

烟草与烟气化学

张倩颖, 耿宗泽, 邓羽翔, 等. 冬虫夏草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).
ZHANG Qianying, GENG Zongze, DENG Yuxiang, et al. Effects of *Ophiocordyceps sinensis* fermentation on sensory qualities and chemical components of tobacco leaves from the minor materials area [J]. Acta Tabacaria Sinica, 2021, 27(4).
doi: 10.16472/j.chinatobacco.2020.278

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

张倩颖¹, 耿宗泽¹, 邓羽翔¹, 罗诚¹, 李东亮^{1*}, 丁重阳²

¹ 四川中烟工业有限责任公司技术中心, 四川省成都市锦江区成龙大道一段56号 610000;

² 江南大学生物工程学院, 粮食发酵工艺与技术国家工程实验室, 江苏省无锡市蠡湖大道1800号 214122

摘要: 【目的】为提升非主料区宜宾烟叶品质和可用性, 采用冬虫夏草菌株发酵烟叶并研究发酵对烟叶感官品质和化学成分的影响。【方法】对发酵过程样品进行感官质量评价并测定了常规化学物质和挥发性成分, 采用偏最小二乘法和主成分分析法研究了发酵对烟叶感官品质和化学成分的影响。【结果】经过冬虫夏草菌株发酵后的宜宾烟叶, 感官质量明显提升, 发酵第 10 d 烟叶感官质量表现最佳; 发酵烟叶中总植物碱和总氮含量与未发酵样品相比显著降低; 发酵烟叶中质体色素降解物总量和西柏烷类降解物总量显著高于未发酵烟叶, 美拉德反应产物总量在发酵烟叶中均呈先升高后降低的趋势; 总氮、总植物碱、烟碱、二烯烟碱、苯甲醇、二氢猕猴桃内酯、还原糖和总糖对未发酵烟叶组和对照组具有显著贡献, 总氮/总植物碱、总糖/总植物碱、两糖差、大马士酮、新植二烯、巨豆三烯酮、2-糠醛、香茶酮、2-乙酰基吡咯、2-苯乙醇、茄酮、2,3'-联吡啶对发酵烟叶感官品质具有显著贡献。【结论】利用冬虫夏草菌株发酵宜宾烟叶, 对提升烟叶的感官品质具有促进作用。

关键词: 冬虫夏草; 烟叶; 发酵; 感官品质; 化学成分; 相关性

部分非主料区烟叶存在香气不足、杂气较大、刺激性较大、余味欠舒适等缺点, 工业可用性较低。研究表明通过改进烘烤方式^[1]、高压处理^[2]、喷施复烤添加剂^[3]和生物制剂^[4]、微生物强化发酵^[5-10]等方法能提升烟叶品质, 提高烟叶工业可用性。微生物在烟叶上代谢能够产生许多香味物质, 在烟草发酵过程中选择适当的微生物和适宜的发酵条件, 可明显增加烟叶香气, 降低青杂气, 提高烟叶品质^[11-12]。已报道的用于烟草发酵的微生物主要有枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)、环状芽孢杆菌 (*B. circulans*)^[5]、巨大芽孢杆菌 (*B. megaterium*)^[6]、克雷伯氏菌 (*Klebsiella*)^[7]、白地霉 (*Galactomyces candidum*)^[8]、安琪酵母^[9]和米根霉 (*Rhizopus*

oryzae)^[10]等。

冬虫夏草为我国著名的食药兼用真菌, 不仅含有丰富的营养成分, 还含有一定的药效物质, 具有独特的鲜香气味, 是“非绿色的绿色食品”和天然药物资源^[13]。对冬虫夏草的研究绝大多数停留在菌株筛选、发酵技术的开发、发酵产物评价与应用上, 尚无采用冬虫夏草菌株菌丝体发酵非主料区烟叶, 提升烟叶品质的报道。我国菌种资源丰富, 合理开发和利用我国天然菌种资源, 将这些菌株用于发酵非主料区烟叶, 提升非主料区烟叶的可用性, 对提升非主料区烟叶有效使用率、优化烟叶库存等具有重要意义。

本研究采用前期筛选得到的对烟叶品质具有显著提升作用的冬虫夏草菌株 (*Ophiocordyceps sinensis*,

基金项目: 四川省科技计划项目“‘宽窄’润甜香品类生物产香关键技术研究”(No. 2019YJ0264); 四川中烟“润甜香”品类构建重大专项 (No. rtx201820)

作者简介: 张倩颖 (1988—), 博士, 主要从事烟草微生物研究, Tel: 028-86005068, Email: QianyingZhang@163.com

通讯作者: 李东亮 (1973—), Tel: 028-86005602, Email: 360188228@qq.com

收稿日期: 2020-10-10; **网络出版日期:** 2021-07-21

syn Cordyceps sinensis) 对非主料区宜宾烟叶进行发酵, 对发酵烟叶进行感官质量评价并测定其常规化学成分和挥发性成分, 结合偏最小二乘法 (Partial Least Squares, PLS) 探讨发酵对烟叶感官质量与常规化学成分和挥发性成分的影响, 揭示对感官品质具有显著贡献的因子, 并基于 PLS 分析结果采用主成分分析法 (Principal Component Analysis, PCA) 进一步揭示显著贡献因子对发酵烟叶和未发酵烟叶的贡献程度, 旨在为我国特有食药兼用真菌发酵改善非主料区烟叶品质提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株

冬虫夏草 (*Ophiocordyceps sinensis*, *syn Cordyceps sinensis*) 纯菌菌株 SCT-F1 由四川中烟技术中心前期从四川藏区产冬虫夏草子实体中分离得到。菌株分离、鉴定过程简述如下: 取冬虫夏草子实体, 用 10% 84 消毒液浸泡 4~5 min 后用无菌蒸馏水清洗干净。将清洗干净的冬虫夏草子实体用无菌手术刀切取黄豆大小, 置于含 1% 氯霉素的烟草提取物固体培养基上。将培养皿置于 25℃~28℃、相对湿度 75% 恒温恒湿箱培养 5~7 d。待菌丝体长出后, 在培养皿四周和中心位置, 用无菌接种铲截取黄豆大小带琼脂块的菌丝体, 置于含 1% 氯霉素的烟草提取物培养基中, 置于摇床中 25℃~28℃、150 rpm 培养 5~7 d。将培养物梯度稀释后涂布于烟草提取物固体培养基上, 得到单菌落。经过形态学结合菌株 18S rRNA 基因测序, 筛选出冬虫夏草 (*Ophiocordyceps sinensis*) 纯菌菌株, 编号为 SCT-F1。该菌株保藏于中国普通微生物菌种保藏管理中心, 其保藏编号为 CGMCC No.22451。

1.1.2 烟叶样品

非主料区烟叶样品取自四川中烟工业有限责任公司烟叶醇化库, 烟叶产地为四川宜宾, 年份为 2013 年, 品种为 K326, 烟叶等级为中部橘黄三级 (C3F) 和上部橘黄二级 (B2F)。

1.1.3 主要仪器设备

傅里叶变换近红外光谱仪 (MPA): 德国 Bruker 公司; 三重四级杆气相色谱-质谱联用仪 (TSQ8000): 美国 ThermoFisher Scientific 公司; 顶空固相微萃取仪、二乙基苯/碳分子筛/聚二甲基硅氧烷 (DVB/CAR/PDMS) 萃取纤维: 美国 Supelco 公司。

1.2 方法

1.2.1 菌株培养

培养基: 麸皮 10.0 g/L, 玉米粉 10.0 g/L, 葡萄糖 20.0 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.0 g/L, KH_2PO_4 2.0 g/L。

菌株活化: 取 -80℃ 保藏的冬虫夏草菌株接种于培养基中, 活化 2 代, 待用。

1.2.2 发酵烟叶及样品制备

活化后的冬虫夏草菌株培养液按照 10% 的比例, 喷洒于 10 kg 烟叶表面, 边喷洒边混匀烟叶, 将混匀后的烟叶装入无色聚乙烯吹塑薄膜塑料袋内放入瓦楞纸箱, 置于温度为 26℃±2℃、湿度为 75%±2% 的烟叶醇化库中培养, 发酵时垛内温度为 26℃±1℃。采用五点法取样, 从箱四角和中心分别取样 100 g, 共取样 500 g, 将样品混合均匀, 用无菌袋挤出空气后密封, 放置于 -20℃ 低温保存备用, 于培养第 0 d、5 d、10 d 和 15 d 取样, 以添加 10% 蒸馏水的烟叶为对照。对照组、未发酵组 (发酵 0 d)、发酵 5 d、发酵 10 d、发酵 15 d 宜宾 C3F 烟叶样品, 分别标记为 C3F-C、C3F-0D、C3F-5D、C3F-10D 和 C3F-15D; 对照组、未发酵组 (发酵 0 d)、发酵 5 d、发酵 10 d 和发酵 15 d 宜宾 B2F 烟叶样品, 分别标记为 B2F-C、B2F-0D、B2F-5D、B2F-10D 和 B2F-15D。

1.2.3 发酵烟叶感官评价

将平衡后的发酵烟叶切丝制成卷烟, 由 9 位全国评烟委员会专家进行感官质量评价。参照《YC/T 138-1998 烟草及烟草制品·感官评价方法》^[14] 和《QJ/02.J.001—2016.A 四川中烟产品技术标准·单料烟感官评价标准》^[15], 将最大标度设为 9, 对烟支劲头、浓度、香气质、香气量、余味、甜感、杂气和刺激性进行赋分评价。

1.2.4 发酵烟叶化学成分分析

采用傅里叶变换近红外光谱仪, 测定发酵烟叶样品常规化学成分。取 80.0 g 烟末样品, 装入石英旋转样品杯中, 放入压样器加压 20 s, 利用积分球漫反射采样系统采集其 NIR。光谱采集条件为: 波数范围 12000~4000 cm^{-1} , 扫描次数 64 次, 扫描速度 10 kHz, 分辨率 8 cm^{-1} 。每个样品重复装样、扫描 3 次。采用 OPUS QUANT 2.0 定量分析软件处理采集到的光谱数据, 并根据四川中烟前期建立的烤烟烟叶通用常规化学成分测定模型进行数据拟合。

1.2.5 发酵烟叶挥发性成分分析

采用顶空固相微萃取结合气质联用 (SPME-GC/MS) 测定发酵烟叶挥发性成分。称取 1.0 g 烟叶置于 20 mL 玻璃气相样品瓶中, 在 60℃ 下萃取 30 min,

260℃解吸1 min冲入GC色谱柱，以丙酸苯乙酯为内标，采用面积归一化法定量。气相色谱条件：色谱柱为DB/WAX，载气为氦气，流速1.2 mL·min⁻¹；程序升温条件为50℃维持2 min，3℃·min⁻¹升温至180℃，15℃·min⁻¹升温至230℃，维持8 min。质谱条件：接口温度为230℃，离子源温度为260℃，四级杆温度为150℃，电离电势为70 eV，离子化模式为EI⁺，质量扫描范围（m/z）为33~350 amu。检测获得的质谱数据与NIST数据库（Agilent Technologies Inc.）进行比对。

1.2.6 数据处理与统计分析

所有试验数据至少有3组平行，数据分析采用SPSS（version 19, IBM）中Duncan多重比较进行单因素方差分析（ANOVA）（*P*<0.05），利用SIMCA-P（version 13.0, UMETRICS）软件中偏最小二乘法（Partial Least Squares, PLS）对发酵烟叶常规化学成分、挥发性成分与感官质量总分之间相关性进行分析，基于PLS分析结果采用Canoco for Windows

（version 4.5, Wageningen UR）主成分分析（Principal Component Analysis, PCA）解析显著贡献变量对发酵烟叶和未发酵烟叶的贡献情况。

2 结果与分析

2.1 发酵烟叶感官评价

发酵烟叶感官评价结果，见表1。由表1可知，添加冬虫夏草培养液后烟叶的感官评价总分显著高于对照组（*P*<0.05），感官评价总分随发酵时间呈先升高后降低的趋势，发酵后烟叶的香气质、香气量和甜感显著增加（*P*<0.05），杂气和刺激性降低，余味改善。在发酵第10 d时，C3F组与B2F组烟叶感官评价得分均为对应组内最高，发酵第5 d时感官质量显著低于发酵10 d和15 d。具体来说，C3F-10D烟气浓度增加醇和、细腻，润甜感明显增加，舌面残留降低。B2F组样品，发酵后烟气变柔和；B2F-10D表现为烟气清晰、细腻，杂气和刺激性降低，润甜感明显。

表1 发酵烟叶感官评价结果
Tab. 1 Sensory evaluation results of fermented tobacco leaves

指标	样品编号									
	C3F-C	C3F-0D	C3F-5D	C3F-10D	C3F-15D	B2F-C	B2F-0D	B2F-5D	B2F-10D	B2F-15D
劲头	5.0±0.0	5.0±0.0	5.1±0.2	5.1±0.2	5.1±0.2	5.0 ^c ±0.0	5.0 ^c ±0.0	5.9 ^b ±0.2	6.2 ^a ±0.3	6.1 ^a ±0.2
浓度	5.0 ^d ±0.0	5.0 ^d ±0.0	5.4 ^c ±0.2	5.9 ^a ±0.2	5.6 ^b ±0.2	6.0 ^b ±0.0	6.0 ^b ±0.0	6.1 ^{ab} ±0.2	6.2 ^a ±0.3	6.0 ^b ±0.0
香气质	5.0 ^d ±0.0	5.1 ^d ±0.2	5.6 ^c ±0.4	6.4 ^a ±0.2	6.0 ^b ±0.3	5.0 ^c ±0.0	5.2 ^{bc} ±0.3	5.4 ^b ±0.2	6.4 ^a ±0.2	6.1 ^a ±0.2
香气量	5.0 ^c ±0.0	5.1 ^c ±0.2	5.1 ^c ±0.2	6.4 ^a ±0.2	6.0 ^b ±0.3	5.0 ^d ±0.0	5.1 ^{cd} ±0.2	5.4 ^c ±0.2	6.4 ^a ±0.2	5.8 ^b ±0.3
余味	5.0 ^c ±0.0	5.0 ^c ±0.0	5.1 ^c ±0.2	6.4 ^a ±0.2	6.1 ^b ±0.3	5.0 ^d ±0.0	5.0 ^d ±0.0	5.2 ^c ±0.3	6.4 ^a ±0.2	6.1 ^b ±0.2
甜感	5.0 ^d ±0.0	5.1 ^d ±0.2	5.4 ^c ±0.2	6.1 ^a ±0.2	5.6 ^b ±0.2	5.0 ^c ±0.0	5.1 ^c ±0.2	5.4 ^b ±0.2	6.1 ^a ±0.2	5.4 ^b ±0.2
杂气	5.0 ^c ±0.0	5.2 ^c ±0.3	5.6 ^b ±0.2	6.1 ^a ±0.2	6.1 ^a ±0.2	5.0 ^c ±0.0	5.1 ^b ±0.2	5.1 ^{bc} ±0.2	5.4 ^a ±0.2	5.3 ^{ab} ±0.3
刺激性	5.5 ^c ±0.0	5.5 ^c ±0.0	5.6 ^c ±0.2	6.4 ^a ±0.2	5.9 ^b ±0.2	5.0 ^c ±0.0	5.0 ^c ±0.0	5.8 ^b ±0.3	6.4 ^a ±0.2	6.3 ^a ±0.3
总分	40.5 ^e ±0.0	41.1 ^d ±0.2	43.0 ^c ±0.8	48.6 ^a ±0.6	46.2 ^b ±0.6	41.0 ^e ±0.0	41.6 ^d ±0.2	44.2 ^c ±0.6	49.4 ^a ±0.4	47.1 ^b ±0.6

注：评吸表单项最大标度为9，不同字母表示差异显著（*P*<0.05）。

Note: The maximum scale of each column is 9. Different letters indicate significant differences (*P*<0.05).

2.2 发酵烟叶常规化学成分分析

不同发酵时间烟叶样品常规化学成分测定结果，见表2。由表2可知，发酵C3F组烟叶与对照组和未发酵组相比总植物碱、还原糖、总氮和总糖含量显著降低（*P*<0.05），对应地，总氮/总植物碱、总糖/总植物碱及两糖差显著增加。发酵后的B2F组烟叶与对照组和未发酵组相比总植物碱和总氮含量显著降

低（*P*<0.05），对应地，总氮/总植物碱、总糖/总植物碱及两糖差显著增加。

2.3 发酵烟叶挥发性成分分析

利用SPME-GC/MS测定发酵烟叶挥发性成分，共检测出340余种物质。将GC-MS所得谱图在标准质谱检索库NIST中进行比对，分析各峰对应的匹配物，结合正向检索结果相似指数（SI）和反向检索结

果的相似指数 (RSI) 对化合物进行鉴定, 鉴定出 83 种主要挥发性物质, 发酵后的 C3F 烟叶和 B2F 烟叶中分别有 26 种和 24 种物质含量显著增加 ($P<0.05$), 分别有 10 种和 7 种物质含量显著降低 ($P<0.05$),

有 14 种物质仅在发酵烟叶中检出。发酵烟叶主要挥发性物质、质体色素降解物总量、美拉德反应产物总量、芳香族氨基酸降解物总量、西柏烷类降解物总量和烟碱降解物总量统计情况, 见表 3。

表 2 发酵烟叶常规化学成分

Tab. 2 Routine chemical components of fermented tobacco leaves

指标	样品编号									
	C3F-C	C3F-0D	C3F-5D	C3F-10D	C3F-15D	B2F-C	B2F-0D	B2F-5D	B2F-10D	B2F-15D
总植物碱 /%	1.95 ^a ±0.03	1.91 ^a ±0.06	1.25 ^c ±0.03	1.36 ^b ±0.08	1.37 ^b ±0.07	2.74 ^a ±0.02	2.73 ^a ±0.01	2.33 ^{bc} ±0.04	2.31 ^c ±0.01	2.40 ^b ±0.08
还原糖 /%	18.03 ^a ±0.08	17.99 ^a ±0.06	15.83 ^c ±0.25	16.82 ^b ±0.37	17.01 ^b ±0.18	15.62 ^a ±0.29	15.54 ^a ±0.20	15.58 ^a ±0.23	13.81 ^b ±0.13	15.40 ^a ±0.24
总氮 /%	2.29 ^a ±0.02	2.29 ^a ±0.05	2.24 ^b ±0.01	2.16 ^c ±0.03	2.17 ^c ±0.00	2.73 ^a ±0.02	2.73 ^a ±0.02	2.61 ^c ±0.01	2.66 ^b ±0.02	2.64 ^{bc} ±0.00
总糖 /%	19.02 ^a ±0.02	19.17 ^a ±0.05	17.62 ^c ±0.15	18.57 ^b ±0.16	18.70 ^b ±0.25	16.04 ^b ±0.51	16.97 ^a ±0.04	17.03 ^a ±0.23	15.44 ^b ±0.61	17.03 ^a ±0.26
总氮 / 总植物碱	1.17 ^c ±0.01	1.20 ^c ±0.01	1.80 ^a ±0.06	1.59 ^b ±0.08	1.59 ^b ±0.08	0.99 ^c ±0.00	1.00 ^c ±0.00	1.12 ^{ab} ±0.02	1.15 ^a ±0.01	1.10 ^b ±0.04
总糖 / 总植物碱	9.74 ^b ±0.12	10.02 ^b ±0.31	14.13 ^a ±0.39	13.69 ^a ±0.89	13.66 ^a ±0.54	5.85 ^d ±0.16	6.22 ^c ±0.02	7.31 ^a ±0.19	6.68 ^b ±0.28	7.09 ^a ±0.16
两糖差	0.99 ^b ±0.09	1.18 ^b ±0.03	1.79 ^a ±0.32	1.75 ^a ±0.25	1.69 ^a ±0.09	0.42 ^b ±0.26	1.44 ^a ±0.20	1.45 ^a ±0.45	1.62 ^a ±0.48	1.63 ^a ±0.48

注: 不同字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

Note: Different letters indicate significant differences ($P<0.05$).

表 3 发酵烟叶主要挥发性物质及统计

Tab. 3 Statistics of major volatile substances from fermented tobacco leaves

物质 /%	样品编号									
	C3F-C	C3F-0D	C3F-5D	C3F-10D	C3F-15D	B2F-C	B2F-0D	B2F-5D	B2F-10D	B2F-15D
1- 戊烯 -3- 酮	0.11±0.02	0.07±0.02	-	-	-	0.05±0.02	0.01±0.02	-	-	-
大马士酮	0.40 ^b ±0.05	0.45 ^b ±0.03	1.03 ^a ±0.08	1.02 ^a ±0.12	1.08 ^a ±0.10	0.29 ^d ±0.05	0.33 ^d ±0.01	0.95 ^a ±0.11	0.64 ^c ±0.09	0.80 ^b ±0.07
新植二烯	17.14 ^c ±0.19	17.21 ^c ±0.20	17.62 ^b ±0.11	18.08 ^a ±0.19	18.08 ^a ±0.12	14.42 ^c ±0.14	14.43 ^c ±0.06	15.49 ^b ±0.26	16.47 ^a ±0.06	14.67 ^c ±0.22
巨豆三烯酮	1.79±0.07	1.78±0.06	1.77±0.15	1.79±0.06	1.90±0.05	1.45 ^c ±0.11	1.46 ^c ±0.11	1.71 ^{ab} ±0.11	1.57 ^{bc} ±0.10	1.78 ^a ±0.06
二氢猕猴桃内酯	0.97 ^a ±0.02	0.85 ^b ±0.05	0.68 ^c ±0.02	0.79 ^b ±0.05	0.79 ^b ±0.03	0.63±0.04	0.62±0.04	0.57±0.01	0.54±0.13	0.63±0.09
丁二酮	-	-	0.05±0.03	0.05±0.01	0.09±0.04	-	-	0.04 ^b ±0.02	0.04 ^b ±0.01	0.07 ^a ±0.01
正己醛	0.37 ^a ±0.03	0.35 ^a ±0.01	0.11 ^b ±0.01	0.14 ^b ±0.07	0.18 ^b ±0.03	0.14±0.01	0.13±0.01	0.07±0.03	0.08±0.01	0.08±0.01
乙酸	9.47 ^a ±0.12	9.20 ^b ±0.03	5.76 ^d ±0.13	8.01 ^c ±0.07	1.91 ^c ±0.07	7.16 ^a ±0.08	6.92 ^b ±0.05	6.09 ^c ±0.14	3.02 ^d ±0.07	2.94 ^d ±0.13
2,3- 丁二醇	1.05 ^a ±0.08	1.13 ^a ±0.09	0.59 ^b ±0.03	0.59 ^b ±0.05	0.17 ^c ±0.02	0.47 ^a ±0.05	0.38 ^b ±0.04	0.14 ^c ±0.02	0.41 ^{ab} ±0.05	0.11 ^c ±0.01
2- 糠醛	1.14 ^c ±0.06	1.24 ^c ±0.03	2.85 ^a ±0.12	2.85 ^a ±0.11	2.45 ^b ±0.06	1.04 ^c ±0.04	1.38 ^d ±0.12	2.78 ^a ±0.16	1.93 ^c ±0.07	2.41 ^b ±0.10
香茶酮	0.21 ^b ±0.03	0.25 ^b ±0.02	0.40 ^a ±0.05	0.44 ^a ±0.07	0.36 ^a ±0.07	0.15 ^c ±0.01	0.24 ^b ±0.04	0.40 ^a ±0.03	0.30 ^b ±0.02	0.33 ^{ab} ±0.10
3- 甲基 -1,2- 环戊二酮	-	0.03 ^b ±0.02	0.10 ^{ab} ±0.09	0.17 ^a ±0.11	0.19 ^a ±0.05	-	0.02 ^c ±0.02	0.18 ^{ab} ±0.02	0.15 ^b ±0.03	0.19 ^a ±0.02
2- 乙酰基吡咯	1.03 ^c ±0.09	1.05 ^c ±0.09	1.25 ^b ±0.12	1.90 ^a ±0.08	1.23 ^b ±0.04	0.87 ^b ±0.08	0.87 ^b ±0.11	1.27 ^a ±0.01	1.01 ^b ±0.09	1.32 ^a ±0.07
2,3- 二氢 -3,5- 二羟基 -6- 甲基 -4H- 吡喃 -4- 酮	0.26 ^d ±0.01	0.34 ^d ±0.03	1.19 ^b ±0.05	1.03 ^c ±0.04	1.31 ^a ±0.07	0.23 ^d ±0.07	0.46 ^c ±0.09	0.79 ^a ±0.04	0.69 ^{ab} ±0.03	0.63 ^b ±0.12
5- 羟甲基糠醛	-	0.06 ^c ±0.02	0.35 ^b ±0.31	0.57 ^{ab} ±0.06	0.66 ^a ±0.06	-	0.09 ^c ±0.06	0.19 ^{ab} ±0.02	0.18 ^b ±0.02	0.24 ^a ±0.01
苯甲醛	-	0.01 ^b ±0.01	0.18 ^a ±0.02	0.14 ^a ±0.12	0.21 ^a ±0.02	-	0.03 ^b ±0.02	0.16 ^a ±0.05	0.15 ^a ±0.01	0.16 ^c ±0.01
苯甲醇	1.26 ^a ±0.09	1.21 ^a ±0.05	1.06 ^{bc} ±0.09	1.06 ^{bc} ±0.08	0.98 ^c ±0.09	1.13 ^a ±0.04	1.18 ^a ±0.03	1.12 ^a ±0.11	0.78 ^b ±0.06	1.08 ^a ±0.02
2- 苯乙醇	0.77 ^b ±0.07	0.86 ^b ±0.03	0.89 ^b ±0.03	1.02 ^a ±0.11	0.80 ^b ±0.02	0.65 ^c ±0.07	0.74 ^{bc} ±0.03	0.91 ^a ±0.07	0.80 ^b ±0.07	0.75 ^{bc} ±0.03

续表 3

物质 /%	样品编号									
	C3F-C	C3F-0D	C3F-5D	C3F-10D	C3F-15D	B2F-C	B2F-0D	B2F-5D	B2F-10D	B2F-15D
茄酮	3.00 ^b ±0.41	3.33 ^b ±0.18	7.09 ^a ±0.06	7.34 ^a ±0.18	7.25 ^a ±0.06	2.67 ^c ±0.04	3.27 ^d ±0.16	9.81 ^a ±0.25	5.87 ^c ±0.07	8.00 ^b ±0.12
3- 乙酰基吡啶	-	0.01 ^c ±0.01	0.10 ^b ±0.02	0.13 ^a ±0.02	0.12 ^{ab} ±0.01	-	0.01 ^b ±0.01	0.13 ^a ±0.03	0.12 ^a ±0.02	0.12 ^a ±0.01
二烯烟碱	0.09±0.01	0.08±0.02	0.10±0.03	0.07±0.02	0.08±0.02	0.09±0.01	0.08±0.01	0.08±0.01	0.08±0.02	0.09±0.02
2,3'- 联吡啶	0.19±0.02	0.20±0.04	0.16±0.03	0.24±0.08	0.22±0.04	0.17 ^b ±0.02	0.16 ^b ±0.01	0.15 ^b ±0.01	0.17 ^b ±0.02	0.24 ^a ±0.03
烟碱	39.33 ^a ±0.79	38.11 ^a ±0.26	32.58 ^b ±0.63	29.06 ^c ±1.06	31.28 ^b ±0.98	51.87 ^a ±0.89	48.60 ^b ±0.84	36.17 ^c ±0.28	43.60 ^c ±0.92	41.40 ^d ±0.84
人参炔醇	-	-	-	0.13±0.03	-	-	-	-	0.11±0.01	-
质体色素降解物总量	24.10 ^c ±0.62	24.61 ^c ±0.21	26.45 ^b ±0.27	27.32 ^a ±0.63	27.78 ^a ±0.17	19.75 ^c ±0.25	20.20 ^c ±0.32	24.69 ^a ±0.41	23.13 ^b ±0.37	22.57 ^b ±0.47
美拉德反应产物总量	16.42 ^b ±0.45	16.47 ^b ±0.56	16.11 ^b ±1.15	19.26 ^a ±0.18	12.05 ^c ±0.01	12.46 ^b ±0.26	12.50 ^b ±0.35	15.32 ^a ±0.10	10.58 ^d ±0.20	11.57 ^c ±0.85
芳香族氨基酸降解物总量	2.03±0.02	2.07±0.07	2.13±0.14	2.22±0.30	1.99±0.05	1.78 ^b ±0.11	1.94 ^{ab} ±0.05	2.19 ^a ±0.23	1.73 ^b ±0.14	1.99 ^{ab} ±0.06
西柏烷类降解物总量	3.00 ^b ±0.41	3.33 ^b ±0.18	7.09 ^a ±0.06	7.34 ^a ±0.18	7.25 ^a ±0.06	2.67 ^c ±0.04	3.27 ^d ±0.16	9.81 ^a ±0.25	5.87 ^c ±0.07	8.00 ^b ±0.12
烟碱降解物总量	0.28 ^b ±0.01	0.29 ^b ±0.03	0.36 ^{ab} ±0.02	0.44 ^a ±0.12	0.42 ^a ±0.03	0.26 ^c ±0.03	0.25 ^c ±0.02	0.36 ^b ±0.03	0.37 ^b ±0.04	0.45 ^a ±0.02

注：“-”代表未检出，不同字母表示差异显著（ $P<0.05$ ）。
Note: “-” means not detected. Different letters indicate significant differences ($P<0.05$).

由表 3 可知，所有烟叶样品中含量最高的挥发性化合物为烟碱，其次为新植二烯和茄酮，含量范围分别为 29.06%~51.87%、14.42%~18.08% 和 2.67%~9.81%，发酵后的烟叶烟碱含量显著降低，新植二烯和茄酮含量显著增加。

所有发酵烟叶中质体色素降解物总量和西柏烷类降解物总量显著高于对照组和未发酵组，具体来说大马士酮、新植二烯和茄酮在所有发酵烟叶中含量高于对照组和未发酵组；二氢猕猴桃内酯含量在 C3F 发酵烟叶中含量显著低于对照组。美拉德反应产物总量在发酵烟叶中随发酵时间延长呈现先升高后降低的趋势，在 C3F 烟叶中第 10 d 含量最高，在 B2F 中第 5 d 含量最高，发酵后的烟叶中包括 2- 糠醛、2- 乙酰基吡咯和 5- 羟甲基糠醛等在内的 7 种美拉德反应产物含量增加。发酵烟叶中正己醛、乙酸、2,3- 丁二醇等 3 种物质含量降低。发酵烟叶中芳香族氨基酸降解物中苯甲醛含量增加，苯甲醇降低，2- 苯乙醇则呈现先升高后降低的趋势。同时，发酵烟叶中 3- 乙酰基吡啶和 2,3'- 联吡啶等烟碱降解物含量有所增加。

2.4 发酵烟叶常规化学成分、挥发性成分与感官质量相关性分析

采用 SIMCA-P 软件以常规化学成分和主要挥发性成分为 X 变量，以感官评价总分结果为 Y 变量进行 PLS 分析，提取 2 个主成分，模型对 X 变量的可解释性 R^2X 为 93.8%，对 Y 变量的可解释性 R^2Y 为 99.2%，预测值 Q^2 为 98.6%，结合这些指标可知

PLS 模型适用于本研究。

发酵烟叶样品 PLS 三维得分图，见图 1。由图 1 可知，C3F 组样品均落在三维图右边，B2F 组样品均落在三维得分图左边，对照组（B2F-C 和 C3F-C）和未发酵组（B2F-0D 和 C3F-0D）落在三维得分图上部，发酵组样品（B2F-5D、B2F-10D、B2F-15D 和 C3F-5D、C3F-10D、C3F-15D）落在三维得分图下部。

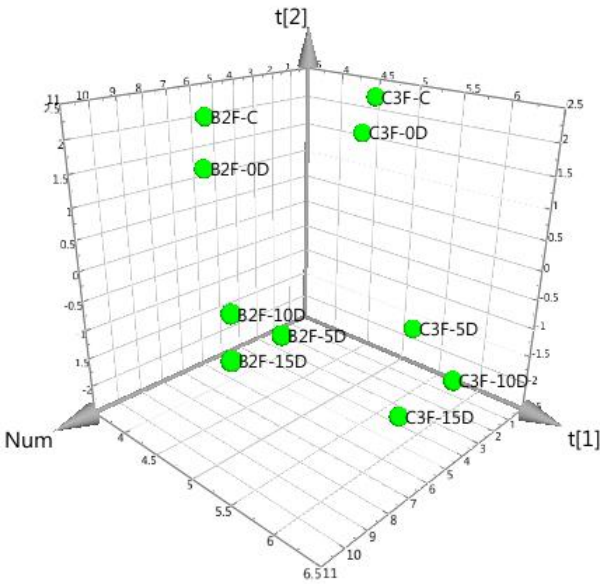


图 1 发酵烟叶样品 PLS 三维得分图
Fig. 1 Three-dimensional score plot of PLS

已报道的具有降解烟碱能力的细菌包括节杆菌属 (*Arthrobacter*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、无色杆菌属 (*Achromobacter*)、农杆菌属 (*Agrobacterium*)、剑菌属 (*Ensifer*)、苍白杆菌属 (*Ochrobactrum*)、红球菌属 (*Rhodococcus*)、申氏杆菌属 (*Shinella*)、费氏中华根瘤菌属 (*Sinorhizobium*)、假黄单胞菌属 (*Pseudoxanthomonas*)、鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*) 和摩根氏菌属 (*Morganella*)，主要真菌包括薄膜革菌属 (*Pellicularia*)、小孢子癣菌属 (*Microsporium*)、小克银汉霉属 (*Cunninghamella*) 和曲霉属 (*Aspergillus*) 等^[17-20]。经过冬虫夏草菌株 (*O. sinensis*) 菌株发酵后的宜宾烟叶烟碱、总植物碱和总氮等化学成分含量降低，3-乙酰基吡啶和 2,3'-联吡啶等在内的烟碱降解物含量增加，造成这种现象的原因推测为冬虫夏草菌株代谢过程中的一些中间产物参与到含氮物质的转化过程中或菌株在代谢过程中利用含氮物质。

烟叶中各种化学物质的协调和平衡，决定了烟叶的感官质量。有研究表明质体色素降解物和西柏烷类降解物的积累，有助于提升烟叶内在品质^[21]，其中具有刺激性气味的 1-戊烯-3-酮和能够消除刺激性的二氢猕猴桃内酯^[24]含量降低，大马士酮（增加烟气浓度、似白肋烟味^[22]）、新植二烯（弱令人愉快的气味、增进烟叶吃味和香气^[22]）和茄酮（类似新鲜胡萝卜香味、增加烟草香、烟气丰富醇和细腻^[23]）含量增加。美拉德反应是烟草特征香味形成的重要反应之一，发酵后的烟叶中共有包括丁二酮（黄油、奶香味^[25]）、2-糠醛（奶油、焦糖香味^[23]）、香茶酮（浓郁茶叶香气、增加烟草本香和清香味^[23]）、3-甲基-1,2-环戊二酮（甜的、枫味^[22]）、2-乙酰基吡咯（花香、清香、酒香^[24]）、2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4H-吡喃-4-酮（浓郁焦糖风味^[26]）和 5-羟甲基糠醛（甜、花香、增加烟气浓度^[22]）等在内的 7 种美拉德反应产物含量增加。乙酸（刺激性气味^[23]）、己醛（调料、青苹果香^[24]）和 2,3-丁二醇（清香、花香^[17]）等 3 种物质含量降低。发酵烟叶中芳香族氨基酸降解物中苯甲醛（杏仁香、樱桃香、甜香^[24]）含量增加，苯甲醇（弱花香、平和^[22]）降低，2-苯乙醇（玫瑰花香^[22]）则随发酵时间延长呈先升高后降低的趋势。同时，经过冬虫夏草菌株发酵后的烟叶生成了生物活性物质，如人参炔醇具有抗癌、抑菌、镇静、镇痛、降压、抗炎和神经细胞保护作用^[27]，2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4H-吡喃-4-酮具有抗肿瘤活性^[28]。

烟叶中化学成分与感官质量具有相关性^[29-30]，本研究采用 SIMCA-P 中 PLS 结合 Canoco for Windows 中 PCA 揭示对发酵烟叶和未发酵烟叶感官质量具有显著正效应的常规化学成分和挥发性成分。结果表明虽然总糖和还原糖等糖类物质（衡量烟叶内在品质和香吃味品质的重要指标^[31]）和烟碱（保持烟叶吃味和劲头^[24]）、总植物碱（与劲头呈正相关^[29]）和总氮类物质对未发酵烟叶感官品质具有显著贡献，同时苯甲醇、二氢猕猴桃内酯也对其具有显著贡献，总糖/总植物碱、总氮/总植物碱、两糖差以及 7 种呈香物质茄酮、2-糠醛、香茶酮、大马士酮、2-苯乙醇、巨豆三烯酮、新植二烯对发酵烟叶感官质量具有显著贡献。

本研究以宜宾 C3F 和 B2F 烟叶为研究对象，采用冬虫夏草菌株发酵烟叶并分析了烟叶感官质量提升与烟叶常规化学物质和挥发性成分的相关性，由于不同产区、不同等级烟叶内在品质存在不同程度的差异，因此，采用冬虫夏草菌株发酵后，是否能显著提升烟叶品质、化学成分与感官质量相关性是否有类似规律，还有待进一步研究。同时，冬虫夏草发酵菌株发酵烟叶改善烟叶品质的机理仍不清晰，后期将对菌株发酵烟叶降低烟碱及提质增香机理作深入研究。

4 结论

冬虫夏草菌株发酵后的宜宾烟叶，感官质量明显提升，烟叶感官质量随发酵时间延长呈先升高后降低的趋势，发酵第 10 d 时烟叶感官质量最佳。冬虫夏草菌株发酵后的宜宾烟叶中总植物碱、还原糖和总氮含量与对照组和未发酵组样品相比显著降低，发酵烟叶中质体色素降解物总量、西柏烷类降解物总量显著高于未发酵烟叶，美拉德反应产物总量在发酵烟叶中随发酵时间延长呈先升高后降低的趋势。发酵烟叶在保持烟叶风格特征不变的同时，刺激性和余味得到改善，烟叶香气质和香气量提升，达到柔和、细腻、醇和烟气的效果，提升了宜宾烟叶的质量，将进一步提高其在卷烟配方中的应用潜力。

参考文献

- [1] 肖和友, 邓建功, 李宏图. 密集烤房烘烤环境改变对烤烟上部烟叶可用性的影响 [J]. 农学报, 2016, 6(12): 43-46.
XIAO Heyou, DENG Jiangong, LI Hongtu. Effect of curing environment change on usability of upper tobacco leaf in bulk curing barn [J]. Journal of Agriculture, 2016, 6(12): 43-46.
- [2] 金勇, 谭超, 赵瑜, 等. 一种提升上部烟叶可用性的方法 [P]. 201510539671.X.

- JIN Yong, TAN Chao, ZHAO Yu, et al. A method for improving the availability of upper tobacco leaves[P]. CN201510539671.X.
- [3] 沈嘉, 祖朝龙, 汪海生, 等. 一种提升烟叶可用性的复烤添加剂及复烤烟叶的方法 [P]. CN201810130240.1.
SHEN Jia, ZU Chaolong, WANG Haisheng, et al. A recurring additive and a method for improving the usability of tobacco leaves[P]. CN201810130240.1.
- [4] 李源栋, 张翼鹏, 刘秀明, 等. 一种利用溶杆菌提升烟叶品质的方法 [P]. CN201711452343.1.
LI Yuandong, ZHANG Yipeng, LIU Xiuming, et al. A method of improving the quality of tobacco leaves by using *Lysobacter*[P]. CN201711452343.1.
- [5] ENGLISH Clyde F, BELL Emily J., BERGER Alfred J. Isolation of thermophiles from Broadleaf tobacco and effect of pure culture inoculation on cigar aroma and mildness[J]. *Applied Microbiology*, 1967, 15(1): 117-119.
- [6] 赵铭钦, 刘云, 李芳芳, 等. 陈化烤烟叶面优势菌的筛选鉴定与其增香效应 [J]. *微生物学报*, 2009, 49(5): 624-630.
ZHAO Minqin, LIU Yun, LI Fangfang, et al. Identification of dominant and fragrance-enhancing microorganisms of tobacco leaves during ripening[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2009, 49(5): 624-630.
- [7] 余翔, 李元实, 刘栋, 等. 一株增香微生物的分离鉴定及其发酵产香条件优化 [J]. *浙江农业学报*, 2016, 28(4): 670-675.
YU Xiang, Li Yuanshi, Liu Dong, et al. Isolation and identification of an aroma-producing strain and optimization of its fermentation condition[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2016, 28(4): 670-675.
- [8] 张知晓, 师建全, 李勇, 等. 一株产香酵母的鉴定及其发酵烟叶碎片的挥发性成分分析 [J]. *云南大学学报 (自然科学版)*, 2013, 35(S2): 414-419.
ZHANG Zhixiao, SHI Jiangquan, LI Yong, et al. Identification of an aroma yeast and analysis on the volatile composition of tobacco fragments after fermentation by the yeast[J]. *Journal of Yunnan University (Natural Science)*, 2013, 35(S2): 414-419.
- [9] 周榕, 孔浩辉, 何艳明, 等. 生香酵母发酵改善烟梗提取液性质研究 [J]. *食品工业科技*, 2012, 33(23): 73-76.
ZHOU Rong, KONG Haohui, HE Yanming, et al. Study on the nature of tobacco stem extract improved by using aroma yeast[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2012, 33(23): 73-76.
- [10] 余玉莎, 孙媛, 李祖红, 等. 米根霉发酵对烟叶常规成分及主要致香成分的影响 [J]. *云南农业大学学报 (自然科学)*, 2017, 32(2): 379-385.
YU Yusha, SHUN Yuan, LI Zuhong, et al. *Rhizopus oryzae* effects on regular composition and the main aroma components of tobacco[J]. *Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science)*, 2017, 32(2): 379-385.
- [11] 云南省烟草科学研究所. 烟草微生物学 [M]. 北京: 科学出版社, 2008.
Yunnan Academy of Tobacco Science. *Tobacco Microbiology*[M]. Beijing: Science Press, 2008.
- [12] 于建军, 宫长荣. 烟草原料初加工 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2009.8.
YU Jianjun, GONG Changrong. *Tobacco raw materials preliminary processing*[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2009.8.
- [13] 麻兵继. 食药兼用真菌重要次级代谢产物及其生物活性研究 [M]. 北京: 中国农业科学出版社, 2011.
MA Bingji. *Study on metabolites and bioactivities of edible and medicinal fungi*[M]. Beijing: China Agricultural Science Press, 2011.
- [14] YC/T 138—1998. 烟草及烟草制品 • 感官评价方法 [S].
YC/T 138—1998. *Tobacco and tobacco products • The sensory evaluation methods*[S].
- [15] QJ/02.J.001—2016.A. 四川中烟产品技术标准 • 单料烟感官评价标准 [S].
QJ/02.J.001—2016.A. *Sichuan Chinese tobacco product technical standard. Sensory evaluation criteria for unblended cigarette*[S].
- [16] 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 Jianbin, WANG Lu, YANG Feng, 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.
- [17] 万虎, 赵海刚, 宋纪真, 等. 高浓度烟碱降解菌的筛选、鉴定及降解特性 [J]. *烟草科技*, 2009, 4: 50-53, 64.
WAN Hu, ZHAO Haigang, SONG Jizhen, et al. Screening, identification and degradation characteristics of high concentration nicotine degradation bacterium strain[J]. *Tobacco Science & Technology*, 2009, 4: 50-53, 64.
- [18] 张娟, 张丽丽, 扈麟, 等. 烟碱降解菌的筛选与初步鉴定 [J]. *中国烟草学报*, 2010, 16(6): 89-93.
ZHANG Juan, ZHANG Lili, HU Lin, et al. Screening and preliminary identification of nicotine degrading microbes[J]. *Acta Tabacaria Sinica*, 2010, 16(6): 89-93.
- [19] MA Guanghui, LEI Liping, XIA Zhengyuan, et al. Diversity and phylogenetic analyses of nicotine-degrading bacteria isolated from tobacco plantation soils[J]. *African Journal of Microbiology Research*, 2012, 34(6): 6392-6398.
- [20] LIU Jianli, MA Guanghui, CHEN Tao, et al. Nicotine-degrading microorganisms and their potential applications[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, 99(9): 3775-3785.
- [21] 阴耕云, 徐世涛, 阮昕, 等. 复烤过程中 B4F 烤烟烟叶类胡萝卜素和西柏烷类降解物的变化 [J]. *烟草科技*, 2012, 10: 61-64.
YIN Gengyun, XU Shitao, RUAN Xin, et al. Changes of degradation products of carotenoids and cembranoids in B4F flue-cured tobacco during redrying[J]. *Tobacco Science & Technology*, 2012, 10: 61-64.
- [22] 王瑞新. 烟草化学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2003.
WANG Ruixin. *Tobacco Chemistry*[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2003.
- [23] 谢剑平. 烟草香原料 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2009.
XIE Jianping. *Tobacco incense raw material*[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2009.
- [24] 闫克玉, 赵铭钦. 烟草原料科学 [M]. 北京: 科学出版社, 2008.
YAN Keyu, ZHAO Mingqin. *Tobacco material science*[M]. Beijing: Science Press, 2008..
- [25] WHITTAKER Paul, CLARKE Jane J., SAN Richard H.C., et al. Evaluation of the butter flavoring chemical diacetyl and a fluorochemical paper additive for mutagenicity and toxicity using the mammalian cell gene mutation assay in L5178Y mouse lymphoma cells[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2008, 46: 2928-2933.
- [26] 王植昌, 何荣荣, 钟秋平. 荔枝酒制备过程中 DDMP 生成的适宜条件及变化规律 [J]. *中国酿造*, 2018, 37(12): 61-65.

- WANG Zhenchang, HE Rongrong, ZHONG Qiuping. Suitable brewing conditions and change rule of DDMP production in lychee wine making[J]. China Brewing, 2018, 37(12): 61-65.
- [27] 段贤春, 汪永忠, 居靖, 等. 人参炔醇研究进展[J]. 安徽医药, 2008, 12(1): 1-3.
- DUAN Xianchun, WANG Yongzhong, JU Jing, et al. Progress in study on panaxynol[J]. Anhui Medical and Pharmaceutical Journal, 2008, 12(1): 1-3.
- [28] BAN Jung Ok, HWANG In Guk, KIM Tae Myoung, et al. Anti-proliferate and pro-apoptotic effects of 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyranone through inactivation of NF- κ B in Human Colon Cancer Cells[J]. Arch Pharm Res, 2007, 30: 1455.
- [29] 王丽丽, 汤朝起, 王以慧, 等. 贺州晒黄烟主要生物碱含量与其评吸质量的相关性研究[J]. 中国烟草学报, 2013, 19(3): 23-27.
- WANG Lili, TANG Zhaoqi, WANG Yihui, et al. Correlation between major alkaloid contents and smoking quality in sun-cured tobacco leaves in Hezhou of Guangxi autonomous region[J]. Acta Tabacaria Sinica, 2013, 19(3): 23-27.
- [30] 林顺顺, 张晓鸣. 基于 PLSR 分析烟叶化学成分与感官质量的相关性[J]. 中国烟草科学, 2016, 37(1): 78-82.
- LIN Shunshun, ZHANG Xiaoming. Correlation of tobacco chemical components and sensory quality assessed by PLSR[J]. Chinese Tobacco Science, 2016, 37(1): 78-82.
- [31] 邵惠芳, 许自成, 李东亮, 等. 烤烟还原糖含量与主要挥发性香气物质及感官质量关系的统计学分析[J]. 中国烟草学报, 2011, 17(2): 8-12, 17.
- SHAO Huifang, XU Zicheng, LI Dongliang, et al. The relationship between reducing sugar and main volatile aroma components in as well as sensory quality of flue-cured tobacco[J]. Acta Tabacaria Sinica, 2011, 17(2): 8-12, 17.

Effects of *Ophiocordyceps sinensis* fermentation on sensory qualities and chemical components of tobacco leaves from the minor materials area

ZHANG Qianying¹, GENG Zongze¹, DENG Yuxiang¹, LUO Cheng¹, LI Dongliang^{1*}, DING Zhongyang²

¹ Technical Research Center, China Tobacco Sichuan Industrial Co., Ltd., Chengdu 610066, China;

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

Abstract: [Objective] To improve the quality and availability of Yibin tobacco leaves from the minor materials area, tobacco leaves were fermented using *Ophiocordyceps sinensis* as the starter and the effects of *Ophiocordyceps sinensis* fermentation on sensory quality and chemical composition of tobacco leaves were studied. [Methods] Sensory quality of fermentation samples was evaluated and routine chemicals and volatile components were determined. Partial least squares method and principal component analysis were used to analyze effects of *O. sinensis* fermentation on sensory qualities and chemical components of Yibin tobacco leaves. [Results] Results showed that fermented tobacco leaves had higher total scores of sensory qualities compared with unfermented leaves. On the 10th day, the sensory evaluation of fermented tobacco leaves showed the highest scores, with contents of total alkaloids, and total nitrogen reduced significantly. The total amounts of plastid pigment degradation products and membrane degradation products in fermented tobacco leaves were significantly higher than those in unfermented tobacco leaves. The total amount of Maillard reaction products in fermented tobacco leaves increased showed a tendency of first increasing and then decreasing. Total nitrogen, total alkaloids, nicotine, nicotyrine, benzyl alcohol, dihydroactinidiolide, reducing sugar, and total sugar were positively correlated with unfermented and control groups, and total nitrogen/alkaloids, total sugar/alkaloids, total sugar-reducing sugar, beta-damascenone, neophytadiene, megastigmatrienone, 2-furaldehyde, 4-oxoisophorone, 2-acetylpyrrole, phenylethyl alcohol, D-solanone, 2,3'-dipyridyl were positively correlated with fermented groups. [Conclusion] After fermented with *O. sinensis*, sensory qualities of tobacco leaves from Yibin are improved.

Keywords: *Ophiocordyceps sinensis*; tobacco leaf; fermentation; sensory quality; chemical components; correlation analysis

*Corresponding author. Email: 360188228@qq.com