

普洱茶后发酵过程中微生物的研究进展

朱宏涛^{1,2}, 杨崇仁², 李元¹, 张颖君^{2*}

(1 云南农业大学资源与环境学院, 云南 昆明 650201; 2 中国科学院昆明植物研究所植物化学
与西部植物资源持续利用国家重点实验室, 云南 昆明 650204)

摘要: 对有关普洱茶后发酵生产与微生物的关系、微生物的种类、微生物对普洱茶品质的影响以及主要微生物的生长特性等方面的研究工作进行综述。指出加强普洱茶后发酵过程中微生物基础研究的必要性, 提出建立普洱茶后发酵菌物库, 重视对影响普洱茶品质的菌物开展系统研究的建议。

关键词: 普洱茶; 后发酵过程; 微生物

中图分类号: Q 948

文献标识码: A

文章编号: 0253-2700 (2008) 06-718-07

Advances on the Research of Microbes during the Post-fermentative Process of Pu-er Tea

ZHU Hong-Tao^{1,2}, YANG Chong-Ren¹, LI Yuan¹, ZHANG Ying-Jun^{2*}

(1 College of Resources and Environment, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;

2 State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China)

Abstract: The microbes found in Pu-er tea, microbes in relation to the post fermentative processing, microbes in relation to Pu-er tea quality and the growth traits of main microbes were reviewed. It was pointed out that fundamental studies on the post fermentative microbes of Pu-er tea should be strengthened; a bank of the post fermentative microbes of Pu-er tea should be established; and a systematic study on those microbes with identified impacts on Pu-er tea quality should be given high priority.

Key words: Pu-er tea; Post-fermentative process; Microbes

普洱茶有悠久的历史, 唐朝樊绰撰的《蛮书》(公元 846 年) 中即有记载 (陈宗懋, 1992)。普洱熟茶是以云南特有大叶茶 (*Camellia sinensis* (Linn) var. *assamica* (Masters) Kitamura) 的晒青毛茶为原料, 在微生物的作用下, 经漫长的自然陈化或快速的人工渥堆后发酵而成的后发酵茶类 (陈宗懋, 2000; 杨崇仁等, 2006)。普洱茶具有降血脂、健齿护牙、抗癌及防治心脑血管疾病等功效 (张冬英等, 2005)。普洱熟茶具有特殊的风味, 与普洱生茶 (晒青毛茶) 有显著的差异。普洱熟茶的多酚类成分在微生物的作用下发生显

著的变化, 简单的儿茶素类衍生物大量消失, 形成大量的多聚体和氧化产物。在没食子酸含量显著增加的同时, 以普洱茶素 (puerrin) 为代表的新类型的儿茶素衍生物成为普洱熟茶的特征性成分 (林智等, 2006; 周志宏等, 2000; 张雯洁等, 1995; 折改梅等, 2005)。此外, 普洱茶的香气成分与晒青毛茶和蒸青绿茶之间亦有显著差异。晒青毛茶的主要香气成分为芳樟醇 (Linalool), α -松油醇 (α -Terpineol), 香叶醇 (Geraniol) 及其衍生物的萜类成分。普洱茶特殊的香气成分则是以芳香族化合物为主, 如: 1, 2, 3 三甲氧基苯,

* 通讯作者: Author for correspondence; E-mail: zhangyj@mail.kib.ac.cn

收稿日期: 2008-01-22, 2008-06-10 接受发表

作者简介: 朱宏涛 (1977-) 女, 在读硕士研究生, 主要从事微生物培养、生物转化及植物生物技术等研究工作。

二乙基苯酚以及二丁基苯酚等。普洱茶特殊的风味是在后发酵过程中形成的，是与参与后发酵过程的微生物的生物转化作用，以及微生物本身的次生代谢有关的。多酚类化学物质和香气成分等的组成的变化是普洱茶汤色、香气、口感等不同风味与质量的物质基础（周志宏等，2006）。不同厂家生产的普洱茶具有不同的风味，提示不同产地普洱茶后发酵的优势菌群有所差异，这些特点使得对普洱茶的菌物种类，菌物生长特性的研究很有必要。本文对迄今已发表的有关普洱熟茶与微生物相互关系的研究报道进行综述，并对进一步的系统研究提出建议。

1 普洱茶的生产方法与微生物的关系

1.1 早期普洱茶的生产方法与微生物的关系

最早的普洱茶是通过自然存放，经长时间缓慢的自然发酵，或由于茶商的长途运输，在高温多湿的环境条件下逐步形成。基本的加工和形成过程是：云南大叶茶鲜茶杀青，揉条，日晒干燥，挑选分类，紧压成形，自然陈化（熊昌云和彭红，2006）。因此，自然发酵的普洱茶称为普洱陈茶。由于自然环境中存在着多种多样的微生物类群，普洱茶在漫长的运输或储存过程中，暴露于空气中自然陈化，它的形成与微生物的参与密不可分（黄键屏和吴楚才，2002）。有些微生物的孢子在茶饼表面及饼内堆积成黄色粉末，在普洱茶贸易中习惯称为“金花”。“金花”着生越多的茶饼被认为品质越好，可见微生物在普洱茶形成过程中起着重要的作用（胡建程和胡月龄，1957；刘作易等，1991；刘作易，1998）。

1.2 现代的普洱茶生产方法与微生物的关系

随着普洱茶消费群体的增长，对普洱茶的需求日益增长，传统的生产方式已经不能满足市场的需求，普洱茶的生产方式有了很大的改变。现代的普洱茶生产采用渥堆的方式，在保证普洱茶品质的前提下，缩短了普洱茶的生产周期（朱志安，2007）。目前普遍采取的生产工艺是：云南大叶茶鲜叶经过杀青，日光干燥，揉捻成形，分级归堆，潮水渥堆，风干醇化，筛分，散放或紧压成形，包装，贮放醇化后投放市场（Crocker，2003；Hafezi等，2006；熊昌云和彭红，2006）。大量的研究表明，普洱茶渥堆发酵的适宜温度为

50 左右，茶叶发酵过程中的含水量宜保持在 50%~60%，堆高 1.5~2 m（李明忠，1991）。目前，采用专用菌曲生产普洱茶已经成为一种趋势。邓雅然（2006）采用真空加热回潮的晒青毛茶，接种黑曲霉菌、青霉菌、根霉菌和酵母菌，在 40~65 温度条件下加氧发酵后，经筛分、压制、干燥、消毒后得到普洱茶产品。该方法生产的普洱茶具有汤色红浓明亮，无霉味，叶底完好、有活性，滑口、回甘、醇和等特色。周红杰等（2006a, b, c, d, e）则将普洱茶加工过程中出现的有益单一菌种：米曲霉、黑曲霉和酿酒酵母分别按重量比 0.01%~0.05% 的量加入到普洱茶的大生产加工工艺中；或将米曲霉、黑曲霉、酿酒酵母按 1:1:1 或 1:2:1 的比例混合后，再按重量比 0.01%~0.05% 的量加入到普洱茶的大生产加工工艺中；将绿色木霉真菌按重量比为 0.1%~0.8% 的比例用于普洱茶的大生产过程中。可人为控制普洱茶中的茶多酚、茶褐素、以及茶多糖等功能性物质的含量，缩短了普洱茶的加工时间，降低了生产成本，提升了普洱茶的品质。陈可可等（2006a, b），采用日本曲霉原变种，臭曲霉，温特曲霉烟色变种等 7 个菌株的发酵液单一或随意组合成“菌曲”与晒青毛茶混合后共同发酵，可控制参与发酵的微生物种类及组合，有效地调控发酵过程及相关因子。普洱生茶原料通过一定温度和湿度的处理后进行接种，有利于特定的优势微生物菌群的快速生长，缩短了发酵周期，保证了质量的稳定性。可见，微生物在普洱茶的后发酵生产过程中起着重要的作用，离开了微生物，普洱茶的品质和风味将得不到保证。

2 普洱茶中微生物类群的研究现状

2.1 陈化茶中的微生物类群

陈化茶中微生物的分离鉴定研究主要集中在上世纪 50~70 年代，研究对象多为湖北、湖南等地的茯茶砖或黑茶砖（胡建程等，1979；1957）。1956 年苏联专家 N. N 加勒达瓦叶考察我国茶叶时曾报道在老青茶堆集发酵生产过程中发现的霉菌有灰绿青霉（*Penicillium glaucus*）的 *Paladium* 变种、黑曲霉（*Aspergillus niger*）、灰绿曲霉（*A. glaucus*）和黑根霉（*Rhizopus nigricans*）等，其中最常见的是灰绿青霉和黑曲霉两种。胡

建程和胡月龄 (1957) 报道从湖南安化的茯茶砖中分离到青霉菌 (*Penicillium*)、灰绿曲霉菌 (*A. glaucus*)、米曲霉菌 (*A. oryzae*) 和根霉菌 (*Rhizopus*)；从该地区的黑茶砖中分离到青霉属 (*Penicillium*)、根霉属 (*Rhizopus*)、共头霉属 (*Syncephalastrum*) 和竹丝霉属 (*Dictyuchus*) 真菌；从湖北羊楼洞加工的米砖中分离到青霉菌 (*Penicillium*)，黑曲霉菌 (*A. niger*)、毛霉属 (*Mucor*) 和共头霉属 (*Syncephalastrum*) 真菌；从湖北赵李桥加工的老青茶砖中分离到青霉菌 (*Penicillium*)、灰绿曲霉菌 (*A. glaucus*) 和黑曲霉菌 (*A. niger*)。之后，又从 1978 年湖南安化白沙溪茶厂所产的黑茶砖中分离到灰绿曲霉 (*A. glaucus*) 和青霉 (*Penicillium*)；从该厂同批生产的花砖中亦分离到灰绿曲霉 (*A. glaucus*) 和青霉 (*Penicillium*)；从云南下关茶厂生产的沱茶中分离到灰绿曲霉 (*A. glaucus*)、米曲霉 (*A. oryzae*)、青霉 (*Penicillium*)、镰刀霉 (*Fusarium*) 和簇孢匍柄霉 (*Stemphylium*)；从紧压茶中分离到灰绿曲霉 (*A. glaucus*)、米曲霉 (*A. oryzae*)、青霉 (*Penicillium*)、毛霉 (*Mucor*) 和黑曲霉 (*A. niger*)；从饼茶中分离到灰绿曲霉 (*A. glaucus*)，米曲霉 (*A. oryzae*)、黑曲霉 (*A. niger*) 和青霉 (*Penicillium*) (胡建程等, 1979)。

2.2 普洱熟茶中的微生物类群

70 年代后研究重点逐渐转入人工后发酵的茶类。上世纪 80 年代有报道从四川重庆巴岳茶厂的普洱茶中分离到黑曲霉 (*A. niger*)、青霉 (*Penicillium*)、根霉 (*Rhizopus*)、灰绿曲霉 (*A. glaucus*)、酵母菌 (*Saccharomyces*) 等微生物，并认为在渥堆过程中，前期与黑曲霉和根霉为主，后期出现了灰绿曲霉、青霉和酵母，黑曲霉约占微生物总数的 80% (陈宗道, 1985)。从昆明市西山区得顺茶厂的普洱茶渥堆中分离到类似的微生物，亦认为黑曲霉是普洱茶后发酵过程中始终存在优势菌种 (周红杰, 2004)。温琼英和刘素纯 (1991) 研究表明，微生物作用于黑茶渥堆的全过程，起主导作用是假丝酵母，中后期霉菌有所上升，其中以黑曲霉为主，还有少量青霉和芽枝霉。初期还有大量细菌参与，主要是无芽孢细菌及少量芽孢细菌，还有金黄色葡萄球菌。马静和罗龙新 (1994) 镜检鉴定研究表明黑

茶在渥堆中微生物群落主要是酵母、霉菌和细菌。其中以酵母菌最多，且为假丝酵母 (*Candida* sp.) 中的种类；霉菌则以黑曲霉 (*A. niger*) 占优势，其次为青霉 (*Penicillium* sp.)；细菌为无芽孢短小杆菌等。我们对云南省多个普洱茶生产区 (临沧、普洱、思茅、版纳等) 普洱茶生产厂渥堆过程中的微生物菌群进行了分离和鉴定，发现主要的优势菌株仍为曲霉属真菌，其中占总菌密度较大的种类主要是臭曲霉 (*A. foetidus* Thom & Rapei)、日本曲霉原变种 (*A. japonicus* Saito var. *japonicus*)、帚状曲霉 (*A. penicilliodes* Speg.)、温特曲霉烟色变种 (*A. wentii* Wegner var. *fumeus* Qi & Sun) 等，但未发现黑曲霉 (陈可可等, 2006c)。最近，有台湾研究者从不同产地的普洱茶中分离鉴定出两株链霉菌属 (*Streptomyces bacillarys*) 的灰色和粉红色球菌，并进一步研究了它们对茶叶发酵过程中内含物的影响 (Jeng, 2007)。很多研究都表明，普洱茶后发酵过程中，存在着共性的微生物类群，但采自不同地区不同时期，不同基质的研究对象中又存在着差异，这对提高普洱茶的产品质量有着重要的指导意义。

3 普洱茶生产过程中微生物的重要作用及生长特性

3.1 普洱茶后发酵过程中主要微生物的作用

微生物发酵是有机物被微生物氧化降解并释放能量的过程。在工业生产上笼统地把一切以微生物的生命活动而实现的工业生产统称为微生物发酵，包括有氧呼吸和无氧呼吸。不同种类的微生物，在生长繁殖时能产生出不同的代谢产物，同时其体内的生物酶也是千差万别的 (俞俊堂等, 1991; 余永年等译, 1983)。就普洱茶生产而言，其生产过程中起主导作用的乃是曲霉属真菌及发酵后期的一些酵母、青霉等菌 (周红杰等, 2004; 周志宏等, 2006)。

黑曲霉富含柠檬酸 (Maria, 2007)、单宁酸 (Aissam 等, 2002)、葡萄糖酸、草酸及抗坏血酸等有机酸，同时，富含糖苷酶、果胶酶、葡萄糖淀粉酶、纤维素酶、柚苷酶、乳酸酶等多种酶类 (余永年等译, 1983)。黑曲霉能生产酸性蛋白酶 (张正树, 1998)，而酸性蛋白酶是一类肽酶，能

将蛋白质水解成游离的氨基酸, 黑曲霉中的这一类酶通过对普洱茶中氨基酸含量的影响, 从而影响普洱茶的风味和品质 (孙常雁等, 2007)。另有报道称, 黑曲霉中的单宁酸、单宁酶具有降解水解单宁, 产生没食子酸, 使普洱茶汤色形成深红色的作用 (Aissam 等, 2005; Van Diepeningen 等, 2004)。此外, 黑曲霉中的柠檬酸具有除去晒青毛茶中重金属及对残留农药的降解作用, 这对普洱茶品质的形成起着举足轻重的作用 (Dominica and Sandhya, 2008; Teomyee 等, 2007)。

臭曲霉富含多种有机酸如单宁酸、柠檬酸等; 富含多种生物酶如单宁酶, 胞外水解酶、葡萄糖苷酶、纤维水解酶及没食子酸合成酶, 与黑曲霉起到类似的作用外 (Amin and Chellapandi, 2008; Liu 等, 2007; Mukher and Gargi, 2004; 2007), 其自身还有一种独特的土腥、陈霉味道, 这可能是某些茶厂生产出独特风味普洱茶的关键所在 (齐祖同, 1997)。

普洱茶生产过程中青霉属微生物具有多种功能, 其产生的高纤维素酶能够降解茶叶中的纤维, 增加单糖、双糖和寡糖在茶叶中的含量, 赋予普洱茶更多的回甘味觉。此外, 在青霉菌的次生代谢产物中还存在丰富的 - 葡萄糖苷酶、壳聚糖酶等生物活性酶, 能使壳聚糖降解成壳寡糖。壳寡糖具有较低的分子量, 具水溶性, 容易被机体吸收, 作为一种功能性低聚糖, 具有抗菌、调节机体免疫、抗肿瘤及促进农作物增产等功效, 对普洱茶药理活性的增强有积极的作用。 (胡丹等, 2007; 章银军等, 2006; 方文建等, 2006; 孙玉英等, 2007)。并且, 其菌丝废料含有丰富的蛋白质、矿物质和 B 族维生素。同时, 其代谢产生的青霉素对杂菌、腐败菌可能有良好的消除或抑制作用, 因此对普洱茶口感和品质的形成可能有辅助作用 (周红杰等, 2004)。

根霉属真菌是丝状菌种产 L - 乳酸的另一重要菌种 (齐祖同, 1997)。该属真菌还具有独特的凝乳酶, 能集聚生成芳香的脂类物质。根霉发酵生长时乳酸的形成, 有利于普洱茶粘滑和醇厚品质的形成 (曹本昌等, 1991; 叶为标等, 2007)。

酵母菌菌体富含蛋白质、氨基酸及多种 B 族维生素, 且具有多种酶系统, 此类蛋白质, 氨基酸及维生素可供食用 (王定昌和赖荣婷,

2002)。有机物经酵母菌发酵后, 其蛋白质、维生素 A 等物质的生物活性都会大幅提高 (王尊生和华秀英, 2000)。在酵母菌所分泌的胞外酶酶促作用下, 茶叶中最具特色的茶多酚氧化、缩合, 蛋白质的降解, 碳水化合物的分解以及各产物之间的相互聚合等一系列反应 (王平盛和梁名志, 2001)。这一系列的化合物赋予普洱茶汤独特的红褐色, 特别的陈香味。可见, 酵母菌在普洱茶发酵中的作用和对品质的影响是显著的 (赵龙飞和周红杰, 2003)。

最近, 台湾研究者采用从普洱茶中分离到的链霉菌属的灰色细球菌和同属的粉红色细球菌对普洱生茶进行渥堆发酵, 结果表明, 接菌后的发酵茶自由基清除能力增强; 总多酚含量增多, 是陈化 25 年普洱茶含量的数倍之高。链霉菌属灰色细球菌和粉红色细球菌株能够缩短普洱茶发酵的时间, 加深普洱茶茶汤的颜色, 促进普洱茶中总多酚含量的形成及提高清除自由基的能力 (Jeng 等, 2007)。普洱茶发酵后期, 茶堆中往往会存在一些杆状菌和乳酸菌, 这些杆状菌可产生丰富的多酚氧化酶、过氧化物酶等, 这些酶可将儿茶类茶多酚氧化为苯醌类物质, 苯醌类物质再进一步缩合成具有深红色的多聚体。此类微生物的存在, 有利于普洱茶品质的提高及发酵时间的缩短 (Faezi and Tayeri, 2007)。

3.2 普洱茶后发酵过程中主要微生物的生长特性

微生物在普洱茶生产过程中扮演着重要的角色, 它们自身生长的状况直接决定了发酵过程的成败, 很多研究者对其生长特性开展了研究。黑曲霉属半知菌亚门、曲霉属真菌。菌株在 PDA 培养基上生长迅速, 分生孢子大量, 表面呈暗褐色至黑色 (齐祖同等, 1997)。黑曲霉菌丝体的生长速率和停滞阶段与培养基的活性水 (aW), 培养温度以及二者的相互作用有关, 其生长的最适宜活性水 (aW) 为 0.97, 极限 (aW) 为 0.83, 最适宜生长温度为 30 , 可生长温度为 5 ~ 50 (Andrea 等, 2007)。臭曲霉也系曲霉属真菌, 具有白色或白色至黄色菌丝体, 菌落中有大量的辐射状沟纹, 分生孢子黄褐色或黑褐色, 多数菌株有刺鼻的土腥味 (齐祖同, 1997)。臭曲霉对 pH 值有广幅的适应性, 其最适 pH 值为 6 ~ 7, 硫酸铵或豆饼粉为优质氮源, 以玉米粉或果

糖为碳源时菌丝及孢子生长迅速(朱宏涛等, 2008)。日本曲霉原变种, 广泛存在于土壤、霉腐物、牛粪、羊粪及白蚁中, 富含B- 呋喃果糖苷酶(赵秀红等, 2006)。笔者曾对其生物学特性及生长环境条件进行研究, 结果表明, 该菌株在pH=3~13范围内均能正常生长, 最适宜pH值为7~8, 较为优化的氮源是硝酸铵或硫酸铵, 较为优化的碳源是麦芽糖和玉米粉。日本曲霉原变种KZ-6的最适宜生长温度为30, 次适宜温度范围为20~40。温度降低到4时停止生长, 温度升高至60时完全死亡(相关内容将在另文报道)。青霉菌系丛梗孢科, 青霉属真菌, 因其具有特殊的代谢物, 研究颇多。有研究认为适合其生长的发酵培养条件以蔗糖为碳源(60 g/L), 硝酸铵为氮源(1.5 g/L), pH 5~6(周靖等, 2007)。另有研究表明25 条件最适合于菌体生成与孢子产生, 30 条件有利于毒素分泌, 菌体生长与次生代谢物生成所需的最佳温度有所区别, 因此, 发酵培养不应全过程只选择一个温度, 而应根据发酵的不同阶段采用不同的培养温度(李芳等, 2007)。根霉菌属毛霉科根霉菌属真菌, 其菌落营养体在培养基上呈白色, 绒毛状, 孢子褐色或黑色, 常寄生于腐烂基质中, 能在米曲汁为基质的培养基中生长迅速, 一般根霉能在15~40 内生长繁殖, 其中较适宜的温度范围在30~35 内, 培养基质的含水量以50%~60%为宜(姚万春等, 2006)。酵母菌广泛应用于生物制药及食品加工工业, 通常保存在以1.0%酵母粉, 2.0%蛋白胨, 2.0%葡萄糖, 2.0%琼脂, pH值为7的培养基中。需大量培养时再活化转至含8.0%葡萄糖, 2.0%豆饼粉水解液, 0.5%磷酸二氢钾, 0.1%氯化钠, 0.02%硫酸镁, 0.06%硫酸铵, pH值为7的培养基中置于37 条件下培养(池振明等, 2005)。链霉菌是抗生素的主要产生菌, 刘灵芝等(2006)报道生长优化的营养因子为1.5%葡萄糖, 3.0%豆饼粉, 0.6%碳酸钙; 优化的非营养因子是pH值为6.0, 接种量为2.0%, 装液量为20%。

4 普洱茶后发酵微生物研究中存在的问题及建议

4.1 对微生物的研究缺乏整体性和系统性

普洱茶的生产过程中微生物的生命活动和代谢产物是普洱茶品质形成的重要因子。目前关于普洱茶的微生物研究, 大多是随机采样, 就地取材, 对菌物的物种鉴定缺乏严谨, 不免产生菌种鉴定的错误, 由于生产的地域性与普洱茶的品质有关, 系统地对各地普洱茶生产中的微生物进行研究, 才能全面揭示微生物对普洱茶品质的影响。因此, 需进一步加强对普洱茶菌物学的基础研究, 揭示微生物在普洱茶后发酵过程中的作用及机理, 为普洱茶的规范化生产和普洱茶群体品牌的构建提供科学基础。为此, 在全面采集和系统研究的基础上, 建立普洱茶后发酵菌物库, 对于普洱茶产业的可持续发展具有重要的意义。

4.2 微生物作用机制研究的片面性及浅显性

目前, 在微生物对普洱茶品质形成的研究方面, 对黑曲霉, 酵母菌, 灰色链霉菌、粉红色链霉菌, 臭曲霉, 等几类优势菌株虽有一些报道, 但均不够深入和系统。基于微生物的多样性及整体性特征, 除进一步加强从分子水平上研究优势菌物的作用机理外, 还应对在数量上占中等甚至微量的菌群进行研究, 特别是注意研究菌群组合对普洱茶品质转化的作用及其机制。

4.3 微生物的生物学特性与驯化培养研究

对普洱茶后发酵过程中分离到的微生物进行生物学特性研究, 选择最佳培养条件, 阐明其次生代谢产物的形成积累规律, 以及主要的酶系统, 并进一步对野生菌株进行驯化培养, 培育适于工业生产的专用菌株, 对于揭示普洱茶风味的物种基础, 进行普洱茶的规范化工业生产均具有重要的意义。然而, 这方面的研究还很少, 这就使得对整个普洱茶的生产控制缺乏必要的科学根据, 成为普洱茶产业规范化生产主要的限制因素之一。很有必要加强这方面的基础研究。

总而言之, 加强普洱茶后发酵过程中微生物的系统研究, 阐明微生物在普洱茶生产中的作用及其机理, 开发“普洱茶麴”, 是实现普洱茶的规范化生产, 构建群体品牌, 形成云南地区特色的普洱茶产业, 并促进可持续发展的关键所在。

【参 考 文 献】

- 马静, 罗龙新, 1994. 黑茶加工中微生物鉴定研究进展 [J]. 中国茶叶, (4): 12-13

- 王定昌, 赖荣婷, 2002. 酵母的用途 [J]. 粮油食品科技, **10** (1): 12—16
- 王平盛, 梁名志, 2001. 普洱茶古今漫谈 [J]. 云南热带科技, **24** (4): 25
- 王尊生, 华秀英, 2000. 有效微生物菌群制剂中的酵母菌的分析 [J]. 沈阳农业大学学报, **31** (3): 304—305
- 邓雅然, 2006. 普洱茶陈化加工方法 [P]. A23F3/061
- 齐祖同, 1997. 中国真菌志 [M]. 北京: 科学出版社, (5): 96—98
- 刘作易, 1998. 一种决定茯砖茶品质的重要真菌——金花菌的研究进展 [J]. 贵州茶叶, **2** (74): 33—36
- 李明忠, 1991. 贵州普洱茶生产工艺探讨 [J]. 贵州茶叶, (2): 32—34
- 朱志安, 2007. 普洱茶为什么能经久不衰风行于世 [J]. 大观周刊, (1): 58
- 余永年, 宋大康等译 (Alexopoulos CJ, Mims CW, 1979), 1983. 真菌学概论 (Introductory Mycology) [M]. 北京: 农业出版社, 1—2, 247—256
- 杨崇仁, 陈可可, 张颖君, 2006. 茶叶的分类与普洱茶的定义 [J]. 茶叶科学技术, **46** (2): 37—38
- 张正树, 1998. 酶制剂工业 (下册) [M]. 北京: 科学出版社, 392, 400—401
- 张冬英, 施兆鹏, 刘亚林等, 2005. 普洱茶药理作用研究进展 [J]. 福建茶叶, **26** (1): 43—44
- 陈宗懋, 1992. 中国茶经 [M]. 上海: 上海文化出版社, 5
- 陈宗懋, 2000. 中国茶叶大辞典 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 10—13
- 陈宗道, 刘勤晋, 周才琼, 1985. 微生物与普洱茶发酵 [J]. 茶叶科技, (4): 4—7
- 陈可可, 朱宏涛, 王东等, 2006a. 一种普洱熟茶的渥堆后发酵生产方法 [P]. CN101138368, A23F3/08 I
- 陈可可, 朱宏涛, 王东等, 2006b. 一种茶叶的后发酵生产方法 [P]. CN1860895, A23F3/08 I
- 周红杰, 龚加顺, 秘鸣等, 2006a. 微生物固态发酵技术在普洱茶加工中的应用 [P]. A23F3/10I; A23F3/14I
- 周红杰, 龚家顺, 秘鸣等, 2006b. 一种少根根霉真菌及其在普洱茶生产中的应用 [P]. C12N1/14 I, A23F3/10I, C12R1/845N
- 周红杰, 龚加顺, 秘鸣等, 2006c. 一种黑曲霉真菌及其在普洱茶生产中的应用 [P]. C12N1/14I, A23F3/11, C12R1/685N
- 周红杰, 龚加顺, 秘鸣等, 2006d. 一种米曲霉真菌及其在普洱茶生产中的应用 [P]. C12N1/14I, A23F3/10I, C12R1/69N
- 周红杰, 龚加顺, 秘鸣等, 2006e. 一种酿酒酵母真菌及其在普洱茶生产中的应用 [P]. C12N1/16I, A23F3/10I, C12R1/865N
- 胡建程, 胡月龄, 1957. 四种边茶中微生物分离和鉴定 [J]. 茶叶, (2): 20—22
- 胡建程, 胡月龄, 钱泽树, 1979. 茶叶中霉菌的研究 [J]. 茶叶, (1): 25—30
- 俞俊堂, 唐孝宣主编, 1991. 生物工艺学 [M]. 上海: 华东理工大学出版社, 3
- Aissam H, Errachidi F, Merzouki M *et al.*, 2002. Identification des levures isolées des margines et étude de leur activité catalase [J]. *Cahiers de l'Association Scientifique Européenne pour l'Eau et la Santé*, (7): 23—30
- Aissam H, Errachidi F, Penninckx M *et al.*, 2005. Production of tannase by *Aspergillus niger* HA37 growing on tannic acid and Olive Mill Waste Waters [J]. *World J Microbiol & Biotechnol*, (21): 609—614
- Amin SB, Chellapandi P, 2008. Production of extra cellular proteinase by *Aspergillus foetidus* NCIM 55 on milk powder and soya bean meal based media [J]. *Res J Biotechnol*, **3** (1): 33—38
- Andrea A, Carina M, Mar í L *et al.*, 2007. Water activity and temperature effects on growth of *Aspergillus niger*, *A. awamori* and *A. carbonarius* isolated from different substrates in Argentina [J]. *International J Food Microbiol*, (119): 314—318
- Cao BC (曹本昌), Xu JL (徐建林), Kuang Q (匡群) *et al.*, 1991. Fermentation production of L-lactic acid by *Rhizopus* sp [J]. *Food and Fermentat Industr* (食品与工业发酵), **21** (1): 37—40
- Chen KK (陈可可), Zhu HT (朱宏涛), Wang D (王东) *et al.*, 2006c. Isolation and identification of *Aspergillus* species from the post fermentative process of Pu-erh ripe tea [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), **28** (2): 123—126
- Chi ZM (池振明), Ye F (叶芳), Zhao SZ (赵双枝) *et al.*, 2005. Optimization of agitation and aeration conditions for high pullular-producing strain of *Rhodotorula bacarum* [J]. *Food and Fermentat Industr* (食品与发酵工业), **31** (2): 1—5
- Crocker A, 2003. Tea in Ullmanns encyclopedia of industrial chemistry [J]. *Wiley-BCH, Germany*, (8): 585—590
- Dominica DD, Sandhya B, 2008. Removal of heavy metals from contaminated sewage sludge using *Aspergillus niger* fermented raw liquid from pineapple wastes [J]. *Bioresource Technol*, (88): 1682—1689
- Faezi GM, Tayeri A, 2007. Isolation and characterization of polyphenol oxidase and peroxidase-producing *Bacillus* strains from fully fermented tea (*Camellia sinensis*) [J]. *World J Microbiol Biotechnol*, **23**: 1327—1332
- Fang WJ (方文建), Sui SG (隋斯光), Zheng LY (郑连英) *et al.*, 2006. Preparation of low molecular weight chitosan with chitosanase derived from *Penicillium* sp. ZD-Z1 [J]. *Chin J Pharmaceut* (中国医药工业杂志), **37** (2): 85—88
- Hafezi M, Nasernejad B, Vahabzadeh F *et al.*, 2006. Optimization of fermentation time for Iranian black tea production [J]. *Iranian J Vhem Chem Wng*, **25**: 39—44
- Huang JP (黄健屏), Wu CC (吴楚才), 2002. Distribution of the microorganism groups in the air of forest area in the forest areas [J]. *Scientia Silvae Sinicae* (林业科学), **38** (2): 173—176
- Hu D (胡丹), Liu X (刘霞), Lei J (雷颀) *et al.*, 2007. The research of screening and culture conditions of a high cellulose-producing *Penicillium* strain [J]. *China Food Additives* (中国食品添加剂), (2): 80—84
- Jeng KC, Chen CS, Fang YP *et al.*, 2007. Effect of microbial fermentation on content of Statin, GABA, and Polyphenols in Pu-erh tea [J]. *Agric Food Chem*, **55** (21): 8787—8792
- Li F (李芳), Liu B (刘波), Huang SF (黄素芳), 2007. Effect of

- temperature on *Paecilomyces lilacinus* culture characteristics and its toxicity to ditylenchus destructor [J]. *Chin J Ecol Agric* (中国生态农业学报), **16** (4): 130—134
- Liu CQ, Chen Q, Chen QF *et al.*, 2007. Effect of cultivating conditions on IDE galactosidase production by a novel *Aspergillus foetidus* ZU · · Gl strain in solid state fermentation [J]. *Zhejiang Univ Sci B*, (5): 371—376
- Liu LZ (刘灵芝), Hu JC (胡江春), Chen XS (陈锡时), 2006. Study on the fermentation condition of antibiotic-producing streptomycetes [J]. *J Anhui Agric Sci* (安徽农业学), **34** (24): 6405—6407
- Lin Z (林智), Lv HP (吕海鹏), Cui WR (崔文锐) *et al.*, 2006. Study on antioxidative polyphenol compounds in Pu Er tea [J]. *J Tea Sci* (茶叶科学), **26** (2): 112—116
- Liu ZY (刘作易), Qin J (秦京), Li NL (李乃亮) *et al.*, 1991. Study of conditions of sporogenesis of *Aspergillus chevalieri* var. *intermedius* in Fuzhuan tea [J]. *Southwest Chin J Agric Sci* (西南农业学报), **21** (6): 66—69
- Maria Popagianni, 2007. Advances in citric acid fermentation by *Aspergillus niger*: biochemical aspects, membrane transport and modeling [J]. *Biotechnol Adv*, (25): 244—263
- Mukher J, Gargi BR, 2007. Some properties of the food processing enzyme tannase produced in a bioreactor by *Aspergillus foetidus* [J]. *J Food Sci Technol*, **44** (3): 289—292
- Mukher J, Gargi BR, 2004. Biosynthesis of tannase and gallic acid from tannin rich substrates by *Rhizopus oryzae* and *Aspergillus foetidus* [J]. *J Basic Microbiol*, **44** (1): 42—48
- She GM (折改梅), Zhang XL (张香兰), Chen KK (陈可可) *et al.*, 2005. Content variation of theanine and gallic acid in Pu Er tea [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), **27** (5): 572—576
- Sun CY (孙常雁), Ma Y (马莺), Li DH (李德海) *et al.*, 2007. The Proteases formation and proteolysis during incubation of naturally fermented soybean koji [J]. *Food Sci Technol* (食品科技), **32** (8): 188—192
- Sun YY (孙玉英), Han BQ (韩宝芹), Liu WS (刘万顺) *et al.*, 2007. Screening of a chitosan-hydrolytic bacterium and research on its fermentation conditions [J]. *Period Ocean Univ China* (中国海洋大学学报), **37** (2): 266—272
- Teomyee S, Bhalerao, Pravin R *et al.*, 2007. Biodegradation of organochlorine pesticide, endosulfan by a fungal soil isolate *Aspergillus niger* [J]. *Int Biodeterior Biodegrad*, (59): 315—321
- Van Diepeningen AD, Debets AJ, Varga J *et al.*, 2004. Efficient degradation of tannic acid by black *Aspergillus* species [J]. *Mycol Res Aug*, **108** (8): 919—925
- Wen QY (温琼英), Liu SC (刘素纯), 1991. Microbes flora variety during black tea pile-fermentation [J]. *J Tea Sci*, **11** (supply): 10—16
- Xiong YC (熊昌云), Peng H (彭红), 2006. Discussion on the regularization and standardization of Pu er tea production in Simao [J]. *Guangxi Agric Sci* (广西农业科学), **37** (3): 325—328
- Yao WC (姚万春), Tang YM (唐玉明), Ren DQ (任道群) *et al.*, 2006. Study on the culture characters of some strains of *Rhizopus* sp. for koji making [J]. *China Brew-Wing* (中国酿造), (10): 34—37
- Ye WB (叶为标), Wu JG (吴进菊), Chen WP (陈卫平) *et al.*, 2007. A study on the fermentation conditions for producing chymosin with *Rhizopus* [J]. *Food Study Develop* (食品研究与开发), **28** (8): 53—56
- Zhang Y (章银军), Wang YS (王远山), Wang Z (汪钊) *et al.*, 2006. Study on the production of α -glucosidase by solid state fermentation with *Penicillium* sp. and its enzymatic characteristics [J]. *Food Sci Technol* (食品科技), **31** (7): 73—76, 84
- Zhang WJ (张雯洁), Liu YQ (刘玉清), Li XC (李兴从) *et al.*, 1995. Chemical constituents of “ecological tea” from Yunnan [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), **17** (2): 204—208
- Zhao XH (赵秀红), Li CB (李长彪), Liu C (刘长江) *et al.*, 2006. Characterization study of α -fructofuranosidase from *Aspergillus japonicus* [J]. *Biotechnology* (生物技术), **16** (3): 33—35
- Zhao LF (赵龙飞), Zhou HJ (周红杰), 2003. Preliminary study on function of yeast in developing Pu er Tea Quality [J]. *Tea Center* (茶苑), (2): 4—6
- Zhou J (周靖), Liao MD (廖美德), Xu HH (徐汉虹), 2007. Culture condition optimization of *Paecilomyces lilacinus* [J]. *J Microbiol* (微生物学杂志), **27** (2): 45—48
- Zhou ZH (周志宏), Yang CR (杨崇仁), 2000. Chemical constituents of crude green tea, the material of Pu er tea in Yunnan [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), **22** (3): 343—350
- Zhou ZH (周志宏), She GM (折改梅), Zhang Y (张颖君) *et al.*, 2006. Aromatic constituents of Pu er tea [J]. *Nat Prod Res Develop* (天然产物研究与开发), **18** (suppl): 5—8
- Zhou HJ (周红杰), Li JH (李家华), Zhao LF (赵龙飞) *et al.*, 2004. Study on main microbes on quality formation of Yunnan Pu er tea during pile-fermentation process [J]. *J Tea Sci* (茶叶科学), **24** (3): 212—218
- Zhu HT (朱宏涛), Chen KK (陈可可), Wang D (王东) *et al.*, 2008. The biological characteristics of *Aspergillus foetidus*, a preponderant microbe during the post fermentative process of Pu er tea [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), **30** (4): 510—514