袁英豪, 夏陈, 张厅, 等. 复合微生物发酵对茶汤活性成分及风味的影响 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(16): 203−216. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025060102

YUAN Yinghao, XIA Chen, ZHANG Ting, et al. Effects of Co-Microbial Fermentation on Bioactive Components and Flavor Profile of Tea Broth[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(16): 203−216. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025060102

·生物工程·

复合微生物发酵对茶汤活性成分及风味的影响

袁英豪[1], 夏　陈[1], 张　厅[2], 唐晓波[1], 余鳗游[1], 施刘刚[3], 吴　斌[3], 甘　露[1], 朱永清[1,*]

(1.四川省农业科学院农产品加工研究所（四川省农业科学院食品与营养健康研究所）, 四川成都 610066;
2.四川省农业科学院茶业研究所, 四川成都 610066;
3.雅安市金花藏茶茶业有限公司, 四川雅安 625100)

摘　要: 为解决单菌发酵茶代谢路径单一、风味增效有限的问题，该研究采用冠突曲霉（*Aspergillus cristatus* G-Y）和枯草芽孢杆菌（*Bacillus subtilis* SO-2）对黑茶毛茶进行液态复合发酵，并以未发酵茶汤为对照（CK 组），解析双菌协同对茶汤可溶性糖、茶色素、多酚类化合物、抗氧化活性及风味物质的调控机制。结果表明：复合发酵显著降低茶汤多糖含量（0.61 mg/mL，$P<0.05$），促进茶褐素积累（与 Δa 值呈正相关）。多酚代谢层面，枯草芽孢杆菌单菌发酵降低了总多酚和总黄酮含量（降幅 11.96%、18.71%），冠突曲霉单菌发酵主导酯型儿茶素降解；复合发酵在保留冠突曲霉单菌发酵对酯型儿茶素的降解优势（降幅>90%）的同时，通过双菌协同作用进一步调控多酚转化路径，促进没食子酸、游离儿茶素等的积累，并显著增强抗氧化活性（DPPH·清除率 IC_{50}=0.0315 mg/mL；$ABTS^{+}$·清除率 IC_{50}=0.0720 mg/mL，$P<0.05$）。风味分析表明：通过双菌互作协调氨基酸代谢，使甜味氨基酸（141.59 mg/L）与苦味氨基酸（129.01 mg/L）适度积累，并基于“硫苷水解（冠突曲霉）-酯化（枯草芽孢杆菌）偶联”途径，大幅提升异硫氰酸苯甲酯等关键香气物质（OAV=50.77，较单菌组最高提升 49.26 倍），挥发性代谢物总量较对照组增加 6.18%。感官评价证实双菌发酵组香气与滋味评分最优，凸显双菌协同对风味平衡的增效作用。综上，冠突曲霉与枯草芽孢杆菌协同发酵通过互补代谢途径，有效调控了茶汤活性成分转化与关键风味物质合成，显著提升了茶汤品质。

关键词: 茶汤, 枯草芽孢杆菌, 冠突曲霉, 活性成分, 代谢机制, 风味品质

中图分类号: [Q815]　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)16−0203−14

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025060102

本文网刊:

Effects of Co-Microbial Fermentation on Bioactive Components and Flavor Profile of Tea Broth

YUAN Yinghao[1], XIA Chen[1], ZHANG Ting[2], TANG Xiaobo[1], YU Manyou[1], SHI Liugang[3], WU Bin[3], GAN Lu[1], ZHU Yongqing[1,*]

(1.Institute of Agro-Products Processing Science and Technology, Sichuan Academy of Agricultural Sciences (Institute of Food Nutrition and Health, Sichuan Academy of Agricultural Sciences), Chengdu 610066, China;
2.Institute of Tea Research, Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Chengdu 610066, China;
3.Ya'an Jinhua Tibetan Tea Industry Co., Ltd., Ya'an 625100, China)

收稿日期: 2025−06−11

基金项目: 四川省科技计划资助重点研发项目（2023YFN0012）; 四川省农业科学院“1+9 揭榜挂帅”项目（1+9 KJGG007）; 四川省科技计划资助重点研发项目（2019YFN0178）。

作者简介: 袁英豪（1997−）, 男, 硕士, 研究实习员, 研究方向: 功能食品研究, E-mail: y13253360907@163.com。

*** 通信作者:** 朱永清（1968−）, 男, 博士, 研究员, 研究方向: 农产品加工及贮藏工程, E-mail: zhuyongqing68@sina.com。

Abstract: To address the limitations of single-strain fermentation of tea, specifically its single metabolic pathway and limited flavor enhancement, this study employed co-liquid-state fermentation of crude dark tea using *Aspergillus cristatus* G-Y and *Bacillus subtilis* SO-2, with unfermented tea broth as the control (CK group). The synergistic effects of the dual strains on the regulatory mechanisms of soluble sugars, tea pigments, phenolic compounds, antioxidant activity, and flavor substances in tea broth were systematically investigated. The results demonstrated that co-fermentation significantly reduced polysaccharide content (0.61 mg/mL, $P<0.05$) and promoted the accumulation of theabrownins (positively correlated with Δa value). In terms of polyphenol metabolism, single-strain fermentation with *B. subtilis* reduced the levels of total polyphenols and total flavonoids (by 11.96% and 18.71%, respectively), and single-strain fermentation with *A. cristatus* primarily drove the degradation of esterified catechins. Importantly, co-fermentation retained the degradation advantage of *A. cristatus* single fermentation on esterified catechins (reduction>90%), and further regulated the polyphenol transformation pathway through microbial synergy, promoting the accumulation of gallic acid, free catechins, and other compounds, and significantly enhancing antioxidant activity (DPPH· scavenging activity IC_{50}=0.0315 mg/mL, $ABTS^{+}$· scavenging activity IC_{50}=0.0720 mg/mL, $P<0.05$). Flavor analysis revealed that the dual-strain interaction coordinated amino acid metabolism, leading to a balanced accumulation of sweetness-associated amino acids (141.59 mg/L) and bitterness-associated amino acids (129.01 mg/L). Moreover, through a coupled pathway of "glucosinolate hydrolysis (*A. cristatus*)-esterification (*B. subtilis*)," key aroma compounds such as benzyl isothiocyanate were substantially enhanced (ROAV=50.77, up to 49-fold higher than in single-strain fermentations). The total volatile metabolites increased by 6.18% compared to the control. Sensory evaluation confirmed that the co-fermentation group achieved the highest scores in aroma and taste, highlighting the synergistic effect of the dual strains on flavor balance. This study demonstrates that co-fermentation with *A. cristatus* and *B. subtilis* effectively modulates the transformation of bioactive compounds and the synthesis of key flavor substances through complementary metabolic pathways, significantly improving the overall quality of tea broth.

Key words: tea broth; *Bacillus subtilis*; *Aspergillus cristatus*; bioactive components; metabolic mechanism; flavor quality

毛茶作为初制茶(由茶鲜叶经初制加工而成)的半成品,其品质优化对茶产品附加值至关重要。微生物发酵可通过酶解及生物转化提升茶叶功能性成分与风味品质。在固态或深层发酵的黑茶加工过程中,曲霉属真菌如冠突曲霉(*Aspergillus cristatus*)被证实对产品感官品质的形成具有关键作用,主要体现在促进茶褐素积累以改善汤色、降解苦涩多酚物质以及合成独特的花香和草药香风味物质[1−2]。Zheng 等[3]利用曲霉强化茶叶发酵,非靶向代谢组学显示有 95 种代谢物显著增加,主要富集于氨基酸生物合成和降解途径;Cheng 等[4]进一步系统阐述了曲霉属(*A. cristatus*)在茶叶发酵过程中的核心代谢功能及其对品质的贡献,指出其能通过调控萜烯和苯丙酸代谢途径产生独特花香和草药香,并减少涩味和苦味。另一方面,细菌属如枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)也被应用于茶叶发酵。Pripdeevech 等[5]报道利用枯草芽孢杆菌发酵绿茶可显著增加挥发性化合物含量,特别是 2-戊基呋喃和柠檬烯。Xiao 等[6]的研究表明,枯草芽孢杆菌发酵能提升生茶叶的花香和果香,这与其增加芳樟醇、β-紫罗兰酮和 3,5-辛二烯-2-酮等关键气味活性物质有关;此外,他们在黑茶发酵研究中还发现枯草芽孢杆菌具有水解酯型儿茶素的能力,表现为酯型儿茶素含量大幅降低及非酯型儿茶素含量显著增加。

尽管单一菌种(曲霉属或芽孢杆菌)发酵已被证明能改善茶叶的特定品质属性,但其代谢路径相对单一,在全面、协同提升茶叶理化特性(如糖类转化、色素平衡)、功能活性(如抗氧化能力最大化)及复杂风味谱(如氨基酸协调、香气物质多样性)方面存在局限。特别是冠突曲霉(擅长多酚氧化与糖苷水解)和枯草芽孢杆菌(擅长蛋白水解与酯化)这两种在茶叶发酵中具有重要功能但代谢特性互补的微生物,其协同作用的机制及其对茶叶综合品质的提升潜力尚缺乏系统研究。

该研究创新性选取实验室保存的功能性菌株——冠突曲霉 G-Y(*Aspergillus cristatus*)和枯草芽孢杆菌 SO-2(*Bacillus subtilis*),分别进行单菌及复合菌液态发酵毛茶。通过结合顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用(Headspace Solid-Phase Microextraction-Gas Chromatography-Mass Spectrometry, HS-SPME-GC-MS)挥发性组学分析、高效液相色谱(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)多酚靶向定量等技术,系统解析不同发酵处理对茶叶可溶性糖、茶色素、多酚类物质组成、抗氧化活性及风味物质的影响差异,重点阐明双菌互作在调控茶褐素合成、多酚(特别是酯型儿茶素)降解路径、酯类香气物质生成及甜/苦味氨基酸平衡中的机制,为开发基于微生物协同发酵的高品质茶叶产品提供新策略。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

微生物菌种(冠突曲霉 *Aspergillus cristatus* G-Y、枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* SO-2) 保存于四川省农业科学院农产品加工所功能食品研究中心;黑茶毛茶 由雅安市雅州恒泰茶业有限公司(中国四川)提供;没食子酸(Gallic acid, GA)、茶碱(Theophylline, TP)、没食子儿茶素(Gallocatechin, GC)、咖啡碱

（Caffeine, CAF）、表没食子儿茶素（Epigallocatechin, EGC）、儿茶素（Catechin, C）、表儿茶素（Epicatechin, EC）、表没食子儿茶素没食子酸酯（Epigallocatechin gallate, EGCG）、没食子儿茶素没食子酸酯（Gallocatechin gallate, GCG）、表儿茶素没食子酸酯（Epicatechin gallate, ECG）、儿茶素没食子酸酯（Catechin gallate, CG）、乙腈/甲醇、2,2-联苯基-1-苦基肼基（2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl, DPPH）、2,2'-联氮基双-（3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸）（2,2'-Azino-bis（3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid, ABTS）　分析纯，阿拉丁生化。

SW-CJ-1D 超净工作台　苏州净化设备有限公司；LHS-250HC-I 恒温培养箱　上海一恒科学仪器有限公司；LX-800 多功能酶标仪　美国伯腾仪器有限公司；1290 Infinity Ⅱ 高效液相色谱仪、7890A-5975C 气相-质谱联用仪、Agilent 1100 液相色谱仪　Agilent 公司。

1.2　实验方法

1.2.1　培养基　PDA 固体培养基：马铃薯 200 g（切块），加入 1000 mL 蒸馏水，煮沸 30 min，滤液补水至 1000 mL，再加入葡萄糖 20 g 和琼脂 18 g，用于霉菌活化。LB 液体培养基：胰蛋白胨 10 g、酵母提取物 5 g、氯化钠 10 g、蒸馏水 1000 mL，用于细菌活化。

茶汤培养基：以料液质量比为 1∶50 称取毛茶，加入纯净水煮沸 45 min 以制备茶汤，过滤后补水，并高压灭菌（121 ℃，20 min），用于微生物发酵。

1.2.2　菌剂制备　选用实验室保存的良好菌种，冠突曲霉 G-Y 和枯草芽孢杆菌 SO-2。将冠突曲霉 G-Y 接种于 PDA 固体培养基，于 28 ℃ 下培养曲霉 5 d 以促进孢子发芽，使用无菌水洗脱并调整孢子悬液至浓度为 10^7 个/mL。将枯草芽孢杆菌 SO-2 接种于 LB 液体培养基，于 28 ℃ 下培养 1 d，使用无菌水调整菌液浓度至为 10^7 CFU/mL。

1.2.3　接种发酵

1.2.3.1　单菌发酵　将冠突曲霉 G-Y、枯草芽孢杆菌 SO-2 按照 5% 的接种量分别接种于制备好的茶汤（1.2.1）中（命为 GY、SO 组），置于 30 ℃、150 r/min 条件下震荡培养 3 d，收集取样。

1.2.3.2　复合菌发酵　将冠突曲霉 G-Y、枯草芽孢杆菌 SO-2 按照 1∶1（v/v）的比例同时接种于制备好的茶汤中，总接种量为 5%（命为 GS 组），置于 30 ℃、150 r/min 条件下震荡培养 3 d，收集取样。以接入等体积的无菌水作为对照（命为 CK 组）[7−9]。

1.2.4　茶汤理化分析

1.2.4.1　还原糖、多糖及可溶性总糖含量测定　还原糖含量测定方法参照 DNS 法[10]，并稍作修改。取 1 mL 适当稀释的茶样（茶样即发酵液/茶汤，下同。稀释后质量浓度为 1 mg/mL）于 15 mL 比色管中，加入 1.5 mL DNS 试剂，混匀，沸水浴显色 5 min，冷却后定容至 10 mL，在波长 540 nm 处测定吸光度。以葡萄糖溶液质量浓度（mg/mL）为横坐标，吸光度为纵坐标，绘制标准曲线，得到线性回归方程：y=0.9413x+0.0481，R^2=0.9999。茶汤中还原糖含量（mg/mL）根据样品吸光度代入标准曲线方程计算，如式（1）所示：

$$还原糖含量=\frac{A_t-0.0481}{0.9431}\times N_1 \qquad 式（1）$$

式中：A_t 为待测样液吸光度；N_1 为稀释倍数。

总糖含量测定：取 1 mL 适当稀释的茶样（稀释后质量浓度为 1 mg/mL），加入 0.75 mL 6 mol/L HCl，沸水浴水解 20 min，冷却后中和至中性（6 mol/L NaOH 调节 pH），将中和后的溶液转移至容量瓶，用蒸馏水定容至 10 mL，备用。取 1 mL 备用液，按上述还原糖测定方法（式（1））测定其吸光度，计算得到水解液中还原糖含量。茶汤中总糖含量（mg/mL）按式（2）计算：

$$总糖含量=m_1\times\frac{V_1}{V_2}\times\frac{V_3}{V_4} \qquad 式（2）$$

式中：m_1 为式（1）计算出的水解液中还原糖浓度（mg/mL）；V_1 为酸水解后中和定容的总体积（mL）；V_2 为从 V_1 中取出用于 DNS 测定的体积（mL）；V_3 为 DNS 反应后定容的体积（该方法为 10 mL）；V_4 为用于酸水解的原始稀释茶样体积（该方法为 1 mL）。计算结果即为原始茶样的总糖浓度（mg/mL），已包含水解转化和稀释步骤的校正。

多糖含量=总糖含量−还原糖含量

1.2.4.2　总多酚含量测定　参照文献 [11] 方法并稍作修改。稀释茶样至适当浓度（5 mg/mL），取 20 μL 稀释液和 20 μL 福林酚溶液（2 mol/L）混合反应 5 min，加入 160 μL 质量分数 5% Na_2CO_3，轻轻震荡，静置反应 60 min，于波长 765 nm 处测定吸光度。茶样中的总多酚含量以没食子酸当量（mg GAE/g）表示。以没食子酸质量浓度（μg/mL）为横坐标，吸光度为纵坐标，绘制标准曲线为 y=0.0039x+0.41002，R^2=0.9995。

$$总多酚含量=\frac{A_1-0.4100}{0.0039}\times N_2 \qquad 式（3）$$

式中：A_1 为待测样液吸光度；N_1 为稀释倍数。

1.2.4.3　总黄酮含量测定　参照文献 [12] 方法并稍作修改。稀释茶样至适当浓度（5 mg/mL），取 20 μL 稀释液和 15 μL 质量分数 5% 亚硝酸钠混合，避光静置 6 min，加入 15 μL 质量分数 10% $AlCl_3{\cdot}6H_2O$，间隙震荡 5 min，立马加入 100 μL NaOH（1 mol/L），于波长 510 nm 处测定吸光度。茶样中总黄酮含量以芦丁当量（mg RE/g）表示。同时以芦丁质量浓度（μg/mL）为横坐标，吸光度为纵坐标，绘制标准曲线为 y=0.0007x+0.052，R^2=0.9991。

$$总多酚含量=\frac{A_2-0.0520}{0.0007}\times N_3 \qquad 式（4）$$

式中：A_2 为待测样液吸光度；N_3 为稀释倍数。

1.2.4.4 茶色素测定 参照文献 [8] 的方法,取 50 mL 茶样加入 50 mL 质量分数 2.5% $NaHCO_3$ 溶液,充分混匀,取 4 mL 混合液体,加入 4 mL 饱和 $C_2H_2O_4$ 溶液和 12 mL 蒸馏水,以容量瓶定容至 50 mL(95% 乙醇),记为溶液 A。另取 100 mL 茶样,加入 100 mL 乙酸乙酯,充分混匀,静置 10 min 待液体分层,取上层溶液 8 mL,定容至 25 mL(95% 乙醇),记为溶液 B;继续取上层溶液 50 mL 加入 50 mL 质量分数 2.5% $NaHCO_3$ 溶液,混匀,静置 10 min,取上层溶液 8 mL,定容至 25 mL(95% 乙醇),记为溶液 C;取下层溶液 4 mL,与 4 mL 饱和 $C_2H_2O_4$ 溶液和 12 mL 蒸馏水混合,定容至 25 mL(95% 乙醇),记为溶液 D;同时以体积分数 95% 乙醇为空白对照,于波长 380 nm 处测定 A、B、C、D 溶液的吸光度。茶褐素、茶红素、茶黄素含量计算如式(5)~式(7):

$$\text{茶褐素含量}(\%)=\frac{2A_A\times E_1}{w}\times 100 \quad \text{式(5)}$$

$$\text{茶红素含量}(\%)=\frac{E_1\times(2A_B+2A_D-2A_A-A_C)}{w}\times 100 \quad \text{式(6)}$$

$$\text{茶黄素含量}(\%)=\frac{A_C\times E_2}{w}\times 100 \quad \text{式(7)}$$

式中:w 为干物质率,%;E_1、E_2 为换算系数,分别为 0.0706、0.0225;A_A~A_D 为溶液 A~D 的吸光度。

1.2.4.5 色差值测定 参考王腾飞[13]方法并稍作修改。将各组发酵后的茶汤样品充分混匀后,取适量倒入比色皿(光程 10 mm)至 3/4 高度,静置 5 min 以消除气泡,使用色差仪进行测定。记录 L^*值(明度指数)、a^*值(红绿度指数)、b^*值(黄蓝度指数)。以对照组(CK)茶汤的平均 L^*、a^*、b^*值作为基准,计算各处理组(GY、SO、GS)茶汤样品的色差值。$\Delta L^*=L^*_{样}-L^*_{CK}$、$\Delta a^*=a^*_{样}-a^*_{CK}$、$\Delta b^*=b^*_{样}-b^*_{CK}$。总色差($\Delta E^*$)按式(8)计算:

$$\Delta E^*=\sqrt{(\Delta L^*)^2+(\Delta a^*)^2+(\Delta b^*)^2} \quad \text{式(8)}$$

式中:ΔE 值综合反映了样品与 CK 组在颜色空间中的整体差异程度,其数值越大,表明颜色差异越显著。

1.2.5 抗氧化能力测定

1.2.5.1 DPPH 自由基清除能力测定 参照文献 [14] 的方法,将茶样稀释为不同质量浓度(0.01、0.02、0.025、0.05、0.075、0.10、0.125 mg/mL)的待测液,取 100 μL待测液,加入 100 μL 上述 DPPH 溶液(128.50 μg/mL,体积分数 80% 甲醇溶液为溶剂),室温反应 30 min 后,于波长 517 nm 处测定吸光度(A_s)。以上述甲醇溶液为空白组,测定吸光度(A_0),以 Trolox 为阳性组,并测定吸光度。DPPH 自由基清除率计算公式见式(9)。

$$\text{DPPH自由基清除率}(\%)=\frac{A_0-A_s}{A_0}\times 100 \quad \text{式(9)}$$

式中:A_0 为空白组吸光度;A_s 为待测液或阳性组吸光度。

1.2.5.2 $ABTS^+$自由基清除能力测定 参照文献 [14] 的方法,ABTS 储备液:按照 1∶1 的体积比将 ABTS(7 mmol/L)和过硫酸钾溶液(2.45 mmol/L)均匀混合,室温条件下暗处反应 16 h;ABTS 工作液:使用体积分数 80% 甲醇溶液稀释 ABTS 储备液,使得此溶液的吸光度为 0.70±0.02(波长 734 nm)。将茶样稀释为不同质量浓度(0.01、0.02、0.025、0.05、0.075、0.10、0.25、0.30、0.50 mg/mL)的样品待测液,取 40 μL 待测液,加入 160 μL ABTS 工作液,室温反应 6 min,于波长 734 nm 处测定吸光度(A_r)。以上述甲醇溶液为空白组(A_l),上述甲醇溶液替代 DPPH 溶液为对照组(A_h),Trolox 为阳性组,并测定吸光度。$ABTS^+$自由基清除率计算公式见式(10)。

$$ABTS^+\text{自由基清除率}(\%)=\frac{A_l-A_h}{A_l}\times 100 \quad \text{式(10)}$$

式中:A_l 为空白组吸光度;A_h 为待测液或阳性组吸光度。

1.2.6 多酚类化合物及生物碱测定 取 1 mL 茶样,8000 r/min 离心 10 min,取上清液过 0.22 μm 有机滤膜至进样瓶,使用 HPLC 法进行测定。色谱条件:Poroshell 120 PFP(4.6 mm×100 mm, 2.7 μm);DAD 检测器;检测波长 280 nm;流动相:体积分数 1% 甲酸水溶液(A),乙腈(B);柱温 30 ℃;流速 0.8 mL/min;进样量 2 μL。梯度洗脱程序:0~10 min, 5%~10% B;10~15 min, 10%~20% B;15~20 min, 20%~35% B;20~30 min, 35%~75% B;30~32 min, 75%~95% B。

1.2.7 氨基酸含量测定 取 5 mL 茶样,8000 r/min 离心 10 min,取上清液过 0.22 μm 滤膜至进样瓶,上机检测。色谱条件:ZORBAX Eclipse AAA(4.6 mm×150 mm, 3.5 μm);检测信号:紫外 338 nm(0~19 min),266 nm(19.01~25 min);流动相 A:40 mmol/L 磷酸二氢钠(pH7.8);流动相 B:乙腈/甲醇/水=45/45/10;柱温 45 ℃;流速:1.0 mL/min;进样量 1 μL。梯度洗脱程序:0~1 min, 0% B;1~23 min, 0%~57% B;23~27 min, 57%~100% B;27~34 min, 100% B;34~40 min, 100%~0% B;40~41 min, 0% B。

1.2.8 挥发性风味物质分析 参考 Ruan 等[15]方法,稍作修改。采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱(HS-SPME-GC-MS)法测定样液的挥发性代谢物。取茶样 2 mL 置于 15 mL 的顶空瓶中,加入 20 μL 正己烷(10 μg/mL)和 1 g 氯化钠,将顶空瓶放于 60 ℃ 水浴锅中恒温 30 min,使用 120 μm DVB/CWR/PDMS 萃取头插入样品顶空瓶,保温萃取 15 min,于 250 ℃ 解析 5 min,经 GC-MS 分离鉴定。

GC 条件:DB-5MS(30 m×0.25 mm×0.25 μm),载气为高纯氦气(纯度不小于 99.999%),流速 1.2 mL/min,进样口温度 250 ℃。程序升温:40 ℃ 保持 3.5 min,以 10 ℃/min 速度升至 100 ℃,再以

7 ℃/min 升至 180 ℃，最后以 25 ℃/min 升至 280 ℃，保持 5 min。

定性/定量分析：将测得的未知化合物质谱图与 NIST 标准质谱库（NIST 20）进行比对，选择匹配度（Similarity）大于 80% 的物质，并结合色谱保留时间进行初步鉴定。为校正样品前处理及仪器分析过程中的潜在误差，采用内标法进行半定量分析。目标挥发性化合物的相对含量以“μg/mL 样品，以内标当量计”表示，计算公式如下：

$$\text{目标化合物相对含量} = \frac{B_h}{B_f} \times \frac{C_f \times V_f}{M_i} \qquad \text{式（11）}$$

式中：B_h 为目标化合物的色谱峰面积；B_f 为内标物的色谱峰面积；C_f 为加入的内标物溶液浓度（μg/μL）；V_f 为加入的内标物体积（μL）；M_i 为样品量（mL）。

基于挥发性物质含量，气味活性值计算公式如下：

$$\text{物质的气味活度值}(OAV_i) = \frac{C_i}{T_i} \qquad \text{式（12）}$$

式中：C_i：物质在样本中的浓度；T_i 物质的嗅觉阈值。

1.2.9　感官评价　茶汤的感官审评参照 GB/T 23776-2018《茶叶感官审评方法》和相关文献 [16]，并针对液态发酵茶汤的特性进行修改。审评员（n=12，6 男 6 女，年龄 25~40 岁）均经过专业培训，熟悉发酵茶的风味特征且感官灵敏度测试合格。审评前，将离心后的茶汤上清液置于恒温水浴锅中重新加热至 55±5 ℃。取 10 mL 茶汤于标准审评杯中，由审评员独立进行盲评（样品随机编号）（表 1）。

1.3　数据处理

所有试验均独立重复 3 次，实验结果以平均值±标准差表示。使用 Microsoft Excel 2016 进行数据整理和初步计算。采用 IBM SPSS Statistics 27 软件进行单因素方差分析（One-way ANOVA）和组间显著性检验，显著性水平设为 $P<0.05$。使用 Origin 2022 和 GraphPad Prism 10.1.2 软件进行图形绘制。通过迈维云平台（https://cloud.metware.cn）对挥发性代谢物分析。为有效区分不同发酵处理组间挥发性代谢物的整体差异并筛选关键差异代谢物，进行了正交偏最小二乘法判别分析（Orthogonal Partial Least Squares-Discriminant Analysis, OPLS-DA）。

2　结果与分析

2.1　茶样可溶性总糖、多糖及还原糖含量测定结果

对比不同处理组可溶性总糖、多糖及还原糖含量，结果如图 1 所示。不同处理组还原糖含量表现为 GY>CK>GS>SO（$P<0.05$），GY 组还原糖含量最高为 1.88±0.03 mg/mL，分析是因为冠突曲霉在代谢过程分泌的酶系作用促进还原糖的产生，进而提升茶汤回甘滋味[17]。多糖含量表现为 CK>GY>SO≈GS，茶汤发酵过程中，微生物不断转化大分子糖类物质，结果显示 GS 组多糖含量最低（0.61±0.04 mg/mL），分析可能是在复合微生物协同作用下，加快了多糖的转化和消耗。相较于 CK 组，各发酵组的可溶性总糖表现为减少，其中 SO 组总糖含量最低，微生物生长代谢过程中不断利用和转化糖原物质，形成有机酸、风味物质（酯类、酮类）等[18]。

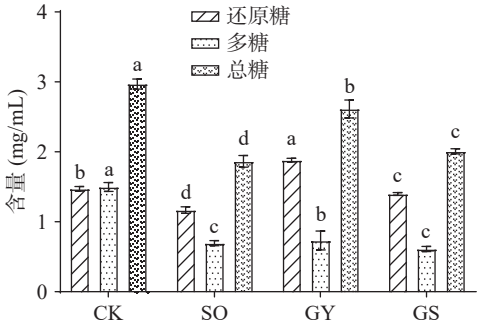


图 1　茶样可溶性总糖、多糖及还原糖含量

Fig.1　Contents of total soluble sugar, polysaccharide, and reducing sugar in tea samples

注：柱状图中不同小写字母表示具有显著差异（$P<0.05$），字母相同表示差异不显著；图 2~图 3 同。

表 1　发酵茶汤感官评价评分标准

Table 1　Sensory evaluation scoring criteria for fermented tea soup

评价指标	评分标准与描述语	得分（分）
汤色	色泽深浓（如红褐、橙红），透亮，油润感强，无沉淀 色泽尚浓，较为明亮，略有油润感，轻微沉淀 色泽浅淡，明亮度一般，油润感弱，有可见悬浮物 色泽灰暗，浑浊，或有异常色变	20~25 15~19 10~14 <10
香气	菌香、甜香、陈香浓郁纯正，无任何异杂气，香气协调持久 菌香、甜香明显但稍欠浓郁，或略带火功香/青气，协调性较好 香气平淡，特征香不明显，或有轻微酸气、闷气等异杂气 香气低淡，或有显著酸馊味、霉味、腐败味等令人不愉悦的气味	25~30 20~24 15~19 <15
滋味	醇厚顺滑，回甘强劲持久，风味饱满协调，无苦涩味或异味 滋味较醇和，有回甘，但厚度或持久性稍欠，或略带轻微可接受的苦涩 滋味淡薄，略有酸味或水味，协调性差，回甘弱 滋味粗淡，酸涩味重，或有明显的霉味、异味，令人不愉悦	30~35 25~29 20~24 <20
组织状态	口感浓稠、滑口，有米汤感或胶质感，无任何颗粒感或涩口感。口感尚顺滑，稠度一般，略有轻微颗粒感或涩感；口感单薄如水，或有明显的粗糙感、颗粒感、收敛性过强；口感粗糙，涩口，或有可见杂质感	8~10 6~7 4~5 <4

2.2 茶样总多酚和总黄酮含量测定结果

对比不同处理组总多酚和总黄酮含量，如图 2 所示。相较于 CK 组，GY 组的总多酚（3.08±0.01 mg/mL）和总黄酮（4.01±50.13 mg/mL）含量表现为增加且为大于其余处理组（P<0.05），有研究表明冠突曲霉在发酵过程中能够分泌纤维素酶、果胶酶等水解酶，破坏茶叶细胞壁结构，释放结合态的多酚和黄酮类物质（如酯型儿茶素、黄酮苷等）[19]，也可能合成新的酚类衍生物，进一步增加总多酚的复杂性。SO、GS 组总多酚（SO：2.51 mg/mL，GS：2.69 mg/mL）和总黄酮含量（SO：3.10 mg/mL，GS：3.30 mg/mL）相对较低，枯草芽孢杆菌代谢过程中分泌的蛋白酶、氧化酶（如多酚氧化酶）可能催化多酚类物质的氧化聚合（如儿茶素转化为茶褐素），并分解黄酮苷为无活性的苷元，导致总含量下降[20]，其中，总多酚和总黄酮含量分别下降 11.96%、18.71%。

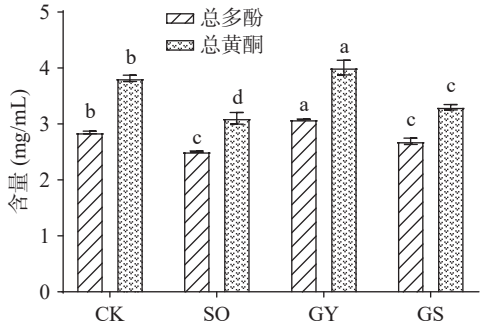


图 2 茶样总多酚和总黄酮含量结果

Fig.2 Results of total polyphenols and total flavonoids in tea samples

2.3 茶样的茶色素及色度分析

由图 3（A）分析知，茶褐色和茶红素为主要茶色素，而茶黄素含量最低。其中茶褐素含量表现为 GY≈GS>CK>SO，分析是冠突曲霉在发酵过程中分泌多酚氧化酶（PPO）、过氧化物酶（POD）等氧化酶类，催化茶多酚（如儿茶素、黄酮类）发生氧化聚合，生成茶褐素等大分子化合物[21]，因此 GY、GS 组茶褐素含量较高，近年研究表明，茶褐素具有多种生物活性，尤其在调节代谢和肠道菌群方面作用显著[22−23]。与 CK 组相比，各处理组茶红素含量均减少，推测是茶红素作为中间产物在 PPO、POD 等酶系作用下被转化为茶褐素或降解为低分子化合物（如酚酸类物质），作为碳源参与微生物代谢[9]。此外，茶黄素含量普遍较低，且含量变化不明显。对比不同处理组色差值（图 3（B）），以对照组茶汤色为基准，SO 组茶汤颜色更亮，绿色、黄色增加，GY 和 GS 组茶汤颜色变暗，红色、蓝色增加。对比整体色差（ΔE）变化，GY 和 GS 组变化更为明显，SO 组次之。

2.4 茶样活性成分相关性分析

基于理化指标测定结果，对茶色素、色差值及总多酚等指标进行相关性分析，结果如图 4 所示。茶

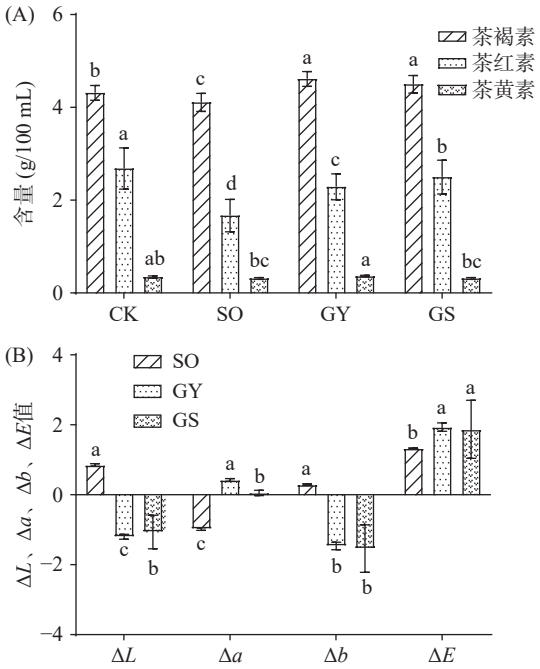


图 3 茶样茶色素（a）及色差值（b）结果

Fig.3 Results of tea pigments (a) and color difference values (b) in tea samples

注：ΔL、Δa、Δb 表示样品与对照组之间的颜色差异，而 ΔE 是总色差，综合反映颜色变化的程度。ΔL 的+值和−值代表了茶叶的明、暗色调；Δa 的+值和−值分别代表了红、绿色调；Δb 的+值和−值分别代表了黄、蓝色调。

汤发酵是一个复杂的生化反应过程，相关性分析表明，茶褐素与 ΔL、Δb 呈极显著负相关（P<0.01），与 Δa 呈极显著正相关（P<0.01），说明茶褐素的积累导致茶汤颜色变暗，且黄色减少、红色增加；同时，茶褐素、茶红素、茶黄素与总多酚、总黄酮、总糖呈现正相关，研究指出茶褐素的积累依赖总多酚的氧化，在此阶段，若总多酚的氧化速率与茶色素生成速率同步，且未被完全消耗，可能出现总多酚与色素的同步积累[24]；微生物酶解作用将黄酮糖苷（如芦丁、槲皮素葡萄糖苷）水解为游离黄酮苷元，部分苷元可能参与茶色素的聚合反应，此过程中，总黄酮和茶色素可能呈现阶段性正相关[25]。

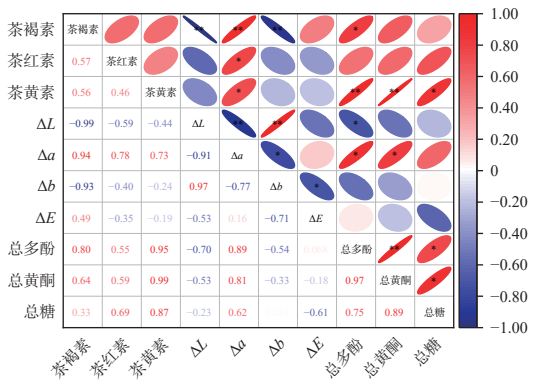


图 4 茶样活性成分相关性分析

Fig.4 Correlation analysis of active components in tea samples

注：*P<0.05；**P<0.01。

2.5　茶样抗氧化能力分析

本研究根据 DPPH、ABTS$^+$自由基清除能力比较不同组茶样的抗氧化活性。由图 5 分析知，各组茶样 DPPH 自由基清除能力表现为 GY(IC_{50}=0.0268 mg/mL)>CK(IC_{50}=0.0306 mg/mL)≈GS(IC_{50}=0.0315 mg/mL)>SO(IC_{50}=0.0363 mg/mL)，统计分析表明：GY 组显著大于 CK、GS 组(P<0.05)，CK、GS 组差异不显著，GS 组显著大于 SO 组(P<0.05)；ABTS$^+$自由基清除能力表现为 GY(IC_{50}=0.0657 mg/mL)>GS(IC_{50}=0.0720 mg/mL)>CK(IC_{50}=0.0845 mg/mL)>SO(IC_{50}=0.1001 mg/mL)，统计分析表明：各处理组均具有显著性差异(P<0.05)。综合抗氧化能力，GY 组表现最佳，其次为 GS 和 CK 组，结合理化分析结果，茶样抗氧化活性与茶多酚、茶色素等多种物质呈正相关[26]。

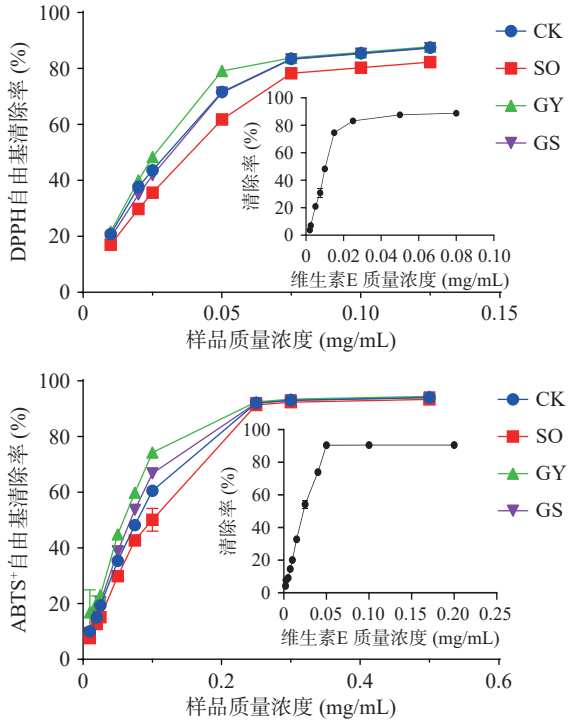


图 5　茶样抗氧化活性测定

Fig.5　Determination of antioxidant activity of tea samples

2.6　茶样主要多酚类化合物及生物碱含量分析

基于 HPLC 测定各组茶样主要多酚化合物和茶碱含量，结果如表 2 所示。相较于 CK 组，SO 组除了没食子儿茶素，其他多酚化合物含量均减少，可能是芽孢杆菌分泌的胞外酶(如多酚氧化酶、水解酶等)，分解茶多酚的酯键或糖苷键，导致多酚类物质被降解为小分子酚酸，与唐双庆等[27]报道相似。GY 和 GS 组多酚含量呈显著性变化(P<0.05)，其中，没食子酸(增幅 209.55%~228.51%)、没食子儿茶素(增幅 34.83%~95.49%)、表没食子儿茶素(增幅 19.70%~36.15%)、儿茶素(增幅 19.67%~36.29%)、表儿茶素(增幅 58.13%~85.81%)含量明显增加，而表没食子儿茶素没食子酸酯、没食子儿茶素没食子酸酯、表儿茶素没食子酸酯、儿茶素没食子酸酯四个多酚单体含量显著减少(降幅 90% 以上)，这一现象可能源于不同微生物代谢途径对多酚化合物的差异化调控，例如，Zhu 等[28]的研究表明，冠突曲霉(*Aspergillus cristatus*)在茯砖茶发酵过程中可通过生物转化作用，将酯型儿茶素(如 EGCG、ECG 等)分解为游离型儿茶素和没食子酸，从而显著提升后者含量。类似地，李学震等[29]发现冠突曲霉代谢产生的胞外酶可特异性靶向多酚的酯键，导致酯型多酚的降解与非酯型多酚的积累，这一机制与本研究中 GY/GS 组的变化趋势吻合。生物碱方面，咖啡碱和茶碱的含量也受到发酵影响。与 CK 组相比，GY 和 GS 组的咖啡碱含量显著增加(增幅 2.77%~17.08%)，而茶碱含量在 GY 组略有增加，在 GS 组则略有降低。

2.7　茶样氨基酸含量分析

基于 HPLC 分析，共检测出 24 种氨基酸种类，本研究按照茶汤中氨基酸呈味特性，将其分为鲜味、

表 2　不同组茶样中多酚化合物及茶碱含量(μg/mL)

Table 2　Contents of polyphenolic compounds in different groups of tea samples (μg/mL)

化合物	保留时间(min)	回归方程	多酚化合物含量			
			CK	SO	GY	GS
没食子酸	2.932	y=17.986x-1.5765	257.97±1.94^c	241.00±0.34^d	847.45±0.24^a	798.55±0.33^b
茶碱	4.585	y=17.265x+8.1089	6.32±0.01^a	5.70±0.00^c	6.63±0.01^a	5.89±0.01^b
没食子儿茶素	4.949	y=1.3634x+0.1094	442.58±1.33^d	523.59±3.38^c	865.19±1.36^a	596.73±9.08^b
咖啡碱	7.132	y=16.168x+10.819	932.49±0.50^b	849.62±0.20^c	1091.78±0.75^a	958.30±0.24^b
表没食子儿茶素	7.682	y=1.2574x+1.9631	986.63±0.76^c	872.95±6.90^d	1343.34±13.39^a	1180.96±0.51^b
儿茶素	8.393	y=3.9183x+0.0383	317.11±0.24^c	280.63±2.21^d	431.57±4.3^a	379.47±0.16^b
表儿茶素	11.350	y=4.7531x+11.356	178.88±0.10^c	157.66±0.12^d	332.38±0.06^a	282.87±0.16^b
表没食子儿茶素没食子酸酯	14.234	y=9.2547x−11.4100	294.37±0.35^a	212.90±0.13^b	8.40±0.10^c	6.91±0.06^c
没食子儿茶素没食子酸酯	15.227	y=9.1452x−8.5647	313.42±0.26^a	216.12±0.16^b	7.29±0.16^c	3.36±0.02^d
表儿茶素没食子酸酯	16.446	y=9.8038x+8.0827	214.68±3.08^a	156.27±0.47^b	21.39±0.13^c	19.30±0.06^d
儿茶素没食子酸酯	17.090	y=10.614x+3.423	173.76±0.10^a	130.68±12.01^b	11.40±0.11^c	10.42±0.04^c
总含量			4118.21±5.38^c	3647.12±6.08^d	4966.82±17.34^a	4242.76±10.06^b

注：同行不同字母表示具有显著性差异，P<0.05；表3~表5同。

甜味、苦味、酸味氨基酸四类，如表 3 所示。结果显示，微生物发酵并未明显改变鲜味氨基酸和酸味氨基酸含量（SO 组鲜味氨基酸含量略微增加，GY、GS 组略微减少），而甜味氨基酸、苦味氨基酸含量变化较为显著。相较于 CK 组，芽孢杆菌单菌发酵组（SO）甜味氨基酸增加 63.66%，苦味氨基酸增加 65.61%，有研究表明，芽孢杆菌可通过分泌蛋白酶、淀粉酶等胞外酶，加速蛋白质水解和糖类代谢，促进甜味氨基酸（如甘氨酸、丙氨酸）的生成；同时，其代谢途径可能激活苦味氨基酸（如苯丙氨酸、亮氨酸）的合成或释放[30−31]；冠突曲霉单菌发酵组（GY）两类氨基酸分别减少至 86.69 和 73.66 mg/L；而通过两菌协同发酵后（GS），甜味氨基酸、苦味氨基酸表现为增加（141.59、129.01 mg/L），可能是芽孢杆菌主导的蛋白质水解为冠突曲霉提供前体物质，冠突曲霉通过氧化还原反应调节氨基酸平衡，最终表现为甜味和苦味氨基酸的适度积累[28,32]。

2.8 茶样挥发性风味物质分析

本研究利用 HS-SPME-GC-MS 对样品组的挥发性成分进行半定量分析，结果如表 4 及图 6 所示。选取匹配度>80% 的物质为代表，在全部样本中共检测到 1336 种挥发性代谢物，包括醇类 120 种、醛类 85 种、酸类 73 种、酯类 247 种、酮类 149 种、萜类 256种及其他代谢成分 405 种。分析发现，茶汤样本

表 3 茶样中游离氨基酸含量（mg/L）

Table 3 Free amino acid contents in tea samples (mg/L)

氨基酸		回归方程	游离氨基酸含量			
			CK	SO	GY	GS
鲜味氨基酸	天冬氨酸	y=441.3851x+3.1785	32.75±0.14^{a}	30.99±0.01^{b}	27.34±0.25^{c}	26.35±0.21^{c}
	谷氨酸	y=447.2752x+4.8666	30.81±0.20^{c}	37.62±0.38^{a}	24.78±0.58^{d}	32.43±0.01^{b}
甜味氨基酸	天冬酰胺	y=372.1462x−3.7474	14.44±0.01^{a}	12.40±0.01^{b}	9.10±0.18^{c}	7.75±0.05^{d}
	丝氨酸	y=505.6397x+3.2784	7.88±0.01^{a}	8.15±0.08^{a}	5.37±0.04^{d}	6.87±0.00^{c}
	谷氨酰胺	y=408.8147x−3.1230	0.76±0.01^{c}	0.82±0.00^{c}	1.03±0.00^{b}	2.45±0.00^{a}
	甘氨酸	y=496.7866x+0.0541	3.47±0.11^{b}	15.31±0.07^{a}	3.45±0.00^{b}	15.06±0.09^{a}
	苏氨酸	y=539.2383x+4.0820	5.32±0.19^{c}	11.63±0.02^{a}	3.09±0.00^{d}	9.33±0.01^{b}
	丙氨酸	y=523.3878x+4.8028	8.19±0.03^{b}	16.78±0.05^{a}	6.36±0.05^{c}	15.76±0.11^{a}
	羟脯氨酸	y=5931.8015x−59.4211	44.53±0.44^{c}	73.8±0.29^{a}	41.56±0.26^{c}	59.27±0.92^{b}
	肌氨酸	y=5923.5651x−74.4132	18.75±0.21^{b}	24.69±0.25^{a}	12.07±0.08^{d}	16.01±0.05^{c}
	脯氨酸	y=5656.7433x+53.9334	4.74±0.09^{c}	13.3±0.96^{a}	4.66±0.02^{c}	9.09±0.03^{b}
	组氨酸	y=150.0858x+1.0817	38.82±0.35^{a}	35.41±0.46^{b}	30.92±0.89^{c}	30.36±0.03^{c}
	瓜氨酸	y=376.9530x−3.9784	4.22±0.31^{bc}	4.54±0.04^{ab}	4.02±0.34^{c}	4.70±0.01^{a}
	精氨酸	y=536.1642x+0.1243	16.8±0.38^{a}	17.36±0.03^{a}	8.77±0.49^{c}	9.31±0.45^{b}
	酪氨酸	y=454.5777x+4.5268	3.99±0.01^{d}	10.43±0.47^{a}	4.55±0.13^{c}	9.60±0.00^{b}
	缬氨酸	y=499.8321x+5.2129	7.37±0.02^{b}	21.29±0.26^{a}	6.34±0.70^{b}	20.94±0.12^{a}
苦味氨基酸	蛋氨酸	y=517.4201x+2.4366	1.43±0.29^{a}	1.05±0.01^{b}	ND	1.08±0.16^{b}
	正缬氨酸	y=286.8135x+19.1514	2.2±0.07^{a}	1.45±0.06^{b}	1.11±0.00^{c}	0.96±0.13^{c}
	色氨酸	y=354.9660x−4.0920	5.73±0.24^{c}	8.45±0.02^{a}	5.17±0.02^{d}	7.33±0.10^{b}
	苯丙氨酸	y=447.3178x+11.0189	4.91±0.08^{c}	15.06±0.66^{a}	2.57±0.01^{d}	9.93±0.17^{b}
	异亮氨酸	y=476.0415x+1.7279	7.27±0.02^{c}	10.74±0.68^{b}	6.62±0.02^{d}	11.25±0.09^{a}
	赖氨酸	y=750.2950x−4.5283	3.10±0.05^{c}	19.65±0.09^{a}	2.34±0.00^{d}	16.01±0.04^{b}
	亮氨酸	y=494.1372x+0.9965	2.72±0.07^{c}	17.8±0.10^{a}	1.25±0.01^{d}	7.54±0.14^{b}
酸味氨基酸	γ-氨基丁酸	y=3.9696x+3.4417	1.23±0.08^{bc}	1.66±0.05^{a}	1.36±0.03^{ab}	1.25±0.11^{bc}
总氨基酸			271.43±0.22^{c}	410.38±0.54^{a}	213.83±2.60^{b}	330.63±0.54^{b}

注：“ND”表示未检出。

表 4 茶样中挥发性风味物质含量（μg/mL）

Table 4 Volatile flavor compounds content in tea samples (μg/mL)

物质种类	CK	GY	SO	GS
醇类	11.61±0.22^{b}	11.38±0.33^{b}	11.24±0.38^{b}	12.33±0.18^{a}
醛类	8.40±0.21^{a}	8.56±0.14^{a}	8.45±0.25^{a}	8.49±0.56^{a}
酸类	3.58±0.10^{ab}	3.42±0.13^{b}	3.46±0.13^{b}	3.70±0.05^{a}
酯类	14.09±0.37^{b}	13.87±0.51^{c}	13.83±0.50^{c}	15.24±0.17^{a}
酮类	16.83±0.16^{b}	16.76±0.43^{b}	16.80±0.50^{b}	17.73±0.33^{a}
萜类	22.27±0.72^{b}	21.99±0.78^{b}	21.97±0.80^{b}	23.71±0.05^{a}
烃类	3.90±0.19^{b}	3.85±0.23^{b}	3.91±0.24^{b}	4.30±0.21^{a}
醚类	1.10±0.05^{b}	1.09±0.04^{b}	1.08±0.07^{b}	1.21±0.01^{a}
酚类	1.89±0.07^{b}	1.87±0.07^{b}	1.87±0.07^{b}	2.02±0.01^{a}
杂环化合物	9.29±0.27^{b}	9.00±0.29^{c}	9.08±0.29^{c}	9.78±0.16^{a}
其他	5.10±0.14^{b}	5.04±0.17^{b}	4.96±0.15^{b}	5.61±0.08^{a}

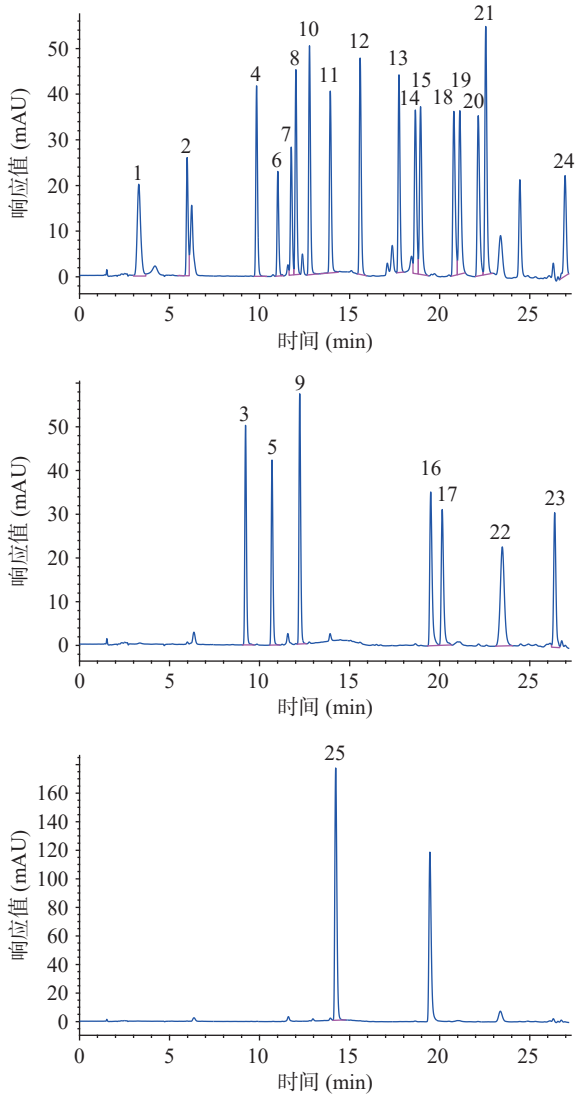


图 6　氨基酸的检测分析谱图

Fig.6　Detection and analysis spectrum of amino acids

注：除羟脯氨酸 Hyp、肌氨酸、脯氨酸 Pro 使用紫外 266 nm 检测外，其他氨基酸使用紫外 338 nm 检测。1-天冬氨酸 Asp, 2-谷氨酸 Glu, 3-天冬酰胺 Asn, 4-丝氨酸 Ser, 5-谷氨酰胺 Gln, 6-组氨酸 His, 7-甘氨酸 Gly, 8-苏氨酸 Thr, 9-瓜氨酸 Cit, 10-精氨酸 Arg, 11-丙氨酸 Ala, 12-酪氨酸 Tyr, 13-半胱氨酸 Cys, 14-缬氨酸 Val, 15-蛋氨酸 Met, 16-正缬氨酸 Nva, 17-色氨酸 Trp, 18-苯丙氨酸 Phe, 19-异亮氨酸 Ile, 20-亮氨酸 Leu, 21-赖氨酸 Lys, 22-羟脯氨酸 Hyp, 23-肌氨酸 Sar, 24-脯氨酸 Pro, 25-γ-氨基丁酸 Gaba。20-亮氨酸因低于定量限，未列入表 3 定量结果。

中(所有样本)主要挥发性物质为(Z)-3,7-二甲基-2,6-辛二醛、4-(1-甲基乙基)-2-环己烯-1-酮、4-己烯-3-酮(E)-2-己烯醛、丙酸香茅酯等。差异比较：GY 组和 SO 组的醇类(GY：11.38 μg/mL, SO：11.24 μg/mL)、酯类(GY：13.87 μg/mL, SO：13.83 μg/mL)、萜类(GY：21.99 μg/mL, SO：21.97 μg/mL)等主要风味物质含量与 CK 组(醇类 11.61 μg/mL、酯类 14.09 μg/mL、萜类 22.27 μg/mL)相比无显著提升，部分物质甚至轻微降低(如酸类 GY 组 3.42 μg/mL vs CK 组 3.58 μg/mL)，说明单一菌种发酵对风味物质积累的促进作用有限。复合发酵组(GS)与 CK 组比较，GS 组各类风味物质含量均显著高于 CK 组(P<0.05)，其中：醇类(12.33 μg/mL)增加 6.24%，酯类(15.24 μg/mL)增加 8.16%，酮类(17.73 μg/mL)增加 5.35%，萜类(23.71 μg/mL)增加 6.46%，杂环化合物(9.78 μg/mL)增加 5.28%，醚类(1.21 μg/mL)、酚类(2.02 μg/mL)等其他物质增幅达 7.17%~10.19%。GS 组中萜类物质增幅显著，这与冠突曲霉分泌的单加氧酶和糖苷水解酶密切相关，研究表明，该类酶可催化茶叶中萜烯糖苷水解，释放芳樟醇、香叶醇等萜烯类香气物质[33]。SO 组中酯类合成效率较低(减少 1.85%)，反映其单独作用时酯化能力不足，枯草芽孢杆菌虽能分泌脂肪酶催化酯化反应，但缺乏足够的醇类前体[34]。复合发酵具有协同增效，GS 组风味物质全面增长的核心机制在于两类菌的代谢互补：冠突曲霉通过 β-葡萄糖苷酶水解糖苷键，释放萜烯醇和苯乙醇等醇类前体；枯草芽孢杆菌则利用酯合成酶将游离酸与醇类结合，高效合成酯类(如乙酸苯乙酯)[35]。该结果为毛茶风味定向调控提供了菌种协同理论依据。

基于气味活性值(OAV)的深入分析显示(表 5)，样品组共检测到 102 个挥发性成分的相对气味活性值(OAV)>1，其中 CK 组有 91 个物质、GY 组有 94 个物质、SO 组有 98 个物质、GS 组有 98 个物质(仅展示部分物质)。核心香气物质中，5-乙基-3-羟基-4-甲基-2(5H)-呋喃酮(OAV=365700.33~399058.11)、β-紫罗兰酮(OAV=28744.09~29608.05)、1-壬烯-3-酮(OAV=3654.31~5366.44)、(E,Z)-2,6-壬二烯醛(OAV=4110.44~4561.55)、8-壬烯醛(OAV=1733.11~1927.75)等物质占比最高，酮类物质可能是整体香气的核心(占 OAV 总量 78.3%)，奠定甜香基调(如 β-紫罗兰酮常与水果和花香特征关联)，醛类(16.1%)提供清新平衡[36]，二者构成毛茶主体香气。与 CK 组相比，GY、SO 和 GS 组新增异硫氰酸苯甲酯(芥末辛辣、萝卜硫香)、藏红花醛(药草香、烟熏香)、2-甲基丙酸-2-甲基丁酯(果香)等高贡献物质，其中，GS 组中异硫氰酸苯甲酯 OAV 达 50.77，较 GY 组(OAV=12.17)和 SO 组(OAV=1.01)提升 3.17~49.26 倍(P<0.01)，可能为复合发酵通过硫苷水解-酯化偶联反应(冠突曲霉水解硫苷+枯草芽孢杆菌催化酯化)大幅提升该物质；GS 组中 1-壬烯-3-酮(OAV=5366)显著高于 CK 组(OAV=3654)，增幅 46.85%，可能源于冠突曲霉 β-氧化途径激活亚油酸降解[37]。此外，GS 组较其余发酵组还新增古巴烯(木香)、2-(1-甲基乙基)苯酚(烟熏香)两种高贡献物质，从整体含量分析，GS 组挥发性代谢物总量较对照组增加 6.18%。上述结果证实，复合微生物发酵通过调控酮类、醛类及酯类代谢网络，显著提升了香气层次与品质(P<0.05)，为发酵风味优化提供了理论依据。

利用正交偏最小二乘法判别分析法(OPLS-DA)对所有样本组进行展示，各组样本可以明显区分

表 5　挥发性风味关键物质 OAV 值(OAV>1)

Table 5　OAV values of key volatile flavor compounds (OAV>1)

	物质	CAS	阈值(μg/kg)[38]	风味特征描述[6,38]	CK	GY	SO	GS
醇	2,6-壬二烯-1-醇	28069-72-9	0.001	青香、黄瓜皮、甜瓜香气	815.63±16.69^{b}	795.35±22.63^{c}	796.23±25.77^{c}	860.41±9.31^{a}
	苯甲硫醇	100-53-8	0.0000035	大蒜、硫化物气味	643.42±47.3^{c}	755.69±23.63^{b}	742.91±71.02^{b}	764.66±87.5^{a}
	二甲萘烷醇	19700-21-1	0.00021	木香、壤香、轻微药草香	8.54±0.27^{c}	8.54±0.23^{c}	8.76±0.52^{b}	9.18±0.73^{a}
	(E)-2-辛烯-1-醇	18409-17-1	0.02	蘑菇、泥土、油脂气息	2.15±0.08^{b}	2.12±0.07^{b}	2.12±0.05^{b}	2.31±0.1^{a}
醛	(E,Z)-2,6-壬二烯醛	557-48-2	0.00001	清新黄瓜、紫罗兰叶、蔬菜青香	4275.62±113.69^{b}	4133.98±105.73^{c}	4110.44±110.75^{c}	4561.55±25.3^{a}
	8-壬烯醛	39770-04-2	0.0002	脂肪香、柑橘皮、蜡质气息	1733.11±13.86^{b}	1779.81±36.80^{b}	1747.08±38.1^{b}	1927.75±33.36^{a}
	(E)-2-己烯醛	6728-26-3	0.0031	青草、苹果、绿叶香气	886.7±41.44^{b}	903.86±7.97^{a}	891.29±24.99^{b}	846.17±83.16^{c}
	(E)-2-壬烯醛	18829-56-6	0.00008	脂肪香、黄瓜、蜡质气息	408.01±10.22^{b}	391.87±11.22^{c}	390.88±10.1^{c}	426.98±3.39^{a}
	2-壬烯醛	2463-53-8	0.0001	脂肪香、柑橘香	326.41±8.17^{b}	313.5±8.97^{c}	312.7±8.08^{c}	341.58±2.71^{a}
	2,4-壬二烯醛	6750-03-4	0.00005	脂肪香、油炸香气、鸡肉汤香味	264.3±17.56^{b}	284.96±19.58^{b}	243.33±20.3^{c}	323.96±16.34^{a}
	4-甲氧基苯甲醛	123-11-5	0.0002	花香、山楂花、杏仁香气	175.61±4.42^{b}	172.66±4.87^{b}	171.35±4.67^{b}	188.28±1.92^{a}
	2-己烯醛	505-57-7	0.017	青叶、苹果皮香气	159.96±7.4^{b}	163.78±1.42^{a}	161.61±4.49^{ab}	152.89±14.79^{c}
	2-辛烯醛	2363-89-5	0.0002	脂肪香、坚果香、蘑菇香气	95.64±27.27^{c}	110.87±7.81^{b}	116.39±20.71^{ab}	119.19±15.16^{a}
	3-甲基戊醛	15877-57-3	0.00041	麦芽香、巧克力、可可香气	114.26±2.84^{a}	108.34±4.91^{b}	107.9±4.63^{b}	115.36±6.49^{a}
	(E,E)-2,4-壬二烯醛	5910-87-2	0.00016	脂肪香、油炸香气	82.59±5.49^{b}	89.05±6.12^{b}	76.04±6.34^{c}	101.24±5.11^{a}
	(E,E)-2,6-壬二烯醛	17587-33-6	0.0005	青香、黄瓜、紫罗兰叶香气	85.51±2.27^{b}	82.68±2.11^{c}	82.21±2.22^{c}	91.23±0.51^{a}
	苯乙醛	122-78-1	0.0063	紫丁香、甜润的花香,略带蜂蜜香	0.71±0.04^{c}	0.77±0.05^{c}	1.38±0.07^{a}	0.97±0.08^{b}
萜类	*β*-紫罗兰酮	14901-07-6	0.000007	紫罗兰、木香、浆果果香	29512.01±1496.19^{a}	28744.09±1300.41^{c}	29273.23±2096.88^{b}	29608.05±287.97^{a}
	(E)-*β*-紫罗兰酮	79-77-6	0.0002	紫罗兰、木香	1032.92±52.37^{a}	1006.04±45.51^{c}	1024.56±73.39^{b}	1036.28±10.08^{a}
	左旋龙脑	464-45-9	0.048	樟脑、药草、松针香气	29.13±0.82^{a}	28.37±0.79^{a}	28.39±0.77^{a}	30.93±0.66^{a}
	D-香芹酮	2244-16-8	0.01	葛缕子、莳萝籽的辛香香气	13.32±0.43^{a}	12.97±0.44^{b}	12.88±0.45^{b}	13.93±0.16^{a}
	古巴烯	3856-25-5	0.006	木香、辛香	0.03±0.03^{c}	0.29±0.03^{a}	0.03±0.00^{c}	1.78±0.07^{b}
	L-小茴香酮	7787-20-4	0.11	樟脑、茴香、凉感药草香气	1.17±0.01^{d}	1.56±0.06^{b}	1.39±0.04^{c}	1.77±0.03^{a}
	左旋-香芹酮	6485-40-1	0.085	留兰香、薄荷香气	1.57±0.05^{b}	1.53±0.05^{b}	1.52±0.05^{b}	1.64±0.02^{a}
	藏红花醛	116-26-7	0.003	药草香、辛香	0.84±0.04^{c}	1.28±0.11^{b}	1.24±0.07^{b}	1.53±0.04^{a}
	柠檬烯	138-86-3	0.01	柑橘、橙子皮香气	1.12±0.04^{b}	1.29±0.09^{a}	1.43±0.05^{a}	1.30±0.14^{a}
	3,7,11-三甲基-1,6,10-十二碳三烯-3-醇	7212-44-4	0.01	花香、木香、青苹果皮香气	1.28±0.01^{b}	1.01±0.15^{c}	1.37±0.22^{a}	1.27±0.17^{b}
	香叶醇	106-24-1	0.0066	玫瑰花香、香叶香气	3.61±0.12^{b}	0.76±0.11^{c}	4.78±0.21^{a}	0.25±0.02^{c}
酮	5-乙基-3-羟基-4-甲基-2(5H)-呋喃酮	698-10-2	0.000002	焦糖甜香、槭糖浆、坚果香	377522.54±8240.11^{b}	365700.33±12329.81^{c}	368382.65±14346.48^{c}	399058.11±6501.04^{a}
	1-壬烯-3-酮	24415-26-7	0.000001	蘑菇、壤香、油脂气息	3654.31±931.4^{d}	4225.78±403.93^{c}	4797.49±1102.7^{b}	5366.44±919.63^{a}

续表 5

	物质	CAS	阈值(μg/kg)[38]	风味特征描述[6,38]	CK	GY	SO	GS
酯	6-甲基-2-庚酮	928-68-7	0.0081	水果香、甜香、乙酸异戊酯似的气息	210.44±6.27^{b}	205.98±4.21^{b}	206.79±4.11^{b}	220.91±6.37^{a}
	4-庚酮	123-19-3	0.0082	水果甜香、香蕉香气	64.71±3.15^{a}	65.32±0.65^{a}	64.41±1.57^{a}	61.57±6.2^{b}
	(Z)-3-甲基-2-(2-戊烯基)-2-环戊烯-1-酮	488-10-8	0.00026	茉莉花、水果香气	22.73±2.33^{b}	20.35±0.87^{c}	22.18±0.69^{b}	24.71±0.86^{a}
	5-乙基-2(5H)-呋喃酮	2407-43-4	0.0097	焦糖香、果香、面包香	10.39±0.22^{a}	10.17±0.21^{a}	10.12±0.24^{a}	10.86±0.29^{a}
	四氢-6-甲基-2H-吡喃-2-酮	823-22-3	0.02683	奶油、焦糖、内酯类甜香	6.55±0.02^{b}	6.70±0.14^{b}	6.69±0.19^{b}	7.21±0.15^{a}
	1-(2-噻吩基)乙酮	88-15-3	0.001	炒咖啡、坚果、烤肉香气	3.40±0.25^{c}	4.24±0.32^{b}	4.37±0.13^{b}	5.39±0.59^{a}
	4-(2,6,6-三甲基-2-环己烯-1-基)-2-丁酮	31499-72-6	0.0017	木香、浆果果香、紫罗兰香	2.17±0.26^{b}	2.19±0.16^{b}	2.33±0.3^{ab}	2.42±0.16^{a}
	3-巯基乙酸酯	136954-20-6	0.00002	硫磺、肉香、洋葱香气	196.32±1.63^{ab}	190.36±5.86^{b}	188.19±3.13^{c}	208.63±4.28^{a}
	异硫氰酸苯甲酯	622-78-6	0.0007	芥末、辛辣、萝卜气味	0.94±0.04^{c}	12.17±0.85^{b}	1.01±0.14^{c}	50.77±1.78^{a}
	3-甲基丁酸乙酯	108-64-5	0.0001	水果香、苹果、菠萝香气	45.54±2.74^{a}	47.4±0.71^{a}	46.99±1.89^{a}	42.88±3.89^{b}
	顺式-3-己烯基异戊酸酯	35154-45-1	0.02	青果香、未成熟香蕉、霉味	22.15±0.7^{a}	21.71±0.67^{a}	21.55±0.73^{a}	23.26±0.26^{a}
	2-羟基苯甲酸丁酯	2052-14-4	0.005	冬青油、薄荷香、草药香	15.40±0.53^{a}	14.89±0.5^{a}	14.71±0.72^{a}	15.94±0.41^{a}
	月桂酸甲酯	111-82-0	0.0035	微弱脂肪、肥皂气息	10.79±0.46^{b}	10.64±0.33^{b}	11.50±0.87^{ab}	12.72±0.28^{a}
	乙酸-2-戊酯	626-38-0	0.015	水果香、香蕉、梨香气	8.30±0.41^{a}	8.70±0.06^{a}	8.58±0.21^{a}	7.99±0.72^{b}
	顺式正戊酸-3-己烯酯	35852-46-1	0.06	青果香、苹果、热带水果香气	7.38±0.23^{a}	7.24±0.22^{a}	7.18±0.24^{a}	7.75±0.09^{a}
	己酸-2-甲基丁酯	2601-13-0	0.032	水果香、甜香、菠萝香气	5.67±0.12^{a}	5.54±0.19^{a}	5.52±0.19^{a}	5.97±0.02^{a}
	癸酸甲酯	110-42-9	0.0043	脂肪香、葡萄酒似的气息	4.89±0.8^{ab}	4.34±0.27^{b}	5.33±1.16^{a}	5.1±0.78^{ab}
	庚酸乙酯	106-30-9	0.002	水果香、甜酒香、香蕉香气	4.51±0.07^{a}	4.46±0.08^{a}	4.48±0.12^{a}	4.82±0.09^{a}
	5-己基二氢-2(3H)-呋喃酮	706-14-9	0.0011	奶油、桃子、椰子和乳脂香气	2.65±0.16^{b}	2.66±0.1^{b}	3.58±0.36^{a}	2.55±0.14^{b}
	(E)-肉桂酸乙酯	4192-77-2	0.0007	蜂蜜、香脂、肉桂和草莓香气	1.97±0.19^{a}	1.79±0.14^{a}	1.84±0.16^{a}	1.95±0.17^{a}
其他	苯乙烯	100-42-5	0.0036	甜香、塑料、汽油似的气味	0.96±0.04^{a}	0.93±0.06^{a}	1.05±0.02^{a}	0.95±0.06^{a}
	2-甲基-3-丙基吡嗪	15986-80-8	0.06	坚果香、烤花生、烘烤香气	1.56±0.02^{a}	1.59±0.03^{a}	1.57±0.04^{a}	1.72±0.03^{a}
	2-乙基-5-甲基吡嗪	13360-64-0	0.016	坚果香、土豆、泥土气息	0.09±0.01^{b}	0.13±0.00^{b}	1.06±0.02^{a}	1.19±0.12^{a}
	2-甲基-6-丙基吡嗪	29444-46-0	0.1	青椒、泥土、坚果香气	0.94±0.01^{a}	0.96±0.02^{a}	0.94±0.02^{a}	1.03±0.02^{a}
	4,5-二氯-2-甲氧基苯酚	2460-49-3	0.0025	药香、烟熏、消毒剂气息	29.70±1.65^{a}	28.61±0.99^{a}	27.49±1.62^{a}	29.64±0.14^{a}
	4,6-二氯愈创木酚	16766-31-7	0.0115	烟熏、药香、霉味	6.46±0.36^{a}	6.22±0.22^{a}	5.98±0.35^{a}	6.44±0.03^{a}
	对羟基苯乙烯	2628-17-3	0.01	药香、烟熏、培根香气	2.11±0.06^{b}	2.32±0.14^{b}	2.00±0.09^{b}	3.68±0.13^{a}
	3-(1-甲基乙基)苯酚	618-45-1	0.005	药香、焦油气息	1.36±0.09^{c}	3.23±0.22^{a}	1.90±0.14^{c}	2.51±0.06^{b}
	肉豆蔻醚	607-91-0	0.088	微弱辛香	2.11±0.08^{a}	2.10±0.07^{a}	2.29±0.17^{a}	2.55±0.06^{a}
	2-甲氧基萘	93-04-9	0.001	橙花、葡萄似的水果香气	2.01±0.19^{a}	1.76±0.14^{a}	1.76±0.08^{a}	1.98±0.18^{a}

(76.20% 解释率), 其中 CK 组与其余发酵组显现显著分离, 说明微生物发酵使样品组挥发性代谢物发生显著变化(P<0.05)。在此基础上, 利用火山图对样品组差异挥发性代谢物进行多组比对分析, 如图 7 所示, 大量代谢物发生变化(上调或下调)。由图 7(a)展示结果显示, 冠突曲霉发酵后共计 341 个代谢物上调, 100 个代谢物下调, 结合图 8(a)分析(仅展示显著变化 VIP 值前 20 个物质), 肉桂酸甲酯、丙酸戊酯、3-甲基-2(3H)-苯并呋喃酮等代谢物显著上调, β-法呢烯、7,11-二甲基-3-亚甲基-1,6,10-十二碳三烯、衣兰烯等物质显著下调; 图 7(b)显示, 枯草芽孢杆菌发酵后有 367 个代谢物上调, 34 个代谢物下调, 主要包括醇类、酮类物质(如二氢-3-甲基-2,5-呋喃二酮、2,6-二甲基-3,7-辛二烯-2,6-二醇、(E)-2,6-二甲基辛-3,7-二烯-2,6-二醇、十二-酮); 基于单菌发酵结果, 复合发酵结果显示(图 7(c))共计 268 个代谢物上调, 118 个代谢物下调, 3,6-二甲基-4H-呋喃并 [3,2-c] 吡喃-4-酮、2,2,5-三甲基-3,4-己二酮、吡嗪酰胺、2-庚醇、

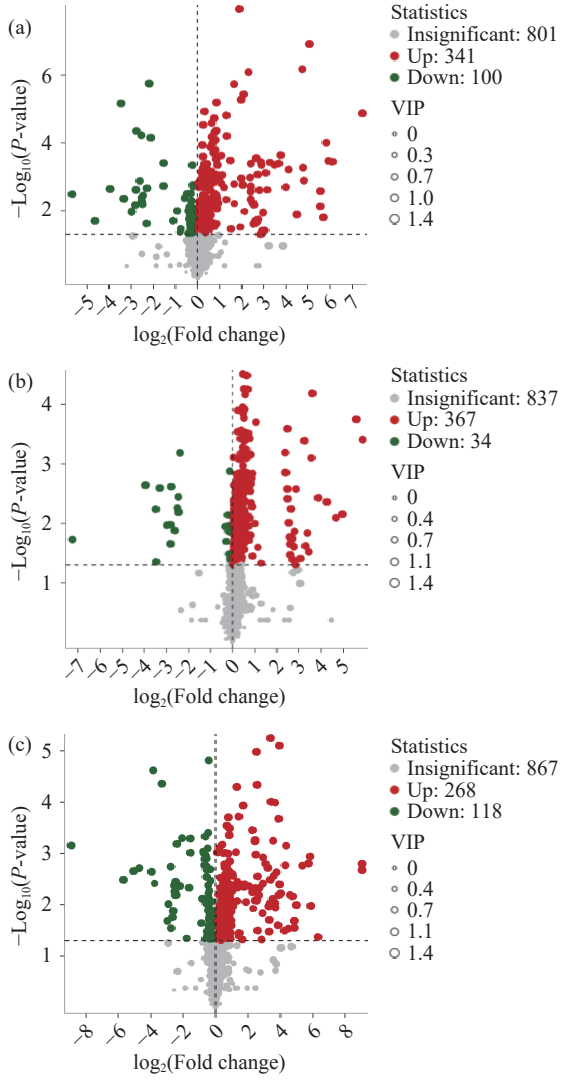


图 7 差异挥发性代谢物火山图

Fig.7 Volcano plot of differential volatile metabolites

注: a: GY vs. CK; b: SO vs. CK; c: GS vs. CK。

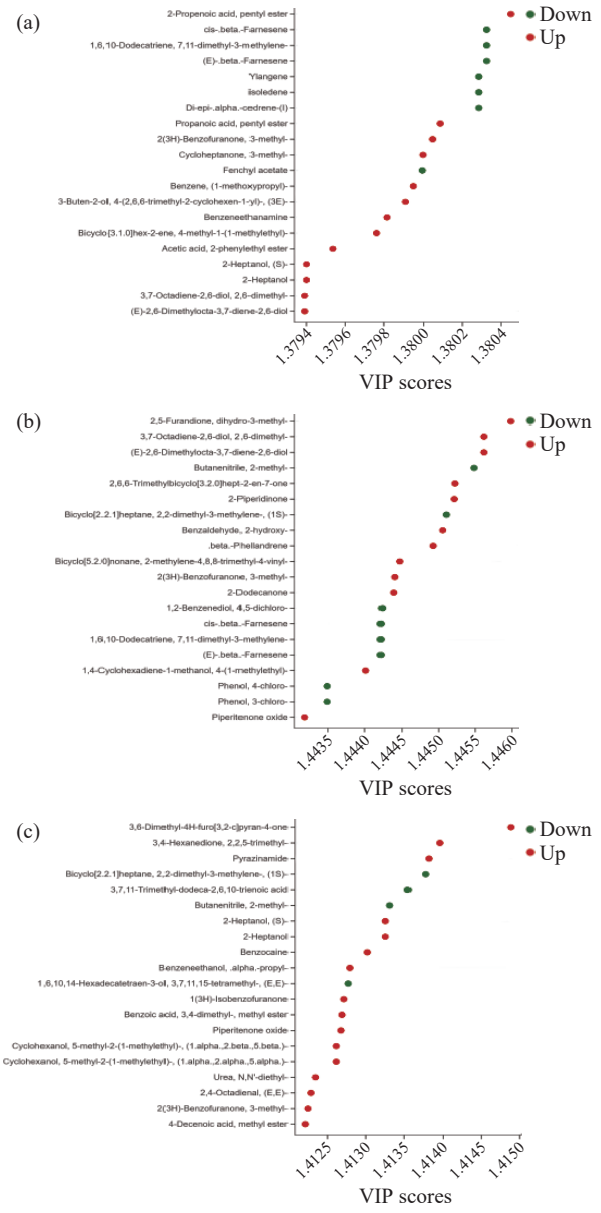


图 8 差异代谢物 VIP 值图

Fig.8 VIP score plot of differential metabolites

注: a: GY vs. CK; b: SO vs. CK; c: GS vs. CK。

1(3H)-异苯并呋喃酮等物质发生显著上调, 杂环类物质显著下调。综上, 微生物复合发酵结合了真菌的酯类/内酯合成能力和细菌的醇/酮产生能力, 可能产生更平衡或独特的风味谱。通过其独特的代谢网络, 重塑了样品的挥发性代谢物谱, 展现出微生物互作的复杂性, 产生更丰富多样的代谢物组合。

2.9 感官评价

通过定量描述分析对各组进行感官评价, 其汤色、香气、滋味、体态评分结果如图 9 所示。结果显示, GS 组综合表现最佳, 尤其在香气(27.10)和滋味(31.00)上具有显著优势(P<0.05), 微生物代谢(冠突曲霉与芽孢杆菌协同)可能同时促进色素转化和香气物质合成; 其次为 GY 组, 汤色(21.08 分)和滋味(29.44 分)突出, 冠突曲霉发酵促进茶褐素形成, 使其汤色表现最佳; 而 SO 组在汤色、滋味方面表现较为

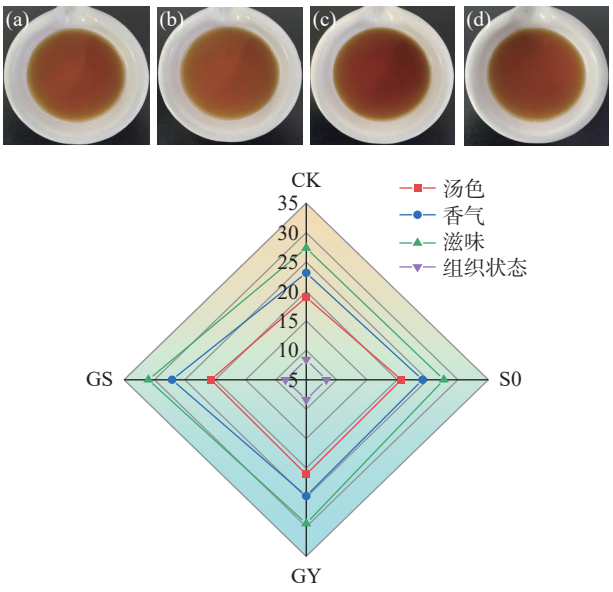


图 9　茶汤感官评价

Fig.9　Sensory evaluation of tea soup

注：(a)CK 组；(b)SO 组；(c)GY 组；(d)GS 组。

均衡，但香气(24.17)明显不如 GY 和 GS 组。由此得出结论，冠突曲霉与芽孢杆菌复合发酵茶汤，对茶汤品质具有明显提高。

3　结论

本研究揭示了冠突曲霉与枯草芽孢杆菌通过代谢互补协同提升茶汤品质的核心机制。理论上阐明了由冠突曲霉主导的“酯型儿茶素水解”与枯草芽孢杆菌主导的“蛋白质降解”途径，并揭示了二者协同构成的双菌“水解-酯化偶联”新机制。该机制有效解释了复合发酵组中关键香气物质(如异硫氰酸苯甲酯)的爆发式合成，深化了我们对微生物互作驱动茶的风味代谢网络重构的理解，为研究复杂发酵体系中的菌群互作提供了典型范例。实践上，该策略能定向调控茶叶生化转化，在显著增强抗氧化活性、协调滋味平衡的同时，实现关键香气物质的爆发式增长，为开发标准化、风味可调的新型发酵茶产品提供了科学依据。未来需深入解析其分子互作信号，并优化工艺以适配产业化固态发酵，最终实现风味品质的精准设计。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] LI Jing, WU Jie, XU Naifeng, et al. Dynamic evolution and correlation between microorganisms and metabolites during manufacturing process and storage of Pu-erh tea[J]. Lwt, 2022, 158: 113128.

[2] LIAO Siyu, ZHAO Yiqiao, JIA Wenbao, et al. Untargeted metabolomics and quantification analysis reveal the shift of chemical constituents between instant dark teas individually liquid-state fermented by *Aspergillus cristatus*, *Aspergillus niger*, and *Aspergillus tubingensis*[J]. Frontiers in Microbiology, 2023, 14: 1124546.

[3] ZHENG Jingchuan, YU Lijun, AAQIL M, et al. Enhanced fermentation of Pu-erh tea with *Aspergillus niger*: Quality and microbial community analysis[J]. Molecules, 2024, 29(23): 5647.

[4] CHENG Lizeng, PENG Lanlan, XU Lurong, et al. Metabolic function and quality contribution of tea-derived microbes, and their safety risk in dark tea manufacture[J]. Food Chemistry, 2025, 464: 141818.

[5] PRIPDEEVECH P, MOONGGOOT S, POPLUECHAI S, et al. Analysis of volatile constituents of fermented tea with *Bacillus* subtilis by SPME-GC-MS[J]. Chiang Mai Journal of Science, 2014, 41(2): 395−402.

[6] XIAO Leike, YANG C, ZHANG Xilu, et al. Effects of solid-state fermentation with *Bacillus subtilis* LK-1 on the volatile profile, catechins composition and antioxidant activity of dark teas[J]. Food Chemistry: X, 2023, 19: 100811.

[7] ZOU Yao, LAI Yuqing, LI Yimiao, et al. Role of *Aspergillus tubingensis* M16 in the quality development of instant Sichuan south-road dark tea produced by submerged fermentation[J]. Food Bioscience, 2024, 62: 105592.

[8] 徐文萍, 王丹, 余鳗游, 等. 不同菌种人工接种渥堆发酵金花藏茶品质比较[J]. 粮食与油脂, 2025, 38(3): 102−108. [XU W P, WANG D, YU M Y, et al. Quality comparison of artificially inoculated Jinhua Tibetan tea with different microbial strains during pile-fermentation[J]. Cereals & Oils, 2025, 38(3): 102−108.]

[9] 罗彦玉, 王磊, 邹春霞, 等. 枯草芽孢杆菌降解油茶饼中茶皂素及成分变化[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(17): 161−167. [LUO Y Y, WANG L, ZOU C X, et al. Degradation of tea saponin in camellia seed cake by *Bacillus subtilis* and its compositional changes[J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(17): 161−167.]

[10] 胡海, 何家兴, 张梦月, 等. 改良 DNS 还原糖测定法研究[J]. 现代食品, 2024, 30(24): 189−194. [HU H, HE J X, ZHANG M Y, et al. Study on modified DNS method for reducing sugar determination[J]. Modern Food, 2024, 30(24): 189−194.]

[11] 张春花, 颜学行, 崔廷宏, 等. 4 种云南大叶种白茶主要化学成分及抗氧化活性差异分析[J]. 食品工业科技, 2025, 46(9): 234−242. [ZHANG C H, YAN X X, CUI T H, et al. Analysis of differences in main chemical components and antioxidant activities of four Yunnan large-leaf white teas[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(9): 234−242.]

[12] 潘志涛, 华婷玉, 王啸云, 等. 陈皮黑茶提取物协同陈皮挥发油的体外降糖、降脂及抗氧化活性[J]. 食品工业科技, 2025, 46(8): 341−350. [PAN Z T, HUA T Y, WANG X Y, et al. Synergistic effects of aged tangerine peel-dark tea extract and tangerine peel essential oil on hypoglycemic, hypolipidemic and antioxidant activities *in vitro*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(8): 341−350.]

[13] 王腾飞, 裴淑芳, 杨佳丽, 等. 毛建茶茶汤色差与感官品质的相关性分析[J]. 中国食品学报, 2024, 24(3): 298−305. [WANG T F, PEI S F, YANG J L, et al. Correlation analysis between color difference and sensory quality of Maojian tea infusion[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2024, 24(3): 298−305.]

[14] 罗棵濒, 邓俊琳, 向卓亚, 等. 金花藏茶醇提物不同极性部位的多酚成分及体外抗氧化和抗肿瘤活性研究[J]. 食品工业科技, 2023, 44(13): 383−389. [LUO K B, DENG J L, XIANG Z Y, et al. Polyphenolic composition and *in vitro* antioxidant and antitumor activities of different polarity fractions from ethanol extract of Jinhua Tibetan tea[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(13): 383−389.]

[15] RUAN Wei, LIU Junli, LI Pengliang, et al. Dynamics of microbial communities, flavor, and physicochemical properties

during *Ziziphus* jujube vinegar fermentation: Correlation between microorganisms and metabolites[J]. Foods, 2022, 11(21): 3334.
[16] 刘佳奇, 熊涛, 李军波, 等. 乳酸菌发酵茶饮料的工艺优化及其发酵前后香气成分分析[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(8): 109−114. [LIU J Q, XIONG T, LI J B, et al. Process optimization of lactic acid bacteria fermented tea beverage and analysis of aroma components before and after fermentation[J]. Food and Fermentation Industries, 2016, 42(8): 109−114.]
[17] 韦雅杰, 高彦祥. 茶汤滋味物质及其调控研究进展[J]. 食品研究与开发, 2022, 43(11): 189−197. [WEI Y J, GAO Y X. Research progress on taste substances in tea infusion and their regulation[J]. Food Research and Development, 2022, 43(11): 189−197.]
[18] 王桂友, 王昭月, 梁思威, 等. 黑茶渥堆发酵过程中微生物的研究进展[J]. 中国茶叶, 2024, 46(9): 21−27. [WANG G Y, WANG Z Y, LIANG S W, et al. Research progress on microorganisms during pile-fermentation of dark tea[J]. China Tea, 2024, 46(9): 21−27.]
[19] 朱雯, 马煜明, 曾莉, 等. 金花菌发酵甜茶生化品质及抗氧化活性分析[J]. 茶叶通讯, 2019, 46(3): 318−322. [ZHU W, MA Y M, ZENG L, et al. Biochemical quality and antioxidant activity analysis of sweet tea fermented by *Eurotium cristatum*[J]. Journal of Tea Communication, 2019, 46(3): 318−322.]
[20] GAO Yaxin, LI Danfeng, TIAN Zhiliang, et al. Metabolomics analysis of soymilk fermented by *Bacillus subtilis* BSNK-5 based on UHPLC-Triple-TOF-MS/MS[J]. Lwt, 2022, 160: 113311.
[21] WANG J Y, ZHENG D, ZHENG X J, et al. Research progress in biological activities and mechanisms of theabrownin[J]. Journal of Shanghai Jiao Tong University (Medical Science), 2023, 43: 768−774.
[22] HOU Yan, ZHANG Zhifang, CUI Yinshan, et al. Pu-erh tea and theabrownin ameliorate metabolic syndrome in mice via potential microbiota-gut-liver-brain interactions[J]. Food Research International, 2022, 162: 112176.
[23] CHEN Xiujuan, WANG Yongyong, CHEN Yue, et al. Formation, physicochemical properties, and biological activities of theabrownins[J]. Food Chemistry, 2024, 448: 139140.
[24] KOCH W. Theaflavins, thearubigins, and theasinensins[M]. Handbook of Dietary Phytochemicals. Singapore: Springer Singapore, 2019.
[25] 秦谊, 龚加顺, 张惠芬, 等. 普洱茶茶褐素提取工艺及理化性质的初步研究[J]. 林产化学与工业, 2009, 29(5): 95−98. [QIN Y, GONG J S, ZHANG H F, et al. Preliminary study on extraction process and physicochemical properties of theabrownin from Pu-erh tea[J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2009, 29(5): 95−98.]
[26] DZAH C S, ZHANG Haihui, GOBE V, et al. Anti- and pro-oxidant properties of polyphenols and their role in modulating glutathione synthesis, activity and cellular redox potential: Potential synergies for disease management[J]. Advances in Redox Research, 2024, 11: 100099.
[27] 唐双庆, 鲁慧琪, 李秀丽, 等. 枯草芽孢杆菌发酵对豆类中酚类物质及抗氧化活性的影响[J]. 中国食品学报, 2024, 24(1): 291−300. [TANG S Q, LU H Q, LI X L, et al. Effects of *Bacillus subtilis* fermentation on phenolic compounds and antioxidant activity in legumes[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2024, 24(1): 291−300.]
[28] ZHU Mingzhi, SHANG Bohao, ZHOU Fang, et al. Polysaccharides of *Aspergillus cristatus* attenuate obesity by regulating gut microbiota and gut microbiota-related metabolites[J]. Food Science and Human Wellness, 2024, 13(3): 1513−1530.
[29] 李学震, 刘光鹏, 马艳蕊, 等. "金花菌"(*Aspergillus chevalieri*)发酵牡丹花瓣过程中挥发性物质及酚酸类物质变化[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(19): 304−311. [LI X Z, LIU G P, MA Y R, et al. Changes of volatile compounds and phenolic acids during fermentation of peony petals by "golden flower fungus" (*Aspergillus chevalieri*)[J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(19): 304−311.]
[30] WU Yaokang, CHEN Taichi, LIU Yanfeng, et al. Design of a programmable biosensor-CRISPRi genetic circuits for dynamic and autonomous dual-control of metabolic flux in *Bacillus subtilis*[J]. Nucleic Acids Research, 2020, 48(2): 996−1009.
[31] STATSENKO V N, PRAZDNOVA E V, KULIKOV M P. Influence of rifampicin-resistance mutations on the synthesis of antioxidant, DNA-protective, and SOS-inhibitory metabolites[J]. Applied Biochemistry and Microbiology, 2025, 61(3): 542−550.
[32] 周祎炜, 燕飞, 曲东, 等. 冠突散囊菌对茶叶品质的影响及其发酵茶的功能活性研究进展[J]. 茶叶通讯, 2024, 51(1): 16−22. [ZHOU Y W, YAN F, QU D, et al. Effects of *Eurotium cristatum* on tea quality and research progress on functional activities of fermented tea[J]. Journal of Tea Communication, 2024, 51(1): 16−22.]
[33] 李若曦, 方洪枫, 王国红, 等. 黑茶曲霉属和散囊菌属真菌产胞外水解酶能力的比较分析[J]. 广东农业科学, 2019, 46(1): 108−114. [LI R X, FANG H F, WANG G H, et al. Comparative analysis of extracellular hydrolase production capacity of *Aspergillus* and *Eurotium* fungi in dark tea[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2019, 46(1): 108−114.]
[34] 孙建安, 祖泽宇, 刘振, 等. 一种在枯草芽孢杆菌中高效表达脂肪酶的方法: 中国, 202110482278.7[P]. 2022-08-19. SUN J A, ZU Z Y, LIU Z, et al. A method for high-efficiency expression of lipase in Bacillus subtilis: China, 202110482278.7[P]. 2022-08-19.
[35] 谢逸俊, 申柯欣, 闫可馨, 等. 混菌发酵黄芪药渣生产功能性饲料的试验研究[J]. 饲料工业, 2024, 45(17): 83−93. [XIE Y J, SHEN K X, YAN K X, et al. Experimental study on production of functional feed by mixed fermentation of *Astragalus residue*[J]. Feed Industry, 2024, 45(17): 83−93.]
[36] 李玉铭, 王硕, 罗淮良, 等. 中药佛手风味的冷链发酵大头菜泡菜的研究[J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(12): 266−274. [LI Y M, WANG S, LUO H L, et al. Study on cold-chain fermented mustard with bergamot flavor of traditional Chinese medicine[J]. Food and Fermentation Industries, 2024, 50(12): 266−274.]
[37] 巫文鑫, 覃展敏, 刘佳莉, 等. 基于工艺优选的冠突曲霉发酵桑寄生茶防治非酒精性脂肪肝病的潜在机制研究[J]. 食品工业科技, 2023, 44(6): 162−172. [WU W X, QIN Z M, LIU J L, et al. Potential mechanism of *Eurotium cristatum* fermented Loranthus tea in preventing non-alcoholic fatty liver disease based on process optimization[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(6): 162−172.]
[38] VAN GEMERT L J. 化合物香味阈值汇编[M]. 刘强, 译. 2 版. 北京: 科学出版社, 2015. [VAN GEMERT L J. Compilations of flavour threshold values[M]. Translated by LIU Q. 2nd ed. Beijing: Science Press, 2015.]