DOI:10.12441/spyswjs.20230509005 [文章编号] 1673-1689(2024)11-0163-10

固态发酵对烟丝中挥发性风味物质的影响

卢 婷 李 勇 李韶阳 王 猛 朱保昆 张 伟*

(云南中烟工业有限责任公司,云南 昆明 650231)

摘要:采用酿酒酵母在不同条件下对烟丝进行固态发酵以获得具有不同风味的烟丝,分析了发酵烟丝中总挥发性风味物质质量分数最高的3个条件下烟丝的致香成分。结果表明,经不同条件固态发酵后,烟丝中的醇类、芳香类、酮类、酯类、醛类、酸类和杂环类致香成分质量分数均明显增加。在25 ℃、料液比1 g∶1 mL、接种质量分数1.0%、发酵时间36 h的条件下,以及25 ℃、料液比1 g∶1 mL、接种质量分数2.0%或3.0%、发酵时间24 h的条件下,发酵烟丝能够获得较多的挥发性风味物质。此外,烟丝中金合欢醇、糠醇、苯乙醇、愈创木酚、巨豆三烯酮、大马酮和二氢猕猴桃内酯等经典致香物质在不同条件下均有不同程度变化。利用该酿酒酵母发酵得到的酿香风味烟丝可丰富烟丝品类。该研究为商业酵母在烟丝发酵中的应用、特色风味卷烟的生产和烟丝品质的提升提供了依据。

关键词:烟丝;酿酒酵母;固态发酵;致香成分

Effects of Solid-State Fermentation on Volatile Flavor Compounds in Cut Tobacco

*LU Ting LI Yong LI Shaoyang WANG Meng ZHU Baokun ZHANG Wei**

(China Tobacco Yunnan Industrial Co., Ltd., Kunming 650231, China)

Abstract: Solid-state fermentation of cut tobacco was conducted with a commercial brewer's yeast strain under different conditions to obtain the products with different flavors. The different aroma compounds in the fermented cut tobacco under the three conditions with the highest mass fraction of total volatile flavor compounds were analyzed. The results showed that the mass fractions of alcohols, aromatics, ketones, esters, aldehydes, acids, and heterocyclic compounds were significantly increased in the cut tobacco after solid-state fermentation under different conditions. More flavor compounds were obtained after fermentation with a solid-to-liquid ratio of 1 g:1 mL and an inoculum amount of 1.0% at 25 ℃ for 36 h and fermentation with a solid-to-liquid ratio of 1 g:1 mL and an inoculum amount of 2.0% or 3.0% at 25 ℃ for 24 h. In addition, the mass fractions of classical aroma compounds such as (*E*,*E*)-farnesol, furfuryl alcohol, phenethyl alcohol, guaiacol, tabanone, damascenone, and dihydroactinidiolide varied in the cut tobacco fermented under different conditions. The cut tobacco products with special flavors that were obtained after fermentation with the yeast strain can enrich cut tobacco products. The results provide a basis for the application of commercial yeast in cut tobacco fermentation as well as the production of cigarettes with special flavors and the improvement of cut tobacco quality.

Keywords: cut tobacco; brewer's yeast; solid-state fermentation; aroma compounds

烟叶加香是卷烟工艺中不可或缺的部分,对卷烟品质和风味的形成影响较大[1]。烟叶的致香成分大致分为醇类、酯类、酮类、醛类、芳香类、酸类等[2],其种类繁多、成分复杂,一直以来都是烟叶香味领域的重点和难点之一。

近年来,微生物发酵技术在烟草行业中的应

基金项目:云南中烟科技项目(JB2022YL01);云南大观实验室项目(YNDG202301GJ01);云南中烟科技项目(2024YL04)。
通信作者:张伟(1979—),男,硕士,副研究员,主要从事产品开发与卷烟调香技术研究。E-mail:zhwei7908@139.com
收稿日期:2023-05-09 **修回日期:**2023-06-13

用愈发广泛，其中利用微生物发酵技术来制备烟用香料逐渐成为烟草业的热点之一[2]。目前，通过接种微生物人工控制发酵过程改善烟草质量和风味已有大量研究，不仅可以接种单株微生物完成发酵，还可以通过接种两种或多种微生物共同发酵以达到效果，这种发酵称为混菌发酵[1,3-4]。研究表明，混菌发酵在提升产品品质方面明显优于单菌发酵[5]。在发酵过程中，烟叶中的化学成分在微生物酶的作用下进行复杂的合成、分解和代谢，形成大量的终产物，包括多种致香成分[6]。

烟丝发酵可以明显提高烟草品质和改善卷烟香气，是增加烟叶特殊香气的重要方法。在烟叶醇化期间，通过添加微生物进行发酵，可以增加发酵出的特殊香气[7]。烟叶的来源、品种、等级、发酵菌种的选择、发酵时间、发酵温度、接种质量分数等均会影响烟叶醇化效果[2,8-9]。此外，有较多研究报道微生物发酵还可以改变烟叶中的蛋白质、还原糖、有机酸等物质[10-12]。

固态发酵技术处理烟叶是目前改善烟叶品质的重要方法之一，芽孢杆菌和酵母菌是烟叶固态发酵中的常用菌株[12-15]，其遗传背景信息清晰，是发酵常用的食品安全菌株[16]。目前，商业酵母菌在烟丝发酵中的应用报道较少。作者选取一种商业酵母菌（酿酒酵母 SY），通过固态发酵方式，设定不同发酵条件（温度、时间、接种质量分数和料液比），分析发酵烟丝的风味变化，以期为商业酵母对发酵烟丝风味的影响提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

酵母浸出粉胨葡萄糖（YPD）液体培养基：酵母粉 1 g，胰蛋白胨 2 g，葡萄糖 2 g，去离子水定容至 100 mL，115 ℃条件下灭菌 20 min，用于酵母菌的培养。

YPD 固体培养基：酵母粉 1 g，胰蛋白胨 2 g，葡萄糖 2 g，琼脂粉 2 g，去离子水定容至 100 mL，115 ℃条件下灭菌 20 min，用于酵母菌的分离。

烟叶固体培养基：3 号烟丝粉末 2 g，琼脂粉 2 g，去离子水定容至 100 mL，115 ℃条件下灭菌 20 min，用于驯化酵母菌，使菌株适应烟叶基质的生长环境。

3 号烟丝：云南中烟工业有限责任公司；酿酒酵母 SY：安琪酵母股份有限公司；琼脂粉、葡萄糖：国药集团化学试剂有限公司；酵母粉、胰蛋白胨：生工生物工程（上海）股份有限公司；2-甲基-3-庚酮：北京百灵威科技有限公司。

1.2 仪器与设备

气相色谱-质谱联用仪（GC-MS）：QP2020NX 型，日本岛津公司；电子天平：PR2202ZH/E 型，奥豪斯仪器（常州）有限公司；振荡培养箱：ZQZY AF8ES 型，上海知楚仪器有限公司；洁净工作台：SW-CJ-1FD-II 型，苏州安泰空气技术有限公司；霉菌培养箱：MJP-150 型，上海精宏实验设备有限公司；立式压力蒸汽灭菌器：BXM-110VE 型，上海博迅医疗生物仪器股份有限公司；电热恒温鼓风干燥箱：DGG-9240B 型，上海森信实验仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 酿酒酵母 SY 的活化与驯化培养

取一定量的酵母粉，加入适量的温水化开，用接种环蘸取一环接种液涂布于 YPD 固体培养基平板上，在培养箱（30 ℃）中活化培养 48 h。将长出的单菌落转接于 YPD 液体培养基中，30 ℃摇床培养 24 h，用接种环蘸取一环涂布于烟叶固体培养基平板上，30 ℃培养 72 h。挑取烟叶固体培养基上的单菌落，将其转移至新的烟叶平板上培养，即菌株代次增加一代。在烟叶固体培养基上驯化培养至第三代，即 F3。

1.3.2 发酵菌株的制备

挑取驯化培养至 F3 的单菌落置于 YPD 液体培养基中，30 ℃振荡培养 24 h，得到酵母菌种子液。于 4 ℃、10 000 r/min 条件下离心 10 min，去除上清液，发酵菌株沉淀用无菌水清洗并离心 2 次。

1.3.3 烟丝固态发酵单因素试验设计

1）发酵时间：取 4 g 烟丝置于培养皿里，喷洒含 40 mg 发酵菌株的去离子水 4 mL，即接种质量分数为 1.0%，于 30 ℃下分别发酵 12、24、36、48 h。

2）发酵温度：取 4 g 烟丝置于培养皿里，喷洒含 40 mg 发酵菌株的去离子水 4 mL，即接种质量分数为 1.0%，分别于 20、25、30 ℃下发酵 24 h。

3）接种质量分数：取 4 g 烟丝置于培养皿里，分别喷洒含 20、40、80、120 mg 发酵菌株的去离子

水 4 mL，即接种质量分数分别为 0.5%、1.0%、2.0%、3.0%，于 30 ℃下发酵 24 h。

4）料液比：取 4 g 烟丝置于培养皿里，分别喷洒含 40 mg 发酵菌株的去离子水 2.7、4.0、5.3、8.0 mL（料液比分别为 3 g∶2 mL、1 g∶1 mL、3 g∶4 mL、1 g∶2 mL），即接种质量分数为 1.0%，于 30 ℃下发酵 24 h。

烟丝发酵单因素试验具体分组见表 1，发酵试验结束后密封培养皿，置于 4 ℃下终止发酵并保存待用。以未经过发酵的烟丝样品作为对照组。

表 1　烟丝固态发酵单因素试验设计

Table 1　Design of single factor experiments for solid-state fermentation of cut tobacco

组别	发酵条件
第 1 组	发酵 12 h，30 ℃，接种质量分数 1.0%，料液比 1 g∶1 mL
第 2 组	发酵 24 h，30 ℃，接种质量分数 1.0%，料液比 1 g∶1 mL
第 3 组	发酵 36 h，30 ℃，接种质量分数 1.0%，料液比 1 g∶1 mL
第 4 组	发酵 48 h，30 ℃，接种质量分数 1.0%，料液比 1 g∶1 mL
第 5 组	发酵 24 h，20 ℃，接种质量分数 1.0%，料液比 1 g∶1 mL
第 6 组	发酵 24 h，25 ℃，接种质量分数 1.0%，料液比 1 g∶1 mL
第 7 组	发酵 24 h，30 ℃，接种质量分数 1.0%，料液比 1 g∶1 mL
第 8 组	发酵 24 h，30 ℃，接种质量分数 0.5%，料液比 1 g∶1 mL
第 9 组	发酵 24 h，30 ℃，接种质量分数 1.0%，料液比 1 g∶1 mL
第 10 组	发酵 24 h，30 ℃，接种质量分数 2.0%，料液比 1 g∶1 mL
第 11 组	发酵 24 h，30 ℃，接种质量分数 3.0%，料液比 1 g∶1 mL
第 12 组	发酵 24 h，30 ℃，接种质量分数 1.0%，料液比 1 g∶2 mL
第 13 组	发酵 24 h，30 ℃，接种质量分数 1.0%，料液比 3 g∶4 mL
第 14 组	发酵 24 h，30 ℃，接种质量分数 1.0%，料液比 1 g∶1 mL
第 15 组	发酵 24 h，30 ℃，接种质量分数 1.0%，料液比 3 g∶2 mL

1.3.4　发酵烟丝香气成分的测定

将 0.5 g 粉碎后的烟叶样品置于萃取瓶中，利用萃取小柱于 70 ℃分离挥发性风味化合物 30 min。随后将样品输入气相色谱仪中，在萃取时使用 2-甲基-3-庚酮作为内标，进行挥发性风味物质的定量分析。通过对比各个挥发性风味物质与内标的峰面积，可以得出各挥发性风味物质的质量分数。GC-MS 条件：DB-WAX 毛细管柱（30 m×0.25 mm×0.25 μm），载气流量 0.8 mL/min，进样口（分流）温度 250 ℃。柱温升温程序：40 ℃保持 3 min，然后以 5 ℃/min 升温至 90 ℃，再以 10 ℃/min 升温至 250 ℃。质谱为电子轰击模式（EI），离子能为 70 eV，质谱采集范围 *m*/*z* 为 33~450，离子源温度为 250 ℃。

1.3.5　烟丝的加香评价

根据 YC/T 415—2011《烟草在制品 感官评价方法》对固态发酵后的第 3、10、11 组烟丝进行感官评价。以未经过发酵的烟丝样品作为对照组，把第 3、10、11 组烟丝装至密封袋中，60 ℃烘干 30 min，分别制成卷烟。由专业人员以香气量、香气质、杂气、刺激性、浓度、劲头、余味为指标进行感官评价。

2　结果与讨论

2.1　菌株驯化培养结果

对微生物进行驯化能促进其适应人造发酵环境，在食品、饮料的发酵中具有重要意义[17]。酿酒 SY 菌株从第一代至第三代（F1 至 F3）的驯化菌落见图 1，菌株缓慢适应了烟叶培养基，在相同的生长时间下，单菌落逐渐变大、变密，因此推测该菌株适应了仅由烟草提供碳、氮、糖等营养源的环境，逐渐拥有适应生长环境的能力或提升了长期忍耐营养匮乏的能力，可在烟草中生长发酵。

2.2　发酵条件对挥发性风味物质种类和质量分数的影响

烟丝经过不同条件发酵后，其中的总挥发性风味物质和各类挥发性风味物质种类和质量分数见图 2。从第 1 组到第 15 组的发酵烟丝中总挥发性风味物质质量分数分别是对照组（未发酵烟丝）的 2.36 倍、3.97 倍、9.55 倍、4.11 倍、4.49 倍、4.37 倍、2.76 倍、3.56 倍、5.36 倍、6.58 倍、8.56 倍、2.50 倍、3.62 倍、5.36 倍、5.62 倍。从挥发性风味物质的种类来看，未发酵烟丝和发酵烟丝中检测到的风味物质种类为 83~113 种，主要分为醇类、芳香类、酮类、酯类、醛类、酸类、杂环类等致香成分，其中醇类、酮类、酯类、芳香类物质种类较多。尽管第 3、10、11 组中挥发性风味物质种类不是最多的，但是其中的挥发性风味物质质量分数增加的最多。因此，选取第 3、10、11 组作为重点风味分析对象，进行各类挥发性风味物质的深度分析。

2.3　发酵条件对醇类物质种类和质量分数的影响

不同发酵条件对醇类物质种类和质量分数的影响见表 2。第 3、10、11 组的总醇类物质质量分数分别是对照组的 58.94 倍、43.15 倍、40.40 倍。其

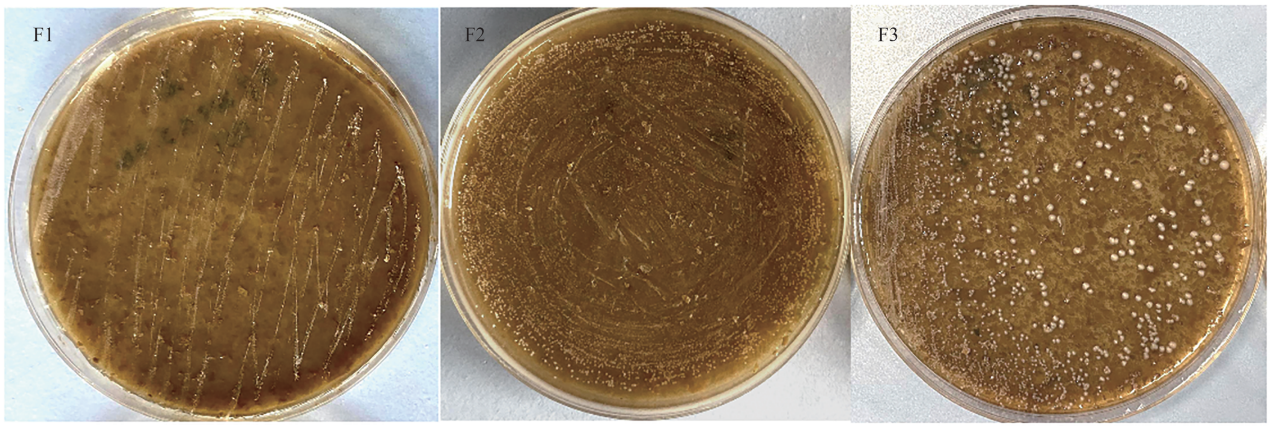


图 1　不同培养代次的酿酒酵母 SY 在烟叶培养基上驯化的菌落

Fig. 1　Colonies of *Saccharomyces cerevisiae* SY cultured on tobacco media for different generations

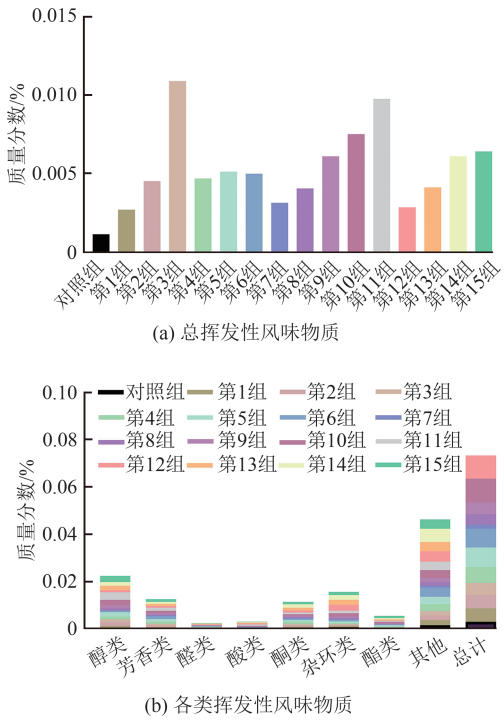


图 2　发酵条件对挥发性风味物质种类和质量分数的影响

Fig. 2　Effects of fermentation conditions on the types and mass fractions of volatile flavor compounds

中烟丝经过发酵后，乙醇、3-甲基-1-丁醇、芳樟醇和香叶醇等物质的质量分数明显增加。3-甲基-1-丁醇质量分数较对照组增加了 363.62~427.78 倍，产生了明显的白兰地香气和苹果香味。此外，芳樟醇和香叶醇质量分数明显增加，为烟丝带来了新鲜的百合香味和玫瑰气味。仅在第 10 组检测到 3，7，11-三甲基-2，6，10-十二碳三烯-1-醇（金合欢醇）和 3，7-二甲基-1，6-壬二烯-3-醇（乙基芳樟醇），使发酵烟丝具有甜香气味和温和的玫瑰气味。在第 3 组中产生了 1-辛烯-3-醇，这为烟丝增加了蘑菇味和泥土味。此外，在第 3 组和第 10 组中未检出 2-呋喃甲醇（糠醇），而在第 11 组中糠醇质量分数增加了 2.57 倍，这可以增加甜香气味，有效改善烟丝品质[11,15]。

2.4　发酵条件对芳香类物质种类和质量分数的影响

不同发酵条件对芳香类物质种类和质量分数的影响见表 3。第 3、10、11 组的总芳香类物质质量分数分别是对照组的 17.30 倍、12.63 倍、17.39 倍。烟丝经过发酵后，苯乙醇、对甲酚和苯甲醇等物质质量分数明显增加。第 3、10、11 组相比对照组具有更加明显的玫瑰花香，其苯乙醇质量分数分别增加了 16.11 倍、13.23 倍、19.03 倍。对甲酚作为一种烟用香料，在这 3 组中的质量分数分别增加了 5.08 倍、3.64 倍、4.73 倍。此外，仅在第 3 组中产生了苯甲醛、苯乙醛和苯乙酸甲酯，增加了烟丝独特的花香和甜味。第 3、10、11 组中发现了苯甲醇，其能够产生令人愉快的甜味和果味芳香[11]。值得注意的是，在经过发酵后，可作为烟用香料的 2-甲氧基苯酚（愈创木酚）并未被检测到，这可能是由于微生物酶的作用导致其被完全消耗。

2.5　发酵条件对酮类物质种类和质量分数的影响

不同发酵条件对酮类物质种类和质量分数的影响见表 4。酮类物质是赋予烟叶细腻、清香品质的主要成分[18]。第 3、10、11 组的总酮类物质质量分数分别是对照组的 10.36 倍、5.90 倍、5.90 倍。3 组中的巨豆三烯酮质量分数分别

表2　发酵条件对醇类物质种类和质量分数的影响

Table 2　Effects of fermentation conditions on the types and mass fractions of alcohols

醇类物质	对照组醇类物质的质量分数/（ng/g）	第3组醇类物质的质量分数/（ng/g）	第10组醇类物质的质量分数/（ng/g）	第11组醇类物质的质量分数/（ng/g）
乙醇	—	23 250.09	13 210.91	12 743.68
1-丁醇	—	191.40	97.02	132.23
1-己醇	—	—	46.92	—
1-壬醇	—	136.52	—	75.02
1-戊醇	—	—	—	23.60
2,3-丁二醇	25.07	—	—	—
(2*R*,3*R*)-(−)-2,3-丁二醇	—	967.13	511.90	336.77
2-己基-1-癸醇	—	—	175.05	—
2-甲基-1-丙醇	—	740.29	1 053.53	1 009.25
2-乙基-1-丁醇	—	62.08	—	66.10
2-乙基-1-己醇	50.67	70.28	171.58	27.36
3-己烯-1-醇	51.33	73.98	37.19	—
3-甲基-1-丁醇	18.37	6 696.28	7 277.01	7 876.74
3-甲基-1-戊醇	—	—	32.20	27.81
6-甲基-5-庚烯-2-醇	—	168.08	155.68	—
R-1,2-丙二醇	—	—	131.62	—
2-丁基-1-辛醇	—	—	227.56	—
2-呋喃甲醇	24.90	—	—	88.86
2-甲基-6-庚烯-1-醇	20.71	—	—	—
(*S*)-4-甲基-1-己醇	51.47	89.46	121.89	46.81
1-丙醇	—	229.95	—	—
1-辛烯-3-醇	—	42.36	—	—
芳樟醇	80.44	294.48	260.58	145.76
香叶醇	—	89.79	100.17	49.04
正十三醇	21.22	—	—	—
3,3,5-三甲基环己醇	59.99	—	—	—
3,4-二甲基环己醇	37.84	—	—	—
3,5-二甲基-2-辛醇	—	64.19	—	—
(*E*,*Z*)-3,6-壬二烯-1-醇	32.79	86.52	167.47	77.09
3,7,11-三甲基-2,6,10-十二碳三烯-1-醇	—	—	56.74	—
3,7-二甲基-1,6-壬二烯-3-醇	—	—	510.33	—
A,2,6,6-四甲基-1-环己烯-1-丙醇	89.35	—	—	64.68

是对照组的1.68倍、1.31倍、1.52倍。巨豆三烯酮是烟草中常见的致香成分，可以有效增强烟香、改善烟气，增加舒适度和减少刺激感[1]。第3组和第10组中的2,6,6-三甲基-2-环己烯-1,4-二酮（茶香酮）质量分数分别是对照组的1.80倍和1.62倍，提高了烟草的特殊茶香味。在第11组中未检出茶香酮，但检测到了丁二酮，赋予烟草明显的奶香气味。二氢-5-戊基-2(3H)-呋喃酮质量分数分别增加了5.64倍、4.50倍、3.82倍，其具有桃、杏、李、草莓的果香型风味。此外，作为增加烟香和清新香气的主要成分[15]，第3组和第11组烟丝中1-(2,6,6-三甲基-1-环己

表 3 发酵条件对芳香类物质种类和质量分数的影响

Table 3 Effects of fermentation conditions on the types and mass fractions of aroma compounds

芳香类物质	对照组芳香类物质的质量分数/(ng/g)	第 3 组芳香类物质的质量分数/(ng/g)	第 10 组芳香类物质的质量分数/(ng/g)	第 11 组芳香类物质的质量分数/(ng/g)
苯乙醇	430.88	7 374.40	6 131.49	8 631.92
苯乙醚	156.90	—	—	—
对甲酚	44.60	270.95	206.84	255.38
2-甲氧基苯酚	43.88	—	—	—
2-甲基苯酚	26.55	—	—	—
3-乙基苯酚	25.07	—	94.08	100.65
苯乙烯	—	561.72	774.10	877.56
苯甲醛	—	701.31	—	—
苯乙醛	—	297.34	—	—
苯甲酸乙酯	—	463.24	—	343.93
苯乙酸甲酯	—	138.20	—	—
苯甲醇	—	2 784.42	1 498.33	2 448.87
乙氧基苯	—	—	488.27	—

表 4 发酵条件对酮类物质种类和质量分数的影响

Table 4 Effects of fermentation conditions on the types and mass fractions of ketones

酮类物质	对照组酮类物质的质量分数/(ng/g)	第 3 组酮类物质的质量分数/(ng/g)	第 10 组酮类物质的质量分数/(ng/g)	第 11 组酮类物质的质量分数/(ng/g)
乙偶姻	—	4 083.15	2 333.85	1 695.65
巨豆三烯酮	152.40	256.37	199.49	232.20
丁二酮	—	—	—	86.04
8-甲基-5-(1-甲基乙基)-6,8-壬二烯-2-酮(*E*)	439.26	3 320.99	2 948.30	1 979.43
6-甲基-5-庚烯-2-酮	26.54	695.07	164.60	165.03
6,10,14-三甲基-2-十五烷酮	13.12	88.50	75.53	74.95
6,10,14-三甲基-5,9,13-十五碳三烯-2-酮	—	52.11	—	—
3-羟基-*β*-大马酮	7.25	—	31.33	—
2-壬酮	—	—	28.02	—
2-哌啶酮	—	—	—	30.97
1-(2,6,6-三甲基-1,3-环己二烯-1-基)-2-丁烯-1-酮	47.42	294.76	272.32	230.41
2,6,6-三甲基-2-环己烯-1,4-二酮	54.49	97.88	88.28	—
2,3-戊二酮	—	—	80.91	194.05
2,3-己二酮	—	—	—	36.82
1-羟基-2-丙酮	—	145.56	136.10	93.16
1-(2,6,6-三甲基-1-环己烯-1-基)-2-丁烯-1-酮	72.76	441.87	—	230.17
1-(1H-吡咯-2-基)乙酮	120.10	435.37	—	537.51
(*E*)-6,10-二甲基-5,9-十一二烯-2-酮	142.54	1 338.51	—	793.52
二氢-5-戊基-2(3H)-呋喃酮	28.28	187.71	155.47	136.17

烯-1-基)-2-丁烯-1-酮(大马酮)质量分数较对照组分别提高了 5.07 倍和 2.16 倍,可以改善粗劣气[6],而第 10 组中未检测到大马酮。

2.6 发酵条件对酯类物质种类和质量分数的影响

不同发酵条件对酯类物质种类和质量分数的影响见表 5。第 3、10、11 组的总酯类物质质量分数

分别是对照组的8.15倍、8.03倍、12.00倍。对照组和第3、10、11组中酯类物质的种类分别为7、7、15、25种，尤其是第11组的酯类物质种类增加明显，对应的质量分数也明显增加，包括其特有的乙酸异丁酯、乙酸乙酯、十二酸乙酯、壬酸乙酯、丁酸乙酯、丙酸乙酯、苯甲酸2-甲基丙酯、3-甲基-1-丁醇丙酸酯和(*E*)-9-十八烯酸乙酯。乙酸乙酯、丁酸乙酯等高级酯类是葡萄酒味香气的重要组成部分[19]，可为烟丝增添酒香风味。此外，乙酸异丁酯、十二酸乙酯、苯甲酸2-甲基丙酯、(*E*)-9-十八烯酸乙酯还能为烟丝增添柔和的水果酯香和鲜花香等。第3组中未发现二氢猕猴桃内酯，而第10组和第11组中二氢猕猴桃内酯质量分数分别是对照组的3.72倍和3.43倍。二氢猕猴桃内酯是烟草中常见的致香成分，具有猕猴桃的清香果味，赋予了烟草清甜味[1]。

表5　发酵条件对酯类物质种类和质量分数的影响

Table 5　Effects of fermentation conditions on the types and mass fractions of esters

酯类物质	对照组酯类物质的质量分数/(ng/g)	第3组酯类物质的质量分数/(ng/g)	第10组酯类物质的质量分数/(ng/g)	第11组酯类物质的质量分数/(ng/g)
乙酸甲酯	229.46	—	—	129.79
正己酸乙烯酯	7.09	—	—	—
乙酸异丁酯	—	—	—	32.05
乙酸乙酯	—	—	—	1 120.96
乙酸苄酯	153.74	—	—	—
乙酸-2-苯乙酯	—	—	1 027.72	593.39
亚油酸乙酯	—	—	21.23	29.15
辛酸乙酯	—	2 301.08	—	—
水杨酸甲酯	—	127.19	135.76	249.84
十四烷酸乙酯	—	—	165.06	102.91
十六烷酸乙酯	—	—	629.55	871.22
十六烷酸甲酯	34.88	—	154.01	259.72
十二酸乙酯	—	—	—	372.55
壬酸乙酯	—	—	—	44.72
壬酸甲酯	22.35	—	—	—
甲酸辛酯	—	101.15	—	—
己酸乙酯	—	21.98	84.15	79.65
癸酸乙酯	—	1 258.97	694.50	583.70
癸酸甲酯	—	105.11	181.65	74.71
丁酸乙酯	—	—	—	316.05
丙酸乙酯	—	—	—	57.87
苯乙酸乙酯	—	375.31	347.68	336.15
苯乙酸甲酯	34.03	—	166.29	126.34
苯甲酸2-甲基丙酯	—	—	—	67.93
9-十六碳烯酸乙酯	—	—	147.79	139.90
3-甲基-1-丁醇乙酸酯	—	—	256.19	435.46
3-甲基-1-丁醇丙酸酯	—	—	—	22.90
亚麻酸乙酯	—	—	49.63	85.84
二氢猕猴桃内酯	45.19	—	168.19	155.04
(*E*)-9-十八烯酸乙酯	—	—	—	30.89

2.7 发酵条件对醛类物质种类和质量分数的影响

不同发酵条件对醛类物质种类和质量分数的影响见表6。经过发酵后，烟丝中醛类物质种类明显下降，第3组中仅检测到壬醛这1种醛类物质。第3、10、11组的总醛类物质质量分数是对照组的97%，第10、11组的总醛类物质质量分数分别是对照组的4.41倍、1.87倍。第10组和第11组中苯乙醛质量分数是对照组的15.71倍和6.00倍，苯甲醛质量分数是对照组的4.07倍和2.81倍，苯乙醛和苯甲醛均具有花果香和蜂蜜香[20]，且苯甲醛还是朗姆酒和白兰地中常用的香精。

2.8 发酵条件对酸类物质种类和质量分数的影响

不同发酵条件对酸类物质种类和质量分数的影响见表7。经过发酵后烟丝中的酸类物质种类明显减少，第3、10、11组分别含有1、2、4种酸类物质，明显少于对照组（10种）。第3组的酸类物质质量分数仅是对照组的7.73%，而第10、11组的酸类物质质量分数分别是对照组的81%和33%。此外，在第11组中检测到了3-甲基丁酸，这为烟丝增添了酒味、水果味和甜香味[6]。

表6 发酵条件对醛类物质种类和质量分数的影响

Table 6 Effects of fermentation conditions on the types and mass fractions of aldehydes

醛类物质	对照组醛类物质的质量分数/（ng/g）	第3组醛类物质的质量分数/（ng/g）	第10组醛类物质的质量分数/（ng/g）	第11组醛类物质的质量分数/（ng/g）
乙醛	—	—	514.22	—
壬醛	140.98	425.20	—	—
癸醛	47.93	—	300.95	48.76
苯乙醛	39.56	—	621.68	237.57
苯甲醛	120.14	—	488.59	337.93
2-丁烯醛	—	—	—	191.89
2,6,6-三甲基-1,3-环己二烯-1-甲醛	74.48	—	—	—
（*E*,*E*）-2,4-庚二烯醛	13.07	—	—	—

表7 发酵条件对酸类物质种类和质量分数的影响

Table 7 Effects of fermentation conditions on the types and mass fractions of acids

酸类物质	对照组酸类物质的质量分数/（ng/g）	第3组酸类物质的质量分数/（ng/g）	第10组酸类物质的质量分数/（ng/g）	第11组酸类物质的质量分数/（ng/g）
醋酸	793.06	—	—	2 981.26
壬酸	153.11	—	—	—
2-甲基丁酸	84.47	—	634.01	—
己酸	72.40	—	—	—
3-甲基戊酸	38.52	—	—	—
正癸酸	37.34	—	—	—
辛酸	26.90	—	—	—
2-甲基丙酸	25.27	97.55	386.73	159.32
（*E*）-2-丁烯酸	21.76	—	—	68.19
苦苣酸	9.36	—	—	—
3-甲基丁酸	—	—	—	193.02

2.9 烟丝加香评价结果

烟丝感官评价结果见图3。与对照组对比，经菌株发酵后烟丝的香气量、香气质明显提高，刺激性降低，劲头变小，口感柔和，浓度和余味略有不足，杂气变化不大，但在一定程度上改善了卷烟吸食的口感。

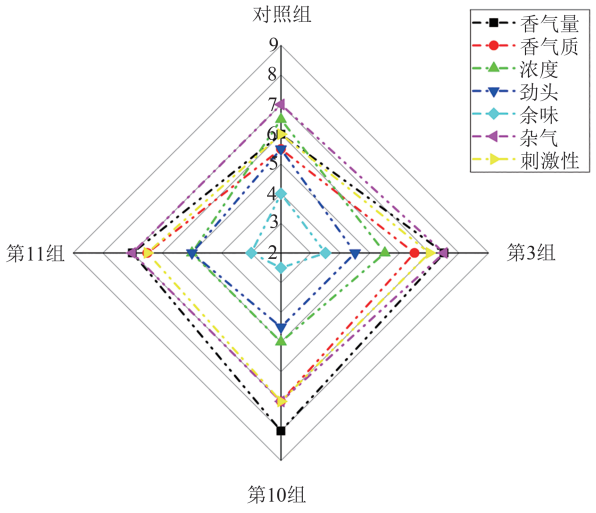


图 3　烟丝加香的感官评价结果

Fig. 3　Sensory evaluation results of flavored cut tobacco

3　结论

作者使用商业酿酒酵母进行烟丝固态发酵，通过不同发酵条件获得具有不同风味的烟丝，分析了总挥发性风味物质质量分数最高的3个条件下烟丝中的致香成分。结果表明，烟丝发酵后各类特征香气成分质量分数均明显增加，这对提高烟丝整体感官品质具有重要作用。在25 ℃、料液比1 g∶1 mL、接种质量分数1.0%、发酵时间36 h的条件下，以及25 ℃、料液比1 g∶1 mL、接种质量分数2.0%或3.0%、发酵时间24 h的条件下，发酵烟丝能够获得较多的风味物质。此外，烟丝中重要的致香成分（如金合欢醇、糠醇、苯乙醇、愈创木酚、巨豆三烯酮、大马酮和二氢猕猴桃内酯等）在不同发酵条件下均有不同程度的变化。利用该酿酒酵母可进行不同条件的固态发酵，从而制备特殊风味的烟丝，丰富烟丝的品类，为商业酵母在烟丝发酵中的应用以及生产特色风味的卷烟提供了新方法。

参考文献

[1] 闫洪洋，黄启蒙，蔡兴华，等. 产香菌株的分离鉴定及其发酵产物在卷烟加香中的应用[J]. 轻工学报，2021，36（6）：47-54.
YAN H Y，HUANG Q M，CAI X H，et al. Isolation and identification of aroma-producing strains and application of fermentation products in cigarette flavoring[J]. Journal of Light Industry，2021，36（6）：47-54.（in Chinese）

[2] 郝捷，季嫱，李力群，等. 生物酶和微生物技术改善烟叶香气的研究进展[J]. 生物技术进展，2022，12（6）：817-824.
HAO J，JI Q，LI L Q，et al. Research progress on improving aroma of tobacco leaf with bio-enzymes and microorganism technology[J]. Current Biotechnology，2022，12（6）：817-824.（in Chinese）

[3] 冯颖杰，袁岐山，杨宗灿，等. 一株鞘氨醇单胞菌对复烤后烟叶多酚物质的降解作用[J]. 中国烟草学报，2019，25（1）：19-24.
FENG Y J，YUAN Q S，YANG Z C，et al. Effect of *Sphingomonas* sp. strain on degradation of polyphenols in redried tobacco leaves[J]. Acta Tabacaria Sinica，2019，25（1）：19-24.（in Chinese）

[4] 徐颖宣，徐尔尼，冯乃宪，等. 微生物混菌发酵应用研究进展[J]. 中国酿造，2008（9）：1-4.
XU Y X，XU E N，FENG N X，et al. Research progress on application of microbial mixed fermentation[J]. China Brewing，2008（9）：1-4.（in Chinese）

[5] 帅瑶，陶菡，田运霞，等. 复合菌种发酵烟叶产酶及挥发性风味物质变化[J]. 河南农业科学，2020，49（10）：162-175.
SHUAI Y，TAO H，TIAN Y X，et al. Changes of enzyme production and volatile flavor compounds in tobacco leaves fermented by mixed starter[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences，2020，49（10）：162-175.（in Chinese）

[6] 叶建斌，齐晓娜，张婷婷，等. 红茶菌发酵制备特色酸香型烟草浸膏[J]. 食品与生物技术学报，2021，40（10）：104-111.
YE J B，QI X N，ZHANG T T，et al. Production of characteristic acid fragrance tobacco extract by fermentation using microbe from *Kombucha*[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2021，40（10）：104-111.（in Chinese）

[7] 张江涛，解民. 人工发酵对片烟质量的影响[J]. 烟草科技，2018，51（4）：72-80.
ZHANG J T，XIE M. Effects of artificial fermentation on quality of tobacco strips[J]. Tobacco Science & Technology，2018，51（4）：72-80.（in Chinese）

[8] 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.
RONG S B，LI J J，ZHAO Y Y，et al. Effect of artificial fermentation temperature and humidity on chemical composition and aroma quality of cigar filler tobacco[J]. Acta Tabacaria Sinica，2021，27（2）：109-116.（in Chinese）

[9] 王祯，刘晨，王文婷，等. 醇化烟叶表面细菌筛选及增香效应研究[J]. 中国农学通报，2022，38（22）：151-156.
WANG Z，LIU C，WANG W T，et al. Screening and

application of aroma-enhancing bacteria on the surface of aging tobacco leaf[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin,2022,38(22):151-156.(in Chinese)

[10] 姜宇,周文,周康,等. 雪茄烟叶发酵技术研究进展[J]. 乡村科技,2022,13(18):64-67.
JIANG Y,ZHOU W,ZHOU K,et al. Research progress on the fermentation technology of cigar tobacco leaves[J]. Rural Science and Technology,2022,13(18):64-67.(in Chinese)

[11] 叶建斌,齐晓娜,杨宗灿,等. 肠杆菌发酵对烟草浸膏化学成分及卷烟品质的影响[J]. 食品与机械,2021,37(5):33-38.
YE J B,QI X N,YANG Z C,et al. Effects of *Enterobacter* fermentation on chemical components of tobacco extract and cigarette quality[J]. Food & Machinery,2021,37(5):33-38.(in Chinese)

[12] 叶建斌,王璐,杨峰,等. 类芽孢杆菌发酵原料浸提液提升再造烟叶品质[J]. 中国烟草学报,2019,25(1):33-38.
YE J B,WANG L,YANG F,et al. Improving quality of reconstituted tobacco *via* fermenting extract of its raw material with *Paenibacillus* sp.[J]. Acta Tabacaria Sinica,2019,25(1):33-38.(in Chinese)

[13] 巩效伟,刀娅,赵伟,等. 产香酵母菌筛选、条件优化及发酵产物在电子烟烟液中的应用[J]. 烟草科技,2020,53(2):62-71.
GONG X W,DAO Y,ZHAO W,et al. Aroma-producing yeasts: screening, optimization and application in e-liquids[J]. Tobacco Science & Technology,2020,53(2):62-71.(in Chinese)

[14] 解民,张琳. 微生物固态发酵法对烟丝品质的影响[J]. 食品工业,2015,36(4):175-178.
XIE M,ZHANG L. Effects of solid-state fermentation of microorganisms on quality of tobacco[J]. The Food Industry,2015,36(4):175-178.(in Chinese)

[15] 薛云,宁振兴,苏赞,等. 基于芽孢杆菌固态发酵技术提高广西河池C4F烟叶品质的研究[J]. 轻工学报,2022,37(5):76-84.
XUE Y,NING Z X,SU Z,et al. Study on improving the quality of Hechi C4F tobacco leaves in Guangxi by using the solid-state fermentation technology with *Bacillus* sp.[J]. Journal of Light Industry,2022,37(5):76-84.(in Chinese)

[16] 刘甜甜,徐显皓,孔晓,等. 酿酒酵母代谢调控合成功能营养品:进展与挑战[J]. 食品与生物技术学报,2022,41(8):10-21.
LIU T T,XU X H,KONG X,et al. Metabolic regulation and synthesis of functional nutrients in *Saccharomyces cerevisiae*: progress and challenges[J]. Journal of Food Science and Biotechnology,2022,41(8):10-21.(in Chinese)

[17] STEENSELS J,GALLONE B,VOORDECKERS K,et al. Domestication of industrial microbes[J]. Current Biology,2019,29(10):381-393.

[18] 黄贺敏,吴丽香,邓梅忠,等. 不同品质烟叶微生物群落与其挥发性成分的关联研究[J]. 食品与生物技术学报,2022,41(12):85-95.
HUANG H M,WU L X,DENG M Z,et al. Study on the correlation between microbial communities and volatile aroma compounds in tobacco leaves of different qualities[J]. Journal of Food Science and Biotechnology,2022,41(12):85-95.(in Chinese)

[19] CARPENA M,FRAGA-CORRAL M,OTERO P,et al. Secondary aroma: influence of wine microorganisms in their aroma profile[J]. Foods,2020,10(1):51.

[20] FENG Y Z,SU G W,ZHAO H F,et al. Characterisation of aroma profiles of commercial soy sauce by odour activity value and omission test[J]. Food Chemistry,2015,167:220-228.

(责任编辑:闫林红)