

DOI: 10.3969/j.issn.1000-3142.2013.06.006

蒲敏,崔国民,白建波,等. 烘烤条件对烟叶叶绿体淀粉粒超微结构变化的影响[J]. 广西植物,2013,33(6):751—755

Pu Min, Cui GM, Bai JB, et al. Effects of baking techniques in chloroplast starch granule ultrastructure of flue-cured tobacco leaf [J]. Guihaia, 2013, 33(6):751—755

烘烤条件对烟叶叶绿体淀粉粒超微结构变化的影响

蒲 敏¹, 崔国民², 白建波¹, 张静潮¹, 袁 行¹, 李荣春^{1*}

(1. 云南农业大学 农学院, 昆明 650201; 2. 云南省烟草科学研究院, 云南 玉溪 653100)

摘 要: 以津巴布韦烤烟 KRK26 品种中部烟叶为实验材料, 观察不同烘烤条件对烤烟 KRK26 中部烟叶叶绿体淀粉粒超微结构的影响变化。结果表明: (1) 低温低湿条件下, 烟叶叶绿体淀粉粒于烘烤 36~48 h 发生破裂; (2) 中温中湿条件下, 烟叶叶绿体淀粉粒于烘烤 24~36 h 发生破裂; (3) 中温高湿条件下, 烟叶叶绿体淀粉粒于烘烤 12~24 h 发生破裂。由此可见, 在实际生产中为了降低成品烟叶中淀粉的含量, 最适合采用中温高湿烘烤条件。

关键词: 烤烟; 烘烤技术; 淀粉粒超微结构

中图分类号: Q948 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2013)06-0751-05

Effects of baking techniques in chloroplast starch granule ultrastructure of flue-cured tobacco leaf

PU Min¹, CUI Guo-Min², BAI Jian-Bo¹, ZHANG Jing-Chao¹,
YUAN Xing¹, LI Rong-Chun^{1*}

(1. Yunnan Agricultural University, Kunming 650201 China; 2. Yunnan Tobacco Research Institute, Yuxi 653100, China)

Abstract: The leaves Chloroplast starch granule ultrastructure of flue-cured tobacco 'KRK26' were studied by microscopic observation with three curing techniques. The result were as follows: (1) In lower temperature and lower humidity condition, the leaves Chloroplast starch granule were rupture in baking 36—48 h; (2) In middle temperature and middle humidity condition, the leaves Chloroplast starch granule were rupture in baking 24—36 h; (3) In middle temperature and higher humidity condition, the leaves Chloroplast starch granule were rupture in baking 12—24 h. In the production, the middle temperature and higher humidity condition was the best choice in order to reduce the content of starch in tobacco products.

Key words: flue-cured tobacco; curing technique; starch granule ultrastructure

烟叶淀粉是烤烟叶片大田期积累的重要碳水化合物, 成熟的鲜烟叶中淀粉含量高达 40% (邓云龙, 2001; 宫长荣, 2006)。与其它作物不同, 淀粉只是烟草发育过程中碳水化合物的暂存形式, 调制过程中淀粉的分解和转化状况, 对烤后烟叶内部化学成分之间的协调程度有重要影响 (Wekks, 1985)。烟叶

烘烤就是创造一个适宜的温湿度环境, 使烟叶变黄、干燥, 呈现和固定烟叶品质的过程 (宫长荣, 2003)。烘烤过程中, 变化量最大的是淀粉, 减少 80% 以上 (聂荣邦, 1992; 韩锦峰, 1996)。淀粉在烘烤过程中的分解、转化、消耗状况决定着烤后烟叶内在品质和外观商品等级的优劣 (宫长荣, 1994)。目前, 淀粉含

收稿日期: 2013-02-25 修回日期: 2013-05-05

基金项目: 云南省烟草公司资助项目“烤烟提质增香调制工艺研究与应用”; 云南省烟草农业科学研究院“烤烟提质增香调制工艺研究与应用”(05-13)

作者简介: 蒲敏(1986-), 女(白族), 云南大理市人, 硕士在读, 主要从事烟草解剖结构研究, (E-mail) ymiapu@126.com。

*通讯作者: 李荣春, 教授, 主要从事植物学和食用菌学研究, (E-mail) rongchunli@126.com。

量偏高是影响我国烤烟质量的一个重要问题,烟草科技工作者也常把淀粉含量作为评价烟叶内在质量的一项重要指标。官长荣等(2003)对调制过程中烟叶淀粉含量的变化做了详尽的研究,并提出了合理调控淀粉含量的工艺措施。

对于烤烟淀粉在调制过程中的变化,目前的研究主要集中在如何调控温度、湿度等环境因子降低淀粉含量等方面,研究发现,烟叶高温变黄,较低温变黄,淀粉分解速度快;慢速升温定色较快速升温定色,淀粉分解多,还原糖含量高。在烘烤环境温度较高的情况下,只要烟叶自身仍保持足够的水分,烘烤环境有足够的湿度,淀粉就能充分降解,烟叶水分和烘烤环境湿度是烟叶淀粉充分降解的限制性因素(官长荣,2001)。而忽略了淀粉的存在形态,没有将淀粉结构特性结合起来研究(宋朝鹏,2010)。本研究利用透射电镜(TEM)显微技术,研究烘烤过程中淀粉形态结构的变化,比较不同部位烟叶在不同烘烤条件下淀粉形态结构上的变化动态,探讨淀粉形态结构与烟叶品质之间的关系,将有利于解析烤烟品质和风格的形成机理,可为烘烤过程中合理调控淀粉含量提供理论依据,为生产中烤烟烟叶采用适合的烘烤条件提供理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 试验时间、地点

研究田间试验于 2010 年在云南省普洱市景谷永平烟草基地进行,室内试验在云南农业大学农学与生物技术学院植物学解剖实验室进行。

1.2 供试材料

实验供试品种为烤烟 KRK26,采用优质烟草栽培技术种植于云南省普洱市景谷永平烟草基地,试验地质为壤土,土壤肥力中等,栽植密度每公顷为 86.7 株,施纯氮肥 0.33 kg/hm²,氮磷钾肥的比列为 1:2:3。所采样品为烤烟 KRK26 成熟(成熟标准为叶大部浅黄、叶尖约 5 cm 近浅黄,叶面 2/3 茸毛脱落,主支脉变白,茎叶角度为 90°)、无破损、无脏物、无病斑的中部叶片。

1.3 烘烤处理

低温低湿、中温中湿、中温高湿 3 种烘烤工艺(表 1,表 2,表 3)(崔国民,2011),从自然温度起,在 8~10 h 内升温到工艺起点温度,整个烘烤过程,严格按“四看、四定、四严、四灵活”的烘烤原则进行调控(杨仕

福,1994),烟叶达到变化目标要求后,以每小时 1.0 ℃ 的升温速度转到下一段,直到全炉烟叶干燥。

表 1 低温低湿烘烤条件

Table 1 Low temperature and low humidity condition					
阶段 Stage	干球温度 Dry bulb temperature (℃)	湿球温度 Wet bulb temperature (℃)	干湿差 Dry wet difference (℃)	相对湿度 Relative humidity (%)	烟叶变化 目标 Leaf change goal
1	34.0	31.5	2.5	81	底台烟叶变黄 6 cm 以上
2	38.0	33.0	5.0	66	底台烟叶叶肉 基本变黄
3	42.0	34.0	8.0	54	底台烟叶叶肉 基本干燥
4	52.0	36.0	16.0	31	全炉烟叶叶肉 基本干燥
5	68.0	38.0	30.0	12	全炉烟叶干燥

表 2 中温中湿烘烤条件

Table 2 Middle temperature and middle humidity condition					
阶段 Stage	干球温度 Dry bulb temperature (℃)	湿球温度 Wet bulb temperature (℃)	干湿差 Dry wet difference (℃)	相对湿度 Relative humidity (%)	烟叶变化 目标 Leaf change goal
1	36.0	34.5	1.5	88	底台烟叶变黄 6 cm 以上
2	40.0	36.0	4.0	73	底台烟叶叶肉 基本变黄
3	44.0	38.0	6.0	64	底台烟叶叶肉 基本干燥
4	54.0	39.0	15.0	36	全炉烟叶叶肉 基本干燥
5	68.0	40.0	28.0	15	全炉烟叶干燥

表 3 中温高湿烘烤条件

Table 3 Middle temperature and higher humidity condition					
阶段 Stage	干球温度 Dry bulb temperature (℃)	湿球温度 Wet bulb temperature (℃)	干湿差 Dry wet difference (℃)	相对湿度 Relative humidity (%)	烟叶变化 目标 Leaf change goal
1	38.0	37.0	1.0	93	底台烟叶变黄 6 cm 以上
2	42.0	39.0	3.0	81	底台烟叶叶肉 基本变黄
3	46.0	41.0	5.0	71	底台烟叶叶肉 基本干燥
4	56.0	42.0	14.0	40	全炉烟叶叶肉 基本干燥
5	68.0	43.0	25.0	20	全炉烟叶干燥

1.4 切片观察

将烤前 0 h,烘烤 12、24、36、48、60、72、84 h 的叶片,采用 10 mm 打孔器定叶分别于叶片中部,距主脉 10 cm 处取样(图 1),迅速投入体积分数为 2.5%戊二醛固定液中,抽气至完全下沉,4 ℃ 下保存,后用磷酸缓冲液(pH7.6)洗涤 3 次,每次 20 min。再将该材料转移到 1 %锇酸中,置 4 ℃ 下固定 4 h,蒸馏水洗涤 3 次,每次 20 min;随后经梯度

乙醇—丙酮逐级脱水,Epon-618 渗透、包埋,半薄切片,光镜选区定位,修块,Leica-R 型超薄切片机切片,柠檬酸铅、醋酸铀双染色,在 JEM-1011 透射电镜下观察并摄片。

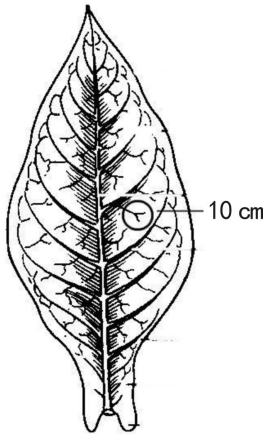


图 1 叶片采样位置
Fig. 1 Leaf sampling location

2 结果与分析

2.1 三种烘烤条件下淀粉粒的变化特点

2.1.1 低温低湿条件下烟叶淀粉粒的变化特点 低温低湿条件下,烘烤 0~12 h,干球温度 34 ℃,湿球温度 31.5 ℃,相对湿度 81%,此时烟叶叶绿体中淀粉粒纹饰清晰,边缘完整,并且双折射现象相对于未烘烤烟叶的淀粉粒减弱,烟叶中淀粉开始降解(图版 I :B)。烘烤 12~24 h,干球温度 38 ℃,湿球温度 33 ℃,相对湿度 66%,淀粉粒内部纹饰发生收缩多皱褶,边缘完整,靠近边缘部分有空洞出现(图版 I :C);烘烤 24~36 h,干球温度 42 ℃,湿球温度 34 ℃,相对湿度 54%,部分淀粉粒纹饰模糊,边缘完整,部分转变为结构松散的半透明球状(图版 I :D);烘烤 36~48 h,干球温度 52 ℃,湿球温度 36 ℃,相对湿度 31%,淀粉粒内纹饰表面塌陷,边缘破裂,整个淀粉结构表现呈液化(图版 I :E);烘烤 48~60 h 以后,烟叶叶绿体中淀粉粒空洞明显,结构表现破裂与细胞质混淆,烟叶中淀粉大量破碎、降解,逐渐消失(表 4)。

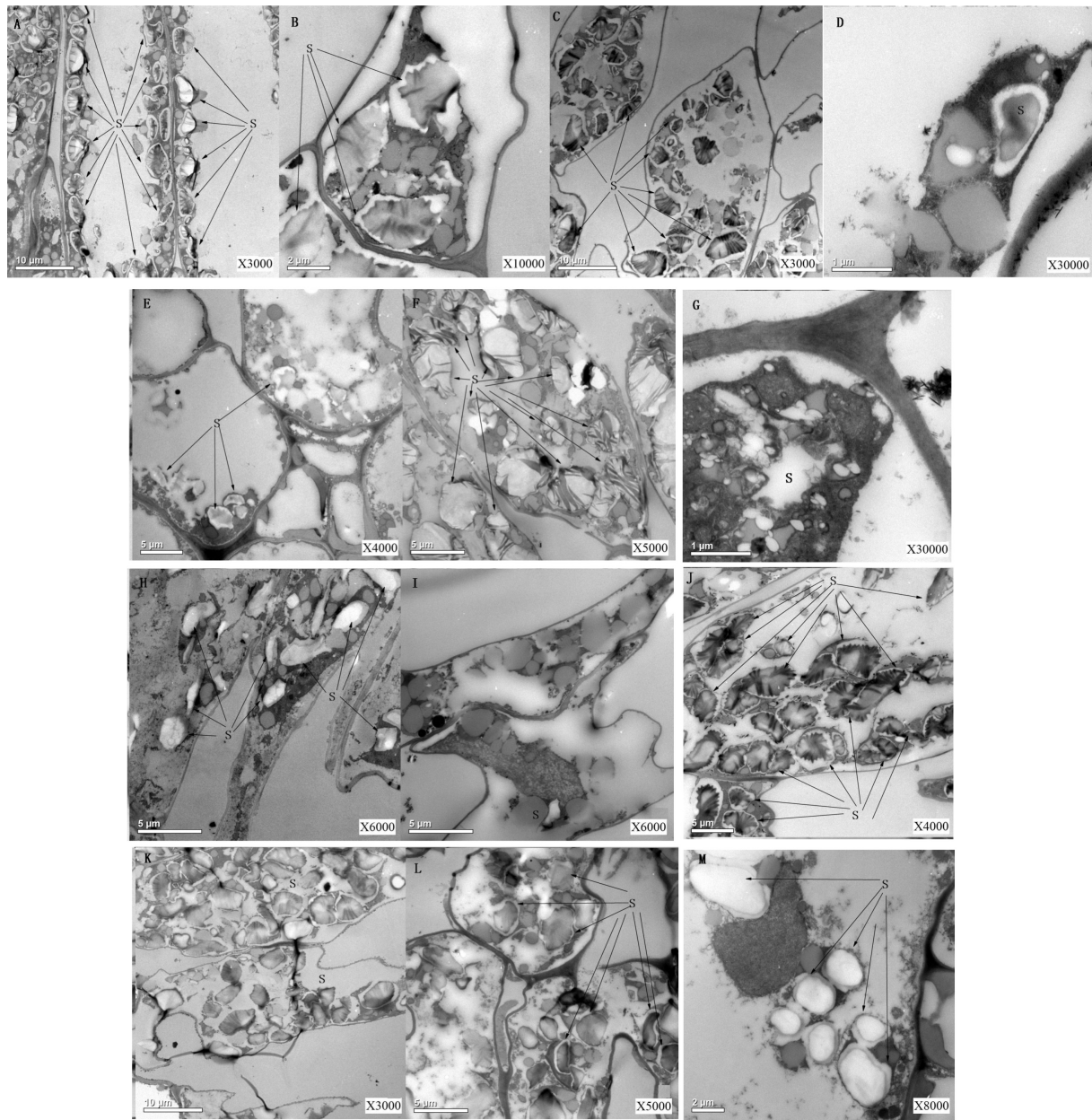
2.1.2 中温中湿条件下烟叶淀粉粒的变化特点 中温中湿条件下,烘烤 0~12 h,干球温度 36 ℃,湿球温度 34.5 ℃,相对湿度 88%,此时烟叶叶绿体中淀粉粒纹饰清晰山脊状明显,边缘完整,并且双折射现

表 4 低温低湿条件下烟叶淀粉粒形态					
Table 4 Tobacco leaf starch granule shape in low temperature and low humidity condition					
烘烤时间 Baking time (h)	干球温度 Dry bulb temperature (℃)	湿球温度 Wet bulb temperature (℃)	干湿 Dry wet difference (℃)	相对湿度 Relative humidity (%)	淀粉粒形态 Starch granule shape
12	34.0	31.5	2.5	81	纹饰清晰,边缘完整,双折射减弱
24	38.0	33.0	5.0	66	多皱褶收缩,有空洞出现,双折射减弱
36	42.0	34.0	8.0	54	部分纹饰模糊,转变为结构松散的半透明球状
48	52.0	36.0	16.0	31	颗粒表面塌陷,呈薄煎饼形,破裂
60	68.0	38.0	30.0	12	多皱褶收缩扭曲空洞明显,破裂

象相对于未烘烤烟叶的淀粉粒减弱(图版 I :F);烘烤 12~24 h,干球温度 40 ℃,湿球温度 36 ℃,相对湿度 73%,淀粉粒有空洞出现,纹饰模糊(图版 I :G);烘烤 24~36 h 干球温度 44 ℃,湿球温度 38 ℃,相对湿度 64%,纹饰模糊,部分多网孔,液化,转变为结构松散的半透明球状,边缘破裂(图版 I :H);烘烤 36~48 h 以后,烟叶叶绿体中淀粉粒结构均表现破裂与细胞质混淆,烟叶中淀粉大量降解(图版 I :I);烘烤 48~60 h 以后,烟叶叶绿体中淀粉粒破碎与细胞质混淆,逐渐降解消失(表 5)。

表 5 中温中湿条件下烟叶淀粉粒形态					
Table 5 Tobacco leaf starch granule shape in middle temperature and middle humidity condition					
烘烤时间 Baking time (h)	干球温度 Dry bulb temperature (℃)	湿球温度 Wet bulb temperature (℃)	干湿 Dry wet difference (℃)	相对湿度 Relative humidity (%)	淀粉粒形态 Starch granule shape
12	36.0	34.5	1.5	88	山脊状明显,双折射减弱
24	40.0	36.0	4.0	73	纹饰模糊,部分出现空洞,双折射减弱
36	44.0	38.0	6.0	64	空洞,液化、结构松散的半透明,出现破裂
48	54.0	39.0	15.0	36	呈薄煎饼形,破裂,数量明显减少
60	68.0	40.0	28.0	15	破碎,结构紊乱,消失

2.1.3 中温高湿条件下烟叶淀粉粒的变化特点 中温高湿条件下,烘烤 0~12 h,干球温度 38 ℃,湿球温度 37 ℃,相对湿度 93%,淀粉粒纹饰清晰,边缘



图版 I 烘烤对淀粉粒的影响 A. 鲜烟叶淀粉粒形态; B-E. 低温低湿烘烤 (B. 12 h; C. 24 h; D. 36 h; E. 48 h); F-I. 中温中湿烘烤 (F. 12 h; G. 24 h; H. 36 h; I. 48 h); J-M. 中温高湿烘烤 (J. 12 h; K. 24 h; L. 36 h; M. 48 h)。
Plate I Effects of backing on starch granule shape A. Starch granule shape of fresh tobacco; B-E. Lower temperature and lower humidity condition (B. 12 h; C. 24 h; D. 36 h; E. 48 h); F-I. Middle temperature and middle humidity condition (F. 12 h; G. 24 h; H. 36 h; I. 48 h); J-M. Middle temperature and higher humidity condition (J. 12 h; K. 24 h; L. 36 h; M. 48 h).

完整(图版 I :J);烘烤 12~24 h,干球温度 42℃,湿球温度 39℃,相对湿度 81%,此时烟叶叶绿体中淀粉粒形态均有较明显的空洞和纹饰模糊,淀粉粒边缘出现破裂,并且双折射现象相对于未烘烤烟叶的淀粉粒减弱,烟叶叶绿体中淀粉降解量明显增加(图版 I :K);烘烤 24~36 h,干球温度 46℃,湿球温度 41℃,相对湿度 71%,淀粉粒结构松散,液化呈半透明状,降解量继续增加(图版 I :L);烘烤 36~48 h

干球温度 56℃,湿球温度 42℃,相对湿度 40%以后,烟叶淀粉粒结构均表现破裂与细胞质混淆,烟叶淀粉几乎完全降解(图版 I :M)(表 6)。
表 6 显示,低温低湿条件下,由于烟叶失水过快,可能是由于淀粉酶的活性和热稳定性保持时间短,所以淀粉粒形变慢,淀粉分解量少。中温高湿条件下,由于相对湿度较其他两种条件高,烟叶失水相对减慢,淀粉酶的活性和热稳定性保持时间长,淀粉

表 6 中温高湿条件下烟叶淀粉粒形态
Table 6 Tobacco leaf starch granule shape in middle temperature and high humidity condition

烘烤时间 Baking time (h)	干球温度 Dry bulb temperature (℃)	湿球温度 Wet bulb temperature (℃)	干湿 Dry wet difference (℃)	相对湿度 Relative humidity (%)	淀粉粒形态 Starch granule shape
12	38.0	37.0	1.0	93	山脊状明显,边缘完整,双折射减弱
24	42.0	39.0	3.0	81	多皱褶收缩,空洞明显,双折射减弱,出现破裂
36	46.0	41.0	5.0	71	数量减少,部分转变为结构松散的半透明球状
48	56.0	42.0	14.0	40	颗粒表面塌陷,呈薄煎饼形,破碎

分解量多,淀粉粒形变明显,破裂早,降解快。中温中湿条件下居中。

3 讨论

本研究结果表明,烟叶在不同的烘烤温湿度条件下,其淀粉粒形态结构表现出不同程度的变化,但形变剧烈时期的环境湿度几乎都在 65%~70%,这与官长荣(2003,1998)在淀粉分解酶方面的研究结果相吻合,其研究中指出,烘烤过程中淀粉等生物大分子迅速降解,淀粉的转化是在淀粉分解酶作用下进行,淀粉分解酶在 20℃ 以上随温度的升高而活性随之增高,60℃ 时达最大值,到 70℃ 时完全失去活性。烟叶烘烤环境中相对湿度和烟叶内水分的存在是淀粉酶保持一定活性状态的前提,65%~70% 的环境湿度是淀粉降解的限制值,低的湿度更能使淀粉分解酶失去活性。烟叶叶绿体中淀粉粒形态的变化与烟叶淀粉降解量有相关性。

三种烘烤条件下低温低湿烘烤工艺对降低烟叶淀粉含量欠佳;中温中湿烘烤工艺能促进烟叶淀粉较为充分地分解转化,极显著地降低烟叶淀粉含量,有利于中部初熟烟叶和上部适熟烟叶烘烤质量的提高,这与课题组研究(崔国民,2012)相吻合。中温高湿烘烤工艺大幅度地降低了烟叶淀粉含量。中温高湿烘烤条件下,由于整个烘烤过程均温度均维持在淀粉酶分解温度 20~70℃ 之间,且均高于其他两种烘烤条件,这样的温度条件,使得烟叶中的淀粉分解酶能维持较高的活性,从而促进淀粉的分解速率;65%~70% 的环境湿度是淀粉降解的限值,中温高

湿烘烤条件下,淀粉粒结构变化最剧烈时期的环境湿度较其它两种烘烤条件来说是最接近这一限值的;该条件下淀粉分解速率也是三种烘烤条件中最快的,在电镜下观察其淀粉粒形态变化最大,这都取决于中温高湿烘烤方法为淀粉酶提供了最适合发挥其活性的条件,使得淀粉在短时间内较快地降解。

4 结论

综上所述,依据烟叶叶绿体中淀粉粒形态结构在三种烘烤条件下的变化特征,我们可以看出,在实际生产中为了降低成品烟叶中淀粉的含量,采用中温高湿烘烤条件最适合。

致谢 感谢云南省烟草农业科学研究院烟草种植基地科学的栽培和烘烤系统、云南农业大学植物解剖实验室、昆明医学院电镜室和云南农业大学农科中心先进完整的解剖实验设备仪器的支持;承蒙广西植物审稿专家审阅本文并提出宝贵意见,在此表示感谢。

参考文献:

杨仕福. 1994. 云烟烘烤与分级 [M]. 昆明: 云南科技出版社: 1—3, 170—172, 176—199
官长荣. 2003. 烟草调制学 [M]. 北京: 中国农业出版社: 1—7, 91, 148, 149, 205
官长荣. 1994. 等烟叶烘烤原理 [M]. 北京: 科学出版社
聂荣邦. 1992. 烤烟栽培与调制 [M]. 长沙: 湖南科学出版社, 106; 112, 166—187
崔国民, 余砚碧, 杨懿德, 等. 2011. 一种能使烟叶提质增香的烤烟烘烤工艺 [P]. 中国发明专利: zL20o81O233633. 1, 2011-01-05
韩锦峰. 1996. 烟草栽培生理 [M]. 北京: 中国农业出版社: 142, 150, 154—155, 158—159
Cui GM (崔国民), Dian RL (典瑞丽), Yang ZJ (杨子娟). 2012. Effect of position, maturity and curing technique on tobacco starch content (烟叶部位成熟度烘烤工艺对淀粉代谢的影响) [J]. Chin Agric Sci Bull (中国农学通报), 28 (13): 259—263
Deng YL (邓云龙), Kong GH (孔光辉), Wu JK (武锦坤), et al. 2001. Effect of nitrogen nutrition on starch accumulation and activity of SPS and diastase in tobacco (氮素营养对烤烟叶片淀粉积累及 SPS、淀粉酶活性的影响) [J]. Tob Sci & Technol (烟草科技), 11: 34—37
Gong CR (官长荣), Liu X (刘霞), Guo R (郭瑞), et al. 2006. Starch metabolism and the influential factors of starch content in flue-cured tobacco leaves (淀粉代谢及影响烤烟淀粉含量的因素) [J]. J Yunnan Agric Univ: Nat Sci Edit (云南农业大学学报·自然科学版), 21 (6): 742—748
Gong CR (官长荣), Yuan HT (袁红涛), Chen JH (陈江华). (下转第 864 页 Continue on page 864)