

普洱野生茯苓与灵芝固体发酵茶的研制初报

张传利¹,熊昌云¹,杨发军¹,何素明¹,桂雪梅²,周 洋³,李万伟³

(1.云南农业大学 热带作物学院,云南 普洱 665000;2.普洱市种子管理站,云南 普洱 665000;3.普洱市淞茂医药有限公司,云南 普洱 665000)

摘要:为进一步实现低档茶的综合开发利用,以5种类型茶叶为主要基质,培养野生茯苓与野生灵芝发酵茶,通过测定茯苓与灵芝菌丝的生长情况及对10种发酵茶茶样进行大肠杆菌检测,筛选出适合野生茯苓与野生灵芝固体发酵茶的培养基,并鉴定其是否符合国家标准。结果表明:野生茯苓与野生灵芝菌丝在5种茶培养基中均能生长,从综合生长情况来看,野生茯苓发酵茶的适宜培养基为紫鹃和晒青,野生灵芝发酵茶的最适茶培养基为紫鹃和炒青;10种检测样品均符合国家标准。

关键词:野生茯苓;野生灵芝;发酵茶;茶培养基

中图分类号:TS272 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2015)04-0126-03 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2015.04.0126

茯苓为多孔菌类植物 *Poria cocos* (Schw) Wolf 的菌核,为药食两用的大宗菌类中药材,是一种兼性腐生真菌,其富含三萜类、多糖类、麦角甾醇、腺嘌呤、胆碱、卵磷脂、多种酶以及丰富的矿物质元素等,具有渗湿利尿、和胃健脾、宁心安神的功效,还具有抗肿瘤、调节免疫功能、抗炎、抗过敏等方面的生物活性^[1],现已广泛应用于药物和保健品中。灵芝(*Ganoderma lucidum*)有“瑞草”“仙草”等美誉,在日本被称为万年茸^[2],是一种食药兼用的真菌,通常说称之为灵芝,实指灵芝的子实体。其富含多糖、氨基酸、蛋白质、甾醇类、萜类、生物碱等多种活性成分,具有抗肿瘤、降低胆固醇和血糖、提高人体免疫力等多种功效,其性味淡、温、无毒,被誉为“健康食品之冠”,《本草纲目》记载灵芝有“滋补强壮、延年益寿、利关节、治耳聋”等神奇功效,《神农本草经》也将其视为上品^[3]。

茶叶营养成分丰富,富含多种蛋白质、氨基酸、生物碱、咖啡因、茶多酚、茶多糖、茶色素和多种维生素及矿物质,具有较好的保健功效。随着茶叶生产和茶叶市场的快速发展,在茶叶种植和生产过程中,由于低档茶供过于求,经济效益差,供销矛盾严重,特别是我国产茶大省云南、福建和浙江等尤为突出。对价值较低的低档茶进行精细加工,实现低档原料的深度开发和综合利用,变废

为宝,同时对品质好的茶进行新型保健产品的开发,对提高茶叶生产的经济效益是十分必要的。利用固体发酵技术生产的药用菌发酵出的茶是一种具有独特风味和内涵的新型保健茶。药用菌发酵茶兼有茶和所接种药用菌的化学成分,经过发酵,药用菌与茶叶充分的融合,有机营养物质易于被人体吸收。茯苓发酵茶比茯苓和原茶具有更显著的利尿效果,灵芝发酵茶具有提高免疫力、抗疲劳、降血脂功能^[4]。以茶叶为基质分离筛选出普洱野生茯苓与野生灵芝菌株的适宜培养基,通过固态发酵培养,最终发酵物(菌丝和茶叶基质有机结合)经烘干研磨可制成茶叶—茯苓与灵芝固体发酵茶(可作为泡袋茶使用)。本研究以5种类型茶叶为基质,培养野生茯苓与野生灵芝发酵茶,以期实现低档茶的开发利用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株 野生茯苓菌株(RS-A)、茶马古道野生灵芝(赤芝)菌株(RS-B),均由云南农业大学热带作物学院与普洱淞茂医药有限公司食药菌课题组采自普洱市宁洱县松树林下和普洱市思茅区茶马古道旁腐生树上采集,经分离驯化筛选出的优良菌株。

1.1.2 培养基质 培养料A为紫鹃、B为滇红、C为晒青、D为炒青、E为普洱茶,5种茶叶原料干品均来自云南农业大学热带作物学院茶叶加工实训室;活化培养基为马铃薯麸皮综合培养基^[5]。

1.2 方法

1.2.1 工艺流程 具体工艺流程:分离培养基制备—分装试管、灭菌、摆斜面、无菌检查—茯苓与灵

收稿日期:2014-12-12

基金项目:云南农业大学热带作物学院科研资助项目(No. 2014KY011)

第一作者简介:张传利(1981-),男,山东省曲阜市人,硕士,讲师,从事生物技术方面的教学与科研工作。E-mail: zhchuanli00@163.com。

芝菌种分离、纯化-恒温培养箱培养/茶叶(干品)-浸泡(冷水)-沥水-装袋-灭菌、冷却-接种-培养-摊晾-烘干-包装-检验-成品。

1.2.2 菌种活化 从驯化野生茯苓与灵芝母种斜面上接约 0.5 cm² 大小的菌种块到活化培养基中,27℃ 恒温培养 10 d,制得活化菌种备用。

1.2.3 培养基的制作及接种管理 将 5 种茶叶原料干品按料水比 1.0:1.8 添加冷水浸泡,pH 自然,待茶叶充分吸水并沥水后装菌种袋,123℃ 高压灭菌 1 h,冷却后每袋分别接种两块 0.5 cm² 大小经活化后的野生茯苓与灵芝菌种,置培养室 27℃ 恒温培养,每个茶叶培养基质设置 3 个重复。

1.2.4 菌丝生长速度测定 观察纪录野生茯苓与灵芝在各培养基配方中菌丝的生长情况,测量菌丝生长速度及菌丝生长势和密度(分别将不同处理的菌丝生长情况相互比较,用“+”表示菌丝密度和生长势强弱)、菌丝日均生长速率(mm·d⁻¹)=菌丝生长量(mm)/培养天数(d)。

采用新复极差法检查各处理之间是否存在显著差异,以此说明试验的可靠性。

1.2.5 不同茶感官审评及审评方法^[6] 分别取培养好的 5 种菌茶基质进行感官审评:外形评条索、色泽、整碎、净度;内质评香气、汤色、滋味、叶底。

1.2.6 不同茶大肠杆菌群的测定 采用乳糖发酵法(国家标准检验方法)^[7] 分别对野生茯苓与灵芝发酵茶进行大肠杆菌的检测。

2 结果与分析

2.1 茯苓菌丝在 5 种不同茶培养基中的生长情况

从表 1 可知,野生茯苓菌丝在各茶叶培养基上均能生长,但存在一定差异。在 5 种供试验茶培养基中,菌丝在紫鹃培养基上生长速度最快、生长最浓密洁白、粗壮、长势最旺,在晒青培养基上次之,在普洱茶和滇红培养基中生长良好,在炒青培养基中生长较弱、较稀疏。野生茯苓菌丝在紫鹃培养基上生长最快,日平均生长速度为 6.65 mm,在炒青培养基上生长最慢,日平均生长速度为 4.96 mm,生长速度从快到慢依次为:紫鹃>晒青>普洱茶>滇红>炒青。方差分析结果表明,野生茯苓菌丝在紫鹃和晒青培养基的生长速度与在滇红、普洱茶和炒青培养基中的生长速度均达到极显著水平,紫鹃与晒青培养基差异不显著;野生茯苓菌丝在普洱茶和滇红培养基上的

生长速度与在炒青培养基中菌丝生长速度的差异也达到极显著水平,普洱茶与滇红培养基差异不显著。

表 1 不同培养基对茯苓菌丝生长的影响

Table 1 Effect of different media on the mycelium growth of *Poria cocos*

培养基 Media	菌丝生长速度/ (mm·d ⁻¹) Mycelial growth rate	菌丝长势 Mycelial growth vigor	
		密度 Density	色泽长势 Color and growth vigor
紫鹃	6.65 aA	++++	洁白、粗壮、旺
晒青	6.40 aA	+++	白、粗壮、较旺
普洱茶	6.18 bB	++	白、一般
滇红	5.96 bB	++	白、一般
炒青	4.96 cC	+	灰白、较细

“+”表示菌丝浓密程度,“+”越多,表示菌丝越浓密。下同。
“+”means the thickness of hyphae, and the more “+”, the thicker. The same below

2.2 灵芝菌丝在 5 种不同茶培养基质中的生长情况

从表 2 可知,野生灵芝菌丝在各茶叶培养基上均能生长,但存在一定差异。在 5 种供试验茶培养基中,菌丝在紫鹃培养基上生长速度最快、生长最浓密洁白、粗壮、长势最旺,在炒青和滇红培养基中生长良好,在晒青和普洱茶培养基中生长一般。野生灵芝菌丝在紫鹃培养基上生长最快,日平均生长速度为 1.64 mm,在普洱茶培养基上生长最慢,日平均生长速度为 1.21 mm,生长速度从快到慢依次为:紫鹃>炒青>滇红>晒青>普洱茶。方差分析结果表明,野生灵芝菌丝在紫鹃和炒青培养基的生长速度与在滇红、普洱茶和晒青培养基中的生长速度均达到极显著水平,紫鹃与炒青培养基差异不显著;野生灵芝菌丝在滇

表 2 不同培养基对灵芝菌丝生长的影响

Table 2 Effect of different media on the mycelium growth of *Ganoderma lucidum*

培养基 Media	菌丝生长速度/ (mm·d ⁻¹) Mycelial growth rate	菌丝长势 Mycelial growth vigor	
		密度 Density	色泽长势 Color and growth vigor
紫鹃	1.64 aA	+++++	洁白、粗壮、旺
炒青	1.61 aA	++++	白、粗壮、较旺
滇红	1.29 bB	++++	白、粗壮、较旺
晒青	1.22 bB	++	白、一般
普洱茶	1.21 bB	++	白、一般

红、晒青和普洱茶培养基上的生长速度均差异不显著。

2.3 不同茶的感官审评

邀请相关茶叶品茶师、茶叶专业教师及大众教师学生对已培养好的 5 种菌茶基质进行感官审评和评价,评价结果表明野生茯苓与灵芝菌丝均能与茶叶有机结合,外形条索出状,鲜品色泽基本保持原茶叶基质颜色、干品色泽为棕色到宗褐色,质地更加致密,柔韧性更好;内质汤色比原茶叶基质颜色略深、香气融茶叶基质与菌香为一体、口感

醇厚滑口,有回甜。所有菌茶在保留原有茶叶基质好特性的基础上,很好改善了茶叶的口感。

2.4 固体发酵菌茶大肠杆菌检测情况

检样随机选取来自野生茯苓、野生灵芝菌丝与 5 种茶叶基质有机结合的典型全部样品,具有全面型和代表性,大肠杆菌的检测结果见表 3。结果表明,两种药用菌茶各 5 种样品,共 10 种茶样检测结果 MPN 均为阴性(<30),根据《中华人民共和国国家标准》中大肠菌群指标(MPN /100 g) ≤ 300 ,10 个样品中的大肠杆菌均符合国家标准。

表 3 10 种培养基菌茶大肠杆菌检测结果分析

Table 3 The detection situations of *Escherichia coli* in 10 kinds of tea samples

茶样 Tea samples	大肠杆菌/(MPN·(100 g) ⁻¹) <i>E. coli</i>	95%可信限 Confidence limit	
		下限 Lower limit	上限 Upper limit
A-茯苓茶 Tea of <i>Poria cocos</i> (A)	<30	<5	90
B-茯苓茶 Tea of <i>Poria cocos</i> (B)	<30	<5	90
C-茯苓茶 Tea of <i>Poria cocos</i> (C)	<30	<5	90
D-茯苓茶 Tea of <i>Poria cocos</i> (D)	<30	<5	90
E-茯苓茶 Tea of <i>Poria cocos</i> (E)	<30	<5	90
A-灵芝茶 Tea of <i>Ganoderma lucidum</i> (A)	<30	<5	90
B-灵芝茶 Tea of <i>Ganoderma lucidum</i> (B)	<30	<5	90
C-灵芝茶 Tea of <i>Ganoderma lucidum</i> (C)	<30	<5	90
D-灵芝茶 Tea of <i>Ganoderma lucidum</i> (D)	<30	<5	90
E-灵芝茶 Tea of <i>Ganoderma lucidum</i> (E)	<30	<5	90

3 结论与讨论

研究结果表明,分离驯化的野生茯苓与野生灵芝菌株适应性较好,菌丝在 5 种茶培养基中均能生长;茯苓和灵芝菌丝均在紫鹃茶培养基中的生长状况最佳,但茯苓菌丝在晒青茶培养基中、灵芝菌丝在炒青茶培养基中的生长状况也不错,与紫鹃茶培养基上生长状况基本一致。综合经济成本效益、各自茶的加工工艺可操作性以及今后发酵菌茶销售定位人群,可选择紫鹃和晒青茶培养基作为该野生茯苓菌株的最适宜茶培养基;选择紫鹃和炒青茶培养基作为该野生灵芝菌株的最适宜茶培养基。

选择的 5 种茶叶基质均为散茶,未经过蒸压成型的加工工艺流程,因此在试验研究的过程中要严格掌握好对茶叶基质的消毒灭菌过程以及接种和培养环境的控制。为保证固体发酵菌茶在微生物方面的安全性,对发酵菌茶样品中的大肠杆菌检测是十分必要和重要的。由试验结果可知,随机抽检的所获得的 2 种药用发酵菌茶的 10 种样品中的大肠杆菌检测均符合国家标准。

试验只对纯茶叶基质作为培养基质作了研究,对于筛选出的该野生茯苓和灵芝菌株最适宜茶培养基的基础上进一步优化以及生产工艺过程的控制要点有待深入研究。

试验只对菌茶样品的感官和大肠杆菌方面进行审评和检测,在生化成分分析以及其它安全性方面的检测工作需要进一步完善,以便更好地为今后菌类保健茶的开发奠定基础。

参考文献:

[1] 於小波, 曾俊峰, 刘焱文, 等. 我国茯苓药材主要产区资源调查[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(3): 714-716.

[2] 耿向永, 鲍隆友, 陈芝兰, 等. 西藏野生灵芝菌种组织分离技术研究[J]. 中国食用菌, 2009, 28(4): 25-27.

[3] 国家中医药管理局. 中华本草[M]. 中华本草编委会, 1991, 26(2): 80-82.

[4] 林戎斌, 陈济琛, 林新坚, 等. 三种药用菌发酵茶的最适茶培养基本研究[J]. 食用菌学报, 2004, 11(3): 38-42.

[5] 张传利, 杨发军, 桂雪梅, 等. 普洱地区白参菌栽培试验[J]. 热带农业科技, 2010, 33(2): 19-22.

[6] 陆松侯, 施兆鹏. 茶叶评审与检验[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2008.

[7] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB/T 4789. 32-2002 食品卫生微生物学检验大肠菌群的快速检测[S]. 北京: 中国标准出版社, 2002.

(下转第 151 页)

分析,所以要明确该成分和线虫的作用需进一步试验分析。

参考文献:

- [1] 付文卫,窦德强,裴月湖.桔梗化学成分和生物活性研究进展[J].沈阳药科大学学报,2006,23(3):184-185.
- [2] 郭丽,张村,李丽,等.中药桔梗的研究进展[J].中国中药杂志,2007,32(3):181-182.
- [3] 庞林海,杜爱芳,李孝军,等.秀丽隐杆线虫培养特性与保存方法研究[J].浙江农业学报,2007,19(1):34-36.

- [4] 郑繁慧,刘文丛,郑毅男,等.桔梗总皂苷与桔梗总次皂苷祛痰作用的比较[J].吉林农业大学学报,2011,33(5):541-544.
- [5] 杨壮,田景奎,张琳.比色法测定桔梗中桔梗总皂苷的含量[J].中国现代应用药学杂志,2008,2(25):58-60.
- [6] 何潇潇.人生总皂苷中水溶性成分对于线虫生命活动的影响[J].吉林大学学报:理学版,2012,50(4):1671-5489.
- [7] 陈瑞成.超高压提取人生皂苷工艺及机理[D].吉林:吉林大学,2005.

Effect of Total Saponins from *Platycodon grandiflorum* on Biological Activity of *Caenorhabditis elegans*

HUANG Yin-sheng¹, WANG Xiao-ya², LI Jing², ZHAO Min¹, YANG Jing-xia²

(1. School of Physics Electronic Engineering, Fuyang Teachers College, Fuyang, Anhui, 236037; 2. Center of Anti-aging Chinese Herbal Medicine, Fuyang Teachers College, Fuyang, Anhui 236037)

Abstract: In order to study the effect of total saponins of *Platycodon grandiflorum* on biological activity of *Caenorhabditis elegans*, the effect of different concentrations of total saponins of *Platycodon grandiflorum* on life, body length, swing times and eggs laying were analyzed. The results showed that the medium with 0.5 g·mL⁻¹ total saponins of *Platycodon grandiflorum* had promotion effect on life, body length, swing times and eggs laying. When the concentration was 0.5 g·mL⁻¹, there was no nematode in the medium.

Keywords: total saponins of *Platycodon grandiflorum*; *Caenorhabditis elegans*; biological activity

(上接第 128 页)

Preliminary Study on Solid Fermentation Tea of Wild *Poria cocos* and *Ganoderma lucidum* in Puer

ZHANG Chuan-li¹, XIONG Chang-yun¹, YANG Fa-jun¹, HE Su-ming¹, GUI Xue-mei², ZHOU Yang³, LI Wan-wei³

(1. College of Tropical Crops, Yunnan Agricultural University, Puer, Yunnan 665000; 2. Yunnan Puer Seeds Management Station, Puer, Yunnan 665000; 3. Puer Songmao Pharmaceutica Company Limited, Puer, Yunnan 665000)

Abstract: In order to promote the development and utilization of low-quality tea, taking five kinds of tea as the main substrate cultivation of wild *Poria cocos* and *Ganoderma lucidum* fermented tea, the mycelia growth of *Poria cocos* and *Ganoderma lucidum* and ten kinds of fermented tea samples were determined to screen suitable medium for solid fermented tea of wild *Poria cocos* and *Ganoderma lucidum* and identify the accordance with the national standard. The results showed that the wild *Poria cocos* and *Ganoderma lucidum* mycelia could grow in five kinds of tea medium, from the point of comprehensive growth, the medium added with fine and sunning was suitable for wild *Poria cocos* fermented tea. On the other hand, the medium added with fine and liquor was suitable for wild *Ganoderma lucidum* tea; Detection of 10 samples accorded with national standard.

Keywords: wild *Poria cocos*; wild *Ganoderma lucidum*; fermented tea; tea medium