

# 泾阳茯茶中冠突散囊菌的鉴定及降脂作用研究

刘 韦<sup>1</sup>, 张格超<sup>2</sup>, 李 倩<sup>1</sup>, 田 余<sup>2</sup>, 孟 杰<sup>2</sup>, 种媛婷<sup>2</sup>, 张 磊<sup>2\*</sup>

(1. 陕西中医药大学实验中心, 咸阳 712046; 2. 西咸新区金叶茯茶有限公司, 咸阳 713700)

**摘要:** **目的** 探究陕西泾阳茯砖茶中冠突散囊菌的鉴定标志, 鉴定泾阳茯茶中的冠突散囊菌, 并研究其降脂作用。**方法** 从泾阳茯茶中分离筛选真菌, 观察其在3种不同培养基的生长特征, 结合形态学观察和真菌内源转录间隔区(internally transcribed spacer, ITS)基因序列同源性比对; 人工接种菌种至不同产区茶类中, 对接种至茶叶中菌种的形态学、扫描电镜(scan electron microscope, SEM)鉴定和接种后茶叶进行感官审评; 最后建立小鼠肥胖模型, 探讨回接冠突散囊菌后黑茶水浸提物对肥胖模型鼠的作用。**结果** 筛选分离得到的菌株(JY1)为冠突散囊菌(*Eurotium cristatum*, E.C.); 该菌在几种试验茶类均可以良好“发花”; 除红茶外, 其余茶样闭囊壳较饱满且子囊孢子的“赤道”周围存在较多小孔, 而红茶表现出以分生孢子为主; 接种后的散茶, 在香气、汤色和滋味上均有不同程度变化; 与肥胖模型组相比较, 发花茶能显著抑制鼠体质量增长和 Lee's 指数, 使血清总胆固醇(total cholesterol, TC)下降, 皮下脂肪细胞直径明显变小。**结论** 陕西泾阳茯茶中冠突散囊菌“赤道”周围存在较多小孔的电镜结果有可能作为陕西茯茶的特异性鉴定标志, 该菌可在黑茶, 红茶, 白茶, 绿茶上优势生长, 不同程度改变接种后的茶叶香气、汤色、滋味。回接冠突散囊菌后黑茶可降低血清总胆固醇水平, 同时有抑制脂肪细胞体积增大的作用, 且作用有一定时效性。

**关键词:** 泾阳; 冠突散囊菌; 鉴定; 肥胖模型; 发花

## Study on identification and lipid-lowering effect of *Eurotium cristatum* in Fu tea from Jingyang county

LIU Wei<sup>1</sup>, ZHANG Ge-Chao<sup>2</sup>, LI Qian<sup>1</sup>, TIAN Yu<sup>2</sup>, MENG Jie<sup>2</sup>,  
ZHONG Yuan-Ting<sup>2</sup>, ZHANG Lei<sup>2\*</sup>

(1. Medical Experiment Center, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China; 2. Xixianxinqu Jinye Fu Cha Llc., Xixian New Area, Xianyang 713700, China)

**ABSTRACT: Objective** To explore the identification markers of *Sclerotinia sclerotiorum* in the brick tea of Fuyang, Shaanxi Province, to identify the *Eurotium cristatum* in Fuyang tea, and to study its lipid-lowering effect. **Methods** The fungi were isolated and screened from *Eurotium cristatum*, and their growth characteristics in 3 different media were observed. The morphological observation and the homologous alignment of the fungal endogenous transcribed spacer (ITS) gene sequence were performed. The strain was inoculated into teas from different producing areas. The morphology of the strains inoculated into tea leaves was identified by scanning electron microscope (SEM). Sensory evaluation of inoculated tea leaves was conducted. Finally, a mouse obesity

基金项目: 陕西省重点研发计划项目(2018ZDXM-NY-076)、陕西省教育厅专项科研计划项目(17JK0203)

Fund: Supported by the Shaanxi Provincial Key Research and Development Plan (2018ZDXM-NY-076) and Shaanxi Provincial Department of Education Special Scientific Research Plan (17JK0203)

\*通讯作者: 张磊, 讲师, 主要研究方向为茯砖茶的加工生产. E-mail: 502266827@qq.com

\*Corresponding author: ZHANG Lei, Lecturer, Xixianxinqu Jinye Fu Cha Llc., Xixian New Area, Xianyang 713700, China. E-mail: 502266827@qq.com

model was established to investigate the effect of black tea extract on the obese model mice after the return of Coronaria. **Results** Screening and isolated strain (JY1) was *Eurotium cristatum* (E.C.). The strain could be “flowered” in several test teas. Except for black tea, the rest of the tea-like closed capsules were fuller and there are many small holes around the “equator” of ascospores, while black tea was dominated by conidia. After inoculation, the loose tea had different degrees of change in aroma, soup color and taste. Compared with the obese model group, scented tea could significantly inhibit the growth of the body and the Lee’s index, which reduced the total cholesterol (TC) and the diameter of the subcutaneous fat cells. **Conclusion** The results of electron microscopy with more small pores around the “Equatorial” of *Eurotium cristatum* in Fuyang tea from Jingyang county may be used as a specific identification marker for Shaanxi Fu tea. The bacteria can grow on dark tea, black tea, white tea and green tea, which can change the aroma, soup color and taste of the tea after inoculation. Inoculated tea can reduce serum total cholesterol levels, inhibit the role of fat cell volume increase, and the effect has a time effect.

**KEY WORDS:** Jingyang county; *Eurotium cristatum*; identification; obesity model; fungus growing

## 1 引言

寇突散囊菌 *Eurotium cristatum* (E.C.) 属于子囊菌亚门、子囊菌纲、曲霉目、曲霉科、散囊菌属的真菌。茯砖茶、黑茶、花卷、六堡茶等紧压茶中,常可以看到茶内金黄色、集落样生长的 E.C.,其中以茯砖茶中生长最为繁盛,俗称“发花”。E.C.与茶叶的相互作用,即使使发花后的茶砖形成滋味浓厚而有菌花香的品质特征,又赋予了茯茶多种生物学活性<sup>[1,2]</sup>。

研究表明,当 E.C.进行液体发酵时,发酵液中含有降脂类物质-酸式洛伐他汀和酯式洛伐他汀,用甜菜粉为原料时,洛伐他汀产量达到 95 mg/kg<sup>[3,4]</sup>。茯茶水浸出物对 3T3-L1 小鼠前脂肪细胞的分化有显著抑制作用,且对成脂分化的抑制不会影响细胞增殖;对野生型秀丽隐杆线虫体内脂肪沉积也均具有显著抑制;对高脂饮食诱导大鼠模型的体重、血清甘油三酯、食物摄入量和能量摄入量均有显著抑制<sup>[5-7]</sup>。目前有关于 E.C.的分离、鉴定、生物学特征、功能以及与茯砖茶品质形成的关系的研究多以湖南、四川、贵州等地为主<sup>[8-10]</sup>,而关于茯茶发源地-泾阳茯茶中 E.C.的生长特征、显微形态和生物学功能却少有报道。

本研究采用有限稀释法分离来自陕西省泾阳县生产的茯砖茶中的 E.C.,进行形态学、内源转录间隔区(internally transcribed spacer, ITS)基因序列鉴定,观察不同产区茶叶回接 E.C.的特征,并进一步使用小鼠肥胖模型对回接黑毛茶的浸提物进行消脂作用研究,以期寻找陕西茯茶鉴定标志和功能开发提供理论支持。

## 2 材料与方法

### 2.1 实验动物与饲料

昆明鼠,清洁级,雄性,体质量(31.50±1.23) g(第四军

医大学实验动物中心)。

动物基础饲料由第四军医大学实验动物中心提供。高脂饲料配比:80%基础饲料、10%蛋黄粉、9%猪油和 1%胆固醇。

### 2.2 主要仪器试剂

Leica RM2235 石蜡切片机、Leica DM2000 显微镜、Leica DFC420C 病理成像系统、Leica M205 体视显微镜(德国 Leica 公司);梅特勒 PL602E 电子天平(瑞士梅特勒公司);湘仪 H1750R 离心机(湖南湘仪集团)。

马铃薯-葡萄糖琼脂培养基(potato-glucose agar medium, PDA)、察氏琼脂培养基(chamella agar medium, CZ)、孟加拉红培养基(虎红培养基)(青岛海博生物技术有限公司);DNA 提取试剂盒、DNA 聚合酶、限制性内切酶、T4 DNA 连接酶、DNA 快速纯化/回收试剂盒、质粒提取试剂盒、T 载体均(日本 TaKaRa 公司);血清总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)测定试剂盒(北京索莱宝科技有限公司)。

### 2.3 供试材料

茯砖茶(国之茯礼茯砖茶,陕西省西咸新区金叶茯茶有限公司提供,生产批号 20180117);绿茶(陕西省平利县女娲茶业有限公司);特级黑毛茶(湖南省沅陵县岩吾溪茶业有限公司);月光白茶和滇红茶(云南省普洱市珍妙茗茶有限公司)。

### 2.4 实验方法

#### 2.4.1 E.C.分离与纯化

E.C.的培养参照国家标准 GB 4789.15-2016《霉菌和酵母计数》<sup>[11]</sup>进行,称取 25 g 茯砖茶,加入含有玻璃珠的无菌水,振摇 30 min,取振摇液 1 mL,梯度稀释为  $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ ,吸取各稀释度 1 mL,使用混浊法,放入培养箱中培养 5 d,挑取单个菌落进行纯化,多次划线分离镜检,无杂菌后,将纯化菌接种斜面保存,编号。

#### 2.4.2 *E.C.*形态学鉴定

将上述纯化的 *E.C.* 菌株接种到 PDA、孟加拉红培养基、CZ 琼脂培养基上, 30 °C 培养 5~8 d 左右, 观察菌落的形态特征并测量直径。

接种 *E.C.* 菌株后的毛茶, 4 °C 预冷的 3% 戊二醛固定过夜。吸弃固定液, PBS 轻洗 2~3 次, 加入 4 °C 预冷的 1% 饿酸, 置于 4 °C 固定 1 h; PBS 轻洗 2~3 次, 梯度酒精脱水, 每次 30 min; 梯度乙腈置换酒精溶液, 每次 30 min, 样品干燥后, 蒸镀金属膜; 扫描电镜观察。使用《中国真菌志》第五卷曲霉属及其相关有性型进行形态学鉴定。

#### 2.4.3 *E.C.*分子生物学鉴定

将上述纯化的 *E.C.* 接种到马铃薯液体培养基中, 30 °C 条件下在摇床中培养 5~7 d, 离心收集菌体, 使用 DNA 提取试剂盒提取基因组。PCR 扩增真菌 ITS 序列 (GenBank 查找, Primer5.0 设计), 引物序列 JY1(5' TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3') 和 JY2(5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3')。纯化目的片段后, 连接 T 载体, 测序由上海生工生物工程有限公司完成。测序结果在 NCBI 数据库中, 使用 Blast 工具进行比对。

#### 2.4.4 *E.C.*回接毛茶

称取 300 g 2.3 中供试材料, 使用高压锅 120 °C 灭菌 20 min 后, 接种菌液 5 mL, 放置于烘房中(28 °C, 55%~65%相对湿度)发花 7 d, 55 °C 过夜干燥。

#### 2.4.5 感官审评

参照 GB/T 23776-2009《茶叶感官审评方法》<sup>[12]</sup> 中的审评方法, 共三名评茶员(2 名高级, 一名中级)参与审评, 采用双盲法对茶样进行 3~5 次审评, 选取审评意见一致的结果。

#### 2.4.6 茶叶的减肥作用

共 65 只昆明鼠, 饲养条件为温度 20~25 °C, 相对湿度 45%~65% 条件下, 将鼠适用性喂养一周后, 随机分为 3 组, 空白对照组(给予基础饲料+纯净水, 20 只), 模型组(给予高脂饲料+纯净水, 20 只), 回接发花黑茶组(给予高脂饲料+浸提液灌胃, 25 只)。

实验周期 10 周, 每日记录其饮水、毛发、活动等情 况, 间隔 7 d 称体质量, 测体长 1 次, 造模 6 周后, 腹腔静脉取血, 血浆 3000 r/min, 4 °C 离心 10 min, 分离血清待测, 间隔两周取样, 每组取 3 只样本。取 10 周后各组小鼠体脂(皮下脂肪垫), 制作脂肪组织切片。

回接发花黑茶组给予剂量:

茶叶按照人体推荐剂量为: 成人(70 kg)9.0 g/d, 换算小鼠(30 g)为 0.1 g/d。每只实验鼠称取 1.17 g 茯茶粉碎后, 按照 1:10 (*m:l*) 茶水比沸水中浸提 30 min, 过滤后, 将提取液冷冻干燥, 得浸提物 0.1 g, 按每只小鼠的灌胃体积为 0.4 mL/d 重新溶解。提取液放置 4 °C 冰箱保存, 灌胃前 28 °C 水浴预热。

指标测定及计算方法

Lee's 指数 = (体质量(g))<sup>1/3</sup> × 1000 / 体长(cm)

血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)按照试剂盒要求进

行测定。

脂肪组织观察: 取皮下脂肪, 于 4% 多聚甲醛中固定过夜。常规脱水, 透明石蜡包埋。连续切片, HE 染色, 光学显微镜下观察组织形态, image pro plus 6.0 测量脂肪细胞直径( $n=40\sim60$ )。

## 2.5 数据处理

相关实验数据使用 SPSS18.0 统计软件分析, 以均值 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示。组间的多重比较使用, 最小显著性差异法 (least significant difference, LSD)。

## 3 结果与分析

### 3.1 *E.C.*的分离及鉴定结果

#### 3.1.1 *E.C.*的分离和形态学特征

经混浇法培养, 从含有 *E.C.* 的茯砖茶中, 获得了鲜 明、金黄色的菌体。由图 1 可知, PDA 和孟加拉红培养基 上, 菌体生长 3 d, 可见白色丝状体, 逐渐呈淡黄色, 鲜黄 色, 中间部分近于橄榄色, 菌落与菌落边缘有较明显沟槽, 其中孟加拉红培养基上, 菌落形状较规则的呈圆形, 单个 菌落有环形沟槽存在。CZ 培养基上, 菌体生长 5~6 d, 可 见白色丝状体, 逐渐呈鲜黄色, 菌落间有较明显的沟槽, 菌落形状不规则, 较稀疏, 菌丝形态明显。

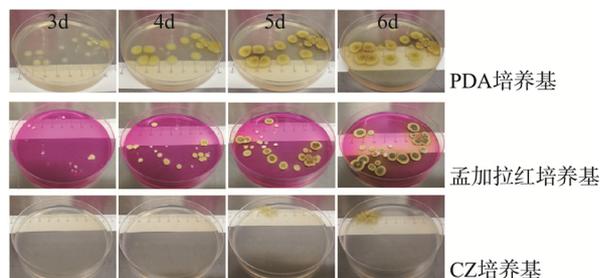


图 1 菌种接种在 PDA 培养基, 孟加拉红培养基, CZ 培养基上的菌落特征

Fig.1 Colony characteristics of fungus inoculated on PDA, Bengal red and CZ medium

菌体接种在 PDA 培养基上, 菌落生长明显快于孟加拉红和 CZ 培养基, 该菌体在 PDA 培养基上培养 6 d, 菌落直径为(1.37±0.12) cm, 在孟加拉红培养基上, 菌落直径为(0.97±0.12) cm, 在 CZ 培养基上, 菌落直径为(0.53±0.08) cm (图 2)。

#### 3.1.2 *E.C.*的分子生物学鉴定

1% 琼脂糖凝胶电泳可见明显 DNA 条带, 总量为 1.27 μg/μL。以提取的基因组为模板, PCR 克隆 *EC* 保守序列, 产物经琼脂糖凝胶电泳检测可在 600 bp 左右见到扩增条带, 与预测片段大小相同, 初步鉴定为所需目的基因。

将上述连接有目的基因的载体送至上海生工测序, 测序结果在 NCBI 数据库中进行 blast 比对, 比对结果表明

该序列与 *Eurotium cristatum* (Sequence ID: KM388844) 相似度 100%。综合形态学实验结果和分子生物学鉴定结果, 将其鉴定为冠突散囊菌, 并命名为 JY1(图 3)。

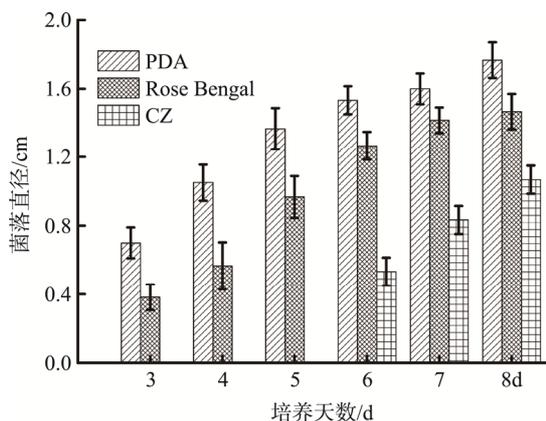


图2 *E.C.*在 PDA 培养基, 孟加拉红培养基, CZ 培养基上菌落的生长直径( $n=6$ )

Fig.2 Colonies diameter of *Eurotium cristatum* on PDA, Bengal red and CZ medium ( $n=6$ )

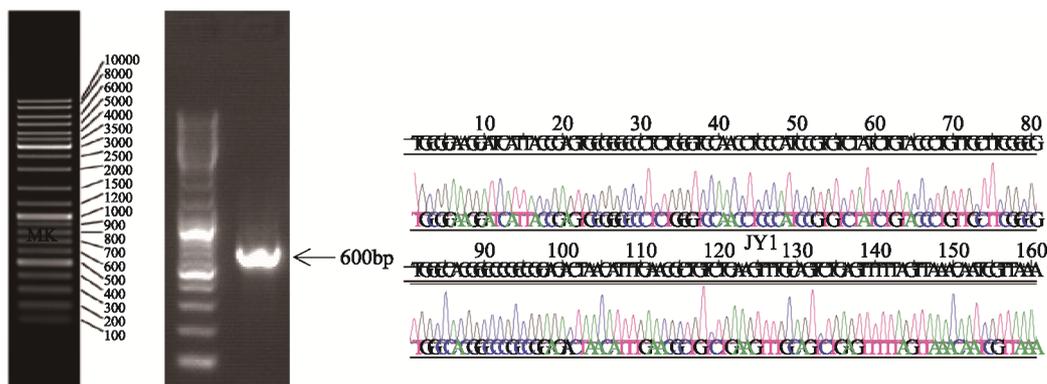


图3 PCR 扩增产物的琼脂糖凝胶电泳图谱

Fig.3 Agarose gel electrophoresis map of PCR amplification products

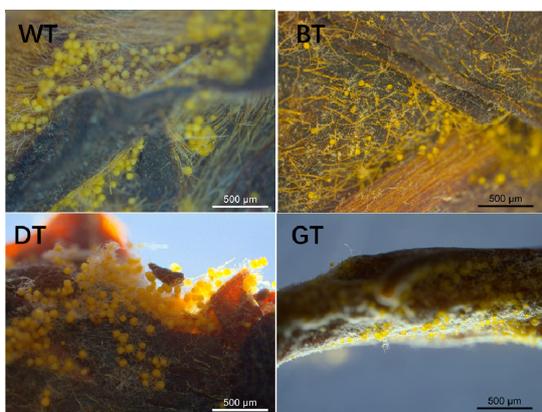


图4 人工接种 JY1 后, 白茶(WT)、黑毛茶(BT)、红茶(DT)和绿茶(GT)的形态特征

Fig.4 Morphological characteristics of white tea (WT), dark tea (DT), black tea (BT) and green tea (GT) after artificial inoculation JY1

### 3.2 *E.C.*回接毛茶后形态学鉴定和感官评判

将 JY1 接入绿茶(green tea, GT)、黑毛茶(dark tea, DT)、白茶(white tea, WT)和红茶(black tea, BT)四种茶样中。3 d 后, 茶叶表面长出白色菌丝, 持续发花 5~7 d 后, 茶叶表面出现大量金黄色的颗粒状物质, 其形态、颜色与上述实验中所鉴定的 *EC* 基本一致(图 4)。

扫描电镜的结果显示, 除 BT 外, 其余发花茶样在电镜下均有大量的闭囊壳, 分布在网状菌丝中, 多数闭囊壳为饱满球形, 集落样生长在茶叶表面, 闭囊壳直径分别为 WT( $147.76 \pm 9.95$   $\mu\text{m}$ ), GT( $139.26 \pm 4.97$   $\mu\text{m}$ )和 DT( $142.78 \pm 6.96$   $\mu\text{m}$ ), 随子囊孢子的发育成熟, 闭囊壳的薄壁组织逐渐溶解露出子囊孢子围成的球状体, 子囊孢子直径分别为 WT( $5.61 \pm 0.22$   $\mu\text{m}$ ), GT( $5.69 \pm 0.22$   $\mu\text{m}$ )和 DT( $5.37 \pm 0.18$   $\mu\text{m}$ ); 为双凸透镜形, “赤道”部分具 2 条明显凹陷的脊, 附近均有较多小孔, 分生孢子少见。而在 BT 上, 可见大量的菌丝和分生孢子, 呈球形或双面或单面微凹状结构, 壁粗糙, 具小刺; 有少量的闭囊壳, 不饱满, 直径( $77.11 \pm 10.94$   $\mu\text{m}$ ), 闭囊壳的薄壁组织少有破裂(图 5)。

发花后的茶叶有较明显的菌花香, 叶色基本不变。审评结果见表 1。

### 3.3 受试茶样对肥胖模型鼠体质量、Lee's 指数、血脂和脂肪细胞的影响

#### 3.3.1 受试茶样对肥胖模型鼠体质量和 Lee's 指数的影响

实验鼠经方法 2.4.6 喂养 10 周后, 模型组(obesity group)体质量明显高于正常对照组(Ctr.)、回接 *E.C.*组(*E.C.* group), Lee's 指数也均高于以上 2 组, 且随造模周期延长, 各肥胖指标均持续升高, 如图 6、图 7 所示。和模型组相比较, 回接 *E.C.*组在第 2 周开始出现体质量的抑制( $P=0.0003$ ), 直至喂养 9 周结束( $P=0.028$ ), 第 10 周差异不显著( $P=0.091$ )。Lee's 指数与体质量结果相似, 分别在第 2 周( $P=0.0014$ )、5 周( $P=0.034$ )、6 周( $P=0.019$ )、7 周( $P=0.024$ )差异有显著性, 说明实验中所使用的浸提物可以有效抑制高脂饲料饮食小鼠体质量的生长效果, 并有一定的时效性。

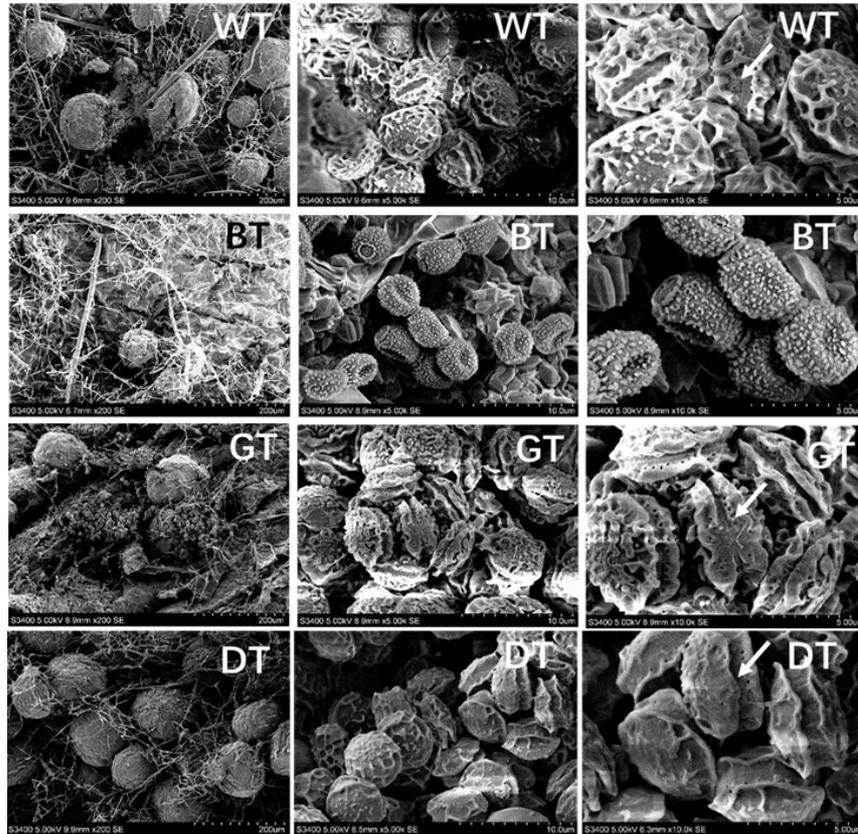


图 5 JY1 的形态扫描电子显微图

Fig.5 Morphological scanning electron micrograph of *Eurotium cristatum* JY1.

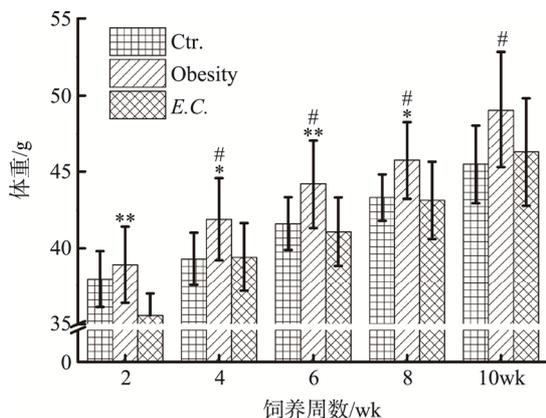
表 1 毛茶发花前后感官审评结果

Table 1 Sensory evaluation before and after the fermentation

样品	外形	香气	滋味	汤色	叶底
GT 发花前	绿润起霜、条索紧结	香高持久、栗香明显	鲜浓	黄绿明亮	黄绿明亮
GT 发花后	青褐色、条索紧结欠匀整、金花明显	香高纯正, 微有栗香	较浓尚鲜	金黄明亮	黄绿尚明亮
DT 发花前	乌褐色, 条索尚匀整、尚紧略有梗	尚纯	平和微涩	浅橙黄	褐绿明亮, 略硬
DT 发花后	乌褐色, 条索欠匀整、尚紧、略有梗表面可见明显金花	纯正	平和	橙黄明亮	褐绿明亮、略硬
WT 发花前	条状, 芽叶肥壮, 白毫显露间有红褐叶片	鲜甜	鲜醇、微甜	浅黄明亮	绿黄明亮, 稍硬
WT 发花后	条状, 芽叶肥壮, 灰白毫显露间有红褐叶片, 表面有金花	鲜甜	醇和微甜	杏黄明亮	黄绿明亮、稍硬
BT 发花前	条索状, 尚匀整尚紧结, 色泽乌润显金毫	高火香明显、有甜香	浓强, 回味较甜	深红明亮	红明亮、较硬
BT 发花	条索状, 尚紧结, 色泽乌润显金毫、表面可见明显金花	甜香纯正	微甜、顺滑、收敛性明显	棕红明亮	红褐明亮、较硬

### 3.3.2 受试茶样对肥胖模型鼠 TC、TG 的影响

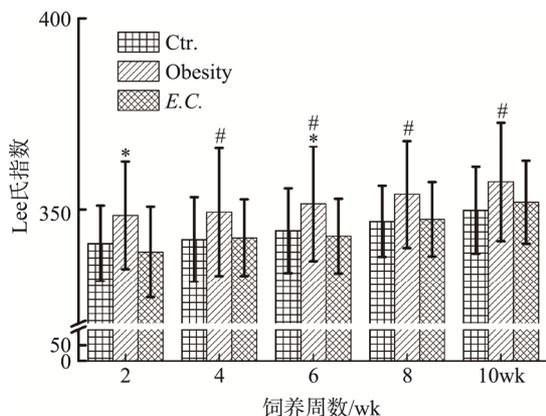
血清中 TC 与 TG 的含量与肥胖显著相关, 实验鼠经方法 2.4.6 喂养后, 血清 TC 明显增加, 但 TG 变化不明显。回接 E.C. 组血清 TC 和模型组相比较, 有降低的趋势, 分别第 8 周 ( $P=0.026$ )、10 周 ( $P=0.002$ ) 差异有显著性, 说明实验中所使用茶水浸提物可以有效抑制高胆固醇血症的代谢紊乱, 且随灌胃时间延长, TC 水平与模型组差异性增加, 结果见表 2。



注: \*表示回接 E.C. 组与模型组比较在  $P < 0.05$  水平差异显著, \*\*表示在  $P < 0.01$  水平差异显著; #表示对照组与模型组比较在  $P < 0.05$  水平差异显著。

图 6 受试茶样对肥胖模型鼠体质量的影响 ( $n=6$ )

Fig.6 Effect of the extracts on the body weight of obesity model mice ( $n=6$ )



注: \*表示回接 E.C. 组与模型组比较在  $P < 0.05$  水平差异显著, \*\*表示在  $P < 0.01$  水平差异显著; #表示对照组与模型组比较在  $P < 0.05$  水平差异显著。

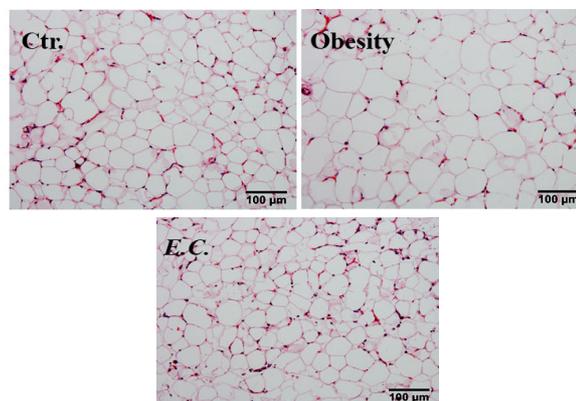
图 7 受试茶样对肥胖模型鼠 Lee's 指数的影响 ( $n=6$ )

Fig.7 Effect of the extracts on the Lee's index of obesity model mice ( $n=6$ )

### 3.3.3 受试茶样对肥胖模型鼠脂肪细胞的影响

取各组腹部皮下脂肪。常规切片, HE 染色, 镜下观察。结果表明, 模型组 ( $73.99 \pm 10.63 \mu\text{m}$ ) 脂肪细胞直径增加, 单一视野内脂肪细胞数量减少。同一视野下, 回接毛

茶组 ( $53.6 \pm 9.68 \mu\text{m}$ )、脂肪细胞数量多, 直径减少, 对照组为 ( $52.18 \pm 11.54 \mu\text{m}$ ), 如图 8 所示。



注: Ctr. 为正常对照组; Obesity 为模型组; E.C. 为回接茶水组。

图 8 造模结束第 10 周各组腹部皮下脂肪切片 H&E 染色

Fig.8 At the end of the modeling period, the subcutaneous fat sections of each group were stained by H&E

## 4 结论与讨论

使用逐步分离、纯化的微生物培养方法, 从传统茯砖茶中分离出 JY1。通过形态学、显微观察和分子生物学对所得到的 JY1 进行鉴定, 最终将其鉴定为冠突散囊菌。JY1 生长、菌落特征均与之前报道的相一致<sup>[13]</sup>; 子囊孢子比之前测定稍小, 其显微特征: 子囊释放孢子数量, 双凸镜形, 具有明显的纵向脊, 表面粗糙有凸起, 均符合 E.C. 的多数鉴定结果<sup>[10,14]</sup>, 但子囊孢子“赤道”周围出现少量“小孔”, 以往 E.C. 的描述中只有陕西咸阳地区茯茶出现过, 这种形态上的差异是由于基因表观修饰所致<sup>[15]</sup>, 也有报道指出发花过程中 E.C. 的类型存在地域性和季节性的差异<sup>[16]</sup>, 本研究中的电镜结果是否可作为陕西茯茶的特异性鉴定标志, 还有待进一步分析。同时, 发花的滇红茶上, 有大量的分生孢子, 呈球形或双面或单面微凹状结构, 仅少量闭囊壳, 且不饱满, 少有破裂, 这在以往 E.C. 发花的形态学描述中均未出现, 是否由于红茶加工过程中营养成分变化导致, 或由单一化学成分促使 E.C. 产孢条件发生变化, 有待进一步研究。

刘菲等<sup>[17]</sup>人工接种冠突散囊菌至白茶, 发现“发花”处理减少了白茶饼苦涩味, 为白茶带来了新的风味。本研究中, 接种后的散茶, 在香气, 汤色, 滋味上均有不同程度变化, 香气纯正有菌花香, 滋味醇厚, 汤色由橙黄明亮转为橙红明亮, 可以明显缓解黑毛茶, 绿茶等茶类的苦涩度。同时, JY1 在黑茶, 红茶, 白茶, 绿茶上均可形成优势生长, 这对开发多种功能复合、保健茶, 提高中低档茶原料品质, 各类陈茶、粗老原料的转化利用率具有积极的意义。

表 2 血清总胆固醇和血清甘油三酯变化( $n=6$ )  
Table 2 Effect of the extracts on Serum total cholesterol and serum triglycerides index ( $n=6$ )

组别	N	血清总胆固醇 TC/(mmol/L)			血清甘油三酯 TG/(mmol/L)		
		6 周	8 周	10 周	6 周	8 周	10 周
对照组 Ctr.	3	2.61±0.14	2.48±0.16	2.63±0.17	0.64±0.15	0.51±0.21	0.65±0.13
模型组 Obesity	3	3.29±0.11	3.67±0.27 <sup>*,#</sup>	4.32±0.23 <sup>*,#</sup>	0.80±0.26	0.46±0.25	0.78±0.17
回接组 E.C.	3	2.67±0.30	2.97±0.22	3.47±0.32	0.74±0.31	0.57±0.29	0.63±0.26

注: \*表示回接 E.C.组与模型组比较在  $P < 0.05$  水平差异显著, #表示对照组与模型组比较在  $P < 0.05$  水平差异显著。

多篇文献报道茯砖茶有解油腻、降血脂的作用, 以及减轻由高脂引起的相关病症<sup>[18-21]</sup>, 这可能与陕西茯砖茶中金花菌含有降脂功能的洛伐他汀有关<sup>[22]</sup>。本研究中 E.C. 在泾阳发花其赤道面出现了孔状结构, 本研究采用区别于传统的茯砖茶加工工艺, 回接冠突散囊菌的方法, 参考人每日推荐饮茶水量, 验证了该茶水浸出物也具有降脂作用, 和模型组相比较, 回接毛茶组有降低实验鼠体质量, 降低血清总胆固醇水平, 同时抑制了脂肪细胞体积增大的作用, 且提取物的作用有一定时效性。

综上, 在陕西省泾阳县生产的茯砖茶中分离出的菌株, 从形态学, 超微结构形态、分子生物学水平和生物学功能 4 个方面鉴定为冠突散囊菌, 可在不同种类茶上优势生长, 其中在黑茶上回接发花有降低 TC 水平, 抑制小鼠体重增长的作用。

## 参考文献

- 吴凯为, 杨立娜, 朱力杰, 等. 冠突散囊菌在发酵茶中应用的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(1): 189-193.  
Wu KW, Yang LN, Zhu LJ, et al. Advances on the application of eurotium cristatum in fermented tea [J]. Food Res Dev, 2018, 39(1): 189-193.
- 王亚丽, 秦俊哲, 黄亚亚, 等. 冠突散囊菌对茯砖茶品质形成的影响[J]. 食品与发酵工业, 2018, 44(4): 194-197.  
Wang YL, Qin JZ, Huang YY, et al. Effect of the quality of Fuzhuan brick tea fermented in Eurotium cristatum [J]. Food Ferment Ind, 2018, 44(4): 194-197.
- 吕嘉彬, 郑欣欣, 马亚宁. 冠突散囊菌液体发酵产降脂类物质的初步研究[J]. 陕西科技大学学报, 2014, (6): 115-118.  
Lv JL, Zheng XX, Ma YN. Study on lipid-lowering substances from Eurotium cristatum by liquid fermentation [J]. J Shaanxi Univ Sci Technol, 2014, (6): 115-118.
- 尹慧慧, 陈育如, 赵文文. 冠突散囊菌利用不同原料产洛伐他汀的条件优化[J]. 南京师范大学学报(自然科学版), 2018, 41(2): 93-98.  
Yin HH, Chen YR, Zhao WW. Optimization of producing lovastatin by eurotium cristatum with different materials [J]. J Nanjing Norm Univ (Nat Sci Ed), 2018, 41(2): 93-98.
- 彭雨轩. 茯茶降低脂肪细胞中脂肪沉积作用研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2013.  
Peng YX. The fungi in Fuzhuan brick tea improve the beneficial function on inhibiting fat deposition in adipocyte [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2013.
- Peng YX, Xiong Z, Li J, et al. Water extract of the fungi from Fuzhuan brick tea improves the beneficial function on inhibiting fat deposition [J]. Int J Food Sci Nutr, 2014, 65(4): 610-614.
- 刘婷, 陈然, 陈颀, 等. 用 CGMCC No.8730 冠突散囊菌发酵的金花黑茶对两种血脂异常模型大鼠体重和血脂的作用[J]. 卫生研究, 2016, 45(4): 637-642.  
Liu T, Chen R, Chen D, et al. Effect of CGMCC No. 8730 Eurotium cristatum fermented dark tea extract on body weight and blood lipid in two dyslipidemia rat models [J]. J Hyg Res, 2016, 45(4): 637-642.
- 黄浩, 赵熙, 黄怀生, 等. 茯茶“散茶发花”加工前后差异化学成分分离与鉴定[J]. 茶叶科学, 2016, 36(1): 27-37.  
Huang H, Zhao X, Huang HS, et al. Isolation and identification of variant phytochemical in the processing of fu tea by fungal fermentation with loose tea [J]. J Tea Sci, 2016, 36(1): 27-37.
- 湛滢, 李适, 刘仲华, 等. 黑茶陈化机制研究进展[J]. 湖南农业科学, 2016, (12): 118-122.  
Chen Y, Li S, Liu ZH, et al. Research progress on aging mechanism of black tea [J]. Hunan Agric Sci, 2016, (12): 118-122.
- 谭玉梅, 王亚萍, 葛永怡, 等. 贵州地区茯砖茶“金花菌”的分离和分子鉴定[J]. 菌物学报, 2017, 36(2): 154-163.  
Tan YM, Wang YP, Ge YY, et al. Isolation and molecular identification of Aspergillus cristatus in fermented "Fuzhuan" brick tea from Guizhou province [J]. Mycosystema, 2017, 36(2): 154-163.
- GB 4789.15-2016 霉菌和酵母计数[S].
- GB 4789.15-2016 Examination enumeration of yeasts and molds [S].
- GB/T 23776-2009 茶叶感官审评方法[S].
- GB/T 23776-2009 Methodology of sensory evaluation of tea [S].
- 彭晓赞, 章卫民, 刘淑云, 等. 湖南地区茯砖茶中金花菌的分离鉴定[J]. 菌物研究, 2011, (3): 157-161.  
Peng XY, Zhang WM, Liu SY, et al. Isolation and Identification of "Golden. Flower" fungus in fuzhuan tea from Hunan area [J]. J Fung Res, 2011, (3): 157-161.
- 徐佳, 邱树毅, 周鸿翔, 等. 酱香大曲中可培养的冠突散囊菌的初步研究[J]. 中国酿造, 2016, 35(6): 55-59.  
Xu J, Qiu SY, Zhou HX, et al. Primary study on the cultivable Eurotium cristatus in Moutai-Navor Daqu [J]. China Brew, 2016, 35(6): 55-59.
- 王文涛, 赵运林, 杨海君, 等. 基于形态学与 ITS 序列对冠突散囊菌多样性研究[J]. 中国农学通报, 2014, 30(24): 310-315.  
Wang WT, Zhao YL, Yang HJ, et al. Study on polymorphisms of Eurotium cristatum by morphology and ITS sequence [J]. Chin Agric Sci Bullet, 2014, 30(24): 310-315.
- 阮林浩, 卢秦华, 谭吉慧, 等. 茯砖茶发花过程中冠突散囊菌的变化及差异性初报[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(4): 1271-1278.

- Ruan LH, Lu QH, Tan JH, *et al.* Report of variations and differences of *Eurotium cristatum* in Fuzhuan brick tea during fungi growing [J]. *J Food Saf Qual*, 2015, 6(4): 1271–1278.
- [17] 刘菲, 孙威江, 黄艳, 等. 人工接种冠突散囊菌对白茶主要呈味物质的影响[J]. *菌物学报*, 2016, 35(8): 975–983.
- Liu F, Sun WJ, Huang Y, *et al.* Changes of taste components during white tea fermentation by means of inoculation of *Eurotium cristatum* [J]. *Mycosystema*, 2016, 35(8): 975–983.
- [18] 刘婷, 李颂, 张康, 等. 冠突散囊菌和茯砖茶的健康功效[J]. *食品研究与开发*, 2016, 37(5): 208–212.
- Liu T, Li S, Zhang G, *et al.* Health efficacy of *Eurotium cristatum* and Fuzhuan Brick Tea [J]. *Food Res Dev*, 2016, 37(5): 208–212.
- [19] 吉杰丽, 杨勇, 袁丹丹, 等. 茯砖茶加工工艺及保健功效研究进展[J]. *食品与药品*, 2016, 18(2): 136–144.
- Ji JL, Yang Y, Yuan DD, *et al.* Advances in processing technology and healthcare effect of Fuzhuan brick tea [J]. *Food Drug*, 2016, 18(2): 136–144.
- [20] Du H, Wang Q, Yang X. Fu brick tea alleviates chronic kidney disease of rats with high fat diet consumption through attenuating insulin resistance in skeletal muscle [J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(10): 2839–2847.
- [21] 黄彦, 石瑞, 苏二正. 冠突散囊菌的研究与应用进展[J]. *生物加工过程*, 2017, 15(1): 49–56.

- Huang Y, Shi R, Su EZ. Progress in the research and application of the *Eurotium cristatum* [J]. *Chin J Bioproc Eng*, 2017, 15(1): 49–56.
- [22] 王珊. 茯砖茶中降胆固醇类物质的研究[D]. 西安: 陕西科技大学, 2014.
- Wang S. Study on cholesterol-lowering substance in Fuzhuan brick tea [D]. Xi'an: Shaanxi University of Science and Technology, 2014.

(责任编辑: 陈雨薇)

## 作者简介



刘 韦, 讲师, 博士, 主要研究方向为冠突散囊菌的功能开发研究。  
E-mail: wllzdd@163.com



张 磊, 讲师, 硕士, 主要研究方向为茯砖茶的加工生产。  
E-mail: 502266827@qq.com。