



张倩颖,杨双红,蔡文,等.冬虫夏草菌株发酵槐花香料的制备及其卷烟加香应用研究[J].轻工学报,2024,39(3):46-53.
ZHANG Q Y, YANG S H, CAI W, et al. Preparation of fermented *Flos sophorae* spice by *Cordyceps sinensis* strain and its application in cigarette flavoring[J]. Journal of Light Industry, 2024, 39(3): 46-53.
DOI: 10.12187/2024.03.006

冬虫夏草菌株发酵槐花香料的制备及其卷烟加香应用研究

张倩颖¹, 杨双红¹, 蔡文¹, 耿宗泽¹, 李东亮¹, 丁重阳²

1. 四川中烟工业有限责任公司 雪茄技术创新中心, 四川 成都 610066;
2. 江南大学 粮食发酵工艺与技术国家工程实验室, 江苏 无锡 214122

摘要: 为开发新型天然槐花香料,以槐花为底物,接种冬虫夏草菌株 SCT-1 后进行发酵,通过因子筛选试验优化发酵培养基配方,将最优条件下所得香料进行嗅香评价、卷烟加香感官评吸和挥发性致香成分分析。结果表明:发酵培养基最优配方为槐花粉 100 g/L、玉米粉 2 g/L、麸皮 2 g/L 和蔗糖 2 g/L,该配方下所得香料以坚果香为主,奶香、青香为辅,由其制得的卷烟坚果香气、甜味和烟气细腻感增加,刺激性降低;挥发性致香成分苯乙炔、(2Z)-2-辛烯-1-醇、萘、苯并噻唑和甲基丁香酚对该香料香气具有贡献,(E)-2-庚烯醛、苯甲醛、芳樟醇、松油烯-4-醇和 α -松油醇对该香料香气具有显著贡献。

关键词: 冬虫夏草菌株;发酵槐花香料;卷烟加香;挥发性致香成分

中图分类号: TS44⁺4 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096-1553(2024)03-0046-08

0 引言

冬虫夏草(*Cordyceps sinensis*)是一种虫生真菌,其子囊菌寄生在蝙蝠蛾科昆虫的幼虫体内,所形成的复合体是一种我国独有的传统珍贵中药材^[1-2]。对冬虫夏草菌株的已有研究主要集中在发酵工艺优化,菌丝生物量和生长速度提升^[3-4],麦角甾醇、虫草素和虫草多糖含量的提高^[5-8]等方面。目前,有关冬虫夏草在卷烟领域的应用已有报道,如田数等^[1]利用醇提回流方法提取冬虫夏草粉中有效成分并将其加入卷烟中,发现冬虫夏草提取液能塑造

卷烟特色风格、提升卷烟品质。

槐花是豆科槐属落叶乔木槐树的花蕾,其所含生物活性物质(槐花多糖)具有抗氧化、降血糖、抗肿瘤、抗病毒、增强免疫活性等作用^[9],具有较高的药用价值。王吉中等^[10]分别采用水提法、酶解法、产香微生物发酵法制备天然槐花烟用香料,发现产香微生物发酵法制备的香料能降低卷烟刺激性并赋予其清甜香。产香微生物发酵法通过微生物发酵能够产生种类多样的香气物质,形成丰富而独特的香气,且利用微生物制备香料更绿色安全,是近年的研究热点^[11]。

收稿日期:2023-02-23;修回日期:2023-04-04;出版日期:2024-06-15

基金项目:四川省科技计划项目(2019YJ0264);四川中烟工业有限责任公司重大专项项目(rtx201820)

作者简介:张倩颖(1988—),女,四川省成都市人,四川中烟工业有限责任公司高级工程师,博士,主要研究方向为烟草微生物。E-mail:qianyingzhang@163.com

通信作者:李东亮(1973—),男,山西省平遥市人,四川中烟工业有限责任公司研究员,博士,主要研究方向为烟草化学。E-mail:360188228@qq.com

冬虫夏草和槐花均为我国重要的生物资源,但目前尚未见到将两者结合制备烟用香料的相关报道。前期研究发现,冬虫夏草菌株发酵非主料区烟叶可提升烟叶香气质和香气量^[12],即冬虫夏草菌丝体具有发酵产香的能力。鉴于此,本文拟将冬虫夏草菌株接种于槐花培养基中,采用因子筛选试验优化发酵培养基配方,研究发酵所得香料中挥发性致香成分及其对该香料的贡献度,以期开发新型天然香料,为改善卷烟抽吸品质提供参考。

1 材料与amp;方法

1.1 材料、试剂与仪器

主要材料:冬虫夏草菌株 SCT-1(编号 CGMCC No. 22451),保藏于中国普通微生物菌种保藏管理中心。

主要试剂:乙醇(食品级),成都市科隆化学品有限公司;马铃薯葡萄糖水培养基,青岛海博生物技术有限公司;槐花、葡萄糖、甘油、豆粕粉、玉米粉、土豆汁、麦芽糖、麸皮、蔗糖、果糖,均为食品级,购于淘宝商城。

主要仪器:ZQZY-108C 型摇床,上海知楚仪器有限公司;顶空固相微萃取结合气相色谱-质谱联用仪(SPME-GC-MS),美国安捷伦科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 菌株培养 菌株活化:从冬虫夏草菌株 SCT-1 保藏斜面上挑取约 1 cm² 大小的菌落,接种于马铃薯葡萄糖水培养基中,置于摇床(28 ℃, 180 r/min)中培养 5 d。

1.2.2 发酵培养基配方优化 1) 培养基添加物筛选

按照体积分数为 5% 的接种量将活化 2 代后的冬虫夏草菌株 SCT-1 分别接种于基础培养基和添加物培养基,置于摇床中(28 ℃, 180 r/min)发酵培养 10 d。基础培养基:槐花粉 100 g,加入 1 L 水,于 105 ℃ 条件下灭菌 20 min。添加物培养基:在基础培养基中加入不同添加量的葡萄糖、甘油、豆粕粉、玉米粉、土豆汁、麦芽糖、麸皮、蔗糖和果糖,添加量均设置 3 个梯度(1.0 g/L、2.5 g/L、5.0 g/L)。

发酵结束后,将体积分数为 50% 的乙醇按照

1:1 的体积比加入盛有培养基的摇瓶中,在摇床(28 ℃、200 r/min)中振荡培养 2 h 后,再静置 2 h,用 4 层纱布过滤得提取液,即为目标香料。

由经验丰富的卷烟感官评定专家对香料进行嗅香评价^[11],以香味与烟香协调为标准,筛选出表现良好的香料,并进行卷烟加香感官评吸,确定对卷烟香气具有改善作用的培养基添加物。香料加入卷烟的具体方法参照本实验室沿用的方法^[11],感官评吸方法参照《烟草及烟草制品 感官评价方法》(YC/T 138—1998)^[13]。对卷烟香气、烟气、刺激性和余味四方面进行综合判断,依据本实验室建立的分值标准^[11]进行评吸打分。

2) 因子筛选试验

依据田口实验原理,分析发酵培养基中不同添加物与卷烟感官评吸得分之间的关系,以获得最适合冬虫夏草菌株 SCT-1 发酵的培养基配方。本实验以不同添加物为因子(输入),以感官评吸得分为响应值(输出),利用 JMP 软件设计因子筛选试验并进行数据分析。

1.2.3 发酵槐花香料感官评价 将冬虫夏草菌株 SCT-1 接种于最优培养基中,发酵结束后按 1.2.2 中的方法用乙醇提取制得香料。以未发酵的最优培养基乙醇提取物作为对照香料,对二者进行嗅香评价和卷烟加香感官评吸,评价方法同 1.2.2。

1.2.4 发酵槐花香料挥发性致香成分测定 为进一步研究所制备香料中的具体香气成分,采用 SPME-GC-MS 对最优培养基发酵前后所得香料进行挥发性致香成分测定,以 2-辛醇为内标,通过内标法计算各成分的相对含量^[11]。由于化合物的含量并不等同于其对香气的贡献度,为确定关键风味成分,将所测挥发性成分的含量转化为气味活性值(OAV)。OAV 目前常被用于评价样品中挥发性成分对香气的贡献度,其定义是挥发性成分的测定浓度值与其阈值的比值^[14-15]。其中,OAV 大于 1 的挥发性成分对感官的贡献度较大^[16-17],且数值越高贡献度越大^[18],而 OAV 在 0.1 到 1 之间的挥发性成分被认为可在整体香气中发挥作用^[19]。采用 STAMP version 2.1.3 软件中的 t 检验分析发酵前后挥发性香气成分的差异性。

2 分析与讨论

2.1 发酵培养基配方优化结果

2.1.1 培养基添加物筛选结果 不同添加物下发酵槐花香料的嗅香评价结果见表1。由表1可知,有10种香料(由添加量为1.0 g/L的土豆汁、麦芽糖和蔗糖,2.5 g/L的葡萄糖、甘油、土豆汁、玉米粉、麸皮,5.0 g/L的甘油和麦芽糖的添加物培养基发酵制得)槐花香韵减弱,甜香、酱香和鲜香增强。基于嗅香评价结果,将这10种香料添加至卷烟中

表1 不同添加物下发酵槐花香料的嗅香评价结果
Table 1 The olfactory evaluation results of fermented *Flos sophorae* with different additives

添加物	添加量/ (g·L ⁻¹)	嗅香描述
葡萄糖	1.0	槐花特征香气弱,弱甜香
	2.5	槐花特征香气弱,优雅甜香
	5.0	槐花特征香气弱,甜香,较添加2.5 g/L葡萄糖弱
甘油	1.0	槐花特征香气弱,优雅甜香,较添加2.5 g/L甘油弱
	2.5	槐花特征香气弱,优雅甜香
	5.0	槐花特征香气弱,优雅甜香,与添加2.5 g/L甘油差别不明显
豆粕粉	1.0	槐花特征香气弱,淡甜香
	2.5	槐花特征香气弱,优雅甜香,较添加1.0 g/L豆粕粉弱
	5.0	槐花特征香气弱,甜香,较添加2.5 g/L豆粕粉弱
玉米粉	1.0	槐花特征香气弱,弱甜香
	2.5	槐花特征香气弱,优雅甜香
	5.0	槐花特征香气弱,甜香,较添加2.5 g/L玉米粉弱
土豆汁	1.0	槐花特征香气弱,酱香略带甜香
	2.5	槐花特征香气弱,甜香略带酱香,较添加1.0 g/L土豆汁弱
	5.0	甜香,较添加2.5 g/L土豆汁弱
麦芽糖	1.0	槐花特征香气弱,青香气
	2.5	槐花特征香气弱,甜香
	5.0	槐花特征香气弱,甜香
麸皮	1.0	槐花特征香气弱,甜香,较添加2.5 g/L麸皮弱
	2.5	槐花特征香气弱,优雅甜香
	5.0	槐花特征香气弱,甜香带生红薯气
蔗糖	1.0	槐花特征香气弱,优雅鲜香
	2.5	槐花特征香气弱,酱香略带甜香
	5.0	槐花特征香气弱,粗糙香气
果糖	1.0	槐花特征香气弱,优雅甜香,带生红薯气
	2.5	槐花特征香气弱,甜香略带鲜香
	5.0	槐花特征香气弱,甜香

进行感官评吸,结果见表2。由表2可知,基础培养基中添加甘油、玉米粉、麦芽糖、麸皮和蔗糖后所制备的香料与烟气协调、香韵丰富、可提升吸食品质,即对卷烟感官品质具有正效应,因此选择这5种添加物进行后续试验。

2.1.2 因子筛选试验结果 基于上文结果,选取甘油(X_1)、玉米粉(X_2)、麦芽糖(X_3)、麸皮(X_4)和蔗糖(X_5)这5种添加物作为因子,所制备香料加入卷烟中的感官评吸得分平均值为响应值,进一步优化培养基配方,设计的因子筛选试验变量及水平见表3,因子筛选试验评吸得分结果见表4。由表4可知,添加甘油6 g/L、玉米粉2 g/L、麸皮4 g/L和蔗糖2 g/L所制备香料的评吸得分最高(88分),而未添加这些物质制备的香料的评吸得分仅为51分。即在基

表2 不同添加物下发酵槐花香料的卷烟加香感官评吸结果

Table 2 The sensory evaluation results of cigarettes adding fermented *Flos sophorae* with different additives

添加物	添加量/ (g·L ⁻¹)	评吸结果	综合评价
葡萄糖	2.5	叮刺明显,香气改变不明显	±
甘油	2.5	特殊香韵,增甜,口腔、鼻腔稍有刺激性	±
甘油	5.0	烟气柔和、圆润,香韵丰富,刺激性降低,口感干净	+++
豆粕粉	2.5	烟气纯正、柔和,甜香增加,刺激性较重	±
玉米粉	2.5	优雅甜香,烟气细腻透发,烟香丰富	+++
土豆汁	1.0	烟香丰富,烟气柔和、圆润,刺激性降低,口感改善不明显	++
麦芽糖	1.0	烟气细腻,优雅,甜感增加,刺激性降低,余味干净	+++
麦芽糖	5.0	香韵丰富,甜感明显,烟气细腻,刺激性降低,余味干净	+++
麸皮	2.5	烟气细柔,烟香丰富,烟气蓬松、流畅,略回甜,刺激性稍降,余味略干净	+++
蔗糖	1.0	香韵丰富,略带花香,烟气细腻,刺激性降低,余味较干净	+++

注: +为正效应; ±为效果不明显。

表3 因子筛选试验变量及水平
Table 3 Level and code of variables for screening experiments

水平	变量				
	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5
L1	0	0	0	0	0
L2	3.0	2.0	1.0	2.0	1.0
L3	6.0	4.0	3.0	4.0	2.0

础培养基中添加甘油 6 g/L、玉米粉 2 g/L、麸皮 4 g/L 和蔗糖 2 g/L 可得最优培养基,将由该培养基发酵所制得的香料添加至卷烟中,可显著提升卷烟品质。

2.1.3 试验结果验证 对因子筛选试验结果进行回归方程方差分析,结果见表 5。由表 5 可知, $P < 0.001$,即该筛选模型显著; $R_{失拟} = 0.170 4$,表明失拟项不显著; $R = 0.97$,表明试验值与预测值之间具有良好的相关性,且 $R_{adj}^2 = 0.90$,表明只有 10% 的变异不能由该模型预测,因此该筛选模型适用于本研究。

偏回归系数及显著性检验结果见表 6。由表 6 可知,除甘油外,其余 4 个因子均对发酵槐花制备的香料具有显著性影响($P < 0.05$)。不同水平下各因素对响应值的影响见表 7。由表 7 可知,玉米粉在 L1(0 g/L)和 L2(2 g/L)时与感官评吸得分呈显著正相关,在 L3(4 g/L)时呈显著负相关;麦芽糖在 L1

(0 g/L)时与感官评吸得分呈显著正相关;麸皮在 L1(0 g/L)时与感官评吸得分呈显著负相关,在 L2(2 g/L)时呈相反趋势;蔗糖在 L1(0 g/L)时与感官评吸得分呈显著负相关,在 L3(2 g/L)时呈相反趋势。

以评吸综合得分最高值为响应值,通过软件预测评吸最高分,结果见图 1。由图 1 可知,预测评吸得分为最大值(97.6 分)时,培养基配方为槐花粉

表 5 回归方程方差分析

Table 5 Analysis of variance for the regression equation

变异来源	自由度	平方和	均方	F 值	P 值
模型	10	9 682.048	968.205	24.542	<0.000 1*
误差	17	670.667	39.451		
校正总和	27	10 352.714			
失拟	16	668.667	41.791	20.896	0.170 4
纯误差	1	2.000	2.000		
总误差	17	670.667			

$R = 0.97$ $R^2 = 0.94$ $R_{adj}^2 = 0.90$

注: * 表示在 $P < 0.05$ 下水平显著,下同。

表 4 因子筛选试验评吸得分结果

Table 4 The sensory results of screening experiments

编号	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	得分/分
1	L1	L1	L1	L1	L1	51
2	L1	L1	L1	L1	L2	54
3	L1	L1	L1	L1	L3	78
4	L1	L2	L2	L2	L1	64
5	L1	L2	L2	L2	L2	85
6	L1	L2	L2	L2	L3	81
7	L1	L3	L3	L3	L1	16
8	L1	L3	L3	L3	L2	36
9	L1	L3	L3	L3	L3	51
10	L2	L1	L2	L3	L1	48
11	L2	L1	L2	L3	L2	50
12	L2	L1	L2	L3	L3	68
13	L2	L2	L3	L1	L1	45
14	L2	L2	L3	L1	L2	54
15	L2	L2	L3	L1	L3	75
16	L2	L3	L1	L2	L1	40
17	L2	L3	L1	L2	L2	46
18	L2	L3	L1	L2	L3	58
19	L3	L1	L3	L2	L1	59
20	L3	L1	L3	L2	L2	64
21	L3	L1	L3	L2	L3	75
22	L3	L2	L1	L3	L1	55
23	L3	L2	L1	L3	L2	60
24	L3	L2	L1	L3	L3	88
25	L3	L3	L2	L1	L1	21
26	L3	L3	L2	L1	L2	10
27	L3	L3	L2	L1	L3	35

表 6 偏回归系数及显著性检验

Table 6 Partial regression coefficients and their significance test

模型项	甘油	玉米粉	麦芽糖	麸皮	蔗糖
t 值	1.828 9	68.361 0	3.867 1	16.753 6	33.902 8
P 值	0.190 8	<0.000 1*	0.041 3*	0.041 3*	<0.000 1*

表 7 不同水平下各因素对响应值的影响

Table 7 The influence of each factor on response value at different levels

添加物	添加量/ (g·L ⁻¹)	统一尺度 估计值	标准 误差	t 比	概率> t
	截距	54.33	1.19	45.55	<0.000 1*
	0	3.00	1.66	1.80	0.089 1
甘油	3.0	-0.55	1.70	-0.33	0.747 6
	6.0	-2.44	1.70	-1.44	0.168 2
	0	6.44	1.66	3.87	0.001 2*
玉米粉	2.0	13.11	1.70	7.72	<0.000 1*
	4.0	-19.55	1.70	-11.52	<0.000 1*
	0	4.55	1.66	2.74	0.014 0*
麦芽糖	1.0	-3.00	1.70	-1.77	0.095 2
	3.0	-1.55	1.70	-0.92	0.372 5
	0	-7.33	1.66	-4.41	0.000 4*
麸皮	2.0	9.22	1.70	5.43	<0.000 1*
	4.0	-1.89	1.70	-1.11	0.281 5
	0	-10.00	1.66	-6.01	<0.000 1*
蔗糖	1.0	-3.33	1.70	-1.96	0.066 8
	2.0	13.33	1.70	7.85	<0.000 1*

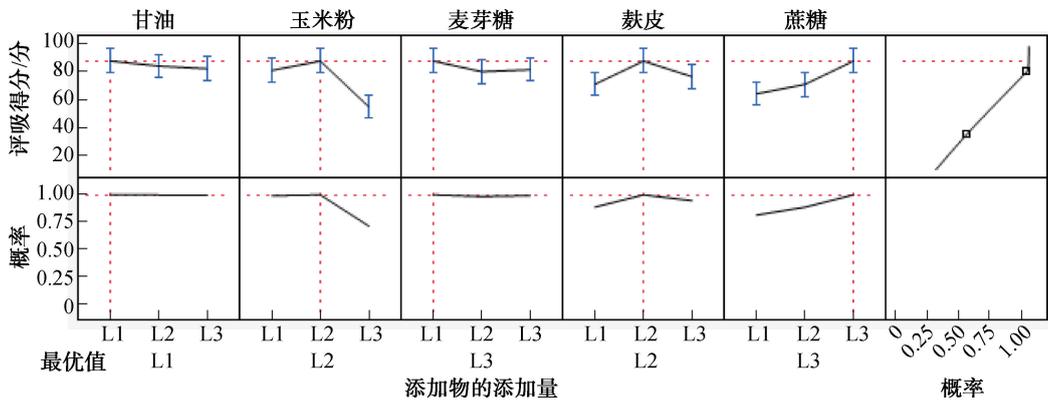


图1 软件预测评吸最高分

Fig. 1 Score of sensory results predicted by software

100 g/L、玉米粉 2 g/L、麸皮 2 g/L 和蔗糖 2 g/L,其概率为 99.7%。

2.2 卷烟加香感官评价结果

2.2.1 发酵槐花香料嗅香分析 发酵前后所得槐花香料嗅香评价雷达图如图 2 所示,其中 0 代表无香气,1~2 代表香气弱,3~4 代表香气适中,5~6 代表香气稍强,7 代表香气强。由图 2 可知,未发酵槐花香料以花香为主,果香、坚果香、奶香、青香为辅,丰富性好,且强度高;发酵所得槐花香料以坚果香为主,奶香、青香为辅,其他香韵极弱,丰富性差。总体而言,发酵所得槐花香料的坚果香增强,花香、果香和奶香减弱。

2.2.2 卷烟加香感官评价结果 在最优培养基条件下进行 3 次卷烟加香感官评吸平行实验,评吸得分为 (90±4) 分,与理论得分 (97.6 分) 的相对标准差 (RSD) 为 7.79%,培养基优化后的感官评吸得分较基础培养基提高了 1.76 倍。同时,该条件下的加香卷烟具体表现为坚果香和润甜感增加、烟气细腻、

刺激性和杂气降低。因此,本文的培养基配方优化方法适用于冬虫夏草菌株 SCT-1 发酵槐花制备香料。

2.3 发酵槐花香料致香成分分析

发酵前后所得槐花香料的致香成分含量及 OAV^[20-24] 见表 8。由表 8 可知,未发酵和发酵槐花

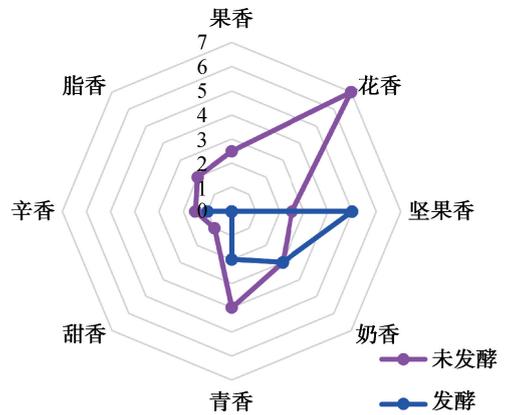


图2 发酵前后所得槐花香料嗅香评价雷达图
Fig. 2 Fragrance evaluation radar chart of unfermented and fermented *Flos sophorae*

表 8 发酵前后所得槐花香料致香成分含量及 OAV

Table 8 The content and OAV of aroma components in fermented and unfermented *Flos sophorae*

类别	致香成分	香气描述	阈值/ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	含量 ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)		OAV	
				发酵	未发酵	发酵	未发酵
	异戊醇	甜、麦芽、油脂、橡胶香	100	198.56	0.24	1.99	—
	异丁酸	油脂、黄油、奶酪香	2300	9.06	0.03	—	—
	正戊醇	杏仁香	5	6.26	0.27	1.25	0.05
	正己醇	青草香	2.4	11.40	0.71	4.75	0.30
醇类	α -松油醇	松香、甜的紫丁香、铃兰气息	35	203.24	370.33	5.81	10.58
	苯甲醇	苦杏仁、香草、水果香	1.5	25.19	1.61	16.79	1.07
	2-甲基丁醇	酒香、水果香	6000	35.16	0.35	0.01	—
	苯乙醇	清甜的玫瑰样花香	45	185.27	1.74	4.12	0.04
	橙花醇	水果香、清香	500	110.57	8.47	0.22	0.02

表 8(续)

类别	致香成分	香气描述	阈值/ ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	含量($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)		OAV	
				发酵	未发酵	发酵	未发酵
醇类	(2Z)-2-辛烯-1-醇	青草香	50	48.55	38.32	0.97	0.77
	松油烯-4-醇	胡椒香、较淡的泥土香和陈腐的木材气息	34	218.14	68.76	6.42	2.02
	芳樟醇	花香、青带甜的木青气息	3.8	332.36	108.31	87.46	28.50
酯类	乙酸异戊酯	香蕉香	0.75	5.11	0.13	6.81	0.17
	邻氨基苯甲酸甲酯	类似葡萄的气味	3	21.84	0.59	7.28	0.20
	γ -壬内酯	奶油、椰香	65 ^(a)	15.66	1.82	0.24	0.03
醛类	壬醛	油脂香	3.5	93.50	5.26	26.71	1.50
	(E)-2-庚烯醛	微带油脂气息的尖刺青香	0.5	91.84	7.86	183.68	15.72
	苯甲醛	苦杏仁、香草、水果香	1.5	85.13	166.42	56.75	110.95
酸类	异戊酸	奶酪香	33	15.72	0.39	0.48	0.01
酮类	茉莉酮	似茉莉香	25 000 ^(a)	15.81	1.72	—	—
	β -紫罗兰酮	似紫罗兰香	0.03	59.54	0.37	1 984.67	12.44
	苯乙酮	甜的、杏仁香	3000	18.17	18.63	0.01	0.01
其他	苯并噻唑	似茴香油和苯甲醚气味	50	1.20	15.46	0.02	0.31
	甲基丁香酚	清甜的丁香、茴香辛香气	1250	9.30	195.05	0.01	0.16
	苯乙烯	树脂香膏	2.8	28.02	2.18	10.01	0.78
	萘	似香樟木的气味	50	19.46	13.27	0.39	0.27

注: ^(a)表示数据来源为 <http://www.leffingwell.com/reviews.htm>;—代表 OAV<0.005。

香料样品中分别检出 33 种和 26 种致香成分,总含量分别为 2 424.00 $\mu\text{g}/\text{L}$ 和 2 767.19 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。未发酵槐花香料中致香成分总含量(1 864.06 $\mu\text{g}/\text{L}$)高于发酵槐花香料(1 028.29 $\mu\text{g}/\text{L}$)。

发酵前后所得槐花香料的致香成分误差线图如图 3 所示。由图 3 可知,发酵槐花香料中有 7 种致香成分含量显著高于未发酵样品($P<0.05$),有 19 种致香成分呈相反的趋势。发酵所得槐花香料中含量高于未发酵槐花香料的前 3 种致香成分为甲基丁香酚、 α -松油醇和苯甲醛,其中 α -松油醇和苯甲醛的 OAV 均大于 1.0,表明 α -松油醇(具有海桐花、紫丁香及铃兰鲜幽香气)和苯甲醛具有(苦杏仁香气)对发酵所得槐花香料香气具有显著贡献。同时,发酵所得槐花香料中萘、(2Z)-2-辛烯-1-醇、苯乙烯、苯并噻唑和甲基丁香酚这 5 种致香成分 OAV 为 0.1~1.0,表明其对香料整体香气具有贡献^[25]。发酵槐花香料中含量高于未发酵槐花香料的前 3 种致香成分为异戊醇、苯乙醇、芳樟醇,但未发酵槐花香料中 OAV 最大的致香成分是似紫罗兰香的 β -紫罗兰酮,即 β -紫罗兰酮对未发酵槐花香料具有显著贡献。同时未发酵槐花香料中还有异戊醇、正戊醇、正己醇、乙酸异戊酯、苯甲醇、壬醛、苯乙醇、邻氨基苯

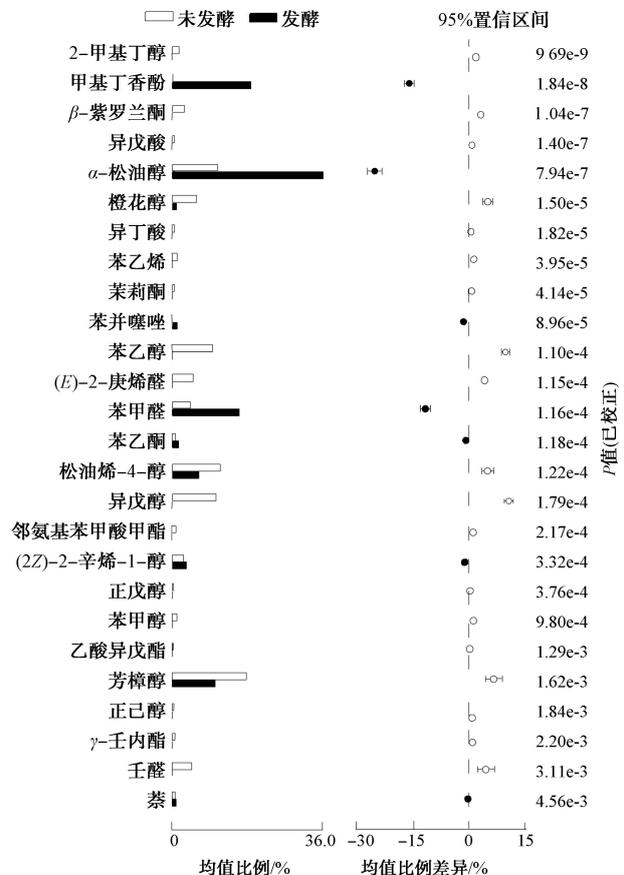


图 3 发酵前后所得槐花香料的致香成分误差线图
Fig. 3 Error bar plot of aroma substances in spices prepared from fermented and unfermented *Flos sophorae*

甲酸甲酯、苯乙烯、(E)-2-庚烯醛、松油烯-4-醇、芳樟醇、 α -松油醇和苯甲醛这 14 种物质的 OAV 大于 1.0,表明未发酵槐花香料的香气比发酵槐花香料更复杂,且嗅香结果与化学分析结果一致。即槐花经冬虫夏草菌株 SCT-1 发酵后所制备的香料其槐花特征香气减弱、香韵更加柔和且略带食用菌特有鲜香气。

3 结论

本研究利用冬虫夏草菌株 SCT-1 发酵槐花底物,得到一种新型槐花香料。通过因子筛选试验获得的最优发酵培养基配方为槐花粉 100 g/L、玉米粉 2 g/L、麸皮 4 g/L 和蔗糖 2 g/L。嗅香评价结果显示,与未发酵槐花香料相比,发酵所得槐花香料的坚果香增强,花香、果香和奶香减弱。卷烟加香评价结果显示,该天然香料能够赋予卷烟独特的坚果香韵,使烟气圆润、细腻,甜感增加,刺激性降低;SPME-GC-MS 检测挥发性致香成分结果显示,与未发酵槐花香料相比,发酵所得槐花香料中异戊醇、苯乙醇、芳樟醇、松油烯-4-醇、橙花醇、壬醛等含量显著降低,甲基丁香酚、 α -松油醇、苯甲醛等含量显著增加,萘、(2Z)-2-辛烯-1-醇、苯乙烯、苯并噻唑和甲基丁香酚对该香料整体香气具有贡献,(E)-2-庚烯醛、松油烯-4-醇、芳樟醇、 α -松油醇和苯甲醛对该香料的香气具有显著贡献。

参考文献:

- [1] 田数,柴颖,田大勇,等.冬虫夏草提取液有效成分分析及其在卷烟中的应用研究[J].轻工学报,2022,37(3):74-81.
- [2] 张姝,张永杰,SHRESTHA B,等.冬虫夏草菌和蛹虫草菌的研究现状、问题及展望[J].菌物学报,2013,32(4):577-597.
- [3] 李春如,彭凡,樊美珍,等.中国被毛孢 RCEF0273 培养工艺的研究[J].安徽农业大学学报,2004(4):460-465.
- [4] 周宇燊,江明艳,姜福星,等.不同氮源对中国被毛孢生长的影响[J].广东农业科学,2013,40(18):22-24.
- [5] 葛飞,桂琳,李春如,等.冬虫夏草无性型-中国被毛孢固态发酵条件的初步研究[J].生物学杂志,2009,26(3):22-25.
- [6] 戢培正.木里冬虫夏草真菌的分离鉴定及其固态发酵工艺研究[D].成都:西南交通大学,2017.
- [7] 韩涛.冬虫夏草发酵发芽糙米生产虫草多糖及分离纯化研究[D].天津:天津科技大学,2013.
- [8] 韩勇.冬虫夏草发酵小麦麦麸生产虫草多糖及分离纯化[D].天津:天津科技大学,2015.
- [9] 任晓莉,杨璐,乔鹏,等.复合酶法提取槐花多糖的工艺优化及其抗氧化活性[J].食品工业科技,2024,45(7):1-7.
- [10] 王吉中,杨琛琛,乔静丽,等.生物法制备天然槐花烟用香料的研究[J].食品工业科技,2012,33(22):226-233.
- [11] 张倩颖,罗诚,李东亮,等.汉逊德巴利酵母 LI-1 发酵槐花提取物香气物质及其应用[J].生物加工过程,2021,19(5):472-481.
- [12] 张倩颖,耿宗泽,邓羽翔,等.冬虫夏草菌株发酵对非主料区烟叶感官品质和化学成分的影响[J].中国烟草学报,2021,27(4):1-9.
- [13] 国家烟草专卖局.烟草及烟草制品 感官评价方法:YC/T 138—1998[S].北京:中国标准出版社,1998.
- [14] EDIBE S E, CADWALLADER K R. Identification of predominant aroma components of raw, dry roasted and oil roasted almonds [J]. Food Chemistry, 2017, 217(15): 244-253.
- [15] 陈芝飞,蔡莉莉,陈小龙,等.基于香韵活性值的不同产地中间香型烤烟风格特征差异分析[J].轻工学报,2022,37(1):79-86.
- [16] WEI J P, WANG S Y, ZHANG Y X, et al. Characterization and screening of non-Saccharomyces yeasts used to produce fragrant cider [J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 107: 191-198.
- [17] WEI J P, ZHANG Y X, WANG Y W, et al. Assessment of chemical composition and sensorial properties of ciders fermented with different non-Saccharomyces yeasts in pure and mixed fermentations [J]. International Journal of Food Microbiology, 2019, 318: 108471.
- [18] JELEN H, MAJCHER M, GINJA A, et al. Determination of compounds responsible for tempeh aroma [J]. Food Chemistry, 2013, 141(1): 459-465.
- [19] FAN Y, LIU W, FEN X, et al. Comparative flavor analysis of eight varieties of Xinjiang flatbreads from the Xinjiang region of China [J]. Cereal Chemistry, 2019, 96(2): 1022-1035.
- [20] GEMERT L J V. Compilations of odour threshold values in air, water and other media [M]. Oliemans Punter & Partners BV, 2003.
- [21] JOSÉ M S, CARMEN G B, RAQUEL R S, et al. Study of the volatile compounds produced by *Debaryomyces hansenii* NRRL Y-7426 during the fermentation of detoxified concentrated distilled grape marc hemicellulosic hydrolysates [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2012, 28(11): 3123-3134.

- [22] MURNANE S S, LEHOCKY A H, OWENS P D. Odor thresholds for chemicals with established health standards [M]. 2nd edition. Virginia: AIHA, 2013.
- [23] BUTTERY R G, TAKEOKA G R. Cooked carrot volatiles. AEDA and odor activity comparisons. Identification of linden ether as an important aroma component[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2013, 61 (38): 9063 - 9066.
- [24] 安会敏, 欧行畅, 熊一帆, 等. 茉莉花茶特征香气成分研究[J]. 茶叶科学, 2020, 40(2): 225-237.
- [25] 谢剑平. 烟草香原料[M]. 北京: 化学工业出版社, 2009.

Preparation of fermented *Flos sophorae* spice by *Cordyceps sinensis* strain and its application in cigarette flavoring

ZHANG Qianying¹, YANG Shuanghong¹, CAI Wen¹, GENG Zongze¹, LI Dongliang¹, DING Zhongyang²

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

2. National Engineering Laboratory for Cereal Fermentation Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China

Abstract: To develop a new natural spice of *Flos sophorae*, we used *Cordyceps sinensis* strain SCT-1 to ferment *Flos sophorae*. The fermentation medium formula was optimized through factor screening experiments. The spice obtained under the optimal conditions was evaluated for odor and cigarette flavoring sensory evaluation, and the volatile aroma components were analyzed. The results showed that the optimal fermentation medium was *Flos sophorae* powder 100 g/L, corn flour 2 g/L, bran 2 g/L and sucrose 2 g/L. The optimal spice obtained exhibited a predominant nutty aroma, supplemented by milk aroma and green aroma. By adding the spice, the cigarette had an increased nutty aroma, sweetness, and a more delicate smoke, while reducing its irritancy. The volatile aroma components, as styrene, (2Z)-2-octen-1-ol, naphthalene, benzothiazole, and methyleugenol, contributed to the aroma of the spice. (E)-2-heptanal, benzaldehyde, linalool, terpine-4-ol and α -terpineol had a significant contribution to the aroma of this spice.

Key words: *Cordyceps sinensis*; fermented *Flos sophorae* spice; cigarette flavoring; volatile aroma component

[责任编辑:吴晓亭]

(上接第 37 页)

lemon juice, and the number of viable bacteria reached a maximum value of 4×10^8 CFU/mL after 36 h of fermentation, and then tended to be stable afterwarded. *L. plantarum* R-1 could decrease the contents of total sugar and organic acids, but significantly increase the content of total phenols in lemon juice from 47.4 GAE mg/mL to 174.3 GAE mg/mL after 48 h fermentation, enhancing the antioxidant capacities (ability to scavenge DPPH and ABTS⁺ radicals) of fermented lemon juice ($P < 0.05$), *L. plantarum* R-1 could change the varieties and proportions of volatile flavor components in lemon juice, especially the terpene flavor compounds such as D-limonene and γ -terpinene in lemon oil. The relative content of terpene flavor compounds reached the maximum at 24 h of fermentation. The results of sensory evaluation also indicated that the flavor and taste of sample at 24 h was superior to that of other fermentation time point of the samples. *L. plantarum* R-1 could make good use of nutrients in lemon juice for growth and metabolism, which could improve the flavor of lemon juice and increase the content of total phenols and antioxidant substances. This study provides fundamental basis for the development of fermented lemon juice products.

Key words: *Lactobacillus plantarum*; fermented lemon juice; volatile flavor compound; nutrition substance; antioxidant capacity

[责任编辑:杨晓娟]