

# 不同烤烟品种游离氨基酸、蛋白质、烟碱含量的差异研究

刘荣森<sup>1</sup>, 李建娥<sup>1</sup>, 刘进社<sup>1</sup>, 张长水<sup>2</sup>

(1. 河南科技大学 林业职业学院, 河南 洛阳 471002 2. 河南科技大学 化工与制药学院, 河南 洛阳 471003)

**摘要:** 以常见烤烟品种 K317、G80、NC82、KG11、云烟 85、云烟 87、翠碧 1 号、红花大金元的适熟叶片为材料, 利用 HPLC 法、紫外分光光度法、凯氏定氮法分别测定了游离氨基酸、烟碱、蛋白质的含量。8 个不同烤烟品种适熟叶片的游离氨基酸总含量为 551.20~720.79  $\mu\text{g/g}$  烟碱含量为 1.38%~3.04%, 蛋白质含量为 5.17%~9.05%。不同烤烟品种游离氨基酸总含量无显著差异, 而不同种类游离氨基酸含量差异极显著。不同烤烟品种烟碱和蛋白质的含量均存在一定差异。

**关键词:** 烤烟; 游离氨基酸; 蛋白质; 烟碱

**中图分类号:** S72 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2010)10-0032-04

## Researches on the Content Differences of Free Amino Acid, Protein and Nicotine among Varieties of Flue-cured Tobacco

LU Rong-sen<sup>1</sup>, LI Jian-e<sup>1</sup>, LIU Jin-she<sup>1</sup>, ZHANG Chang-shui<sup>2</sup>

(1. Forestry Technical College, Henan University of Science & Technology, Luoyang 471002, China;

2. Chemical Engineering & Pharmaceutics College, Henan University of Science & Technology, Luoyang 471003, China)

**Abstract:** The ripe leaves of K317, G80, NC82, Yunyan85, Yunyan87, Cubin1, Honghuada jin yuan were taken as examples. HPLC, UV spectrophotometry and Kjeldahl Method were used to determine the content of free amino acid, nicotine and protein respectively. The results showed that the total contents of free amino acid in different varieties of tobaccos remained almost the same (551.20—720.79  $\mu\text{g/g}$ ), while the contents of each kind of free amino acid varied greatly. The difference also existed in the contents of nicotine and protein.

**Key words:** Flue-cured tobacco; Free amino acid; Protein; Nicotine

烤烟中的游离氨基酸、蛋白质、烟碱等含氮化合物的组成和含量对烟叶品质及烟气的质量影响极大。增施不同有机物质或不同成熟度采收会导致烟叶化学成分含量不同<sup>[1,2]</sup>。氨基酸是合成蛋白质的基本单位, 并参与多种生物大分子的合成<sup>[3,4]</sup>。氨基酸在赋予烤烟色香味方面具有双重作用。一方面, 在燃烧裂解过程中一般形成具有刺激性的含氮化合物, 个别氨基酸还产生一些有害健康的烟气成分, 对烟气香吃味产生不良影响; 另一方面, 烤烟在

调制和醇化过程中, 氨基酸和糖类会发生非酶棕色反应, 形成具有烟草特征香味的挥发性化合物和大分子棕色化合物, 如羰基化合物、呋喃化合物以及吡嗪类和吡咯衍生物等。它们赋予烟气烘焙香、坚果香和焦糖香, 尤其是呋喃类成分, 对烟气的香味有重要作用<sup>[5,6]</sup>。

烟碱是卷烟主要的品质指标之一。在烟气中若烟碱含量过低则劲头小, 吸味平淡; 若烟碱含量过高则劲头大, 刺激性增强, 产生辛辣味<sup>[7,8]</sup>。

收稿日期: 2010-03-24

基金项目: 河南省科技攻关项目 (0424250038)

作者简介: 刘荣森 (1964-) 男, 河南洛阳人, 副教授, 硕士, 主要从事烟草生理生化研究。

在烟草众多成分中,蛋白质含量较高。蛋白质对烟草的生长过程起着十分重要的作用。而在燃吸时烟草中的蛋白质会产生如同燃烧羽毛的臭味,同时还会产生辛辣、苦涩的感觉,对烟气香吃味产生不良影响。蛋白质含量过低,抽吸时平淡无味,吃味和香气也变差。蛋白质含量的高低直接影响烟草的品质<sup>[9]</sup>。

烟草的香吃味与烟草含氮化合物关系密切。烤烟的香气质与含氮化合物含量呈极显著负相关,烟气浓度与含氮化合物含量呈显著正相关,呼吸总得分与含氮化合物含量呈显著负相关<sup>[10]</sup>。故分析了不同烤烟品种成熟叶片中含氮化合物的含量差异,以期为优质烤烟品种的选育、栽培、加工提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

供试烤烟品种为 K317、G80、NC82、RG11、云烟 85、云烟 87、翠碧 1 号、红花大金元。在湖南农业大学烟草工程技术研究中心试验基地进行大田栽培。土壤为红壤。土壤养分含量为:有机质 25.71 g/kg 碱解氮 91.2 mg/kg 有效磷 15.6 mg/kg 有效钾 76.3 mg/kg pH 5.47。前茬作物为水稻,无严重病史及旱涝灾害。取适熟中部叶片迅速置于 105℃条件下鼓风杀青,60℃烘干,粉碎,过孔径为 0.45 mm 筛,放入塑料袋中密封保存。

### 1.2 主要仪器和药品

主要仪器: Summit HPLC(高效液相色谱系统,美国戴安公司)氨基酸专用柱(美国戴安公司)超纯水仪(美国密理博公司)RQ10-10 真空旋转冷冻干燥仪(法国捷安公司)旋转蒸发仪(郑州长城科工贸公司)CF16RX 高速冷冻离心机(日本日立公司)-20℃低温冰箱(日本三洋公司)紫外可见分光光度计(北京分析仪器厂)消化炉(上海分析仪器厂)定氮仪(天津玻璃仪器公司)。

主要药品:正亮氨酸(生物试剂,美国西格玛公司)PIIC(异硫氰酸苯酯,美国西格玛公司)16 种氨基酸(生物试剂,上海康达生物试剂公司)乙腈(色谱纯,德国默克公司)三乙胺(分析纯,上海化学试剂公司)高氯酸(分析纯,天津化学试剂有限公司)。

### 1.3 试验方法

1.3.1 游离氨基酸的测定方法 采用 PIIC 柱前衍生的 HPLC 技术测定烤烟样品中的游离氨基酸<sup>[11-12]</sup>。并对方法进一步优化。

HPLC 技术分离烤烟样品中游离氨基酸的试验条件:色谱柱:氨基酸专用分析柱(250 mm ×

4.6 mm, 5 μm), 柱温恒定在 28℃;检测波长:254 nm;采用正亮氨酸作为内标物的内标法定量;进样量:20 μL;流动相 A:0.14 mol/L 醋酸钠溶液(加入 0.5 mL TEA, pH 6.4);流动相 B:60% 乙腈水溶液。梯度洗脱。

1.3.2 总烟碱的测定方法 采用紫外分光光度法测定烤烟样品中烟碱含量<sup>[13]</sup>。

1.3.3 总蛋白质的测定方法 采用凯氏定氮法测定烤烟样品中总氮含量<sup>[13]</sup>。蛋白质含量按以下公式计算:

$$\text{蛋白质} = (\text{总氮量} - \text{烟碱氮量}) \times 6.25$$

$$\text{烟碱氮量} = \text{烟碱含量} \times 0.1728$$

## 2 结果与分析

### 2.1 不同烤烟品种游离氨基酸含量的差异

不同烤烟品种游离氨基酸含量的分析结果见表 1。

1. 不同烤烟品种适熟中部叶片中的游离氨基酸含量存在一定的差异。其中总氨基酸含量最高的是云烟 87 最低的是云烟 85。从氨基酸种类看,各烤烟品种中,谷氨酸、天冬氨酸、脯氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸的含量相对较高,而精氨酸、半胱氨酸、异亮氨酸和色氨酸的含量相对较低。

谷氨酸和天冬氨酸为酸性氨基酸。在所有参试品种中这 2 种氨基酸含量最大,分别占到氨基酸总量的 24.84%~34.55% 和 16.63%~23.01%。这 2 种氨基酸的含量分别以 RG11 和云烟 87 为最高。脯氨酸以 RG11 含量最高,翠碧 1 号含量最低;酪氨酸以 G80 含量最高, K317 含量最低;苯丙氨酸以翠碧 1 号含量最高, RG11 含量最低;丝氨酸以云烟 87 含量最高,翠碧 1 号含量最低;苏氨酸以翠碧 1 号含量最高,云烟 85 含量最低;缬氨酸以翠碧 1 号含量最高,红花大金元含量最低;甲硫氨酸以云烟 85 含量最高,红花大金元含量最低;甘氨酸以翠碧 1 号含量最高,红花大金元含量最低;亮氨酸以 G80 含量最高,红花大金元含量最低;赖氨酸以红花大金元含量最高, K317 含量最低;精氨酸以 NC82 含量最高,红花大金元含量最低;半胱氨酸以红花大金元含量最高, RG11 含量最低;异亮氨酸以翠碧 1 号含量最高, G80 含量最低;色氨酸以 NC82 含量最高,云烟 85 含量最低。

不同烤烟品种适熟中部叶片中游离氨基酸含量的方差分析结果表明,烤烟的适熟中部叶片中,不同烤烟品种间游离氨基酸总含量无显著性差异( $F < F_{0.05}$ )而不同种类游离氨基酸含量间有极显著差异( $F > F_{0.01}$ )。

表 1 不同烤烟品种适熟中部叶片游离氨基酸的含量 μ g/g

氨基酸	烤烟品种							
	NC82	RG11	红花大金元	K317	云烟 85	云烟 87	翠碧 1号	G80
天冬氨酸	107.53	144.95	91.69	129.40	105.38	165.87	113.33	146.49
谷氨酸	189.95	243.31	143.77	169.28	137.22	200.56	220.34	162.63
丝氨酸	26.32	23.76	28.52	33.88	25.36	36.56	17.83	32.13
甘氨酸	11.69	10.36	8.40	10.56	9.59	11.49	12.64	12.56
精氨酸	4.62	3.26	2.27	3.94	2.84	3.48	2.74	3.27
苏氨酸	22.33	27.96	24.72	23.62	21.48	30.60	32.18	28.83
脯氨酸	64.89	101.56	78.36	52.75	64.28	58.02	48.07	53.01
酪氨酸	31.05	33.69	48.92	29.13	47.69	89.07	58.68	90.85
缬氨酸	31.07	27.59	21.40	26.26	30.49	28.66	34.90	27.80
甲硫氨酸	17.17	20.05	16.29	18.35	22.55	20.56	21.10	17.42
半胱氨酸	1.49	1.02	7.83	1.89	6.20	5.35	5.68	3.05
异亮氨酸	4.10	4.67	3.73	6.02	4.98	6.24	7.38	3.05
亮氨酸	13.37	12.23	8.23	11.05	9.32	12.84	9.21	14.88
苯丙氨酸	46.27	32.37	48.30	45.32	34.55	37.41	51.02	43.56
色氨酸	6.00	5.77	4.38	4.39	1.81	2.97	3.43	2.78
赖氨酸	13.42	11.76	14.39	9.36	10.63	11.09	14.03	12.27
合计	591.27	704.31	551.20	575.19	534.35	720.79	652.56	654.59

对氨基酸种类进一步检验 ( $HSD_{0.05}=23.80$   $HSD_{0.01}=27.22$ ) 结果表明: 谷氨酸的含量与其余 15种氨基酸之间均有极显著差异; 天冬氨酸含量与其余 14种氨基酸之间均有极显著差异 (与谷氨酸已做过比较, 不再重复, 下同); 脯氨酸含量与其余的 13种氨基酸比较, 除与酪氨酸、苯丙氨酸无显著差异外, 与其余 11 种氨基酸之间有极显著差异; 酪氨酸含量与其余的 12种氨基酸比较, 除与苯丙氨酸无显著差异外, 与其余 11种氨基酸之间有极显著差异; 苯丙氨酸含量与其余的 11种氨基酸比较, 除与甲硫氨酸、苏氨酸、丝氨酸、缬氨酸无显著差异外, 与其余 7种之间有极显著差异; 缬氨酸含量与其余的 10种氨基酸比较, 只与精氨酸、色氨酸、半胱氨酸之间有显著差异; 丝氨酸含量与其余的 9种氨基酸比较, 只与精氨酸、色氨酸、半胱氨酸之间有显著差异; 其余氨基酸含量之间均无显著差异。

2.2 不同烤烟品种烟碱和蛋白质含量的差异

不同烤烟品种适熟中部叶片中烟碱含量和蛋白质含量的测定结果见图 1。图中显示, 不同烤烟品种适熟中部叶片烟碱和蛋白质的含量都存在一定的差异。在参试的 8个烤烟品种中, 烟碱和蛋白质含量最高的均是红花大金元, 两者含量分别为 3.04%和 9.05%。烟碱含量最低的是云烟 85 为 1.38%。蛋

白质含量最低的是云烟 87 为 5.17%。8个烤烟品种烟碱含量的平均值为 2.03%, 变异系数为 28.77%。蛋白质含量的平均值为 7.30%, 变异系数为 16.51%。

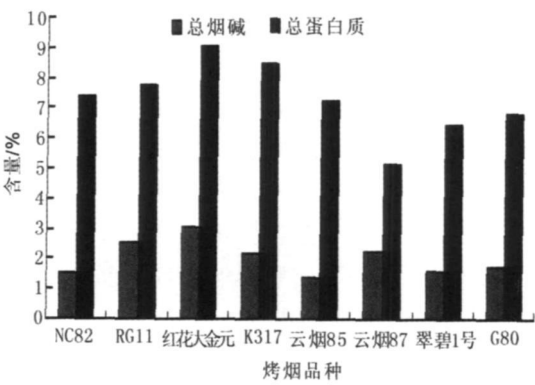


图 1 不同烤烟品种适熟中部叶片总蛋白质及总烟碱含量

3 结论

1) 烟叶中游离氨基酸、蛋白质、烟碱含量的高低对烟叶的品质特别是香吃味有重要影响。虽然烤烟经过烤制、发酵、醇化后的游离氨基酸、蛋白质、烟碱含量与比例发生了明显的变化, 但成熟期烤烟中游离氨基酸、蛋白质、烟碱含量直接影响着成品卷烟中的含氮化合物含量, 进而对卷烟品质产生影响。

含氮化合物含量与烟叶香气量和劲头呈正相关,与香气质、刺激性和杂气呈负相关,即游离氨基酸、蛋白质、烟碱含量的提高有助于增加香气和劲头,但气质变差,刺激性增加,杂气加重<sup>[6]</sup>。

2) 8个不同基因型烤烟品种适熟中部叶片的游离氨基酸总含量为 551.20 ~ 720.79  $\mu\text{g/g}$ 。方差分析表明:不同品种游离氨基酸总含量差异不显著,不同种类游离氨基酸含量差异极显著。

3) 8个不同基因型烤烟品种中,谷氨酸的含量都处于第1位,天冬氨酸处于第2位。这与植物中氨基酸的合成有关。在植物中,通过谷氨酰胺合成酶—谷氨酸合成酶的途径才能将氮合成为谷氨酸,即在植物的氮同化途径中,所形成的第1个含氮有机化合物均为谷氨酸。而且,几乎所有的其他氨基酸的生物合成均以谷氨酸为氨基的供体<sup>[14]</sup>。天冬氨酸是合成烟碱的前体物质,在烤烟中天冬氨酸的含量也较高。

4) 烟碱是由糖类物质、有机酸类和氨基酸类等前体物质逐步形成的次生代谢产物<sup>[3]</sup>。8个不同基因型烤烟适熟品种中部叶片烟碱的含量有较大差异,说明烟碱含量的高低与烟草的品种有关。烟碱的积累能力是受遗传特性支配的。烟草品种的遗传特性决定其烟碱含量的高低。烟碱含量的高低直接决定烟叶的内在品质、安全性和可用性。混合型卷烟主料烟一般要求烟碱含量在 2.5%左右,以 1.5% ~ 3.5%较适合<sup>[15 16]</sup>。红花大金元烟碱含量较高,云烟85、NC82烟碱含量较低,在实际生产卷烟时可混合使用,以生产出烟碱含量合适的卷烟。烟碱的生物合成是由天冬氨酸和 3磷酸甘油醛合成烟酸,进一步与精氨酸生物合成的中间产物鸟氨酸合成为烟碱<sup>[17]</sup>。但从测定结果可以看出,某种烤烟的烟碱含量与其游离天冬氨酸含量、总游离氨基酸含量与总蛋白质之间并无明显的相关关系。

5) 8个不同基因型烤烟品种适熟中部叶片蛋白质的含量有一定差异。其蛋白质含量为 5.17% ~ 9.08%。说明蛋白质含量的高低与烤烟品种有关。对于红花大金元、K317等蛋白质含量高的烤烟可在烤制、醇化、发酵阶段采取有效措施,加快蛋白质的分解,降低蛋白质含量,以提高卷烟品质。

6) 本试验中的 8个不同基因型烤烟品种是在同一条件下生长的。研究结果表明,其游离氨基酸、

蛋白质、烟碱的含量均存在着一定差异。在品种间,游离氨基酸总量差异不显著 ( $F < F_{0.05}$ )。烟碱含量差异较蛋白质含量差异大,这主要是由各烤烟品种的遗传因素造成。所以,要生产出优质的烟叶必须选用优良的烤烟品种。

#### 参考文献:

- [1] 赵铭钦, 苏长涛, 姬小明, 等. 不同成熟度对烤后烟叶物理性状、化学成分和中性香气成分的影响 [J]. 华北农学报, 2008, 23(3): 146-150.
- [2] 赵铭钦, 张志逢, 韩富根, 等. 增施不同有机物质对烤烟叶片中含氮化合物的影响 [J]. 华北农学报, 2009, 24(1): 199-202.
- [3] 朱尊权. 烟草生产、生理和生物化学 [M]. 上海: 上海远东出版社, 1993.
- [4] 余叔文. 植物生理与分子生物学 [M]. 北京: 科学出版社, 1999.
- [5] 周冀衡, 朱小平, 王彦亭, 等. 烟草生理与生物化学 [M]. 合肥: 中国科学技术出版社, 1996.
- [6] 朱大恒, 韩锦峰, 李彩霞, 等. 烤烟发酵过程中品质及香吃味的形成 [J]. 河南农业科学, 1997(3): 5-8.
- [7] 肖守斌. 烤烟烟碱含量与评吸质量的关系 [J]. 河南农业科学, 2009(4): 44-48.
- [8] 毕淑峰. 云南烤烟评吸质量与化学成分的关系研究 [J]. 黄山学院学报, 2005, 7(3): 61-63.
- [9] 王允白, 王保化, 郭承芳, 等. 影响烤烟质量的主要化学成分研究 [J]. 中国农业科学, 1998, 31(1): 89-91.
- [10] 池敬姬, 王艳丽. 烟叶主要化学指标及其评吸质量间的相关性分析 [J]. 延边大学农学学报, 2006(3): 208-210.
- [11] 李丹, 黄龙, 朱巍, 等. 反相高效液相色谱法测定烟叶中的游离氨基酸 [J]. 烟草科技, 2003(2): 20-24.
- [12] 杨扬, 秦强, 郭伟忠. 苯基异硫氰酸酯衍生氨基酸的高效液相色谱分析 [J]. 色谱, 1994, 12(4): 295-296.
- [13] 王瑞新. 烟草化学品质分析方法 [M]. 郑州: 河南科学技术出版社, 1990.
- [14] 曹宗巽. 植物生理学 (上册) [M]. 北京: 人民教育出版社, 1979.
- [15] 刘盛富, 叶想青, 冯发忠. 7个烤烟新品种 (品系) 良种综合性状比较 [J]. 现代农业科技, 2009(12): 138-140.
- [16] 杨永锋, 陈红丽, 刘国顺, 等. 烤烟烟叶化学成分与烟碱的相关性研究 [J]. 河南农业大学学报, 2008, 42(3): 259-262.
- [17] 金文博. 烟草化学 [M]. 北京: 清华大学出版社, 1994.