



周梦慧,邢蕾,尹爽,等.不同品种雪茄烟叶晾制过程中颜色差异的代谢组分析[J].江西农业大学学报,2026,48(1):56-67.
ZHOU M H,XING L,YIN S,et al.Metabolomic analysis of color variation during air-curing in different cigar tobacco varieties[J].Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis,2026,48(1):56-67.

不同品种雪茄烟叶晾制过程中颜色差异的代谢组分析

周梦慧¹,邢蕾²,尹爽³,耿宗泽²,毕浩洋³,晏睿¹,宋朝鹏¹,李爱军^{2*}

(1.河南农业大学烟草学院,河南 郑州 450046;2.四川中烟工业有限责任公司,四川 成都 610100;3.河南中烟工业有限责任公司,河南 郑州 450046)

摘要:【目的】旨在探究雪茄烟叶晾制过程中颜色变化存在显著差异的物质基础。【方法】以川雪5号和德雪1号中部叶为试验材料,采集晾制过程中的烟叶图像、测定颜色参数并观察细胞超微结构的变化情况,并采用超高效液相色谱-高分辨质谱联用技术(UHPLC-OE-MS)对晾制第9天的烟叶进行代谢组学分析。【结果】随着晾制的进行,川雪5号烟叶变黄变褐均快于德雪1号。晾制前期,川雪5号的亮度值 L^* 、黄蓝值 b^* 、褐变指数BI均大于德雪1号, L^* 、 b^* 在第9天出现转折,BI在晾制中后期差异较小;川雪5号烟叶率先出现膜结构破裂、叶绿体解体、质体小球数量增多的现象;2个品种烟叶第9天的代谢物相对含量存在显著差异,与德雪1号相比,川雪5号烟叶中脂质及类脂分子相对含量总体较高,进一步筛选出的40种差异显著代谢物主要为脂肪酸、黄酮和萜类物质。KEGG分析发现,2个雪茄品种晾制第9天的差异代谢物最显著富集在亚油酸代谢和 α -亚麻酸代谢途径。其中,富集到的9(S)-HODE作为亚油酸的代谢衍生物,在川雪5号烟叶中相对含量更高。【结论】推测可能是脂肪酸和黄酮类物质相对含量的差异导致了晾制过程中颜色变化进程的差异。

关键词:雪茄烟叶;褐变;颜色差异;代谢组学;晾制

中图分类号:S572 文献标志码:A

文章编号:1000-2286(2026)01-0056-12

CSTR:32399.14.auj.2026006

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Metabolomic analysis of color variation during air-curing in different cigar tobacco varieties

ZHOU Menghui¹, XING Lei², YIN Shuang³, GENG Zongze²,
BI Haoyang³, YAN Rui¹, SONG Chaopeng¹, LI Aijun^{2*}

(1. College of Tobacco, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450056, China; 2. Sichuan China Tobacco Industrial Co., Ltd., Chengdu 610100, China; 3. Henan China Tobacco Industrial Co., Ltd., Zhengzhou 450056, China)

收稿日期:2025-07-20 修回日期:2025-09-03 接受日期:2025-09-08

基金项目:国家烟草专卖局重大科技项目(110202201036XJ-07)

Project supported by National Tobacco Administration Major Science and Technology Project (110202201036XJ-07)

作者简介:周梦慧,硕士生,orcid.org/0009-0001-2904-7510,2195155809@qq.com;*通信作者:李爱军,农艺师,主要从事烟叶雪茄原料技术研究,orcid.org/0009-0000-9702-0718,574405922@qq.com。

©《江西农业大学学报》编辑部,开放获取CC BY-NC-ND协议

Abstract: [Objective] To investigate the material basis underlying the significant differences in color changes during the air-curing process of cigar tobacco leaves. [Method] Using middle leaves of cultivars Chuanxue No.5 and Dexue No.1 as experimental materials, changes in leaf images, color parameters, and cellular ultrastructure during curing were recorded. Ultra-high-performance liquid chromatography coupled with orbitrap mass spectrometry (UHPLC-OE-MS) was employed for metabolomic analysis of leaves on day 9 of curing. [Result] As curing progressed, yellowing and browning occurred faster in Chuanxue No.5 than in Dexue No.1. In the early curing stage, Chuanxue No.5 exhibited higher values for lightness (L^*), yellowness/blueness (b^*), and browning index (BI) compared to Dexue No.1. The L^* and b^* values of Chuanxue No.5 declined sharply after day 9, while BI differences diminished in mid-to-late curing. Ultrastructural analysis revealed earlier membrane rupture, chloroplast disintegration, and an increasing number of plastoglobules formation in Chuanxue No.5. Metabolomic profiling on day 9 identified significant inter-cultivar differences: Chuanxue No.5 showed higher overall relative content of lipids and lipid-like molecules. Further screening identified 40 significantly differential metabolites, primarily fatty acids, flavonoids, and terpenoids. KEGG enrichment analysis indicated that differentially abundant metabolites were most prominently enriched in linoleic acid metabolism and α -linolenic acid metabolism pathways. Among these, 9(S)-HODE—a metabolic derivative of linoleic acid—exhibited higher relative abundance in Chuanxue No.5 leaves. [Conclusion] The differential progression of color changes during curing may be attributed to variations in the relative content of metabolites such as fatty acids and flavonoids.

Keywords: cigar tobacco leaves; browning; color difference; metabolomics; air-curing

【研究意义】优质茄衣烟叶是制作高品质雪茄的基础,要求其不仅具有醇厚的吸味与雅致的香味,还要有理想的颜色^[1-2]。国际上将茄衣颜色分为7种基本色,不同颜色的茄衣产品定位不同,品牌对茄衣颜色的偏向也不同^[3]。川雪5号与德雪1号作为四川省什邡地区主要茄衣栽培品种,为雪茄工业提供了稳定的原料来源。生产中发现川雪5号与德雪1号烟叶在晾制过程中颜色变化进程有较大差别,且晾制后颜色存在较大差异。因此,分析造成颜色差异的物质基础,更好地调控颜色变化至关重要。【前人研究进展】雪茄烟叶晾制过程中的颜色变化与烟叶含水率^[4-5]、环境温湿度^[6-7]、内含物质转化^[8]、色素降解^[9]、膜脂过氧化^[10]等因素密切相关。随着系统生物学的不断发展,作为其关键要素的代谢组学技术已经被广泛应用于烟草各领域的研究中,如梁珂馨等^[11]探究了非靶向代谢物在烟叶醇化过程中的变化规律;刘鹤等^[12]基于非靶向代谢组学鉴定烟草镰刀菌根腐病和黑胫病拮抗链霉菌及其代谢产物;陆岸芷等^[13]探究3个品种雪茄烟叶发酵前后的代谢物组成差异;目前针对雪茄烟叶颜色的代谢组分析主要有张宜冰等^[14]对晾制过程中雪茄烟叶颜色变化的能量代谢机制进行研究;李楠芬等^[15]对不同品种雪茄烟叶晾制后进行代谢组差异分析,发现楚雪10号和楚雪14号烟叶晾制后的叶色差异主要与脯氨酸、水杨酸、黄酮类和生物碱的含量差异有关;于连营等^[16]探究了雪茄烟叶自然晾制过程中“青斑”形成的生理机制及代谢差异,发现叶绿素和绿原酸在晾制末期沉积是晾制烟叶“青斑”产生的生理机制,绿原酸和二氢玉米素可作为“青斑”形成过程的化学标记物,通过检测其含量高低来监测是否会出现“青斑”。

【本研究切入点】相关研究主要集中在雪茄晾制后代谢物的差异分析^[15-18],而利用代谢组学技术研究晾制过程中关键褐变点的雪茄烟叶物质差异基础鲜有报道。【拟解决的关键问题】本研究以川雪5号与德雪1号中部叶为试验材料,采用超高效液相色谱-高分辨质谱联用技术,结合多元统计分析方法,对2个雪茄品种晾制关键褐变点的烟叶进行代谢组学分析,以便为雪茄烟叶晾制过程中颜色变化的调控提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验于2024年6—8月在四川省什邡市师古镇大泉坑村雪茄烟叶生产基地进行,试验田土壤含速

效钾 89 mg/kg、速效磷 38.1 mg/kg、速效氮 120 mg/kg、有机质 13.01 g/kg。烟苗移栽时,行株距为 110 cm×38 cm,施氮量为 160 kg/hm²(烟草专用复合肥)。烟株遮阴栽培,其他大田管理按当地优质雪茄烟叶生产技术规程执行。

试验材料为川雪5号和德雪1号中部叶,川雪5号是四川省烟草公司联合青州烟草研究所选育的雪茄茄衣新品种;德雪1号是四川什邡主栽的优质茄衣品系。2个品种均由四川省德阳市烟草公司提供。

1.2 试验设计

烟叶成熟后,选取田间长势基本一致的烟株采收第10~12叶位(从下至上)叶片,编杆置于晾房,按照当地优质雪茄烟叶生产技术规程进行晾制(表1)。将晾制开始当天记为第0天,第0天取样时,2个品种分别随机挑选12片烟叶,其中6片用于图像采集及颜色参数的测定;6片去除主脉后4℃保存,用于超微结构观察。之后每隔3d从晾房取一次样,用于图像采集、颜色参数及超微结构的测定,直至晾制结束,另外选取晾制过程中2个品种颜色差异关键点(第9天)的烟叶进行代谢组学分析,将川雪5号和德雪1号烟叶样品分别记为CX5与DX1。

表1 茄衣烟叶晾制工艺
Tab.1 Wrapper tobacco air-curing process

晾制阶段 Air-curing stage	温度/℃ Temperature	湿度/% Humidity	时间/d Time
凋萎期 Withering stage	26~28	85~88	3~4
变黄期 Yellowing stage	28~30	80~85	5~7
变褐期 Browning stage	30~32	75~80	5~7
定色期 Color-fixing stage	32~35	60~70	7~8
干筋期 Stem-drying stage	35~40	50~60	5~6

1.3 测定项目与方法

1.3.1 图像采集及颜色参数测定

利用图像采集系统采集烟叶图像^[19];利用NS810色差仪测定烟叶两侧避开主支脉上中下3个位置共6个点的 L^* (亮度值)、 a^* (红绿值)、 b^* (黄蓝值),求均值,并计算褐变指数BI(其值越大代表褐变程度越深)。褐变指数BI计算公式^[20]为:

$$BI = \frac{100(1.28x - 0.31)}{0.17} \quad (1)$$

$$x = \frac{(a_i^* + 1.75L_i^*)}{(5.645L_i^* + a_i^* - 3.012b_i^*)} \quad (2)$$

式(2)中: L_i^* 、 a_i^* 、 b_i^* 表示在晾制时间 t 时测得的颜色参数值。

1.3.2 超微结构分析

选取叶片左侧第5~7支脉间相同的位置,用小刀切出1 mm×1 mm的小块,立即放入2.5%的戊二醛固定液中,真空抽气直至沉底,于4℃冰箱中保存过夜。透射电镜观察叶肉细胞:将固定好的叶片经0.1 mol/L磷酸缓冲液充分漂洗后转移至1%锇酸(pH 7.2~7.4,0.1 mol/L PBS缓冲液配制)中固定2 h,经纯丙酮脱水后用Epon812环氧树脂渗透,之后于60℃恒温箱中聚合48 h。用Leica EM UC6 Ultracut超薄切片机(Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Germany)切出超薄切片,用乙酸铀酰和柠檬酸铅双重染色,再用HITACHI H-7650型透射电镜进行观察并拍照。用软件Photoshop 2023进行标注处理。

1.3.3 代谢物的提取

选取第9天烟叶,2个品种分别随机挑选6片,每片取第5~7条支脉之间左右两侧叶片混合成1个重复,每个品种6个重复。称取样品100 mg置于EP管中,加入500 μL提取液[V(甲醇):V(乙腈):V(水)=2:2:1,含同位素标记内标混合物];35 Hz研磨(JXFSTPRP-24,上海净信科技有限公司)4 min,超声(PS-60AL,深圳市雷德邦电子有限公司)5 min(冰水浴),重复步骤3次;之后在-40℃条件下静置1 h,然后4℃、12 000 r/min离心(Heraeus Fresco17, Thermo Fisher Scientific)15 min,取上清于进样瓶中上机检测;所有样品另取等量上清混合成质控(quality control, QC)样品上机检测。

1.3.4 色谱质谱采集条件

使用UHPLC系统(Vanquish, Thermo Fisher Scientific)和Phenomenex Kinetex C18色谱柱(2.1 mm×50 mm, 2.6 μm)与Orbitrap Exploris 120质谱仪联用,实现非靶向代谢物的分离和鉴定。色谱参数:流速0.30 mL/min、样品盘温度4℃、进样体积2 μL,流动相A相为超纯水(加入0.01%的乙酸),B相V(异丙醇):V(乙腈)=1:1,流动相梯度洗脱程序见表2。

质谱仪详细参数如下:鞘气流量:50 Arb,辅助气体流量:15 Arb,毛细管温度:320℃,全质谱分辨率:60 000,MS/MS分辨率:15 000,碰撞能量:20/30/40,喷射电压:3.8 kV(正)或-3.4 kV(负)。

表2 流动相梯度
Tab.2 The gradient of mobile phase

时间/min	流动速度/(mL·min ⁻¹)	流动相 A/%	流动相 B/%
Time	Flow rate	Mobile phase A	Mobile phase B
0	0.300	99.0	1.0
0.500	0.300	99.0	1.0
4.000	0.300	1.0	99.0
4.500	0.300	1.0	99.0
4.550	0.300	99.0	1.0
6.000	0.300	99.0	1.0

1.3.5 数据分析

使用ProteoWizard软件将质谱原始数据转成mzXML格式。再使用XCMS作保留时间校正、峰识别、峰提取、峰积分、峰对齐等工作,然后与BiotreeDB(V2.1)自建二级质谱数据库匹配进行物质注释,minfrac设为0.5,cutoff设为0.3。基于相对标准偏差(relative standard deviation,RSD)对原始数据中的偏离值进行过滤后对缺失值进行过滤,仅保留单组空值不多于50%的数据,然后对数据进行缺失值填补和数据标准化处理,使用SIMCA对数据进行对数转换加中心化格式化处理。采用SIMCA(16.0.2)和R语言(3.3.5)分别进行PCA得分图、OPLS-DA得分图、火山图、热图和代谢通路气泡图的绘制。

2 结果与分析

2.1 雪茄烟叶晾制过程中颜色的变化

雪茄烟叶颜色随晾制时间的变化如图1所示。整体上,2个品种烟叶随晾制时间的延长,颜色均呈现绿—青黄—黄—黄褐—褐色的变化。但从颜色变化进程上看,两品种间存在显著差异,尤其是在晾制前中期差异比较明显。相较于德雪1号,川雪5号变黄变褐时间更早。由图1可知,川雪5号烟叶晾制时,边变黄边变褐,6 d就表现出褐变迹象,9 d烟叶已变褐五成左右,而德雪1号烟叶到12 d变褐三成。这表明川雪5号烟叶褐变反应发生更早。

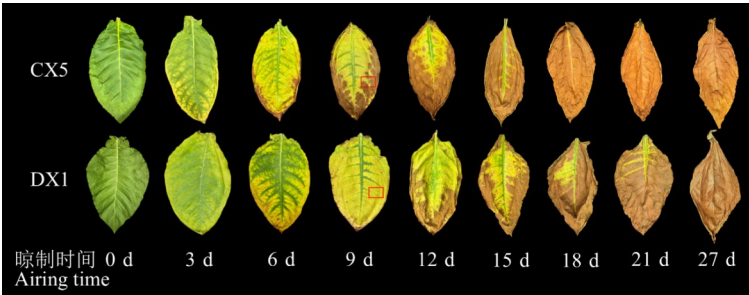


图1 2个品种烟叶晾制过程中颜色变化
Fig.1 Color changes during drying of two varieties of tobacco leaves

将雪茄烟叶颜色通过颜色参数进行表征。如图2所示,2个品种烟叶颜色参数值随晾制时间的推进变化趋势大体一致。但在晾制前期,川雪5号L*值明显大于德雪1号,而晾制中期(9~15 d)又小于德雪1号,这是因为黄色明度高于褐色。b*值的变化趋势与L*值相似,整体呈现左偏单峰变化。随着晾制的进行,两品种烟叶的a*值逐渐上升,在晾制前中期两品种存在明显差异,川雪5号红绿值大于德雪1号。褐变

指数BI在3~9 d出现较大差异,川雪5号大于德雪1号,表明川雪5号褐变时间早于德雪1号,且同一时间褐变程度大于德雪1号,这与颜色变化相一致。

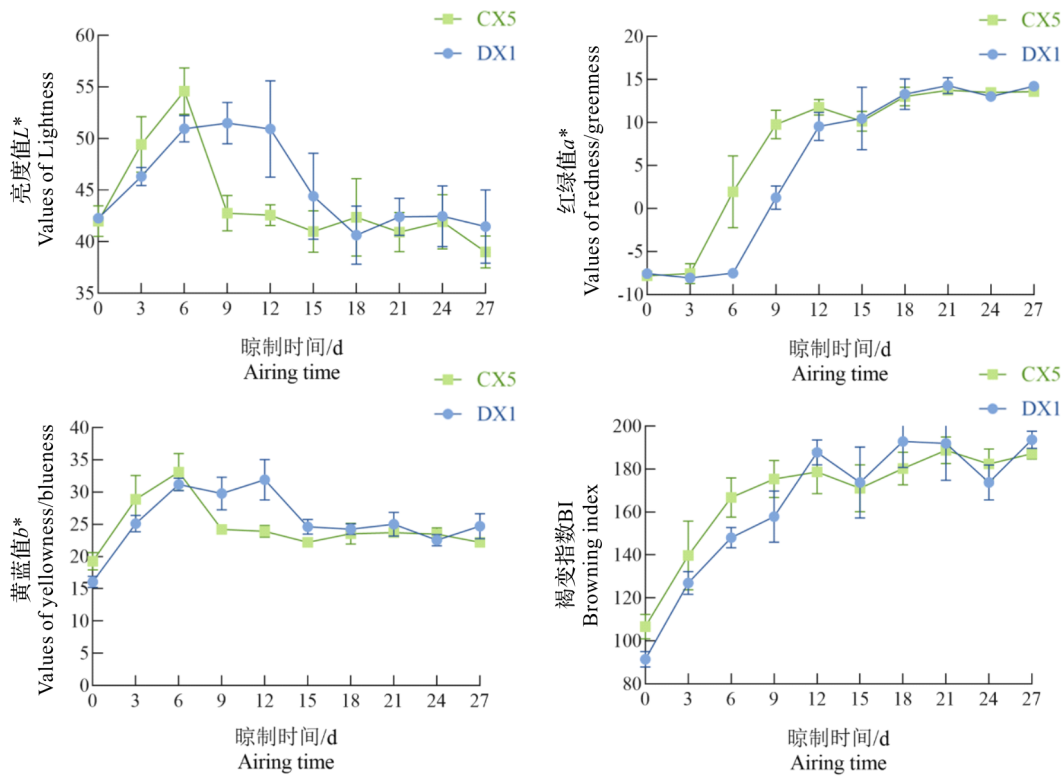


图2 2个品种烟叶晾晒过程中颜色参数变化

Fig.2 Changes in color parameters during drying process of two varieties of tobacco leaves

2.2 雪茄烟叶晾晒过程中细胞超微结构的变化

在透射电子显微镜下观察到晾晒过程中细胞超微结构的变化。如图3所示,晾晒开始时,受到液泡的压力,叶绿体紧贴细胞壁,呈现出清晰的基粒结构,并且有部分淀粉颗粒和质体小球存在,2个品种间未

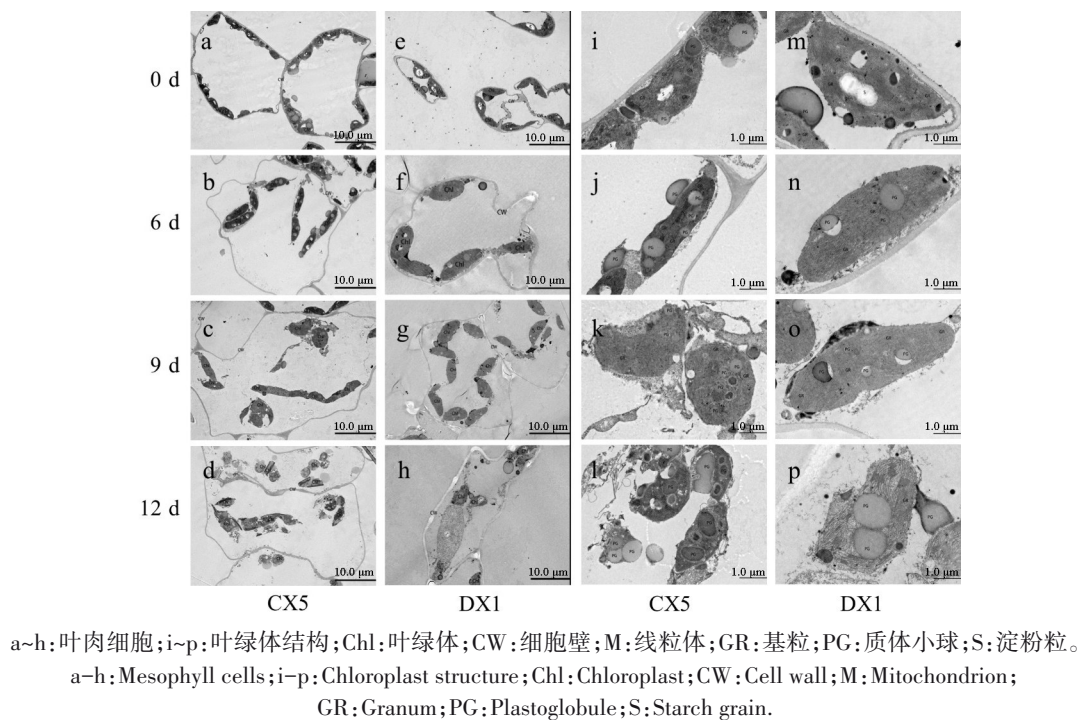


图3 2个品种烟叶晾晒过程中细胞超微结构变化

Fig.3 Changes in cellular ultrastructure during drying process of two varieties of tobacco leaves

呈现出差异(图 3a、图 3e、图 3i、图 3m);随着晾制的进行,6 d 时,两品种烟叶的细胞结构出现较明显差异,德雪 1 号烟叶的叶绿体紧贴细胞壁的同时,川雪 5 号烟叶细胞中叶绿体呈散乱分布,质体小球数量增多,此时叶绿体结构状态还较为相似;9 d 时,德雪 1 号的细胞出现了明显的质壁分离,而川雪 5 号烟叶细胞内部结构已模糊、叶绿体散乱分布且变形、细胞膜破裂;12 d 时,2 个品种烟叶的细胞结构都呈现出膜结构破裂、叶绿体降解、质体小球数量增多的状态。川雪 5 号烟叶细胞叶绿体解体更早,说明叶绿素降解得更早,膜结构破裂更早说明区室化作用被打破得更快,导致川雪 5 号烟叶变黄变褐出现更早,与上述实验现象一致。

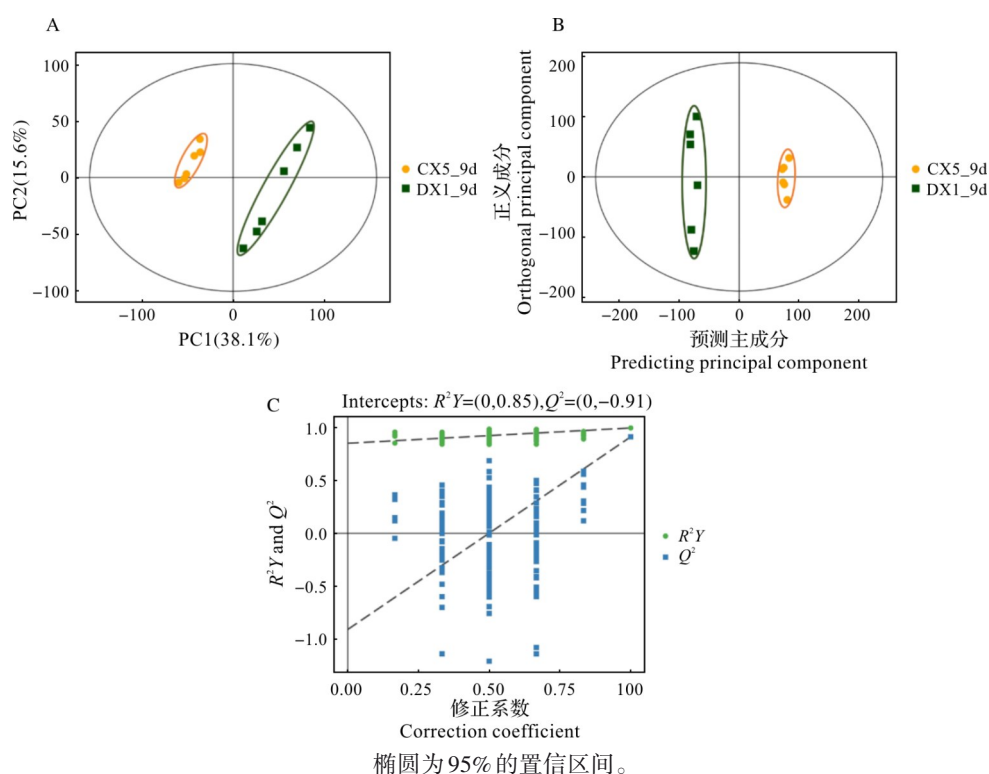
2.3 代谢组学分析

由上述分析可知,川雪 5 号与德雪 1 号烟叶在晾制过程中颜色变化出现明显差异,川雪 5 号烟叶变黄变褐快于德雪 1 号,在对其细胞超微结构的分析中也发现,川雪 5 号烟叶细胞率先破裂。为探究其形成颜色差异的物质基础,选择川雪 5 号与德雪 1 号褐变关键点(第 9 天)的烟叶进行代谢组学分析。

2.3.1 多元统计分析

对 2 个雪茄品种第 9 天烟叶的代谢组数据进行多元统计分析,主成分分析(PCA)结果表明(图 4A),川雪 5 号与德雪 1 号雪茄烟叶样本沿第一主成分显著分离,而各自组内的样本之间离散趋势不明显且所有样本均处在 95% 的置信区间内,表明川雪 5 号与德雪 1 号烟叶的代谢物具有显著差异。

正交偏最小二乘回归(OPLS-DA)得分图(图 4B)表明,2 组雪茄样本明显分离,其分布趋势与主成分分析结果相似。基于 OPLS-DA 建立了代谢物表达量与分组关系之间的模型,可有效提取组间变异信息,但也会导致数据模型存在过拟合,为此进行置换检验(图 4C)。结果表明, R^2 为 0.85、 Q^2 为 -0.91, $R^2 > Q^2$ 且 Q^2 回归线与 Y 轴截距小于 0,说明该模型可靠,不存在过拟合^[17]。



Ellipses represent 95% confidence intervals.

图 4 2 个品种烟叶第 9 天代谢物的 PCA 得分图(A)、OPLS-DA 得分散点图(B)和排序验证图(C)
Fig.4 PCA score plot(A), OPLS-DA score scatter plot(B), and validation permutation plot(C) of metabolites
in two tobacco varieties on day 9 of air-curing

2.3.2 差异代谢物的鉴定与分析

以 $P < 0.05$ 、 $VIP > 1$ 、 $FC > 2$ 或 < 0.5 为标准对所有代谢物进行筛选。结果显示,共检测到 832 种代谢物,在第 9 天烟叶的比较组中有 115 种差异代谢物,以川雪 5 号为对照,在德雪 1 号中有 35 种上调,80 种下调

(图 5A),即大部分差异代谢物在川雪 5 号中的积累量高于德雪 1 号。对 115 种差异代谢物进行聚类热图分析(图 5B),通过颜色比较发现,每个品种的大部分差异代谢物在该品种的不同样本中表现出相似的趋势,但与另一品种差异明显,这与主成分分析结果基本一致,说明 2 个品种烟叶的代谢产物存在显著差异。

以 $P<0.001$ 为条件进一步筛选得到 40 种差异极显著代谢物,分别为 11 种脂肪酸及衍生物、6 种萜类、1 种甘油磷脂类、2 种黄酮、1 种酚酸及甾体、糖类等物质(表 3)。根据 $\log_2$ Fold Change 可以看出,德雪 1 号烟叶中 10 种脂肪酸及衍生物、2 种甾体、1 种甘油磷脂、2 种黄酮类物质的相对含量均显著低于川雪 5 号,其中脂质分子-去葡萄糖桂竹香毒甙、黄酮类物质-Eupatorin 的相对含量最低,其 FC 值分别仅为川雪 5 号的 0.000 7 和 0.004 7 倍。

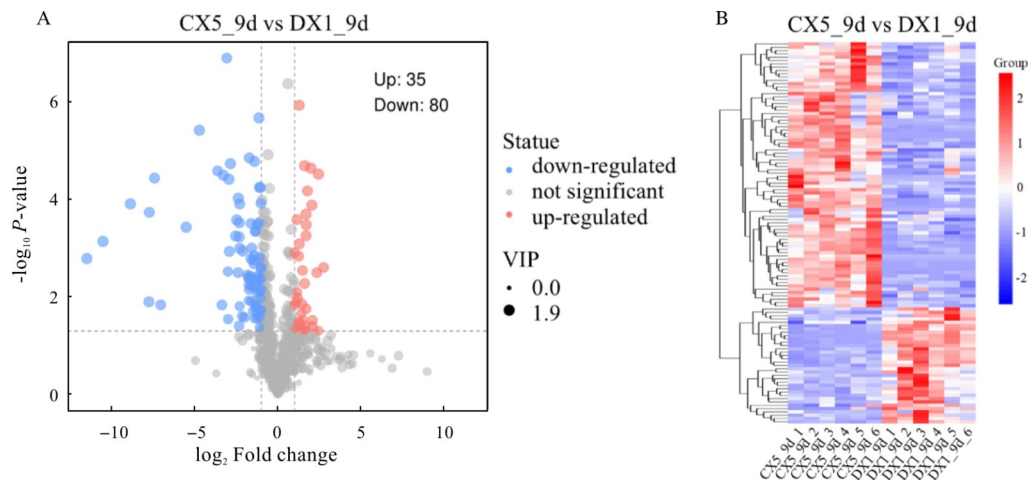


图 5 2 个品种烟叶第 9 天差异代谢物火山图(A)和聚类热图(B)

Fig.5 Volcano plot(A)and clustering heatmap(B)of differential metabolites in two tobacco varieties on day 9 of air-curing

表 3 2 个品种烟叶第 9 天差异显著代谢物的鉴定信息

Tab.3 Identification of significantly differential metabolites in two tobacco varieties on day 9 of air-curing				
编号 Number	代谢物 Metabolites	保留时间/min Retention time	变量重要性投影 VIP	Log ₂ Fold change
1	去葡萄糖桂竹香毒甙	232.8	1.849	-10.533
2	Isoastragaloside II	144.4	1.845	-8.880
3	Eupatorin	234.8	1.796	-7.744
4	异泽兰黄素	234.7	1.768	-7.430
5	2,3-dinor-6-oxoprostaglandin F1alpha	269.8	1.708	-5.527
6	Doramectin	267.4	1.686	-4.732
7	2,4,14-Eicosatrienoic acid isobutylamide	338.3	1.779	-3.633
8	Atractylenolide III	230.9	1.564	-3.288
9	油酰甘氨酸	263.8	1.611	-3.086
10	PC[20:5(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)/15:0]	273.8	1.469	-2.954
11	对苯二甲酸	211.1	1.349	-2.862
12	香紫苏醇	306.8	1.654	-2.546
13	2-Deoxybrassinolide	224.9	1.769	-2.477
14	辛酸	178.5	1.692	-2.386
15	8,15-DiHETE	264.8	1.748	-2.334
16	Deoxyandrographolide	318.2	1.707	-2.322
17	FAHFA(2:0/17:2)	280.4	1.694	-2.304
18	Sclareolide	259.9	1.829	-1.729
19	GW7647	230.8	1.755	-1.625

续表 Continued				
编号 Number	代谢物 Metabolites	保留时间/min Retention time	变量重要性投影 VIP	Log ₂ Fold change
20	海藻糖	25.5	1.845	-1.581
21	12S-HHT	259.4	1.829	-1.411
22	戊二酸	34.5	1.790	-1.369
23	Cryptochrome	226.1	1.698	-1.356
24	(R)-3-Hydroxy-tetradecanoic acid	254.7	1.865	-1.281
25	壬二酸	195.5	1.841	-1.151
26	十二烷二酸	232.2	1.876	-1.146
37	Alpha-dimorphecolic acid	283.6	1.849	-1.117
28	Olivetol	228.2	1.845	-1.061
29	Fumagillol	203.4	1.796	-1.019
30	4-Hydroxy-1H-indole-3-acetonitrile	153.1	1.768	1.143
31	alpha-Bergamotene	275.0	1.708	1.278
32	alpha-Corocalene	275.0	1.686	1.284
33	Ansamitocin P-3	228.8	1.559	1.604
34	3'-Hydroxy-HT2 toxin	238.1	1.659	1.690
35	γ-樟脑碱	275.0	1.779	1.693
36	17-羟基-4,7,10,13,15,19-二十二碳六烯酸 17-HDoHE	266.4	1.564	1.705
37	cis-Quinceoxepane	275.0	1.611	1.772
38	jaceosidin	216.7	1.469	1.983
39	3-O-Methylquercetin	207.9	1.349	2.039
40	Iristectorigenin A	216.3	1.654	2.442

VIP 值表示代谢物对分组的贡献;Fold change 表示 DX1 与 CX5 代谢产物相对含量之比。

VIP values indicate the contribution of metabolites to group discrimination;Fold change represents the ratio of relative metabolite abundance in DX1 versus CX5.

2.3.3 差异代谢途径分析

为了明确 2 个品种第 9 天烟叶样品差异代谢物的主要生物学功能,将检测到的差异代谢物注释到 KEGG 数据库中并进行代谢通路富集分析,以 $P<0.05$ 为阈值筛选得到显著富集的 5 条代谢通路(图 6),

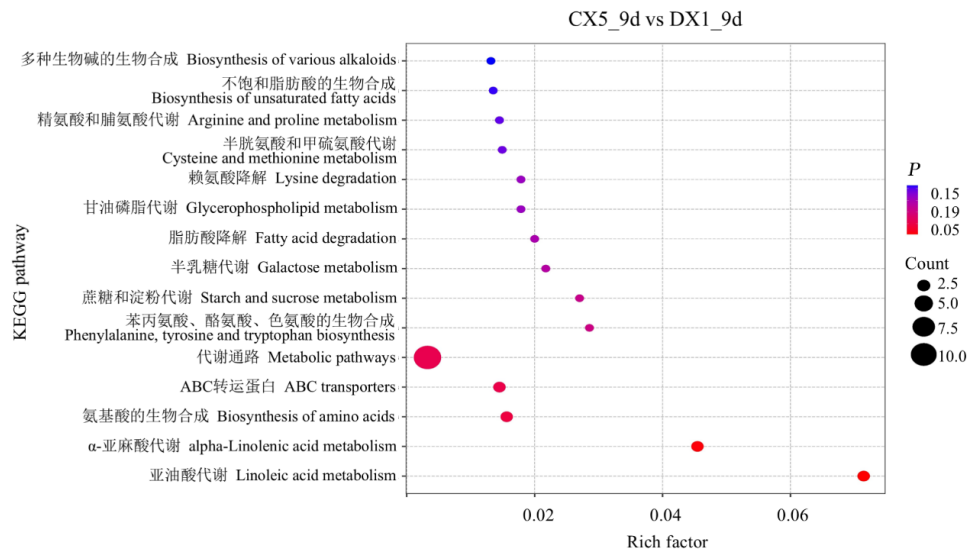


图6 2个品种烟叶第9天差异代谢物KEGG富集分析

Fig.6 KEGG enrichment bubble plot of differential metabolites in two tobacco varieties on day 9 of air-curing

分别为亚油酸代谢、 α -亚麻酸代谢、氨基酸的生物合成、ABC 转运蛋白和代谢通路,其中亚油酸代谢、 α -亚麻酸代谢途径差异最显著并绘制出其代谢通路(图 7),2 条代谢通路富集到的差异代谢物为磷脂酰胆碱、 α -亚麻酸、9(S)-HODE,且除了 α -亚麻酸之外的其他物质在川雪 5 号中的相对含量均高于德雪 1 号。

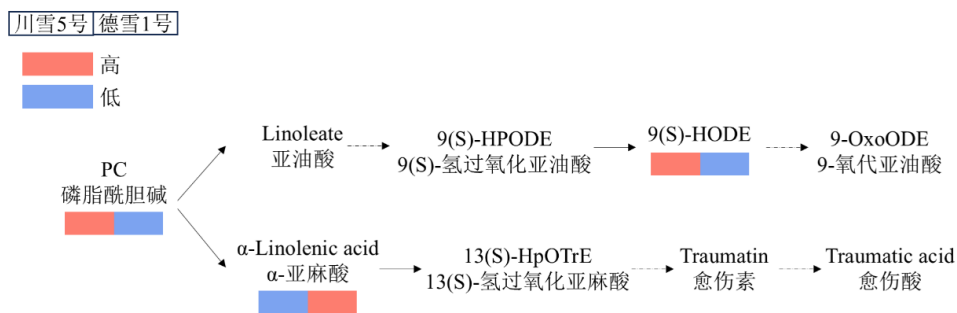


图 7 富集差异代谢物代谢路径

Fig.7 Enrichment of differential metabolite metabolic pathways

3 讨论

雪茄烟叶的晾晒是烟叶内部生理生化变化与外部环境条件相协调的过程。随着晾晒的进行,雪茄烟叶颜色变化一般表现为由绿变黄再转褐,由绿变黄主要与色素的降解有关^[10],由黄转褐主要是因为晾晒中后期酶促棕色化反应与非酶促棕色化反应的发生^[21]。本研究发现,川雪 5 号与德雪 1 号烟叶晾晒过程中颜色变化进程存在明显差异,川雪 5 号变黄变褐更快,在第 9 天颜色参数值出现明显转折点。通过对细胞超微结构分析发现,川雪 5 号烟叶细胞率先出现膜结构破裂、叶绿体解体是其变黄变褐更快的主要原因,这与刘朝营等^[22]、刘峰娟等^[23]的研究结果相一致。

对 2 个品种烟叶第 9 天的样品进行代谢组学分析发现,川雪 5 号烟叶中脂肪酸类、萜类和黄酮类物质相对含量显著高于德雪 1 号,这与孙皓月等^[24]发现易褐变的中川 208 烤后烟叶中总脂肪酸含量更高的研究结果相似。Zuo 等^[25]在对红肉苹果果实褐变相关的差异丰富代谢产物分析中也发现褐变过程中主要差异丰富的代谢产物是脂肪酸、酚类和氨基酸。脂肪酸来源于细胞膜脂的降解,随着晾晒的进行细胞膜受损,酚与酶的区域分布结构被破坏,导致褐变加重^[26],因此细胞膜成分的变化在保持细胞膜结构完整性和延迟新鲜产品褐变发生方面具有关键作用。脂肪酸类物质含量越高,细胞膜降解程度越高,烟叶越容易发生褐变,说明川雪 5 号变褐更快很可能是膜脂降解脂肪酸的积累导致的。此外,亚油酸代谢、 α -亚麻酸代谢被认为与植物防御响应和逆境适应相关的生理代谢活动有关,9(S)-HODE 作为亚油酸的代谢衍生物,参与脂质过氧化过程,是脂质氧化的典型标记物^[27]。本研究发现亚油酸代谢、 α -亚麻酸代谢途径差异最显著,与德雪 1 号相比,川雪 5 号的 9(S)-HODE 含量高、 α -亚麻酸含量低,说明川雪 5 号的亚油酸和 α -亚麻酸代谢较强,脂质氧化更严重,与高蔓^[28]关于马铃薯种间褐变规律研究中发现的脂质代谢会促进褐变的发生结果相一致。

黄酮类是植物果蔬酶促褐变的重要底物,在细胞破裂后会被氧化为醌类物质,呈现深褐色^[29],这类物质形成过多导致烟叶颜色过深。本研究发现川雪 5 号晾晒第 9 天叶色较德雪 1 号深,符合黄酮类物质的差异对外观颜色的影响规律。

4 结论

在雪茄烟叶晾晒过程中,对比德雪 1 号,川雪 5 号黄变与褐变反应发生更早。通过对烟叶第 9 天进行代谢组学分析发现,与德雪 1 号相比,川雪 5 号烟叶中脂质及类脂分子相对含量总体较高,进一步筛选出的 40 种差异极显著代谢物主要为脂肪酸、黄酮类等物质。亚油酸与 α -亚麻酸代谢途径是 2 个品种烟叶差异最显著的代谢途径。推测可能是脂肪酸和黄酮类等物质相对含量的差异导致了晾晒过程中颜色变化进程的差异。

参考文献 References:

- [1] 陈泳伟,金明珂,吴永兵,等.不同遮荫强度下雪茄烟叶晾制变色差异的研究[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2023,51(9):47-57.
CHEN Y W, JIN M K, WU Y B, et al. Discoloration differences of air-cured cigar leaves under different shading intensities [J]. Journal of northwest A&F university (natural science edition), 2023, 51(9): 47-57.
- [2] 李爱军,秦艳青,代惠娟,等.国产雪茄烟叶科学发展刍议[J].中国烟草学报,2012,18(1):112-114.
LI A J, QIN Y Q, DAI H J, et al. On scientific development of China's cigar leaf [J]. Acta tabacaria Sinica, 2012, 18(1): 112-114.
- [3] 付锦贤.不同晾制条件下雪茄烟CX-10茄衣生理生化及色度值变化研究[D].武汉:华中农业大学,2022.
FU J X. Cigar wrapper CX-10 physiological biochemical and chromatic value changes under different drying conditions [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2022.
- [4] 高姬北,钟秋,王松峰,等.雪茄茄衣晾制过程中烟叶颜色和含水量变化及其相关分析[J].中国烟草科学,2019,40(2):57-63.
GAO Y B, ZHONG Q, WANG S F, et al. Changes in color and water content of tobacco leaves and their correlation during cigar wrapper airing [J]. Chinese tobacco science, 2019, 40(2): 57-63.
- [5] 晏睿,王松岭,郝佳禾,等.雪茄茄衣晾制过程中水分、颜色变化及其相关性分析[J].南方农业,2025,19(7):1-8.
YAN R, WANG S L, HAO J H, et al. Analysis of moisture and color changes and their correlation during the drying process of cigar wrapper leaves [J]. South China agriculture, 2025, 19(7): 1-8.
- [6] 顾会战.调制温湿度条件对雪茄外包皮烟叶生理变化与理化特性的影响[D].郑州:河南农业大学,2006.
GU H Z. Effects of temperature and humidity on physiological changes and physical and chemical characters of cigar-wrapper tobacco during curing [D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2006.
- [7] 时向东,顾会战,汪文杰,等.调制过程中温度对雪茄外包皮烟叶碳水化合物动态变化的影响[J].河南农业大学学报,2006(2):133-136.
SHI X D, GU H Z, WANG W J, et al. Effects of different temperatures on the dynamic change of carbohydrate of cigar wrapper tobacco during curing [J]. Journal of Henan agricultural university, 2006(2): 133-136.
- [8] 谭永浩,刘勇军,符昌武,等.雪茄烟叶调制过程中外观颜色与内含物质的变化规律及相互关系[J].河南农业大学学报,2022,56(6):937-946.
TAN Y H, LIU Y J, FU C W, et al. Change rule and interrelationship of appearance color and inclusion substance in the modulation process of cigar leaves [J]. Journal of Henan agricultural university, 2022, 56(6): 937-946.
- [9] 卢绍浩,张嘉雯,赵喆,等.不同部位雪茄烟叶晾制过程中多酚、色素及相关酶活性的变化[J].中国烟草科学,2019,40(3):84-90.
LU S H, ZHANG J W, ZHAO Z, et al. Changes of polyphenols, pigments and related enzyme activities in cigars leaves of different positions during air-curing [J]. Chinese tobacco science, 2019, 40(3): 84-90.
- [10] 范宁波,蔡斌,张瑞娜,等.雪茄烟叶晾制过程色素降解和膜脂过氧化对颜色变化的影响[J].中国烟草学报,2021,27(2):102-108.
FAN N B, CAI B, ZHANG R N, et al. The influence of pigment degradation and membrane lipid peroxidation on color change of cigar tobacco during air curing [J]. Acta Tabacaria Sinica, 2021, 27(2): 102-108.
- [11] 梁珂馨,奚家勤,陈若星,等.基于非靶向代谢组学的片烟醇化进程判断及代谢物差异分析[J].烟草科技,2023,56(4):17-25.
LIANG K X, XI J Q, CHEN R X, et al. Evaluation and differential metabolite analysis of tobacco maturation based on non-targeted metabolomics [J]. Tobacco science & technology, 2023, 56(4): 17-25.
- [12] 刘鹤,单宇航,邱睿,等.基于非靶向代谢组学的烟草镰刀菌根腐病和黑胫病拮抗链霉菌及其代谢产物的鉴定[J].中国生物防治学报,2023,39(4):875-884.
LIU H, SHAN Y H, QIU R, et al. Identification of *Streptomyces* and its metabolites antagonizing *Fusarium oxysporum* and

- Phytophthora parasitica* in tobacco based on non-target metabolomics[J]. Chinese journal of biological control, 2023, 39(4): 875-884.
- [13] 陆岸芷, 张乐毅, 王平平, 等. 3个品种雪茄烟叶发酵前后代谢物的差异分析[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2024, 52(12): 51-62.
- LU A Z, ZHANG L Y, WANG P P, et al. Differences in leaf metabolites of three cigar varieties before and after leaf fermentation[J]. Journal of northwest A&F university (natural science edition), 2024, 52(12): 51-62.
- [14] 张宜冰, 阳苇丽, 雷云康, 等. 晾制过程中雪茄烟叶颜色变化的能量代谢机制研究[J]. 中国烟草学报, 2025, 31(2): 132-144.
- ZHANG Y B, YANG W L, LEI Y K, et al. Study on the energy metabolism mechanism of color changes in cigar tobacco leaves during the air-curing process[J]. Acta tabacaria Sinica, 2025, 31(2): 132-144.
- [15] 李楠芬, 于连营, 杨锦鹏, 等. 不同品种雪茄烟叶晾制后代谢组的差异分析[J]. 中国烟草科学, 2022, 43(2): 77-85.
- LI N F, YU L Y, YANG J P, et al. Differential analysis of metabolomics of cigar tobacco leaves of different varieties after air-curing[J]. Chinese tobacco science, 2022, 43(2): 77-85.
- [16] 于连营, 杨锦鹏, 余君, 等. 基于代谢组学分析雪茄烟叶晾制时“青斑”组织的代谢差异及形成原因[J]. 华中农业大学学报, 2022, 41(1): 152-159.
- YU L Y, YANG J P, YU J, et al. Metabolomic analysis of metabolic differences and causes of green spot tissue of cigar tobacco during air-curing[J]. Journal of Huazhong agricultural university, 2022, 41(1): 152-159.
- [17] 杨鸿宇, 耿召良, 颜统晶, 等. 海南典型产区晾制后雪茄烟叶代谢组的差异分析[J]. 中国烟草学报, 2024, 30(3): 95-104.
- YANG H Y, GENG Z L, YAN T J, et al. Differential analysis of metabolome of cigar tobacco leaves after curing in typical production areas of Hainan[J]. Acta tabacaria Sinica, 2024, 30(3): 95-104.
- [18] 杨鸿宇, 郑煜, 耿召良, 等. 海南五指山产区不同雪茄品种晾制后烟叶感官质量和代谢组的差异分析[J]. 南方农业学报, 2024, 55(6): 1753-1764.
- YANG H Y, ZHENG Y, GENG Z L, et al. Differential analysis of sensory quality and metabolomics of tobacco leaves of different cigar varieties after air-curing in Wuzhishan area of Hainan[J]. Journal of southern agriculture, 2024, 55(6): 1753-1764.
- [19] 李昌根, 吴飞跃, 李静超, 等. 烟叶素质采集装置设计与试验[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2025, 53(6): 145-156.
- LI C G, WU F Y, LI J C, et al. Design and experiment on collection device for the quality of tobacco leaves[J]. Journal of northwest A&F university (natural science edition), 2025, 53(6): 145-156.
- [20] 李峥, 汪代斌, 王建安, 等. 烤烟晾制变黄过程中颜色变化动力学模型分析[J]. 西南农业学报, 2020, 33(2): 298-306.
- LI Z, WANG D B, WANG J A, et al. Analysis of dynamic model of color change during air-curing process of flue-cured tobacco[J]. Southwest China journal of agricultural sciences, 2020, 33(2): 298-306.
- [21] 高云鹏. 山东茄衣烟叶采收成熟度和晾制温湿度研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2024.
- GAO Y P. Research on the harvest maturity and air-curing temperature and humidity of Shandong cigar wrapper leaves[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2024.
- [22] 刘朝营, 许自成, 邵惠芳, 等. 不同成熟度烟叶密集烘烤过程中细胞超微结构的变化[J]. 中国农业科学, 2012, 45(24): 4988-4997.
- LIU C Y, XU Z C, SHAO H F, et al. Changes of cell ultrastructure of flue-cured tobacco leaves with different maturities during bulk flue-curing[J]. Scientia agricultura Sinica, 2012, 45(24): 4988-4997.
- [23] 刘峰娟, 冯作山, 孟阳, 等. 脱水速度对‘无核白’葡萄果皮褐变和细胞超微结构的影响[J]. 食品科学, 2016, 37(6): 220-225.
- LIU F J, FENG Z S, MENG Y, et al. Effect of dehydration rate on browning and cell ultrastructure of Thompson seedless grapes[J]. Food science, 2016, 37(6): 220-225.
- [24] 孙皓月, 李文刚, 俞世康, 等. 上部叶脂质代谢与烟叶褐变的关系研究[J]. 中国烟草学报, 2022, 28(4): 31-38.

- SUN H Y, LI W G, YU S K, et al. Study on the relationship between lipid metabolism and browning of upper tobacco leaves [J]. Acta tabacaria Sinica, 2022, 28(4): 31-38.
- [25] ZUO W F, LU L, SU M Y, et al. Analysis of differentially expressed genes and differentially abundant metabolites associated with the browning of Meihong red-fleshed apple fruit [J]. Postharvest biology and technology, 2021, 174: 1-11.
- [26] PRETORIUS C J, ZEISS D R, DUBERY I A. The presence of oxygenated lipids in plant defense in response to biotic stress: a metabolomics appraisal [J]. Plant signaling & behavior, 2021, 16(12): 1-8.
- [27] UPCHURCH R G. Fatty acid unsaturation, mobilization, and regulation in the response of plants to stress [J]. Biotechnology letters, 2008, 30(6): 967-977.
- [28] 高蔓. 基于转录与代谢组马铃薯种间褐变规律研究 [D]. 天津: 天津科技大学, 2022.
- GAO M. Study on interspecific browning of potatoes based on transcriptomic and metabolomic [D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2022.
- [29] 王瑞新. 烟草化学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 131-133.
- WANG R X. Tobacco chemistry [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2003: 131-133.

(责任编辑: 张前锋)



第一作者简介:周梦慧,在读硕士研究生,本科就读于河南农业大学烟草学院,获农学学士学位;随后考入河南农业大学烟草学院继续攻读烟草学硕士学位。在读期间曾获研究生学业奖学金二等奖。研究方向聚焦烟草调制与加工领域,重点围绕烟叶的颜色变化特性开展研究,以第一作者身份在《现代农业科技》期刊发表学术论文1篇,申请国家实用新型专利1项。闲暇时喜欢阅读烟草相关前沿期刊文献、参与学术交流研讨会,同时爱好运动,培养了扎实的科研实践能力,且练就了强健的体魄。



通信作者简介:李爱军,农艺师,主要从事国产雪茄烟叶生产及科研工作。参与中国烟草总公司重点科技项目等多项基金项目,《雪茄烟叶 TSNA 形成机制及消减关键技术创新与应用》获得中国烟草总公司 2024 年度科技进步三等奖。发表《国产雪茄烟叶科学发展刍议》等论文,参与川雪 3 号等新品种选育,授权实用新型专利 2 项。