湖南农业大学学报(自然科学版)　2021，47(6)：642–647. DOI：10.13331/j.cnki.jhau.2021.06.006
Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences)

引用格式：
刘钰坤，周东波，汪耀富，沈程文，李彦，戴林建. 仿红茶调制工艺烟叶的评吸质量及差异化合物研究[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版)，2021，47(6)：642–647.
LIU Y K，ZHOU D B，WANG Y F，SHEN C W，LI Y，DAI L J. Smoking quality and differential compounds analysis for tobacco leaves prepared imitating black tea modulation process[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences)，2021，47(6)：642–647.
投稿网址：http://xb.hunau.edu.cn

# 仿红茶调制工艺烟叶的评吸质量及差异化合物研究

刘钰坤[1]，周东波[2]，汪耀富[2]，沈程文[1]，李彦[1]，戴林建[1*]

(1.湖南农业大学农学院，湖南 长沙 410128；2.湖南中烟工业有限责任公司技术中心，湖南 长沙 410007)

**摘　要**：以云烟 87 中部叶为原料，进行萎凋(烤房萎凋和覆膜萎凋)、揉捻(20 min)、发酵(6 h)、干燥(85~105 ℃两段式)仿红茶调制工艺试制烤烟。与对照三段式烤烟相比，仿红茶调制工艺烟叶香气细腻柔和，浓度中等，有甜香、干草香、焦香、烘烤香等特点；运用 GC–MS 和 LC–MS 检测烟叶化学成分，仿红茶调制工艺烟叶与对照样本中共鉴定到 2380 种差异化合物，占化合物总量的 43.26%；主成分分析(PCA)与层聚类分析(HCA)表明，仿红茶调制工艺烟叶样本与对照样本中化合物含量存在显著差异，萎凋方式对仿红茶调制烟叶的评吸结果影响最大；覆膜萎凋评吸结果整体优于烤房萎凋的，干燥方式对特征香气的形成具有重要作用；相关性分析表明，2595 种化合物含量与萎凋方式相关；通过正交偏最小二乘判别分析(OPLS–DA)差异检验方法鉴定到 2708 种标志性化合物，通过整合，2 种萎凋方式共鉴定到关键差异化合物 757 种。

**关　键　词**：烟草；仿红茶调制；评吸质量；差异化合物

**中图分类号**：S572.092　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1007–1032(2021)06–0642–06

# Smoking quality and differential compounds analysis for tobacco leaves prepared imitating black tea modulation process

LIU Yukun[1]，ZHOU Dongbo[2]，WANG Yaofu[2]，SHEN Chengwen[1]，LI Yan[1]，DAI Linjian[1*]

(1.College of Agronomy, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China; 2.Technology Center, Hunan Zhongyan Co., Ltd, Changsha, Hunan 410007, China)

**Abstract**: The middle leaves of Yunyan87 were used as materials and processed imitating black tea method including withering(curing barn withering and film covered withering), rolling(20min), fermentation(6h) and drying(85-105℃ two-stage method). Compared to conventional flue-cured tobacco with three-stage method, tobacco leaves prepared by imitating black tea method showed soft and subtle aroma, which was in moderate concentration, including sweet aroma, dry grass aroma, burnt aroma and baking aroma. GC-MS and LC-MS were used to test the chemical components of tobacco leaves, and the results showed that 2380 differential compounds were identified, accounting for 43.26% of the total compounds. Through principal component analysis(PCA) and hierarchical cluster analysis(HCA), it was found that there were significant differences in the content of compounds in tobacco leaves with two different curing methods. Withering method showed the biggest effect on smoking evaluation for tobacco samples prepared by imitating black tea method and plastic film covered withering showed better smoking quality. Drying method was important for the formation of characterized aroma. The correlation analysis showed that the contents of 2595 compounds were correlated with withering method. By orthogonal partial least squares discriminant analysis(OPLS-DA), 2708 marker compounds

**收稿日期**：2021–03–13　　**修回日期**：2021–08–28
**基金项目**：湖南中烟工业有限责任公司项目(202043000834081)
**作者简介**：刘钰坤(1997—)，男，山西太原人，硕士研究生，主要从事烟草栽培和烟叶调制研究，13548752961@163.com；*通信作者，戴林建，博士，副教授，主要从事烟草工程与技术研究，13755123196@163.com

were identified and 757 marker compounds were identified by T-test and ploidy change. Through integration of the data with two different withering methods, 757 key differential compounds were identified.

**Keywords**: tobacco; imitating black tea modulation; smoking quality; differential compounds

烟叶调制是烤烟品质形成的关键环节[1–3]，目前主要采用密集烘烤方式调制[4]。笔者以云烟 87 中部叶为原料，借鉴传统红茶加工工艺[5–8]，即萎凋、揉捻、发酵、干燥 4 个阶段，通过调控反应条件进行调制，检测烟叶调制过程中产生的代谢物，对不同处理的烟叶样本进行评吸，研究不同工艺参数对调制结果的影响，探讨烟草仿红茶调制工艺的可行性。

## 1　材料与方法

### 1.1　材料

供试烤烟品种为云烟 87。

### 1.2　试验设计

试验于 2019 年在湖南省浏阳市永安镇进行。取适熟中部(8~9 有效叶位)烟叶。借鉴红茶加工方法，即萎凋→揉捻→发酵→干燥加工烟叶。$A_1$，覆膜萎凋；$A_2$，烤房萎凋。$B_1$，发酵 6 h；$B_2$，发酵 8 h。$C_1$，68 ℃烘干；$C_2$，85~105 ℃烘干(两段式烘干)。共 8 个处理：$A_1B_1C_1$、$A_1B_1C_2$、$A_1B_2C_1$、$A_1B_2C_2$、$A_2B_1C_1$、$A_2B_1C_2$、$A_2B_2C_1$、$A_2B_2C_2$，以常规三段式密集烘烤[9]为对照(CK)。

覆膜萎凋：将烟叶平铺于萎凋槽(6CWD–5M)中，摊叶 2~3 层，用塑料薄膜覆盖萎凋槽，开机萎凋。烤房萎凋：将烟叶挂杆，放入烤房，促变黄萎凋。揉捻：将萎凋后的烟叶去除主脉，均匀切成小块(10 cm×10 cm)投入揉捻机(6CR–40)中揉捻 20 min。发酵：将揉捻后烟叶置入发酵筐，堆叶厚度 10 cm，留出气孔，在烟叶上下均匀地铺盖润湿的纱布，放入发酵机(6CHFJ–5B)中或置于干燥阴凉处进行发酵。干燥：烟叶平铺于干燥盘中，提香机(6CHT–6.0)预热，达到指定温度后进行干燥。两段式烘干：先在 85 ℃条件下烘干 15 min，取出烟叶静置 20 min 回潮，其间将提香机温度提升至 105 ℃，再烘干烟叶。

烤烟样香气化学成分检测(LC–MS 和 GC–MS)参照郑庆霞等[10]的方法进行。

邀请湖南中烟有限责任公司技术中心具有烟草行业评吸资质的 7 位专家，对仿红茶调制烟叶样品进行评吸，评吸指标包括香气质、香气量、浓度、劲头、刺激性、杂气、余味、燃烧性等。考虑到调制产品与常规烤烟有异，评吸结果只用文字表述记录。

### 1.3　数据处理

采用 Microsoft Excel 2019 对试验数据进行处理；采用 Python、MetaboAnalyst 在线应用进行数据分析。

## 2　结果与分析

### 2.1　仿红茶调制工艺烟叶的评吸结果

仿红茶调制工艺烟叶的评吸结果(表 1)表明，仿红茶调制工艺烟叶样品的评吸结果优于对照三段式烤烟样品的；覆膜萎凋($A_1$)评吸结果优于烤房萎凋($A_2$)的，85~105 ℃两段式烘干($C_2$)优于 68 ℃恒温烘干($C_1$)的；对照样品有稍有枯焦气息等负面评

表 1　仿红茶调制工艺烟叶样本的评吸结果

**Table 1　Smoking quality analysis of tobacco leaves imitating black tea modulation process**

| 处理 | 评吸结果 |
|---|---|
| $A_1B_1C_1$ | 香气浓度中等，细腻柔和，甜度中等，有干草香 |
| $A_1B_1C_2$ | 香气浓度中等，细腻柔和，有较少焦香烘烤香，有较多干草香，甜度中等，香气特征与传统烤烟不同 |
| $A_1B_2C_1$ | 香气浓度中等，细腻柔和，有较少甜香，有浓香特征，质地中等 |
| $A_1B_2C_2$ | 香气浓度中等，细腻柔和，有较少干草香，与烤烟浓香特征稍有不同 |
| $A_2B_1C_1$ | 香气浓度中等，愉悦感稍有不足，有较少甜香，有较少青杂气 |
| $A_2B_1C_2$ | 香气浓度中等，有较少青杂气，有较少药草香，香气特征与传统烤烟不同 |
| $A_2B_2C_1$ | 香气浓度中等，细腻柔和，有甜香 |
| $A_2B_2C_2$ | 香气浓度中等偏上，有较少青杂气，有较少焦甜香、烘烤香，香气特征与传统烤烟不同 |
| CK | 香气浓度中等，质地中等，细腻柔和尚可，有较少枯焦气，劲头中等，余味尚干净 |

价，烤房萎凋($A_2$)样品除 $A_2B_2C_1$ 外都出现了有青杂气等负面评价，总体评吸结果与对照样品基本一致；覆膜萎凋($A_1$)样品都具有干草香、甜度、香气细腻柔和；68 ℃烘干($C_1$)样品都具有甜香、香气细腻柔和等优点；85~105 ℃两段式烘干($C_2$)样品都具有干草香、香气细腻、香气浓度中等偏大等优点。

## 2.2 仿红茶调制工艺烟叶与常规烤烟化学成分的差异

由仿红茶调制工艺烟叶与常规烤烟化合物含量分布(图 1)可看出，试验样本与对照样本中化合物含量存在差异。基于统计分析，将对照样本化合物含量与试验样本化合物含量相差超过三倍标准差的化合物，作为对照样本与试验样本间的差异化合物，共鉴定到 2380 种差异化合物，如亚油酸、亚麻酸、油酸、亚油酸甘油、十六酰胺、水仙苷、L–精氨酸、6–羟基氰基、2,3'–联吡啶、金丝桃苷等，占化合物总数的 43.26%，其中 LC–MS 共检出 2303 种差异化合物，GC–MS 共检出 77 种差异化合物。

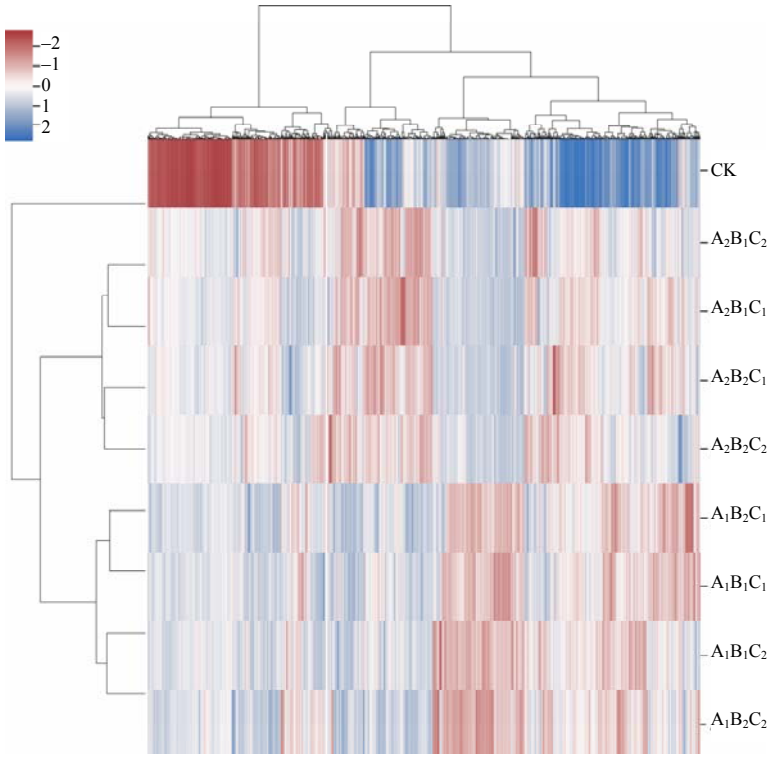



图 1 仿红茶工艺调制烟叶与常规烤烟化合物含量分布热图

**Fig.1 Heat map of compound content distribution in flue-cured tobacco leaves by imitating black tea process and in conventional flue-cured tobacco leaves**

## 2.3 影响仿红茶调制工艺烟叶化合物含量的主要因素

通过仿红茶工艺参数(凋萎方式、发酵温度、发酵时间、烘干条件)与化合物含量的皮尔森相关系数来反映各因素对烟叶样本中化合物含量的影响，相关系数大于 0.5 且相关系数显著性小于 0.05，则认为该参数与该化合物相关。萎凋方式(A)与 2595 种化合物含量相关，占比 47%；发酵时间(B)与 196 种化合物相关；干燥条件(C)与 490 种化合物相关。说明与发酵时间和干燥条件相关的化合物数量相对较少，因此，覆膜萎凋和烤房萎凋是影响烟叶样本中化合物含量的主要因素。

根据聚类结构(图 2)，将试验处理分为两大类：$A_1B_1C_1$、$A_1B_1C_2$、$A_1B_2C_1$、$A_1B_2C_2$ 称为 F 类；$A_2B_1C_1$、$A_2B_1C_2$、$A_2B_2C_1$、$A_2B_2C_2$ 称为 C 类。该分类结果与烟叶样本的前处理方案对应，即 F 类样本的萎凋方式为覆膜萎凋，C 类样本的萎凋方式为烤房萎凋。该结果表明烤房萎凋和覆膜萎凋对烟叶样本中的化合物含量有显著影响。

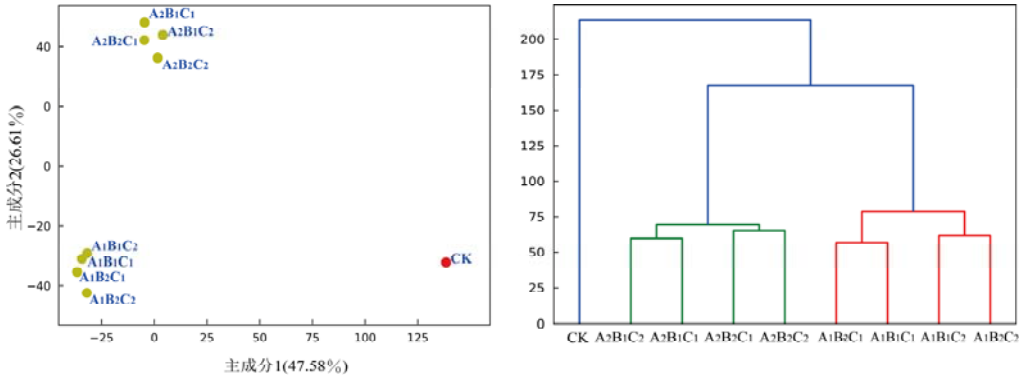
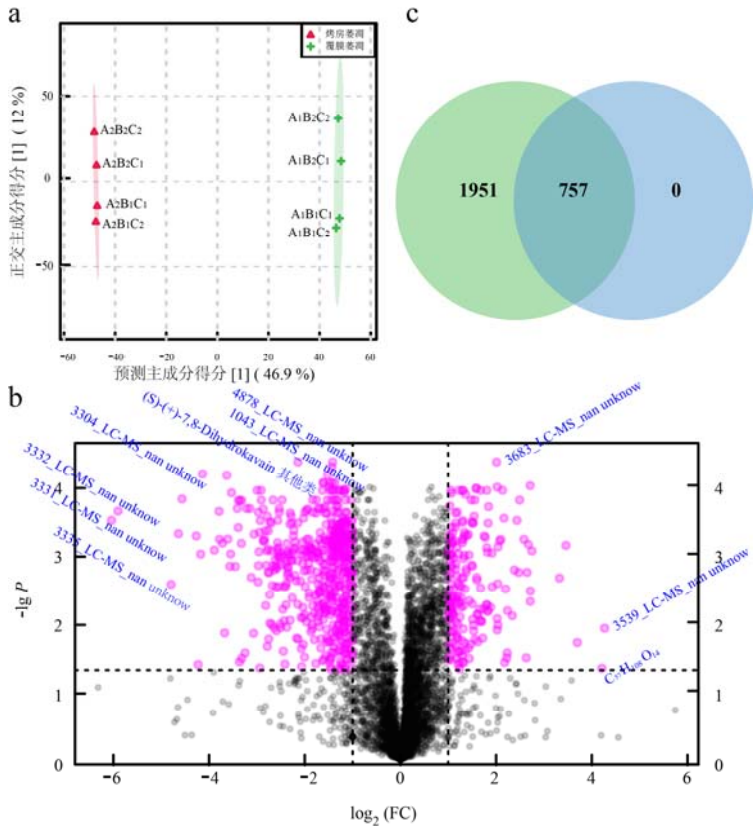



图 2　仿红茶调制工艺烟叶样本的主成分分析与聚类分析结果

**Fig.2　PCA and HCA analysis of tobacco samples prepared imitating black tea modulation process**

## 2.4　仿红茶调制不同工艺烟叶的差异化合物

由图 3 可知，利用 OPLS–DA 差异检验方法鉴定到 2708 种标志性化合物(图 3–a)，烤房萎凋样品分布在置信区间左侧，覆膜萎凋样品分布在置信区间右侧，2 类样品区分效果非常明显；利用倍性变化与 *t* 检验鉴定到 757 种差异化合物(图 3–b)；整合 2 种差异化合物鉴定方法的结果，共鉴定出关键差异化合物 757 种(图 3–c)。




a　基于 OPLS–DA 方法鉴定差异化合物的得分图；b　基于倍性变化与 *t* 检验鉴定差异化合物的火山图；c　综合 2 种方法鉴定到的差异化合物的维恩图。

图 3　不同萎凋方式烘烤烟叶的差异化合物

**Fig.3　Differential compounds in tobacco samples with different withering methods**

针对鉴定到的共同差异化合物(前 25 种)进一步进行热图(图 4)展示，有 7 种差异化合物在烤房萎凋时上调，18 种差异化合物下调，而覆膜萎凋反之。随机选取 4 种化合物展示萎凋方式间化合物的相对含量，结果表明烟叶烤房和覆膜萎凋主要影响黄酮、多酚、脂质、生物碱、氨基酸等的含量。

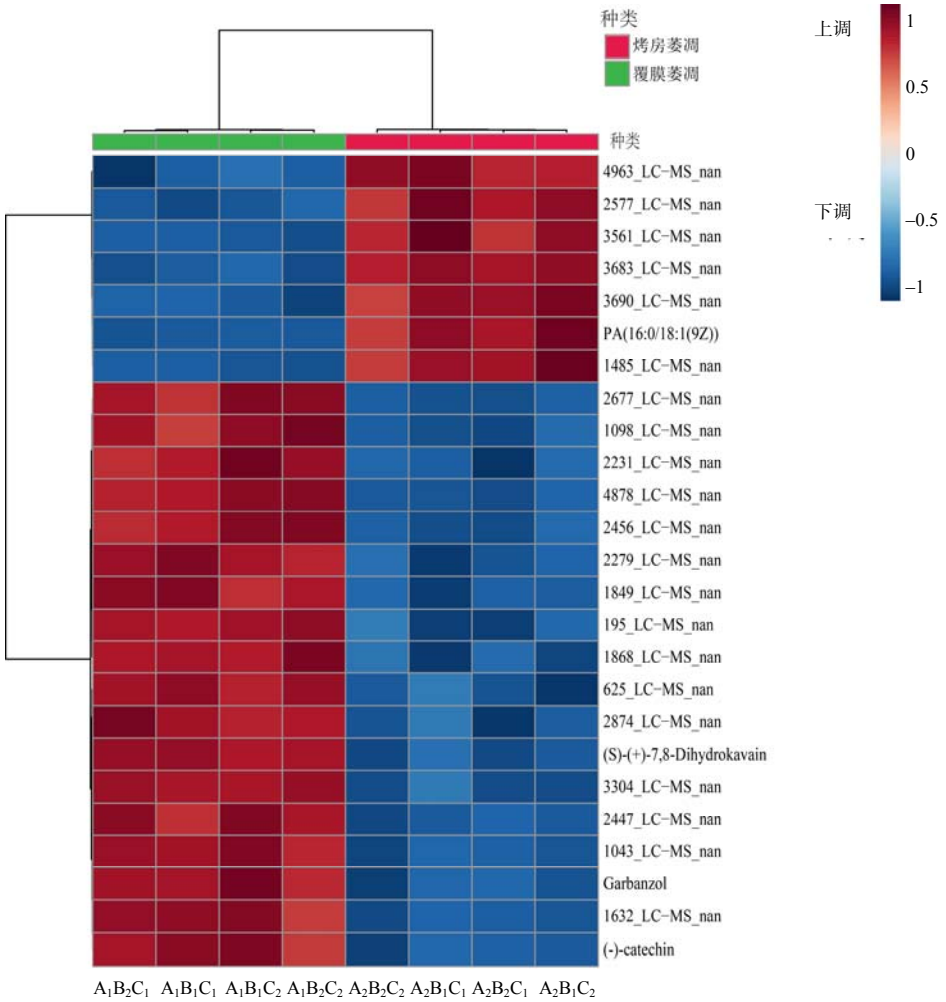



图 4 仿红茶调制工艺样本不同萎凋方式的差异化合物(前 25)的热图聚类

**Fig.4 Thermogram clustering of differential compounds(top25) in samples(prepared imitating black tea preparation process) with different withering methods**

## 3 结论与讨论

本研究结果表明，仿红茶调制工艺烟叶与常规烘烤烟叶有 2380 种差异化合物，占化合物总量的 43.26%，说明仿红茶调制工艺烟叶与常规烘烤 2 种调制方法区别较大；比较萎凋方式、发酵时间和干燥方式，萎凋方式对烟叶化合物含量影响最大，有 2595 种化合物含量与其有显著相关性，占比 47%。这与烟叶烘烤过程中萎凋期作用类似，董志坚等[11]的研究表明，萎凋期的主要作用是使烟叶内部大分子物质充分代谢，形成香气前体物质，使烟叶香气更加醇和。武圣江[12]认为，萎凋期是烟叶调制过程中生理生化变化最为关键的步骤之一，对烟叶品质的形成至关重要。这说明不论是常规烘烤还是仿红茶调制工艺试制，萎凋都是极为重要的调制步骤。合理的萎凋可以调控烟叶内相关酶活性，从而控制烟叶内部大分子物质的降解速度和降解程度，并控制烟叶细胞水平的脂膜破坏时间和程度，保障烟叶酶促反应的正常进行[13]，由此可推断萎凋是烟叶调制过程中主要香气物质的形成时期。从评吸结果来看，烤房萎凋烟叶多具有青杂气，而覆膜萎凋具有干草香等特征香气。综合来看，覆膜萎凋效果好于烤房萎凋的。

发酵时间对烟叶化合物含量影响较小，这可能与试验设置有关。本研究结果也表明，有 490 种化合物与干燥方式有显著相关性，与萎凋方式相比较少；而从评吸结果来看，2 种干燥方式结果差异较大，两段式烘干有干草香等特征香气，且与传统烤烟评吸具有较大不同，说明干燥方式不仅影响烟叶香气成分物质和常规化学成分，还影响烟叶的香气量、香气质和刺激性等感官评吸质量。

## 参考文献：


[1] 杨树勋．植物叶片衰老机理及在烟叶生产上的应用[J]．作物研究，2018，32(1)：90–96.
YAN S X. Mechanisms of plant senescence and their application in tobacco leaf production[J]. Crop Research，2018，32(1)：90–96.

[2] 朱乾兰．烟叶烘烤加工原理及技术[J]．现代农业科技，2020(3)：221.
ZHU Q L. Principle and technology of tobacco curing[J]. Modern Agricultural Science and Technology，2020(3)：221.

[3] 赵晓军，符云鹏，侯振武，等．调制方法对吉林晒红烟品质的影响[J]．烟草科技，2020，53(10)：10–20.
ZHAO X J，FU Y P，HOU Z W，et al. Effects of curing methods on quality of dark sun-cured tobacco in Jilin[J]. Tobacco Science & Technology，2020，53(10)：10–20.

[4] 詹军，樊军辉，宋朝鹏，等．密集烤房研究进展与展望[J]．南方农业学报，2011，42(11)：1406–1411.
ZHAN J，FAN J H，SONG C P，et al. Comparative analysis of bulk curing barn and traditional flue-curing barn[J]. Journal of Southern Agriculture，2011，42(11)：1406–1411.

[5] 薛金金，尹鹏，张建勇，等．工夫红茶品质化学成分及加工工艺研究进展[J]．食品研究与开发，2020，41(18)：219–224.
XU J J，YIN P，ZHANG J Y，et al. Research progress on quality-related chemical components and processing technology of congou black tea[J]. Food Research and Development，2020，41(18)：219–224.

[6] 张娅楠，欧伊伶，覃丽，等．红茶中香气物质的形成及工艺对其影响的研究进展[J]．食品工业科技，2019，40(11)：351–357.
ZHANG Y N，OU Y L，QIN L，et al. Research progress on the formation of aroma substances and its influence of processes in black tea[J]. Science and Technology of Food Industry，2019，40(11)：351–357.

[7] 周天山，米晓玲，余有本，等．陕南春季工夫红茶加工工艺优化[J]. 西北林学院学报，2016，31(5)：154–164.
ZHOU T S，MI X L，YU Y B，et al. Optimization of the processing techniques for shannan gongfu black tea in spring[J]. Journal of Northwest Forestry University，2016，31(5)：154–164.

[8] 温立香．广西金秀野生茶加工工艺优化及品质分析[J]．食品研究与开发，2019，40(9)：87–94.
WEN L X. Process optimization and quality analysis for wild tea in Jinxiu county of Guangxi[J]. Food Research and Development，2019，40(9)：87–94.

[9] 汪伯军，江厚龙，许安定，等．三段六步式烘烤工艺研究及应用初报[J]. 西南大学学报(自然科学版)，2014，36(8)：189–193.
WANG B J，JIANG H L，XU A D，et al. Development of a three-stage and six-step curing technology for flue-cured tobacco and its application[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences，2014，36(8)：189–193.

[10] 郑庆霞，刘萍萍，陈霞，等．基于气质和液质联用技术的烟草鲜烟叶代谢组学分析流程[J]．烟草科技，2019，52(6)：59–71.
ZHENG Q X，LIU P P，CHEN X，et al. Metabolomic workflow and analysis of fresh tobacco leaves based on GC-MS and LC-MS[J]. Tobacco Science & Technology，2019，52(6)：59–71.

[11] 董志坚，陈江华，宫长荣．烟叶烘烤过程中不同变黄和定色温度下主要化学组成变化的研究[J]．中国烟草科学，2000，21(3)：21–24.
DONG Z J，CHEN J H，GONG C R. Study on changes of main chemical components in flue-cured tobacco leaf under different yellowing and colour-fixing temperature[J]. Chinese Tobacco Science，2000，21(3)：21–24.

[12] 武圣江．烤烟烘烤变黄期优质烟叶形成的蛋白质组学研究[D]．贵阳：贵州大学，2020.
WU S J. Proteomic analysis of flue-cured tobacco leaves during the yellowing stage reveals the formation mechanism of high quality[D]. Guiyang：Guizhou University，2020.

[13] 高相彬，宗胜杰，孟智勇，等．变黄期温湿度对豫烟 10 号碳代谢及烤后品质的影响[J]．西南农业学报，2019，32(10)：2454–2458.
GAO X B，ZONG S J，MENG Z Y，et al. Effect of temperature and humidity during yellowing stage on carbon metabolism and cured quality of Yuyan10[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences，2019，32(10)：2454–2458.


责任编辑：罗慧敏
英文编辑：罗　维