www.hanlin.io
仅内部使用，严禁商用

参赛队员姓名：李依然、杨丽佳、林珑玉

中学：新疆维吾尔自治区克拉玛依市克拉玛依区第一中学

省份：新疆维吾尔自治区

国家/地区：中华人民共和国

指导教师姓名：宋珊珊、伍军

论文题目：“金花”对于茯茶品质影响及将其接种于发酵茯茶上的新方法初探

www.hanlin.io
仅内部使用，严禁商用

本参赛团队声明所提交的论文是在指导老师指导下进行的研究工作和取得的研究成果。尽本团队所知，除了文中特别加以标注和致谢中所罗列的内容以外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果。若有不实之处，本人愿意承担一切相关责任。

参赛队员：李依然、杨丽佳、林珑玉 指导老师：宋珊珊、伍军

2018 年 **9** 月 **6** 日

www.hanlin.io
仅内部使用，严禁商用

“金花”对于茯茶品质影响及将其接种于发酵茯茶上的新方法初探

作者：李依然　杨丽佳　林珑玉

完成时间：2017 年 10 月—2018 年 9 月

摘要

为了探究“金花”对于茯茶品质的影响，我们提取并培养冠突散囊菌（*Eurotium cristatum*），将其接种在茯茶上并培养 5 d 后，将此茶与未接种冠突散囊菌的茯茶中成分对比，分析冠状散囊菌对茯茶中咖啡因（Caffeine）及茶多酚（Tea Polyphenols）的影响。实验结果表明：培养 5 d 后的带冠突散囊菌的茶叶中的茶多酚含量比未接种菌的茶叶的要高；接种菌落的茶叶相比较未接种菌落的茯茶咖啡因含量有显著性差异。通过设计接种时间、接种温度、液体培养基和固体培养基的正交实验，得出使茶多酚含量提高最佳的培养条件是温度 30 ℃、固体培养基为全茶培养基、液体培养基为 PDA 培养基（马铃薯葡萄糖琼脂培养基）、菌株在茶叶上的接种时间为 25 d。本文研究出了将冠突散囊菌接种到茯茶上的新方法，提高了茯茶的品质和价值。

关键词：冠突散囊菌　茯茶　咖啡因　茶多酚

www.hanlin.io
仅内部使用，严禁商用

目　录

摘 要.....3
一　前 言.....5
二　实验材料与方法.....6
2.1 实验材料.....6
2.1.1 实验设备.....6
2.1.2 实验植物.....6
2.1.3 实验微生物.....6
2.2 实验方法.....6
2.2.1 微生物培养基的制备.....6
2.2.2 微生物在培养基上的接种.....6
2.2.3 微生物在茶叶上的接种.....7
2.2.4 两种茶叶的感官测试.....7
2.2.5 两种茶叶的茶多酚含量检测.....7
2.2.6 两种茶叶的咖啡因含量检测.....8
2.2.7 正交实验检验冠突散囊菌改变茶叶品质的最佳条件.....8
三 实验结果与分析.....9
3.1 微生物在培养基上的接种结果与分析.....9
3.2 微生物在茶叶上的接种结果与分析.....9
3.3 两种茶叶的感官测试结果与分析.....11
3.4 两种茶叶的茶多酚含量检测结果与分析.....12
3.5 两种茶叶的咖啡因含量检测结果与分析.....14
3.6 正交实验检验冠突散囊菌改变茶叶品质的最佳条件结果与分析.....15
四 小结与讨论.....17
4.1 微生物在茶叶上接种的方法分析讨论.....17
4.2 两种茶叶感官测试结果的不同.....17
4.3 两种茶叶茶多酚含量的不同.....17
4.4 两种茶叶的咖啡因含量基本一致.....17
4.5 正交实验结果的分析讨论.....17
创新点.....18
展望.....19
参考文献.....20
致谢.....24
指导老师简历.....25

www.hanlin.io
仅内部使用，严禁商用

一. 前言：

随着人们对生活质量完美的追求，茶叶已成为每户必不可少的饮品。在茶叶逐渐步入人们的生活中时，人们对茶叶的挑剔程度也越来越高，茶叶的种类也越来越多。在新疆维吾尔自治区，茯砖茶颇得人们的喜爱。但是茯砖茶在市面上的价格天差地别，因此我们在各个茶叶店里调查了一番，发现有“金花”的茶叶价格明显比没有的要高出几倍到上百倍。所以我们对茯砖茶上的“金花”产生了好奇心。

茶叶的种类繁多，为什么在黑茶上长有“金花”？“金花”改变了黑茶的什么成分使得两种茶叶的价格天差地别？我们对此展开了研究。

茯砖茶属于黑茶，也称发酵茶始祖。不同品质的茯砖茶，所呈现的茶汤颜色及味道也不相同：特制茯砖砖面色泽黑褐，内质香气纯正，滋味醇厚，汤色红黄明亮，叶底黑汤尚匀。泡饮时汤红而不浊，耐冲泡。特别要求砖内冠突散囊菌(俗称“金花”)颗粒大，干嗅有黄花清香。而且人们常常将“金花”作为茯砖茶的评价标准。因此市面上的茯砖茶的价格也天差地别了。

“金花”的学名叫冠突散囊菌，冠突散囊菌子囊菌门（*Ascomycota*）散囊菌纲（*Eurotiomycetes*）散囊菌目（*Eurotiales*）发菌科（*Trichocomaceae*）散囊菌属（*Eurotium*）冠突散囊菌（*E. cristatum*），是茯砖茶在特定温湿度条件下，通过“发花”工艺长成的自然益生菌体，在国家标准中[1]，茯砖茶是唯一要求“冠突散囊菌”这项指标的黑茶类品种。经科学研究[2]，“金花”对后发酵茶品质不但没有影响，反而“金花”能分泌茶叶中的淀粉酶和氧化酶，可催化茶叶中的淀粉转化为单糖，使茶叶汤色变棕红，消除粗青味。在口味上更加醇和爽口，甜滑回甘。它具有较强的促消化、降血脂、溶解脂肪、调节糖类代谢等功效[3]。干嗅“金花”有一种黄花的淡淡的清香味道；而泡饮时，那种花香便融入茶汤之中，化作茶的滋味而使茶汤更加醇厚微涩，清纯不粗、口感强劲。

综上所述，本次研究将着重探索冠突散囊菌对茯砖茶中的成分的影响——咖啡因、茶多酚及感官做出具体研究，同时对冠突散囊菌的“药理作用”提出依据，探究将冠突散囊菌接种到茯茶上的新方法，并为日后的茶叶选择做出更明确的指导。

www.hanlin.io
仅内部使用，严禁商用

二．实验材料与方法

2.1 材料

2.1.1 实验所需仪器

⑴真菌接种所需仪器:烧杯，锥形瓶，培养皿，恒温培养箱，恒温摇床，高压灭菌锅，干燥箱，大试管，脱脂棉，超净工作台，纱布，药匙，接种针，超声震荡仪，2 mL EP 管，光学显微镜，载玻片，盖玻片，吸水纸。

⑵实验所需材料:马铃薯，琼脂，葡萄糖，95 %乙醇，酒精灯用乙醇，生石灰，蒸馏水，氨水，酒石酸固体，七水合硫酸亚铁固体，磷酸氢二钾，磷酸二氢钾，茶多酚纯品（纯度≥98 %）。

⑶咖啡因含量测定所需仪器:烧杯，蒸馏烧瓶，铁架台，冷凝管，橡胶管，接液管，三颈烧瓶，酒精灯，漏斗，脱脂棉，精确度 0.01 g 电子秤，小刀。

⑷茶多酚含量测定所需仪器:100 mL 容量瓶，1 L 容量瓶，玻璃棒，紫外-可见光分光光度计，烧杯，量筒，恒温水浴锅，药匙。

⑸茶叶感官测试所需仪器:烧水壶，杯子。

⑹正交试验所需仪器：料理机，烧杯，锥形瓶，培养皿，恒温培养箱，高压灭菌锅，干燥箱，大试管，2 mL EP 管，脱脂棉，超净工作台，100 mL 容量瓶，500 mL 容量瓶，
1 L 容量瓶，微波炉，纱布，药匙，接种针，玻璃棒，酒精灯。

2.1.2 实验所需植物

同年份生产同批次的无金花茯茶

2.1.3 实验微生物

冠突散囊菌（购于湖南华莱生物科技有限公司）

2.2 实验方法

2.2.1 培养基的制备

⑴取六个容量为 500 mL 的锥形瓶，葡萄糖，蒸馏水，琼脂，土豆。先将土豆放置锅内煮 20 min，反复过滤，得到一定量的土豆浸出液

⑵将土豆浸出液，琼脂，蒸馏水，葡萄糖，按一定比例配置好固体培养基；将土豆浸出液，蒸馏水，葡萄糖，按一定比例配置好液体培养基

⑶将固体培养基摇匀，倒置培养皿中；将液体培养基摇匀，倒置试管中

⑷等待培养基呈半凝固状态即可；将装有液体培养基的试管塞上棉花即可

2.2.2 在培养基上的接种[4]

⑴培养基配置

固态培养基:配置 PDA 培养基，自然 pH 值。

液态培养基:即不添加琼脂的固态培养基。

www.hanlin.io
仅内部使用，严禁商用

⑵将所需要用的器材进行高压灭菌。

⑶冠突散囊菌的接种:直接用接种针挑取有“金花”的茯砖茶上的黄色闭囊壳并接种于固体培养基上，30 ℃培养，当菌落生长至旺盛期时，用接种针挑取培养基上的菌进行纯化并将纯化后生长至旺盛期的菌接种至液体培养基上培养，使用恒温摇床调试至 30 ℃及 120 r/min。

2.2.3 微生物在茶叶上的接种

⑴将无菌的茯茶分装成小份，每份 50 g，共六十五份备用。

⑵选取在液体培养基上生长至旺盛期的冠突散囊菌，与无菌水混合放入 EP 管，将 EP 管放入超声震荡仪，仪器调为 40Khz，定时 25 min，制成均匀孢子液，均匀喷洒在无菌的茯茶上，平行接种三十二组并置于干燥箱内干燥，干燥箱调试至 30 ℃，干燥 3 h 后移至培养箱，30 ℃培养 5 d 后取出。

2.2.4 两种茶叶的感官测试[5]

⑴分别取用有菌和无菌茶 5 g 加入 200 mL 80 ℃，静置半小时后使用。在泡茶之前观察茶叶的颜色与形态[9]。

⑵

①观察干茶叶的颜色与形态差异

②观察茶汤的颜色

③仔细闻茶汤的香气

④品尝茶汤的味道，感受茶汤的苦味、涩味、醇厚感

⑤观察茶汤叶底的颜色与形态

2.2.5 两种茶叶的茶多酚含量检测[6]

⑴茯茶提取液的配置

分别选取 10 g 有菌和无菌茯茶，分别加入 400 mL 的 80 ℃的水（温度可以泡开茶即可），置于恒温水浴锅中加热 2.5 h，水浴锅调试为 60 ℃[3]。

⑵标准曲线的测定

取用 100 mL 容量瓶，再称取茶多酚纯品加蒸馏水配置有不同茶多酚含量的溶液，记录茶多酚的含量，在每份溶液中都加入 5 mL 的酒石酸亚铁溶液，并添加缓冲液至刻度线混匀，之后静置 10 min 再使用。根据光度计的扫描，波长选用 540 nm，选取空白溶液作参比，记录吸光度并绘制工作曲线[7]。

⑶茶多酚含量测定

选用 100 mL 容量瓶，再分别取用 2 mL 有菌和无菌茯茶的提取液，分别加入 8mL 的水和 5 mL 的酒石酸亚铁溶液，分别加入缓冲液至刻度线，混合均匀，静置 10 min 后使用。

用光度计扫描，选取空白溶液作参比，记录吸光度，根据标准曲线的回归方程来测算茶多酚的含量。

www.hanlin.io
仅内部使用，严禁商用

2.2.6 两种茶叶的咖啡因含量检测[8]

⑴取用一份无菌茶（每份无菌茶和有菌茶均为 50 g），碾碎加入三颈瓶，并同时加入 250 ml 95 %乙醇溶液，静置 0.5 h。

⑵三颈瓶接冷凝装置架于铁架台，用酒精灯加热回流直到提取液颜色变浅并在此时停止加热。

⑶改用蒸馏装置，回收提取液中大部分的乙醇(回收的乙醇可以再次作为灯用酒精使用)。

⑷蒸馏烧瓶内的残液倒入蒸发皿，加入生石灰后，在水蒸气浴上用玻璃棒搅拌。溶液将从绿色溶液变成绿色糊状液，并在最终变成绿色粉末状物质。

⑸把蒸发皿置于石棉网上，焙炒至水完全蒸发干净。

⑹在蒸发皿上盖三张用针刺了许多孔的圆形滤纸，再把一个与蒸发皿半径相似的漏斗盖在滤纸上，漏斗颈口用脱脂棉疏松地塞住。

⑺当加热到滤纸上出现大量白色针状结晶时，立即停止加热，等残渣冷却至 100 ℃左右，揭开滤纸和漏斗并用小刀仔细刮下上面的白色针状结晶，放在电子秤上称重。

升华残渣可以再次升华并得到白色针状结晶继续称重。记录全部白色针状结晶的重量。

⑻再取十五份无菌茶和十六份接种的有菌茶叶完成此实验记录数据。

2.2.7 正交实验检验冠突散囊菌改变茶叶品质的最佳条件

⑴选择正交实验的正交水平及其正交因素，目的是探究冠突散囊菌改变茶叶品质的最佳条件，最佳条件以最终接种冠突散囊菌并完成培养的茶叶的茶多酚含量为指标，使用电脑软件绘制正交实验计划表，准备实验所需要的仪器及试剂等物品。

正交设计为三水平四因素，分别为：

温度：25 ℃、30 ℃、35 ℃；

固体培养基配方：PDA 培养基（PDA）、将原本 PDA 中的水换成茶水（茶叶：水=1:100）制成的培养基（半茶）、将原本 PDA 中的水换成茶水（茶叶：水=1:50）制成的培养基（全茶）；

液体培养基配方：在原本三种固体培养基中不添加琼脂，制成的三种液体培养基（PDA、半茶、全茶）；

冠突散囊菌在茶叶上的接种时间：15 d、20 d、25 d。

冠突散囊菌在固体培养基和液体培养基上培养时间分别为 5 d 和 7 d。

⑵根据正交实验设计表在固体培养基上培养冠突散囊菌。

⑶根据正交实验设计表在液体培养基上培养冠突散囊菌。

⑷根据正交实验设计表在茶叶上培养冠突散囊菌。

⑸根据正交实验表提取茶叶的茶多酚并测定其吸光度，此次提取方法与之前的方法有差异[9]，使用了微波法，萃取溶剂为 50 %乙醇，微波功率 350 w，萃取时间 18 s，固液比（g/ml）为 1：9。记录实验数据。

⑹分析实验数据。

www.hanlin.io
仅内部使用，严禁商用

三．实验结果与分析

3.1 微生物在培养基上的接种结果与分析

我们的微生物在培养基上接种了 5 d，如图可见，长势很好，说明在我们设置的条件下，冠突散囊菌可以良好生长。

3.2 微生物在茶叶上的接种结果与分析

我们的微生物在茶叶上接种状况良好，接种时间为 5 d，如下面的图可见，虽然微生物在茶叶上数目不多，但是可以成活并且状况良好，不过没有在培养基上生长旺盛。

图 1 冠突散囊菌落

www.hanlin.io
仅内部使用，严禁商用

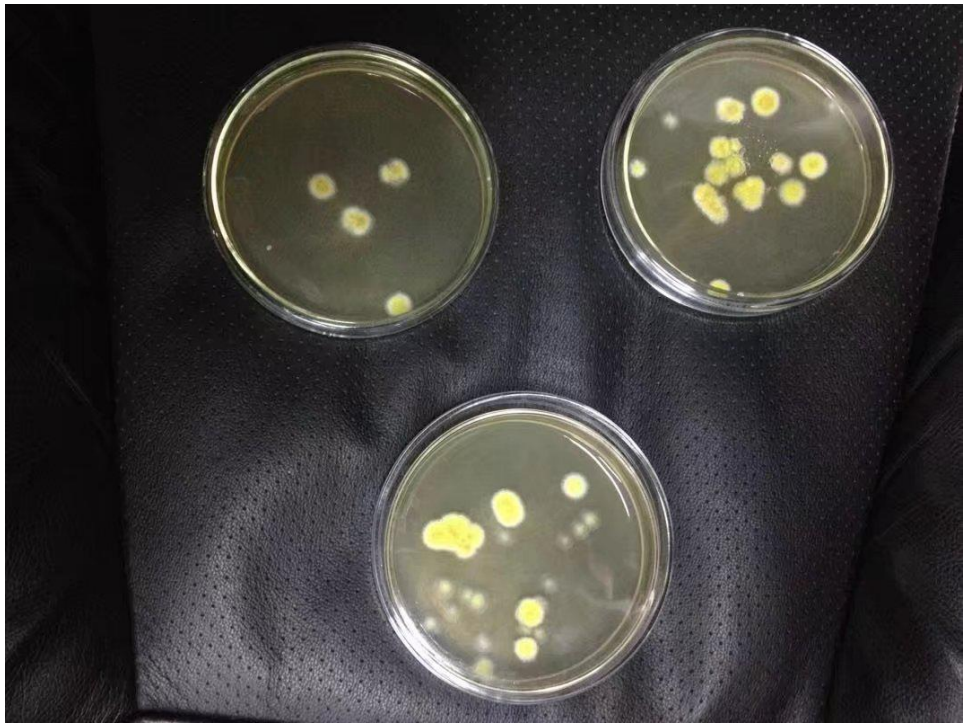


图 2 冠突散囊菌落

图 3 冠突散囊菌在光学显微镜下的形态

www.hanlin.io
仅内部使用，严禁商用

3.3 两种茶叶的感官测试结果与分析

表 1 两种茶叶的感官测试对比结果

			无菌茶叶感官测试			
组数/指标	干茶叶形态颜色	茶汤颜色	茶汤苦涩味	茶汤醇厚感	茶汤香气	茶叶叶底
第一组	棕褐色，长扁样	褐色	很苦，比较涩	醇厚	很浓	褐色，叶上很多缺口
第二组	黑褐色，偏细长	褐色	很苦，很涩	醇厚	很浓	黑褐色，叶多有残缺
第三组	黑褐色，偏细长	红棕色	比较苦，比较涩	比较醇厚	很浓	棕褐色，叶子比较完整
第四组	棕黑色，叶宽长	浅褐色	比较苦，很涩	醇厚	很浓	黑褐色，叶子比较完整
第五组	棕褐色，偏细长	褐色	很苦，很涩	比较醇厚	比较浓	棕褐色，叶子比较完整
第六组	棕黑色，叶长扁	深褐色	很苦，不涩	比较醇厚	比较浓	褐色，叶多有残缺
第七组	棕褐色，叶较宽	浅褐色	很苦，比较涩	比较醇厚	淡	棕色，叶多有残缺
第八组	黑褐色，叶长扁	红棕色	比较苦，不涩	不醇厚	淡	黑褐色，叶多有残缺
第九组	棕褐色，叶弯折	红棕色	比较苦，比较涩	比较醇厚	浓	褐色，叶比较完整
第十组	棕黑色，叶宽长	红棕色	很苦，比较不涩	不醇厚	无	棕色，叶比较完整
第十一组	棕褐色，偏细长	红棕色	比较不苦，不涩	不醇厚	适中	棕褐色，叶多有残缺
第十二组	黑褐色，叶弯折	褐色	比较不苦，比较不涩	不醇厚	适中	棕褐色，叶多有残缺
第十三组	棕黑色，叶杆状	浅褐色	很苦，比较涩	醇厚	比较浓	棕褐色，叶多有残缺
第十四组	棕褐色，长扁样	褐色	很苦，比较不涩	醇厚	适中	褐色，叶比较完整
第十五组	棕黑色，叶长扁	褐色	很苦，比较不涩	醇厚	比较淡	棕黑色，叶多有残缺
第十六组	黑褐色，偏细长	褐色	比较苦，比较涩	比较醇厚	比较浓	棕黑色，叶多有残缺

			有菌茶叶感官测试			
组数/指标	干茶叶形态颜色	茶汤颜色	茶汤苦涩味	茶汤醇厚感	茶汤香气	茶叶叶底
第一组	黑褐色，长扁样	浅红棕色	比较苦，比较涩	比较醇厚	比较浓	棕褐色，叶子比较完整
第二组	棕褐色，偏细长	褐色	不苦，不涩	比较醇厚	比较浓	褐色，叶多有残缺
第三组	黑褐色，叶弯折	浅褐色	比较不苦，比较不涩	醇厚	比较浓	棕褐色，叶多有残缺
第四组	黑褐色，长扁样	褐色	比较苦，不涩	醇厚	很浓	黑褐色，叶子比较完整
第五组	黑褐色，长扁样	浅红棕色	不苦，不涩	比较醇厚	比较淡	棕褐色，叶子比较完整
第六组	黑褐色，长扁样	浅红棕色	比较苦，不涩	醇厚	比较淡	黑褐色，叶多有残缺
第七组	棕黑色，叶宽长	浅红棕色	比较苦，不涩	比较醇厚	很淡	棕褐色，叶多有残缺
第八组	黑褐色，叶杆状	红棕色	比较苦，不涩	比较醇厚	很淡	棕色，叶比较完整
第九组	棕褐色，偏细长	红棕色	不苦，比较不涩	比较醇厚	比较淡	褐色，叶比较完整
第十组	棕褐色，偏细长	褐色	比较不苦，不涩	醇厚	很淡	黑褐色，叶子比较完整
第十一组	黑褐色，偏细长	棕褐色	比较不苦，不涩	比较醇厚	很淡	黑褐色，叶多有残缺
第十二组	棕黑色，叶宽长	浅褐色	不苦，不涩	不醇厚	无	褐色，叶多有残缺
第十三组	棕褐色，长扁样	浅红棕色	不苦，比较不涩	不醇厚	无	褐色，叶多有残缺
第十四组	棕褐色，长扁样	浅褐色	比较不苦，比较不涩	醇厚	比较浓	棕褐色，叶多有残缺
第十五组	黑褐色，偏细长	浅褐色	比较不苦，不涩	不醇厚	比较淡	黑褐色，叶子比较完整
第十六组	黑褐色，偏细长	红棕色	比较苦，不涩	不醇厚	淡	棕褐色，叶子比较完整

结果：从上述表 1 分析可得：

从茶叶颜色来说：有菌比无菌的颜色更深

从茶汤颜色来说：有菌比无菌的颜色更偏向浅色

从茶汤苦涩度来说：有菌比无菌的更幼滑

从茶汤醇厚度来说：无菌比有菌的更醇厚，回味更甘醇

从茶汤香气来说：无菌比有菌的更香浓

从茶叶残留来说：有菌比无菌的色泽更淡

分析：茶叶中影响茶叶口感、香气、色泽等的因素有很多，冠突散囊菌在生长过程中产生的代谢产物可能影响了茶叶组成成分，导致口感等发生了明显的变化。

但是个人偏好、个人感官等也同样对此实验结果有一定的影响，我们寻找的为感官做评定的人群多为本年级的高中学生和不同年龄段的高中老师，他们可能有自己的评定标准和自我感官，对实验结果造成了一定影响。

www.hanlin.io
仅内部使用，严禁商用

3.4 两种茶叶的茶多酚含量检测结果与分析

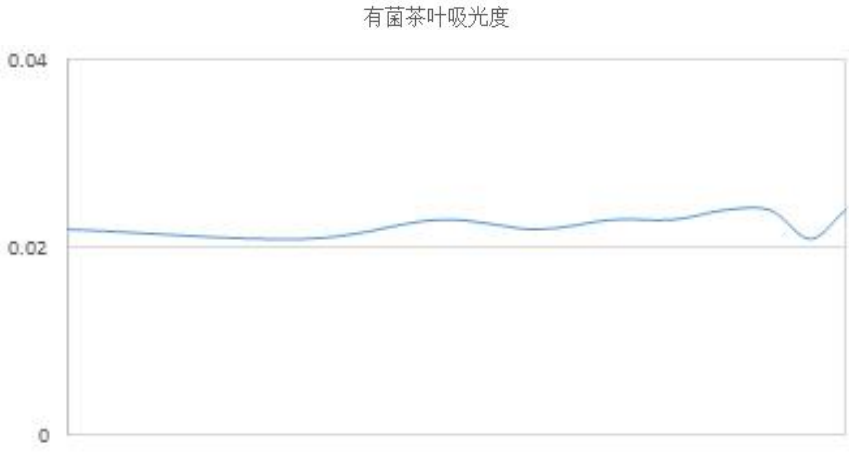


图 4 有菌茶叶与无菌茶叶吸光度大小对比

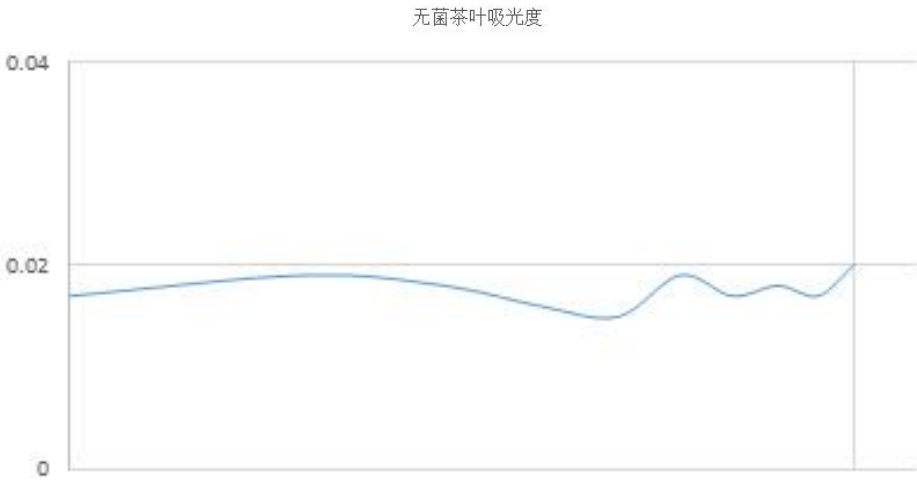


图 5 有菌茶叶与无菌茶叶吸光度大小对比

www.hanlin.io
仅内部使用，严禁商用

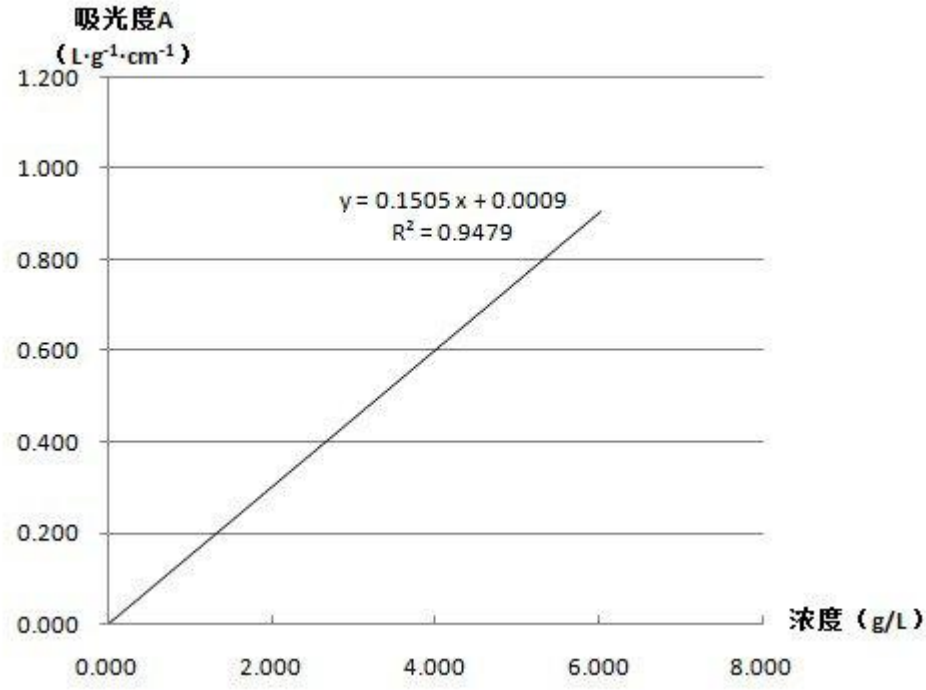


图 6 茶多酚含量与吸光度的标准曲线的回归方程

结果：由上述图得：有菌茶叶的吸光度大于无菌茶叶的吸光度，再结合回归方程的计算，可以确定有菌茶叶的茶多酚含量比无菌茶叶的茶多酚含量高。有菌的茶中茶多酚的吸光度相比起无菌的要明显偏高。通过工作曲线可以知道：茶多酚的含量与茶多酚的吸光度成正比。因此可得出，本实验中有菌茶叶的茶多酚含量比无菌的要高。

分析：

有菌茶叶的吸光度基本小于无菌茶叶的吸光度，再结合回归方程的计算，可以确定有菌茶叶的茶多酚含量没有无菌茶叶的茶多酚含量高。

分析原因，可能是冠突散囊菌的代谢产物对茶叶中的茶多酚含量造成了一些影响，使茶叶中的某些物质分解合成变成了茶多酚，让茶叶中的茶多酚含量变高。

也可能是因为冠突散囊菌死亡后的裂解产物，对茶叶中的茶多酚有所影响，合成了一些茶多酚，使得有菌茶叶中的茶多酚含量变高。

www.hanlin.io
仅内部使用，严禁商用

3.5 两种茶叶的咖啡因含量检测结果与分析

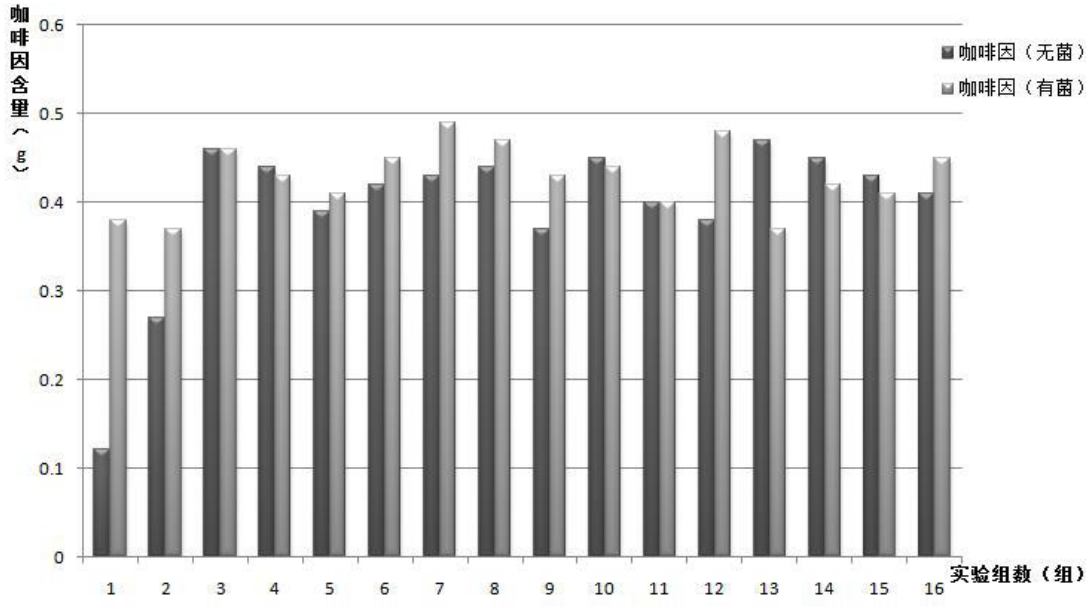


图 7 两种茶叶的咖啡因含量检测结果

表 2 独立样本 T 检验结果

独立样本检验

		方差方程的 Levene 检验	
		F	Sig.
值	假设方差相等	5.531	.025
	假设方差不相等		

独立样本检验

		均值方程的 t 检验				
		t	df	Sig.(双侧)	均值差值	标准误差值
值	假设方差相等	-1.883	30	.069	-.05188	.02755
	假设方差不相等	-1.883	18.840	.075	-.05188	.02755

独立样本检验

		均值方程的 t 检验	
		差分的 95% 置信区间	
		下限	上限
值	假设方差相等	-.10813	.00438
	假设方差不相等	-.10956	.00581

www.hanlin.io
仅内部使用，严禁商用

结果：结合图 7 中的数据，我们用 SPSS19 做了独立样本 T 检验，结果表明有菌茶汤中咖啡因含量高，两者有显著差异。

分析：由于咖啡因的提取是用蒸馏—升华法的方法提取的，提取率不如专业设备的高，且冠突散囊菌的接种时间为五天，存在培养时间较短导致的误差。

3.6 正交实验检验冠突散囊菌改变茶叶品质的最佳条件结果与分析

表 3 正交实验表

所在列	1	2	3	4	
因素	温度	固体配方	茶叶上接种	液体配方	实验结果
实验1	25℃	PDA	15天	PDA	0.561
实验2	25℃	半茶	20天	半茶	0.575
实验3	25℃	全茶	25天	全茶	0.864
实验4	30℃	PDA	20天	全茶	0.622
实验5	30℃	半茶	25天	PDA	1.001
实验6	30℃	全茶	15天	半茶	0.586
实验7	35℃	PDA	25天	半茶	0.880
实验8	35℃	半茶	15天	全茶	0.279
实验9	35℃	全茶	20天	PDA	0.805

表 4 正交实验结果分析表

所在列	1	2	3	4	
因素	温度	固体配方	茶叶上接种	液体配方	实验结果
实验1	1	1	1	1	0.561
实验2	1	2	2	2	0.575
实验3	1	3	3	3	0.864
实验4	2	1	2	3	0.622
实验5	2	2	3	1	1.001
实验6	2	3	1	2	0.586
实验7	3	1	3	2	0.88
实验8	3	2	1	3	0.279
实验9	3	3	2	1	0.805
均值1	0.667	0.688	0.475	0.789	
均值2	0.736	0.618	0.667	0.680	
均值3	0.655	0.752	0.915	0.588	
极差	0.081	0.134	0.440	0.201	

www.hanlin.io
仅内部使用，严禁商用

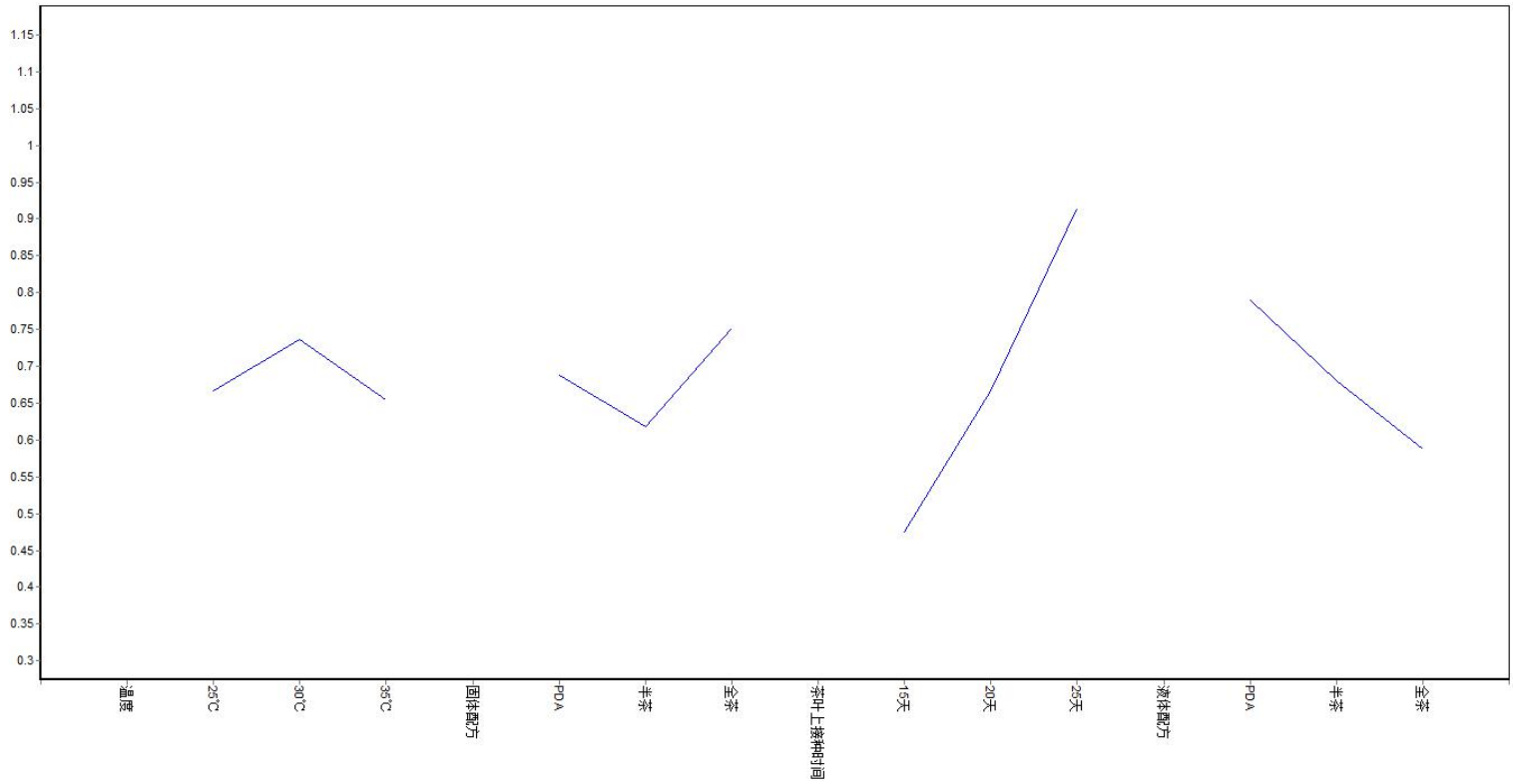


图 9 正交实验效应曲线图

结果：根据正交实验结果可知，对茶多酚含量影响条件因素主次顺序是：接种时间-液体配方-固体配方-温度，最佳的培养条件是温度 30 ℃、固体培养基为全茶培养基、液体培养基为 PDA 培养基、菌株在茶叶上的接种时间为 25 d。

分析：本次实验中，温度数据分析的极差最小，所以温度对结果的影响最小，可能是温度梯度设置较小造成的。30 ℃为最佳条件的原因可能是这个温度是冠突散囊菌的最适生长温度。

菌株在茶叶上的接种时间对于结果的影响最大，可能是因为随着接种时间的增长，冠突散囊菌的数量也随之增多，而接种时间的设定最多为 25 d，如果接种时间更长，可能会对茶叶品质影响更大，但是如果时间过长，冠突散囊菌的数量到了冠突散囊菌的最大环境容纳量，对茶叶品质的改变可能就会变小。

全茶液体培养基对此次实验结论的正向影响远没有全茶固体培养基大，可能是因为冠突散囊菌原本的生活条件是生长在固态的茶叶上，而不是茶水里，因此在三种固体培养基中，对于全茶固体培养基的适应性更强，在三种液体培养基中，对于 PDA 液体培养基的适应性更强。

www.hanlin.io
仅内部使用，严禁商用

四、小结与讨论

4.1 微生物在茶叶上接种的方法小结与讨论

我们在茶叶上接种微生物时，并没有相关参考文献，正因为暂时没有找到合适的文献中有相关的接种方法，所以茶叶上接种微生物的方法是我们自己探索出的方法。

从实验结果可以看出，微生物在茶叶上的接种并没有失败，说明此接种方法可行。

但是此接种方法尚存以下不足之处，比如茶叶上接种完后微生物存活量偏少，且无法确定人工接种结果能否与自然发花结果相对一致等。

不过既然目前此方法可行，就可以在此接种方法的基础上进行恰当的整改，建立一个完善的接种方法，方便于大家的研究。

4.2 两种茶叶感官测试结果的不同

通过此次感官测试的结果，可以看出，冠突散囊菌对于茶叶的口感改变很大，大多人都可以品尝出茶叶口味之间的差距，说明冠突散囊菌的某种代谢产物或是它本身对茶叶的成分造成了很大的影响，进而改变了茶叶的口味。

冠突散囊菌对于茶的香气也有很大的影响，它使得茶叶的香味变淡，冲散了原本有些苦涩的香气，让香味更加清浅，可以让人们对于茯茶的香气有了新的印象，让人们有更多的嗅觉体验。

茶文化也是我国的一个优秀传统文化，有很多人都追求更加品质更好，口味更独特的茶叶，而冠突散囊菌恰好让茶叶品质发生了变化，茶叶口味的多样化可以增加对此品种茶叶的消费者，让更多的人体会茶文化，增加此种茶叶的购买量，获取更多的经济收益，同时又可以让喜好饮茶的人群体验到不一样的口感，丰富味觉体验。

4.3 两种茶叶茶多酚含量的不同

接种了冠突散囊菌的茶叶，茶多酚含量有所上升。

茶多酚是一种抗癌、防止心血管基本的化学物质，有许多的好处，但是茶多酚的味道很苦，影响了人们的口感，却也给喜好苦茶的人群带来了福音。

冠突散囊菌对于茶多酚含量的改变，让人们拥有了更加广泛的选择权，可以根据自己的口味偏好、身体状况等因素综合评判，选择更加适合或者更加喜欢的茶叶。

4.4 两种茶叶的咖啡因含量有显著差异

接种冠突散囊菌，茶叶中的咖啡因含量出现了显著变化。

冠突散囊菌对于咖啡因影响大，改变了茶叶中的咖啡因含量，使得原茶的口感、气味、色泽等发生了一定变化，同时改变了原茶的医学价值。

4.5 正交实验结果的小结与讨论

找到最佳的菌株培养条件，在同样的时间里可以生产出更多的有菌茶叶，创造更大的经济效益，而上述论文讨论中已经说明了冠突散囊菌接种过的茶叶具有一定的医学价值，但是本次寻找的最适条件不完善，因此，如果此方法再进行进一步优化设计，就可以使接种冠突散囊菌的茶叶发挥其最大的价值，为经济发展和医学科技进步作出更大的贡献。

www.hanlin.io
仅内部使用，严禁商用

创　新　点

自行探索，找到了一种把冠突散囊菌接种在已经发酵的无冠突散囊菌茶叶上的方式，并且成功利用在黑茶上的冠突散囊菌，改变了在新疆等西北地区很常见的茯茶的品质，增大了其经济价值和医学科技研究价值。

本次正交实验中，我们设计实验水平因素，依据冠突散囊菌生长于茶叶上这个事实，设计了一种由一定浓度配比的茶水和 PDA 培养基混合培养基，实验证明这种混合培养基对于冠突散囊菌对茶叶品质的影响效果有所影响，也许在未来进一步优化设计以后，可以成为一种新型培养基。

本次实验对于冠突散囊菌和茯茶有了广泛地宣传，让这种有着悠久历史文化的茶叶品质发生了变化，促进了新疆等西北地区与其他地区的文化交融，物质交融。

我们的实验方法虽然不成熟，需要进一步优化设计，但是这样的实验方案，对未来的研究发展有一定参考价值。

www.hanlin.io
仅内部使用，严禁商用

展　望

1.本次实验我们只探究了茶叶的三种指标状况，但是影响茶叶品质的因素不止三种，未来可以更加细致地研究更多可以被冠突散囊菌影响的茶叶品质因素。

2.本次实验我们仅把冠突散囊菌接种在茯砖茶上，并改变了其品质，未来可以探究冠突散囊菌是否也可以改变其他品种茶叶的品质。

3.查阅资料可知，茶多酚具有抗癌的功能，此次实验可以看出冠突散囊菌对茶叶茶多酚含量有影响，那么未来可以探究冠突散囊菌能否增加茶多酚含量并对癌症有抗性。

4.本次实验的创新技术，缩短了茶叶的发花时间，可以在同样的时间内生产出更多的有冠突散囊菌的茶叶，而无菌茶和有菌茶市场价格差异很大，因此未来可以对此技术深入研究，创造更大的经济效益。

5.本次实验中，我们查阅的资料显示，冠突散囊菌的代谢产物，比如各类酶，对于茶叶中的糖类等物质有影响，那么未来可以研究其代谢产物究竟怎样影响了茶叶中的化学成分，为医学科技发展做出更多更重要的贡献。

www.hanlin.io
仅内部使用，严禁商用

参 考 文 献

[1]刘 婷.李 颂.张 赓.刘 洋.彭 超.熊 强.王春玲.冠突散囊菌和茯砖茶的健康功效[J]中粮营养健康研究院，2016,37(5)；

[2]肖文军.傅冬和.任国谱.等.茯茶毒理学试验报告[J].茶叶科学，2007,27(4)；

[3]肖文军.傅冬和.任国谱.等.茯茶辅助调节血脂作用研究[J].茶叶科学，2007(3):211-214

[4]姚 茂君.黄 群.陈林杰.李彦坡.冠突散囊菌的分离及其液态发酵特性[J].吉林首大学食品科学研究所,2007(6)；

[5]张 悦.朱 荫.叶火香.谭俊峰.刘林敏.吕海鹏.俞燎远.林 智.不同产地香茶的主要化学成分含量的差异分析[J].农业部茶树生物学与资源利用重点实验室，中国农业科学院茶叶研究所；浙江省松阳县农业技术推广中心；浙江省农业技术推广中心,2017(22)；

[6]徐仲溪.王坤波.周跃斌.高代珍.徐超富.沱茶生化成分与品质形成的关系[J].湖南农业大学,2005,2(1)；

[7]陈红艳.李雨浩.岑浩彬.黑茶茶多酚类物质的提取及其抗氧化性能研究[J].北京林业大学.2017,22(9):101－107；

[8]李 静.王惠泽 2 .刘艳红.房川琳.李桂英.茶叶中提取咖啡因实验教学改革探索与实践[J].四川大学.2015,1(1)；

[9]荆 琪.邓 宇.微波法从茶叶中提取茶多酚[J].天津科技大学化工学院.2003.

[10]陈应娟.齐桂年.陈盛相.陈智雄.四川黑茶加工过程中感官品质和化学成分的变化[J].四川农业大学,2012,7(23)；

www.hanlin.io
仅内部使用，严禁商用

[11]阮林浩.卢秦华.谭吉慧.吴 丹.朱 旗.茯砖茶发花过程中冠突散囊菌的变化及差异性初报[J].湖南农业大学园艺园林学院,2015,4(4);

[12]陈宗懋.茶多酚类化合物抗癌的生物化学和分子生物学基础[J].中国农业科学院叶研究所,2003,23(2):83—93;

[13]沈程文.邓岳朝.周跃斌.齐冬晴.贺 群.田双红.林 娟.湖南茯砖茶品质特征及其香气组份研究[J].湖南农业大学.2017,37(1):38~48;

[14]王修平.新编基础医学问答（微生物学寄生虫学免疫学分册）[M].天津科学技术出版社.2001,09;

[15]（美）哈雷著，谢建平译.图解微生物实验指南[M].2012.01;

[16]俞树荣.微生物学和微生物检验[M].人民卫生出版社.1997;

[17]Guan KY, Yamaguchi H, Li JX, et al. Traditional uses of Begonias (Begoniaceae) in China [J]. Acta Botanica Yunnanica, 2007, 29;

[18]薛山. 咖啡因生理功效、脱除技术及研究趋势[J]. 食品与机械,2013,29(01):232-235+262.

[19]吴香兰,刘仲华,曹丹,金莉莎,林勇. 茯砖茶对小鼠肠道免疫功能调节作用的研究[J]. 茶叶科学,2013,33(02):125-130.

[20]陈桂梅,邓永亮,黄亚亚,张玥,纪晓明,周兴长,胡歆. 冠突散囊菌生长过程中几种胞外酶活性变化[J]. 茶叶科学,2013,33(04):306-310.

[21]彭晓赟,梁法亮,李冬利,陈玉婵,陶美华,章卫民,赵运林. 茯砖茶中冠突散囊菌的次级代谢产物及其生物活性研究[J]. 中草药,2013,44(14):1881-1886.

[22]张建勇,江用文,江和源,王伟伟,龙丹,薛金金. 茶多酚片主要功效成分加速稳定性试验研究[J]. 中国农学通报,2013,29(30):206-209.

[23]王强,曹省艳,王强,李波,黄谦,汪露,王钒. 微生物胞外酶研究进展[J]. 中国畜牧兽医,2012,39(01):75-77.

www.hanlin.io
仅内部使用，严禁商用

[24]陈桂梅. 冠突散囊菌研究进展[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2012,40(03):179-184.

[25]王蝶,黄建安,叶小燕,曹丹,张健炜,刘仲华. 茯砖茶减肥作用研究[J]. 茶叶科学,2012,32(01):81-86.

[26]施梦南,龚淑英. 茶叶香气研究进展[J]. 茶叶,2012,38(01):19-23.

[27]黄浩,黄建安,李适,刘仲华. 茯茶“散茶发花”加工过程中茶多酚和碳水化合物及冠突散囊菌数量的变化研究[J]. 中国农学通报,2012,28(15):227-232.

[28]胡治远,赵运林,刘石泉,李燕子,许永立. 茯砖茶冠突散囊菌多样性初步研究[J]. 茶叶,2012,38(02):82-88.

[29]邓永亮. SWOT分析法探讨陕西茯茶的发展[J]. 中国农学通报,2012,28(23):160-164.

[30]何煜波,姜爱丽,胡文忠,刘程惠,徐国凯. 黑茶加工工艺与保健功能研究[J]. 安徽农业科学,2012,40(27):13595-13597+13600.

[31]官兴丽,刘跃云. 茶叶咖啡碱的功效及含量测定研究进展[J]. 福建茶叶,2012,34(03):5-8

[32]王栋,康健. 茶多酚的功效、提取和应用前景[J]. 新疆大学学报(自然科学版),2007(02):217-221.

[33]黄群,李彦坡,陈林杰,车科. 冠突散囊菌液态发酵过程中黑茶活性成分变化研究[J]. 食品科学,2007(12):231-234.

[34]邓放明,龚淑莉,杨伟丽. 冠突散囊菌胞外多糖生物活性高通量筛选试验[J]. 食品与机械,2007(06):48-51+113.

[35]廖伟伟. 营养琼脂培养基制备新方法的建立[J]. 中国畜禽种

www.hanlin.io
仅内部使用，严禁商用

业, 2016, 12(05):39-40.

[36]徐佳, 邱树毅, 周鸿翔, 班世栋, 王晓丹. 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(06):55-59.

[37]何华锋, 朱宏凯, 董春旺, 叶阳, 桂安辉, 高明珠. 黑茶香气化学研究进展[J]. 茶叶科学, 2015, 35(02):121-129.

[38]郑欣欣, 吕嘉枥, 张彪燕. 不同因素对冠突散囊菌色素的影响[J]. 食品工业, 2015, 36(04):4-7.

[39]侯爱香, 李宗军, 李珂. 茯砖茶的历史、流通和加工[J]. 轻工科技, 2015, 31(09):1-3.

[40]王万绪, 谭蓉, 谢丽娜. 茶制品在日化领域的应用进展[J]. 中国茶叶加工, 2015(04):5-10.

[41]李刚, 王磊, 肖兴基, 席运官. 有机茶与常规茶中主要口感与功能成分的测定与比较[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(27):251-253.

[42]袁杰, 翁连进, 耿峭, 杨欣, 韩媛媛. 茶叶香气的影响因素[J]. 氨基酸和生物资源, 2014, 36(01):14-18+35.

[43]李莹, 邹先伟, 张小娜, 王莹, 唐劲天, 张阳德. 冠突散囊菌不同溶剂提取物体外抗氧化活性研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(07):143-146.

[44]刘丽萍, 唐雨薇, 王若娴, 李志冰, 刘仲华, 刘硕谦. 茯茶冠突散囊菌发酵生产吲哚生物碱的研究[J]. 茶叶科学, 2017, 37(05):503-512.

[45]王沁. 浅谈微生物与人类健康[J]. 现代医学与健康研究电子杂志, 2017, 1(09):160.

[46]张冬民. 培养基制备的注意事项[J]. 中国微生态学杂志, 2006(03):256.

www.hanlin.io
仅内部使用，严禁商用

致　谢

宋珊珊老师在此次实验中提供了很多技术指导，引导我们完善实验思路，帮助我们联系了实验室，使我们可以有良好的环境顺利完成实验，完成这篇论文。伍军老师为我们寻找了很多实验所需要的仪器与试剂，提供了部分技术指导，保证了我们实验的持续进行。

两位指导老师是我们的“领导”——是我们在学术道路上的引领者和向导，我们整个实验过程花费了不少的时间，有时候我们也觉得枯燥乏味，但是两位老师在此期间，抽出自己本来就紧张的时间，一直陪伴我们完成实验，给予我们适当的鼓励，感谢两位指导老师在此次实验中做出的贡献。

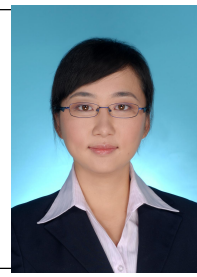
我们的母校，适时提供了资金方面的援助，让我们的实验可以更加顺利地进行，一直到完成。感谢我们敬爱的母校为我们提供的一切帮助和支持。

杨丽佳在此次实验中，联系实验指导老师，分析归纳实验数据；李依然在此次实验中，提供了文献资料、实验思路，寻找实验菌种；林珑玉在此次实验中，记录实验数据，拍摄实验所需资料，提供实验植物。全体成员共同完成整个实验操作，每个成员都在实验中贡献了自己的一份力量，每一个成员都在互相扶持，互相帮助，每一个成员之间都应该感谢对方给予的帮助。

在此，我们献上崇高的敬意，再次感谢亲爱的指导老师和敬爱的母校。

www.hanlin.io
仅内部使用，严禁商用

第一指导老师宋珊珊个人履历表

<table>
<tr><td>姓　名</td><td>宋珊珊</td><td>性　别</td><td>女</td><td>工作所在地</td><td>新疆克拉玛依</td><td colspan="2" rowspan="4">  </td></tr>
<tr><td>联系电话</td><td colspan="2">17797905032</td><td>电子邮箱</td><td colspan="2">susansong33@163.com</td></tr>
<tr><td>职称</td><td colspan="2">中教二级</td><td>学历</td><td colspan="2">硕士</td></tr>
<tr><td>所教科目</td><td colspan="2">生物</td><td>毕业院校</td><td colspan="2">华东师范大学</td></tr>
<tr><td>联系地址</td><td colspan="7">克拉玛依市第一中学高中部</td></tr>
<tr><td rowspan="2">工作经历</td><td colspan="2">起止年月</td><td colspan="3">就职单位（学校）</td><td colspan="2">职务</td></tr>
<tr><td colspan="2">2012 年 7 月至今</td><td colspan="3">克拉玛依市第一中学</td><td colspan="2">生物教师</td></tr>
<tr><td>主要获奖情况
(荣誉奖项、竞赛奖项、辅导奖等)</td><td colspan="7">个人获奖：
2013 年校优质课
2015 年校讲课比赛“专业指导奖”
2016 年克拉玛依是第一中学“青年才俊”“金牌教练”
2017 年自治区论文大赛三等奖
2017 年自治区优秀科技创新辅导教师
2018 年克拉玛依市教坛新秀大赛二等奖
2018 年全国中学生生物奥林匹克竞赛辅导教师二等奖
辅导学生获奖情况：
2016 年青少年科技创新大赛自治区一等奖
2016 年全国中学生生物奥林匹克大赛省三
2017 年丘成桐科学奖（生物）铜牌
2017 年青少年科技创新大赛国家三等奖
2018 年青少年科技创新大赛国家三等奖
2018 年全国中学生生物奥林匹克竞赛若干</td></tr>
<tr><td>经历</td><td colspan="7">学历：
生物学教学 教育学硕士
生物科学理学学士
行政管理（公共管理方向）管理学学士
经历简介：
2008-2012 年 华东师范大学就读本科
曾任孟宪成书院学生会副主席，生命科学学院辩论队队长，生物系 08 级团支书
2013-2016 年 华东师范大学就读研究生
2012 至今 克拉玛依市第一中学 生物教师
任 2015 届 9 班班主任，
2015 年学校教育转型在北京十一学校培训后，在担任常规生物 II 教学的基础上，任校研究性学习负责人，生物 I 课程负责人，2020 届生物拓展奥赛主教练
爱好广泛 乐于交流</td></tr>
</table>

www.hanlin.io
仅内部使用，严禁商用

指导老师伍军个人履历表

<table>
<tr><td>姓　名</td><td>伍军</td><td>性　别</td><td>男</td><td>工作所在地</td><td>新疆克拉玛依</td><td rowspan="4"> </td></tr>
<tr><td>联系电话</td><td colspan="2">13689961390</td><td>电子邮箱</td><td colspan="2">Junwu-kl119@sohu.com</td></tr>
<tr><td>职称</td><td colspan="2">中教高级</td><td>学历</td><td colspan="2">硕士</td></tr>
<tr><td>所教科目</td><td colspan="2">化学</td><td>毕业院校</td><td colspan="2">伊犁师范大学</td></tr>
<tr><td>联系地址</td><td colspan="6">克拉玛依市第一中学高中部</td></tr>
<tr><td rowspan="2">工作经历</td><td>起止年月</td><td colspan="3">就职单位（学校）</td><td colspan="2">职务</td></tr>
<tr><td>1995 年 7 月至 2013 年 5 月
2013 年 5 月至今</td><td colspan="3">克拉玛依市第十三中学
克拉玛依市第一中学</td><td colspan="2">化学教师、教研组长
化学教师、化学三层负责人</td></tr>
<tr><td>主要获奖情况（荣誉奖项、竞赛奖项、辅导奖等）</td><td colspan="6">个人获奖：
2008 年克拉玛依教育局“教学能手”
2008 年-2013 年十三中学多次获得“优秀教师”称号。
2010 年-2013 年克拉玛依市骨干教师称号。
2013 年-2016 年克拉玛依市化学学科带头人
2016 年自治区优质课讲课比赛优秀指导教师奖。
辅导学生获奖情况：
2008 年自治区化学竞赛自治区一等奖
2011 年自治区化学竞赛自治区一等奖
2018 年青少年科技创新大赛自治区一等奖</td></tr>
<tr><td>经历</td><td colspan="6">学历：
化学学教学　　课程管理硕士
化学科学理学学士
经历简介：
1991 年-1995 年 伊犁师范学院就读本科
曾任化学系学生会学习部成员，化学系 91 级 2 班班干部
2006 年-2008 年 华东师范大学就读在职研究生
1995 年--2013 年克拉玛依市第十三中学 化学教师 班主任 教研组长 市级骨干教师
2013 至今 克拉玛依市第一中学 化学教师 名师工作室指导教师 市级学科带头人
从 1995 年工作至 2013 年一直担任班主任
2013 年学校教育转型在北京十一学校培训后，在担任常规化学 II、III 教学的基础上，化学 III 课程负责人。
爱好广泛 乐于交流</td></tr>
</table>