

微生物在雪茄烟叶发酵中的应用研究进展

张玉芹¹, 王 杰¹, 周 永¹, 李军民¹, 曹长代¹, 崔丙慧¹, 薛仁喜¹, 董世峰¹, 韩守栋¹,
门奎富², 侯 欣^{2*}

¹山东日照烟草有限公司, 山东 日照

²山东农业大学植物保护学院, 山东 泰安

收稿日期: 2024年9月30日; 录用日期: 2024年10月28日; 发布日期: 2024年11月6日

摘 要

微生物技术在雪茄烟叶发酵过程中作为有效手段, 能够促进烟叶化学成分的转化, 加速发酵进程, 改善烟叶品质。本文分析了雪茄发酵机理, 重点探究了微生物群落演替对雪茄品质的影响, 提出了目前存在的问题, 并探讨了今后微生物应用发展前景, 为微生物技术在雪茄发酵中的应用提供参考。

关键词

雪茄烟叶, 发酵, 化学成分, 微生物技术

Research Progress on the Application of Microorganisms in Cigar Tobacco Fermentation

Yuqin Zhang¹, Jie Wang¹, Yong Zhou¹, Junmin Li¹, Changdai Cao¹, Binghui Cui¹, Renxi Xue¹,
Shifeng Dong¹, Shoudong Han¹, Kuifu Men², Xin Hou^{2*}

¹Shandong Rizhao Tobacco Limited Company, Rizhao Shandong

²College of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Tai'an Shandong

Received: Sep. 30th, 2024; accepted: Oct. 28th, 2024; published: Nov. 6th, 2024

Abstract

Microbial technology, as an effective means in the fermentation process of cigar tobacco leaves, can promote the transformation of chemical components in tobacco leaves, accelerate the fermentation process, and improve the quality of tobacco leaves. This article analyzes the fermentation mechanism

*通讯作者。

文章引用: 张玉芹, 王杰, 周永, 李军民, 曹长代, 崔丙慧, 薛仁喜, 董世峰, 韩守栋, 门奎富, 侯欣. 微生物在雪茄烟叶发酵中的应用研究进展[J]. 农业科学, 2024, 14(11): 1178-1184. DOI: 10.12677/hjas.2024.1411149

of cigars, focuses on exploring the impact of microbial community succession on cigar quality, identifies current problems, and explores the future development prospects of microbial applications, providing reference for the application of microbial technology in cigar fermentation.

Keywords

Cigar Tobacco Leaves, Fermentation, Chemical Component, Microbial Technology

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

雪茄作为一种特殊的烟草制品,由调制后的烟叶卷制而成,具有香气浓郁、刺激性和烟气浓度大等特征[1]。雪茄烟叶根据部位可以划分为茄衣、茄套和茄芯,其各部位具有不同的功能[2]。茄衣作为雪茄最外层的烟叶,需要保证其不能破损、没有孔洞、叶片较薄以及颜色均匀等,其价值在整支雪茄中占比较高,因此对栽培和调制工艺要求严格[3]。茄套和茄芯在雪茄体积中占比较高,两者的风味能够显著影响整支雪茄的口感,因此在发酵过程中更加注重烟叶的品质和风味。虽然近些年我国雪茄产业在烟草局的推动下不断发展,在烟叶生产关键技术等方面取得突破,但是当前我国雪茄原材料质量参差不齐,优质雪茄烟叶短缺[4],高端市场雪茄份额仍被外国品牌挤占[5],因此在现有条件下,可以通过发酵等调制工艺对雪茄烟叶品质进行改善。发酵作为雪茄生产过程中的关键步骤,能够有效降解烟叶中淀粉、纤维素、蛋白质等大分子物质[6],并将其转化为小分子香气化合物,提高雪茄外观质量与内在品质。而微生物群落在烟叶中广泛存在,在发酵中能够促进化学成分的转化,提高雪茄烟叶发酵的效率[7]。目前对于雪茄烟叶发酵的研究主要集中在发酵机理、发酵条件以及发酵介质等方面[8]-[10],Zheng [11]通过分析不同地区雪茄烟叶的微生物群落发现,细菌群落与烟叶香气物质密切相关,并且不同的微生物群落会产生不同的香气成分,Zhong [12]通过在烟草表面分离出一种能够降解烟碱的菌株,通过纯化培养后发现,此菌株能够有效降解烟草中的烟碱,保证烟草吸食的安全性。当前对于微生物在雪茄发酵中的应用研究相对较少,因此本文章通过探讨微生物在雪茄发酵过程中的演替规律以及在雪茄烟叶发酵中的应用现状进行总结,以期在雪茄烟叶发酵过程中应用微生物技术,提高雪茄烟叶品质提供参考。

2. 雪茄烟叶发酵机理

雪茄烟在生长过程中积累了许多大分子有机物,例如纤维素、淀粉、蛋白质等,若大分子物质含量过多则会导致抽吸时产生不良气体[13],影响感官评价。因此烟叶成熟采摘后需要经过晾制、发酵、醇化等步骤[14],才能逐步改善烟叶内在质量,提高抽吸品质。发酵作为烟叶晾制后的关键步骤,能够有效调节烟叶化学成分之间的协调性[15],促使大分子有机化合物转变为小分子香气化合物,进而提高烟叶的感官质量。而微生物作用于烟叶发酵的整个时期[16],能够推动雪茄烟发酵进程,具有至关重要的作用。

目前关于雪茄烟叶发酵机理的假说,主要包括化学反应、微生物作用以及酶促反应学说[17]。化学反应主要包括氧化反应、大分子物质降解、美拉德反应、类胡萝卜素转化等[18],朱大恒等[19]通过研究氧气条件对烤烟化学成分的影响发现,在有氧条件下发酵烟叶的蛋白质、总氨基酸、淀粉、多酚和类胡萝卜素含量的下降幅度大于无氧条件下发酵的烟叶,并且许多化学成分降解或者转化为其他小分子化合物。微生物作用在19世纪80年代由小什列晋格首次提出[20],微生物在雪茄烟叶发酵过程中依靠自身的代

谢活动或者分泌的酶类,促进烟叶内部化学成分的降解和转化,能够加速烟叶发酵,提高烟叶品质。酶促反应学说是指雪茄烟在发酵过程中能够产生氧化酶、过氧化氢酶、过氧化物酶等,加速烟叶的化学反应,促进烟叶大分子物质的降解与转化[21]。而微生物作为分布最广[22],作用极为重要的类群,自身的代谢活动或者产生的酶类能够在发酵过程中促进烟叶纤维素、淀粉、蛋白质等大分子有机物的降解,并将其转化为小分子香气化合物,改善烟叶风味,提高雪茄品质。

3. 雪茄烟叶发酵过程中微生物种类及其群落演替规律

雪茄烟叶发酵过程中通常伴随着温度与湿度的变化,因此微生物在适应过程中通常进行群落演替,许多微生物此消彼长。李宁[23]等通过研究雪茄烟叶发酵过程发现,烟叶上共分离出4个属的细菌、3个属的真菌,优势种群仍为细菌芽孢杆菌属和真菌青霉属,但此时优势种的优势有所降低,而其余种群出现频率有所升高。高温发酵后,微生物大量消亡,仅部分嗜热微生物得以存活并凸显优势[24],并且芽孢杆菌属在发酵前后均处于优势地位。虽然发酵使大量微生物死亡或生长受到抑制,但是部分耐热微生物种群则大量繁殖和代谢,促进了烟叶内含物质的转化和品质形成。芽孢杆菌属多种细菌都具有较好的耐热性,同时可产生热稳定性较高的蛋白酶,促进烟叶大分子物质降解与转化,改善烟叶品质。张鸽[25]等通过高通量测序技术对雪茄烟叶发酵中细菌群落组成和演替规律进行探究发现,发酵过程中细菌群落多样性较丰富,发酵过程中主要的细菌群落由发酵初期的葡萄球菌、肠球菌和斯氏泛菌,演变为中期的大洋芽孢杆菌、副球菌属、葡萄球菌属和杆菌属,随后演变为假单胞菌属和肠杆菌属,最后稳定为葡萄球菌和土地芽孢杆菌属,并根据基因功能预测,它们主要参与氨基酸运输和代谢、碳水化合物运输和代谢等。张晓娟[26]通过研究雪茄外包皮烟叶微生物区系发现,发酵过程中叶面细菌数占叶面微生物总数的百分比在99%以上,并且所有的细菌为芽孢杆菌。而霉菌所占比例相当小。随着发酵过程进行,微生物的数量逐步减少,到发酵结束,微生物的数量下降了90%左右。

有研究表明雪茄烟叶发酵中细菌较真菌相比发挥更多的作用,Liu[27]通过高通量测序探究发酵过程中微生物群落的演替规律,发现变形菌门和放线菌门是雪茄中的主要门,后者在发酵前占较大比重,前者在发酵后占较大比重,而在属水平上,发酵后7个细菌属的丰度发生了变化,例如罗尔斯通氏菌和假单胞菌属的相对丰度增加,而*Methylobacterium*、*Pseudonocardia*、*Aureimonas*、*Planococcus*和*Nocardiopsis*属的相对丰度显著降低,并且通过相关性分析发现,细菌与化学成分的相关性较真菌来说具有更多的正相关关系,表明在化学成分转化等方面,细菌发挥了更重要的作用。赵铭钦[28]等通过探究陈化期间烤烟叶片叶面微生物的数量和种类发现,细菌占绝对优势,霉菌和放线菌数量较少;细菌中芽孢杆菌属为优势菌群,曲霉和青霉是霉菌的优势菌群,放线菌中以链霉菌为主。吴丽君[29]等通过探究雪茄烟叶发酵过程中细菌群落变化发现,在门水平上,细菌主要是变形菌门和厚壁菌门的菌株,在属水平上,主要的细菌属主要是鞘氨醇单胞菌属、*Aureimonas*、甲基杆菌属、葡萄球菌属、假单胞菌属和泛菌属。并且发酵过程中主要细菌群落组成是不断变化的,在门水平上,随着发酵过程推进,变形菌门的菌株在逐渐减少,而厚壁菌门和放线菌门的菌株逐渐增加。在属水平上,前期主要群落是鞘氨醇单胞菌属、*Aureimonas*、甲基杆菌属,后期逐渐演变为鞘氨醇单胞菌属、*Aureimonas*、甲基杆菌属、葡萄球菌属、假单胞菌属和泛菌属。因此微生物在雪茄发酵中发挥了至关重要的作用,其中细菌的优势属主要包括假单胞菌、葡萄球菌、鞘氨醇单胞菌属等,真菌的优势属主要包括曲霉属等,由此可见细菌比真菌具有更高的丰度和多样性,能够发挥更大的作用。

4. 微生物群落与雪茄风味的关系

微生物群落在烟叶发酵过程中能够根据外部发酵条件进行演替,并推动发酵进行。Li[30]研究发现,假单胞菌在发酵过程中的相对丰度不断增加,现有研究表明假单胞菌作为一种功能菌能够降解烟草中的

尼古丁, 而发酵结束后的假单胞菌处于较高的相对丰度, 并且尼古丁含量明显降低, 表明微生物进行演替时能够对烟叶中的化学成分进行转化, 促进发酵进行。微生物群落还能够参与碳水化合物降解, 以及脂肪酸、氨基酸和香气成分的生物合成。Zhang [31]通过研究雪茄烟发酵后的微生物群落发现, 优势微生物属主要为假单胞菌属、葡萄球菌属、短杆菌属和曲霉属。这些微生物主要参与尼古丁的降解, 果胶、蛋白质、淀粉以及氨基酸和脂肪酸的生物合成, 并形成一系列风味物质和碳水化合物, 从而提高雪茄烟的品质。但是曲霉属作为一种真菌, 在发酵过程中若丰度增加则会在烟叶表面形成菌丝导致发霉, 则会影响烟叶的外观质量。因此在发酵过程中应该适当调节外界环境的温度和湿度等, 创造有益微生物的生长条件, 减少产霉真菌的相对丰度, 促进烟叶内部的化学成分和外观质量向高品质方向转化。

成品雪茄的品质不仅受到调制和发酵的影响, 更重要的是雪茄品种、生态环境、栽培措施等, 因此在相同地区种植不同品种的雪茄对发酵后品质具有十分重要的影响。而微生物群落结构在不同品种雪茄烟叶的相对丰度也会有所不同, 但是优势微生物属大相径庭[32]。Wu [33]研究发现, 不同雪茄品种在堆垛发酵过程中微生物群落结构差异较大, 而优势微生物属, 例如葡萄球菌属、棒状杆菌属、球菌属和曲霉属等与其他品种雪茄烟叶的优势微生物结构相似。并且优势微生物属与形成雪茄风味的致香物质密切相关, 例如 *Geomicrobium*、*Salinicoccus*、*Glutamicibacter* 与 1,4-环己二酮、2,2,6-三甲基庚烷和 4-氧代异佛尔酮等香气物质具有显著相关性[34]。假单胞菌属具有降解苯甲酸甲酯和产生苯乙醛的能力。鞘氨醇单胞菌属具有产生醛、酯和酮的能力[35]。曲霉属能够促进脂肪酸转化为己醛, 青霉属产生的酶可以催化不饱和脂肪酸氧化反应生成相应的壬醛, 棕榈油酸是壬醛的前体物质[36], 这些气味分子可能与壬醛相互作用, 促进其形成或改变其形成途径, 改善雪茄风味。

不同产区的雪茄烟叶由于受到不同的生态环境、栽培条件等原因, 雪茄的品质和风味也会有所不同。例如印度尼西亚和中国的雪茄烟叶具有胡椒和烘烤香气的特征, 巴西雪茄以焦糖和香草香气为主, 多米尼加雪茄烟具有牛奶、花香、坚果和蜂蜜的香气[37]。而微生物群落的代谢活动, 包括碳水化合物的降解、绿原酸的降解、蛋白质的降解和焦糖化反应、脂肪酸和脂质的生物合成、氨基酸的生物合成和芳香族化合物的生物合成, 对烟草香气的形成具有重要贡献[38], 因此不同地区的微生物群落结构和功能的差异能够导致烟草风味的差异。Zheng [11]研究表明, 印度尼西亚和中国雪茄烟中变形菌门的相对丰度显著高于巴西和多米尼加, 而在属水平上葡萄球菌属相对丰度在巴西和印度尼西亚地区较高, 假单胞菌属在印度尼西亚和巴西地区较高, 曲霉属在印度尼西亚和中国地区相对丰度较高, 并且香气物质 3-甲基-2-丁烯醛与葡萄球菌属、球菌属和酵母属显著相关, 2,4-二甲基苯甲醛与葡萄球菌属、棒状杆菌属和球菌属具有显著相关性[39]。雪茄烟叶的风味与品质受到品种、生态环境、栽培措施、调制工艺等多方面影响, 而优势微生物属结构在雪茄烟叶中大相径庭, 因此在发酵过程中可以通过调整外界环境的温度与湿度, 推动微生物群落演替, 控制发酵进程。

5. 微生物在雪茄烟叶发酵中的应用

5.1. 推动烟叶内微生物群落演替

当外界发酵条件改变时, 微生物为了能够适应新的温度和湿度, 通常进行微生物群落演替, 而接种外源微生物同样能够促进微生物群落的改变, 并且能够提高发酵效率, 缩短发酵时间。Zhang [40]通过在烤烟表面接种蜡样芽孢杆菌和内生芽孢杆菌发现, 双菌株共同发酵显著降低了烟叶内淀粉、纤维素、蛋白质大分子化合物的含量, 增加了香气成分的总量, 有效改善了香气和风味的感官特性, 并且推动了细菌群落的演替, 使得发酵后的芽孢杆菌和弗朗哥氏菌的相对丰度显著增加, 提高了烤烟产品的感官评价质量。Zheng [41]研究发现, 在雪茄烟叶表面接种不动杆菌后变形菌门和拟杆菌门丰度显著增加, 并且不动杆菌和水杆菌之间存在竞争关系, 与芽孢杆菌存在合作关系, 并且使得茄酮、6-甲基-5-庚烯-2-酮、苯

乙酸、乙酯、环己酮、辛醛、苯乙酮和 3,5,5-三甲基-2-环己烯-1-酮等香气物质含量显著增加。Kong [42] 研究发现,假单胞菌属、拟杆菌属、弧菌属和曲霉属是发酵过程中的关键微生物属,并且细菌主要作用于糖代谢、脂质代谢和氨基酸代谢,而真菌主要通过腐生作用降解木质素、纤维素和果胶,并且随着微生物群落演替,烟叶内部的化学成分也随之转化,提高烟叶品质。Jia [43] 研究发现,对雪茄烟叶接种念珠菌进行发酵后,显著推动了微生物群落演替,葡萄球菌属和曲霉属的相对丰度在发酵过程中均先增加后降低,在发酵中期分别占据细菌群落和真菌群落的优势地位,并且念珠菌不仅降低了雪茄烟叶中的总氮和生物碱含量,还显著增加了风味物质的含量。因此微生物在烟叶发酵过程中不仅能够推动微生物群落演替,还能促进化学成分之间的相互转化,进而提高烟叶的整体品质。

5.2. 促进烟叶内部化学成分转化

传统的发酵雪茄烟叶方法通常进行调节环境条件或者堆垛方式控制发酵进程进而改善雪茄品质,随着研究者对发酵机理的探究,发现接种外源功能微生物能够显著提高发酵效率,改善雪茄烟的内在品质与外观质量。张蒙蒙[44]从雪茄烟叶表面筛选出能够降解单宁酸的功能菌并应用于发酵后发现,烟叶的苦味和杂气降低,透发性、醇和度和香气质变好,雪茄烟叶感官质量得到提升,印尼雪茄烟叶品质明显提升,工业可用性增强,并且烟叶内的芳香族氨基酸降解产物、美拉德反应产物、胡萝卜素降解产物、类西柏烷降解产物和新植二烯均有所增加。Wu [45] 研究发现,单接种解淀粉芽孢杆菌能够显著改善雪茄烟的甜度和回味,解淀粉芽孢杆菌和高知芽孢杆菌共培养则显著提高了美拉德反应产物、萜类代谢物、二氢猕猴桃内酯、芳樟醇、3-羟基- β -大马士酮和新植物二烯等风味物质的含量。李志豪[46]等通过研究发现,蜡样芽孢杆菌能够产生木聚糖酶,将其接种到烟叶发酵后发现纤维素和半纤维素含量显著降低,并且提高了叶绿醇、油酸、正二十六烷和正三十一烷等香气物质的含量,进一步改善了雪茄烟叶的物理特性。李宁[47]等通过在雪茄烟叶中筛选得到一株能够降解蛋白的细菌,并将其应用到雪茄烟叶发酵后发现烟叶总氮、蛋白质、总植物碱、挥发性碱降低,感官评吸结果显示烟叶劲头、刺激性改善最为明显,同时杂气减轻、香气增加,显著改善了雪茄品质。毛亚浩[48]等将从烟叶表面筛选出的菌株与酵母菌作为复合微生物添加到雪茄烟叶发酵中,研究发现双菌株发酵后的雪茄烟叶香气物质总量提高了 56.40%,说明对雪茄烟叶进行混菌发酵,更有助于雪茄烟叶香气品质的改善,降低杂气。雪茄烟叶发酵过程中微生物群落通常会产生淀粉酶、蛋白酶、纤维素酶等,对大分子物质进行降解与转化,促进烟叶发酵,改善雪茄品质。

6. 结论

微生物群落通过分泌的酶类促进雪茄烟叶中化学成分的降解,并将大分子物质转化为小分子香气化合物,降低烟叶的苦味和杂气,提高雪茄烟叶品质。因此在雪茄烟叶发酵过程中根据烟叶的不足和缺陷,通过接种外源微生物促进烟叶内部化学成分的转化,不仅能够协调雪茄的口感和香气品质,还能够加速发酵进程,减少发酵成本。

7. 展望

对于雪茄发酵机理的研究,国内学者颇有研究,但是仍然处于实验室阶段,在应用过程中,只能通过调控外界环境的温度与湿度控制发酵进程,之后再通过烟叶的外观质量对当时发酵进程做出判断,因为多种因素共同影响雪茄发酵,并且测定化学成分具有时效性,不能及时对烟叶成分进行分析,导致发酵过程更多的是依靠人工判断,影响发酵品质。而当前国内对微生物的研究更多地集中在微生物丰度和多样性的变化,并且由于烟叶表面微生物种类和数量众多,而多种因素又能够共同影响烟叶发酵的理化性质,导致接种外源微生物后,不能对菌群变化规律与化学成分之间的相关性进行强有力的关联分析,

同时对于微生物技术的研究大多处于实验室阶段, 应用于实际生产时由于外界环境的改变, 会有不同程度的限制, 因此有待进一步深入研究。

参考文献

- [1] 金敖熙. 雪茄烟生产技术[M]. 北京: 轻工业出版社, 1982.
- [2] 王浩雅, 左兴俊, 孙福山, 等. 雪茄烟外包叶的研究进展[J]. 中国烟草科学, 2009, 30(5): 71-76.
- [3] 刘国顺. 烟草栽培学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003.
- [4] 蔡斌, 耿召良, 高华军, 等. 国产雪茄原料生产技术研究现状[J]. 中国烟草学报, 2019, 25(6): 110-119.
- [5] 田丽君, 刘佳琪, 单玉静, 等. 微生物在雪茄烟叶发酵中的应用研究进展[J]. 农技服务, 2024, 41(8): 30-36.
- [6] 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.
- [7] 陈茏. 产蛋白酶菌株的筛选及酶学性质的研究[D]: [硕士学位论文]. 南昌: 南昌大学, 2020.
- [8] 郭文龙. 茄芯烟叶发酵过程中颜色参数变化及外源加酶发酵对其质量的影响[D]: [硕士学位论文]. 郑州: 河南农业大学, 2022.
- [9] 陈宇. 海南雪茄烟发酵过程中的烟叶质量变化研究[D]: [硕士学位论文]. 郑州: 河南农业大学, 2019.
- [10] 谭舒, 曾昉, 曾剑平, 等. 发酵对雪茄烟叶品质影响的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2023, 51(18): 16-19+28.
- [11] Zheng, T., Zhang, Q., Li, P., Wu, X., Liu, Y., Yang, Z., et al. (2022) Analysis of Microbial Community, Volatile Flavor Compounds, and Flavor of Cigar Tobacco Leaves from Different Regions. *Frontiers in Microbiology*, **13**, Article ID: 907270. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.907270>
- [12] Zhong, W., Zhu, C., Shu, M., Sun, K., Zhao, L., Wang, C., et al. (2010) Degradation of Nicotine in Tobacco Waste Extract by Newly Isolated Pseudomonas Sp. *Zuskd. Bioresource Technology*, **101**, 6935-6941. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.03.142>
- [13] 周冀衡, 朱小平, 王彦亭, 等. 烟草生理与生物化学[M]. 合肥: 中国科学技术大学出版社, 1996.
- [14] 王能如. 烟叶调制与分级[M]. 合肥: 中国科学技术大学出版社, 2002.
- [15] 钟庆辉. 烟草化学基本知识[M]. 北京: 轻工业出版社, 1985.
- [16] 姚芳. 海南茄烟叶面微生物鉴定及其在人工发酵过程对雪茄烟叶品质的影响[D]: [硕士学位论文]. 郑州: 河南农业大学, 2017.
- [17] 刘春奎, 刘春玲, 王国良, 等. 烟叶发酵研究进展[J]. 广西轻工业, 2011, 27(11): 15-16.
- [18] 胡婉蓉, 李东亮. 国产雪茄烟叶关键生产技术研究进展[J]. 中国烟草学报, 2024: 1-15.
- [19] 朱大恒, 王浩, 韩锦峰, 周国友. 烤烟发酵过程中氧气条件对烟叶化学成分的影响[J]. 河南农业科学, 1999(9): 12-14.
- [20] 郑霖霖. 不同发酵工艺下茄芯烟叶的微生物群落与品质变化及相关性分析[D]: [硕士学位论文]. 郑州: 河南农业大学, 2023.
- [21] 万德建, 吴创, 杜佳, 等. 雪茄烟叶发酵方法研究进展[J]. 山西农业科学, 2017, 45(7): 1211-1214.
- [22] 杨虹琦, 周冀衡, 罗泽民, 梁志怀. 微生物和酶在烟叶发酵中的应用[J]. 湖南农业科学, 2004(1): 63-66.
- [23] 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.
- [24] Hu, W., Cai, W., Jia, Y., Fan, J., Zhu, B., Zhang, Q., et al. (2023) Sensory Attributes, Chemical and Microbiological Properties of Cigars Aged with Different Media. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, **11**, Article ID: 1294667. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1294667>
- [25] 张鸽, 李志豪, 邓帅军, 等. 海南 H382 雪茄烟叶不同发酵周期细菌群落多样性表征及演替分析[J]. 中国烟草学报, 2021, 27(2): 117-126.
- [26] 张晓娟. 雪茄外包烟人工发酵工艺及叶表微生物区系研究[D]: [硕士学位论文]. 郑州: 河南农业大学, 2006.
- [27] Liu, F., Wu, Z., Zhang, X., Xi, G., Zhao, Z., Lai, M., et al. (2021) Microbial Community and Metabolic Function Analysis of Cigar Tobacco Leaves during Fermentation. *MicrobiologyOpen*, **10**, e1171. <https://doi.org/10.1002/mbo3.1171>
- [28] 赵铭钦, 邱立友, 张维群, 齐伟成, 岳雪梅. 陈化期间烤烟叶片中生物活性变化的研究[J]. 华中农业大学学报, 2000, 19(6): 537-542.
- [29] 吴丽君, 张鸽, 陈晓娜, 等. 云南雪茄烟叶人工发酵过程中化学成分与细菌群落变化及其相关性分析[J]. 中国烟

- 草学报, 2023, 29(4): 124-134.
- [30] Li, J., Zhao, Y., Qin, Y. and Shi, H. (2020) Influence of Microbiota and Metabolites on the Quality of Tobacco during Fermentation. *BMC Microbiology*, **20**, Article No. 356. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-02035-8>
- [31] Zhang, Q., Zheng, T., Yang, Z., Yang, S., Cai, W., Li, P., *et al.* (2023) Analysis of the Structure and Metabolic Function of Microbial Community in Cigar Tobacco Leaves in Agricultural Processing Stage. *Frontiers in Microbiology*, **14**, Article ID: 1230547. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1230547>
- [32] 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.
- [33] Wu, Q., Peng, Z., Pan, Y., Liu, L., Li, L., Zhang, J., *et al.* (2023) Interaction Analysis of Tobacco Leaf Microbial Community Structure and Volatiles Flavor Compounds during Cigar Stacking Fermentation. *Frontiers in Microbiology*, **14**, Article ID: 1168122. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1168122>
- [34] Mokashe, N., Chaudhari, A. and Patil, U. (2015) Optimal Production and Characterization of Alkaline Protease from Newly Isolated Halotolerant *Jeotgalicoccus* Sp. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, **4**, 235-243. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2015.01.003>
- [35] Arias, R.S., Dang, P.M. and Sobolev, V.S. (2015) RNAi-Mediated Control of Aflatoxins in Peanut: Method to Analyze Mycotoxin Production and Transgene Expression in the Peanut/*Aspergillus* Pathosystem. *Journal of Visualized Experiments*, **106**, e53398. <https://doi.org/10.3791/53398>
- [36] Wu, X., Hu, Y., Wang, Q., Liu, J., Fang, S., Huang, D., *et al.* (2023) Study on the Correlation between the Dominant Microflora and the Main Flavor Substances in the Fermentation Process of Cigar Tobacco Leaves. *Frontiers in Microbiology*, **14**, Article ID: 1267447. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1267447>
- [37] Stubbs, J. (2010) El Habano and the World It Has Shaped: Cuba, Connecticut, and Indonesia. *Cuban Studies*, **41**, 39-67. <https://doi.org/10.1353/cub.2010.a413138>
- [38] Banožić, M., Jokić, S., Ačkar, Đ., Blažić, M. and Šubarić, D. (2020) Carbohydrates—Key Players in Tobacco Aroma Formation and Quality Determination. *Molecules*, **25**, Article No. 1734. <https://doi.org/10.3390/molecules25071734>
- [39] Liu, S., Hu, J., Xu, Y., Xue, J., Zhou, J., Han, X., *et al.* (2020) Combined Use of Single Molecule Real-Time DNA Sequencing Technology and Culture-Dependent Methods to Analyze the Functional Microorganisms in Inoculated Raw Wheat Qu. *Food Research International*, **132**, Article ID: 109062. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109062>
- [40] Zhang, L., Mai, J., Shi, J., Ai, K., He, L., Zhu, M., *et al.* (2024) Study on Tobacco Quality Improvement and Bacterial Community Succession during Microbial Co-fermentation. *Industrial Crops and Products*, **208**, Article ID: 117889. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.117889>
- [41] Zheng, T., Zhang, Q., Wu, Q., Li, D., Wu, X., Li, P., *et al.* (2022) Effects of Inoculation with *Acinetobacter* on Fermentation of Cigar Tobacco Leaves. *Frontiers in Microbiology*, **13**, Article ID: 911791. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.911791>
- [42] Zhang, Q., Kong, G., Zhao, G., Liu, J., Jin, H., Li, Z., *et al.* (2023) Microbial and Enzymatic Changes in Cigar Tobacco Leaves during Air-Curing and Fermentation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **107**, 5789-5801. <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12663-5>
- [43] Jia, Y., Liu, Y., Hu, W., Cai, W., Zheng, Z., Luo, C., *et al.* (2023) Development of *Candida* Autochthonous Starter for Cigar Fermentation via Dissecting the Microbiome. *Frontiers in Microbiology*, **14**, Article ID: 1138877. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1138877>
- [44] 张蒙蒙. 单宁降解菌的筛选、鉴定及其在雪茄烟叶发酵中的应用研究[D]: [硕士学位论文]. 郑州: 河南农业大学, 2023.
- [45] Wu, X., Zhu, P., Li, D., Zheng, T., Cai, W., Li, J., *et al.* (2021) Bioaugmentation of *Bacillus amyloliquefaciens*—*Bacillus kochii* Co-Cultivation to Improve Sensory Quality of Flue-Cured Tobacco. *Archives of Microbiology*, **203**, 5723-5733. <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02556-4>
- [46] 李志豪, 张鸽, 貂志杰, 等. 一株产木聚糖酶的蜡样芽孢杆菌对雪茄烟叶成分及发酵产物的影响[J]. 生物技术通报, 2022, 38(2): 105-112.
- [47] 李宁, 汪长国, 曾代龙, 等. 蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)筛选鉴定及在雪茄烟叶发酵中的应用研究[J]. 中国烟草学报, 2012, 18(2): 65-69.
- [48] 毛亚浩, 张彤彤, 余君, 等. 混菌发酵对雪茄烟叶化学成分及香气品质的影响[J]. 湖北农业科学, 2023, 62(4): 140-145.