

烤烟类胡萝卜素类色素的研究进展

李红霞

(峡江县烟草专卖局, 江西 峡江 331409)

(河南农业大学烟草学院, 河南 郑州 450000)

摘要: 烤烟型烟草生产过程中, 类胡萝卜素类色素作为一类重要的组成色素类物质, 一方面影响着烤后烟叶的外观颜色, 另一方面对烟叶中的香气物质组成和比例也有重要的影响。本文通过探索类胡萝卜素对烟叶品质的影响, 总结烟叶中类胡萝卜素类色素的提取方法, 和不同成熟期不同部位烟叶中类胡萝卜素的降解物质含量, 为提升烟叶品质提供理论支持。

关键词: 烤烟; 类胡萝卜素; 提取; 降解

Abstract: In the production process of flue-cured tobacco, carotenoid pigments, as an important component of pigments, on the one hand affect the appearance color of flue-cured tobacco leaves, and on the other hand also have an important impact on the composition and proportion of aroma substances in tobacco leaves. By exploring the effect of carotenoids on the quality of tobacco leaves, this paper summarizes the extraction methods of carotenoid pigments in tobacco leaves, and the content of carotenoid degradation substances in different parts of tobacco leaves at different maturity stages, so as to provide theoretical support for improving the quality of tobacco leaves.

Key words: flue-cured tobacco; carotenoids; extraction; degradation

0 引言

类胡萝卜素是一类由动植物、藻类、细菌合成的具有亲脂性特性的天然色素, 属四萜化合物, 含有 40 个碳原子。类胡萝卜素类色素在植物细胞内主要存在于叶绿体中, 主要包含胡萝卜素和叶黄素两大类。颜色多为黄色、橙黄色和红色, 对植物叶片、花朵和果实的颜色表达有重要影响。经过多年研究自然界中已经发现的类胡萝卜素种类繁多, 数量巨大。类胡萝卜素作为细胞的重要组成部分, 参与多种生物途径的代谢合成, 并在其中起着重要的调节作用^[1-2]。其在生产生活中用途极为广泛, 在化工、食品饲料工业, 类胡萝卜素是天然着色剂和食品添加剂, 广泛用作糖果、饮料等食品行业。在人类健康和医药方面, 一部分类胡萝卜素是维生素 A 的主要的合成前体物质, 能够有效缓解因维生素缺乏引起的视力问题, 并对口腔疾病有积极的辅助治疗作用; 另一方面类胡萝卜素在调节免疫力、预防皮肤粘膜过度角质化, 维持皮肤粘膜完整, 也发挥着积极的作用。在医疗美容行业类胡萝卜素能够帮助人体清除自由基, 达到美容养颜和延缓衰老的作用。在植物生理代谢中, 类胡萝卜素是植物进行光合作用不可缺少的组成部分, 同时还是植物体中呈现色彩的花瓣、果实和叶片的主要色素, 并伴随植株生长、成熟、衰老。目前关于烟草中类胡萝卜素的研究已表明, 烟叶的质量与类胡萝卜素降解产物的含量呈正相关^[3-4]。类胡萝卜素具有提高烟株光合效率、抑制和清除烟株体内自由基的作用^[5], 在烤烟生长中与烟叶田间成熟度和烤后烟叶颜色密切相关, 对改善烟叶外观颜色、吸食品质和降低烟气自由基伤害具有重

要意义。在烟株的生理代谢过程中类胡萝卜素的多种降解产物是组成烟叶香气物质的重要前体物质, 与烤后烟叶的化学成分协调性和香气物质的含量密切相关。

1 烟草中类胡萝卜素的含量和作用

类胡萝卜素在植物的生长发育过程中分别起着不可替代的生理作用。参与光合作用, 起到辅助光转化、保护叶绿体的作用。烤烟中常见的类胡萝卜素类色素主要有两大类: 一类是烃基类胡萝卜素 (Carotene)。这类物质主要包含 α -胡萝卜素、 β -胡萝卜素以及番茄红素 (Lycopene) 等, 由于这类物质的分子中存在共轭双键发色基团, 在生物表达中表现出不同的颜色。另一类是氧合烃基类胡萝卜素。这类物质主要包含玉米黄质 (Zeaxanthin)、新黄质 (Neoxanthin)、紫黄质 (Vioanthin) 等, 这类色素分子中一般含有一个或多个氧原子, 在结构中形成羰基、羟基、甲氧基或环氧化物结构等, 降解之后产生多种烤烟烟叶香气的前体物质。在烤烟型烟叶中, 类胡萝卜素的总含量大约为叶绿素含量的 1/5-1/3^[6]。其中胡萝卜素是由 68.0% 的 β -胡萝卜素和 32.0% 的新 β -胡萝卜素共同构成的混合物; 黄色色素是由 60.0% 的叶黄素、22.0% 的新黄质和 18% 的紫黄质构成的混合物。黄色色素在烤烟中含量占类胡萝卜素总量的 45%-63% 左右, 是重要的色素物质。

在烟株的生长发育进程中, 类胡萝卜素参与多个生理进程, 发挥三个重要的生物学功能。一方面类胡萝卜素作为细胞叶绿体中重要的辅助色素, 参与植物的光合作用, 帮助叶绿体固定转化光能, 生成能量储存在线粒体中; 另一方面, 在高温、强光作用下, 类胡萝卜素能

够通过叶黄素的体质循环,消耗掉光系统中的过剩能量,以保护叶绿素免受高温、强光的破坏。此外,类胡萝卜素还是植物激素脱落酸(ABA)的前体物。参与烟叶的衰老过程和抗逆性基因的表达,对烟草的成熟和提升抗逆性发挥着重要的调节作用。

2 烟草中类胡萝卜素的提取与分析方法

2.1 有机溶剂提取法

有机溶剂提取法(solvent extraction, SE)是根据目标物质溶解在不同的溶剂中时,溶解程度存在差异,使用不同的溶剂将目标成分从多种混合物中分离提取出来的方法。选择合理科学高效的溶剂对提高类胡萝卜素提取率至关重要。有机溶剂提取法对仪器和设备要求不高,但在实施提取的过程中,需要大量的溶剂才能完成分离提取,造成整体的提取效率偏低的缺点。提取类胡萝卜素常用的有机溶剂为丙酮和石油醚。为了优化某些类胡萝卜素(如异构体)的分离效果,常加入少量的其他有机溶剂,如二氯甲烷、正己烷、丙酮、氯仿、四氢呋喃等。根据目标物质的极性差异选择适宜的溶剂。极性大的物质常常使用极性强的丙酮,极性小的物质可使用极性弱的石油醚等溶剂进行分离。不同的溶剂进行组合使用,也可以有效的提高目标物质的提取效率和提取纯度。在提取的过程中,操作的环境对提取效果也有较大的影响,操作环境主要包含温度、反应时间、溶剂比例和溶剂量等几个方面。如从废弃的番茄角料中提取番茄红素,当提取温度为 $22(\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 、反应时间大于45min、溶剂组成为丙酮/正己烷,且体积比例为1:3时,番茄红素可达到最大回收率94%且纯度达到98%以上,回收效果呈现较为理想的状态。赵薪鑫等研究了不同提取条件对萱草属植物中类胡萝卜素的提取效果,发现提取温度 20°C ,皂化16个小时,溶剂组成丙酮-正己烷体积比例3:5可以达到较为理想的提取效果。

2.2 辅助酶提取

辅助酶提取主要是通过水解酶溶解植物细胞壁,破坏细胞壁的完整性,释放细胞内的类胡萝卜素物质,溶解到溶剂中,达到提取的目的。常用的辅助酶主要有两种:一类是纤维素酶,这是由葡萄糖苷酶、木聚糖酶和葡聚糖酶等组成的一种复合酶。通过生物催化作用将细胞壁中的不溶性纤维素分解成为寡糖和单糖,提高细胞内的物质释放效率。另一类是果胶酶,主要分解植物果胶质的酶类,催化细胞果胶分子中的酯水解和催化果胶物质解聚,包含果胶酯酶、果胶酰基水解酶、醛酸酶、聚半乳糖醛酸等。用其处理植物破碎体,可加速细胞间果胶质的溶解,促进细胞从组织内分离,提高提取效率。辅助酶提取法具有快速、高效、溶剂使用量较少的优点,但因酶的活性对保存环境要求更高,一般良好的贮藏条件为 $5\text{--}15^{\circ}\text{C}$ 之间,导致保存运输成本较高,造成酶的使用成本较一般溶剂更高。

2.3 超临界流体提取

超临界流体萃取(supercriticalfluidextraction, SFE)是以处于临界温度和临界压力之上的液体作为溶剂,利用超临界状态的物质密度对温度和压力的变化极为敏感的特性,通过控制温度和压力改变物质的溶解度,从而有选择性的将不同的物质从溶液中提取出来的方法。超临界流体萃取可以在液相和气象之间的临界点上调节物质的物理特性,更好的实现化学反应。超临界 CO_2 萃取法是一种高效安全的方法,因 CO_2 自身不可能被再次氧化,可以减少强光、热解和氧化等对类胡萝卜素提取的影响。Shi等人在研究了超临界 CO_2 方法在提取南瓜类胡萝卜素的工艺中的应用^[7],发现萃取压力为35MPa、温度 70°C 、萃取时间40min左右,并在少量乙醇作为助剂条件下,类胡萝卜素的提取可达 $109.6\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。SFE具有溶剂不易燃、无毒且可循环利用的优点,可以连续萃取,提高工作效率,且可得到高纯度的类胡萝卜素,对提取高纯类胡萝卜素来说是一种绿色环保高效的方法。

2.4 超声波辅助提取法

超声波辅助提取法(ultrasound-assisted extraction, UAE)是利用物理手段破碎细胞组织的一种方法。通过超声波技术使溶剂内小气泡破碎,产生强烈的冲击搅拌作用,在短距离小范围内形成高温、高压环境,可有效破碎生物细胞和组织,达到快速高效提取类胡萝卜素的目的。该提取方法避免了传统机械破碎不充分、不均匀、损耗大的弊端,具有省时、高效的特点^[8]。超声波辅助法的最佳操作温度为 50°C 左右,广泛应用于细胞的破碎和有效成分的提取。王星等采用超声波辅助皂化法提取枸杞皮渣中的类胡萝卜素,余炼等利用超声波辅助提取蚕沙中类胡萝卜素等研究已经证明,超声波辅助法提取类胡萝卜素效率是有机溶剂法提取的2倍以上。超声波辅助提取法特有的物理特性,可以使植物的细胞壁组织变形或者破裂,提高目标物质的提取率,提取效率是有机溶剂直接提取法的5倍以上。

3 类胡萝卜素与烤烟香气物质含量的关系

3.1 类胡萝卜素是烤烟叶的重要致香前提物质

类胡萝卜素是烟叶中影响外观质量颜色的色素物质,同时也是生成致香物质的前提物。在烤烟的生长发育过程中,类胡萝卜素降解程度对烟叶的品质有明显的影 响作用。类胡萝卜素作为异戊二烯类化合物,具有40个碳原子骨架,不同的类胡萝卜素结构都是在这个基础上衍生而来,其结构中含有大量的共轭双键。类胡萝卜素裂解双氧合酶(CCDs)是植物类胡萝卜素降解代谢途径中的关键酶。烟叶中CCDs通过降解不同类胡萝卜素底物的不同双键,使结构中双键的断裂位置不同,产生不同碳原子数的化合物,最终生成多种致香物质^[9]。如 β -紫罗兰酮、大马酮、二氢猕猴桃内脂等。有研究发

现类胡萝卜素降解物的含量与烟叶质量成正相关,是烤烟的重要致香物质。

3.2 类胡萝卜素类色素降解产物是烟叶中优质的香气物质

在烤烟型烟叶中,类胡萝卜素类色素物质种类多、数量大,在高温、氧化、酶的不同作用下,降解过程十分复杂,必须由多个转录因子参与其中进行调控。类胡萝卜素经过多种酶促作用,得到的降解产物种十分丰富,其中具有挥发性的降解物是烟气中的重要组成成分。由类胡萝卜素降解产生的致香物质具有阈值低、刺激性小,香气柔和飘逸,香韵丰富稳定的特点,可以改善烟气的香气质量,使烟气柔和飘逸,更易于消费者接受,对烤烟型卷烟的烟气香气贡献率大,是烟叶中总挥发性香气成分中的优质香气来源物质。

3.3 不同部位类胡萝卜素的降解产生的香气物质

叶片中类胡萝卜素的含量不仅与烟株的生长发育时期有关,还与叶片着生的部位相关。韦凤杰等人就黔西烤烟进行研究,在烤烟成熟期下部烟叶类胡萝卜素类色素的含量变化规律先升高后随着成熟期的推进而逐渐降低。类胡萝卜素在进入成熟期之后降解速度加快, β -胡萝卜素在成熟前期达到最大积累值。大马酮类物质在类胡萝卜素降解物占比最大,达到了74%以上。巨豆三烯酮类物质的三个同分异构体调制后在烟叶的含量累计达到 $10.2 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 以上。中部烟叶类胡萝卜素含量进入成熟期之后开始降低,且不同色素降解规律各不相同。其中大马酮是最重要的降解物。总降解致香物质含量随着成熟期的推进逐渐增加,在成熟期达到最大值,进入完熟期后略有降低。经过烟叶烘烤调制之后,中部叶片中类胡萝卜素类降解得到致香物质含量比下部叶更高,达到下部叶含量的1.4倍左右。中部烟叶的巨豆三烯酮类物质进入成熟期开始增加,经过烘烤调制三种同分异构体含量合计达到 $14.3 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 以上,占同期类胡萝卜素类色素降解物的10-11%。

3.4 不同类胡萝卜素类色素与降解物的关系

根据文利超、韦凤杰^[10]等人的研究,烤烟中类胡萝卜素的含量和降解产物的含量负相关,对大马酮、 β -紫罗兰酮、巨豆三烯酮三类物质进行方差分析之后,探索不同的类胡萝卜素色素和降解产物的关系。大马酮类物质与叶黄质存在极显著的负相关关系,一定程度上说明该类物质可能主要是由叶黄质降解产生; β -紫罗兰酮与类胡萝卜素均呈负相关,且相关系数各不相同,最密切的为 β -胡萝卜素,说明 β -紫罗兰酮可能主要是 β -胡萝卜素的降解产物。巨豆三烯酮在国外被称为烟草酮,是烤烟中优质的香气物质,因其含有至少三种同分异构体,分类探索发现其不同异构体的含量分别与总类胡萝卜素、叶黄质和 β -胡萝卜素呈不同的显著负相关,说明巨豆三烯酮类物质可能主要是总类胡萝卜素、

叶黄质、 β -胡萝卜素共同作用降解产生。

4 结论

香气物质作为影响烤后烟叶品质的一个最重要的因素,国内外都进行了大量的研究。上世纪80年代,国外对糖苷结合态香味成分进行了研究。刘百战,徐玉田等对烟草中游离和糖苷结合态烟气的香味成分进行了探索和研究。姜远茂,彭福田等对果实香味的一类前体物质氨基酸进行相关分析。成熟和调制过程是类胡萝卜素致香前体物质形成和转化的主要时期。在这一时期采取促进类胡萝卜素降解的技术和措施,可以积累更多的香气物质,改善烤后烟叶的内在质量和评吸质量。这和生产中提倡成熟采收的农事操作措施相一致。类胡萝卜素在成熟期和烘烤调制过程的变化,说明其降解香气物质的种类、组成比例是影响烤烟特色品质形成的重要物质基础。在烤烟调制过程中定色前期是类胡萝卜素快速降解,产生致香前体物质的关键时期,在这一时期适当延长烘烤稳定温度的时间,使致香前体物质大量积累,形成更多的香气物质,提升烤后烟叶的评吸质量。类胡萝卜素同时作为最重要的一类天然色素之一,随着人类社会的发展,对类胡萝卜素制品需求的增加和烤烟生产中对烟叶香气质量要求提升,使得其对社会发展广泛的生物学作用得到凸显。

参考文献:

- [1] 王瑞新.烟草化学[M].北京:中国农业出版社,2003.
- [2] 杨虹琦,周冀衡,罗泽民.烟叶质体色素代谢与香味物质形成关系的研究[C]//中国烟叶学术论文集,2004.
- [3] 韦凤杰,刘国顺,杨永峰,等.烤烟成熟过程中类胡萝卜素变化与其降解香气物质关系[J].中国农业科学,2005,38(9):1882-1889.
- [4] 于建军,庞天河,任晓红,等.烤烟中性致香物质与评吸结果关系研究[J].河南农业大学学报,2006,40(4):346-349.
- [5] 李丛民,田卫群.类胡萝卜素清除焦油中自由基的研究[J].烟草科技,2000(8):22-23.
- [6] 左天觉.烟草的生产、生理和生物化学[M].上海:上海远东出版社,1993.
- [7] 范文秀,李新峥,朱芳坤,等.薄层层析—分光光度法测定南瓜中 β -胡萝卜素的研究[C]//全国南瓜营养、保健功能与产业发展研讨会,2005.
- [8] 余炼,颜栋美.超声波辅助提取蚕沙中类胡萝卜素[J].食品科技,2009,34(8):158-162.
- [9] 李大婧,刘春泉.万寿菊叶黄素的提取及分析方法研究进展[J].食品科学,2005,26(9):582-586.
- [10] 文利超,吴凤燕,李伟,等.烟叶衰老过程中类胡萝卜素代谢及相关基因表达分析[J].中国烟草科学,2019,40(4):7.