

亚氯酸钠对烤烟酶促棕色化反应及烟叶质量的影响

任杰¹ 李雨江² 包可翔² 赖成连² 冷平³ 孙福山^{1*}

(1. 中国农业科学院烟草研究所/农业部烟草生物学与加工重点实验室, 山东 青岛 266101;

2. 福建中烟工业有限责任公司, 福建 厦门 361012; 3. 中国农业大学农学与生物技术学院, 北京 100193)

摘要 为研究亚氯酸钠(SC)对烤烟烘烤过程中酶促棕色化反应及烟叶烘烤质量的影响,以 K326 为试验材料,通过烘烤试验分析了 SC 对烤烟烘烤过程中多酚氧化酶(PPO)活性、烤后烟叶多酚含量、常规化学成分、感官质量及经济性状的影响。结果表明:SC 处理和对照烟叶在烘烤过程中多酚氧化酶(PPO)活性变化表现出基本相同的规律,但 SC 处理烟叶 PPO 活性均低于同期对照烟叶。SC 处理中部叶茛菪亭和绿原酸含量显著高于对照,但多酚总量与对照无显著差异;SC 处理上部叶绿原酸、新绿原酸、隐绿原酸、芸香苷、多酚总量均显著高于对照。SC 处理显著提高了烤后烟叶的氯含量和还原糖含量,使化学成分更趋协调。SC 处理烤后烟叶感官质量较对照有所改善,经济性状较对照显著提高。SC 抑制了烟叶烘烤过程中的酶促棕色化反应,提高了烤后烟叶质量。

关键词 烤烟; 亚氯酸钠; 酶促棕色化反应; PPO

中图分类号 S 572.02

文章编号 1007-4333(2012)05-0081-05

文献标志码 A

Effects of sodium chlorite on enzymatic browning reaction and curing quality of flue-cured tobacco

REN Jie¹, LI Yu-jiang², BAO Ke-xiang², LAI Cheng-lian², LENG Ping³, SUN Fu-shan^{1*}

(1. Tobacco Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Tobacco Biology and Processing, Ministry of Agriculture, Qingdao 266101, China;

2. Fujian China Tobacco Industrial Ltd., Xiamen 361012, Fujian, China;

3. College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract In order to study the effects of sodium chlorite (SC) on enzyme browning reaction and curing quality, the PPO activity, polyphenol content, chemical composition, smoking quality and economic characters of cured leaves of K326 were investigated. The results indicated that changes of PPO activity of tobacco leaves treated with SC and the control tobacco leaves were similar, but PPO activity of tobacco leaves treated with SC was lower than control tobacco leaves. The scopoletin and chlorogenic acid contents of middle leaves treated with SC were higher than the control leaves, but there was no significant difference of total polyphenol contents between SC treated and the control leaves. The chlorogenic acid, neochlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, rutin and total polyphenol contents were higher than the control leaves. SC increased the chlorine and reducing sugar contents obviously, and made the chemical composition more coordinated. SC improved the smoking quality slightly, and increased the economic characters obviously. In conclusion, SC inhibited the enzymatic browning reaction and improved curing quality of flue-cured tobacco.

Key words flue-cured tobacco; sodium chlorite; enzyme browning reaction; PPO

烤烟烘烤过程中的酶促棕色化反应是引起烟叶颜色由黄变为不同程度的褐色,并导致挂灰、蒸片等

烤坏烟形成的重要原因之一,严重影响烟叶的商品等级和使用价值^[1]。因此许多研究者都试图利用各

收稿日期: 2012-03-02

基金项目: 中国农业科学院烟草研究所所长基金项目(TR2011-10)

第一作者: 任杰, 助理研究员, 博士, 主要从事烟叶调制加工研究, E-mail: renjie313@163.com

通讯作者: 孙福山, 研究员, 主要从事烟叶调制加工研究, E-mail: sfshqd@163.com

种抑制剂专一地调控酶促棕色化反应。但这些抑制剂多由于成本太高、安全性差或抑制效率低,迄今没有一套行之有效的办法来有选择地抑制酶促棕色化反应应用于烤烟生产^[2-3]。因此选择能安全高效抑制烟叶酶促棕色化反应的抑制剂,对提高烟叶烘烤质量具有重要意义。

亚氯酸钠(sodium chlorite, SC)是近年来广受关注的新一代保鲜剂和杀菌剂,SC除能杀灭食品中的病原微生物外,也能抑制食品中的酶促棕色化反应的发生^[4-6]。在苹果鲜切片上的研究表明,SC质量浓度在100~500 mg/L范围,可显著抑制多酚氧化酶(PPO)活性和酶促棕色化反应的发生,但是当SC质量浓度超过1 000 mg/L时则可能破坏组织细胞,失去抑制作用^[4-5]。对贮藏在4℃条件下莴苣叶片上的研究表明,在10~100 mg/L质量浓度内二氧化氯(ClO₂) (和SC一样,ClO₂⁻为其有效成分^[7])显著抑制了酶促棕色化反应的发生,并且抑制效果在5~20 min内随时间延长而增强^[2]。研究发现SC可能是通过抑制PPO活性而直接抑制酶促棕色化反应或通过氧化分解绿原酸等酶促棕色化反应的底物而减少酚类物质向醌类物质的转化从而降低酶促棕色化反应的发生^[6]。本试验在烟叶上的研究表明,SC在100~300 mg/L质量浓度内也能抑制鲜烟PPO活性,抑制烟叶在自然状态下的褐变速率,但是当SC质量浓度超过300 mg/L时则容易对烟叶组织造成伤害,从而失去抑制作用;在前期研究的基础上,选用抑制效果较好的200 mg/L SC于烘烤前喷洒于烟叶上,通过比较烘烤过程中PPO的活性及烤后烟叶的各项质量指标,进一步验证SC对烟叶质量的影响,旨在为防止烟叶在烘烤过程中由于烘烤不当造成低次等烟叶,改善烟叶质量提供新途径。

1 材料与方方法

1.1 试验材料及处理

供试烤烟品种选自种植在陕西省旬阳县丰家岭的K326,烘烤试验于2011年7—9月在丰家岭标准化烘烤工场进行。采收中部成熟一致鲜烟(9~12叶位,7~8成黄绿),立即用200 mg/L SC(含0.1%吐温-20)喷施处理(CSC),以喷施清水处理为对照(CK1),按照三段式烘烤方法,每24 h取样保存备用测定PPO活性。采收中部9~12叶位,7~8成黄绿烟叶和上二棚16~18叶位,8~9成黄绿成熟一致鲜烟,用200 mg/L SC喷施处理(CSC、BSC),

以清水处理为对照(CK1、CK2),处理后编竿,每个部位编烟2竿,放在密集烤房中层中部位置,采用高湿烘烤法进行烘烤。对标记的2竿烤后烟叶进行烟叶外观质量特征描述,并依据国家标准^[8]进行分级,计算上中等烟比例、均价。

1.2 样品测定

PPO活性测定采用文献^[9]的邻苯二酚氧化分光光度法,在420 nm波长下测定OD值。以每g烟叶样品每min内OD₄₂₀变化0.01为1个酶活性单位,U。

多酚含量采用高效液相色谱法^[10],氯含量^[11]、总植物碱^[12]、总糖和还原糖含量^[13]采用连续流动法,总氮^[14]、蛋白质^[15]含量采用克达尔法,淀粉含量^[16]采用分光光度法测定。

由中国农业科学院烟草研究所评吸委员会依据行业标准^[17]对烟叶样品卷制的卷烟样品进行感官质量评价。

1.3 统计分析

试验所有数据用Excel软件进行计算和作图。

2 结果与分析

2.1 SC对烘烤过程中烟叶PPO活性的影响

从图1可以看出,SC处理和对照烟叶在烘烤过程中PPO活性变化表现出相似的趋势,烟叶在采收时PPO活性较高,之后逐渐下降,至烘烤48 h即变黄末期降至最低,之后PPO活性迅速升高,至烘烤72 h升至最高,之后则又下降。研究结果说明SC处理烟叶在烘烤72 h时PPO活性显著低于对照烟叶,而烘烤72 h为45~47℃定色前期温度段,也是烟叶最容易发生酶促棕色化反应的阶段。因此SC处理显著抑制了定色前期酶促棕色化反应。

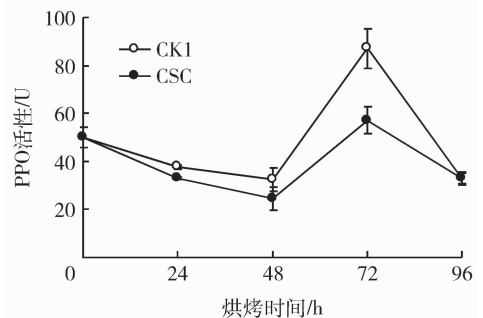


图1 SC对烘烤过程中烟叶PPO活性的影响
Fig. 1 Effects of SC on PPO activity changes of tobacco leaves during curing

2.2 SC对烤后烟叶多酚含量的影响

对烟叶中绿原酸、新绿原酸、隐绿原酸、芸香苷、茛菪亭等多酚类物质含量进行了分析,从图2中可以看出,烤烟中多酚类物质以绿原酸含量最高,其次为芸香苷、隐绿原酸和新绿原酸,茛菪亭含量最低。与对照相比,SC处理中部叶茛菪亭和绿原酸含量有

所增加,但新绿原酸含量和隐绿原酸含量则有所下降,芸香苷含量与对照并无显著差异,总多酚含量与对照相比差异不显著。与中部叶不同,SC处理上部叶茛菪亭含量有所下降,而绿原酸、新绿原酸、隐绿原酸和芸香苷含量较对照均显著增加,总多酚含量显著高于对照处理。

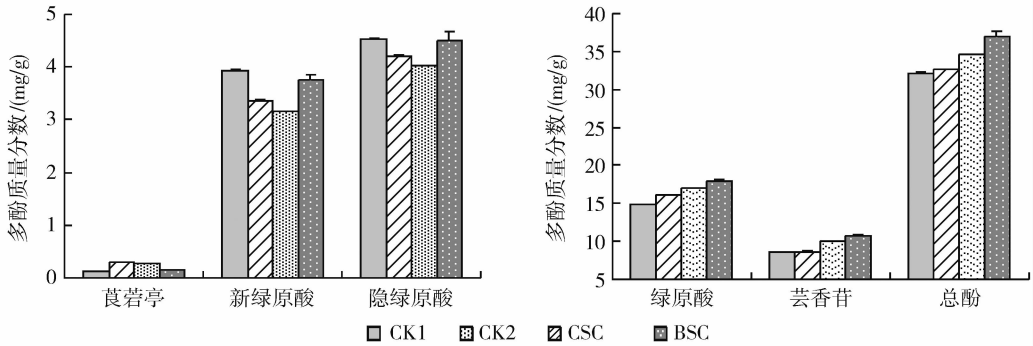


图2 SC对烤后中部叶和上部叶多酚质量分数的影响

Fig. 2 Effects of SC on polyphenol contents of middle leaves and upper leaves

2.3 SC对烤后烟叶常规化学成分及氯含量的影响

从表1中可以看出,烟区烟叶氯含量和还原糖含量偏低,而因为SC中含有氯元素,所以SC处理显著提高中部叶和上部叶的氯含量。此外,SC处理

显著提高了中部叶和上部叶还原糖含量,降低了中部和上部烟叶烟碱含量,但上部烟叶与对照相比差异不显著。SC处理对总糖、总氮、淀粉、蛋白质含量均无显著影响。因此SC处理能提高烤后烟叶两糖比、糖碱比和糖氮比,从而使烤后烟叶化学成分更趋协调,有利于烟叶品质改善。这一结果与施氯量适当增加能改善烤后烟叶化学成分协调性的研究结论^[18]是一致的。

表1 SC对烤后烟叶常规化学成分及氯质量分数的影响

Table 1 Effects of SC on the contents of main chemical components and chlorine of cured tobacco leaves

处理	氯	还原糖	总糖	烟碱	总氮	淀粉	蛋白质
CK1	0.18	10.2	13.6	2.65	2.20	0.79	5.46
CSC	0.21*	12.5*	13.9	2.28*	2.27	0.79	5.92
CK2	0.14	13.8	16.6	2.55	2.28	1.33	6.53
BSC	0.27*	14.6*	16.6	2.42	2.20	1.16	5.89

注: *表示经t-test处理和对照在 $\alpha=0.05$ 水平上有显著差异。

2.4 SC对烤后烟叶感官质量的影响

从表2中可以看出,SC能改善中上部烟叶感官质量,其中以上部叶效果最好。SC处理中部烟叶抽吸劲头适中,香气质、香气量、余味舒适性较对照有所提高,杂气、刺激性较对照有所减少,综合得分高于对照1.1分,但质量档次均为中等,无显著差异。

表2 SC对烤后烟叶感官质量的影响

Table 2 Effects of SC on smoking quality of cured tobacco leaves

处理	香型	劲头 ^①	浓度	香气质 (15)	香气量 (20)	余味 (25)	杂气 (18)	刺激性 (12)	燃烧性 (5)	灰色 (5)	得分 (100)	质量 档次 ^②
CK1	中偏浓	适中+	中等+	10.4	15.7	18.0	12.2	8.4	3.0	3.1	70.8	中等
CSC	中偏浓	适中	中等	10.7	15.8	18.3	12.4	8.7	3.0	3.1	71.9	中等
CK2	中偏浓	适中+	中等+	10.6	15.8	18.2	12.4	8.4	3.0	3.1	71.5	中等
BSC	中偏浓	适中	中等+	11.2	16.2	19.1	12.8	8.7	3.0	3.1	74.1	中等+

注:括号中的数字为评价指标满分值。①+为劲头指标位于适中和较大之间;②+为质量档次位于中等和较好之间。

SC处理上部烟叶抽吸劲头适中,香气质、余味舒适性明显高于对照,香气量较对照有所增加,杂气、刺激性有所减少,综合得分高于对照2.6分,质量档次也显著高于对照。此外,虽然外施SC增加了烤后烟叶氯含量,但在适宜范围之内,因此对燃烧性和灰色并无显著影响。研究结果说明SC处理提高了烤后烟叶的感官质量。

2.5 SC对烤后烟叶经济性状的影响

研究了SC对中部叶和上部叶烤后烟叶等级结构和经济性状的影响,从表3可以看出,与对照相比,SC处理显著提高了中部叶和上部叶的上等烟比例、黄烟率和均价,其中中部叶上等烟比例较对照提高了19.4个百分点,黄烟率较对照提高了17.8个百分点,均价较对照提高了2.7元/kg;上部叶上等烟比例较对照提高了22.5个百分点,黄烟率较对照提高了5.4个百分点,均价较对照提高了1.6元/kg。SC处理显著降低了下等烟和杂色烟比例,其中中部叶下等烟和杂色烟比例较对照下降17.8个百分点,上部叶下等烟和杂色烟比例较对照下降5.4个百分点。

表3 SC对烤后烟叶经济性状的影响

Table 3 Effects of SC on economic characters of cured tobacco leaves

处理	所占比例/%					均价/ (元/kg)
	上等烟	中等烟	下等烟	黄烟率	杂色烟	
CK1	37.2	26.8	36.0	64.0	36.0	15.0
CSC	56.6	25.2	18.2	81.8	18.2	17.7
CK2	19.7	61.5	18.8	81.2	18.8	13.0
BSC	42.2	44.4	13.4	86.6	13.4	14.6

3 讨论

1)酶促棕色化反应与PPO活性密切相关,抑制烟叶PPO活性也是调控酶促棕色化反应的主要措施。环境温度、水分、pH、抑制剂和激活剂等对烟叶中多酚氧化酶的活性都有很大影响^[1]。人们已经从物理^[19]、化学^[20]等多方面入手,找到一些调控PPO活性的方法,在化学控制方面,已经证明L-半胱氨酸^[21]、PVP^[22]、硫脲^[3,21-22]、铜试剂(NaDiCa)^[3,23]、EDTA^[3,22-23]和钼^[24]等均能在一定程度上抑制烟草酶促棕色化反应,但这些抑制剂或成本太高或具有有很大毒性^[2,6],实际应用存在一定局限性。SC安

全、高效、广谱和无毒副残留,可广泛应用于食品、医疗、环境和饮水等领域。研究表明,ClO₂⁻也能抑制莴苣叶片的酶促棕色化反应,延长其货架期^[2]。在对鲜烟叶酶促棕色化反应抑制方面,在0~300 mg/L质量浓度内,SC表现出随质量浓度增大而增强的趋势,而本研究表明SC同样显著抑制了烟叶烘烤过程中的PPO活性。迄今为止,有关SC抑制PPO活性的机理还不完全清楚。最近有研究^[6,25]指出SC可能就是通过将Cu⁺氧化成Cu²⁺而调控PPO活性。因为在生物组织内,PPO活性位点与铜离子结合,在棕色化反应中Cu²⁺和Cu⁺保持动态平衡,而随着Cu²⁺浓度的增加PPO活性的下降^[26]。因此SC可能是通过提高Cu²⁺的浓度而间接抑制PPO活性。

2)棕色化反应的发生需要多酚氧化酶类与多酚类物质接触,从而使多酚类物质迅速氧化成醌类物质,多酚类物质因消耗而含量下降^[23]。SC抑制了中部烟叶烘烤过程中PPO活性,但中部烤后烟叶除莨菪亭和绿原酸含量有所增加外,新绿原酸含量和隐绿原酸含量等多酚类物质反而下降,总酚含量也无显著增加,在L-半胱氨酸等PPO抑制剂对烟叶质量影响研究上也得到相似结果^[27],这可能是因为在酸性条件下SC能将多酚类物质氧化分解为咖啡酸和奎宁酸,而在偏碱性条件下SC则能将多酚氧化为相应的醌,而在SC存在的条件下所形成的醌并不能进一步聚合形成色素,相反,通过一段时间的反应后醌也被氧化降解^[6]。这2种反应也均能消耗烟叶中的多酚类物质。但是与中部烟叶不同,SC处理上部烟叶绿原酸、新绿原酸、隐绿原酸和总酚含量均显著增加,李玉娥等^[27]在硫脲等PPO抑制剂对多酚类物质影响的研究上也得出相似结果。具体原因有待于进一步研究。

3)氯素是烤烟正常生长发育所必需的营养元素之一,烟叶氯含量与主要挥发性香气物质含量之间存在着密切关系,但烤烟又是“忌氯”作物,过量的氯会导致烟叶厚而脆,弹性和燃烧性下降,香气减少,但氯含量过低则易造成烟叶油润性不足,出丝率下降^[28]。一般认为,烟叶氯含量以0.3%~0.8%为宜^[28]。研究表明^[18],随着施氯量的增加,烟叶总糖和还原糖含量有明显提高,烟碱含量表现出逐渐减小的趋势。SC因含有氯元素,所以SC处理烤后烟叶氯含量增加,从而提高了还原糖含量,降低了烟碱含量。这与施氯量增大能提高烟叶还原糖含量,降

低烟碱含量的研究结果是一致的。

4) SC 能改善中部烟叶感官质量, 但与对照相比差异不显著, 与此不同, SC 能显著提高上部烟叶感官质量, 这可能与 SC 对中部和上部烟叶多酚和氯含量的影响有关。SC 虽能显著提高中部烟叶氯含量, 但因其所用浓度较低, 所以提高程度不大, 对多酚含量的影响也不显著。而 SC 不仅能显著提高上部叶氯含量, 也能显著提高其多酚含量。而适量地提高烟叶氯含量能有效改善烟叶感官质量^[18]。而多酚是烟叶中重要的香气前体物, 对烟叶颜色、烟气和生理强度起着重要作用, 提高烟叶多酚含量有利于改善烟叶感官质量^[29]。

4 结 论

SC 抑制了烟叶烘烤过程中酶促棕色化反应, 提高了烤后烟叶经济性状, 同时也能提高烟叶氯含量, 使化学成分更趋协调, 增加香气量和香气质, 改善烟叶感官质量。

参 考 文 献

- [1] 李玉娥, 尹启生, 宋纪真. 烟草酶促棕色化反应及调控技术研究进展[J]. 中国烟草科学, 2008, 29(6): 71-77
- [2] Chen Z, Zhu C, Zhang Y, et al. Effects of aqueous chlorine dioxide treatment on enzymatic browning and shelf-life of fresh-cut asparagus lettuce (*Lactuca sativa* L) [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2010, 58: 232-238
- [3] 李明. 抑制剂对 PPO 活性及烟叶烘烤效果影响的研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2009
- [4] Luo Y G, Lu S M, Zhou B, et al. Dual effectiveness of sodium chlorite for enzymatic browning inhibition and microbial inactivation on fresh-cut apples [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2011, 44: 1621-1625
- [5] Lu S M, Luo Y G, Turner E, et al. Efficacy of sodium chlorite as an inhibitor of enzymatic browning in apple slices [J]. *Food Chemistry*, 2007, 104: 824-829
- [6] He Q, Luo Y G, Chen P. Elucidation of the mechanism of enzymatic browning inhibition by sodium chlorite [J]. *Food Chemistry*, 2008, 110: 847-851
- [7] 贺启环, 郭登元. 稳定性二氧化氯溶液与亚氯酸钠溶液的评估指标研究[J]. 化工标准化与质量监督, 2000(9): 20-22
- [8] 国家技术监督局. GB2635-92 烤烟[S]. 北京: 中国标准出版社, 1992
- [9] Pizzocaro F. Inhibition of apple polyphenol oxidase by ascorbic

- acid, citric acid and sodium chloride [J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 1993(17): 21-30
- [10] 国家烟草专卖局. YC/T 202-2006 烟草及烟草制品多酚类化合物绿原酸、萜萜亭和芸香苷的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006
- [11] 国家烟草专卖局. YC/T 162-2011 烟草及烟草制品 氯的测定 连续流动法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2011
- [12] 国家烟草专卖局. YC/T 160-2002 烟草及烟草制品 总植物碱的测定 连续流动法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2002
- [13] 国家烟草专卖局. YC/T 159-2002 烟草及烟草制品 水溶性糖的测定 连续流动法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2002
- [14] 国家烟草专卖局. YC/T 33-1996 烟草及烟草制品 总氮的测定 克达尔法[S]. 北京: 中国标准出版社, 1996
- [15] 国家烟草专卖局. YC/T 166-2003 烟草及烟草制品 总蛋白质含量的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003
- [16] 国家烟草专卖局. YC/T 216-2007 烟草及烟草制品 淀粉的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2007
- [17] 国家烟草专卖局. YC/T 138-1998 烟草及烟草制品 感官评价方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 1998
- [18] 余金龙, 陈若星, 王玉帅, 等. 施氮量对烤烟生长及品质的影响[J]. 中国烟草科学, 2011, 32(6): 60-66
- [19] 韩富根, 焦桂珍, 刘学芝, 等. 烟草叶片多酚氧化酶的提取及其特性研究[J]. 河南农业大学学报, 1995 (1): 98-102
- [20] Liu W, Rao X, Pan J, et al. Kinetics of inhibition of polyphenol oxidase obtained from tobacco *Nicotiana tobacum* [J]. *Tsinghua Science and Technology*, 2004, 9(1): 94-97
- [21] 李玉娥, 宋纪真, 蔡宪杰, 等. 多酚氧化酶抑制剂对烟叶质量的影响[J]. 烟草科技, 2009(8): 56-64
- [22] 李尼杭, 卢红, 杨焕文. 烘烤过程多酚氧化酶抑制剂对烤烟多酚的影响[J]. 云南农业大学学报, 2007, 22(1): 69-73
- [23] 雷东锋, 马长德, 莫晓燕, 等. 烟叶中 PPO 的抑制效应[J]. 西北农林科技大学学报, 2002, 30(suppl.): 130-134
- [24] 李章海, 宋泽民, 黄刚, 等. 钼对烤烟烘烤过程中酶促棕色化和烟叶质量的影响[J]. 中国烟草科学, 2011, 32(3): 46-50
- [25] Xiao Z L, Luo Y C, Luo Y G, et al. Combined effects of sodium chlorite dip treatment and chitosan coatings on the quality of fresh-cut d' Anjou pears [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2011, 62: 319-326
- [26] McEvily A J, Iyengar R, Otwell W S. Inhibition of enzymatic browning in foods and beverages [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1992, 32: 253-273
- [27] 李玉娥, 宋纪真, 蔡宪杰, 等. 多酚氧化酶抑制剂对烟叶质量的影响[J]. 烟草科技, 2009(8): 56-64
- [28] 徐安传, 李佛琳, 王超. 氯素对烤烟生长发育和品质的影响研究进展[J]. 中国烟草科学, 2007, 28(2): 6-9
- [29] 史志宏, 韩锦峰, 官春云. 烟叶香气前体物在成熟和调制过程中的变化[J]. 作物研究, 1996, 10(2): 22-25