

烟草栽培学实验指导书

丁金玲 编

云南农业大学烟草学学院

2007 年 9 月

目录

前言	1
实验室规则及实验要求	2

第一部分 实验方法与实验技术原理

实验 1 烟草常规育苗技术	5
实验 2 烟草两段式育苗技术	10
实验 3 烟草营养袋假植育苗技术	13
实验 4 香料烟育苗技术	15
实验 5 烤烟漂浮育苗技术及操作规程	18
实验 6 烟苗根系活力的测定（甲烯蓝吸附法）	26
附 TTC 比色法测定烟苗根系活力	24
实验 7 烟草植物学形态特征及主要类型的识别	26
实验 8 烟叶光合色素的测定	35
实验 9 烤烟、香料烟和白肋烟商品类型形态特征的观察	38
实验 10 烟草农艺性状的调查与记载	40
实验 11 烟草生育期的调查与记载	44

第二部分 综合型、设计性实验

I 技术型综合实验

实验 12 分光光度技术及应用	46
实验 13 烤烟不同育苗操作技术	47
实验 14 不同烟草类型植物学形态特征识别及农艺性状的调查与记载	48
实验 15 不同烟草类型及其商品类型的形态特征比较	49

II 设计性实验

实验 16 烤烟不同育苗技术及烟苗素质的测定	50
------------------------------	----

III 综合实验报告和实验课程论文写作的基本格式与写作方法	52
-------------------------------------	----

主要参考资料	55
--------------	----

实验 16 烤烟不同育苗技术及烟苗素质的测定

一、目的

通过对具体实验方案的设计与实施,激发学生的学习兴趣,启发探索和开发精神,使学生能灵活运用所学知识,培养查阅文献、综合分析、实验设计和应用能力。

充分运用现代科技优势和多种育苗方式的特点,因地制宜,扬长避短,为烤烟幼苗创造良好的环境条件。同时使学生掌握烤烟育苗操作技术的基本步骤及培育壮苗的技术措施。即

- (1)掌握苗床地的选择、母床、子床的整地;
- (2)掌握常规育苗操作技术及其管理要点;
- (3)掌握营养土的配制技术及其假植技术要点;
- (4)掌握漂浮池的建立、漂浮育苗技术要点及操作规程;
- (5)掌握烟苗素质(生理生化指标)的测定技术;
- (6)配制标准溶液(正确使用移液管和容量瓶),绘制标准曲线或建立回归方程;
- (7)样品的提取和测定(正确选取分析样品、称样、浸提、稀释和显色);
- (8)比色测定(正确校正比色皿、熟悉各型分光光度计的使用),正确读取A值和C值。

二、实验内容及实验安排

- 1、烤烟常规育苗技术(见第一部分实验1)
- 2、烤烟营养袋假植育苗技术(见第一部分实验2、实验3)
- 3、烤烟漂浮育苗技术及操作规程(见第一部分实验5)
- 4、烤烟幼苗根系活力及光合色素等生理指标的测定(见第一部分实验6及实验8)
- 5、数据处理:照实验的计算公式计算,列表或作图比较。(见第一部分实验6及实验8)
- 6、实验安排:

10个学时,分3次完成,4人一组,每2人互为重复。

三、主要仪器、实验材料及用具

主要仪器:722-2000型分光光度计、电子天平

实验材料及用具:

- 1.烤烟包衣种子;
- 2.开畦、施足基肥的苗床地;
- 3.进入猫耳期的烤烟幼苗;

4. 准备好的假植苗床地;
5. 制作营养袋的材料 (如旧报纸);
6. 锄头、铁铲、腐熟过筛的农家肥、过筛疏松肥沃的表土、洒水壶、起苗运苗工具、装营养土的工具。
7. 漂浮池、漂浮盘、拱棚支架、薄膜、遮阳网、烤烟漂浮育苗专用基质等。

四、教学安排

(1) 时间:

在大学三年级上学期,烟草栽培学实验即将要结束时进行,提前两周由学生选题,并由教师布置查阅文献和其它有关事宜。

(2) 要求

每位学生在规定时间内写出设计实验报告;可组织讨论并相互交流;修改设计实验报告;交教师批阅;记入课程考核成绩。

五、设计性实验要求及考核标准

要求掌握苗床的整理、营养土的配制、漂浮池的建立、播种、苗期管理、农艺性状的调查与记载、生理指标(根系活力、光合色素等)的测定(分光光度计的操作、标准曲线或回归方程的建立)等一系列实践操作和实验技能,最后根据实验结果,以每组的数据,按照自然科学期刊上的论文格式,每人写成一篇实验课程论文。实验课程论文一般包括以下几方面内容:

- (1) 题名(5分);
- (2) 署名(2分);
- (3) 摘要(25分);
- (4) 关键词(3分);
- (5) 前言(10分);
- (6) 正文(55分)

① 材料和方法(10分); ② 结果与分析(30分); ③ 结论或讨论(10分); ④ 参考文献(5分)。

实验6 烤烟幼苗根系活力的测定（甲烯蓝吸附法）

植物根系是活跃的吸收器官和合成器官，根的生长情况和活力水平既可作为植物吸水 and 吸肥的指标，又可作为生长和营养指标。烤烟根的主要作用有：(1)地上部的支持和固定；(2)物质的贮藏；(3)对水分和盐类的吸收；(4)合成氨基酸、酰胺、激素、烟碱等物质。故根系的活力是植物生长的重要生理指标之一。

一、实验目的：了解甲烯蓝测定根系活力的方法原理，学会并掌握测定根系体积、总吸收面积和活跃吸收面积的方法。

二、方法原理

根据沙比宁等人理论，植物对溶质最初吸收具有吸附的特性，并假定这时在根系表面均匀地覆盖了一层被吸附物质的单分子层，而后在根系表面都产生吸附饱和，继之，则根系的活跃部分能将原来吸附着的物质解吸到细胞中去，因而继续产生吸附作用。常用甲烯蓝作为被吸附物质，它的被吸附量可根据吸附前后甲烯蓝浓度的改变算出，甲烯蓝的浓度可用比色法测定。已知 1mg 甲烯蓝成单分子层时占有的面积为 1.1 m^2 。据此可算出根系的总吸收表面积，从解吸后继续吸附的甲烯蓝量，即可算出根系活跃的吸收表面积，可作为根系活力的指标。

三、实验材料、仪器及用具：

1、材料：烤烟漂浮育苗或假植育苗植株的根系

2、仪器及用具：分光光度计，小镊子，刀片，玻棒，50ml 或 100ml 小烧杯，50ml 量筒，1ml 移液管，10ml 刻度试管，100ml、1000ml 容量瓶各一个，试管架，小镊子、吸水纸适量。

3、试剂：

(1) $0.0002 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲烯蓝标准溶液：精确称取 74.78mg 甲烯蓝 ($\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{SCl} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)，加水溶解后定容至 1000ml，此溶液含甲烯蓝 $74.78 \text{ ug} \cdot \text{ml}^{-1}$ 。

(2) $10 \text{ ug} \cdot \text{ml}^{-1}$ 甲烯蓝标准溶液：吸取 $0.0002 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲烯蓝溶液 13.38ml 定容至 100ml。

四、方法步骤：

1、标准曲线的制作：取 7 支 20ml 的试管编号，依次加入 $10 \text{ ug} \cdot \text{ml}^{-1}$ 甲烯蓝标准溶液 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10ml，再依次加入蒸馏水 10, 9, 8, 6, 4, 2, 0ml，即成每管含甲烯蓝 0, 1, 2, 4, 6, 8, $10 \text{ ug} \cdot \text{ml}^{-1}$ 浓度的系列标准溶液，以 1 号管为参比液在 722 分光光度计 660nm，用 1cm 光径的比色皿读出吸光度值，见下表：

试管号	1	2	3	4	5	6	7
C (ug•ml ⁻¹)	0	1	2	4	6	8	10
A(吸光度值)							

以甲烯蓝浓度(C)为横坐标, 光密度(A)为纵坐标绘标准曲线, 并求出其回归方程。

2、根系体积的测定: 取洗净的烟苗根系 3 株, 用吸水纸吸干水分后放入量筒中 (或在电子天平上称重), 根据阿基米德原理, 根系浸没在水中, 它排开水的体积即为根系本身的体积。用水位取代法, 即可测知根系的体积。

3、根系吸收面积的测定:

(1) 用移液管或滴定管取 10 倍于根系体积的甲烯蓝溶液 (74.78ug•ml⁻¹) 分别放入 3 个编号的小烧杯中, 准确记录每杯中的甲烯蓝溶液量, 将测定过根系体积的 3 株根系用吸水纸吸干水分一起依次分别放入 3 个小烧杯中, 并在每杯中浸泡 1.5min 后取出, 且每次取出时都要尽量使甲烯蓝溶液能从根上流回原烧杯中;

(2) 从各杯中分别取 1ml 溶液于 3 支 10ml 试管中, 稀释 10 倍, 用蒸馏水定容至刻度;

(3) 比色: 用蒸馏水做空白, 分别在分光光度计 660nm 处比色, 记下吸光度值, 查标准曲线求得的浓度乘以 10 即为每杯浸入根系后剩下的甲烯蓝的浓度 (ug/ml)。

五、计算:

(1) 总吸收面积 (m²) = (第 1 杯被吸收的甲烯蓝量 (mg) + 第 2 杯被吸收的甲烯蓝量 (mg)) × 1.1 (m²/mg)

$$= \left(\frac{C_0V - C_1V}{1000} + \frac{C_0V - C_2V}{1000} \right) \times 1.1 \text{ (m}^2/\text{mg)}$$

(2) 活跃吸收面积 (m²) = 第 3 杯被吸收的甲烯蓝量 (mg) × 1.1 (m²/mg)

$$= \frac{C_0V - C_3V}{1000} \times 1.1 \text{ (m}^2/\text{mg)}$$

式中 C₀ 表示浸根前甲烯蓝溶液的浓度 (ug/ml), V 表示杯中溶液的体积 (ml), C₁、C₂、C₃ 表示 1、2、3 号烧杯浸根后的浓度 (ug/ml)。

(3) 活跃吸收面积 (%) = $\frac{\text{根系活跃吸收面积 (m}^2\text{)}}{\text{根系总的吸收面积 (m}^2\text{)}} \times 100\%$

$$(4) \text{ 比表面积 } (m^2 \cdot cm^{-3}) = \frac{\text{根系总吸收面积 } (m^2)}{\text{根系的体积 } (cm^3)}$$

$$(5) \text{ 比表面积 } (m^2 \cdot g^{-1}) = \frac{\text{根系总吸收面积 } (m^2)}{\text{根系的重量 } (g)}$$

六、将结果填入下表：

根系吸收面积测定记载表

烤烟育苗方式	杯中 甲烯 蓝溶 液量 (ml)	开始时 甲烯蓝 浓度 (mg·ml ⁻¹)	浸根后 溶液浓度 (mg·ml ⁻¹)			被吸附的 甲烯蓝量 (mg)				根吸收面积 (m ²)		活 跃 吸 收 面 积 (%)	根 的 体 积 (cm ³)	根 的 重 量 (g)	比表面积 (m ² ·cm ⁻³ 或 m ² ·g ⁻¹)	
			1	2	3	1 + 2	1	2	3	总的	活 跃 的				总的	活 跃 的

七、思考题

- 1、简述甲烯蓝吸附法测定根系总吸收面积和活跃吸收面积的原理
- 2、甲烯蓝吸附法测定根系活力时，以什么表示根系活力？

附：烤烟烟苗根系活力的测定（TTC 比色法）

- 一、目的：学会并掌握用 TTC 比色法测定根系活力。
- 二、原理：氯化三苯基四氮唑（TTC）是标准氧化还原电位为 80mv 氧化还原色素，溶于水，无色。当 TTC 与种胚、幼根、花粉等活细胞接触时，作为氢的受体被还原型脱氧辅酶（NADH₂ 或 NADPH₂）的氢还原，由无色的 TTC 变成红色的 TTF，在反应过程中生成的 TTF 不溶于水，但溶于某些有机溶剂（如甲醇和乙酸乙酯等）。所生成颜色深浅与根系活力成正相关。
- 三、实验材料、仪器及试剂
- 1、材料：烤烟漂浮育苗植株的根
- 2、仪器及用具：分光光度计、恒温箱、20ml 具塞试管、移液管、烧杯、镊子、刀片、研钵。
- 3、试剂：0.4%TTC 溶液、pH=7 的磷酸缓冲溶液（1/15mol · l⁻¹）、乙酸乙酯、次硫酸钠（Na₂S₂O₄）粉末、1mol · l⁻¹ 硫酸。

四、方法步骤：

- 1、标准曲线绘制：取 0.4%TTC0.4ml，加乙酸乙酯 19.6ml 和少量次硫酸钠（Na₂S₂O₄）粉末，充分摇动，所生成的红色 TTF 溶液作为已知母液；取干燥洁净试管 6 支（编为 1~6 号），依次按下表加入上述母液和乙酸乙酯，混匀后，以乙酸乙酯为参比液用 722 分光光度计比色（485nm、1cm 光径比色皿），读出吸光度（A），以 TTF 浓度为横坐标，光密度（吸光度 A）为纵坐标绘成标准曲线，并求出其回归方程。

表二 各试管加入 0.4%TTC 和乙酸乙酯的量

试管号	1	2	3	4	5	6
0.4%TTC 溶液（ml）	0.5	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0
乙酸乙酯（ml）	19.5	19.0	18.0	17.0	16.0	15.0
TTF (ug)	20	40	80	120	160	200

- 2、根显色：选取长度与粗度基本一致的烟苗根，切下 1cm 长的根尖，取 0.5g 放入 50ml 烧杯中，分别加入 0.4%TTC 溶液和 pH=7 的磷酸缓冲溶液（1/15mol · l⁻¹）各 5ml，充分摇匀，并使根尖切段完全浸入溶液中，置于 37℃保温箱内黑暗保温 1 小时，使根尖切段显色。此后立即加入 1mol · l⁻¹ 硫酸 2ml，以终止反应，同时做空白实验（先加硫酸，再加根样品，37℃保温箱内黑暗保温 1 小时后加硫酸，其浓度、操作同上）。

3、比色： 取出根段，用滤纸吸干水分，置于研钵中，加乙酸乙酯 3~4ml 研磨成匀浆。将提取的红色 TTF 小心倒入刻度试管中，残渣用乙酸乙酯冲洗 2~3 次，直至洗液不带红色为止，全部洗液并入试管中，用乙酸乙酯定容至 20ml，摇匀后，以乙酸乙酯为参比液，在分光光度计 485nm 处以 1cm 光径的比色皿比色，读出吸光度 A，查标准曲线，求出 TTF (ug)。

五、结果计算： 根系活力 ($\text{ug} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) = $\frac{\text{标准曲线上查得} TTF (\text{ug})}{\text{根重} (\text{g}) \times \text{显色时间} (\text{h})}$

实验8 烟叶光合色素的测定（分光光度法）

高等植物叶绿体中所含光合色素，按颜色可分为叶绿素与类胡萝卜素，是叶绿体的重要组分，其功能是吸收、传递与转换光能。与光合作用及氮素营养密切相关，是科学施肥、育种、光合、衰老及植物病理研究中的重要指标，故常需进行测定。

一、目的：本实验学习测定叶绿体色素含量的方法，并比较不同成熟度烟叶叶绿体色素的含量，并掌握分光光度计的操作技能。

二、法原理：根据朗伯一比耳定理，当一束单色光通过有色溶液时，因溶液的吸收而使光强下降；当液层与光强一定时，溶液的浓度与吸光度成正比，即有色溶液的浓度可通过光密度进行测定。叶绿素 a 吸收峰为 663nm，叶绿素 b 吸收峰为 646nm，类胡萝卜素吸收峰为 470nm，并建立计算上述色素浓度公式：

$$C_a \text{ (mg. L}^{-1}\text{)} = 12.21A_{663} - 2.81A_{646}$$

$$C_b \text{ (mg. L}^{-1}\text{)} = 20.13A_{646} - 5.03A_{663}$$

$$C_x \text{ (mg. L}^{-1}\text{)} = (1000A_{470} - 3.27C_a - 104C_b) / 229$$

式中： A_{663} 、 A_{646} 、 A_{470} —分别为色素提取液在波长 663nm、646 nm 和 470 nm 处的吸光度值。

C_a 、 C_b 、 C_x —分别为叶绿素 a、b 和类胡萝卜素的浓度。

三、实验材料、实验用具及仪器设备：

1、材料：烤烟鲜烟叶叶片

2、仪器及试剂：722 分光光度计、25ml 具塞刻度试管、研钵、漏斗、天平、剪刀或打孔器；95%的乙醇或 80%丙酮、石英沙和 CaCO_3 粉。

四、操作步骤：

（一）取样：取新鲜烟叶叶片，擦净表面污物，如叶片小，按重量取样，叶片大可按面积取样。

1、重量取样：去掉叶片中脉，剪碎、混匀，电子天平上称取鲜样 0.1 ~ 0.2g。

2、面积取样：避开叶片主脉，用打孔器取烟叶叶样 6 ~ 8 片，并量打孔器直径，计算出叶样面积。

（二）叶绿体色素的提取：有研磨法和浸泡法

1、研磨法：将取好的样品剪碎后放入研钵中，加入少量石英沙和 CaCO_3 粉及 2 ~ 3ml 浸提试剂（95%乙醇或 80%丙酮）研成匀浆，再加浸提试剂 5ml，继续研磨至溶液变绿，残渣变

白，过滤于 25ml 具塞刻度试管（或容量瓶）中，用滴管吸取浸提试剂将残渣与滤纸上的叶绿体色素全部洗入具塞刻度试管（或容量瓶）中，直至滤纸和残渣中无绿色为止。最后用浸提试剂将滤液定容至 25ml，摇匀备用。

2、浸泡法：科研测定项目多、待测样品量多，需错开时间，可选择此法。

将取好的样品放入 25ml 容量瓶中，加 80%丙酮或混合浸提试剂（无水乙醇：丙酮=1:1）20ml，放在暗处，浸泡至叶片变白，用浸提试剂定容至 25ml，摇匀备用。

（三）比色测定：将色素提取液倒入光径为 1cm 的比色皿中，以浸提剂为空白，分别于 663nm、646nm 和 470nm 下比色测定吸光度，记录 A 值，带入上述色素浓度公式，计算出色素提取液的浓度，然后再根据下式计算含量：

$$\text{叶绿体色素含量 (mg. g}^{-1}\text{)} = \frac{\text{色素浓度 (mg} \cdot \text{L}^{-1}\text{)} \times \text{色素提取液总量 (ml)}}{\text{叶片重量 (g)} \times 1000}$$

$$\text{叶绿体色素含量 (mg. dm}^{-2}\text{)} = \frac{\text{色素浓度 (mg} \cdot \text{L}^{-1}\text{)} \times \text{色素提取液总量 (ml)}}{\text{叶片面积(dm}^2\text{)} \times 1000}$$

五、结果计算：

1、叶片中叶绿体色素含量的计算（叶片中总叶绿素、叶绿素 a、叶绿素 b 及类胡萝卜素 4 种色素的含量）：

$$\text{叶绿体色素含量 (mg. g}^{-1}\text{)} = \frac{\text{色素浓度 (mg} \cdot \text{L}^{-1}\text{)} \times \text{色素提取液总量 (ml)}}{\text{叶片重量 (g)} \times 1000}$$

$$\text{叶绿体色素含量 (mg. dm}^{-2}\text{)} = \frac{\text{色素浓度 (mg} \cdot \text{L}^{-1}\text{)} \times \text{色素提取液总量 (ml)}}{\text{叶片面积(dm}^2\text{)} \times 1000}$$

2、比值计算：

叶绿素 a: 叶绿素 b = 叶绿素 a 的含量 ÷ 叶绿素 b 的含量

总叶绿素: 类胡萝卜素 = 总叶绿素含量 ÷ 类胡萝卜素含量

六、将测定结果记入下表：

项 目 处 理	吸光度 (A)			色素浓度 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)				色素含量 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)				a: b	$C_T: C_X$
	663nm	646nm	470nm	a	b	a+b	C_X	a	b	a+b	C_X		

思考题

- 1、简述叶绿素测定的意义和提取方法。
- 2、测定叶绿素含量应注意哪些方面？

烟叶调制与分级实验指导书

刘彦中

云南农业大学烟草学院

2007 年 12 月

目 录

前言	2
实验一、田间烟叶成熟特征的识别	3
实验二、三种类型（气流上升式、气流下降式和密集烤房）烤房建筑结构 剖析	7
实验三、认识 42 级制烤烟国家分级样品	17
实验四、用一种烘烤方法烤一炉烟	23

实验三 认识 42 级制烤烟国家分级样品

（一）实验目的

烟叶是一种农产品，烟农生产的烟叶有优有劣，质量不同。经分级，使质量相对一致的烟叶划为同一等级，充分体现优质高价。通过实验要求学生掌握和具有确定烟叶等级的基本技能和制备国家烟叶分级标准的样品。

（二）实验原理

42 级制烤烟国家分级标准选用的分级因素（成熟度、油分、身分、叶片结构、色度、叶片长度和残伤等）和控制因素（杂色、残伤、破损）档次的划分和量化方法。

1、分级因素

（1）成熟度

①成熟度与烟叶外观质量

A、成熟度与烟叶颜色 颜色是烟叶的分组因素，在同等条件下，不同的烟叶颜色就意味着烟叶成熟度的不同。一般情况下，随成熟度的增加（欠熟→尚熟→成熟→完熟），烟叶的颜色逐渐加深，在整个颜色档次中，橘黄叶被广泛认为是成熟最佳，组织结构、身份、油分最好，质量最高的烟叶。成熟度越接近工艺成熟的烟叶，越容易生产出橘黄烟；相反，成熟度差的烟叶，则容易出现淡黄色和青黄色。成熟度越差的烟叶，含青度越高，色度也随含青度的增加而减弱。

B、成熟度与烟叶的身份 烟叶的身份以中等至稍厚为最佳。一般情况下，随成熟度的增加，烟叶的身份由厚逐渐向薄的方向发展，成熟好的橘黄烟最容易形成中等身份。需要注意的是，这种随成熟而由厚渐薄的变化，是指同一片烟叶而言。

C、成熟度与叶片结构 欠熟的烟叶细胞排列整齐，整个细胞结构呈紧密状态。然而，随成熟度的增加，叶细胞逐渐纵向伸长，横向拉开，气孔开张，整个叶组织呈现出疏松多孔的结构，从而使烟叶的弹性、填充性、出丝率、工艺加香性、保香保润性和燃烧性都得到明显的改善。

D、成熟度与烟叶油分 经研究表明，从欠熟到成熟，随烟叶成熟度的提高，烟叶的油分增多。但过熟叶和假熟叶的油分则大大减少，完熟叶的油分较少，但香气、吃味极佳，内在质量较高。

E、成熟度与烟叶损伤 烟叶损伤包括机械的、人为的、气候的和各种病、虫损伤，

但不包括调制不当造成的废叶。成熟度越高，意味着烟叶在田间历时越长，受外界各种因素干扰的机会就越多，其损伤呈上升趋势。

② 成熟度与烟叶化学成分

烟叶的成熟度反映内在化学成分的变化程度、含量适宜程度及各种成分的协调程度，烟叶内各种化学成分的含量及其比例影响着内在质量的好坏，总之，成熟烟叶糖、氮、碱含量均适中，且相互间比例协调；尚熟烟叶的糖、氮、碱含量均稍低于成熟烟叶，尚适中，尚协调；欠熟烟叶的总糖含量稍高，而总氮和烟碱含量较低。

③ 成熟度与烟叶物理特性

不同成熟度烟叶的物理性状不同。烟叶的耐破度、延伸率和拉力这三项性能与烟叶及其制品的质量关系较为密切，在同等含水率条件下，这三项性能读数越大，意味着烟叶在打包、搬运、抽梗、打叶、切丝、卷制等工序中损耗越小，质量越有保障。测试结果表明（表3-2），烟叶的耐破度、拉力和延伸率以成熟叶最好，欠熟叶最差。填充性以成熟叶为最强，欠熟叶最差，单位面积重随成熟度的提高而减小，但变化很平缓。

④ 成熟度与吸食质量

由于不同成熟度烟叶化学成分及其比值的差异，影响到烟叶的吸食质量，特别是烟叶的香吃味。从许多研究中可以看出，随成熟度的提高，烟叶吸食质量明显改善，香气质逐渐变好，香气量增大，吃味变醇和，杂气、刺激性减小，劲头趋于适中，当烟叶成熟时吸食质量最佳。具体表现为：成熟香气质最佳，香气量充足，杂气轻微，刺激性最小，余味最舒适，劲头中等；完熟叶香气质尚较好，香气量充足，有枯焦气，刺激性较大，余味尚纯净，劲头和浓度较大；尚熟烟叶余味微涩，杂气、刺激性比成熟叶略有增加；欠熟烟叶香气质差，香气量少，刺激性大，杂气重，余味苦涩。

综上所述，不同成熟度烟叶外观质量、化学成分、吸食质量、物理特性等方面存在很大差异，以成熟烟叶的总体质量最佳，完熟叶次之，尚熟叶再次之，欠熟叶最差。因此，成熟度是衡量烟叶质量的中心因素，是烤烟分级的首要因素。

（2）油分

① 油分与烟叶外观质量

油分多的烟叶，在一定水分条件下，眼看油润、色度强；手摸柔润、滑腻、丰满。油分少的烟叶，眼看枯燥，手摸感到硬脆，不柔软，叶片过薄或过厚。

② 油分与烟叶理化特性

油分多的烟叶糖分含量高，相应的碳水化合物含量也高，总氮、不溶性氮、烟碱含量较低。不难看出，烟叶中碳水化合物含量与氮化合物的含量是互为消长的。油分多的烟叶弹性强，韧性好，吸湿性强，施木克值较大。

③ 油分与烟叶内在质量

油分的多少，直接影响烟叶香吃味。评吸表明，油分多的烟叶香气质好，香气量足，杂气少，刺激性小，劲头适中；油分少的烟叶刺激性和杂气较大，香气质差，香气量少。

（3）身分

身分反映烟叶细胞干物质充实的程度，即厚薄程度。干物质积累多，叶片厚。一般地讲，厚的烟叶颜色深，薄的烟叶颜色浅；厚的烟叶单位面积重量大，薄的烟叶单位面积重量小；厚的烟叶较薄的烟叶氮类化合物含量高。过厚的烟叶导致刺激性、杂气大。厚薄适中的叶片具有较好的物理特性、协调的化学成分和理想的内在质量。

同一部位烟叶叶片厚度变化规律是，随烟叶颜色（基本色）加深，叶片厚度增大；同一颜色烟叶叶片厚度变化规律是，随烟叶部位升高叶片厚度增大。各部位杂色组烟叶平均厚度大于柠檬色烟叶叶片厚度；各部位微带青组烟叶叶片厚度大于同部位柠檬色烟叶厚度；青黄色烟叶叶片平均厚度大于中部烟主组厚度；光滑组烟叶叶片平均厚度最小，这正说明光滑组烟叶叶片多数是营养不良、光照不足所致。

（4）叶片结构

① 叶片结构与烟叶理化特性

叶片是由细胞组成的，细胞发育状况和细胞排列间隙大小与烟叶的填充性、弹性、燃烧性密切相关。细胞发育好，间隙大，则填充性、弹性及燃烧性均好。而细胞发育差、排列紧密，间隙小，则填充性、弹性、燃烧性均差。叶片结构疏松的烟叶，弹性强，填充性和燃烧性好；糖含量较高，叶片结构由疏松到紧密，蛋白质、烟碱等含氮化合物含量增高。

② 叶片结构与烟叶内在质量

叶片结构与内在质量密切相关，叶片结构疏松的烟叶香气质好，香气量足，刺激性、杂气小，吃味纯净，余味舒适；叶片结构紧密的烟叶香气质差，香气量不足，刺激性、杂气大。

(5) 色度

色度浓淡强弱与油分多少呈正相关。因此，色度与烟叶质量关系与油分相同，具体表现为：色度浓的烟叶糖、总氮、烟碱等化学成分含量适宜，比例协调；其内在质量表现为香气质好，香气量足，杂气少，刺激性小，劲头适中，吸味纯净，余味舒适，烟叶吸湿性较强，填充能力较低。随着色度的减弱烟叶质量依次降低。

(6) 叶片长度

叶片长度与质量有直接关系，它反映了烟叶生长是否良好，发育是否正常。叶片长度主要影响卷烟工业中的出丝率，以及含梗率。叶片长度短，出丝率低，破碎率和含梗率增大。标准中引入长度这一因素，可以改变烟草种植不正常的生产状态，有利于优质烟生长技术的推广。

烟叶长度也是判断烟叶质量的一个因素，一般叶片大的烟叶生长发育良好，可能充分成熟，结构疏松，质量好；叶片小生长发育不良，不可能充分成熟，结构紧密，质量不高。

2、控制因素

(1) 杂色

带有杂色的烟叶，香气质差、量少、杂气增多，刺激性加大。随面积增大，程度加重，烟叶质量降低幅度愈大。

(2) 残伤

指烟叶组织受到破坏，失去成丝强度和坚实性，基本无使用价值（包括由于烟叶成熟的提高而出现的病斑、焦尖焦边），以百分数表示。

残伤对烟叶质量影响较大，残伤面积愈大，对质量影响愈大。上等烟香气质变坏，杂气增加；中下等烟则吃味变淡，劲头降低，杂气显著增加。如果在中档卷烟中掺入10%残伤片（病斑），卷烟质量显著受影响。如果用打孔器将病斑取下，进行化学分析，则与同一片无病斑叶有显著区别。

（3）破损

破损烟叶成丝率低，含梗率上升，香气降低，木质气、杂气增重，对烟叶质量的影响没有杂色和残伤大。

（三）实验方法：

1、不同部位烤烟外观特征：在判断部位的过程中，以脉相为主。

土黄片薄筋细小，定是脚叶跑不了。

大筋弯弯小筋平，尖厚基薄下二棚。

大筋微露色金正，全身一致正当中。

大筋微露小筋拱，颜色深红上二棚。

大筋粗显色棕褐，叶面拉手是顶叶。

2、不同颜色烤烟外观特征：42级制烤烟国标中按颜色分为柠檬黄组、橘黄组、红棕黄组、微带青组和青黄烟组。

3、品质因素和控制因素的档次划分：

分级因素	项目	程度档次				
		1	2	3	4	5
品质因素	成熟度	完熟	成熟	尚熟	欠熟	假熟
	叶片结构	疏松	尚疏松	稍密	紧密	—
	身份	中等	稍薄、稍厚	薄、厚	—	—
	油分	多	有	稍有	少	—
	色度	浓	强	中	弱	—
控制因素	长度	45cm	40cm	35cm	30cm	25cm
	残伤	10%	15%	20%	25%	35%

4、烤烟42级国标等级划分：

42级国标中分为13个组：下部柠檬黄组、下部橘黄组、中部柠檬黄组、中部橘黄组、上部柠檬黄组、上部橘黄组、上部红棕色组、微带青组、青黄叶组、光滑叶组、完熟叶组、上部杂色叶组、中下部杂色叶组。在确定等级之前首先要把烟叶分到相应的组别中，然后参照现有的实物样品按照国标中文字规定，对烟叶的逐项分级因素进行综合判定，确定为相应的等级。分别为：XL1-4，XF1-4，

CL1-4, CF1-4, BL1-4, BF1-4, BR1-3, GY1-2, S1-2, HF1-2, CXK1-2, BK1-3, VB2-3, C3V, X2V。任何一项分级因素低于某级要求时, 需要在下一级定级。

42 级烤烟等级设置

组别	主组								副组				
	XL	XF	CL	CF	BL	BF	BR	H	CXK	BK	S	CY	V
等级设置	X1L	X1F	C1L	C1F	B1L	B1F	B1R	H1F	CX1K	B1K	S1	GY1	X2V
	X2L	X2F	C2L	C2F	B2L	B2F	B2R	H2F	CX2K	B2K	S2	GY2	C3V
	X3L	X3F	C3L	C3F	B3L	B3F	B3R			B3K			B2V
	X4L	X4F	C4L	C4F	B4L	B4F							B3V

(四) 实验室名称: 烟草科学与工程实验中心

(五) 实验考核:

现场考核判定烟叶等级的能力, 具体方法是: 在 42 级制烤烟国家分级标准仿制样品中随意抽取 5 个等级, 考核学生确定烟叶等级的技能, 一个等级占 20%, 总分 100 分。

烟草化学成分分析实验指导书

李永忠 丁金玲 编

云南农业大学烟草学院

2007 年 9 月

目录

前言	1
实验室规则及实验要求	2

第一部分 实验方法与实验技术原理

实验一、烟叶样品的采集和制备	5
实验二、烟叶样品的水分测定	
一、常压恒温干燥法	7
二、减压低温干燥法	9
实验三、烟叶样品中烟碱的测定	10
附 添加活性炭法测定烟碱	13
实验四、烟叶样品中总挥发碱的测定	15
实验五、烟叶样品中总氮的测定	18
实验六、烟叶样品中蛋白质的测定	21
实验七、烟叶样品中全钾的测定	23
实验八、烟叶样品中氯含量的测定	26
实验九、烟叶样品中还原糖的测定	29
实验十、烟叶样品中水溶性总糖的测定	33
实验十一、烟叶样品中淀粉含量的测定	38
实验十二、烟叶样品中粗脂肪的测定	41
实验十三、烟草中酚类物质的测定	43
实验十四、烟气中总凝聚物的测定	45

第二部分 综合性、设计性实验

综合性实验 1 不同品种、不同地点烟叶样品中无机成分的测定	48
设计性实验 1 不同品种、不同地点烟叶样品中含氮化合物的分析比较	48
设计性实验 2 不同品种、不同地点烟叶样品中糖类物质的分析比较	49
实验课程论文写作格式及考核	51
附表 葡萄糖、果糖含量和氧化铜的关系	53
参考文献	55

实验八 烟叶样品中氯含量的测定

一莫尔法（硝酸银容量法）

（一）实验目的

（二）方法原理：

烟样经过碱性干灰化后，所得灰分用水溶解， Cl^- 即溶于水中。根据分步沉淀原理，在 pH 值 6.5 ~ 10.5 的溶液中，以 K_2CrO_4 作指示剂，用 AgNO_3 标准溶液滴

掌握烟叶样品中氯含量的测定意义和莫尔法测定烟叶样品中氯含量方法原理，学会并熟

练掌握半微量滴定管的使用和烟叶样品中氯含量测定的实验操作技能及结果计算。

定 Cl^- 。等当点前， Ag^+ 首先与 Cl^- 生成乳白色 AgCl 沉淀，等当点后， Ag^+ 与 CrO_4^{2-} 生成 Ag_2CrO_4 砖红色沉淀，指示到达终点。由反应消耗的标准 AgNO_3 用量，计算出氯的含量。

（三）主要仪器设备及试剂

主要仪器设备及用具：电子天平、水浴锅、低温电炉、低温电炉（高温电炉）、100ml 容量瓶、150ml 三角瓶、25ml 移液管、半微量滴定管。

试剂：

1、5% (1 : 2) 的 Na_2CO_3 与 KNO_3 溶液：称取 1.67g Na_2CO_3 和 3.33g KNO_3 溶于 100ml 水中。

2、10% NH_4NO_3 溶液：10g NH_4NO_3 溶于 100ml 水中。

3、10% H_2SO_4 溶液：将 10ml 浓 H_2SO_4 注入 90ml 水中混匀备用。

4、12% NaHCO_3 溶液：12g NaHCO_3 溶于 100ml 水中。

5、0.5% 酚酞指示剂：0.5g 酚酞溶于 100ml 95% 的乙醇中。

6、5% K_2CrO_4 作指示剂：5g K_2CrO_4 溶于少量水中 → 滴加 1N 的 AgNO_3 至有砖红色沉淀生成 → 过滤后将滤液稀释至 100ml。

7、0.02N 的 NaCl 标准溶液：1.1690g NaCl （基准试剂，120℃ 烘干 4h），溶于水后定容至 1000ml。

8、0.02N 的 AgNO_3 标准溶液：

3.3978g AgNO_3 （AR）用蒸馏水溶解 → 转入 1000ml 容量瓶 → 定容至刻度 → 摇匀后避光保存于棕色瓶中备用，并用 0.02N 的 NaCl 标准溶液标定。

(四) 实验项目内容及操作步骤:

- 1、称量 (电子天平的操作和使用): 称取烟样 2~3g 放于 30ml 瓷坩埚中。
 - 2、Cl⁻的固定: 滴加 5% (1:2) 的 Na₂CO₃ 与 KNO₃ 溶液 (约 40 滴) 湿润之 (切勿搅拌样品) → 置于沸水浴锅上加热 1h 后取下。
 - 3、低温炭化: 在低温电炉上缓缓加热至灰分不在燃烧 (表面灰白不冒烟)。
 - 4、高温灰化 (马福炉的操作与使用): 将低温炭化后的烟样放入 500℃ 的电炉中灰化 → 高温灰化 15min 后可取出 → 若在高温电炉中还没使炭粒燃烧尽 → 待冷却后可滴加 10%NH₄NO₃ 溶液于炭粒上 (增加灰化速度) → 再移入高温电炉中灰化 → 如此反复直至灰分变成白色或灰白色为止。
 - 5、灰化物的溶解和定容: 将灰化完全的灰化物用热蒸馏水反复溶解 → 过滤于 100ml 容量瓶中 (残渣和坩埚要反复冲洗) → 冷却至室温后用蒸馏水定容 → 摇匀后备用。
 - 6、Cl⁻的滴定 (半微量滴定管的使用、滴定终点的确定):
 - (1) 调节酸碱度: 吸取待测液 25ml 于 150ml 三角瓶中 → 加 0.5% 酚酞指示剂 1 滴 → 用 10%H₂SO₄ 溶液及 12%NaHCO₃ 溶液调至待测液呈微碱性 (pH6.5~10.5, 微红色)。
 - (2) 滴定: 将已调好酸碱度的待测液加 0.5ml5% 的 K₂CrO₄ 指示剂 → 摇匀后用 0.02N 的 AgNO₃ 标准溶液滴定 → 在充分摇动下滴至溶液有砖红色沉淀出现不消失为止 → 记下 AgNO₃ 耗用体积 (ml)。
- (五) 结果计算:

$$\text{烟叶中的氯 (\%)} = \frac{NV \times 0.0355 \times \text{分取倍数}}{W \times (1 - \text{含水率})} \times 100$$

式中: 0.0355—1m molCl⁻ 的克数 (g)。

(六) 讨论:

编号	W (g)	V (AgNO ₃) ml	N	氯 (%)	均值 (%)	相对偏差 (%)	钾氯比	1-含水 率

(七) 注意事项

- 1、灰化温度必须在 500℃ 左右；
- 2、铬酸钾做指示剂，只能在中性或微碱性溶液中进行，测定溶液应在 pH 值 6.5 ~ 10.5 之间。
- 3、氯离子含量高时，因生成白色氯化银沉淀过多而影响终点，此时可减少待测液吸取量。
- 4、大量硫酸盐存在会对测定发生干扰，一般 < 32mg 时对本测定一般无干扰。
- 5、滴定时要充分摇动待测液。

（八）思考题

- 1、简述烟叶中氯的测定意义。
- 2、什么是莫尔法？简述莫尔法测定氯的原理。
- 3、为什么要在微碱性条件下进行氯离子的滴定？滴定过程中为何要充分摇动待测液？
- 4、莫尔法测定氯的过程中应注意些什么？