316.
WANG Huaizhu, YANG Huanwen, GUO Hongying. Effects of temperature and humidity on starch degradation and related enzyme activities of flue-cured tobacco during flue-curing process[J]. Acta Agronomica Sinica, 2006(02): 313-316.
- [11] 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.
LI Changjun, GONG Changrong, ZHOU Yihe, et al. The effect of temperature in yellowing stage on nitrogen metabolism during tobacco leaf curing process[J]. Acta Tabacaria Sinica, 2001, 7(2): 31-35.
- [12] Beers E P, Woffenden B J, Zhao C. Plant proteolytic enzymes: possible roles during programmed cell death[J]. Plant Molecular Biology, 2000, 44(3): 399-415.
- [13] 国家烟草专卖局. YC/T 31—1996 烟草及烟草制品试样的制备和水分的测定 - 烘箱法[S]. 北京: 中国标准出版社, 1996.
State Tobacco Monopoly Administration. YC/T31-1996 Tobacco and tobacco products-preparation of test sample and determination of water content-over method[S]. Beijing: China Standard Press, 1996.
- [14] 汤章城. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 1999.
TANG Zhangcheng. Guidelines for modern plant physiology experiments[M]. Beijing: Science Press, 1999.
- [15] 程传玲, 唐琦, 汪文良, 等. 烤烟常规化学成分与感官质量的典型相关分析[J]. 贵州农业科学, 2011, 39(01): 59-61.
CHENG Chuanling, TANG Qi, WANG Wenliang, et al. Canonical correlation between conventional chemical composition and sensory quality in flue-cured tobacco[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2011, 39(01): 59-61.
- [16] 吉书文, 腾兆波. 烟草物理检测[M]. 郑州: 河南科学技术出版社, 1997: 188-209.
JI Shuwen, TANG Zhaobo. Tobacco physical testing[M]. Zhengzhou: Henan Science and Technology Press, 1997: 188-209.
- [17] 国家烟草专卖局. YC/T415—2011 烟草在制品感官评价方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2011.
State Tobacco Monopoly Administration. Tobacco in processing-Sensory evaluation methods[S]. Beijing: China Standard Press, 2011.
- [18] 赵铭钦, 刘金霞, 黄永成, 等. 烟草质体色素与烟叶品质的关系综述[J]. 中国农学通报, 2007(7): 135-138.
ZHAO Mingqin, LIU Jinxia, HUANG Yongcheng, et al. Review of the relation between the plastid pigment and the quality of tobacco leaves[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2007(7): 135-138.
- [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(01): 125-132.
WU Shengjiang, SONG Zhaopeng, HE Fan, et al. Changes of cell ultrastructure and some physiological indexes and physical properties of tobacco leaves during bluk flue-curing[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2011, 44(01): 125-132.
- [20] 韩富根. 烟草化学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2010.
HAN Fugen. Tobacco chemistry[M]. Beijing: China Agricultural Press, 2010.
- [21] 柳昕, 景延秋, 张豹林, 等. 不同晾晒湿度对白肋烟常规化学成分和游离氨基酸含量的影响[J]. 河南农业科学, 2014, 43(11): 151-155.
LIU Xin, JING Yanqiu, ZHANG Baolin, et al. Effects of different air-curing humidity on routine chemical components and amino acid content of burley tobacco[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2014, 43(11): 151-155.
- [22] 徐宜民, 王树声, 赖禄祥, 等. 烟草生物碱的研究现状[J]. 中国烟草科学, 2003(02): 13-17.
XU Yimin, WANG Shusheng, LAI Luxiang, et al. Review on the studies of tobacco alkaloids[J]. Chinese Tobacco Science, 2003(02): 13-17.
- [23] 杨焕文, 刘彦中, 崔明午, 等. 深色晾烟晾制过程中一些重要化学成分的变化[J]. 华中农业大学学报, 2000(04): 399-402.
YANG Huanwen, LIU Yanzhong, CUI Mingwu, et al. Changes of some important chemical composition of dark tobacco during air curing[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2000(04): 399-402.
- [24] 宫长荣. 烟草调制学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003.
GONG Changrong. Tobacco modulation[M]. Beijing: China Agricultural Press, 2003.
- [25] 李宗平, 李进平, 陈茂胜, 等. 晾晒温湿度对白肋烟生物碱含量和烟碱转化的影响研究[J]. 中国烟草学报, 2009, 15(04): 61-64.
LI Zongping, LI Jinping, CHEN Maosheng, et al. Effects of temperature and humidity on alkaloid content and nicotine conversion in burley tobacco curing[J]. Acta Tabacaria Sinica, 2009, 15(04): 61-64.
- [26] 张阳, 刘海涛, 张昭, 等. 生物碱的生理生态功能及影响其形成的因素[J]. 中国农学通报, 2014, 30(28): 251-254.
ZHANG Yang, LIU Haitao, ZHENG Zhao, et al. The eco-physiological function of alkaloid and factors influencing the alkaloid formation[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2014, 30(28): 251-254.
- [27] 解莹莹, 王凌, 韩锦峰, 等. 烤烟中的烟碱和去甲基烟碱[J]. 中国烟草科学, 2004, 25(2): 38-41.
XIE Yingying, WANG Ling, HAN Jinfeng, et al. Nicotine and nornicotine in flue-cured tobacco[J]. Chinese Tobacco Science, 2004, 25(2): 38-41.
- [28] 孙树林. 恩施白肋烟生物碱特点及烟碱含量农艺调控措施研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2010.
SUN Shulin. Studies on Alkaloid Characteristic and Agronomic Regulation Measures of Nicotine Content of Burley Tobacco in Enshi[D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2010.
- [29] 王树声, 王宝华, 李雪震, 等. 烤烟烟叶中游离氨基酸与内在质量关系的研究[J]. 中国烟草科学, 2002(04): 5-8.
WANG Shusheng, WANG Baohua, LI Xuezheng, et al. Relationship between content of free amino acids and intrinsic quality of flue-cured tobacco[J]. Chinese Tobacco Science, 2002(04): 5-8.
- [30] 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(01): 47-49.
LI Changjun, GONG Changrong, LI Rui, et al. Studies on the metabolism of protein and nitrate nitrogen in tobacco leaf during curing[J]. Journal of Henan Agricultural University, 2000(01): 47-49.

- [31] 王荣浩, 李林林, 陈栋, 等. 美拉德反应在烟草加工中的应用研究进展 [J]. 食品工业科技, 2019, 40(03): 345-350+356.
WANG Ronghao, LI Linlin, CHEN Dong, et al. Research progress on application of maillard reaction in tobacco production and processing[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(03): 345-350+356.
- [32] 高林, 李进平, 杨春雷, 等. 晾制期间白肋烟烟叶含氮化合物的变化 [J]. 烟草科技, 2006(03): 44-47.
GAO Lin, LI Jinping, YANG Chunlei, et al. Changes of nitrogenous compounds in burley tobacco leaves during air-curing[J]. Tobacco Science & Technology, 2006(03): 44-47.
- [33] Benhamou N, Genier J, Chrispeels MJ. Accumulation of β -fructosidase in the cell walls of tomato roots following infection by a fungi wilt pathogen[J]. Plant Physiology, 1991, 97: 739-750.
- [34] 陈胜勇, 李观康, 汪云, 等. 谷氨酰胺合成酶的研究进展 [J]. 中国农学通报, 2010, 26(22): 45-49.
CHEN Shengyong, LI Guankang, WANG Yun, et al. The research progress of glutamine synthetase[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2010, 26(22): 45-49.
- [35] 张森, 许自成, 李京京, 等. 烟草碳氮代谢及其调控技术研究进展 [J]. 生物技术进展, 2016, 6(05): 312-318.
ZHANG Miao, XU Zicheng, LI Jingjing, et al. Advance on carbon and nitrogen metabolism and regulation of tobacco[J]. Current Biotechnology, 2016, 6(05): 312-318.
- [36] 王卫峰. 密集烤房烘烤温湿度条件对烟叶生理生化特性及品质的影响 [D]. 郑州: 河南农业大学, 2006.
WANG Weifeng. Effects of Temperature and Humidity of Bulk Curing Barn on Physiology Characteristics of Flue-cured Tobacco During the Process of Flue-curing and the Quality of Cured Leaves[D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2006.

Effects of air-curing humidity on key enzyme activities related to carbon and nitrogen metabolism and quality of cigar tobacco leaves

LU Shaohao¹, ZHANG Jiawen¹, ZHAO Zhe¹, ZHONG Qiu², WANG Jun²,
SONG Zhaopeng¹, ZOU Yuhang², ZHANG Huashu², ZHAO Mingqin^{1*}

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

² Deyang Tobacco Company of Sichuan Province, Deyang 618400, China

Abstract: In order to regulate the level of carbon and nitrogen metabolism during airing of tobacco leave and improve the quality of cigar tobacco leaves, the changes of water content, chemical composition and the activity of key enzymes related to carbon and nitrogen metabolism in cigar tobacco leaves were studied by using Dexue No.1 as the test material. The results showed that the changes of the chemical composition and the activity of key enzymes related to carbon and nitrogen metabolism in tobacco leaves were basically the same under different air curing humidity. The contents of water, total sugar, reducing sugar, starch, total nitrogen, protein and plastid pigment showed a downward trend, but the contents of amino acid and nicotine increased first and then decreased. The activity of amylase(AL) and neutral invertase(NI) showed a single peak curve, but the time to peak was slightly different. The activities of nitrate reductase (NR) and glutamine synthetase (GS) showed a downward trend. During air curing of cigar tobacco leaves, when the humidity was controlled within the range of 80%-85% in withering period, 75%-80% in yellowing period, 70%-75% in browning period, 65%-70% in fixing color period and 45%-50% in dry gluten period, the activities of AL, NI, NR and GS were the highest, the chemical components were suitable and the overall physical characteristics and quality were good. Therefore, controlling the air curing humidity within a certain range can improve the carbon and nitrogen metabolism of cigar tobacco leaves, promote conversion of tobacco leaf contents, and improve the quality and availability of cigar tobacco leaves.

Keywords: air curing humidity; cigar tobacco leaf; carbon and nitrogen metabolism; enzyme activity; chemical composition; sensory quality

*Corresponding author. Email: zhaomingqin@henau.edu.cn