



黄阔,朱贝贝,叶长文,等.雪茄烟叶工业发酵过程中霉变对真菌群落结构的影响研究[J].轻工学报,2024,39(1):73-78,96.
HUANG K,ZHU B B,YE C W,et al.The effect of mold on the fungal community structure during the industrial fermentation of cigar tobacco leaves[J].Journal of Light Industry,2024,39(1):73-78,96.
DOI:10.12187/2024.01.009

雪茄烟叶工业发酵过程中霉变对真菌群落结构的影响研究

黄阔¹,朱贝贝²,叶长文¹,邹梦影³,李栋¹,李东亮²,李青常¹,薛芳²

1. 中国烟草总公司郑州烟草研究院,河南 郑州 450001;
2. 四川中烟工业有限责任公司 雪茄烟技术创新中心,四川 成都 610066;
3. 四川中烟工业有限责任公司 长城雪茄厂,四川 德阳 618400

摘要:为探究雪茄烟叶工业发酵过程中真菌群落结构随霉变发生的变化情况,以德雪一号雪茄烟叶为实验材料,采用微生物学计数方法和 Illumina MiSeq 高通量测序技术对雪茄烟叶工业发酵过程中正常烟叶和霉变烟叶进行霉菌数量及真菌群落结构变化分析。结果表明:与正常烟叶相比,发酵第 30 d 霉变雪茄烟叶中,霉菌数量最高(8.3×10^4 CFU/g),物种丰富度和多样性最低,OTU 数量最少;在门水平上,子囊菌门(Ascomycota)在发酵第 30 d 霉变烟叶中为绝对优势菌门,平均相对丰度为 99.82%;在属水平上,曲霉属(*Aspergillus*)为整个发酵过程中的主要优势菌属,在发酵第 30 d 霉变雪茄烟叶中平均相对丰度最大(92.32%);发酵第 30 d 霉变雪茄烟叶与正常烟叶相比在物种组成上具有明显差别,其中曲霉属既是优势菌属,又是组间差异菌属,且在各样品中平均相对丰度均最高,推断其为引起雪茄霉变发生的关键菌属。

关键词:雪茄烟叶;工业发酵;真菌;霉变;群落结构

中图分类号:TS41⁺4 **文献标识码:**A **文章编号:**2096-1553(2024)01-0073-07

0 引言

雪茄烟是一种以晾晒烟叶为原料进行发酵后制成的传统烟草制品^[1]。然而初次发酵的雪茄烟叶因香气透发性不足、杂气较明显,仍需通过工业发酵进一步分解转化烟叶内部物质,以提升烟叶的工业可用性^[2]。工业发酵能提高雪茄烟叶品质、彰显雪

茄风格特色,是改善雪茄烟叶外观品质、物理特性、吸食品质的关键^[3]。在雪茄烟叶工业发酵过程中,微生物起着重要作用^[4-5]。研究表明^[6-7],雪茄烟叶表面微生物数量较多,大致可分为细菌、真菌、放线菌、病毒等,其中真菌除在雪茄烟叶发酵过程中发挥重要作用外,还有可能引起雪茄烟叶霉变,降低雪茄烟叶品质^[8-10]。如闫铁林等^[11]研究发现,雪茄烟叶

收稿日期:2023-04-10;修回日期:2023-06-20;出版日期:2024-02-15

基金项目:中国烟草总公司重大科技项目(11202201034(XJ-05));四川中烟工业有限责任公司科技项目(XJ202109);中国烟草总公司郑州烟草研究院青年人才托举工程计划项目(702021CR0090)

作者简介:黄阔(1993—),男,河南省南阳市人,中国烟草总公司郑州烟草研究院工程师,主要研究方向为烟草微生物。E-mail:hkztri@163.com

通信作者:薛芳(1980—),女,江苏省盐城市人,四川中烟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:948929269@qq.com

表面存在大量真菌,以青霉属和曲霉属为主要真菌;周家喜^[10]研究发现,青霉属和曲霉属是引起烟叶霉变的主要霉菌。

以往对雪茄烟叶中微生物种类的研究,主要是利用传统微生物学方法对可培养微生物进行分离鉴定,然而绝大多数微生物难以培养,导致研究结果不能全面反映样品中微生物群落的真实组成^[12-13]。近年来,基于 Illumina MiSeq 的高通量测序技术已广泛应用于烟草微生物研究^[14-15]。该方法不仅简化了传统微生物学检验的繁琐过程,并且为大量不可培养微生物的研究提供了有效手段,促进了烟草微生物研究的新进展,也为提升烟叶优质发酵生产提供了新途径^[1,16-18]。

目前对于雪茄烟叶工业发酵过程中微生物的研究,主要集中于微生物对雪茄烟叶品质的提升,而对雪茄烟叶发酵过程中霉变现象及微生物对霉变发生的影响涉及较少。鉴于此,本研究拟以德雪一号雪茄烟叶工业发酵过程中正常烟叶和霉变烟叶为研究对象,使用基于 Illumina MiSeq 的高通量测序技术研究样品中霉菌数量及真菌群落结构的变化规律,以期从微生物群落结构变化角度解析烟叶霉变原因,为雪茄烟叶霉变防控提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

主要材料:德雪一号茄芯烟叶,产自四川什邡,于温度 10~30 ℃、相对湿度(65±10)%环境条件下存放。在温度(20±5)℃,相对湿度(60±10)%环境条件下进行烟叶备料,并于温度(30±5)℃,相对湿度(65±10)%环境条件下发酵 40 d。分别于发酵第 0 d、15 d、30 d、40 d 进行取样,样本编号分别为 F0、F15、F30、F40。发酵第 30 d 时除对正常样品取样外,还发现霉变样品开始出现并同步取样,编号为 FM30。每次取样 250 g,每个样品 3 个重复,取样后迅速将样品带回实验室冷冻保存。

主要试剂:孟加拉红琼脂培养基、磷酸盐缓冲液、无菌培养皿、无菌 L 型涂布棒和无菌均质袋,广东环凯微生物科技有限公司;E. Z. N. A.® DNA 提取试剂盒,美国 Omega 公司;AxyPrep DNA 凝胶回

收试剂盒,美国 Axygen Biosciences 公司。

主要仪器:Bagmixer® 400 型均质器,法国 Interscience 公司;HZT-2000 型电子天平,福州华志科学仪器有限公司;CL-40 M 型高压灭菌锅,日本 AUTOCCLVAE 公司;SCAN 1200 型自动菌落计数器,法国 Interscience 公司;VORTEX1 型涡旋振荡器,德国 IKA 公司;CTHI-250B2 型恒温恒湿箱,上海施都凯仪器设备有限公司;T-100 型 PCR 扩增仪,美国 Biorad 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 霉菌计数方法 参照《食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数》(GB 4789.15—2016)^[19]和《烟草及烟草制品 微生物学检验 霉菌计数》(YC/T 472—2013)^[20],并对部分步骤进行改进。称取 25 g 雪茄烟叶,剪碎后置于含 225 mL 磷酸盐缓冲液的无菌均质袋中,均质器 3 挡均质 3 min,按 10⁻¹、10⁻²、10⁻³、10⁻⁴ 的体积比用水稀释,并将各梯度稀释液涂布接种于孟加拉红琼脂培养基表面,标记后置于温度(28±1)℃,相对湿度(75±1)%的恒温恒湿培养箱内正置培养 5 d,进行各平板生长霉菌的判读和计数。

1.2.2 DNA 提取、PCR 扩增和测序 分别称取雪茄烟叶样品各 0.5 g,按照 DNA 提取试剂盒操作说明进行雪茄烟叶微生物群落总 DNA 提取。选择上游引物 ITS1F (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3'),下游引物 ITS2R (5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3')对所提取 DNA 进行 PCR 扩增。PCR 扩增体系为 20 μL;扩增参数为 95 ℃ 预变性 3 min,36 个循环(95 ℃ 变性 30 s,55 ℃ 退火 30 s,72 ℃ 延伸 45 s),72 ℃ 总延伸 10 min。采用 2.0% 琼脂糖凝胶电泳对 PCR 产物进行检测,将合格的 PCR 产物进行纯化回收,并送至上海美吉生物医药科技有限公司进行 Illumina MiSeq 高通量测序。

1.3 数据处理

分别采用 Fastp 软件和 Flash 软件对原始序列进行质控和拼接;利用 Usearch 软件对所得序列进行过滤,去除嵌合体序列,得到有效序列;通过 Uparse 软件在 97% 的相似性水平上划分操作分类单元(OTU);利用 Unite 分类学数据库对 OTU 进行

物种注释分析;利用 t 检验 ($P < 0.05$) 分析样本中 α 多样性和差异物种,筛选具有显著性差异的微生物菌群(相对丰度 $> 1\%$)。

采用 Excel 2010 进行数据处理;利用 SPSS 17.0 进行单因素 ANOVA 方差分析及 Duncan 显著性检验 ($P < 0.05$);使用 Origin 2018 制图。

2 结果与分析

2.1 雪茄烟叶工业发酵过程中霉菌数量变化

雪茄烟叶工业发酵过程中霉菌数量变化如图 1 所示,图中不同小写字母表示样品间差异显著 ($P < 0.05$)。由图 1 可知,5 个样品中均有霉菌检出,其中发酵前样品中的霉菌含量最低,为 60 CFU/g,发酵第 30 d 的霉变样品中霉菌含量最高,达到 8.3×10^4 CFU/g。发酵开始后,各阶段样品中霉菌含量不但均显著高于发酵前样品,而且也存在显著性差异。但发酵结束后,霉菌含量较发酵第 30 d 时的正常样品显著降低,这可能是发酵后期氧气含量下降,温度、湿度的变化不适于霉菌生长所致。以上结果表明,霉菌含量与霉变风险密切相关。雪茄烟叶工业发酵过程中霉菌含量在前中期呈显著增加趋势,在后期呈降低趋势,在霉菌含量较高的发酵中后期 (15~40 d) 存在较大霉变风险。

2.2 雪茄烟叶工业发酵过程中真菌群落结构变化

2.2.1 α 多样性分析 雪茄烟叶工业发酵过程中

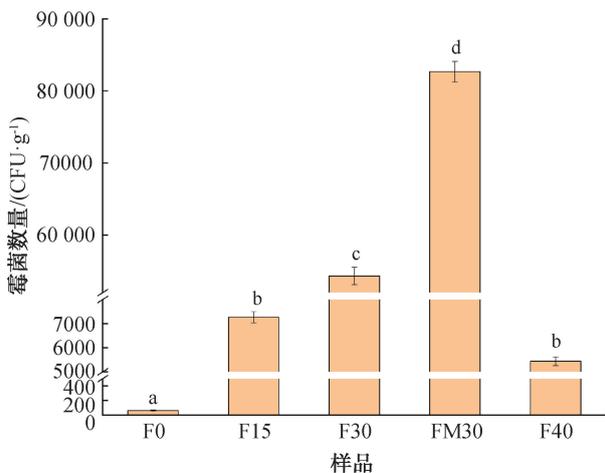


图 1 雪茄烟叶工业发酵过程中霉菌数量变化

Fig. 1 Mold content changes during the fermentation process of cigar leaf industry

真菌群落 α 多样性指数如图 2 所示,c) 中 * 表示 $0.01 < P \leq 0.05$,下同。由图 2a) 可知,雪茄烟叶工业发酵过程中真菌物种丰富度不断提高,但发酵第 30 d 的霉变样品低于发酵前样品水平,表明霉变会导致烟叶中真菌物种丰富度降低。由图 2b) 可知,雪茄烟叶工业发酵过程中,与发酵 30 d 的正常样品相比,真菌物种多样性在第 30 d 的霉变样品中明显降低,说明霉变导致真菌物种多样性降低。由图 2c) 可知,发酵第 30 d 的霉变样品 Simpson 指数较高,说明该样品的物种集中度高、多样性低,该结果与 Shannon 指数的结果一致。由图 2d) 可知,Coverage 指数均在 0.97 以上,说明本次测序结果能够反映所测样品中真菌微生物多样性情况。对高通量测序结果分析发现,Ace 指数、Shannon 指数、Simpson 指数均表明霉变可能会导致雪茄烟叶中真菌群落物种丰富度及多样性降低,且发酵第 30 d 霉变样品均低于发酵前水平,这与郑霖霖等^[21-23]的研究结果基本一致。

2.2.2 OTU 聚类分析 以 97% 的相似性水平对各样品进行 OTU 聚类分析,测序结果表明,共获得优化序列 620 056 条,平均序列长度 225 bp。物种注释统计结果表明,5 个样品检出的真菌分布在 4 个门、12 个纲、18 个目、26 个科、35 个属和 48 个种,各样品在不同分类水平的真菌群落数量见表 1。

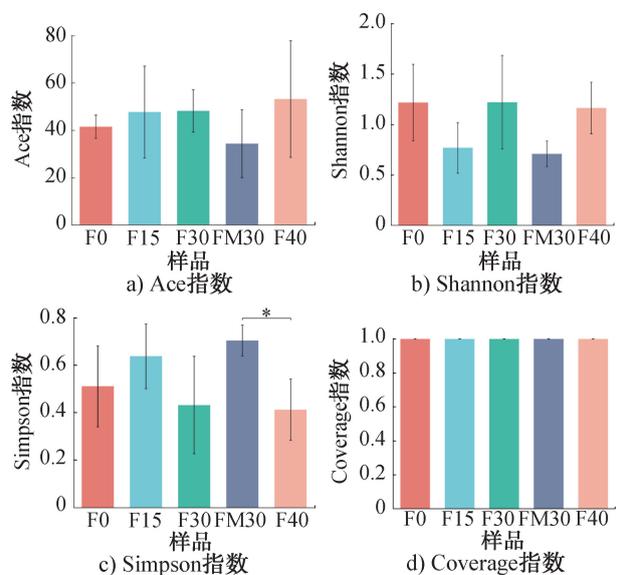


图 2 雪茄烟叶工业发酵过程中真菌群落 α 多样性指数

Fig. 2 Alpha diversity index of fungal community during the fermentation process of cigar leaf industry

雪茄烟叶工业发酵过程中真菌群落 Venn 图如图 3 所示。由图 3 可知,各样品中 OTU 数量分别为 46、39、45、34 和 46,其变化规律与群落多样性变化规律相似,发酵第 30 d 的霉变样品中 OTU 数量最少,发酵第 0 d 及发酵第 40 d 的样品中 OTU 数量最多,5 个样品中所共有的 OTU 为 23 个,在 97% 相似性水平上共检出 OTU 数量 65 个。

2.2.3 物种组成分析 雪茄烟叶工业发酵过程中门水平真菌群落平均相对丰度如图 4 所示。由图 4 可知,在门水平上,平均相对丰度大于 1% 的真菌菌群仅有子囊菌门(Ascomycota)和担子菌门(Basidiomycota)。子囊菌门占绝对优势,其次为担子菌门。子囊菌门在发酵第 30 d 的样品中所占比例高达 99.82%。担子菌门在发酵第 40 d 的样品中所占比例明显增加,达到 31.56%。这与邢蕾等^[24]的子囊菌门、担子菌门为雪茄烟叶发酵中优势菌门的研究

结果一致。

雪茄烟叶工业发酵过程中属水平真菌群落平均相对丰度如图 5 所示。由图 5 可知,在属水平上,平均相对丰度大于 1% 的真菌菌属有曲霉属(*Aspergillus*)、unclassified_f__Aspergillaceae、节担菌属(*Wallenia*)、链格孢属(*Alternaria*)、匍柄霉属(*Stemphylium*)、*Sagenomella*、耐旱霉属(*Xeromyces*)。在发酵第 30 d 的霉变样品中,曲霉属占绝对比例,平均相对丰度为 92.32%。

雪茄烟叶工业发酵过程中属水平真菌群落 Heatmap 图如图 6 所示。由图 6 可知,发酵第 0 d 及发酵第 15 d 的样品中真菌物种组成较为相似,发酵第 30 d 与发酵第 40 d 的样品中物种组成结果基本一致,这也与属水平上 5 个样品的群落组成相似。物种组成与发酵时段有关,相邻发酵时段真菌物种组成较为相似,随发酵时间延长,物种组成差异性逐

表 1 不同分类水平真菌群落数量

Table 1 The number of fungal communities of different classification levels 个

样本	门	纲	目	科	属	种
F0	3	11	17	24	29	38
F15	3	9	12	15	18	26
F30	3	8	12	16	21	31
FM30	3	8	11	13	17	23
F40	4	9	13	17	23	33

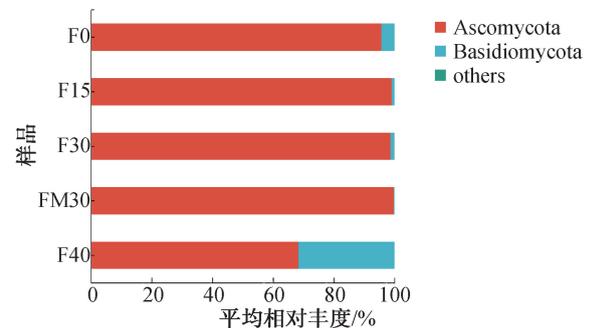


图 4 雪茄烟叶工业发酵过程中门水平真菌群落平均相对丰度

Fig. 4 Relative abundance of fungal communities at the phylum level during the fermentation process of cigar leaf industry

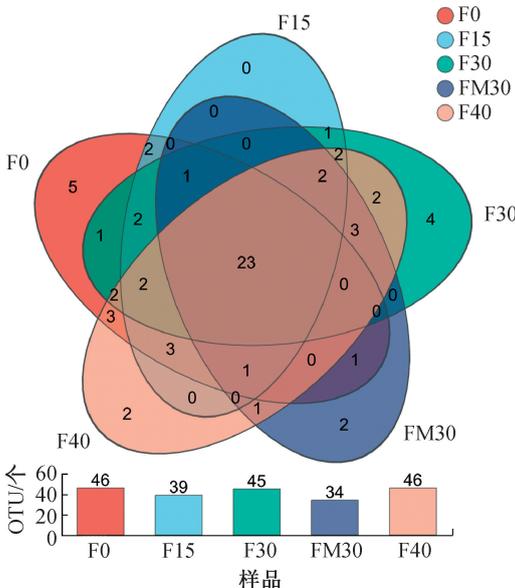


图 3 雪茄烟叶工业发酵过程中真菌群落 Venn 图
Fig. 3 Venn diagram of fungal community during the fermentation process of cigar leaf industry

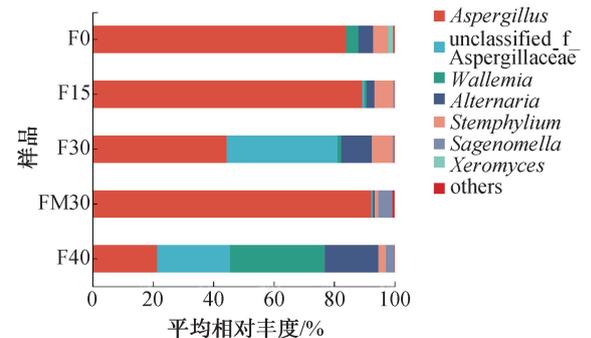


图 5 雪茄烟叶工业发酵过程中属水平真菌群落平均相对丰度

Fig. 5 Relative abundance of fungal communities at the genus level during the fermentation process of cigar leaf industry

渐变,且霉变雪茄烟叶与正常雪茄烟叶的物种组成差异性更大。

2.2.4 组间差异物种分析 雪茄烟叶工业发酵过程中属水平样品组间差异显著性检验结果如图7所

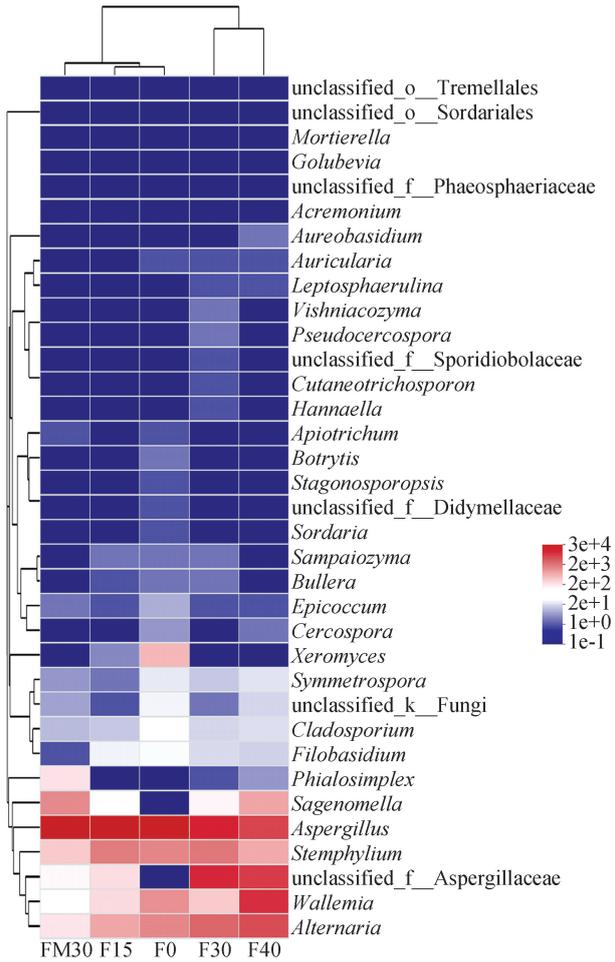


图6 雪茄烟叶工业发酵过程中属水平真菌群落 Heatmap 图

Fig. 6 Heatmap of genus level fungal community during the fermentation process of cigar leaf industry

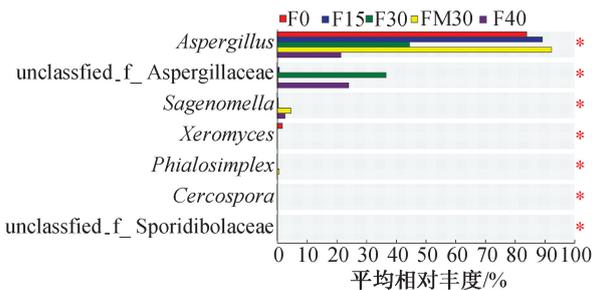


图7 雪茄烟叶工业发酵过程中属水平样品组间差异显著性检验

Fig. 7 Significance test of differences between groups of each sample at the genus level during the fermentation process of cigar leaf industry

示。由图7可知,曲霉属、unclassified_f__Aspergillaceae、Sagenomella、耐旱霉属、Phialosimplex、尾孢菌属(Cercospora)及unclassified_f__Sporidiobolaceae在5个样品中均具有显著性差异,且曲霉属的平均相对丰度最高,在发酵第30d的霉变样品中相对含量高于其他样品。结合优势菌属及组间差异物种分析结果发现,曲霉属不仅是霉变样品的优势菌属,还在发酵第30d的样品中平均相对丰度最高,表明其与雪茄烟叶工业发酵过程中的霉变发生密切相关。这与周家喜^[10]的研究结果一致,曲霉属为烟叶霉变的优势菌属,拥有较强的致霉能力,也与叶长文等^[1]基于高通量测序的雪茄烟微生物群落结构和多样性的分析结果较为一致。曲霉属在雪茄烟叶整个工业发酵过程中均为主要优势菌属,且在霉变雪茄烟叶中占比更高。研究^[25-27]表明,随着真菌(曲霉属)的生长,它们会分泌各种酶,分解和消化组织成分,释放包括CO₂、真菌毒素和抗菌剂在内的代谢产物,引起霉变反应,本研究中也发现曲霉属可能是引起雪茄烟叶霉变的关键菌属。但也有研究^[28-29]表明,曲霉属具有隔绝空气、抑制有害菌生长、改善烟叶品质等功能,如高文霞等^[30]从烟叶中分离到一株曲霉属菌株SZ14,用该菌处理烟叶后,烟叶中有机酸和石油醚提取物含量明显增加,感官评吸得分显著提高。因此,本研究虽发现曲霉属在雪茄烟叶工业发酵过程中与霉变发生密切相关,但其对烟叶品质的综合影响仍有待进一步深入探究。

3 结论

本文以德雪一号茄芯雪茄烟叶为研究对象,采用Illumina MiSeq高通量测序技术分析雪茄烟叶工业发酵过程中正常烟叶和霉变烟叶真菌微生物群落结构的变化规律。结果表明:1)雪茄烟叶工业发酵过程中霉菌含量不断增加,霉变会导致雪茄烟叶真菌物种丰富度、多样性及OTU数量降低。2)雪茄烟叶工业发酵过程中,优势菌门为子囊菌门和担子菌门,优势菌属为曲霉属、unclassified_f__Aspergillaceae、节担菌属、链格孢属、匍柄霉属、Sagenomella和耐旱霉属。3)曲霉属是具有组间显著性差异的优势菌属,与雪茄烟叶工业发酵过程中霉菌含量及霉

变发生密切相关,是引起雪茄烟叶霉变的主要真菌菌属,下一步霉变防控可对曲霉属进行重点关注。未来将开展雪茄烟叶中曲霉属微生物种类及其生物学特性研究工作,结合雪茄烟叶发酵工艺特点,制定更具针对性的雪茄烟叶防霉策略。

参考文献:

- [1] 叶长文,李璐,贺琛,等. 基于高通量测序的雪茄烟微生物群落结构和多样性分析[J]. 烟草科技,2021,54(8):1-9.
- [2] 郭文龙,丁松爽,刘路路,等. 翻堆对初次发酵过程中雪茄茄芯烟叶质量变化的影响[J]. 南方农业学报,2021,52(2):365-373.
- [3] 李东亮. 四川中烟雪茄工业发酵技术研究动态[J]. 中国烟草学报,2020,26(4):2.
- [4] 于会喜,王毅,马永凯,等. 发酵烟叶表面微生物的多样性及其应用现状[J]. 河北农业科学,2009,13(10):59-60,70.
- [5] LIU F, WU Z Y, ZHANG X P, et al. Microbial community and metabolic function analysis of cigar tobacco leaves during fermentation [J]. *Microbiology Open*, 2021, 10(2):1-13.
- [6] 韩锦峰,朱大恒,刘卫群,等. 陈化发酵期间烤烟叶面微生物活性及其应用研究[J]. 中国烟草科学,1997(4):15-16.
- [7] 李宁,曾代龙,戴亚,等. 雪茄烟叶叶面可培养微生物分离鉴定[J]. 安徽农业科学,2009,37(25):11857-11858.
- [8] 周锦龙,汤珍瑶. 雪茄烟发酵技术进展与展望[J]. 农技服务,2009,26(11):119-120,127.
- [9] 范静苑,张良,李爱军. 全叶卷手工雪茄关键工艺技术研究[J]. 安徽农业科学,2016,44(6):104-105.
- [10] 周家喜. 霉变烟叶微生物群落特征及其致霉机制[D]. 贵阳:贵州大学,2021.
- [11] 闫铁军,郑霖霖,李秀妮,等. 基于高通量测序的雪茄烟叶细菌多样性与功能预测[J]. 中国烟草学报,2022,28(4):125-132.
- [12] FAKRUDDIN M, MANNAN K S, ANDREWS S. Viable but nonculturable bacteria: Food safety and public health perspective[J]. *ISRN Microbiology*, 2013, 2013:703813.
- [13] 张鸽,梁开朝,辛玉华,等. 基于高通量测序和传统分离研究雪茄外包皮表面细菌多样性及演替[J]. 应用与环境生物学报,2018,24(4):783-788.
- [14] SMYTH E M, CHATTOPADHYAY S, BABIK K, et al. The bacterial communities of little cigars and cigarillos are dynamic over time and varying storage conditions [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10:2371.
- [15] WANG R Y, CAI X H, HU S N, et al. Comparative analysis of the mitochondrial genomes of *Nicotiana tabacum*:

Hints toward the key factors closely related to the cytoplasmic male sterility mechanism[J]. *Frontiers in Genetics*, 2020, 11:257.

- [16] 张磊,罗泽华,杨明川,等. 雪茄烟叶原料发酵微生物多样性及酶活变化研究[J]. 中国农业科技导报,2021,23(10):171-180.
- [17] 陈善义,李菁菁,林俭,等. 基于高通量测序的不同产地和部位自然醇化片烟真菌群落结构分析[J]. 烟草科技,2018,51(4):12-19.
- [18] ZHAO M Q, WANG B X, LI F X, et al. Analysis of bacterial communities on aging flue-cured tobacco leaves by 16S rDNA PCR-DGGE technology [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2007, 73(6):1435-1440.
- [19] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数: GB 4789.15—2016[S]. 北京:中国标准出版社,2016.
- [20] 国家烟草专卖局. 烟草及烟草制品 微生物学检验 霉菌计数:YC/T 472—2013[S]. 北京:中国标准出版社,2013.
- [21] 郑霖霖,赵亮,蔡兴华,等. 雪茄茄芯烟叶工业二次发酵过程中细菌与真菌群落多样性变化分析[J]. 中国烟草学报,2022,28(5):121-128.
- [22] 张晓娟. 雪茄外包皮烟人工发酵工艺及叶表微生物区系研究[D]. 郑州:河南农业大学,2006.
- [23] 陈乾丽,汪汉成,梁永进,等. 烤后健康烟叶和霉烂烟叶真菌群落结构分析[J]. 浙江农业学报,2020,32(6):1019-1028.
- [24] 邢蕾,刘仡,刘杰,等. 生态环境和基因型对成熟期雪茄烟叶际真菌群落的影响[J]. 中国烟草学报,2021,27(5):119-126.
- [25] SNYDER A B, BIANGO-DANIELS M N, HODGE K T, et al. Nature abhors a vacuum: Highly diverse mechanisms enable spoilage fungi to disperse, survive, and propagate in commercially processed and preserved foods [J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2019, 18(1):286-304.
- [26] 陈善义,李菁菁,林俭,等. 基于高通量测序的不同产地和部位自然醇化片烟真菌群落结构分析[J]. 烟草科技,2018,51(4):12-19.
- [27] 张成省,林建胜,孔凡玉,等. 山东仓储片烟表面微生物区系研究[J]. 中国烟草学报,2010,16(4):58-62,66.
- [28] NUNES C, COIMBRA M A, SARAIVA J, et al. Study of the volatile components of a candied plum and estimation of their contribution to the aroma [J]. *Food Chemistry*, 2008, 111(4):897-905.
- [29] 谢佳伟,彭小祠,陈小巧,等. 云烟87内生真菌多样性及其促生作用评估[J]. 云南农业大学学报(自然科学),2021,36(6):1000-1008.
- [30] 高文霞,程祖铤,王峰吉. 烤烟有益真菌菌株的筛选与鉴定[J]. 中国烟草学报,2011,17(5):90-95.

Abstract: In order to investigate the differences of aroma components and aroma profiles in segmented smoke of cigars, gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) was used to detect the aroma compounds of Great Wall No. 2 and Montecristo No. 4 cigars, supplemented by sensory evaluation and odor contribution weight to investigate the aroma characteristics of cigars, and the key aroma components in cigars were screened based on partial least squares discriminant analysis (PLS-DA). The results showed that the cigar was shorter, the interception effect was weakened, and the quantity and release of aroma components in cigar smoke were increased during smoking. In the odor contribution weight of segmented smoke of cigars, the bean and woody aromas of Great Wall No. 2 weakened and the coffee aroma increased as smoking proceeded, while the bean aroma of Montecristo No. 4 weakened and the spicy aroma increased. These changes in odor contribution weight were consistent with the results of the sensory evaluation. 12 key differential aroma components such as γ -hexalactone, 2-furoic acid, acetophenone, phenylacetic acid, 2,6-dimethylpyrazine were obtained during the smoking process of Great Wall No. 2, and 11 key differential aroma components such as cedrol, 2-methylbutyraldehyde, 2-methoxy-4-vinylphenol, guaiacol, γ -nonanolactone were obtained during the smoking process of Montecristo No. 4. The results of this study reflected the change rules of smoke composition in the smoking process of cigar and explained the reasons for the flavor changes in the smoking process of cigar.

Key words: cigar; segmented smoke of cigar; aroma compound; aroma profile; odor contribution weight

[责任编辑:吴晓亭]

(上接第78页)

The effect of mold on the fungal community structure during the industrial fermentation of cigar tobacco leaves

HUANG Kuo¹, ZHU Beibei², YE Changwen¹, ZOU Mengying³,

LI Dong¹, LI Dongliang², LI Qingchang¹, XUE Fang²

1. Zhengzhou Tobacco Research Institute of CNTC, Zhengzhou 450001, China;

2. Center of Technology Innovation for Cigar, China Tobacco Sichuan Industrial Co., Ltd., Chengdu 610066, China;

3. Great Wall Cigar Factory, China Tobacco Sichuan Industrial Co., Ltd., Deyang 618400, China

Abstract: To investigate the changes in fungal community structure with mold occurrence during the industrial fermentation of cigar tobacco leaves, Dexue No. 1 cigar tobacco leaf was chosen as the test material, and counting methods in microbiology and Illumina MiSeq high-throughput sequencing technology were used to analyze the changes in mold content and fungal community structure of normal and moldy cigar tobacco leaf samples during the industrial fermentation. The results indicated that compared to normal tobacco leaves, on the 30th day of fermentation, the mold content in moldy cigar tobacco leaves was the highest (8.3×10^4 CFU/g), the richness and diversity of species were the lowest, and the number of OTUs was the least. At the level of the phylum, Ascomycota was an absolute advantageous phylum on day 30 of fermentation, with an average relative abundance of 99.82%. At the level of the genus, *Aspergillus* was the main genus in the entire fermentation process, and the average relative abundance on day 30 of fermentation was the largest (92.32%). The 30 d mildewy cigar tobacco leaf and other samples had a significant difference in species composition compared to normal tobacco leaves. Among them, *Aspergillus* was both an advantageous genus and a differential genus, and the average relative abundance of various samples was the highest.

Key words: cigar tobacco leaves; industrial fermentation; fungal; mildew; community structure

[责任编辑:吴晓亭]