研究论文

DOI:10.3969/j.issn. 1673–1689.2017.08.008

冠突散囊菌固态发酵对栲桠茶品质和成分影响的研究

朱明君[1]， 刘 刚[1]， 梅雪然[1]， 胡婷婷[1]， 杜 娟[2]， 张晓喻[*1]

（1. 四川师范大学 生命科学学院，四川 成都 610101；2. 四川师范大学 地理与资源科学学院，四川 成都 610101）

摘要： 通过人工接种冠突散囊菌固态发酵栲桠茶，探究栲桠茶发酵前后感官品质和化学成分的变化。栲桠茶经冠突散囊菌发酵 7 d，通过感官评价可知发酵后茶汤滋味醇厚回甘，颜色橙黄明亮，具有独特的“菌花香”，并通过电子舌进一步证明栲桠茶发酵前后感官品质存在差异。采用全自动氨基酸分析仪对主要氨基酸进行分析，结果发酵后氨基酸总量下降，但是呈味氨基酸和人体必需氨基酸质量分数升高。采用高效液相色谱仪对发酵前后化学成分的组成与主要指标成分进行含量分析，结果 HPLC 指纹图谱比较显示其化学成分组成与含量均发生了明显的变化，其中主要化学成分根皮苷质量分数由 251.87 mg/g 下降为 198.25 mg/g，根皮素作为根皮苷的降解产物，其质量分数由 2.4943 mg/g 升高到 19.619 mg/g。因此，通过发酵栲桠茶，可以改善其感官品质和化学成分，具有较大的开发与应用价值。

关键字： 栲桠茶；固态发酵；感官评价；氨基酸；化学成分

中图分类号：TS 262.4　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1673—1689(2017)08—0834—09

Effect of Solid–State Fermentation with *Eurotium cristatum* on the Quality and Chemical Compositions of *Docynia indica* Tea

ZHU Mingjun[1]， *LIU Gang*[1]， *MEI Xueran*[1]， *HU Tingting*[1]， *DU Juan*[2]， *ZHANG Xiaoyu*[*1]

（1. College of Life Science，Sichuan Normal University，Chengdu 610101，China；2. Faculty Gengraphy Resource Science，Sichuan Normal University，Chengdu 610101，China）

Abstract： To compare the differences of sensory quality and chemicalcompositionsbetween native and solid-state fermented *Docynia indica* tea by *Eurotium cristatum* in this paper. After a 7-day fermentation，the soup of fermented tea was bright orange-yellow，and tasted mellow sweet with a unique smell. Furthermore，there were some quality differences between two teas proved by electronic tongue. The content and composition of amino acids amino acids were determined by automatic amino analyzer and chemicalcompositionswere determined by High Performance Liquid

收稿日期： 2016–01–25

基金项目： 四川省科技支撑计划项目(2016SZ0026)；四川师范大学校级重点培育项目(13ZDL11)；攀枝花市科技局项目(2014CY–S–8)；四川省教育厅项目(14ZA0025)；西昌市教育和科学计划局 2014 年度科技项目；四川师范大学大精基金项目(DJ2013–02；DJ2014–13；DJ2014–04)。

*** 通信作者：** 张晓喻(1973—)，女，四川成都人，理学博士，副教授，硕士研究生导师，主要从事食品非营养类生物活性与功能。E–mail：zhangxy2005@126.com

引用本文： 朱明君，刘刚，梅雪然，等. 冠突散囊菌固态发酵对栲桠茶品质和成分影响的研究[J]. 食品与生物技术学报，2017，36(08)：834–842.

Chromatograph（HPLC）. The results indicated that the content of total amino acids decreased，while the content of flavor amino acids and essential amino acids increased. The HPLC fingerprints showed that the chemicalcompositions had changed obviously. Phlorizin，which is the main chemicalcompositions of *Docynia indica* tea，had reduced from 251.87 mg/g to 198.25 mg/g. As the phlorizin'sdegradation product，phloretin increased significantly from 2.4943 mg/g to 19.619 mg/g at the same time. Accordingly，it proved that the fermentation can improve the sensory quality and change the chemical compositions of *Docynia indica* tea，which indicate the fermented *Docynia indica* tea hasa greater value of development and application.

Keywords：*Docynia indica* tea，solid-state fermentation，sensory evaluation，amino acids，chemical composition

栘核（*Docynia indica*（Wall.）Dcne.）是蔷薇科 Rosacea 苹果亚科 Pomoideae 栘核属 *Docynia* Dcne. 的植物[1]，在我国西南少数民族地区及东南亚地区，常作为药食两用的植物资源[2-4]，其茎叶、果实入药，具有消炎、接骨、舒经活血、舒肝止痛、清暑消毒等功效[2]。目前“栘核”的利用主要局限于川滇少数民族地区，因其果实营养丰富主要作为野生水果食用，也有部分开发成果脯、果醋、果酒等，其嫩茎尖是傣族日常采集的野生蔬菜之一。目前对该植物的研究不多，部分研究表明其叶的提取物有极强的抗氧化活性[5]，酚类化合物是主要活性成分，与其他部位相比，叶中的多酚含量最高[6]。栘核全年生长，叶四季可采，因此极具开发潜力。

冠突散囊菌（*Eurotium cristatum*），俗称“金花”菌，能够产多种胞外酶，如纤维素酶、淀粉酶、果胶酶等[7]，因此能通过发酵改善茶叶、茶梗中所带的粗涩味；也是茯砖茶发酵的优势菌种，能产生独特的“菌花香”[8]，常用作判断茯砖茶品质优劣的指标。目前也有研究将其用于其他植物材料的发酵，例如辣椒叶[9]、银杏叶、杜仲叶等[10]，能够改善实验材料的品质，使其中的化学成分发生变化[11]，提高了这些植物叶的利用价值。

目前，栘核的叶还未进行开发利用，本实验中拟通过人工接种金花菌对栘核叶进行固态发酵，结合人工感官评价和电子舌技术，比较发酵对栘核茶感官品质的影响，采用全自动氨基酸分析仪对主要氨基酸进行分析，并通过 HPLC 指纹图谱分析技术和定量分析的方法，对发酵前后其中的化学成分的变化进行考察，为栘核叶开发成代用茶的可行性提供一定的理论基础，从而提高栘核的综合利用价值。

1 材料与方法

1.1 实验材料

栘核叶采自云南省德宏州，按绿茶的炒青工艺，制备成栘核茶；冠突散囊菌（*Eurotium cristatum*）为作者所在实验室保存菌种。

1.2 实验仪器

α-ASTREE 电子舌：法国 Alpha MOS 公司产品；Agilent1260 型高效液相色谱仪：美国安捷伦有限公司产品；S-433D 型氨基酸分析仪：德国 Sykam 公司产品；WSL-2 型比较测色仪：上海昕瑞仪器仪表有限公司产品；AR224CN 型电子天平：奥豪斯仪器上海有限公司产品；DHG-9240A 型电热恒温鼓风干燥箱：上海一恒科学仪器有限公司产品；LDZX-50KBS 型立式压力蒸汽灭菌器：上海申安医疗器械厂制造；DHP-9082 型电热恒温培养箱：上海一恒科学仪器有限公司产品。

2 实验方法

2.1 发酵处理

2.1.1 冠突散囊菌种子液的制备 取 4 ℃保存的冠突散囊菌菌种，接种于沙氏液体培养基上，28 ℃、150 r/min 摇床培养 24 h，挑取适量菌丝接种于沙氏斜面培养基中，培养 7 d 后[12]，向斜面试管中加入适量无菌水，反复吹洗斜面，制成孢子悬浮液并转移至 100 mL 的无菌三角瓶中，以血球计数板法调节其孢子浓度为 10^6~10^7 个/mL，即得种子液。

2.1.2 移核茶固态发酵　技术路线:移核茶→汽蒸10 min→50 ℃渥堆4 h→调整水料比为35 mL:1 g→灭菌→接种体积分数为5%金花菌→28 ℃发花培养7 d→50 ℃干燥→备用

称取约5 g移核茶，汽蒸10 min后转移至100 mL的发酵瓶中,50 ℃下渥堆培养4 h后于115 ℃下灭菌20 min,按水料比35 mL:1 g加入无菌水,以5%接种体积接种冠突散囊菌种子液,28 ℃下进行发酵处理,7 d后于50 ℃下烘干,得移核发酵茶。

2.2 感官指标的测定与评价

将移核茶与移核发酵茶磨碎并过60目筛,得茶样粉末,按3 g/袋的规格分装于茶包中,干燥保藏备用。

2.2.1 茶汤色度的测定　分别将2种样品按1:50(g:mL)的茶水比,沸水冲泡5 min后[13],取出茶包,对茶汤色度进行测定并根据其使用说明对茶汤色泽进行命名。

2.2.2 感官评价分析　随机选取10位感官评审人员,并对其进行简易食品感官培训。按2.2.1方法进行样品冲泡，并按表1评审标准对茶汤的滋味、香气做描述性评价和等级评分。

表1　移核茶品评的标准

Table 1　Sensory evaluation criteria of *Docynia indica* tea

项目	评价标准	评分	权重
汤色	色泽鲜明无浑浊,橙黄明亮	90~99	0.4
	无明显浑浊,橙黄尚明亮	80~89	
	色泽暗黄浑浊	70~79	
滋味	滋味醇正,回味甘爽	90~99	0.3
	滋味较醇厚	80~89	
	尚醇	70~79	
香气	香气纯正无杂气味清高爽	90~99	0.3
	香气较高尚纯无杂气味	80~89	
	尚纯	70~79	

2.2.3 电子舌评价分析　将按照2.2.1的方法制备的2种茶汤,过滤冷却至室温后,移取80 mL置于120 mL的电子舌专用烧杯内,静置15 min,冷却后的沸水为校准溶液,对茶汤进行电子舌分析。电子传感器在每个样品中采集时间为120 s,每秒记录1次数据。各样品重复测量6次。

2.2.4 氨基酸测定　分别称取1.5 g发酵前后样品,加入80 mL沸水,沸水浴上浸提45 min,抽滤后将滤液收集于100 mL的容量瓶中，并用少量去离子水洗涤残渣,冷却后定容,摇匀得茶汤。取5 mL茶汤于离心管中，加入5 mL质量分数为10%磺基水杨酸，摇匀，静置10 min,4 000 r/min离心10 min,上清液经不同程度稀释后,经0.22 μm微孔滤膜过滤后测定。色谱柱:LCA K 07 (150 mm×4.6 mm);检测波长:570 nm,440 nm;洗脱液流量:0.45 mL/min;反应液流量:0.25 mL/min;柱温:57~74 ℃梯度温度;反应温度:130 ℃。

1）呈味氨基酸含量。鲜味氨基酸含量为谷氨酸、天门冬氨酸含量之和,甜味氨基酸含量为甘氨酸、丙氨酸、丝氨酸、脯氨酸含量之和,芳香族氨基酸含量为酪氨酸、苯丙氨酸含量之和[14]。

2)人体必需氨基酸含量。人体8种必需氨基酸含量是苏氨酸、蛋氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸、色氨酸含量之和。

2.3 化学成分的测定与评价

2.3.1 供试品溶液制备

1)HPLC指纹图谱分析供试品制备。分别将移核茶、核衣发酵茶样于50 ℃烘干至恒重,研钵研碎成粉末并过60目筛(过筛率大于98%),精密称取粉末0.100 0 g置于25 mL的容量瓶中，然后加入约20 mL甲醇,在25 ℃下超声提取30 min,冷却至室温后以甲醇定容得提取液,样品过0.45 μm微孔滤膜,即为指纹图谱测定用样品。低温保存备用。

2)HPLC含量测定供试品制备。精密量取0.5 mL 2.3.1.1中所得提取液至10 mL的容量瓶中,甲醇定容,样品过0.45 μm微孔滤膜,即为主要化学成分根皮苷及其代谢产物根皮素快速测定用样品。低温保存备用。

2.3.2 样品HPLC指纹图谱指纹图谱分析　参照吴京[4]对于移核叶化学成分的指纹图谱分析方法,比较发酵前后样品化学成分的变化。

色谱条件：色谱柱:Agilent ZORBAX Extend-C18柱(4.6×250 mm,5 μm);柱温:25 ℃;流动相:乙腈(A):甲醇(B):水(C),线性梯度洗脱:0~40 min (5%~15% A:0%~35% B:95%~50% C),40~44 min (15%~30% A:35%~0% B:50%~70% C),44~55 min (30%~40% A:70%~60% C),55~59 min (40%~100% A:60%~0% C),59~70 min (100% A)；体积流量:1 mL/min;进样体积:10 μL,检测波长:285 nm。

2.3.3 样品中根皮苷、根皮素的含量测定

1)色谱条件。参照吴京[4]对于根皮苷含量的分

析方法并加以优化。比较发酵前后样品根皮苷、根皮素的含量变化。

色谱条件: 色谱柱:Agilent ZORBAX Extend-C18 柱(4.6×250 mm,5 μm);柱温:25 ℃;流动相:乙腈(A):水(C),线性梯度洗脱:0~15 min(15%~50% A:85%~50% C),15~30 min(50%~100% A:50%~0% C);体积流量:1 mL/min;进样体积:10 μL;检测波长:285 nm。

2) 标准曲线绘制。精密称取根皮苷标准品 0.004 0 g,根皮素标准品 0.004 0 g,甲醇溶解定容至 50 mL, 配制成根皮苷质量浓度为 80 μg/mL,根皮素质量浓度为 40 μg/mL 的对照品混合储备液。分别移取 0.05、0.1、0.2、0.5、1、2、5 mL 储备液至 10 mL 的容量瓶中,甲醇定容,配制成不同质量浓度的根皮苷、根皮素混合标准溶液,按 2.3.3.1 色谱条件进行分析,分别以质量浓度 X(μg/mL)为横坐标,色谱峰面积 Y(mAu*min)为纵坐标进行线性拟合,所得根皮苷回归方程为 Y=19.776X+4.229 0,r^2=0.999 98,表明根皮苷质量浓度在 0.4~80 μg/mL 时线性关系良好;根皮素回归方程为 Y=34.788X+2.965 4,r^2=0.999 99,表明根皮素质量浓度在 0.24~40 μg/mL 时线性关系良好。

3)样品中根皮苷、根皮素含量测定。将 2.3.1 中制备的样品按 2.3.3 色谱条件进样,并按 2.3.3 所得标准曲线计算发酵前后移核茶中根皮苷、根皮素的含量变化。

2.4 统计与分析

以上所得实验数据用 SPSS 19.0 软件和 Excel 进行统计分析,Origin9 软件作图。

3 结果与分析

3.1 茶汤颜色的比较

比较发酵前后移核茶茶汤颜色的变化,结果见表 2。

表 2 移核茶发酵前后茶汤色度的变化

Table 2 Chroma changes ofnative and fermented *Docynia indica* tea

项目	样本数/个	测量数据				被测色名称
		黄	红	蓝	灰	
发酵前	3	10	2	0	1	明橙黄色
发酵后	3	14	3.2	0	0	橙黄色

由表 2 可以看出, 发酵前茶汤色度比色结果为:黄 10、红 2、灰 1,发酵后比色结果为:黄 14、红 3.2。发酵前后茶汤颜色变化较明显,发酵前为明橙黄色,发酵后为橙黄色。冠突散囊菌能产生多种有活性有色类物质[15],这使发酵后茶汤的颜色更加浓郁饱满,对移核茶的色泽品质有明显的改善。

3.2 感官评价的差异

移核茶接种冠突散囊菌,经过发酵,比较发酵前后感官评价的变化,结果见表 3。

表 3 移核茶发酵前后感官评审结果

Table 3 Results for the sensory evaluation of native and fermented *Docynia indica* tea

样品	样本数/个	评审结果			总分
		汤色	滋味	香气	
发酵前	10	93.3±1.06	86.5±1.65	87.5±1.78	89.52±1.00
发酵后	10	87.2±1.87**	94.0±0.94**	93.7±1.70**	91.19±0.98**

注:与发酵前比较,*p<0.05,差异显著;**p<0.01,差异极显著

由表 3 可以看出, 发酵前后感官差异极显著(p<0.001)。发酵前汤色得分更高,茶汤颜色明亮而清透,发酵后汤色稍暗,分数偏低,说明评审人员更偏好明亮的色泽;但是发酵后滋味更回甘,且具有发酵前所不具备的醇厚感; 发酵后香气得分更高,可能是因为接种冠突散囊菌的而使得样品具备独特的“菌花香”,香气纯正清高;总体而言,发酵后得分更高。

3.3 电子舌的评价分析

3.3.1 采样时间的确定 根据电子舌的工作原理得知,电子舌在采集信号前会经过自检、诊断和矫正等步骤,从而导致在检测样品的初期,波动较大[16],见图 1。

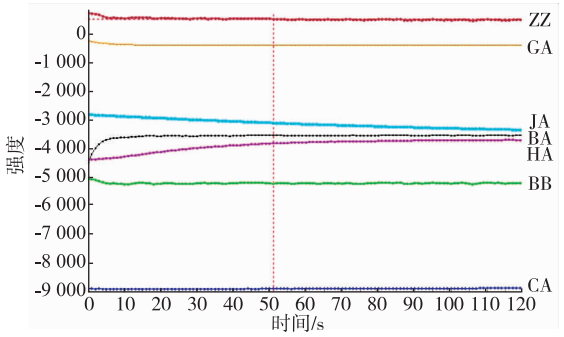


图 1　各传感器对移核茶的响应信号图

Fig. 1　Response curves of the sensors to a tea sample

从图 1 可以看出，图中横轴为测量时间，纵轴为采集到的响应值，7 根传感器代号分别为 ZZ、BA、BB、CA、GA、HA、JB，对酸甜苦咸 4 种味道都有敏感性，并不是专一性传感器，等同于有 7 位感官评审员，从茶汤总体风味来评价样品。以移核茶发酵前样品为例，可以得知前 10 s 的响应值变化非常明显，10~50 s 范围内波动较明显，50~100 s 有小范围波动，100 s~120 s 范围内响应值基本平稳，所以，选取 120 s 的数据作为最终响应值。前 3 次测量数据波动较大，故选取后 3 次的测量数据作为原始数据进行分析。

3.3.2　*传感器响应信号分析*　选取 120 s 的测定数据为最终响应，再进行传感器响应信号分析，通过对各传感器响应值的平均值进行分析，得到发酵前后样品的电子舌雷达图，结果见图 2。

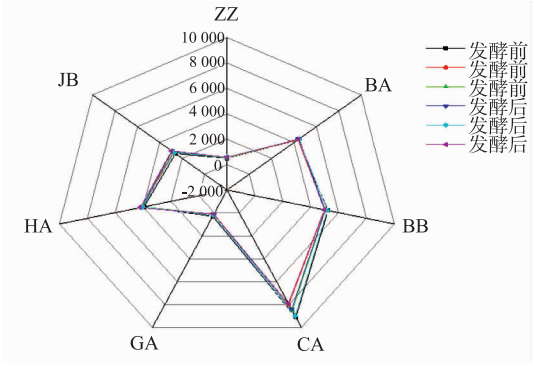


图 2　各传感器对移核茶发酵前后样品响应值

Fig. 2　Response values of each sensor fornative and fermented *Docynia indica* tea

由图 2 可以看出，所有传感器响应值在 150~8 500 之间，其中 CA、BB、BA、HA 传感器的响应值在 4 000 以上，其余传感器响应值较低，但是 CA 传感器的检测信号强度差异较明显，因此 CA 是对移核茶发酵前后样品风味差异敏感的传感器。

3.3.3　*PCA 主成分分析*　对电子舌采集到的信号进行主成分分析，结果见图 3 和 4。

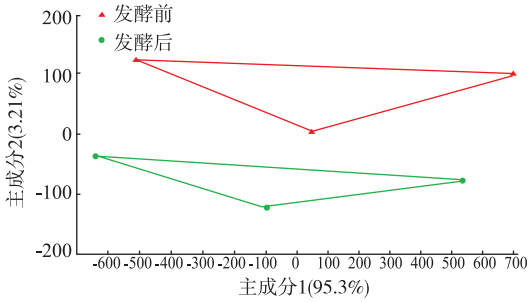


图 3　移核茶发酵前后主成分分析二维图

Fig. 3　2D figure of principal component analysis (PCA)

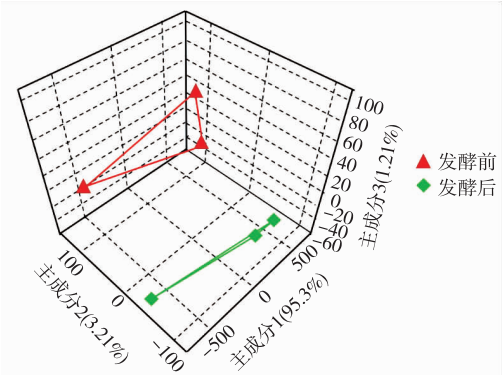


图 4　移核茶发酵前后主成分分析三维图

Fig. 4　3D figure of principal component analysis (PCA) plots of native and fermented *Docynia indica* tea

图 3 和图 4 中的每 1 个点代表一个样品的信息，点与点间的距离越大，样品间的差异也就越大。从图 3 可以看出移核茶发酵前后茶汤滋味的不同，发酵前样品主要集中在上部，发酵后样品集中在下部。从图 4 进一步证明了样品间的差异，与感官评审结果一致。

对数据进行分析之后，得知主成分 1(PC1)的贡献率为 95.3%，主成分 2(PC2)的贡献率为 3.21%，说明主成分 1 和 2 对解释总变量的贡献率达 98.5%，可以充分反映样品的整体信息。

3.4　*发酵对移核茶中氨基酸含量的影响*

比较移核茶发酵前后氨基酸含量，结果见表 4。

表 4　栘桄茶发酵前后氨基酸质量分数变化

Table 4　Changes of amino acid of native and fermented *Docynia indica* tea

氨基酸种类	发酵前质量分数/(mg/g)	发酵后质量分数/(mg/g)	增长率/%
天门冬氨酸	0.610	0.340	−44.3
苏氨酸	0.082	0.092	+12.2
丝氨酸	0.150	0.210	+40.0
谷氨酸	0.660	0.440	−33.3
甘氨酸	0.100	0.180	+80.0
丙氨酸	0.120	0.120	0.00
胱氨酸	0.120	0.140	+16.7
缬氨酸	0.043	0.069	+60.5
蛋氨酸	0.025	0.037	+48.0
异亮氨酸	0.027	0.034	+26.0
亮氨酸	0.051	0.085	+66.7
酪氨酸	0.043	0.077	+79.1
苯丙氨酸	0.130	0.170	+30.8
赖氨酸	0.037	0.068	+83.8
组氨酸	0.200	0.280	+40.0
精氨酸	0.260	0.042	−83.8
色氨酸	--	--	--
鲜味氨基酸	1.270	0.780	−38.6
甜味氨基酸	0.370	0.510	+37.8
芳香族氨基酸	0.173	0.247	+42.8
人体必需氨基酸	0.395	0.555	+40.5
氨基酸总量	2.700	2.400	−11.1

注:增长率=(发酵后氨基酸质量分数−发酵前氨基酸质量分数)/发酵前氨基酸质量分数×100%

“+”表示氨基酸质量分数增加,“−”表示氨基酸质量分数降低,“0”表示氨基酸质量分数不变

由表 4 可知,栘桄茶发酵前后的氨基酸种类较齐全,均有 17 种。但是其氨基酸质量分数表现出较大差异，其中质量分数升高较多的氨基酸为赖氨酸、甘氨酸、酪氨酸,质量分数降低幅度较大的有精氨酸、天门冬氨酸、谷氨酸。呈味氨基酸中鲜味氨基酸总质量分数由 1.270 mg/g 降为 0.780 mg/g，下降了 38.6%；甜味氨基酸总质量分数由 0.370 mg/g 升高到 0.510 mg/g,增长率为 37.8%;芳香族氨基酸总质量分数由 0.173 mg/g 升高到 0.247 mg/g，增长率为 42.8%。虽然发酵后氨基酸总质量分数下降了 11.1%,但是人体必需氨基增长了 40.5%。

3.5　发酵前后指纹图谱分析

栘桄茶发酵前后样品，按照 2.3.2 的色谱条件进样,根据 HPLC 指纹图谱比较栘桄茶发酵前后化学成分的变化,结果见图 5。比较分析发酵前后指纹图谱可发现,多个成分发生改变,利用中药指纹图谱相似度分析系统(2004 版)对栘桄指纹图谱峰面积原始数据进行分析,最终确定了 18 个共有峰,经外标法确认 6 号峰为根皮苷,10 号峰为根皮素。栘桄茶发酵前后成分变化见表 5。

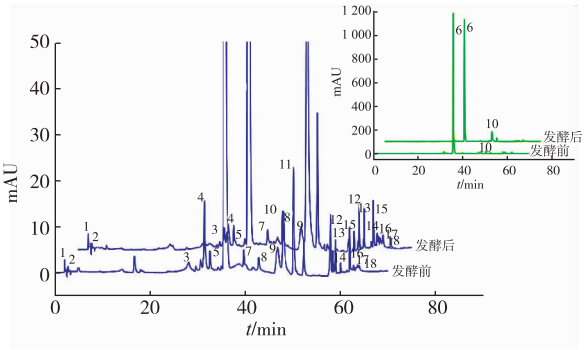


图 5　栘桄茶发酵前后共有峰 HPLC 指纹图谱

Fig. 5　HPLC fingerprints of native and fermented *Docynia indica* tea

表 5　栘桄茶发酵前后化学成分变化

Table 5　Changes of chemical compositions of native and fermented *Docynia indica* tea

保留时间/min	发酵前峰面积/(mAU*min)	发酵后峰面积/(mAU*min)	峰面积变化值/(mAU*min)
2.16	14.765	22.181	+7.416
2.815	0	5.286	▲5.286
2.89	6.474	6.653	+0.179
16.845	68.170	0.000	△68.170
29.708	0.000	15.924	▲15.924
30.706	28.260	72.505	+44.245
31.261	0.000	33.409	▲33.409
31.529	265.218	93.106	−172.112
32.689	55.509	47.068	−8.441
35.055	0.000	26.533	▲26.533
35.646	20117.010	17268.380	−2848.630
39.771	47.936	56.040	+8.104
42.905	64.053	144.584	+80.531
46.835	195.871	149.387	−46.484
48.072	341.634	2552.192	+2210.558
50.216	353.300	442.438	+89.138
51.712	0	12.369	▲12.369
52.335	111.544	0	△111.544
56.76	0.000	54.427	▲54.427
57.938	165.542	60.199	−105.343

续表

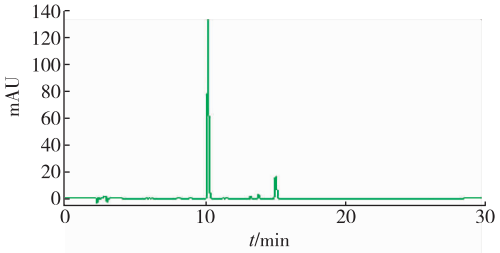
保留时间/min	发酵前峰面积/(mAU*min)	发酵后峰面积/(mAU*min)	峰面积变化值/(mAU*min)
58.496	36.576	0.000	△36.576
58.741	7.715	10.753	+3.038
59.018	50.855	65.523	+14.668
60.062	18.741	73.381	+54.640
61.514	0.000	12.896	▲12.896
61.945	36.740	43.879	+7.139
61.999	66.198	60.796	−5.402
62.688	0.000	11.581	▲11.581
62.812	13.009	18.878	+5.869
63.041	0.000	6.684	▲6.684
63.374	0.000	14.927	▲14.927
64.008	0.000	36.393	▲36.393

注:“+”代表发酵后共有峰峰面积增加;“−”代表发酵后共有峰峰面积减少;“△”代表发酵后消失的峰;“▲”代表发酵后新出现的峰。

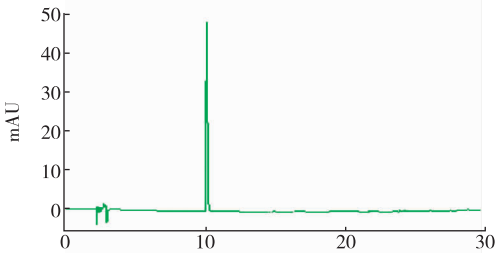
对发酵前后的色谱峰进行统计可知,发酵后 18 个共有峰中有 6 个色谱峰面积减少，有 12 个色谱峰面积增加,同时发酵后新出现了 11 个色谱峰,说明发酵带来了新的化合物,但是也有 3 个物质的色谱峰面积减少到零,说明物质发生了降解。由此可见,人工接种冠突散囊菌发酵栘桄茶使其化学成分发生了明显的改变。

3.6 根皮苷、根皮素质量分数分析

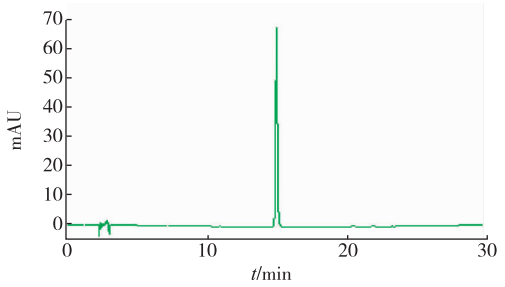
由表 5 可知,发酵前后栘桄茶中根皮苷与根皮素峰面积变化最大，故按 2.3.3 方法对其含量进行测定。



(a)样品HPLC图谱



(b)根皮苷标准品HPLC图谱



(c)根皮素标准品HPLC图谱

图 6 测定栘桄茶中根皮苷、根皮素含量的色谱图

Fig. 6 Chromatogram of phlorizin and phloretin in *Docynia indica* tea

根据 2.3.3 的方法测得根皮苷、根皮素的 HPLC 色图谱如图 6，栘桄茶未发酵时根皮苷质量分数达到251.870 mg/g，根皮素质量分数只有 2.494 mg/g，而发酵后根皮苷质量分数下降到 198.250 mg/g,根皮素质量分数升高到19.619 mg/g。说明冠突散囊菌发酵栘桄茶对其主要功效成分有显著影响,根皮苷被大量转化为根皮素，仅发酵 7 d 根皮素就升高到原来的 7.8 倍。

4 讨 论

本研究中利用冠突散囊菌(金花菌)对栘桄茶进行固态发酵,金花菌能够大量生长,因此产生多种胞外酶,使其色泽,香气,滋味与化学成分发生了变化。电子舌分析表明发酵前后的感官品质有明显差异,感官评价综合评分发酵后高于发酵前。

氨基酸是重要营养成分,各种氨基酸含量及组成直接影响食品的营养价值,并与人类味觉密切相关[17]。因此对发酵前后栘桄茶中的氨基酸的组成及含量进行分析比较，两种栘桄茶均含有 17 种主要的氨基酸,包括人体必需的 8 种氨基酸,但是发酵后氨基酸总质量分数有所下降,必需氨基酸质量分数有所增加,对呈味氨基酸比较可知茶汤中鲜味氨基酸质量分数下降,而甜味氨基酸与芳香族氨基酸质量分数明显增加。

固态发酵是利用微生物代谢过程中产生的酶使植物中的活性成分的组成与含量发生变化[18]。栘桄叶中含有多酚、黄酮等多种生物活性物质,其主要成分是根皮苷。根皮苷具有降血糖、降血脂[19]、抗氧化和延长寿命等作用[20],目前对栘桄叶的研究较少,而对于利用微生物对其进行固态发酵的研究未见报道,因此本研究中考察了发酵对于其化学成分

的影响,HPLC 指纹图谱分析结果显示,栲椆茶发酵 7 d 后，有大约 70%的化学成分其质量分数出现了增加的趋势，其中新增加的成分达到 30%左右;减少的成分有 30%,其中有 10%的成分降解完全。对根皮苷质量分数的变化考察结果显示,经过金花菌 7 d 的发酵代谢，根皮苷减少了 20%，由 251.872 mg/g 下降为 198.251 mg/g，而根皮素则增加了大约 7 倍,由 2.494 mg/g 升高到 19.619 mg/g,推测冠突散囊菌能够产生将根皮苷转化为根皮素的酶。目前研究表明根皮素具有保护心血管[21]、抑制葡萄糖转运[22]、调节自身免疫[23],其通过降低胰岛素抵抗作用,有利于 II 型糖尿病的治疗[24],并且抗氧化活性高于根皮苷[25]。

5 结 语

因此人工接种冠突散囊菌对栲椆茶进行固态发酵引起茶叶中化学成分的变化,所得栲椆发酵茶品质和风味更佳,适合广泛日常饮用,具有较高的应用价值和开发潜质。在固态发酵中水料比、接种量、发酵温度以及发酵时间等都会对微生物的生长有一定的影响,在后续的研究中,可以进一步研究发酵对功效成分的具体影响,以期获得最佳发酵条件,并深入探讨发酵过程当中的成分变化对功能的影响。

参考文献：

[1] 中国科学院中国植物志编委会. 中国植物志:第 36 卷[M]. 北京:科学出版社,1974.
[2] 钱信忠. 中国本草彩色图鉴草药篇. 第四卷[M]. 北京:人民卫生出版社,2003.
[3] HAZARIKA T K,LALRAMCHUANA,NAUTIYAL B P. Studies on wild edible fruits of Mizoram,India used as ethno-medicine [J]. **Genetic Resources & Crop Evolution**,2012,59(8):1767-1776.
[4] 吴京. 傣药栲椆叶的 HPLC 指纹图谱研究及其抗氧化活性分析[D]. 成都:四川师范大学,2014.
[5] LIU Gang,WU Jing,ZHU Mingjun,et al. On evaluation of antioxidant activities and screening of potential antioxidant compounds from *Docynia delavayi*(Franch.) schneid. Leaves[J]. **Journal of southwest normal university**,2014,39(9):73-81.(in Chinese)
[6] LIU Haixia,LIU Gang,ZHANG Xiaoyu,et al. Determination of Polyphenol Contents in *Docynia Dcne* [J]. **Food Science**,2014,35(24):295-300.(in Chinese)
[7] CHEN Guimei,DENG Yongliang,HUANG Yaya,et al. Activity changes in several extracellular enzymes of *Eurotium cristatum* fungi during its growth period[J]. **Journal of Tea Science**,2013,33(4):306-310.(in Chinese)
[8] WEN Qiongying,LIU Suchun. Evolutionary regulation of dominant fungi in fuzhuan brick tea during the growing process[J]. **Tea Science**,1991(s1):56-62.(in Chinese)
[9] 郝鹏飞. 辣椒叶“金花”菌发酵产物及活性研究[D]. 北京:北京中医药大学,2013.
[10] CAI Zhengan,LIU Suchun,LIU Xingyi,et al. Study of the growth of *Eurotium Cristatum* fungi on some kinds of tea and plant materials[J]. **Tea Science**,2010,30(4):263-268.(in Chinese)
[11] REN Jinmei,QIN Junzhe,ZOU Li. Eurotium cristatum-fermented ginkgo biloba brick tea artificially [J]. **Food Technology**,2015,40(4):137-140.(in Chinese)
[12] SU Feng,ZHONG Fangxu,PENG Yourui,et al. Study on fu-brick tea fermented by *Eurotium cristatum* [J]. **Chinese Food and Nutrition**,2011,17(7):30-33.(in Chinese)
[13] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理总局委员会. GBT 23776-2009 茶叶感官审评方法[S]. 北京:中国标准出版社,2009.
[14] OU Xingqi,REN Xiujuan,ZHOU Yan. Analysis on the amino acid content and the composition in the vegetable sweet potato tips [J]. **Chinese Journal of Food Science**,2007,7(4):120-125.(in Chinese)
[15] 韩蓉. 冠突散囊菌产色素类物质的初步研究[D]. 西安:陕西科技大学,2014.
[16] JIANG Sha,CHEN Qinqin,HU Xuefang,et al. Application of electronic tongue on black tea beverage discrimination[J]. **Journal of Agricultural Engineering**,2009,25(11):345-349.(in Chinese)
[17] JIANG Ying,XU Ying,ZHU Gengbo. Human taste and amino acid flavor[J]. **Amino Acids and Biological Resources**,2002,24(4):1-3(in Chinese)

[18] LI C, LIU C Q, LI D J. Changes in volatile compounds of sweet potato tips during fermentation [J]. **Journal of Integrative Agriculture**, 2010, 9(11): 1689-1695.

[19] DONG Huaqiang, NING Zhengxiang, YU Lijing. et al. Anti-hypeglycemia and effects of flavonoid phloridzin from lithocarpus polystachyus rehd on diabetic model mice[J]. **Food Science**, 2006, 27(12): 714-718. (in Chinese)

[20] ZHANG Zesheng, HU Sha, SHAO Chan, et al. Protective effect of phloridzin on the fat-induced oxidative damage in drosophila melanogaster[J]. **Food Technology**, 2012, 37(4): 195-198. (in Chinese)

[21] JIAO Pengfei. Study on cardiovascular protective effects of phloretin[J]. **Modern Medical Hygiene**, 2012, 28(9): 1284-1286. (in Chinese)

[22] SHI Ke, ZHAO Lu, YOU Zhipeng, et al. Protective effect of phloretin on rod photoreceptors in diabetic mice[J]. **New Progress in Ophthalmology**, 2014, 34(9): 809-812. (in Chinese)

[23] 陆晓宇. 根皮素对小鼠免疫功能的影响及对自身免疫性肝炎模型小鼠的保护作用[D]. 广州: 暨南大学, 2010.

[24] HASSAN M, EL Y C, LANDRIER J F, et al. Phloretin enhances adipocyte differentiation and adiponectin expression in 3T3-L1 cells[J]. **Biochem Biophys Res Commun**, 2007, 361(1): 208-213.

[25] VASANTHA RUPASINGHE H P, YASMIN A. Inhibition of oxidation of aqueous emulsions of omega-3 fatty acids and fish oil by phloretin and phloridzin[J]. **Molecules**, 2010, 15(1): 251.

科　技　信　息

美国扩展螺旋藻提取物作为染色剂的使用范围

2017 年 7 月 3 日, 美国食品药品管理局发布 82 FR 30731, 修订 21 CFR 73 部分, 扩展了螺旋藻提取物可用于煮鸡蛋壳的染色, 用量要求符合良好制造规范。

修订后的规定如下: 螺旋藻提取物可作为着色剂安全用于糖果(包括糖果和口香糖)、糖霜、冰淇淋和冰冻甜点、甜点涂料和装饰配料、混合和粉末状饮料、酸奶、奶油冻、布丁、奶酪、明胶、面包、即食谷物(不包括膨化谷物), 以及应用于膳食补充剂片剂和胶囊的涂料配方, 用量要求符合良好制造规范, 也可用于煮鸡蛋壳的染色, 但它不能用于联邦食品、药品和化妆品法案第 401 部分规定的标准产品。

[信息来源]厦门 WTO 工作站. 美国扩展螺旋藻提取物作为染色剂的使用范围 [EB/OL]. (2017-7-9). http://www.xmtbt-sps.gov.cn/detail.asp?id=54796

澳新批准一种木聚糖酶作为加工助剂

据澳新食品标准局消息, 2017 年 7 月 7 日澳新食品标准局发布 17 - 17 号通报, 批准一种木聚糖酶作为加工助剂用于谷物食品生产。

据了解, 2017 年 1 月 23 日, Puratos NV 公司提交 A1125 号申请, 申请 β(1,4)木聚糖酶作为内切酶使用于谷物产品生产并提交相应草案。

该木聚糖酶由转基因枯草芽孢杆菌产生。它能催化阿拉伯木聚糖转化成阿拉伯木聚糖寡糖, 提高这些多糖的功能特性, 导致更好和/或更稳定的产品质量, 可用于面包、饼干、蛋糕等烘培食品, 还有面食、面条、小吃等谷物产品。转基因枯草芽孢杆菌菌株含有假交替单胞菌属 haloplanktis 产生的木聚糖酶基因。

澳新食品标准局(FSANZ)经风险评估后得出结论, β(1,4)木聚糖酶作为食品加工助剂内切酶使用于谷物产品生产没有产生公共健康和安全问题, 即使很可能是在终端食物中存在变性蛋白形式残留, 也易被像其他膳食蛋白质一样消化。

澳新食品标准局还认为, 因没有任何可识别的危险, 可不制定这种木聚糖酶的每日允许摄入量(ADI)。

[信息来源]食品伙伴网. 澳新批准一种木聚糖酶作为加工助剂 [EB/OL]. (2017-7-12). http://news.foodmate.net/2017/07/435959.html