



刘洪剑,周乐群,李贵忠,等. 不同等级发酵后云南茄芯烟叶代谢组差异分析[J]. 轻工学报, 2025, 40(4): 86-95.
LIU H J, ZHOU L Q, LI G Z, et al. Metabolomic profiling differences analysis of different grades of filler tobacco leaves after fermentation in Yunnan[J]. Journal of Light Industry, 2025, 40(4): 86-95.
DOI: 10. 12187/2025. 04. 010

不同等级发酵后云南茄芯烟叶代谢组差异分析

刘洪剑^{1,2}, 周乐群³, 李贵忠³, 彭漫江³, 王雪锋³, 张光海⁴, 李枝桦³, 刘涛^{1,2}

1. 云南农业大学 农学与生物技术学院, 云南 昆明 650201;
2. 西南中药材种质创新与利用国家地方联合工程研究中心/云南省药用植物生物学重点实验室, 云南 昆明 650201;
3. 红云红河烟草(集团)有限责任公司 原料部烟叶质检科, 云南 昆明 650231;
4. 云南省烟草农业科学研究院, 云南 玉溪 653100

摘要: 为了解发酵后云南茄芯烟叶感官品质产生差异的内在机制, 以不同等级发酵后云南茄芯烟叶(B1、X1、C1、C2、C3 和 C4)为研究对象进行感官品质评价, 借助 GC-MS 技术分析其代谢组, 并采用主成分分析(PCA)、正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)、KEGG 代谢通路富集分析等方法进行组间差异对比分析。结果表明: 与其他等级烟叶相比, C1 烟叶香气量更足, 刺激性更小, 回味感更足; 不同部位茄芯烟叶间显著差异代谢物有 123 种, 不同级别茄芯烟叶间显著差异代谢物有 35 种, 主要为杂环类、醛类、醚类、羧酸、芳香族等化合物, 其中, (E)-丁-2-烯腈在 C1 烟叶参与的 4 个比较组中为高丰度显著差异代谢物; 氨基氨基酸代谢、芳香族化合物降解和丁酸代谢 3 条代谢途径在 C1 烟叶参与的比较组中具有显著差异, (E)-丁-2-烯腈可能通过上述 3 条代谢途径中相关代谢物的累积和作用, 使不同等级茄芯烟叶中的代谢物产生差异, 进而使感官品质产生差异。

关键词: 茄芯烟叶; 不同等级; 感官品质; 代谢组; (E)-丁-2-烯腈

中图分类号: TS452 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096-1553(2025)04-0086-10

0 引言

雪茄是一种由晾制和发酵后的雪茄烟叶卷制而成的特殊烟草制品, 具有烟碱高、劲头强、香气浓郁等特点^[1-3]。雪茄烟叶按用途可分为茄衣烟叶、茄套烟叶和茄芯烟叶, 其中茄芯烟叶是雪茄最里面的一层烟叶, 占整支雪茄质量的 75% 左右, 对雪茄的口味具有决定性作用^[4-6]。近年来,

国内消费者对雪茄的需求量持续增加^[7-8], 但由于国内长期缺乏优质茄芯烟叶^[9], 使得国内雪茄的感官品质难以提升, 市场发展受阻, 而改善国内茄芯烟叶品质成为解决该问题的关键。化学成分是烟叶品质的内在基础, 其组成和含量对烟叶感官品质影响较大, 分析不同等级茄芯烟叶的化学成分差异对雪茄烟品质提升具有重要意义^[10-11]。

收稿日期: 2024-04-19; 修回日期: 2024-07-19; 出版日期: 2025-08-15

基金项目: 红云红河集团科技项目(HYHH2021YL01); 中国烟草总公司项目(2021530000241004)

作者简介: 刘洪剑(1998—), 男, 江西省赣州市人, 云南农业大学硕士研究生, 主要研究方向为雪茄烟叶质量评价。E-mail: 3370879297@qq.com

通信作者: 刘涛(1978—), 男, 云南省昆明市人, 云南农业大学教授, 主要研究方向为卷烟配方与烟草化学。E-mail: 52133490@qq.com

非靶代谢组学技术是指在不预设目标代谢物的情况下,综合鉴定样本内产生的所有代谢物,从而揭示样本内代谢网络和调控机制的一种技术,已广泛应用于动植物的代谢组检测^[12-13]。李佳赞等^[14]利用 GC-MS 分析了南方型紫花苜蓿叶片的代谢组及其耐盐胁迫的响应机制,发现野生型紫花苜蓿的耐盐机制可能是促进三羧酸循环产生更多的三磷酸腺苷(ATP),而突变体紫花苜蓿的耐盐机制可能是累积了较多的渗透物质,如糖、肌醇和脯氨酸。刘哲等^[15]利用 GC-MS 分析了朱砂烟叶和普通烟叶香气成分(所有代谢小分子)的差异,并探究了香气成分对烟叶感官品质的影响,发现朱砂烟叶的加香效果好于普通烟叶,这与该烟叶香气成分(除烟碱之外)的相对质量分数总和高于普通烟叶的结果具有较好的一致性。云南作为烟草大省,为国内雪茄烟叶原料生产做出了巨大贡献^[8],然而,目前对不同等级发酵后云南茄苳烟叶进行代谢组差异分析的研究尚未见报道。

基于此,本研究拟选用不同等级发酵后云南茄苳烟叶为研究对象,评价其感官品质,借助 GC-MS 技术分析其挥发性成分并探究相关的代谢调控途径,以期了解不同等级发酵后云南茄苳烟叶感官品质产生差异的内在机制,为云南茄苳烟叶品质改善提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

发酵后茄苳烟叶,全部采集于云南省烟草农业科学研究院,品种为云雪1号,按照文献[8,16]对茄苳烟叶进行分级,包含上部1级(B1)、下部1级(X1)、中部1级(C1)、中部2级(C2)、中部3级

(C3)和中部4级(C4)。氯仿(色谱纯),上海沃凯化学试剂有限公司;吡啶(色谱纯),上海阿拉丁生化科技股份有限公司;甲氧胺盐酸盐、L-2 氯苯丙氨酸,均为色谱纯,上海阿达玛斯试剂有限公司;BSTFA 衍生试剂(体积分数为1%的三甲基氯化亚砷(TMCS)),美国瑞吉科技股份有限公司;甲醇、乙腈,均为色谱纯,飞世尔实验器材(上海)有限公司。

1.2 主要仪器与设备

NewClassic MS 型电子天平,美国梅特勒-托利多集团;JXDC-20 型氮吹仪,上海净信实业发展有限公司;Agilent 8890B-5977B 型 GC-MS 仪,美国安捷伦科技有限公司;TH2-D 型恒温振荡器,苏州培英实验设备有限公司;101-0 型数显电热鼓风干燥箱,上海叶拓仪器仪表有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 烟叶感官品质评价 将各茄苳烟叶卷制成单料烟,由云南省烟草农业科学研究院组织评吸专家按九分制对其主要品质指标进行评价,包括香气量、丰富度、熟练度、刺激性、绵柔感、细腻度、甜润度、干净度、回味感、燃烧性、灰色和凝灰度12项指标,进行5次重复,取平均值作为每份样品每个指标的鉴定分值。茄苳烟叶感官品质评价标准见表1^[17]。

1.2.2 烟叶代谢物提取 将各茄苳烟叶干燥粉碎后,分别取50 mg置于2 mL离心管中,加入500 μL体积分数为80%的甲醇水溶液,超声提取30 min,静置30 min,在13 000 r/min、4 ℃条件下离心15 min,收集上清液并装入玻璃衍生瓶中,加入80 μL 15 mg/mL的甲氧胺盐酸盐-吡啶溶液,涡旋振荡2 min后孵育90 min,再加入80 μL BSTFA 衍生试剂,涡旋振荡2 min,在70 ℃条件下孵育60 min,静置30 min后,收集上清液500 μL,用于GC-MS检测,每组样品均重复3次。

表1 茄苳烟叶感官品质评价标准												
Table 1 Evaluation criteria for sensory quality of filler tobacco leaves												
分值/分	香气量	丰富度	熟练度	刺激性	绵柔感	细腻度	甜润度	干净度	回味感	燃烧性	灰色	凝灰度
6.1~9.0	足、较足	丰富、较丰富	熟练、较熟练	小、微有	绵柔、较绵柔	细腻、较细腻	甜润、较甜润	干净、较干净	较足、尚足	好、较好	白、较白	好、较好
3.1~6.0	有	中等	中等	有	中等	中等	中等	中等	有	中等	偏白	中等
0~3.0	较少、少	欠丰富、不丰富	欠熟练、不熟练	较大、大	欠绵柔、不绵柔	欠细腻、不细腻	欠甜润、不甜润	欠干净、不干净	较少、少	较差、差	较灰、灰	较差、差

1.2.3 GC-MS 检测 1) 顶空条件。加热箱温度为 150 ℃, 定量环温度为 160 ℃, 传输线温度为 170 ℃; 样品瓶平衡时间为 20 min, 进样持续时间为 0.5 min, GC 循环时间为 35 min; 样品瓶体积为 10 mL; 定量环最终压力为 68 900 Pa。

2) GC-MS 条件。进样口温度为 180 ℃, 载气为高纯 He, 载气流速为 2 mL/min; 进样方式为分流模式, 进样量为 1 μL, 经 VF-WAXms 毛细管柱(25 m×0.25 mm×0.2 um) 分离后进入 MS 检测; 升温程序为初始温度 40 ℃, 平衡 2 min, 以 5 ℃/min 的速度升至 100 ℃, 再以 15 ℃/min 的速度升至 230 ℃, 并维持 7 min; 离子源为 EI 源; 电离电压为 70 eV; 离子源温度为 230 ℃, 传输线温度为 310 ℃, 四极杆温度为 150 ℃; 扫描方式为全扫描, 扫描质量范围(z/m) 为 50~500 amu, 扫描频率为 3.2 scan/s。采用 NIST、Fiehn 和 MS-DIAL 库进行谱库检索。

1.3 数据处理

利用 MassHunter10.0 对原始代谢物数据进行搜库鉴定及数据预处理, 然后在 KEGG 数据库中对鉴定到的代谢物进行功能和分类注释。使用 R 语言的 ropls 包绘制主成分分析(PCA) 图和正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA) 图及其置换检验图; 使用 R 语言的 pheatmap 包绘制聚类热图、ggplot 包绘制显著性气泡图。

2 结果与分析

2.1 不同等级茄芯烟叶感官品质比较分析

不同等级茄芯烟叶的感官品质评分见表 2。由表 2 可知, 不同等级茄芯烟叶的感官品质差异较大。在不同部位茄芯烟叶中, C1 的香气量比其他等级更足, 刺激性比其他等级更小; 相较于 X1, B1 的香气

量更足, 刺激性更小。有研究^[18-19] 表明, 打顶留叶数会影响不同部位雪茄烟叶的感官品质, 本研究选取的茄芯烟叶均为打顶留 17~18 片烟叶后采摘的烟叶, 可能导致下部烟叶的刺激性比上部、中部烟叶大。在不同级别茄芯烟叶中, C1 比其他等级的香气量更足、刺激性更小; C4 比 C2 和 C3 的香气量更足、刺激性更小; C2 和 C3 的香气量一致, 但刺激性更小。综上, C1 的感官品质明显优于其他等级, 其香气量足, 刺激性小, 回味感足, 具有较好的感官品质。

2.2 不同等级茄芯烟叶代谢组的多元统计分析

不同部位茄芯烟叶代谢组的 PCA 图如图 1 所示。由图 1 可知, 组内样品分离趋势较小、组间样品分离趋势较大, 说明组内样品重复性好、组间样品代谢组差异较大。为避免样品自身、环境等因素对分类信息的干扰, 进一步采用 OPLS-DA 对不同部位茄芯烟叶代谢组进行分析, 结果如图 2 所示。由图 2 可知, 两两比较时, 组间样品分离趋势更大。对模型进行 200 次置换检验后的结果如图 3 所示。由图 3 可知, $R^2>Q^2$, 且 R^2 和 Q^2 均小于最右侧点的值, 说明模型未过拟合, 数据稳定可靠, 进一步表明不同部位茄芯烟叶间代谢组差异较大, 可进行后续数据分析。

不同级别茄芯烟叶代谢组的 PCA 图如图 4 所示。由图 4 可知, 组内样品重复性好, 组间样品代谢组差异较大。不同级别茄芯烟叶代谢组的 OPLS-DA 图如图 5 所示。由图 5 可知, 两两比较时, 组间样品分离趋势更大。对模型进行 200 次置换检验后的结果如图 6 所示。由图 6 可知, $R^2>Q^2$, 且 R^2 和

表 2 不同等级茄芯烟叶的感官品质评分
Table 2 Sensory quality scores of filler tobacco leaves across different grades 分

烟叶等级	香气量	丰富度	熟练度	刺激性	绵柔感	细腻度	甜润度	干净度	回味感	燃烧性	灰色	凝灰度
B1	7.5	6.5	5.0	6.5	6.5	5.0	8.0	4.0	4.0	7.5	7.5	8.0
X1	7.0	7.0	6.0	3.0	3.0	7.0	7.0	3.0	3.0	9.0	9.0	9.0
C1	9.0	6.5	6.5	9.0	7.0	6.5	9.0	6.5	9.0	7.5	6.5	7.5
C2	8.0	8.5	8.0	8.0	7.5	8.0	8.5	8.0	8.0	8.5	8.0	8.0
C3	8.0	9.0	7.5	7.5	8.5	9.0	8.0	8.0	8.0	8.0	7.5	8.0
C4	8.5	6.0	6.0	8.5	5.5	5.0	8.7	7.0	8.5	6.5	6.0	7.5

Q^2 均小于最右侧点的值,说明模型未过拟合,数据稳定可靠,进一步表明不同级别茄芯烟叶间代谢组差异较大,可进行后续数据分析。

2.3 不同等级茄芯烟叶间差异代谢物分析

为明确不同等级茄芯烟叶间的差异代谢物,基于 OPLS-DA 的变量重要性投影 (VIP) >1 且 T 检验的 $P<0.05$ 进行筛选。结果表明,不同部位茄芯烟叶中共筛选出 123 个差异代谢物,不同级别茄芯烟叶中共筛选出 35 个差异代谢物,每组分别产生了 6~

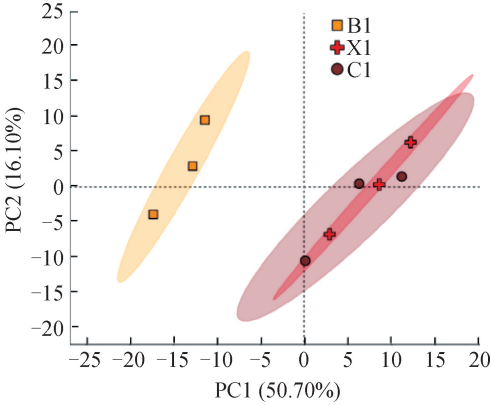


图 1 不同部位茄芯烟叶代谢组的 PCA 图
Fig. 1 PCA plots of metabolome profiles from different parts of filler tobacco leaves

114 个显著差异代谢物。以 OPLS-DA 的 VIP 为依据,两两比较组中 VIP 排名前五的差异代谢物见表 3。由表 3 可知,这些差异代谢物主要是杂环类、醛类、醚类、羧酸、芳香族等化合物,它们是引起茄芯烟叶感官品质差异的关键化合物。

为了解差异代谢物在不同部位茄芯烟叶中的丰度情况,对 123 个差异代谢物进行了标准化处理并绘制了聚类热图,如图 7 所示。由图 7 可知,(E)-庚-2-烯酸、3-甲基-1H-吡咯、N-甲酰基-N-甲基甲酰胺、氧戊烷等差异代谢物在 B1 中含量较多,1-(1,3-苯并二氧杂环戊烯-5-基)-2-[1-(1,3-苯并二氧杂环戊烯-5-基)丙-2-基氨基]乙酮、3-乙基-3-甲基庚烷、4,7-二甲基十一烷等差异代谢物在 C1 中含量较多,4-乙基辛烷、5-甲基吡咯烷-2-酮、6-甲基十一烷、丙基环己烷等差异代谢物在 X1 中含量较多。其中,2-苯基-2-丁烯醛具有茶香味,二甲基三硫醚具有薄荷味,醋酸具有刺激性气味,二苯胺具有刺激性气味,丁-2-烯酸具有臭味,10-三环[4.3.1.0^{3,8}]癸烷基-4-甲基苯磺酸酯具有特殊香味,环戊酮具有薄荷气味,2-(丙氧基甲

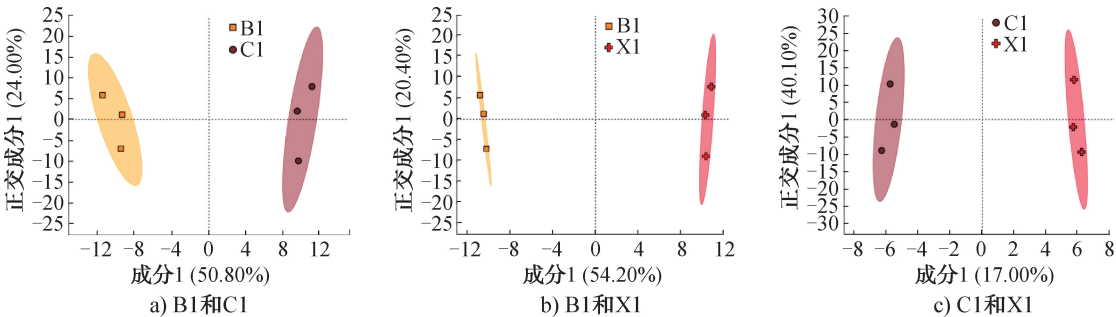


图 2 不同部位茄芯烟叶代谢组 OPLS-DA 图
Fig. 2 OPLS-DA plots of metabolome profiles from different parts of filler tobacco leaves

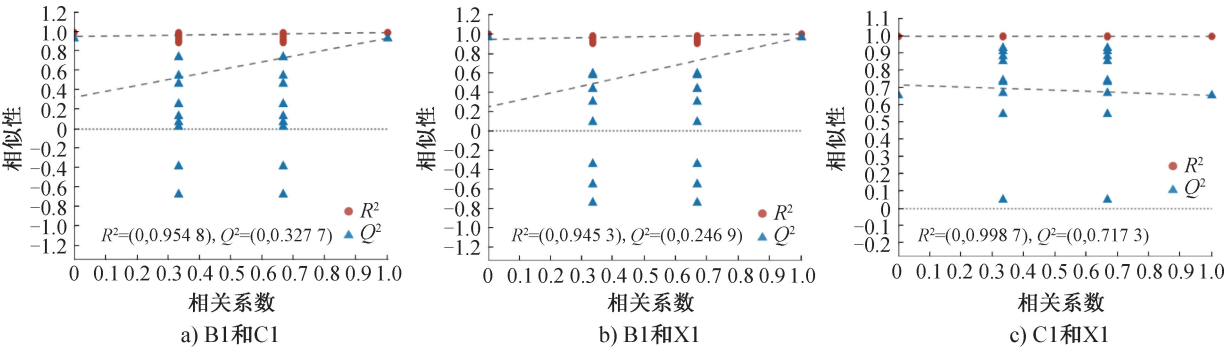


图 3 不同部位茄芯烟叶代谢组 OPLS-DA 模型的置换检验图
Fig. 3 Permutation test plots for validating the OPLS-DA model of metabolome profiles from different parts of filler tobacco leaves

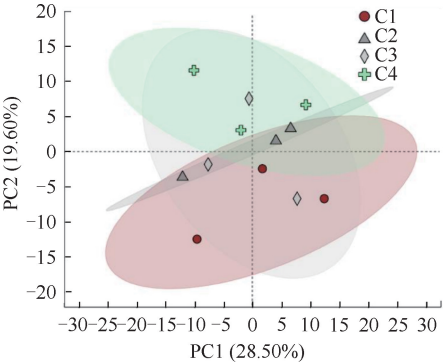


图 4 不同级别茄芯烟叶代谢组的 PCA 图
Fig. 4 PCA plots of metabolome profiles from different grades of filler tobacco leaves

基) 环氧乙烷具有特殊气味, (*E*)-丁-2-烯腈具有芳香气味, 2-乙基丁酸具有霉味, *N*-甲基-2-庚胺具有刺激性气味^[20]。有研究^[21-23] 结果显示, 烟叶内挥发性致香成分总量越多, 烟叶的香气量越足, 感官品质越好。与 B1 相比, X1 中更多的醋酸和二苯胺可能使其刺激性更大, 导致其感官品质较差, 这与实际评吸结果一致; C1 中更多的 10-三环[4.3.1.03,8]癸烷基-4-甲基苯磺酸酯、2-苯基-2-丁烯醛和环戊酮可能使其香味更足, 导致其感官品质较好, 这与实际评吸结果一致。与 X1 相比, C1 中更多的(*E*)-丁-2-烯腈及更少的 2-(丙氧基甲基)

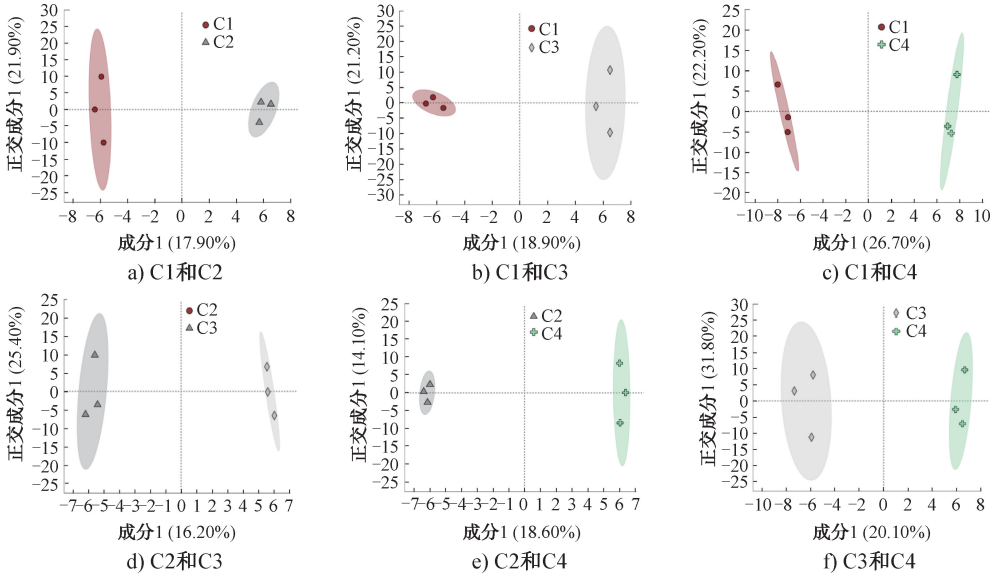


图 5 不同级别茄芯烟叶代谢组的 OPLS-DA 图
Fig. 5 OPLS-DA plots of metabolome profiles from different grades of filler tobacco leaves

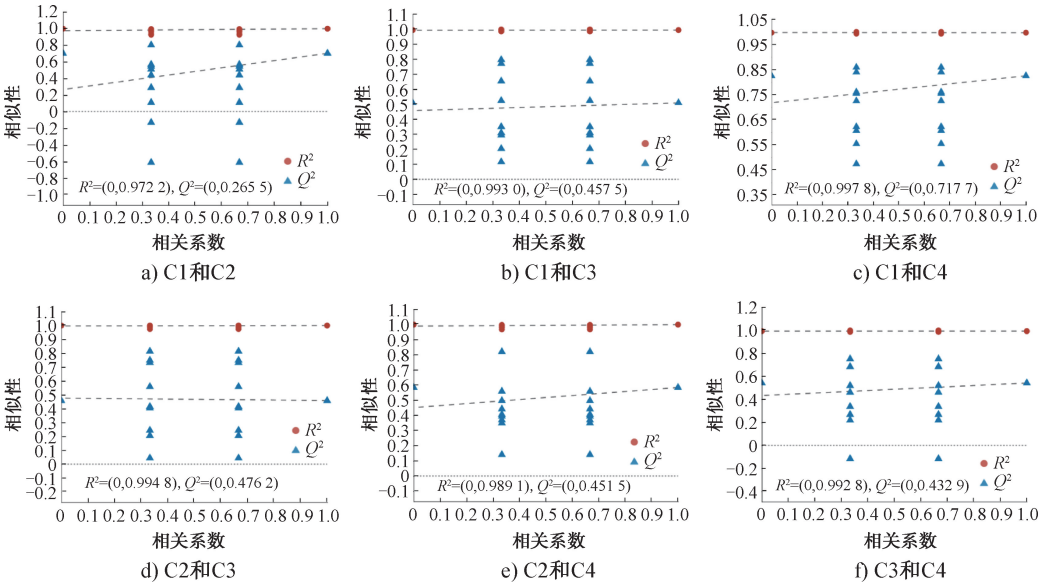


图 6 不同级别茄芯烟叶代谢组 OPLS-DA 模型的置换检验图
Fig. 6 Permutation test plots for validating the OPLS-DA model of metabolome profiles from different grades of filler tobacco leaves

表 3 两两比较组中 VIP 排名前五的差异代谢物

Table 3 Top five VIP-ranked differential metabolites across pairwise comparison groups

比较组	差异代谢物总数/种	显著差异代谢物	P 值	VIP	比较组	差异代谢物总数/种	显著差异代谢物	P 值	VIP
B1 和 X1	114	5-甲氧基噻二唑 (杂环类)	3.75E-05	1.35	C1 和 C4	20	(E)-丁-2-烯腈 (腈类)	8.41E-03	1.80
		2-苯基-2-丁烯醛 (醛类)	6.59E-05	1.35			4,5-二甲基壬烷 (烃类)	1.17E-02	1.77
		二甲基三硫醚 (醚类)	8.01E-05	1.35	C1 和 X1	6	2-(丙氧基甲基)环氧乙烷(烃类)	2.48E-04	2.40
		醋酸(羧酸)	1.16E-04	1.35			(E)-丁-2-烯腈 (腈类)	2.64E-03	2.32
		二苯胺(芳香族)	2.04E-04	1.34			2-乙基丁酸 (羧酸衍生物)	5.59E-03	2.30
C1 和 B1	104	丁-2-烯酸 (羧酸衍生物)	2.04E-05	1.40			6-甲基十一烷 (烃类)	2.20E-02	2.16
		5-甲氧基噻二唑 (杂环类)	5.08E-06	1.40			N-甲基-2-庚胺 (胺类)	2.85E-02	2.09
		10-三环[4.3.1.03,8]癸烷基 4-甲基苯磺酸酯(酯类)	2.19E-05	1.39	C2 和 C3	9	2-(甲基氨基)乙酸(羧酸衍生物)	5.43E-04	2.45
		2-苯基-2-丁烯醛(醛类)	1.46E-04	1.39			2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(芳香族)	9.48E-03	2.30
		环戊酮(酮类)	5.51E-04	1.39			N-甲基吡啶-3-甲酰胺(胺类)	2.02E-02	2.20
C1 和 C2	15	2-(丙氧基甲基)环氧乙烷(烃类)	1.45E-04	2.35			顺式-3-己烯醇 (醇类)	2.23E-02	2.19
		2-乙基丁酸 (羧酸衍生物)	4.37E-04	2.33			1-甲基-5-(3-吡啶基)-2-吡咯烷酮(酮类)	2.13E-02	2.17
		4-乙基辛烷 (烃类)	3.12E-04	2.32	C2 和 C4	8	1-(丁-2-基氧基甲基)-3-甲氧基苯(芳香族)	3.08E-03	2.20
		顺式-3-己烯醇 (醇类)	4.21E-03	2.25			二苯胺(胺类)	1.22E-02	2.13
		(E)-丁-2-烯腈 (腈类)	2.63E-03	2.23			2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(芳香族)	2.20E-02	2.05
C1 和 C3	8	2-乙基丁酸 (羧酸衍生物)	5.18E-03	2.20			顺式-3-己烯醇(醇类)	2.94E-02	2.01
		2-(丙氧基甲基)环氧乙烷(烃类)	3.15E-03	2.16			3-甲基-1-丁醇(醇类)	3.70E-02	1.93
		(E)-丁-2-烯腈(腈类)	6.02E-03	2.13	C3 和 C4	7	2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(芳香族)	4.33E-03	2.14
		6-甲基十一烷 (烃类)	2.06E-02	2.03			6-甲基-2-庚烯(烯类)	5.45E-03	2.11
		2,3-二氢呋喃(呋喃衍生物)	3.00E-02	2.03			2-(甲基氨基)乙酸(羧酸衍生物)	9.13E-03	2.10
C1 和 C4	20	4-乙基辛烷 (烃类)	2.87E-04	1.91			1-(4-甲氧基苯基)-3-甲基-1-戊酮(酮类)	3.20E-02	1.92
		2-乙基丁酸 (羧酸衍生物)	2.70E-04	1.91			[4-(5-氟-2-甲氧基苯基)磺酰基哌嗪-1-基]-(呋喃-2-基)甲酮(酮类)	2.26E-02	1.91
		1-(丁-2-基氧基甲基)-3-甲氧基苯(芳香族)	3.17E-03	1.82					

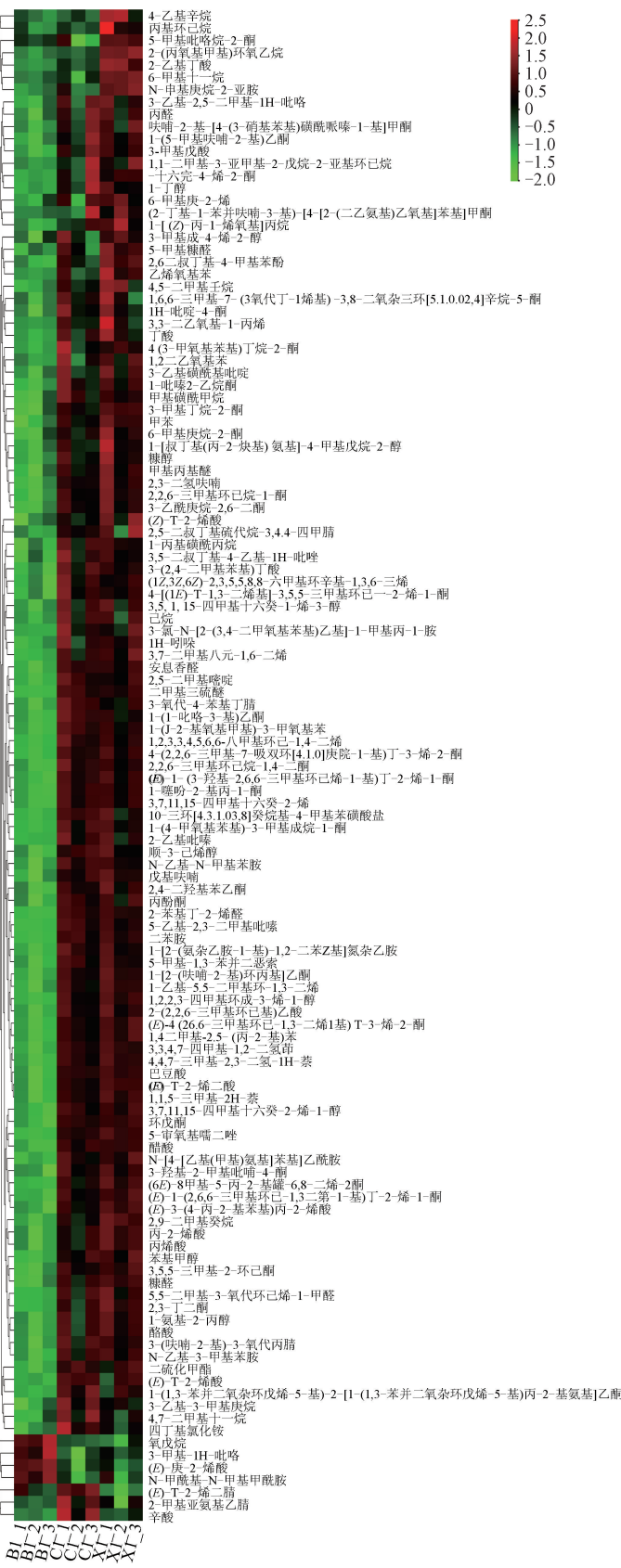


图 7 不同部位茄芯烟叶差异代谢物聚类热图

Fig. 7 Clustering heatmap of differential metabolites from different grades of filler tobacco leaves

环氧乙烷、2-乙基丁酸和 N-甲基-2-庚胺可能使其香味更足、刺激性更弱,导致其感官品质总体上更好,这与实际评吸结果一致。

为了解差异代谢物在不同级别茄芯烟叶中的丰度情况,对 35 个差异代谢物进行了标准化处理并绘制了聚类热图,如图 8 所示。由图 8 可知,(E)-丁-2-烯腈、十二烷、N-(氧代亚甲基)氨基磺酰氯等差异代谢物在 C1 中含量较多,2-甲基-1-吡咯啉等差异代谢物在 C2 中含量较多,2-乙基己基己基亚硫酸盐等差异代谢物在 C3 中含量较多,3-甲基-1-丁醇、2-丙醇等差异代谢物在 C4 中含量较多。其中,4-乙基辛烷具有辛香味,顺式-3-己烯醇具有青叶香味,2,3-二氢咪唑具有酒精味,1-(丁-2-基氧基甲基)-3-甲氧基苯和 2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚具有刺激性气味,1-甲基-5-(3-吡啶基)-2-吡咯烷酮具有特殊香味,3-甲基-1-丁醇和 6-甲基-2-庚烯具有果香味。与 C2 相比,C1 中更多的顺式-3-己烯醇和(E)-丁-2-烯腈及更少的 2-(丙氧基甲基)环氧乙烷和 2-乙基丁酸可能使其香味更足、刺激性更弱,导致其感官品质总体上更好,这与实际评吸结果一致。与 C3 相比,C1 中更多的(E)-丁-2-烯腈及更少的 2-(丙氧基甲基)环氧乙烷和 2-乙基丁酸可能使其香味更足、刺激性更弱,导致其感官品质总体上更好,这与实际评吸结果一致。与 C4 相比,C1 中更多的(E)-丁-2-烯腈及更少的 2-乙基丁酸可能使其香味更足、刺激性更弱,导致其感官品质总体上更好。与 C3 相比,C2 中更多的 1-甲基-5-(3-吡啶基)-2-吡咯烷酮及更少的 2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚可能使其香味更足、刺激性更弱,导致其感官品质总体上更好。与 C4 相比,C2 中更多的 1-(丁-2-基氧基甲基)-3-甲氧基苯、2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚和二苯胺及更少的顺式-3-己烯醇和 3-甲基-1-丁醇可能使其刺激性更大、香味更弱,导致其感官品质更差,这与实际评吸结果一致。与 C4 相比,C3 中更多的 2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚及更少的 6-甲基-2-庚烯可能使其刺激性更大、香味更弱,导致其感官品质更差。同时,(E)-丁-2-烯腈在 C1 参与的 4 个比较组中均表现为高丰度的显著差异代谢物,说明其可能是使不同等级茄芯烟叶感官品质产生差异的关键化合物,有利于茄芯烟叶提质增香。

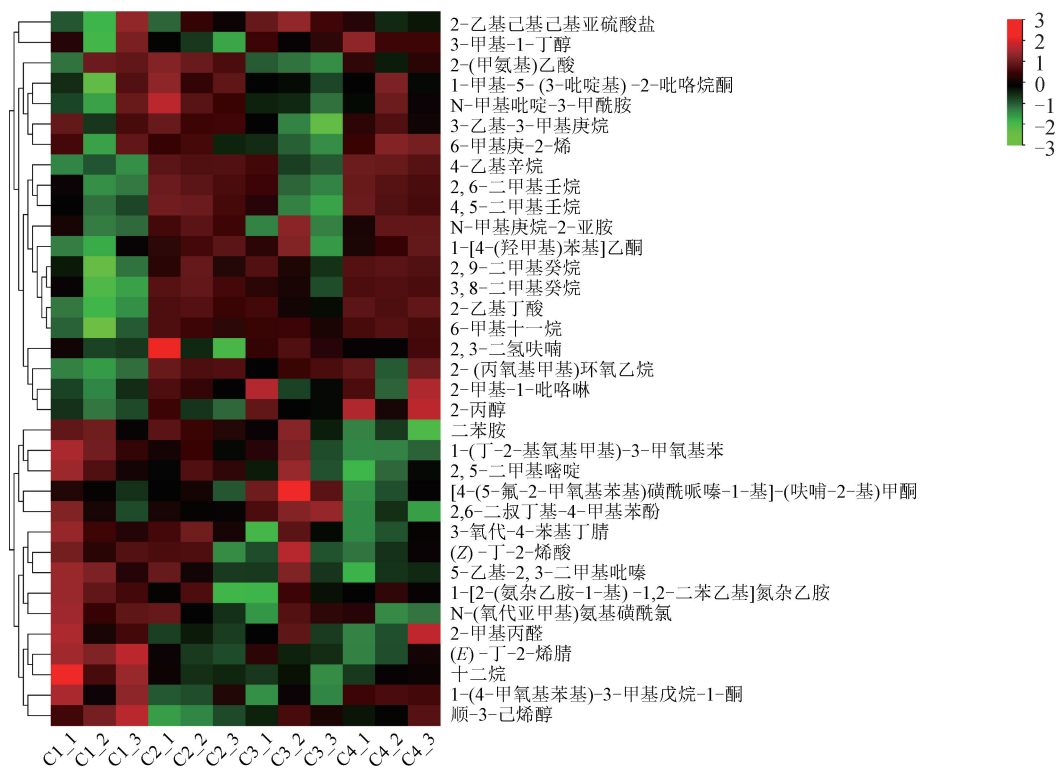


图 8 不同级别茄苳烟叶差异代谢物聚类热图

Fig. 8 Clustering heatmap of differential metabolites from different grades of filler tobacco leaves

2.4 差异代谢物 KEGG 代谢通路富集分析

KEGG 代谢通路富集分析气泡图如图 9 所示。由图 9 可知,不同等级茄苳烟叶间差异代谢物主要富集的代谢通路有色氨酸代谢、乙醛酸和二羧酸代谢、糠醛降解、芳香族化合物降解、丁酸代谢、硫辛酸代谢、氰基氨基酸代谢、精氨酸和脯氨酸代谢。其中,在 B1 和 X1、B1 和 C1、C1 和 C4 对比中,丁酸代谢途径差异最显著;在 C1 和 C2 对比中,氰基氨基酸代谢途径差异最显著;在 C2 和 C3、C2 和 C4 对比中,精氨酸和脯氨酸代谢途径差异最显著;在 C1 和 C3、C3 和 C4 对比中,芳香族化合物降解途径差异最显著。在 C1 参与的比较组中,显著代谢通路为芳香族化合物降解、氰基氨基酸代谢和丁酸代谢通路,而丁烷-2,3-二酮、丁醇、丁酸、2-甲基丙醛、4-甲基苯甲酸、丙烷-2-醇等显著差异代谢物也确实参与了这 3 条代谢途径,说明这 3 条代谢途径可能是茄苳烟叶发酵时提质增香的主要调控通路。因此,上述 3 条代谢途径相关代谢物的累积和作用可能使不同等级茄苳烟叶内代谢物产生差异并最终使感官品质产生差异,这与张文友等^[24-25]的研究结果较一致。

3 结论

本文以不同等级发酵后云南茄苳烟叶为研究对象进行了感官品质评价,并借助 GC-MS 技术对其代谢组进行了检测,采用 PCA、OPLS-AS、KEGG 代谢通路富集分析等方法进行了组间差异对比分析。结果表明:1)与其他等级烟叶相比,C1 香气量更足,刺激性更小,回味感更足。2)不同部位茄苳烟叶间显著差异代谢物有 123 种,不同级别茄苳烟叶间显著差异代谢物有 35 种,主要为杂环类、醛类、醚类、羧酸、芳香族等化合物。其中,(E)-丁-2-烯腈在 C1 参与的 4 个比较组中为高丰度显著差异代谢物。3)氰基氨基酸代谢、芳香族化合物降解和丁酸代谢 3 条代谢途径在 C1 参与的比较组中具有显著差异。因此,C1 的感官品质明显优于其他样品,且不同等级茄苳烟叶代谢组差异较大,推测(E)-丁-2-烯腈可能是通过上述 3 条代谢途径相关代谢物的累积和作用,使不同等级茄苳烟叶内代谢物产生差异,进而使感官品质产生差异。未来可考虑将(E)-丁-2-烯腈作为茄苳烟叶发酵过程中的外源添加物质,用于促进茄苳烟叶提质增香。

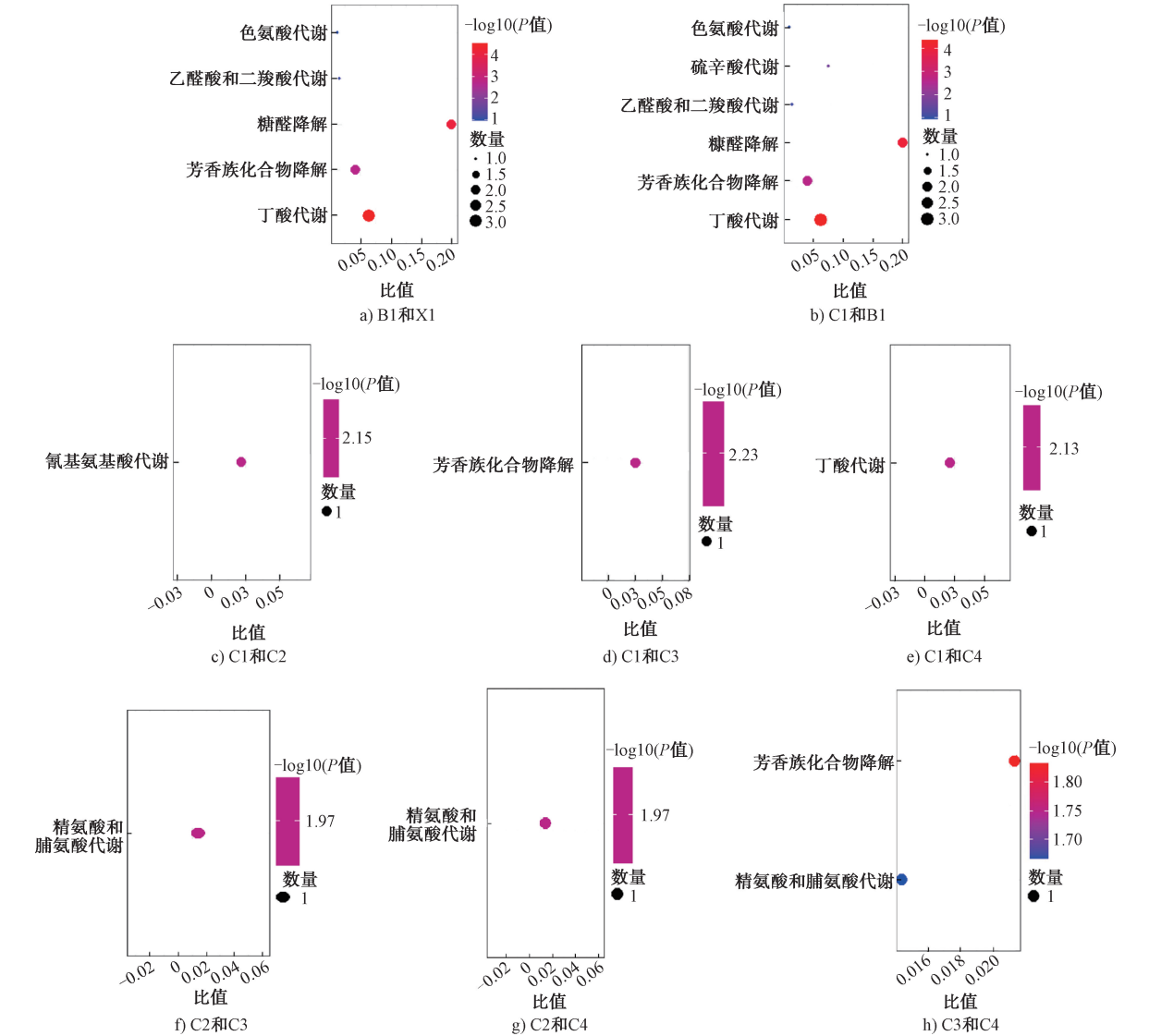


图 9 KEGG 代谢通路富集分析气泡图

Fig. 9 Bubble plots of KEGG metabolic pathway enrichment analysis

参考文献:

[1] 耿召良,高华军,李方友,等. 国内外部分雪茄烟叶主要化学成分比较及聚类分析[J]. 热带作物学报, 2023,44(9):1840-1853.

[2] 李欣燕,邵志晖,王方玲,等. 保水剂对干旱胁迫下雪茄烟叶次生代谢物质及化学成分含量的影响[J]. 中国土壤与肥料,2023(5):215-224.

[3] 朱贝贝,何声宝,安泓为,等. 国内外几种知名品牌雪茄化学及风格特征比较[J]. 中国烟草学报,2023,29(3):115-124.

[4] 陈音,孙贤,郑召君,等. 加料发酵对茄芯烟叶化学成分及表面细菌多样性的影响[J]. 中国烟草学报, 2023,29(1):106-115.

[5] 赵瑞,章存勇,徐云进. 国内外不同雪茄茄芯原料主要化学成分与感官品质分析[J]. 南方农业,2015,9(30):252-253.

[6] 朱贝贝,何声宝,安泓为,等. 不同用途雪茄烟叶化学成分分析及其对感官质量的影响[J]. 安徽农业科学, 2023,51(23):181-184.

[7] 胡婉蓉,蔡文,李东亮,等. 发酵介质对雪茄烟叶化学成分及微生物群落结构的影响[J]. 轻工学报,2023, 38(1):90-100.

[8] 刘春奎,贾琳. 烟叶分级[M]. 北京:中国纺织出版社,2024.

[9] 潘勇,吴巧茜,李林林,等. 国产雪茄烟叶堆积发酵过程中的微生物变化规律及差异分析[J]. 河南农业科学,2022,51(11):171-180.

[10] 高森,高洋洋,付小洲,等. 什邡、凉山产区生产 GH1、GH2 雪茄烟化学成分对比分析[J]. 农产品加工,2021(7):51-54.

[11] 易凯,卢绍浩,雷云康,等. 不同品种雪茄烟叶常规化学成分及中性致香物质含量分析[J]. 中南农业科技,

2023(1):62–64,68.

[12] 黄菊,谢四芳,唐佩莉,等. 乳香及其炮制品挥发性成分及颜色的差异研究[J]. 中国现代应用药学,2023,40(18):2526–2534.

[13] 张志烽,白亭玉,王珏,等. 基于 GC-MS 和 PCA 分析三种不同资源依兰香气差异[J]. 中国食品添加剂,2023,34(5):264–273.

[14] 李佳赞,马进,王依纯,等. 南方型紫花苜蓿叶片响应盐胁迫的代谢组学分析[J]. 河南农业科学,2019,48(5):30–36.

[15] 刘哲,张凤梅,刘志华,等. 朱砂烟叶和普通烟叶香气成分的 HS-SPME-GC/MS 对比分析和感官差异[J]. 烟草科技,2020,53(7):54–61.

[16] 国家烟草专卖局. 雪茄烟叶工商交接等级标准:YC/T 588—2021[S].

[17] 吕晋雄,安鸿洵,刘路路,等. 国产雪茄烟叶原料感官品质评价方法的建立与应用[J]. 轻工学报,2024,39(4):64–71,79.

[18] 江鸿. 留叶数和成熟度对雪茄烟叶生长与品质的影响[D]. 成都:四川农业大学,2013.

[19] 卢瑞琳,刘路路,胡希,等. 不同采收时间对雪茄烟叶质量的影响[J]. 河南农业科学,2021,50(10):51–59.

[20] 孙宝国,陈海涛. 食用调香术[M]. 3 版. 北京:化学工业出版社,2017.

[21] 荣仕宾,李晶晶,赵园园,等. 雪茄芯叶人工发酵温湿度控制对化学成分和香味品质的影响[J]. 中国烟草学报,2021,27(2):109–116.

[22] 胡婉蓉,蔡文,郑召君,等. 发酵介质和发酵过程对雪茄烟叶品质的影响[J]. 烟草科技,2023,56(2):41–52.

[23] 荣仕宾,秦艳青,赵园园,等. 调制方式对四川茄衣和茄芯烟叶化学成分及香气品质的影响[J]. 作物杂志,2023(2):207–213.

[24] 张文友,颜朗,赖先军,等. 陈化烤烟叶片不同发酵时间微生物多样性及代谢组分析[J]. 中国烟草学报,2022,28(5):84–94.

[25] 林远. 环境湿度对雪茄茄衣晾晒特性及代谢机理影响的研究[D]. 武汉:华中农业大学,2022.

Metabolomic frofiling differences analysis of different grades of filler tobacco leaves after fermentation in Yunnan

LIU Hongjian^{1,2}, ZHOU Lequn³, LI Guizhong³, PENG Manjiang³, WANG Xuefeng³,
ZHANG Guanghai⁴, LI Zhihua³, LIU Tao^{1,2}

1. College of Agronomy and Biotechnology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;
2. National and Local Joint Engineering Research Center for Germplasm Innovation and Utilization of Chinese Materia Medica/Yunnan Provincial Key Laboratory of Medicinal Plant Biology, Kunming 650201, China;
3. Tobacco Quality Inspection Department, Raw Materials Department, Hongyun Honghe Tobacco(Group) Co., Ltd., Kunming 650231, China;
4. Yunnan Academy of Tobacco Agricultural Sciences, Yuxi 653100, China

Abstract: To elucidate the intrinsic mechanisms underlying the sensory quality differences in fermented filler tobacco leaves from Yunnan, we evaluated the sensory quality of six grades (B1, X1, C1, C2, C3, and C4) of post-fermentation filler tobacco leaves. Metabolomic profiling was performed using GC-MS, followed by comparative analysis via principal component analysis (PCA), orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA), and KEGG metabolic pathway enrichment analysis. The results revealed that, compared to other grades, C1 exhibited richer aroma, reduced irritation, and longer aftertaste. A total of 123 significantly different metabolites were identified between different parts of filler tobacco leaves, and 35 between different grades, primarily comprising heterocyclic compounds, aldehydes, ethers, carboxylic acids, and aromatic compounds. Notably, (*E*)-buta-2-enonitrile was a highly abundant and significantly different metabolite in all four comparison groups involving C1. The three metabolic pathways—cyanoamino acid metabolism, aromatic compound degradation, and butyric acid metabolism—were significantly enriched in the comparison groups involving C1. (*E*)-buta-2-enonitrile might contribute to metabolomic differences among different grades by modulating the accumulation and interaction of metabolites within these pathways, thereby leading to variations in sensory quality.

Key words: filler tobacco leaves; different grade; sensory quality; metabolome; (*E*)-buta-2-enonitrile

[责任编辑:杨晓娟 刘春奎]