



张亮,刘显军,孙海峰,等. 基于 HS-GC-IMS 的不同部位及成熟度烟叶挥发性成分差异分析[J]. 轻工学报, 2025,40(2):116-126.
ZHANG L, LIU X J, SUN H F, et al. Differential analysis of volatile components in tobacco leaves of varying parts and maturity based on HS-GC-IMS[J]. Journal of Light Industry, 2025,40(2):116-126.
DOI: 10. 12187/2025. 02. 013

基于 HS-GC-IMS 的不同部位及成熟度烟叶挥发性成分差异分析

张亮¹, 刘显军¹, 孙海峰¹, 陈壮壮¹, 何澎¹, 杨鹏飞², 吴薇², 尚紫博²

1. 深圳烟草工业有限责任公司 技术研发中心, 广东 深圳 518000;
2. 郑州轻工业大学 烟草科学与工程学院, 河南 郑州 450001

摘要: 为研究湖南永州烟叶挥发性成分的差异, 采用顶空-气相色谱-离子迁移谱(HS-GC-IMS)技术对不同部位及成熟度烟叶中挥发性成分进行检测, 并结合主成分分析、层次聚类分析和偏最小二乘法回归分析等对比烟叶间挥发性成分含量的差异。结果表明: 从不同部位及成熟度烟叶样品中共鉴定出 69 种挥发性成分; 不同部位及成熟度烟叶样品中挥发性成分的含量均存在较明显的差异, 且存在明显区域归属; 共筛选出 26 种差异挥发性成分, 其中, 2-己酮、甲酸异戊酯、糠醛、2,6-二甲基吡嗪、2-甲氧基-3-异丁基吡嗪、乙酸乙酯和香叶醇等成分在不同部位烟叶中的相对含量差异较大, 而四氢噻吩、2-己酮、甲酸异戊酯、壬醛、乙酸、吡嗪、水杨醛和异丁醇等成分在不同成熟度烟叶中的相对含量差异较大, 这些物质可用于区分不同部位烟叶和成熟度烟叶。

关键词: 顶空-气相色谱-离子迁移谱; 烟叶部位; 烟叶成熟度; 挥发性成分

中图分类号: TS411 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096-1553(2025)02-0116-11

0 引言

烟叶是一种典型的、结构复杂的天然产物, 也是烟草制品的基础原料^[1], 其质量对烟草制品品质起决定性作用。烟叶部位是指烟叶在烟株上的着生位置, 在烟叶生产过程中, 不同部位烟叶的质量存在较明显的差别; 烟叶成熟度是指烟叶在田间生长发育和干物质累积至更适用于工业加工要求的程度^[2], 是烟叶采收期的关键指标^[3], 成熟度好的

烟叶颜色均匀一致, 叶片正反面颜色差异小、油分足、色度浓。烟叶的部位和成熟度与其化学成分、香气和风味属性相关^[4-5], 可显著影响烟草工业的可持续高质量发展和烟农的经济效益^[6]。

不同部位和成熟度的烟叶在多个方面存在差异。杨天旭等^[7]以烟叶农艺性状、主要化学成分和感官评吸为指标, 研究了烟叶不同部位成熟度与质量的关系, 发现随着成熟度的提高, 烟叶总氮含量呈下降趋势; 而中上部烟叶的总糖和还原糖含量则

收稿日期: 2024-03-11; 修回日期: 2024-05-27; 出版日期: 2025-04-15

基金项目: 中国烟草总公司重大科技项目(110202201053(SJ-03)); 中国烟草实业发展中心科技项目(ZYSYQ-2022-17)

作者简介: 张亮(1985—), 男, 江苏省扬州市人, 深圳烟草工业有限责任公司工程师, 主要研究方向为烟草化学。E-mail: zhangl@haorizi.cn

通信作者: 孙海峰(1979—), 男, 甘肃省兰州市人, 深圳烟草工业有限责任公司高级工程师, 主要研究方向为烟草化学。E-mail: sunhf@haorizi.cn

呈上升趋势;不同部位烟叶的评吸得分显示,成熟度最低的烟叶得分最低。陈乾锦等^[8]研究了不同成熟度中、上部烟叶的外观特征和常规化学成分,发现不同成熟度的中部烟叶间的差异较小,但当叶面的 80%~90%呈浅黄色、主脉超过 2/3 变白时,采收表现最佳;而上部烟叶在叶面完全呈淡黄色、主脉完全变白时的采收效果明显优于其他成熟度烟叶。兰金隆等^[9]通过烟叶常规化学成分和感官评吸等指标研究了不同部位烤烟的适宜采收成熟度,发现不同黄化阶段采收的烟叶,经烘烤后其常规化学成分和感官评吸结果均具有明显差异。上述有关烟叶部位及成熟度的研究仅涉及烟叶常规化学成分、外观特性和感官评吸的分析,未从挥发性成分差异角度进行有效区分,且外观特性和感官评吸等方法易受主观因素影响,仅适用于经验丰富的技术人员。因此,明确不同部位及成熟度烟叶挥发性成分的差异,实现不同部位及成熟度烟叶的区分,对高品质卷烟产品的原料提供具有重要意义。

目前,针对不同烟叶挥发性成分差异的研究大多采用气相色谱-质谱联用(GC-MS)^[10]、近红外光谱^[11]、电子鼻^[12]等技术,其中气相色谱-质谱联用技术存在样品前处理过程繁琐且重复性差等缺陷;近红外光谱技术存在光谱之间干扰大、数据分析困难等问题;电子鼻技术无法有效区分香型相似的烟草挥发性成分^[13]。然而,顶空-气相色谱-离子迁移谱(HS-GC-IMS)结合了 GC 的高选择性和 IMS 的高灵敏度,可快速匹配分析样品中的化合物信息^[14],具有检测速度快、灵敏度高、数据直观可视化、操作简便、样品制备步骤简单等优点^[15-16],已应用于香辛料^[17]、药膳^[18]、酱调料^[19]、茶^[20]、药材^[21]、烟草制品^[22]、食品^[23-25]等样品中挥发性风味物质的指纹图谱关联性分析,但目前尚未见将 HS-GC-IMS 技术应用于不同部位及成熟度烟叶挥发性成分差异分析的相关报道。鉴于此,本研究拟采用 HS-GC-IMS 技术分析不同部位及成熟度烟叶的挥发性成分含量,结合化学计量学等多元统计手段对数据进行可视化差异判别分析,明确不同部位及成熟度烟叶挥发性成分的差异,以期对烟叶质量控制及品质评价提供参考。

1 材料和方法

1.1 主要材料、试剂与仪器

主要材料:湖南永州上部欠熟烟叶(BU)、上部成熟烟叶(BR)、上部完熟烟叶(BM)、中部欠熟烟叶(CU)、中部成熟烟叶(CR)、中部完熟烟叶(CM),由深圳烟草工业有限责任公司的专业技术人员于 2023 年 7 月份在湖南永州烟站对烟叶部位、成熟度进行判别和采收,编烟装烟后进行烘烤,压缩打包,备用。

主要仪器:FlavourSpec 型 HS-GC-IMS 仪,德国 G. A. S 公司;BP210 s 型天平,德国 Sartorius 公司;YB-150 型多功能粉碎机,永康市速锋工贸有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品前处理 分别取不同部位、成熟度烟叶,经粉碎、研磨、过 40 目筛后,分别准确称量 0.25 g 烟叶粉末(精确至 0.01 g),置于 20 mL 专用顶空进样瓶中,使用 HS-GC-IMS 仪检测不同烟叶样品的挥发性成分含量。

1.2.2 HS-GC-IMS 检测条件 HS 条件为:样品经孵化炉 50 °C 条件下孵化 15 min,进样体积 500 μ L,取样深度 35 mm。GC-IMS 条件为:MXT-5 色谱柱(15 m \times 0.53 mm \times 1.0 μ m);进样口温度 80 °C;载气/漂移气为高纯氮气;载气流速为初始流速 2 mL/min,保持 2 min,10 min 时升至 10 mL/min,25 min 时升至 100 mL/min,保持至 30 min;漂移气流速为 150 mL/min;漂移管温度 50 °C;放射源为氚源;离子化模式为正离子模式。

1.3 数据处理与分析

利用 HS-GC-IMS 仪配套的 Laboratory Analytical Viewer 分析软件查看谱图,绘制离子迁移谱图和指纹图谱;利用该仪器内置 NIST 和 IMS 数据库进行峰定性;采用归一化法对挥发性全组分进行定量处理。使用 R 语言绘制主成分、层次聚类、柱状含量占比图、指纹图谱相似度相关性热图和聚类热图。结合主成分分析(PCA)、层次聚类分析(HCA)、偏最小二乘法回归分析(OPLS-DA)等对比烟叶间挥发性成分含量的差异,采用 SPSS 对挥发性成分相

对含量进行方差分析和事后检验;使用 SIMCA 14.1 进行 OPLS-DA 分析;每组实验平行测定 6 次,以(平均值 \pm 标准差)表示。

2 结果与分析

2.1 挥发性成分 HS-GC-IMS 谱图分析

不同部位及成熟度烟叶样品挥发性成分的 HS-GC-IMS 三维谱图如图 1 所示。由图 1 可知,不同烟叶样品中挥发性成分峰值信号分布较为相似,但离子强度有一定区别。将漂移时间和反应离子峰(RIP)归一化后得到 HS-GC-IMS 二维谱图(见图 2),其中,颜色代表该挥发性成分的信号强度,其中蓝色代表挥发性成分的信号强度较低(颜色越深,强度越低),红色则代表挥发性成分的信号强度较高

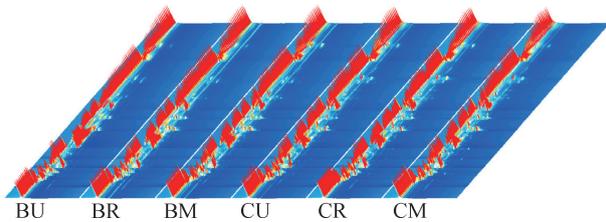


图 1 不同部位及成熟度烟叶样品挥发性成分的 HS-GC-IMS 三维谱图

Fig. 1 HS-GC-IMS 3D spectrum of volatile composition of tobacco leaves with different parts and maturity

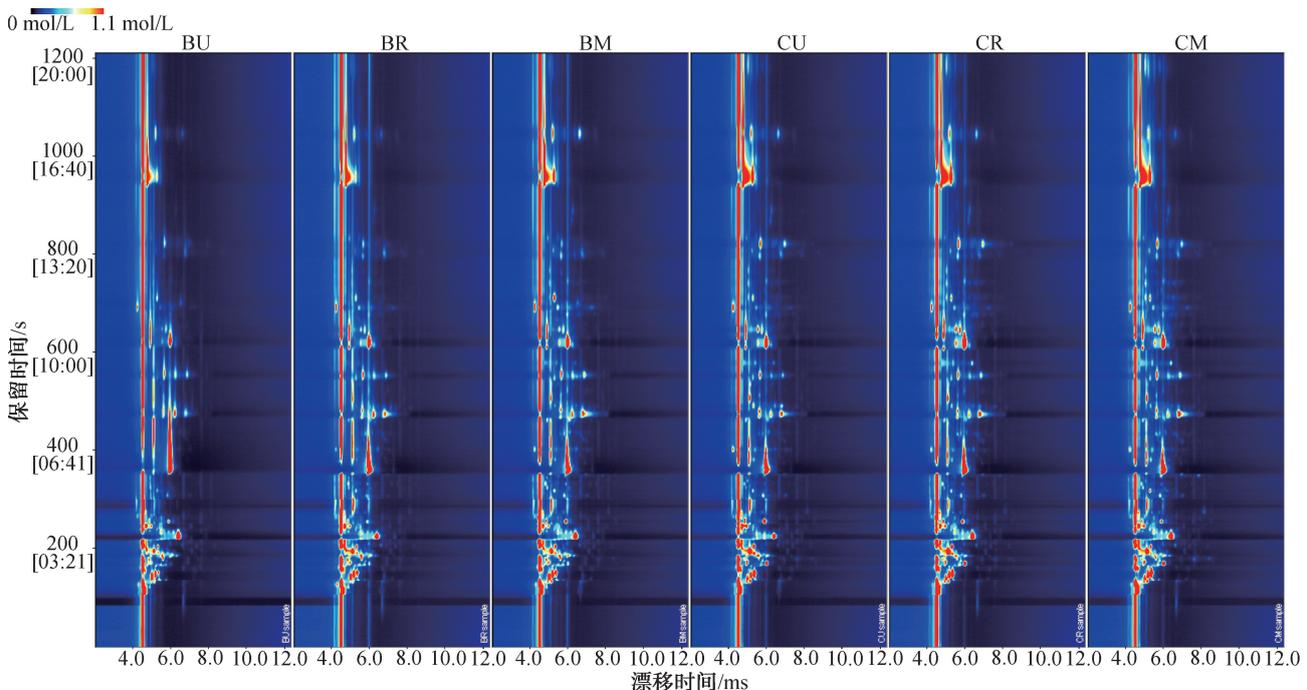


图 2 不同部位及成熟度烟叶样品挥发性成分的 HS-GC-IMS 二维谱图

Fig. 2 HS-GC-IMS 2D spectrum of volatile composition of tobacco leaves with different parts and maturity

(颜色越深,强度越高),每个点代表一种挥发性成分。由图 2 可知,二维谱图可较为直观地呈现不同部位及成熟度烟叶间的挥发性成分差异,烟叶样品中挥发性成分在前 1200 s 内完成 GC 分离,在 12 ms 内完成 IMS 分离,各样品的挥发性成分离子信号位置、数量较为相似,颜色存在区别,说明不同样品所含挥发性成分的种类基本一致,但含量存在差异。以 BU 样品谱图为参照,其余样品谱图扣除参照后绘制差异对比图(见图 3),其中,红色表示该挥发性成分的浓度高于 BU 样品对应成分的浓度,蓝色则相反,白色表示挥发性成分含量一致。由图 3 可知,六组样品中不同成熟度烟叶样品中(BR 和 BM, CU、CR 和 CM)挥发性成分种类及含量较为接近,但不同部位烟叶样品中挥发性成分种类及含量存在一定的差异。

2.2 烟叶挥发性成分含量对比分析

通过 HS-GC-IMS 共检测到 84 种挥发性成分,以挥发性成分的漂移时间、保留时间与 HS-GC-IMS 联用仪内置的 NIST 和 IMS 数据库进行比较定性,定性出 69 种挥发性成分,其中包含二聚体和三聚体^[26]。不同部位及成熟度烟叶挥发性成分相对含量见表 1。由表 1 可知,69 种挥发性成分包括醇类

(8种)、醛类(14种)、酮类(11种)、酯类(10种)、酸类(2种)、醚类(6种)、萜烯类(3种)和其他类(15种),上部烟叶中正丁醇(单体)、二甲基二硫醚、二烯丙基硫醚、二乙基二硫醚(二聚体)等相对含量较高;中部烟叶中乙酸乙酯、香叶醇、2,6-二甲基吡嗪、2,3,5-三甲基吡嗪(单体)、2-环己烯-1-酮、2-甲氧基-3-异丁基吡嗪、(*E*)-2-庚烯醛(单体)等相对含量较高。对挥发性成分的相对含量进行方差分析和事后检验,结果表明不同部位及成熟度烟叶挥发性成分大多存在显著差异。

不同部位及成熟度烟叶样品中挥发性成分占比如图4所示。由图4可知,6种烟叶样品中醛类、酮类、酯类、醚类、醇类和其他成分在烟叶样品中

含量较高,是烟叶样品中的主要挥发性成分,另外,还检测到少量的酸类和萜烯类化合物。上部烟叶中酮类、醚类、酸类和其他类成分含量较高,而中部烟叶中萜烯类、醛类、酯类和醇类成分含量较高。随着成熟度提高,上部烟叶中的醚类、酮类和其他类成分呈降低趋势,萜烯和醇类成分逐渐增加,酯类和醛类成分则先升高并保持不变;酸类成分则变化较小;而中部烟叶中萜烯和酸类成分含量逐渐减小,醛类和其他类成分先增加后基本不变,醇类、酮类、醚类和酯类成分含量变化较小。

对不同烟叶样品的指纹图谱进行相似度计算,计算结果以指纹图谱相似度相关性热图形式显示(见图5)。由图5可知,各重复平行实验组内重现

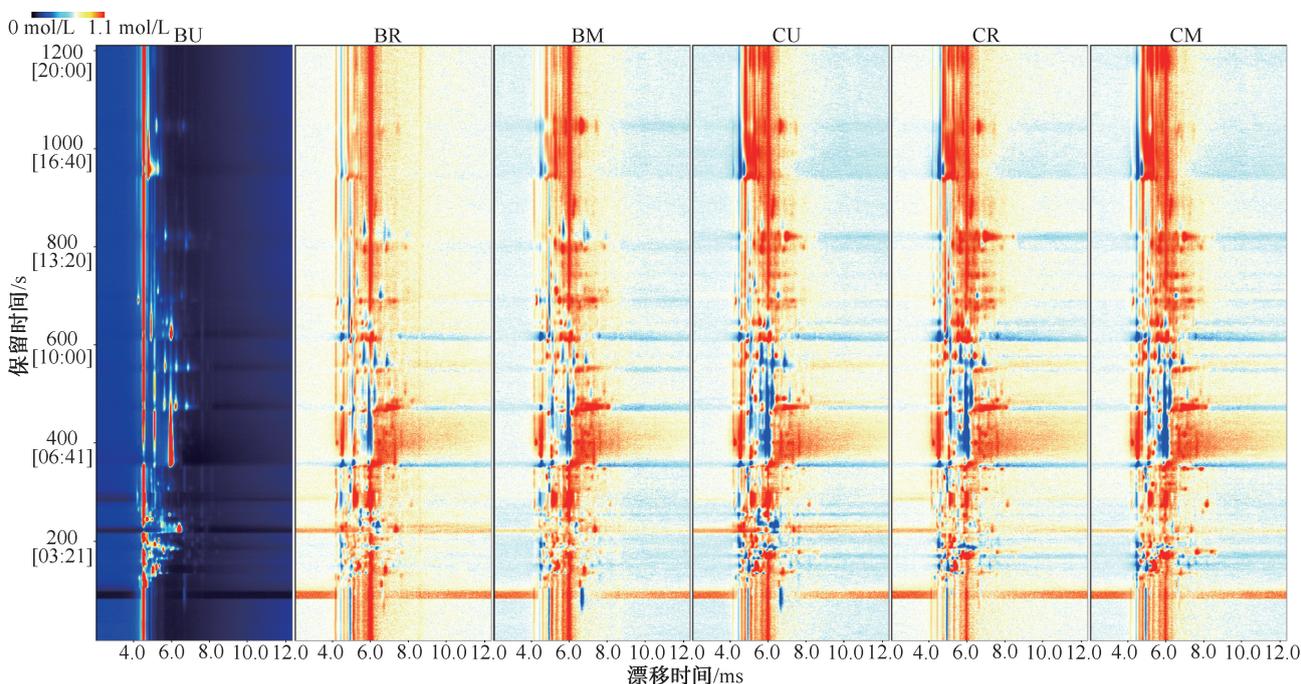


图3 以BU样品为参比的气相离子迁移谱差异图

Fig. 3 Gas-phase ion mobility spectra with sample BU as reference

表1 不同部位及成熟度烟叶挥发性成分相对含量

Table 1 Identified volatile constituents of tobacco leaves with different parts and maturity

类别	名称	BU	BR	BM	CU	CR	CM	%
醇类 (8种)	糠(基)硫醇 M	0.00±0.00 ^e	0.17±0.02 ^a	0.09±0.01 ^b	0.06±0.01 ^c	0.04±0.00 ^d	0.07±0.03 ^{bc}	
	乙醇	0.95±0.11 ^d	1.17±0.15 ^e	1.52±0.10 ^{ab}	1.65±0.05 ^a	1.49±0.10 ^e	1.40±0.09 ^b	
	异丁醇	0.43±0.04 ^d	0.58±0.03 ^e	0.67±0.05 ^b	0.60±0.05 ^c	0.57±0.03 ^c	1.17±0.05 ^a	
	1-戊烯-3-醇	0.04±0.01 ^e	0.41±0.11 ^d	0.74±0.05 ^c	0.98±0.07 ^a	0.78±0.09 ^{bc}	0.84±0.03 ^b	
	正丁醇 M	1.99±0.11 ^a	1.58±0.06 ^b	1.25±0.05 ^c	0.99±0.03 ^d	0.93±0.03 ^e	1.00±0.02 ^d	
	正丁醇 D	0.20±0.04 ^d	0.17±0.03 ^d	0.29±0.05 ^{cd}	0.96±0.02 ^a	0.62±0.06 ^b	0.38±0.08 ^c	
	香叶醇	0.38±0.01 ^f	0.63±0.05 ^e	0.72±0.05 ^d	0.79±0.01 ^e	1.14±0.02 ^a	0.92±0.02 ^b	
	糠(基)硫醇 D	1.59±0.22 ^c	1.11±0.06 ^b	1.15±0.04 ^c	0.83±0.06 ^{ab}	0.70±0.03 ^a	0.82±0.01 ^b	
	小计	5.58±0.21 ^{cd}	5.82±0.19 ^e	6.43±0.27 ^{ab}	6.86±0.24 ^a	6.27±0.18 ^b	6.60±0.19 ^{ab}	

表1(续)

类别	名称	BU	BR	BM	CU	CR	CM
醛类 (14种)	丙醛 M	1.62±0.27 ^{ab}	0.88±0.14 ^c	1.37±0.07 ^b	1.51±0.20 ^{ab}	1.75±0.32 ^a	1.69±0.16 ^a
	丙醛 D	4.20±0.63 ^{ab}	4.40±0.21 ^a	4.07±0.05 ^{abc}	3.59±0.15 ^d	3.77±0.04 ^{cd}	3.84±0.08 ^{bcd}
	正丁醛	0.23±0.06 ^d	0.34±0.05 ^c	0.38±0.06 ^f	0.57±0.08 ^b	0.73±0.09 ^c	0.79±0.06 ^a
	3-甲硫基丙醛	0.93±0.13 ^a	0.28±0.04 ^b	0.40±0.08 ^b	0.22±0.05 ^c	0.21±0.03 ^b	0.40±0.05 ^d
	正戊醛	0.16±0.06 ^d	0.40±0.08 ^c	0.44±0.08 ^{bc}	0.68±0.09 ^a	0.50±0.04 ^b	0.24±0.04 ^d
	水杨醛	0.59±0.06 ^c	1.58±0.14 ^a	1.66±0.06 ^a	1.51±0.11 ^a	1.27±0.06 ^b	1.28±0.04 ^b
	2-甲基-2-戊烯醛	1.02±0.09 ^c	1.47±0.04 ^a	0.33±0.05 ^b	1.43±0.02 ^a	1.33±0.05 ^b	1.43±0.04 ^a
	2-己烯醛 M	0.83±0.12 ^d	0.84±0.06 ^b	0.98±0.05 ^a	0.59±0.01 ^{bc}	0.92±0.04 ^c	1.01±0.09 ^{bc}
	2-己烯醛 D	0.20±0.03 ^a	0.46±0.01 ^b	0.51±0.03 ^d	0.43±0.01 ^c	0.40±0.03 ^c	0.44±0.06 ^{cd}
	桔萆醛	4.28±0.11 ^c	5.23±0.19 ^a	4.99±0.03 ^b	4.99±0.11 ^b	4.86±0.15 ^b	4.88±0.10 ^b
	(E)-2-庚烯醛 M	0.92±0.10 ^c	0.75±0.03 ^d	0.54±0.02 ^e	1.50±0.07 ^a	1.42±0.05 ^b	1.39±0.02 ^b
	(E)-2-庚烯醛 D	0.18±0.02 ^d	0.40±0.03 ^c	0.64±0.04 ^a	0.61±0.09 ^a	0.64±0.07 ^a	0.51±0.03 ^b
	壬醛	0.19±0.04 ^c	0.25±0.07 ^c	0.99±0.16 ^a	0.51±0.14 ^b	0.44±0.07 ^b	0.19±0.04 ^c
	糠醛	0.61±0.04 ^c	0.65±0.10 ^c	0.60±0.06 ^c	1.17±0.09 ^b	1.30±0.03 ^a	1.08±0.08 ^b
小计	15.96±0.18 ^c	17.93±0.22 ^b	17.90±0.30 ^b	17.80±0.33 ^b	19.54±0.23 ^a	19.17±0.16 ^a	
酮类 (11种)	2-己酮	1.28±0.09 ^a	0.88±0.03 ^c	0.77±0.01 ^d	0.72±0.02 ^c	0.52±0.04 ^f	1.07±0.05 ^b
	丙酮	7.65±0.30 ^a	6.32±0.41 ^b	5.64±0.20 ^c	3.73±0.34 ^c	4.71±0.23 ^d	4.86±0.18 ^d
	过氧化乙酰丙酮	0.84±0.08 ^d	0.96±0.13 ^c	0.92±0.06 ^{cd}	1.27±0.04 ^a	1.09±0.10 ^b	1.28±0.04 ^a
	4,5-二氢-3(2H)- 噻吩酮	2.39±0.09 ^b	2.75±0.52 ^a	2.51±0.12 ^b	2.83±0.13 ^a	2.89±0.07 ^a	1.90±0.14 ^c
	2,3-丁二酮	0.52±0.13 ^{bc}	0.44±0.08 ^c	0.84±0.04 ^a	0.56±0.04 ^b	0.46±0.04 ^{bc}	0.49±0.04 ^{bc}
	3-辛酮	0.44±0.02 ^b	0.43±0.06 ^b	0.38±0.04 ^c	0.56±0.01 ^a	0.34±0.05 ^c	0.37±0.01 ^c
	1-戊烯-3-酮	0.89±0.06 ^a	0.82±0.16 ^{ab}	0.90±0.06 ^a	0.85±0.05 ^{ab}	0.73±0.05 ^{bc}	0.63±0.06 ^c
	环戊酮	0.09±0.04 ^d	0.34±0.07 ^c	0.75±0.05 ^a	0.61±0.04 ^b	0.58±0.01 ^b	0.37±0.11 ^c
	5-甲基-3-庚酮	0.64±0.06 ^d	0.68±0.07 ^d	0.69±0.04 ^d	0.79±0.04 ^c	1.14±0.03 ^a	0.95±0.03 ^b
	2-环己烯-1-酮	0.05±0.01 ^e	0.08±0.01 ^d	0.12±0.01 ^c	0.38±0.03 ^b	0.45±0.02 ^a	0.46±0.02 ^a
	3-羟基-2-丁酮	0.22±0.03 ^c	0.45±0.01 ^b	0.52±0.01 ^a	0.41±0.01 ^c	0.39±0.03 ^c	0.34±0.01 ^d
小计	15.01±0.31 ^a	14.15±0.19 ^b	14.04±0.28 ^b	12.71±0.12 ^d	13.30±0.29 ^c	12.72±0.31 ^d	
酯类 (10种)	甲酸异戊酯	0.49±0.11 ^a	0.24±0.06 ^b	0.21±0.07 ^b	0.16±0.03 ^c	0.08±0.01 ^d	0.47±0.07 ^a
	丙酸异丁酯	0.49±0.05 ^b	0.62±0.09 ^a	0.58±0.03 ^a	0.40±0.04 ^c	0.63±0.04 ^a	0.58±0.04 ^a
	乙酸乙酯	0.19±0.09 ^d	0.69±0.11 ^c	0.79±0.10 ^c	2.62±0.30 ^b	2.96±0.32 ^a	2.85±0.12 ^{ab}
	2-甲基丁酸甲酯	0.18±0.09 ^b	0.11±0.01 ^b	0.14±0.03 ^b	0.17±0.02 ^b	0.33±0.12 ^a	0.20±0.06 ^b
	(E)-2-己烯酸乙酯	0.00±0.00 ^e	0.33±0.09 ^b	0.40±0.02 ^a	0.27±0.04 ^c	0.17±0.01 ^d	0.17±0.01 ^d
	苯乙酸甲酯 M	1.28±0.16 ^{abc}	1.34±0.05 ^{ab}	1.18±0.05 ^c	1.37±0.06 ^a	1.23±0.06 ^{bc}	1.24±0.04 ^{bc}
	苯乙酸甲酯 D	1.17±0.16 ^a	1.15±0.04 ^{ab}	0.97±0.04 ^c	1.16±0.07 ^{ab}	1.04±0.07 ^{bc}	1.11±0.03 ^{ab}
	2-甲基丁酸丁酯	0.82±0.18 ^a	0.74±0.02 ^a	0.73±0.03 ^a	0.43±0.02 ^b	0.54±0.02 ^c	0.55±0.01 ^{bc}
	苯乙酸甲酯 T	1.69±0.01 ^a	1.63±0.02 ^b	1.48±0.04 ^c	1.38±0.03 ^d	1.38±0.04 ^d	1.40±0.03 ^d
	3-羟基丁酸乙酯	0.00±0.00 ^d	0.07±0.01 ^c	0.11±0.02 ^c	0.33±0.03 ^b	0.34±0.01 ^b	0.54±0.09 ^a
小计	6.31±0.15 ^e	6.92±0.19 ^d	6.59±0.15 ^{de}	8.29±0.11 ^c	8.70±0.16 ^b	9.11±0.18 ^a	
酸类 (2种)	吡啶-3-丙酸	0.69±0.04 ^b	0.86±0.10 ^a	0.61±0.13 ^{bc}	0.85±0.14 ^a	0.49±0.04 ^{cd}	0.37±0.15 ^d
	乙酸	0.95±0.10 ^b	0.92±0.10 ^b	1.35±0.11 ^a	0.88±0.05 ^{bc}	0.78±0.08 ^c	0.54±0.04 ^d
	小计	1.64±0.15 ^b	1.78±0.19 ^{ab}	1.96±0.23 ^a	1.73±0.17 ^{ab}	1.27±0.12 ^c	0.91±0.14 ^d
萜烯类 (3种)	β -月桂烯	1.19±0.09 ^a	0.97±0.11 ^b	0.62±0.06 ^d	0.85±0.07 ^c	0.66±0.03 ^d	0.63±0.04 ^d
	β -蒎烯	0.59±0.04 ^d	0.74±0.04 ^{bc}	0.70±0.05 ^c	0.86±0.03 ^a	0.78±0.02 ^b	0.71±0.03 ^c
	p-伞花烃	1.93±0.25 ^c	1.68±0.14 ^c	3.03±0.12 ^b	3.88±0.17 ^a	2.66±0.08 ^b	1.85±0.09 ^c
	小计	3.71±0.17 ^c	3.39±0.25 ^{cd}	4.35±0.18 ^b	5.59±0.25 ^a	4.10±0.17 ^b	3.19±0.22 ^d

表1(续)

类别	名称	BU	BR	BM	CU	CR	CM
醚类 (6种)	二甲基硫醚	0.42±0.05 ^{ab}	0.59±0.09 ^a	0.31±0.06 ^{bc}	0.18±0.03 ^c	0.16±0.04 ^c	0.28±0.05 ^{bc}
	二丁基硫醚	0.86±0.08 ^a	0.49±0.03 ^c	0.56±0.03 ^{bc}	0.72±0.03 ^{ab}	0.79±0.08 ^a	0.71±0.11 ^{ab}
	二甲基二硫醚	1.20±0.08 ^b	1.44±0.05 ^a	1.38±0.06 ^a	1.38±0.06 ^a	1.18±0.08 ^b	1.18±0.07 ^b
	二烯丙基硫醚	2.30±0.06 ^a	1.99±0.08 ^b	1.73±0.06 ^c	1.69±0.06 ^c	1.57±0.05 ^d	1.55±0.03 ^d
	乙基二硫醚 M	1.36±0.16 ^{de}	1.49±0.10 ^{cd}	1.32±0.08 ^e	1.58±0.15 ^{bc}	1.74±0.13 ^{ab}	1.82±0.09 ^a
	乙基二硫醚 D	0.74±0.07 ^a	0.67±0.04 ^b	0.48±0.02 ^c	0.37±0.02 ^d	0.35±0.01 ^d	0.33±0.00 ^d
	小计	6.88±0.22 ^a	6.67±0.19 ^a	5.78±0.17 ^b	5.92±0.19 ^b	5.79±0.17 ^b	5.87±0.11 ^b
其他类 (15种)	四氢呋喃	1.16±0.08 ^a	0.97±0.14 ^b	0.69±0.06 ^c	0.14±0.03 ^f	0.32±0.04 ^d	0.29±0.04 ^e
	苯胺	7.55±0.20 ^a	5.33±0.22 ^b	5.05±0.03 ^c	4.12±0.15 ^d	5.04±0.09 ^c	5.00±0.12 ^c
	2,3,5-三甲基吡嗪 M	1.23±0.12 ^a	1.06±0.16 ^a	1.85±0.12 ^b	1.95±0.10 ^c	2.10±0.10 ^d	1.84±0.07 ^e
	四氢噻吩	8.44±0.10 ^a	7.70±0.23 ^b	6.87±0.19 ^c	6.62±0.18 ^d	6.23±0.18 ^e	6.31±0.13 ^e
	2-庚基呋喃	0.11±0.05 ^c	0.03±0.00 ^d	0.12±0.03 ^c	0.24±0.07 ^b	0.67±0.07 ^a	0.71±0.10 ^a
	2-甲基吡嗪 M	1.55±0.16 ^c	1.82±0.55 ^a	1.64±0.05 ^{bc}	1.68±0.07 ^b	1.54±0.06 ^c	1.53±0.04 ^c
	2-甲基吡嗪 D	2.27±0.11 ^a	2.11±0.10 ^b	1.77±0.06 ^c	1.77±0.07 ^c	1.57±0.07 ^d	1.60±0.04 ^d
	5,6,7,8-四氢喹啉	0.11±0.05 ^e	0.42±0.03 ^b	0.70±0.08 ^a	0.28±0.04 ^d	0.35±0.03 ^c	0.38±0.02 ^f
	吡啶	1.17±0.12 ^b	0.92±0.20 ^c	1.81±0.19 ^a	0.91±0.03 ^c	1.26±0.11 ^b	1.11±0.10 ^b
	2-乙基吡嗪	0.23±0.03 ^d	0.39±0.04 ^b	0.22±0.02 ^d	0.34±0.02 ^c	0.32±0.01 ^c	0.50±0.02 ^a
	2,3-二甲基吡嗪	0.25±0.04 ^e	0.39±0.02 ^b	0.32±0.02 ^d	0.35±0.02 ^{cd}	0.37±0.02 ^{bc}	0.46±0.02 ^a
	2,5-二甲基吡嗪	0.45±0.09 ^a	0.42±0.06 ^{ab}	0.28±0.04 ^{cd}	0.34±0.07 ^{bc}	0.21±0.04 ^d	0.25±0.08 ^{cd}
	2,6-二甲基吡嗪	0.12±0.02 ^d	0.09±0.01 ^d	0.05±0.01 ^e	0.70±0.06 ^b	0.83±0.03 ^a	0.66±0.02 ^c
	2,3,5-三甲基吡嗪 D	0.15±0.04 ^c	0.19±0.04 ^c	0.17±0.01 ^c	0.26±0.04 ^b	0.20±0.02 ^c	0.36±0.04 ^a
	2-甲氧基-3-异丁基吡嗪	0.09±0.02 ^c	0.11±0.01 ^c	0.09±0.02 ^c	0.56±0.17 ^b	0.89±0.17 ^a	0.66±0.04 ^b
小计	24.88±0.91 ^a	21.95±0.72 ^b	21.63±0.59 ^b	20.26±0.46 ^c	21.90±0.37 ^b	21.66±0.26 ^b	

注:M、D、T分别代表单体、二聚体、三聚体;同一成分含量后不同小写字母表示差异达到 $P<0.05$ 显著水平。

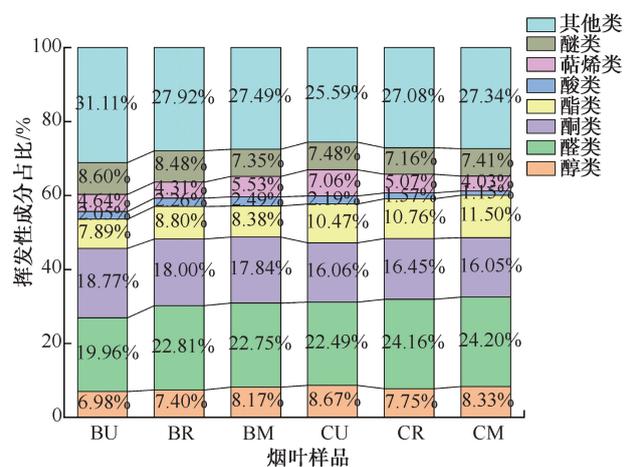


图4 不同部位及成熟度烟叶样品中挥发性成分占比

Fig. 4 Relative contents of volatile components in different parts and maturity of tobacco leaves

性较好,不同烟叶样品组间存在差异,其中不同部位烟叶样品间指纹图谱的相似度较低,表明其挥发性成分存在较大差异;上部烟叶不同成熟度的挥发性成分有较明显差异,而中部烟叶不同成熟度挥发

性成分有一定的差异。

2.3 不同部位及成熟度烟叶挥发性成分差异分析

不同部位及成熟度烟叶样品 PCA 和 HCA 分析结果如图 6 所示。由图 6a)可知,PC1 和 PC2 的方差贡献率分别为 69%和 15%,累积贡献率达 84%,表明经 PCA 降维变换后仍可表征原有数据的大部分信息^[27],不同组间样品有效聚拢且存在明显区域归属;由图 6b)可知,HCA 与 PCA 分析结果较一致,进一步说明不同部位及成熟度烟叶的挥发性成分存在显著差异,同时也表明 HS-GC-IMS 技术在烟叶挥发性成分测定分析方面具有较好的应用效果。

采用 OPLS-DA 对挥发性成分进行模型拟合,不同部位及成熟度烟叶样品挥发性成分 OPLS-DA 分析、模型置换检验结果及 VIP(变量投影重要性因子)值如图 7 所示。由图 7a)可知,OPLS-DA 模型可实现对不同烟叶样品的有效区分,其中 R_x^2 为

0.945, R_y^2 为 0.945, Q^2 为 0.92, 因 R^2 和 Q^2 值均较佳, 表明模型拟合良好, 预测结果稳定可接受, 有较好的解释度^[28]。200 次交叉置换检验结果显示, 预测指数 Q^2 与 Y 轴相交于负半轴, 证明该模型能进行准确预测, 且不存在过拟合^[29], 因此该模型可用于鉴别和分析不同部位及成熟度烟叶的差异。

VIP 为 OPLS-DA 模型的关键变量, 通常认为 $VIP > 1$ 的成分可作为区分不同样本中的差异性成

分, 因此, 以 $VIP > 1$ 且相对含量存在显著差异为筛选标准^[30], 共筛选出 26 种差异挥发性成分: 2-己酮、甲酸异戊酯、苯胺、四氢呋喃、丙酮、正丁醇 M、四氢噻吩、(E)-2-庚烯醛 M、糠醛、2,6-二甲基吡嗪、2-甲氧基-3-异丁基吡嗪、乙酸乙酯、香叶醇、2-庚基呋喃、丙醛 M、异丁醇、吡啶、乙酸壬醛、2,3,5-三甲基吡嗪 M、1-戊烯-3-醇、正丁醇 D、p-伞花烃、4,5-二氢-3(2H)-噻吩酮、枯茗醛和水杨醛。

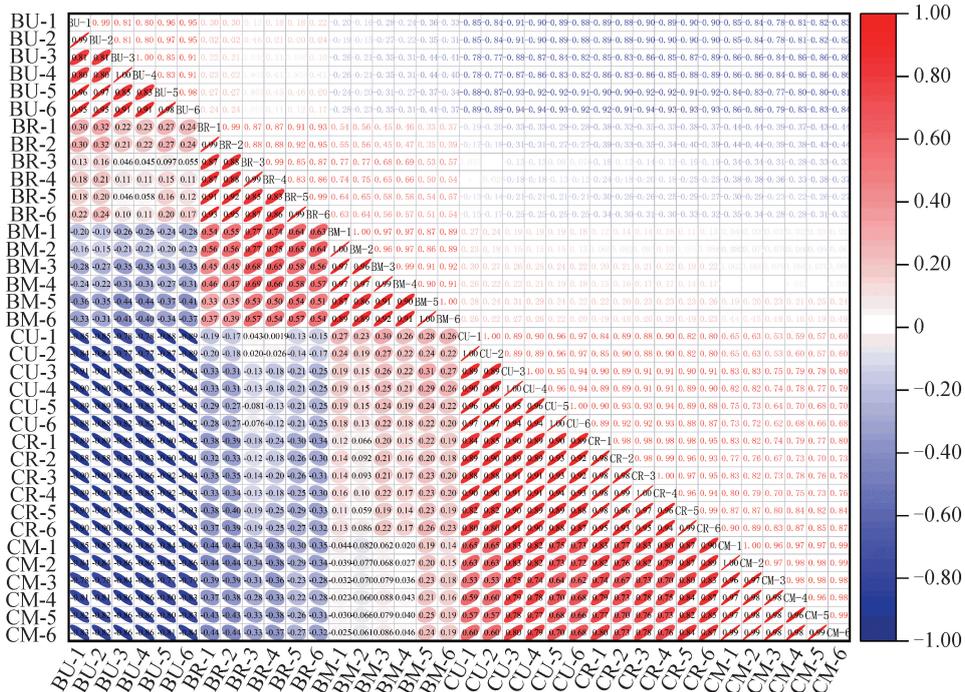


图 5 HS-GC-IMS 指纹图谱相似度相关性热图

Fig. 5 Clustering heat map of similarity correlation of HS-GC-IMS fingerprint

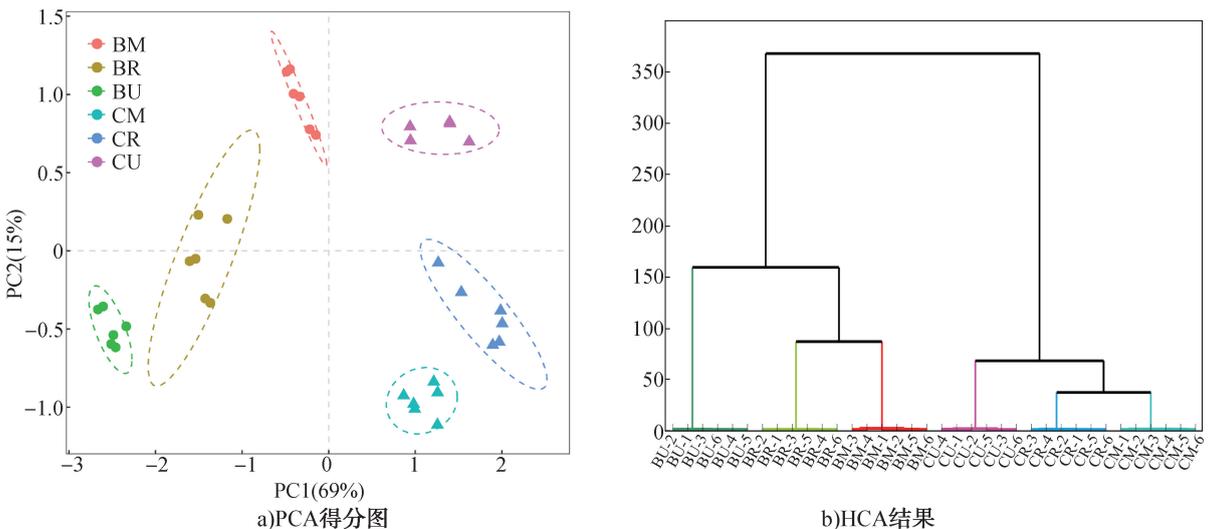


图 6 不同部位及成熟度烟叶样品 PCA 和 HCA 分析结果

Fig. 6 PCA results and hierarchical clustering results of tobacco leaves with different parts and maturity

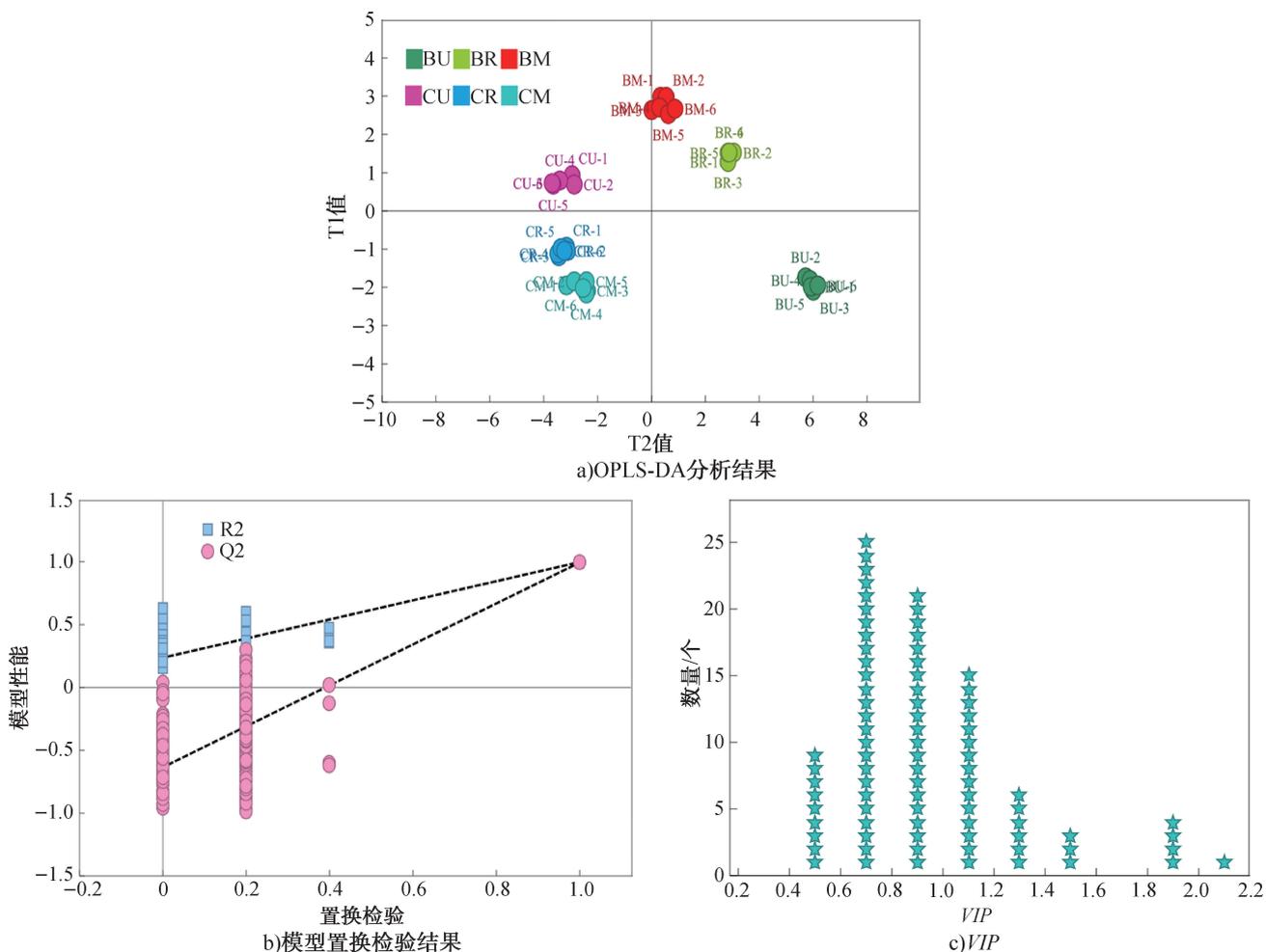


图7 不同部位及成熟度烟叶样品挥发性成分 OPLS-DA 分析、模型置换检验结果及 VIP 值

Fig. 7 OPLS-DA, model permutation test results and VIP for volatile constituents in tobacco leaves with different parts and maturity

以上述 26 种成分绘制不同部位及成熟度烟叶样品差异挥发性成分聚类热图,结果如图 8 所示。由图 8 可知,这 26 种成分在不同部位和成熟度的烟叶内含量存在显著差异。上部烟叶的 2-己酮、甲酸异戊酯、苯胺、四氢呋喃、丙酮、正丁醇 M、四氢噻吩等成分含量显著高于中部烟叶,而(*E*)-2-庚烯醛 M、糠醛、2,6-二甲基吡嗪、2-甲氧基-3-异丁基吡嗪、乙酸乙酯、香叶醇、2-庚基呋喃、丙醛 M、异丁醇等成分在中部烟叶中含量显著高于上部烟叶。

随着烟叶成熟度增加,在上部烟叶中,香叶醇、异丁醇、壬醛、1-戊烯-3-醇、水杨醛等成分含量逐渐增大,而 2-己酮、甲酸异戊酯、苯胺、四氢呋喃、丙酮、正丁醇 M、四氢噻吩、(*E*)-2-庚烯醛 M 等成分含量逐渐减少;中部烟叶中丙酮、2-庚基呋喃、

丙醛 M 等成分含量逐渐增加,而(*E*)-2-庚烯醛 M、乙酸、壬醛、1-戊烯-3-醇、正丁醇 D、*p*-伞花烃、4,5-二氢-3(2H)-噻吩酮等成分含量逐渐减少。

综上所述,2-己酮、甲酸异戊酯、糠醛、2,6-二甲基吡嗪、2-甲氧基-3-异丁基吡嗪、乙酸乙酯、香叶醇等成分在不同部位烟叶中差异较大,可用于区分烟叶部位;而四氢噻吩、2-己酮、甲酸异戊酯、壬醛、乙酸、呋喃、水杨醛、异丁醇等成分在不同成熟度烟叶中差异较大,可用于区分烟叶成熟度。

3 结论

本研究采用 HS-GC-IMS 技术对湖南永州不同部位及成熟度烟叶的挥发性成分进行了检测,通过 HS-GC-IMS 三维、二维和差异图对比不同烟叶样品

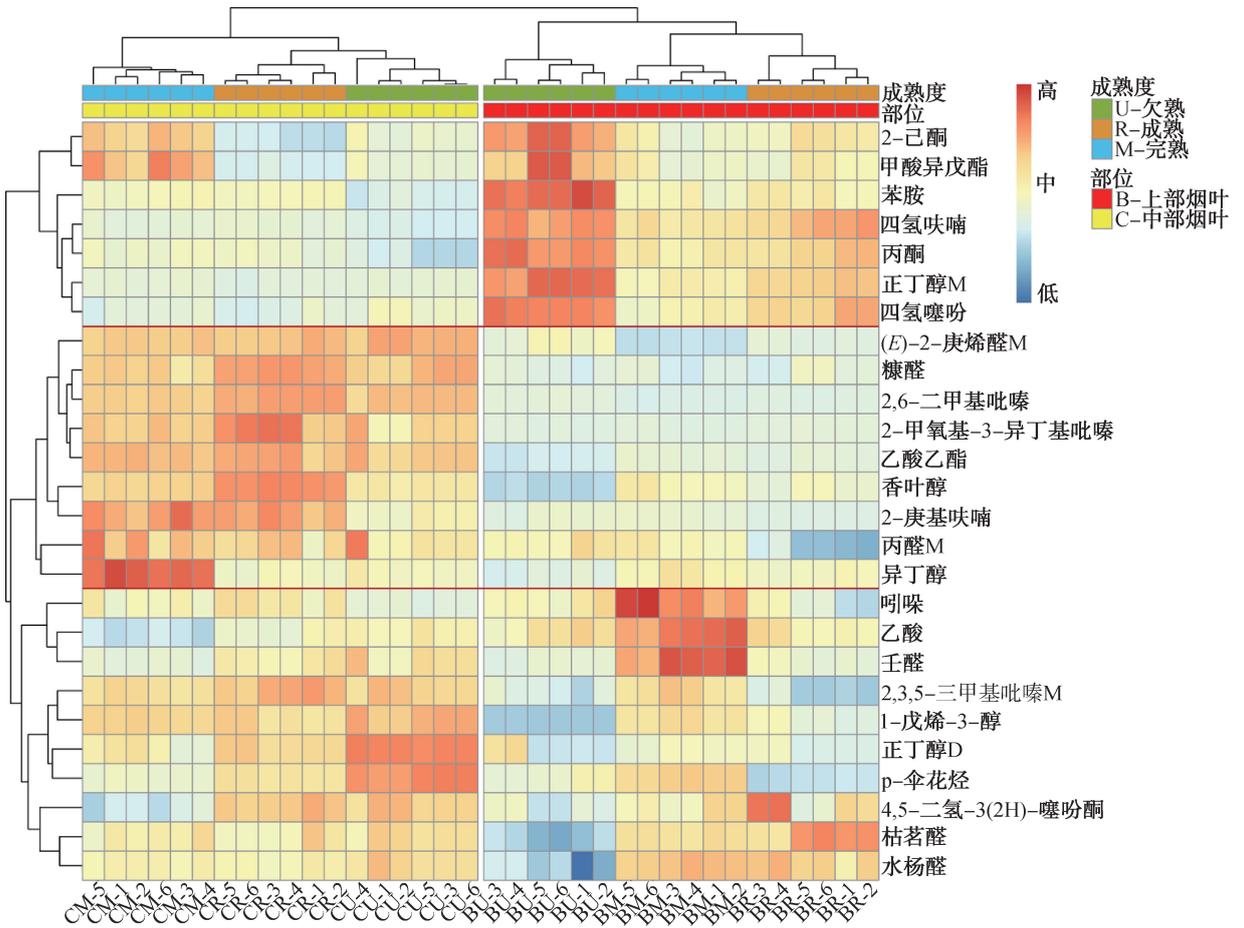


图8 不同部位及成熟度烟叶样品差异挥发性成分聚类热图

Fig. 8 Clustering heat map of differential volatile components in tobacco leaves with different parts and maturity

间挥发性成分存在的差异,并使用指纹图谱及其相似度相关性热图进行进一步分析。结果表明,烟叶样品中共鉴定出 69 种挥发性成分,醛类、酮类和其他类是主要挥发性成分,且在不同烟叶中含量分布存在明显区别;不同烟叶中样品的挥发性单体成分有较明显差异,且存在明显的区域归属;以 $VIP > 1$ 且含量存在显著差异为标准,筛选出甲酸异戊酯、壬醛、吡啶、糠醛、乙酸乙酯、香叶醇等 26 种差异挥发性成分,其中,2-己酮、甲酸异戊酯、糠醛、2,6-二甲基吡嗪、2-甲氧基-3-异丁基吡嗪、乙酸乙酯、香叶醇等成分可以有效区分不同部位烟叶,四氢噻吩、2-己酮、甲酸异戊酯、壬醛、乙酸、吡啶、水杨醛、异丁醇等成分可以有效区分不同成熟度烟叶。

本研究结果可为烟叶质量控制及品质评价提供参考,差异成分的明确有望补充用于区分不同部位及成熟度烟叶的技术手段和方法。但受限于烟叶样品的取样时限性,本文所用样本数目较少,

后续研究可增大样本数量并结合支持向量机、线性判别降维等手段建立基于机器学习的不同部位及成熟度烟叶分类判别模型,并优化模型的准确率和可信度,以更好地服务于烟叶原料筛选和加工领域。

参考文献:

[1] 帖金鑫,张青松,李永生,等.加拿大烟叶与云南 KRK26 烟叶香气成分差异分析[J].轻工学报,2023,38(5):74-82.

[2] 李思军,郑宏斌,毕一鸣,等.一次性采收中部 6 片烟叶的田间成熟特征及烤后质量研究[J].河南农业科学,2023,52(10):30-39.

[3] CHEN Y J, REN K, SU J E, et al. Rotation and organic fertilizers stabilize soil water-stable aggregates and their associated carbon and nitrogen in flue-cured tobacco production [J]. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 2020, 20(1): 192-205.

[4] 冀真,刘国庆.成熟度对烟叶主要理化性状及感官质

- 量的影响[J]. 郑州轻工业学院学报(自然科学版), 2009,24(4): 30-32.
- [5] 胡永涛,汪代斌,陈益银,等. 不同成熟度鲜烟素质对烤后烟叶品质贡献度的研究[J]. 中国农业科技导报, 2023,25(8): 157-164.
- [6] 孟智勇,周雨,杨坤,等. 推迟采收对永州烤烟上部6片叶 SPAD 值及焦甜醇甜型风格的影响[J]. 河南农业科学,2022,51(10):142-150.
- [7] 杨天旭,李旭华,文俊,等. 烟叶不同部位成熟度与质量的关系[J]. 广东农业科学,2012,39(12): 30-32.
- [8] 陈乾锦,池国胜,吴华建,等. 采收成熟度对 K326 不同部位烟叶品质的影响[J]. 贵州农业科学,2020,48(9):43-46.
- [9] 兰金隆,蓝周焕,赖荣泉,等. 烤烟品种‘K326’不同部位适宜成熟度采收研究[J]. 中国农学通报,2012,28(19): 240-244.
- [10] 孙胜南,卢真保,赵星宇,等. 超临界 CO₂ 萃取两种典型品种烟草净油及其致香成分与感官品质对比研究[J]. 轻工学报,2023,38(4): 84-89.
- [11] 王文俊,沙云菲,汪阳忠,等. 近红外和电子鼻数据融合识别不同香型风格[J]. 光谱学与光谱分析,2023,43(1): 133-137.
- [12] 焦禹顺,向小华,吴新儒,等. 电子鼻检测和定量表达分析相结合对烟草香气突变体进行鉴定[J]. 中国烟草学报,2016,22(2): 115-123.
- [13] 郝捷,江彩艳,柴颖,等. 基于 GC-IMS 的不同产地烟草中挥发性风味物质分析[J]. 轻工学报,2023,38(2): 87-93,117.
- [14] LI X R, DONG Y F, JIANG P F, et al. Identification of changes in volatile compounds in sea cucumber *Apostichopus japonicus* during seasonings soaking using HS-GC-IMS [J]. LWT-Food Science and Technology, 2022,154: 112695.
- [15] 疏天民,袁曦,成云飞,等. 离子迁移谱技术及其化学校准物概述[J]. 化学试剂,2011,33(2): 129-132.
- [16] GE S, CHEN Y Y, DING S H, et al. Changes in volatile flavor compounds of peppers during hot air drying process based on headspace-gas chromatography-ion mobility spectrometry (HS-GC-IMS) [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2020,100(7): 3087-3098.
- [17] WU X L, YIN J X, DING H, et al. The discrimination and characterization of volatile organic compounds in different areas of *Zanthoxylum bungeanum* pericarps and leaves by HS-GC-IMS and HS-SPME-GC-MS [J]. Foods, 2022, 11(22): 3745.
- [18] DUAN H, ZHOU Y X, WANG D D, et al. Differences in volatile organic compounds in *Rhizoma gastrodiae* (Tian Ma) of different origins determined by HS-GC-IMS [J]. Molecules, 2023,28(13): 4883.
- [19] XIAO Y, HUANG Y X, CHEN Y L, et al. Characteristic fingerprints and change of volatile organic compounds of dark teas during solid-state fermentation with *Eurotium cristatum* by using HS-GC-IMS, HS-SPME-GC-MS, E-nose and sensory evaluation [J]. LWT-Food Science and Technology, 2022,169: 113925.
- [20] MA L K, LUO Y Y, CHEN B L, et al. Determination of characteristic volatile component fingerprint of *Peucedanum praeruptorum* dunn at different harvest periods based on HS-GC-IMS [J]. Journal of AOAC International, 2023,106(2): 445-456.
- [21] 田楠,张春涛,吴若昕,等. 基于顶空气相色谱-离子迁移谱的不同品牌卷烟挥发性有机物指纹图谱研究[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2021,36(3):465-471,531.
- [22] 刘显军,张亮,王颖,等. 基于顶空气相-离子迁移谱技术的卷烟盒包烟香研究及应用[J]. 广州化工,2023,51(9): 73-76,156.
- [23] CAO W Y, SHU N, WEN J L, et al. Characterization of the key aroma volatile compounds in nine different grape varieties wine by headspace gas chromatography-ion mobility spectrometry (HS-GC-IMS), odor activity values (OAV) and sensory analysis [J]. Foods, 2022, 11(18): 2767.
- [24] JIANG H, DUAN W S, ZHAO Y C, et al. Development of a flavor fingerprint using HS-GC-IMS for volatile compounds from steamed potatoes of different varieties [J]. Foods, 2023,12(11): 2252.
- [25] 董雅静,刘英涛,于宁,等. 基于顶空气相色谱-离子迁移谱法分析脱脂处理对牛乳挥发性风味物质的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2022,13(19): 6155-6162.
- [26] RAZA A, SONG H L, BEGUM N, et al. Direct classification of volatile organic compounds in heat-treated glutathione-enriched yeast extract by headspace-gas chromatography-ion mobility spectrometry (HS-GC-IMS) [J]. Food Analytical Methods, 2020,13(12): 2279-2289.
- [27] 陈晨,郭春生,何山,等. 不同风格类型卷烟中性香味成分差异化研究[J]. 化学试剂,2020,42(5): 552-556.
- [28] 孙礼堂,刘明川,曹健,等. 基于多指标定量指纹图谱和化学计量学的淫羊藿质量标准提高研究[J]. 化学试剂,2023,45(11): 117-125.
- [29] 吴思雨,谢萱,刘雨雯,等. 基于电子鼻、HS-SPME-GC-MS 和 HS-GC-IMS 评价不同制油工艺对大豆油品质及风味的影响[J]. 食品科学,2024,45(4):183-196.

[30] 李爱兰, 乔文君, 汪兴财, 等. 吹扫捕集-气质联用结合
化学计量学用于不同产地和品牌浓香型白酒鉴别

[J]. 化学试剂, 2021, 43(5): 576-583.

Differential analysis of volatile components in tobacco leaves of varying parts and maturity based on HS-GC-IMS

ZHANG Liang¹, LIU Xianjun¹, SUN Haifeng¹, CHEN Zhuangzhuang¹, HE Peng¹,
YANG Pengfei², WU Wei², SHANG Zibo²

1. Technology R&D Center, Shenzhen Tobacco Industrial Co., Ltd., Shenzhen 518000, China;

2. College of Tobacco Science and Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China

Abstract: To investigate the differences in volatile components of tobacco leaves from Yongzhou, Hunan, headspace-gas chromatography-ion mobility spectrometry (HS-GC-IMS) was employed to analyze volatile components in tobacco leaves with various parts and maturity levels. Differences of relative content were evaluated using principal component analysis, hierarchical cluster analysis, and orthogonal partial least squares regression analysis. The results showed a total of 69 volatile components were identified from tobacco leaves of different parts and maturity levels. Additionally, noticeable variations were observed in the volatile components among different tobacco leaves, with clear regional affiliations. The total 2b distinct volatile components were identified. Among these, the relative concentrations of 2-hexanone, isoamyl formate, furfural, 2, 6-dimethylpyrazine, 2-methoxy-3-isobutylpyrazine, ethyl acetate, and geraniol exhibited significant variation in tobacco leaves depending on their stark positions within the plant. Concurrently, the relative concentrations of tetrahydrothiophene, 2-hexanone, isoamyl formate, nonanal, acetic acid, indole, salicylaldehyde, and isobutanol showed significant variation in tobacco leaves at different stages of maturity. These findings could be used to distinguish tobacco leaves from different parts and maturity stages.

Key words: headspace-gas chromatography-ion mobility spectrometry; tobacco leaf parts; tobacco leaf maturity; volatile component

[责任编辑: 杨晓娟 贾学伟]