

冠突曲霉菌发酵枸杞叶红茶的抗氧化活性及成分变化

陈菊[§], 丁纯洁[§], 孙银玲, 赵姝, 郑宏宇, 高辛, 金书含, 董坤^{*}

黑龙江省中医药科学院中药研究所, 哈尔滨 150036

摘要: 为了探究冠突曲霉菌(*Aspergillus cristatum*)发酵枸杞叶过程中,枸杞叶的活性成分变化及其对体外抗氧化活性的影响,采集福建漳州(FZ)、广东清远(GQ)、江苏南通(JN)3个产地的枸杞叶(GY),按照红茶工艺,经过萎凋、揉捻、自然发酵制成枸杞叶红茶(GC),接种冠突曲霉菌发酵2 d,获得冠突曲霉菌发酵的枸杞叶(GCF)。结果发现,与枸杞叶相比,冠突曲霉菌发酵枸杞叶红茶可以改善枸杞叶的口感,去除青草味;茶汤颜色加深,由橙黄色变为橙红色;多酚、类胡萝卜素含量无显著变化;黄酮含量显著降低,其中JNGCF黄酮含量降低幅度最小,下降了43.44%;与各组GY相比,FZGCF、GQGCF、JNGCF的蛋白质、总多糖和总游离氨基酸含量均显著升高。其中,蛋白质分别升高了50.70%、49.07%、55.34%;总多糖分别升高了98.93%、113.15%、100.42%;总游离氨基酸分别升高了75.90%、82.38%、68.84%。体外抗氧化活性实验中,FZGCF的DPPH自由基清除率显著降低,GQGCF、JNGCF与各自GY组无显著差异,且FZGCF、GQGCF、JNGCF的还原力均显著下降。结果表明,冠突曲霉菌发酵枸杞叶能改善口感,增加茶汤红度,能较大程度保留枸杞叶原有的抗氧化活性物质多酚和类胡萝卜素,并且增加营养物质如蛋白质、多糖和氨基酸的含量。以上结果为枸杞叶功能性产品开发提供了一定理论基础,填补了枸杞叶红茶产品的空白,降低了枸杞副产物枸杞叶的资源废弃率。

关键词: 枸杞叶;红茶;抗氧化;活性成分

DOI:10.19586/j.2095-2341.2025.0005

中图分类号:Q279, TS272

文献标志码:A

Antioxidant Activity and Composition Changes of *Lycium chinense* Miller Leaf Black Tea Fermented by *Aspergillus cristatum*

CHEN Ju[§], DING Chunjie[§], SUN Yinling, ZHAO Han, ZHENG Hongyu, GAO Xin, JIN Shuhan, DONG Kun^{*}

Institute of Chinese Meteria Medica, Heilongjiang Academy of Chinese Medicine Sciences, Harbin 150036, China

Abstract: To investigate the changes of active components in *Lycium chinense* Miller leaf drink fermented by *Aspergillus cristatum* and its effect on antioxidant activity in vitro, *L. chinense* Miller leaves (GY) from three distinct production regions in Zhangzhou, Fujian (FZ), Qingyuan, Guangdong (GQ), and Nantong, Jiangsu (JN) were harvested. According to the black tea process, *L. chinense* Miller leaves were withered, rolled and naturally fermented to make *L. chinense* Miller leaf black tea (GC). The black tea was fermented by *A. cristatum* for 2 days to obtain Fermented *L. chinense* Miller leaf black tea (GCF). Compared with GY, GCF could improve the taste of *L. chinense* Miller leaves and remove the grassy flavor; the color of tea soup deepened from orange yellow to orange red; there was no significant change in the content of polyphenols and carotenoids. The content of flavonoids decreased significantly, and the content of flavonoids in JNGCF decreased by 43.44%. Compared with each group of GY, the contents of protein, total polysaccharides and total free amino acids in FZGCF, GQGCF and JNGCF were significantly increased. The protein increased by 50.70%, 49.07% and 55.34%, respectively; the total polysaccharide increased by 98.93%, 113.15% and 100.42%; the total free amino acids increased by 75.90%, 82.38% and 68.84%. In the in vitro antioxidant activity test, the DPPH free radical scavenging rate of FZGCF was significantly reduced, while there was no significant difference between GQGCF, JNGCF

收稿日期:2025-01-10; 接受日期:2025-03-27

基金项目:国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-21);黑龙江省博士后资助项目(LBH-Z21215)。

联系方式:陈菊 E-mail:cj18984786528@163.com; 丁纯洁 E-mail:1574941725@qq.com

*通信作者 董坤 E-mail:ddruihan@163.com

and their respective GY groups, and the reducing power of FZGCF, GQGCF and JNGCF was significantly reduced. The results showed that GCF groups could improve the taste, increase the redness of tea soup, preserve the original antioxidant active substances polyphenols and carotenoids to a large extent, and increase the nutritional substances protein, polysaccharides, and amino acids. The above results provide a theoretical basis for the development of functional products of *L. chinense* Miller leaf, filling the gap in *L. chinense* Miller leaf black tea products and reducing the resource waste rate of *L. chinense* Miller leaf.

Key words: *Lycium chinense* Miller leaves; black tea; antioxidant activity; active ingredient

冠突曲霉菌是茯砖茶中的优势真菌,俗称“金花菌”,属于益生菌,具有抗氧化、降脂、抑菌、抗肿瘤和调节免疫力等功效,因此具有良好的研究价值和应用潜力。冠突曲霉菌除了用于黑茶发酵,还广泛应用于红茶、绿茶等多种传统茶的发酵研究。近年来,有研究者发现冠曲霉囊菌发酵可以改善桑叶、葛根和杜仲等的口味,提升品质^[1]。

枸杞叶又名天精草,具有滋肝补肾、益精明目的功效,历代本草记载其可药食两用,应用历史悠久。枸杞叶在南方主要作为时令蔬菜食用,可食用部位为芽尖、茎及叶片,属于一级蔬菜。现代研究发现,枸杞叶成分与枸杞子相似,不仅富含蛋白质、氨基酸、维生素等营养成分和钙、铁、硒等微量元素,还富含黄酮、多糖、多酚、胡萝卜素和甜菜碱等功能成分,具有抗氧化、抗衰老、降血糖、美白、调节血脂、增强免疫和神经保护等功效,具有一定产业发展价值^[2-3]。红茶是全球最受欢迎的茶类之一,在发酵过程中,多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)和过氧化物酶(peroxidase, POD)将茶叶中的儿茶素氧化聚合成红茶中2种主要颜色成分茶黄素(theaflavins, TFs)和茶红素(thearubigins, TRs)。其中,TFs具有抗菌、降血脂、抗炎和去除内源性代谢毒素的能力^[4],而TRs的生物功能包括抗氧化、抗突变、抗癌以及对线粒体激活、胃肠道运动和骨骼健康的影响等^[5]。

近年来,对保健食品的需求使得枸杞营养成分研究和资源应用越来越受到重视,枸杞叶作为枸杞的副产物,本研究利用冠突曲霉菌将其制作为既方便食用又具有一定的保健效果的红茶,以期资源的充分利用和枸杞叶的高质量发展提供指导。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 试药 茯砖茶购于湖南安化;枸杞叶采摘于福建漳州、广东清远和江苏南通,分别记为FZ、

GQ、JN,由黑龙江省中医药科学院王伟明研究员鉴定为茄科植物枸杞 *Lycium chinense* Miller 的鲜叶,含有芽尖和部分嫩茎。谷氨酸(阿拉丁,批号K1820063)、2,2-联苯基-1-苦基肼基(麦克林,批号C16389061)、没食子酸(麦克林,批号C16806656)、水合茛三酮(麦克林,批号C15045439)、葡萄糖(麦克林,批号C17280825)、芦丁(中国药品生物制品检定所,批号100080-200707);福林酚试剂购于北京太阳生物科技有限公司;Ezup柱式真菌基因组DNA抽提试剂盒购于生工生物工程(上海)股份有限公司;马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)购于青岛高科技工业园海博生物技术有限公司。甲醇、碳酸钠、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠、硫酸、二水合氯化亚锡、乙酸乙酯、饱和草酸溶液、正丁醇、95%乙醇和碳酸氢钠均为国产分析纯。

1.1.2 仪器 离心机(北京京立离心机有限公司,型号LG10-2.4A),培养箱(上海一恒科学仪器有限公司,型号MJ-150-II),分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司,型号1047/02),水浴锅(上海新苗医疗器械制造有限公司,型号HH-S21-6-S),色差仪(深圳市林上科技有限公司,型号LS173),酶标仪[瑞孚迪生物医学(上海)有限公司,型号VICTOR Nivo HH3500]。

1.2 实验方法

1.2.1 菌株的分离和鉴定 采用稀释涂布平板法分离茯砖茶中优势菌株,于PDA培养基28℃培养4~5 d,挑取形态似冠突曲霉的单菌落,用于菌株鉴定及发酵枸杞红茶。将菌株接种至PDA平板中,插入无菌盖玻片,待菌丝延伸到盖玻片上时取出,光学显微镜下观察并记录菌丝的形态。

按照真菌基因组DNA抽提试剂盒说明书提取菌株DNA,以提取的DNA为模板,NS1(5'-GTAGTCATATGCTTGTCTC-3')和NS6(5'-GCATCACAGACCTGTTATTGCCTC-3')为引物,进行PCR反应,测定真菌通用的转录间隔区序列(internal transcribed spacer, ITS),委托生工生物工程(上海)股

份有限公司完成测序。将所获得的菌株序列与NCBI中GeneBank数据库进行BLAST比对,选取相似度较高的序列,采用MEGA 11软件的邻接法(neighbor-joining, NJ)构建系统进化树,Bootstrap值设为1 000。

1.2.2 枸杞叶及枸杞叶红茶的制备 样品制备:新鲜枸杞叶经过挑选、晒干后获得干燥枸杞叶,记为GY;新鲜枸杞叶经过挑选、萎凋,揉捻30 min,自然发酵6 h,经110℃初烘和80℃复烘后获得枸杞叶红茶,记为GC;将GC复水后接种从黑茶中分离的冠突曲霉菌,发酵2 d获得枸杞叶后发酵红茶,记为GCF,80℃烘干保存备用。

茶汤制备^[6]:将1.5 g茶叶浸入50 mL沸腾的蒸馏水中。将混合物加热并保持沸腾20 min,并通过Whatman 2号滤纸过滤除去茶叶。对茶汤进行抗氧化活性、化学成分含量测定。

1.2.3 指标测定 茶汤感官评审^[7]:称取3 g样品,加入150 mL蒸馏水,冲泡5 min,对汤色、香气、滋味等方面进行评价并打分,按照各指标所占权重计算最终得分,评分标准见表1。

表1 茶汤感官评分标准

Table 1 The sensory evaluation standard of tea soup

指标	权数	评分标准	分数
外形	10%	乌润紧结、匀整、净度好	90~99
		乌润较紧结、匀整、净度较好	80~89
		乌润尚紧结、匀整、净度尚好	70~79
汤色	30%	橙红明亮、光圈粗亮	90~99
		橙黄明亮、光圈稍粗稍亮	80~89
		尚橙黄尚明亮、光圈细尚亮	70~79
香气	30%	香浓、纯正	90~99
		香较浓、较纯正	80~89
		香淡、尚纯正	70~79
滋味	20%	醇厚、回味甘甜	90~99
		较醇厚、较甘甜	80~89
		尚醇、尚甘	70~79
叶底	10%	叶黄嫩、柔软、肥厚、开展	90~99
		较黄嫩、肥厚、开展	80~89
		尚黄嫩、不开展	70~79

DPPH自由基清除活性测定^[8]:0.1 mmol DPPH溶液与茶汤1:1混匀,暗反应0.5 h,517 nm处测定吸光度值。

还原力测定^[9]:0.5 mL茶汤加入1.25 mL $\text{Na}_2\text{PO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$ (0.2 mol·L⁻¹, pH 6.6) 以及1.25 mL

1%铁氰化钾溶液。50℃孵育20 min,加入1.25 mL 10% TCA溶液。离心取1.25 mL上清液,加入等体积蒸馏水稀释,再加入0.25 mL 0.1% FeCl_3 溶液,700 nm处测定吸光度值。

多糖含量测定参照苯酚-硫酸法^[10];粗蛋白含量测定参照GB5009.5-2016分光光度法;游离氨基酸总量测定参照GB/T8314-2013茚三酮法。

黄酮类化合物总量测定^[11]:茶液1 mL加入蒸馏水4 mL及5%亚硝酸钠溶液0.3 mL,混匀。5 min后加入10%硝酸铝溶液0.3 mL,混匀,静置6 min,再加入1 mol/L氢氧化钠溶液2 mL。用蒸馏水定容至10 mL,510 nm波长下测量吸光度值,以芦丁作标准曲线。

多酚含量测定:1 mL茶汤中加入10%福林酚试剂5 mL,摇匀反应3~8 min,加入7.5%碳酸钠溶液4 mL,蒸馏水定容至10 mL,摇匀后室温放置1 h,765 nm波长下测吸光度值,以没食子酸作标准曲线。

总类胡萝卜素测定^[12]:称取1.0 g GY、GC、GCF样品粉末,加入10 mL无水乙醇:石油醚=1:1的混合溶剂,充分振荡,于45℃水浴锅中萃取50 min,静置后过滤,取上清液定容至50 mL,450 nm处测吸光度值并计算含量。

茶色素含量测定^[13]:称取3.0 g茶叶,加入125 mL蒸馏水沸水浴提取10 min,提取物冷却至室温。将25 mL茶滤液与25 mL乙酸乙酯一起摇动5 min,平衡分层后,取4 mL乙酸乙酯层样品用95%乙醇稀释至25 mL获得溶液A;将15 mL乙酸乙酯层与15 mL NaHCO_3 溶液(2.5 g·100 mL⁻¹)一起摇动30 s,稀释处理同A液获得溶液C;取2 mL水层样品(下层)加6 mL蒸馏水和2 mL饱和草酸溶液以及15 mL 95%乙醇稀释至25 mL获得溶液D。将25 mL茶滤液与25 mL正丁醇一起摇动3 min,平衡后分层,处理同D溶液获得溶液B。于380 nm处测量溶液A、B、C和D的吸光度。

色差测定^[14]:称取3.0 g茶叶,加入150 mL热水冲泡5 min。将茶汤冷却至室温并评估和测量其颜色。茶汤色差指标L、a、b,分别代表茶汤的明暗色差、红绿色差和黄蓝色差。

1.2.4 数据分析 采用SPSS 27.0软件进行分析。数据以平均值±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间差异比较用单因素方差分析, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 菌株的形态鉴定

本实验从36批次伏砖茶中分离得到11株金花菌,预实验发现其中1株金花菌发酵枸杞叶红茶口感优于其他菌株,故选定其作为发酵枸杞叶红茶目标菌株。如图1所示,PDA培养基中,该菌株菌落呈较规则圆形,质地为羊毛状且紧密,边缘呈黄色至橘黄色,中央部分黑色,平板背面为黄色,中间部分颜色较深,呈深褐色。显微观察显示,菌体由球形黄色子囊壳和菌丝组成,成熟后释放子囊孢子,子囊孢子表面粗糙,有冠状突起,因此符合冠突曲霉菌的基本形态及生物学特征。

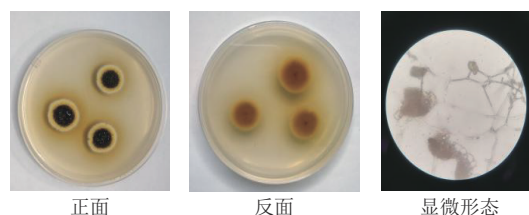
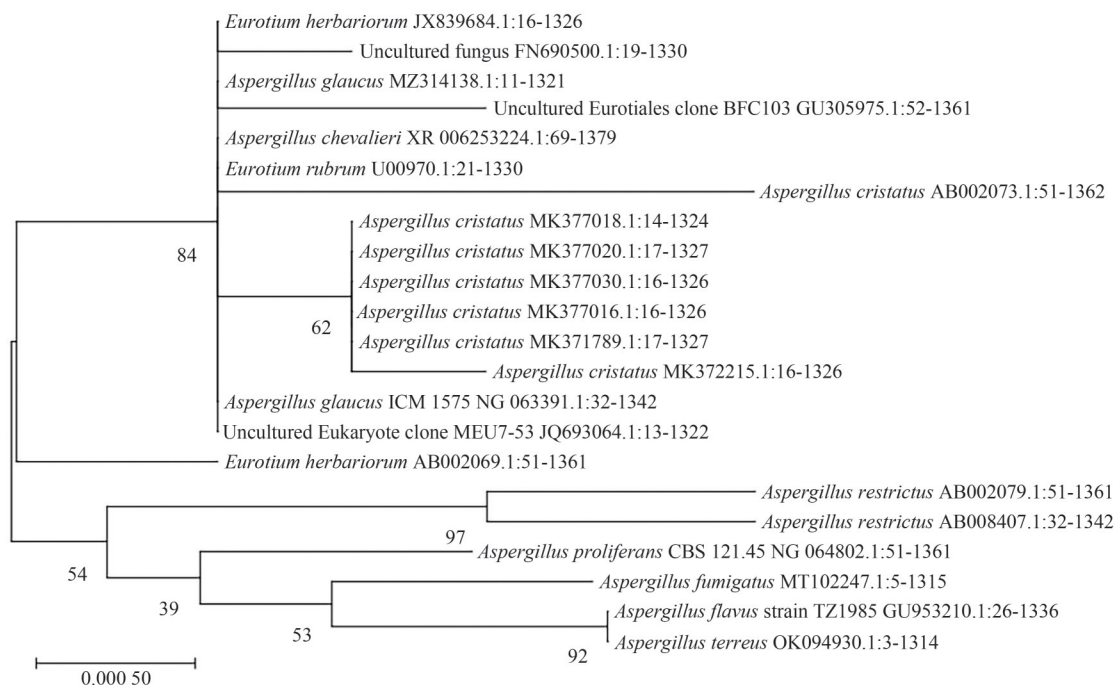


图1 菌株菌落形态

Fig. 1 The colony morphology of the strain

2.2 菌株的同源进化分析

序列在NCBI数据库中进行BLAST比对后,利用MEGA 11软件构建该菌株的系统进化树。结果表明(图2),该菌株与曲霉属(*Aspergillus*)菌株序列的相似性最高。结合菌落形态和显微特征,推测分离的菌株为冠突曲霉菌(*Aspergillus cristatus*)。



注: *Aspergillus glaucus*—灰绿曲霉; *Uncultured eurotiales clone*—不可培养散囊菌目克隆; *Aspergillus chevalieri*—谢氏曲霉; *Eurotium rubrum*—赤红散囊菌; *Aspergillus cristatus*—冠突曲霉; *Aspergillus restrictus*—局限曲霉; *Aspergillus proliferans*—增殖曲霉; *Aspergillus fumigatus*—烟曲霉; *Aspergillus terreus*—土曲霉; *Aspergillus flavus*—黄曲霉。

图2 基于ITS rDNA序列的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree based on ITS rDNA sequence

2.3 发酵枸杞叶红茶的感官评审

感官评价结果见表2, GCF组的综合得分最高,表明冠突曲霉菌发酵可以提高枸杞叶红茶的感官品质。GY茶汤淡黄色,香淡,有明显的青草气,味涩微苦;GC汤色呈橙黄色,香稍浓,味较醇回甘,相比GY,青草气消失,但仍有涩味;冠突曲霉菌发酵后, GCF较GY、GC汤色更深,为橙红色,

带有浓裂的茶香,味醇回甘,苦涩味消失。综上,冠突曲霉菌发酵可去除枸杞叶的青草气味及涩味,改善枸杞叶红茶的口感。

2.4 冠突曲霉菌发酵对枸杞叶红茶抗氧化活性的影响

由表3可看出,福建漳州(FZ)、广东清远(GQ)和江苏南通(JN)3个地方的GY、GC及GCF均具有

表2 GY、GC和GCF的感官评价结果
Table 2 Sensory evaluation results of GY, GC and GCF

类别\分组	GY	GC	GCF
外形	绿色尚紧结	黄色,绿色稍多,较紧结	黄色,绿色较少紧结
香气	香淡,青草气明显	香稍浓	香浓
汤色	欠黄明亮,光圈细尚亮	橙黄明亮,光圈稍粗较明亮	橙黄明亮,光圈明亮
滋味	尚醇,味苦涩	甘醇,味微涩	甘醇
叶底	绿色,部分黄色	黄色,部分绿色	黄色,部分绿色
得分	76.6	84.2	91.6

较高的DPPH自由基清除率及还原力,其中FZGY的DPPH自由基清除率最高,JNGC最低,分别为75.02%和60.61%。FZGY、GQGY、JNGY之间还原力无明显差异,分别为63.33%、63.53%、64.10%。与GY相比,这3个地方GC的DPPH自由基清除率显著降低($P<0.05$),而GCF的DPPH自由基清除率降低不显著;与GC相比,冠突曲霉菌发酵可以显著提高枸杞叶红茶的DPPH自由基清除率。与GY和GC相比,FZ和GQ的GCF还原力显著下降($P<0.05$);与GY相比,江苏南通GC和GCF的还原力显著下降。综上,冠突曲霉菌发酵处理能特异性增强枸杞叶红茶的自由基清除能力(如DPPH清除率),但可能通过代谢转化降低其整体还原力,反映出抗氧化机制的分化与发酵过程中生物活性成分的定向改变。

表3 GY、GC和GCF的DPPH自由基清除率及还原力
Table 3 DPPH radical scaveng activity, and reducing power of GY, GC and GCF ($\bar{x}\pm S$, $n=3$)

组别	DPPH自由基清除率/%	还原力/%
FZGY	75.02±6.11a	63.33±5.7a
FZGC	62.83±4.66d	59.23±5.55ab
FZGCF	70.01±0.63bc	43.87±3.69cd
GQGY	71.86±0.44abc	63.54±1.54a
GQGC	64.19±0.21d	59.48±1.49ab
GQGCF	68.97±0.59c	48.82±0.54c
JNGY	74.31±0.97ab	64.10±1.76a
JNGC	60.61±0.59d	57.53±0.99b
JNGCF	69.46±0.6bc	42.16±1.02d

注:FZGY表示福建漳州枸杞叶处理,下同。同列不同的小写字母表示在 $P<0.05$ 水平上具有统计学意义。

2.5 冠突曲霉菌发酵对枸杞叶红茶主要化学成分的影响

由表4可知,冠突曲霉菌发酵可使枸杞叶的

多酚、黄酮、氨基酸和类胡萝卜素等化学成分发生一定变化。冠突曲霉菌发酵可提高枸杞叶红茶蛋白质含量,与FZGY相比,FZGC和FZGCF中蛋白质含量显著提高,FZGCF提高最显著($P<0.05$);与GY、GC相比,GQGCF和JNGCF蛋白质含量显著提高,其中JNGCF提高最显著,分别比JNGY和JNGC提高了55.34%和52.58%。

冠突曲霉菌发酵可提高枸杞叶红茶总多糖含量,与GY相比,这3个地方GC的总多糖含量显著降低,GCF的总多糖含量显著升高,其中GQGCF升高最显著,分别比GQGY和GQGC提高了113.15%和134.82%。枸杞叶制成红茶或发酵后红茶能保持多酚成分,与GY相比,GC和GCF的总多酚含量升高不显著($P>0.05$)。与GY相比,GC和GCF总黄酮含量显著降低,其中JNGCF降低幅度最小,比JNGY降低43.44%,FZGC降低最显著,比FZGY降低了56.56%。总游离氨基酸含量显著升高,与FZGY相比,FZGC和FZGCF分别提高了185.84%和75.90%;与GQGY相比,GQGC和GQGCF分别提高了218.94%和82.38%;与JNGY相比,JNGC和JNGCF分别提高了188.77%和68.84%。与GY相比,FZ、GQ、JN 3个地方的GC总类胡萝卜素均显著降低,然而经冠突曲霉菌发酵后显著升高,含量接近GY。综上,冠突曲霉菌发酵可定向调控枸杞叶红茶产物的活性成分,显著提升多糖与类胡萝卜素(接近原料水平),优化氨基酸组成,但对多酚和黄酮的保留存在局限性。

2.6 发酵对枸杞叶红茶茶黄素、茶红素和茶褐素含量的影响

由表5可知,冠突曲霉菌发酵可提高枸杞叶茶汤中茶黄素、茶红素与茶褐素含量。与GY相比,FZ、GQ、JN 3地的GC茶汤中茶褐素均显著升高,

表4 GY、GC和GCF中主要的化学成分含量

Table 4 Main chemical components of GY、GC and GCF ($\bar{x}\pm S$, $n=3$)

组别	蛋白质/(g·100 g ⁻¹)	总多糖/(g·100 g ⁻¹)	总多酚%	总黄酮/(mg·g ⁻¹)	总游离氨基酸%	总类胡萝卜素/(mg·100 g ⁻¹)
FZGY	12.17±0.49d	7.48±0.11d	1.22±0.06b	30.78±1.25a	3.32±0.00g	178.76±3.54a
FZGC	13.34±0.74c	6.75±0.02f	1.28±0.11b	13.37±0.40e	9.49±0.05a	143.48±11.68cd
FZGCF	18.34±0.55a	14.88±0.01b	1.40±0.12bc	14.17±1.23e	5.84±0.04d	171.03±23.21ab
GQGY	11.78±0.11de	7.15±0.15e	1.28±0.16b	28.76±0.33b	2.27±0.14i	154.07±1.8c
GQGC	12.33±0.1d	6.49±0.13g	1.48±0.11a	14.16±0.16e	7.24±0.13c	129.44±2.35d
GQGCF	17.56±0.22b	15.24±0.1a	0.99±0.06c	15.39±0.1d	4.14±0.14f	150.77±1.43c
JNGY	11.04±0.15f	7.18±0.06e	1.03±0.05c	30.55±0.37a	2.76±0.09h	159.95±1.46bc
JNGC	11.24±0.12fe	6.13±0.08h	1.16±0.09bc	16.29±0.1cd	7.97±0.12b	132.86±1.24d
JNGCF	17.15±0.14b	14.39±0.05c	1.04±0.07c	17.28±0.06c	4.66±0.4e	154.19±1.25c

注:同列不同的小写字母表示在 $P<0.05$ 水平上具有统计学意义。

GCF茶汤中茶红素和茶褐素显著升高;与GY和GC相比,GCF可显著提高茶黄素和茶红素含量。以上提示冠突曲霉发酵是优化枸杞叶茶茶汤色素组成的有效方法,且其对茶黄素和茶红素的提升效果尤为突出。

表5 GY、GC和GCF中茶黄素、茶红素和茶褐素含量

Table 5 Theaflavin, thearubigin and theabrownin of GY, GC and GCF ($\bar{x}\pm S$, $n=3$)

组别	茶黄素%	茶红素%	茶褐素%
FZGY	0.727±0.089ab	0.632±0.287c	4.731±0.031d
FZGC	0.603±0.070ab	0.850±0.319a	5.22±0.018ab
FZGCF	0.806±0.010a	1.944±0.388c	5.22±0.055ab
GQGY	0.65±0.05ab	0.53±0.02c	4.25±0.16f
GQGC	0.46±0.76b	0.75±0.02c	4.99±0.01c
GQGCF	0.86±0.03a	1.62±0.02ab	5.12±0.09b
JNGY	0.56±0.03ab	0.52±0.02c	4.56±0.01e
JNGC	0.65±0.04ab	0.7±0.01c	5.17±0.03b
JNGCF	0.82±0.01a	1.51±0.01b	5.29±0.01a

注:同列不同的小写字母表示在 $P<0.05$ 水平上具有统计学意义。

2.7 发酵对枸杞叶茶汤颜色的影响

有研究表明,茶黄素、茶红素和茶褐素是汤色亮、红和暗的主要原因。 L 值降低,指示茶汤明度降低; a 值升高,指示红色变深; b 值降低,指示黄色变浅亮度降低。表6结果显示,3地的GC、GCF茶汤明亮度显著低于GY($P<0.05$);同时,GY、GC和GCF之间红、黄色发生显著变化,红色逐渐加深,与前文茶色素升高趋势保持一致。

表6 GY、GC和GCF茶汤的色差

Table 6 Color values of different tea infusions of GY, GC and GCF ($\bar{x}\pm S$, $n=3$)

组别	L	a	b
FZGY	11.35±1.09ab	4.27±0.52c	10.08±1.35a
FZGC	8.02±0.09d	5.24±0.14b	4.91±0.06b
FZGCF	7.09±0.44ef	6.15±0.08a	3.13±0.18c
GQGY	10.92±0.06b	4.31±0.05c	9.91±0.05a
GQGC	7.57±0.28de	5.24±0.14b	4.52±0.04b
GQGCF	6.23±0.05g	6.37±0.06a	3.04±0.02c
JNGY	11.93±0.04a	4.14±0.02c	10.55±0.04a
JNGC	8.74±0.05c	4.94±0.05b	5.19±0.03b
JNGCF	6.8±0.06fg	6.12±0.04a	3.43±0.05c

注:同列不同的小写字母表示在 $P<0.05$ 水平上具有统计学意义; L 正值代表茶汤明度,负值代表暗度; a 正值代表茶汤红色,负值代表绿色; b 正值代表茶汤黄色,负值代表蓝色。

3 讨论

已有研究证明,枸杞叶含有丰富的蛋白质、多糖、多酚、黄酮、类胡萝卜素和氨基酸等功能物质,具有抗氧化、降血脂、降血糖、抗癌、抗疲劳、抗衰老等多种生物活性^[15],具备开发保健功能产品、药品的潜力。然而,在南方除福建等少数地区将枸杞叶作为时令叶菜食用外,其他地区枸杞叶仍是废弃的,造成枸杞叶资源的浪费。红茶属于全发酵茶,是中国第二大茶类,因其独特的色泽、口感和保健功效而广受欢迎,桑叶、紫苏叶等药食两用的植物逐渐被用作中药代用红茶的原料^[16]。枸杞叶作为药食两用的植物之一,亦具有开发功能

性红茶的潜力,但自然发酵制作的枸杞叶味苦涩,口感欠佳。金花菌是茯砖茶中的有益菌,能分泌胞外酶来分解茶叶内的单宁物质,去除涩味,使茶汤滋味醇和^[17],因此将金花菌发酵枸杞叶红茶,有望改善其口感。

GY和GCF的DPPH自由基清除率没有显著差异,说明两者的抗氧化能力相当,与GY、GCF之间抗氧化活性物质类胡萝卜素及多酚的含量变化一致。DPPH自由基清除率是评价抗氧化活性的指标之一,类胡萝卜素和多酚是枸杞叶中具有抗氧化能力的成分,可见冠突曲霉菌发酵制成的枸杞叶红茶保持原叶较高的抗氧化活性。蛋白质、糖和氨基酸是枸杞叶中的主要营养物质。GCF的蛋白质和多糖含量显著高于GY和GC;与GY相比,GC和GCF的游离氨基酸总量显著升高。这些变化提示冠突曲霉菌发酵所制的红茶提高了枸杞叶的营养价值。

茶色素是评价红茶品质优劣的重要指标,其中TFs和TRs主要由儿茶素类物质氧化而来。TFs色泽澄黄或橙红,是形成红茶汤色明亮,滋味浓强鲜爽和红茶“金圈”的主要物质,具有抗氧化、抗菌等功效^[18]。TRs呈红色,是构成红茶茶汤浓度的主要成分,对红茶的特有颜色、口感和潜在的健康益处做出了很大贡献^[5]。经过发酵的GC和GCF的茶色素总量均高于GY,说明发酵有利于枸杞叶红茶茶色素的积累,冠突曲霉菌发酵的GCF茶色素总量高于GC,指示冠突曲霉菌有利于茶黄素和茶红素生成,这与刘玉倩等^[19]研究结果一致,可能是由于冠突曲霉菌可以分泌茶色素生成必须的PPO酶。然而,茶多酚氧化形成茶色素^[20]不是一步完成的,中间还经过了多酚向邻醌、邻醌向TFs、邻醌向TRs及TFs向TRs的转化,冠突曲霉菌如何具体影响茶多酚形成茶色素的转化,影响这中间的一步还是多步仍有待进一步探究。随着发酵时间的增加,TFs和TRs会逐渐转化为TBs,其含量过高会导致茶汤颜色变暗、汤色浑浊,因此控制发酵时间至关重要。前期实验发现冠突曲霉菌发酵2 d的枸杞叶红茶汤色鲜艳明亮,茶香浓郁。综上所述,枸杞叶开发成红茶是提升其资源利用的可行方法,枸杞叶制作的红茶既具有鲜艳红亮的汤色,醇厚回甘的口感,又保留了枸杞叶的营养和生物活性成分,因此可作为养生保健的中药代用茶选择之一。

参 考 文 献

- [1] 陈小红,王靖芳,郑欣萍,等.一株冠突散囊菌的分离鉴定、基因组成及其枇杷花发酵特性分析[J].微生物学通报,2023,50(12):5376-5391.
CHEN X H, WANG J F, ZHENG X P, *et al.*. Isolation, identification, gene composition, and fermentation characterization of a *Eurotium cristatum* strain[J]. Microbiol. China, 2023, 50(12): 5376-5391.
- [2] 祝元春,钱涛,周小波,等.叶用枸杞应用现状及产业发展策略[J].现代园艺,2022(24):37-38+42.
ZHU Y C, QIAN T, ZHOU X B, *et al.*. Application status and industrial development strategy of *Lycium barbarum* for leaf use[J]. Contemp. Hortic., 2022(24): 37-38+42.
- [3] 李克剑,李伊姣,王储,等.菜用枸杞叶的营养价值及营养等级评价[J].中国食物与营养,2016,22(4):69-73.
LI K J, LI Y J, WANG C, *et al.*. Nutrition value and nutritional rating of vegetable wolfberry leaves[J]. Food Nutr. China, 2016, 22(4): 69-73.
- [4] ZHANG S, OHLAND C, JOBIN C, *et al.*. Black tea theaflavin detoxifies metabolic toxins in the intestinal tract of mice[J/OL]. Mol. Nutr. Food Res., 2021, 65(4): e2000887[2025-04-22]. <https://doi.org/10.1002/mnfr.202000887>.
- [5] ZHU K, OUYANG J, HUANG J, *et al.*. Research progress of black tea thearubigins: a review[J]. Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 2021, 61(9): 1556-1566.
- [6] TONG T, LIU Y J, KANG J, *et al.*. Antioxidant activity and main chemical components of a novel fermented tea[J/OL]. Molecules, 2019, 24(16): 2917[2025-04-22]. <https://doi.org/10.3390/molecules24162917>.
- [7] CHEN Q, FU Y, HENG W, *et al.*. Rerolling treatment in the fermentation process improves the taste and liquor color qualities of black tea[J/OL]. Food Chem., 2024, 21: 101143[2025-04-22]. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.101143>.
- [8] TONG T, LI J, OKO D, *et al.*. *In vitro* antioxidant potential and inhibitory effect of seaweed on enzymes relevant for hyperglycemia[J]. Food Sci. Biotechnol., 2014, 23(6): 2037-2044.
- [9] YEN G C, CHEN H Y. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity[J]. J. Agric. Food Chem., 1995, 43(1): 27-32.
- [10] ALBALASMEH A A, BERHE A A, GHEZZEHEI T A. A new method for rapid determination of carbohydrate and total carbon concentrations using UV spectrophotometry[J]. Carbohydr. Polym., 2013, 97(2): 253-261.
- [11] SUN Y, RUKEYA J, TAO W, *et al.*. Bioactive compounds and antioxidant activity of wolfberry infusion[J/OL]. Sci. Rep., 2017, 7: 40605[2025-04-22]. <https://doi.org/10.1038/srep40605>.
- [12] 郑坚强,叶豪,司俊玲,等.响应面优化萃取宁夏枸杞类胡萝卜素工艺研究[J].江苏农业科学,2019,47(7):197-201.
ZHENG J Q, YE H, SI J L, *et al.*. Optimization of extraction process of carotenoids from wolfberry in Ningxia area by response

- surface methodology[J]. Jiangsu Agric. Sci., 2019, 47(7): 197-201.
- [13] WANG Q, PENG C, GONG J. Effects of enzymatic action on the formation of theabrownin during solid state fermentation of Pu-erh tea[J]. J. Sci. Food Agric., 2011, 91(13): 2412-2418.
- [14] BELLARY A N, INDIRAMMA A R, PRAKASH M, *et al.*. Anthocyanin infused watermelon rind and its stability during storage[J]. Innov. Food Sci. Emerg. Technol., 2016, 33: 554-562.
- [15] 马麦迈. 枸杞叶活性物质的综合提取及生物活性体外筛选[D]. 银川:宁夏大学,2023.
- [16] 倪帆呈, 张鼎丁, 李金贵, 等. 代用红茶加工工艺研究进展[J]. 现代食品, 2022, 28(18): 39-44.
- NI F C, ZHANG D D, LI J G, *et al.*. Research progress on processing technology of substitute black tea[J]. Mod. Food, 2022, 28(18): 39-44.
- [17] XIAO Y, LI M, LIU Y, *et al.*. The effect of *Eurotium cristatum* (MF800948) fermentation on the quality of autumn green tea[J/OL]. Food Chem., 2021, 358: 129848[2025-04-22]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129848>.
- [18] 彭云, 李果, 刘学艳, 等. 红茶中茶黄素的保健功效及机理研究进展[J]. 茶叶通讯, 2020, 47(2): 198-203.
- PENG Y, LI G, LIU X Y, *et al.*. Research progress on health benefits and mechanism of theaflavins in black tea[J]. J. Tea Commun., 2020, 47(2): 198-203.
- [19] 刘玉倩, 杨家干. 茯砖茶发花过程菌落及主要内含物质变化[J]. 蚕桑茶叶通讯, 2017(5): 30-33.
- LIU Y Q, YANG J G. Changes of colonies and main contents in Fuzhuan tea during flowering[J]. Newsl. Seric. Tea, 2017(5): 30-33.
- [20] 陶琳琳, 张娅楠, 闫振, 等. 红茶加工过程中发酵技术研究进展[J]. 广东茶业, 2020(1): 2-6.
- TAO L L, ZHANG Y N, YAN Z, *et al.*. Research progress of fermentation technology in black tea processing[J]. Guangdong Tea Ind., 2020(1): 2-6.