

# 红茶果醋发酵工艺优化

魏建敏, 陈燕, 陈莉, 卢红梅

(贵州省发酵工程与生物制药重点实验室, 贵州大学酿酒与食品工程学院, 贵州贵阳 550025)

**摘要:** 为确定红茶果醋的最佳工艺参数, 本试验以红茶、石榴为原料, 接种酵母菌、醋酸菌进行发酵。在单因素实验的基础上, 以茶果汁比、酵母菌接种量、加糖量为因素进行酒精发酵阶段的正交实验, 以初始酒精度、醋酸菌接种量、发酵温度为因素进行醋酸发酵阶段的正交实验。结果表明: 优化后的最佳工艺条件为: 酒精发酵阶段, 微波浸提 4 min, 茶水比 5:100, 茶果汁比 1:5, 酵母菌接种量 0.2%, 加糖量 16 g/100 mL; 醋酸发酵阶段, 装瓶量 30%, 初始酒精度 7% vol, 醋酸菌接种量 12%, 30 °C 发酵。在此条件下, 发酵的红茶果醋总酸含量为 6.48 g/100 mL、茶多酚含量为 397.85 mg/L, 富含 16 种氨基酸, 总含量为 5.93 mg/mL, 其中必需氨基酸占总含量的 38.45%, 其色泽明亮、香气协和、风味独特, 理化及卫生指标符合国家相关标准。本研究结果可为红茶果醋的开发和工业化生产提供理论依据。

**关键词:** 茶果醋; 红茶; 石榴; 酒精发酵; 醋酸发酵

文章编号: 1673-9078(2021)06-89-97

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.6.1030

## Optimization of the Fermentation Technology of Black Tea Vinegar

WEI Jian-min, CHEN Yan, CHEN Li, LU Hong-mei

(Guizhou Key Laboratory of Fermentation Engineering and Biopharmacy, School of Liquor and Food Engineering, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

**Abstract:** In order to determine the best technological parameters of black tea fruit vinegar, black tea and pomegranate were used as raw materials in this study, yeast and acetic acid bacteria were inoculated for fermentation. Based on the single factor experiments, the orthogonal experiment of alcohol fermentation stage was carried out with tea juice ratio, yeast inoculation amount and sugar content as factors, and the orthogonal experiment of acetic acid fermentation stage was carried out with the initial alcohol precision, acetic acid bacteria inoculation amount and fermentation temperature as factors. The results showed that the optimal fermentation conditions were as follows: in alcohol fermentation stage, microwave extraction was 4 minutes, the ratio of tea to water was 5:100, the ratio of tea to juice was 1:5, yeast inoculation amount was 0.2%, sugar addition amount was 16 g/100 mL; in acetic acid fermentation stage, bottling amount was 30%, initial ethanol content was 7% vol, acetic acid bacteria inoculation amount was 12%, fermentation at 30 °C. Under the optimized conditions, the total acid of black tea fruit vinegar was 6.48 g/100 mL, and the content of tea polyphenols was 397.85 mg/L. It was rich in 16 kinds of amino acids, and the total content was 5.93 mg/mL, among which the essential amino acids accounted for 38.45% of the total content. Its color was bright, aroma was harmonious, flavor was unique, the physical and chemical and health indicators met the relevant national standards. It provided a theoretical basis for the development and industrial production of black tea vinegar.

**Key words:** tea fruit vinegar; black tea; pomegranate; alcohol fermentation; acetic acid fermentation

引文格式:

魏建敏,陈燕,陈莉,等.红茶果醋发酵工艺优化[J].现代食品科技,2021,37(6):89-97

WEI Jian-min, CHEN Yan, CHEN Li, et al. Optimization of the fermentation technology of black tea vinegar [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(6): 89-97

红茶属于全发酵茶, 通过典型的萎凋、揉捻、发酵、干燥等工艺流程精制而成, 因冲泡后的茶汤和叶底色呈红色而得名, 是目前世界上生产和贸易量最大

收稿日期: 2020-11-08

基金项目: 贵州省科技支撑计划项目(黔科合支撑[2019]2371号)

作者简介: 魏建敏(1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品生物工程

通讯作者: 陈莉(1975-), 女, 副教授, 研究方向: 食品生物技术

的茶类<sup>[1-3]</sup>。大量的研究证明了红茶具有预防癌症、防治高血糖、预防肥胖等作用<sup>[4-8]</sup>。石榴为石榴科植物, 以维生素 C 含量高而著称, 在作为水果食用的同时还具有很大的药用价值<sup>[9]</sup>。其含有丰富的多酚类、生物碱、维生素、有机酸等生物活性成分<sup>[10]</sup>, 有抗炎、抗肿瘤、降低胆固醇等作用<sup>[11-13]</sup>。因其鲜果中总糖含量占 14%~18%<sup>[14]</sup>, 宜作为果醋发酵原料。

茶果醋是以茶叶为主要原料,将茶原浆与果汁混合,经发酵调配而成的醋的统称,不仅保留了茶和水果的营养价值,还具备醋的风味特征,具有一定的保健功效<sup>[15]</sup>。目前关于茶果醋的研究并不多,且多以绿茶、黑茶为主要原料进行发酵,柏旭等<sup>[16]</sup>以酸木瓜为主要原料,添加普洱茶汤及新鲜咖啡汁发酵木瓜复合风味茶果醋;张芳等<sup>[17]</sup>对以茶叶和苹果汁为原料发酵茶果醋的工艺条件进行研究,最终酿造的茶果醋同时具有苹果和茶叶的特殊清香味,口感醇厚;张学良等<sup>[18]</sup>以绿茶、桑葚为原料研制出色泽透明、具有清淡的绿茶和醋香气味的绿茶桑葚醋饮料。

随着生活水平的提高,人们在食品的选择上愈发向绿色健康的产品倾斜。茶果醋的开发对提高茶叶的综合利用、茶叶的附加值有重要意义。本研究以红茶和石榴为主要原料,以酵母菌、醋酸菌作为发酵菌种,从红茶果醋发酵的酒精阶段和醋酸阶段对其生产工艺进行研究,通过单因素实验和正交实验优化其生产工艺,以期两种发酵原料能在风味、营养成分等方面达到互补增强的效果,并为茶果醋的开发提供理论基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

红茶碎茶,产自贵州省遵义市湄潭县;石榴,产自云南省红河哈尼族彝族自治州蒙自市;安琪酵母、安琪发酵营养剂 FN502,安琪酵母股份有限公司;分析纯蔗糖,天津市科密欧化学试剂有限公司;醋酸菌种,为实验室保藏巴氏醋酸杆菌。

### 1.2 仪器与设备

G80F23CN1P-G5(S0)微波炉,广东格兰仕微波炉电器制造有限公司;SPX-250B 生化培养箱,上海琅玕实验设备有限公司;DZ-1 磁力搅拌器、ZD-2A 酸度计,上海大普仪器有限公司;ATC 手持糖度计,上海天垒仪器仪表有限公司;立式高压蒸汽灭菌锅,上海博讯实业有限公司医疗设备厂;722S 可见分光光度计,上海菁华科技仪器有限公司;ZD-85A 恒温震荡培养箱,常州朗越仪器制造有限公司。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 红茶果醋制作工艺流程

茶叶→60 目粉碎→浸提

↓

石榴→去皮洗净→榨汁→茶汤、果汁混匀→糖度调整→酒精发酵→醋酸发酵→澄清→调配→杀菌→成品

#### 1.3.2 菌种活化

酵母菌菌种活化:取一定量的安琪酵母(以茶汤和果汁混合后的体积百分比计),加入 10 倍浓度为 2% 蔗糖水,放入 35 °C 恒温水浴锅中活化 30 min 后待用。

醋酸菌种活化:采用固态发酵培养。称取葡萄糖 1 g,酵母膏 1 g,琼脂 2 g,碳酸钙 2 g,加 100 mL 蒸馏水溶解,高压蒸汽灭菌锅 121 °C 灭菌 20 min,冷却至 70 °C 后加入 3.5 mL 无水乙醇,并及时倒入培养皿,待培养基凝固后,接入醋酸杆菌,倒置,30 °C 静止培养 48 h。

#### 1.3.3 酒精发酵工艺的确定

##### 1.3.3.1 单因素实验

以发酵液中茶多酚含量和酒精度为评价指标,选取浸提方式、浸提时间、茶水比、茶果汁比、接种量、加糖量为试验因素。分别设计浸提方式为微波加热浸提 5 min,90 °C 恒温水浴锅中浸提 15 min;浸提时间为 2 min、3 min、4 min、5 min、6 min、7 min;茶水比为 1:100、3:100、5:100、7:100、9:100;茶果汁比为 1:1、1:3、1:5、1:7、1:9;接种量为 0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%;加糖量为 12 g/100 mL、14 g/100 mL、16 g/100 mL、18 g/100 mL、20 g/100 mL。当考察其中一个因素时,其余因素分别为:浸提方式和时间为微波中加热 5 min 浸提、茶水比为 5:100、茶果汁比为 1:5、接种量为 0.3%、加糖量为 16 g/100 mL、28 °C 生化培养箱静置培养。每天测定酒精度和茶多酚,直至酒精度不再变化。

##### 1.3.3.2 正交试验

表 1 酒精发酵正交实验因素水平表

Table 1 Table of orthogonal experimental factors of alcohol

fermentation			
因素			
水平	A (茶果 汁比)	B (接种 量) / %	C (加糖量) /(g/100 mL)
1	1:3	2	14
2	1:5	3	16
3	1:7	4	18

在酒精发酵单因素实验的基础上,选择茶果汁比(A)、酵母菌接种量(B)、加糖量(C)为研究因素,选取 3 个水平,进行 3 因素 3 水平的正交实验,以酒精含量为主要研究指标,确定最优的酒精发酵条件参数。各因素水平见表 1。根据正交试验结果,对所得工艺条件进行 3 次平行验证,并对产品的质量指标进行检测,以得到品质较好的红茶果酒。

##### 1.3.3.3 酒精发酵工艺验证

根据正交试验结果,对所得工艺条件进行 3 次平

行验证, 并对产品的质量指标进行检测, 以期得到品质较好的红茶果酒。

### 1.3.4 醋酸发酵工艺的确定

#### 1.3.4.1 单因素实验

以发酵液中酸度和残留酒精度为评价指标, 选取初始酒精度、发酵温度、装瓶量、接种量为试验因素。分别设计初始酒精度为 6% vol、7% vol、8% vol、9% vol、10% vol; 发酵温度为 28 °C、30 °C、32 °C、34 °C、36 °C; 装瓶量为 20%、30%、40%、50%、60%; 接种量为 3%、6%、9%、12%、15%。当考察其中一个因素时, 其余因素分别为: 初始酒精度为 7% vol 的茶果酒、发酵温度为 32 °C、装瓶量为 40%、接种量为 9%、按 1 g/100 mL 比例加入营养盐。每天测定酸度和茶多酚, 直至酸度不再变化。

#### 1.3.4.2 正交试验

在醋酸发酵单因素实验的基础上, 选取初始酒精度 (A)、醋酸菌接种量 (B)、发酵温度 (C) 三个因素为研究因素, 选取 3 个水平, 进行 3 因素 3 水平的正交实验, 以酸度为主要研究指标, 确定最优的醋酸发酵条件参数。各因素水平见表 2。根据正交实验结果, 对所得工艺条件进行 3 次平行验证, 并对产品的质量指标进行检测, 以得到品质较好的红茶果醋。

表 2 醋酸发酵正交实验因素水平表

Table 2 Table of orthogonal experimental factors of acetic acid fermentation

水平	因素		
	A (初始酒精度) / (% vol)	B (接种量) / %	C (发酵温度) / °C
1	6	6	30
2	7	9	32
3	8	12	34

#### 1.3.4.3 醋酸发酵工艺验证

根据正交实验结果, 对所得工艺条件进行 3 次平行验证, 并对产品的质量指标进行检测, 以期得到品质较好的红茶果醋。

### 1.3.5 理化指标及微生物指标的测定

酒精度: 参照 AOAC Official Method 969.12: Alcohol in Wines by Dichromate Oxidation, 重铬酸钾氧化法; 总酸: 参照 GB/T 5009.41-2003<sup>[19]</sup>, 酸碱滴定法; 茶多酚: 参照 GB/T 21733-2008<sup>[20]</sup>, 分光光度法; 还原糖: DNS 法; 可溶性固形物 (SSC): 采用手持糖度计测定; 氨基酸态氮: 参照 GB/T 5009.235-2016<sup>[21]</sup>进行测定; 氨基酸含量: 将最优工艺发酵所得茶果醋澄清处理后, 采用氨基酸全自动分析仪测定; pH: 酸度计测定; 菌落总数: 参照 GB

4789.2-2016<sup>[22]</sup>进行测定; 大肠菌群: 参照 GB 4789.3-2016<sup>[23]</sup>进行测定; 致病菌: 参照 GB 29921-2013 进行测定<sup>[24]</sup>。

### 1.3.6 数据处理与分析

所有数据均为 3 次重复试验结果的平均值±标准差。使用 Excel 2010 进行数据整理; 采用 SPSS 19.0 进行单因素方差分析,  $p < 0.05$  认为显著性差异; 通过 Origin 2018 作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 酒精发酵单因素实验

#### 2.1.1 浸提方式对酒精发酵的影响

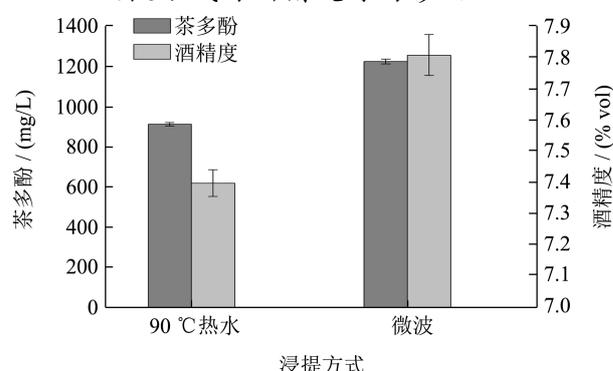


图 1 浸提方式对酒精发酵的影响

Fig.1 Effect of extraction method on alcoholic fermentation

由图 1 可知, 浸提方式对酒精度的影响不大, 但对茶多酚的保留影响较大。两种浸提方式间酒精度含量相差 0.5% vol; 而微波浸提发酵结束后茶多酚含量达 1228.384 mg/L, 相比 90 °C 热水浸提时, 有显著增加。综合后期红茶果醋产品的风味和营养价值考虑, 选择微波浸提方式更适宜。

#### 2.1.2 浸提时间对酒精发酵的影响

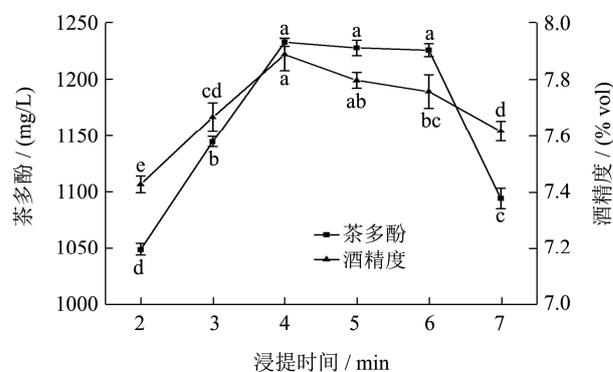


图 2 浸提时间对酒精发酵的影响

Fig.2 Effects of extraction time on alcoholic fermentation

由图 2 可知, 随着浸提时间的增加, 茶多酚含量和酒精度均呈现先增加后降低的趋势。茶多酚和酒精度在 4 min 时达到最大值, 4 min 后开始缓慢下降, 这

是因为随着浸提时间的增加,部分茶多酚发生缓慢氧化或分解,导致茶多酚含量的降低<sup>[25]</sup>;此外,茶汤长时间处于高温下,导致茶汤中的大部分营养物质丢失,不利于酵母菌进行酒精发酵,因此浸提4 min较合适。

### 2.1.3 茶水比对酒精发酵的影响

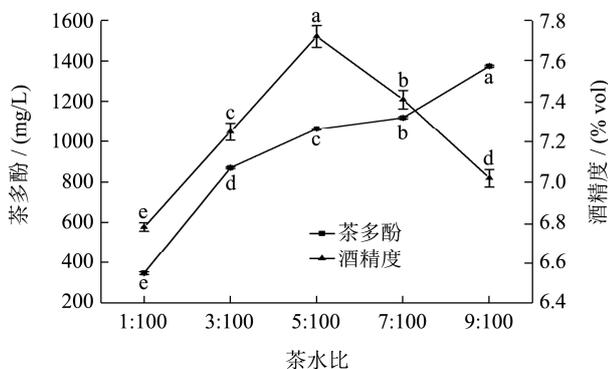


图3 茶水比对酒精发酵的影响

Fig.3 Effects of tea water ratio on alcohol fermentation

茶多酚的含量与茶水比密切相关。由图3可知,随着茶水比例的增大,茶多酚含量显著增加。当茶水比为1:100和3:100时,发酵后的酒精度较低,这可能与该比例下茶汤浓度低,酵母菌可利用的营养物质少有关;当茶水比大于5:100时,茶多酚含量较高,高浓度的茶多酚可能抑制了酵母菌的生长,导致酒精度明显降低。因此选择5:100的茶水比进行酒精发酵较为适宜。

### 2.1.4 茶果汁比对酒精发酵的影响

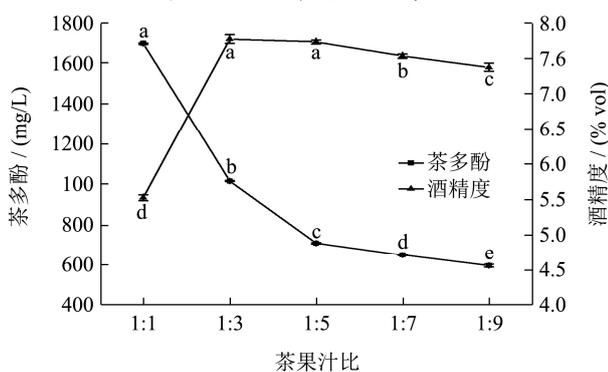


图4 茶果汁比对酒精发酵的影响

Fig.4 Effect of tea juice ratio on alcoholic fermentation

如图4所示,随着茶汤与果汁混合液中果汁比例的不断加大,茶多酚含量在减少,酒精度会上升直至趋于稳定。果汁的多少影响着后面蔗糖的加入量,加入的果汁少,需要补加的蔗糖多,所得红茶果酒风味欠缺,茶味重;加入的果汁多,红茶果酒的茶味淡,同样风味欠缺,因此要想得到风味较好的红茶果酒,应选择1:3~1:7的茶果汁比进行酒精发酵。

### 2.1.5 接种量对酒精发酵的影响

如图5所示,茶多酚和酒精度在接种量为0.3%时

均达到最大值,此后随着接种量的增加呈大幅度下降趋势。接种量是影响发酵过程的一个主要因素,接种量太小,菌种延迟期会增加,营养物质不能充分转化,发酵产物积累少;接种量太大,则会加快发酵速度,缩短发酵周期,不利于风味物质形成和品质稳定<sup>[26]</sup>,同时还会产生脂类、醛类等刺激性气味,影响口感<sup>[27]</sup>。因此选取0.2%~0.4%的接种量为宜。

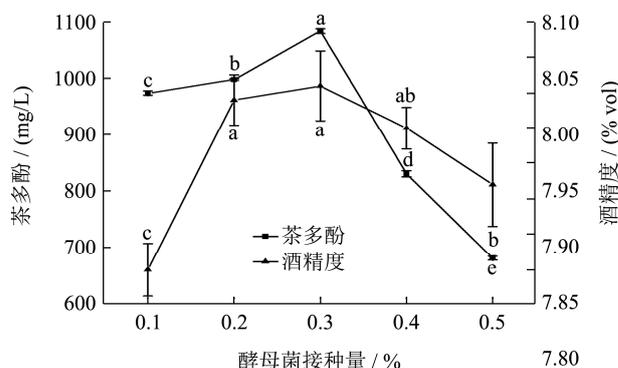


图5 接种量对酒精发酵的影响

Fig.5 Effects of inoculation amount on alcoholic fermentation

### 2.1.6 加糖量对酒精发酵的影响

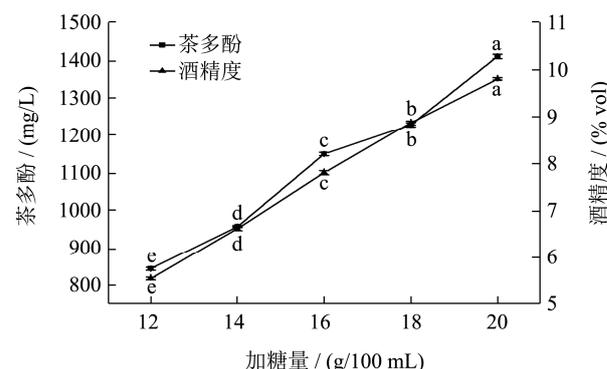


图6 加糖量对酒精发酵的影响

Fig.6 Effects of sugar content on alcohol fermentation

加糖量的多少决定了酒精度的多少<sup>[15]</sup>。由图6可知,茶多酚和酒精度都随着糖量的增加而增长。加糖量为12 g/100 mL时,所得酒精度低于6% vol,达不到后期进行醋酸发酵的要求;加糖量为20 g/100 mL时,酒精度接近10% vol,此时发酵液中容易出现渗透压高,溶氧量少的情况,从而影响酵母菌对糖的利用,且当初始酒精量高于10%时,会抑制醋酸菌生长,不利于醋酸发酵<sup>[15,28]</sup>。因此糖添加量最佳选取范围为14 g/100 mL~18 g/100 mL。

## 2.2 酒精发酵正交实验

由表3可知,  $R_C > R_B > R_A$ , 即加糖量 ( $R=0.97$ ) 对酒精发酵的影响最大,其次是接种量 ( $R=0.88$ ),影响最小的是茶果汁比 ( $R=0.32$ ),最优组合是  $A_2B_1C_2$ , 即茶果汁比1:5,接种量0.2%,加糖量16 g/100 mL。

表3 酒精正交实验结果

Table 3 Alcohol orthogonal experiment results

试验号	茶果汁比(A)	酵母菌接种量(B)/%	加糖量(C)/(g/100 mL)	酒精度/(% vol)
1	1	1	1	7.44
2	1	2	2	7.79
3	1	3	3	7.05
4	2	1	2	8.54
5	2	2	3	8.39
6	2	3	1	6.32
7	3	1	3	7.88
8	3	2	1	7.51
9	3	3	2	7.85
-----				
K <sub>1</sub>	22.28	23.86	21.27	
K <sub>2</sub>	23.25	23.69	24.18	
K <sub>3</sub>	23.24	21.22	23.32	
k <sub>1</sub>	7.43	7.95	7.09	
k <sub>2</sub>	7.75	7.90	8.06	
k <sub>3</sub>	7.75	7.07	7.77	
R	0.32	0.88	0.97	

为了进一步验证所得正交实验结果,进行了方差分析。从表4中可以看出,加糖量C达显著水平,接种量B和茶果汁比A不显著,但还是有一定影响,与极差分析所得结果一致。因此,加糖量是影响红茶果

醋酒精发酵的主要因素,在发酵过程中要着重控制;接种量和茶果汁以及其他因素也要根据实际情况确定其添加量。

表4 酒精发酵正交实验结果方差分析

Table 4 Analysis of variance of orthogonal experimental results of alcohol fermentation

差异来源	平方和	自由度	均方	F值	显著性
A(茶果汁比)	0.21	2	0.10	0.42	
B(酵母菌接种量)/%	1.46	2	0.72	3.00	
C(加糖量)/(g/100 mL)	1.49	2	0.75	3.63	*
总和	3.16				

注: \*为显著, \*\*为及其显著。

### 2.3 酒精发酵工艺验证

在进行3次平行验证后发现,在此工艺条件下,所得红茶果酒质量指标较好。

#### 2.3.1 感官指标

外观:透明发亮,有原茶汤色和石榴汁色;香味:酒味醇厚,有茶香和果香;口感:口感丰裕,口味协和,茶味适中;风格:典型完备,风格独特。

#### 2.3.2 理化指标

各理化指标如表5所示。

表5 酒精发酵工艺验证实验理化指标

Table 5 The physicochemical indexes of the experiment were verified by alcohol fermentation process

理化指标	pH	SSC/%	酒精度/(% vol)	茶多酚/(mg/L)	还原糖/(g/L)	总酸/(g/100 mL)
红茶果酒	3.62	4.80	8.59	1103.75	0.77	0.32

### 2.4 醋酸发酵单因素实验

#### 2.4.1 初始酒精度对醋酸发酵的影响

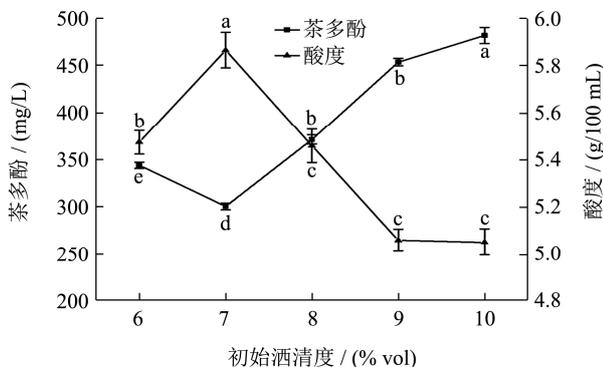


图7 初始酒精度对醋酸发酵的影响

Fig.7 Effect of initial ethanol content on acetic acid fermentation

初始酒精度直接决定了产酸量的多少。酒精度过低,不能满足醋酸菌的生长需要,导致酸度偏低,达

不到标准;酒精度过高,耐酒精能力差的醋酸菌则会受到抑制,不利于发酵的进行。由图7可知,随着酒精度的升高,酸度呈先上升后下降的趋势,这说明高酒精度对于醋酸菌的发酵是有影响的。对于茶多酚而言,茶多酚的保留程度与酸度成反比。酸度越高,茶多酚保留程度越低;酸度越低,茶多酚保留程度越高。因此,要想得到酸度较高,茶多酚保留程度也较高的红茶果醋,应选择6% vol~8% vol的初始酒精度。

#### 2.4.2 发酵温度对醋酸发酵的影响

对于醋酸发酵过程来说,温度是一个重要的发酵条件。温度过低,菌种活化不充分,活力低,产酸率低;温度过高,发酵快,菌种提前老化,产酸也不理想。因此,应选择适宜的温度进行红茶果醋的发酵。由图8可知,随着温度的升高,酸度呈现先上升后下降的趋势,而茶多酚则呈现先下降后上升的趋势。当温度为32℃时,酸度达到最大值,此时茶多酚的保留程度有361.253 mg/L。因此,在30℃~34℃范围

内进行醋酸发酵较为合适。

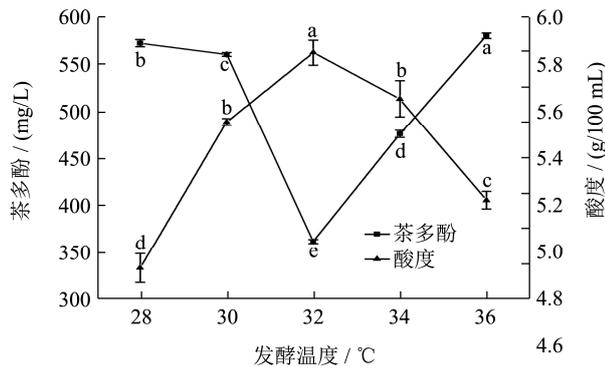


图8 发酵温度对醋酸发酵的影响

Fig.8 Effects of fermentation temperature on acetic acid

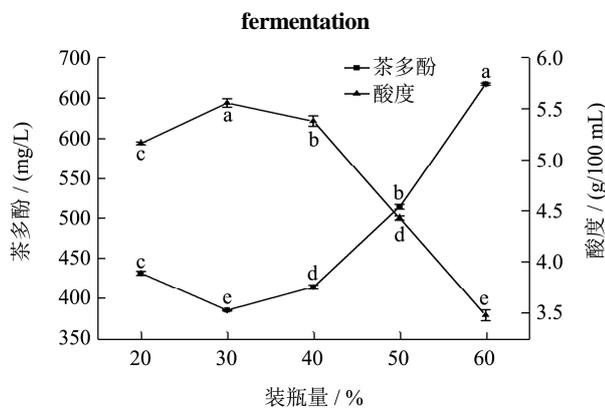


图9 装瓶量对醋酸发酵的影响

Fig.9 Effects of bottling quantity on acetic acid fermentation

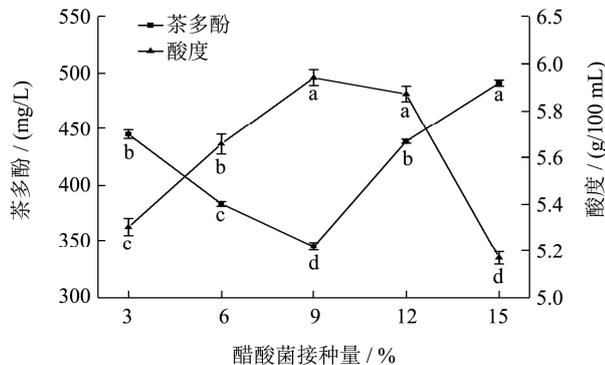


图10 接种量对醋酸发酵的影响

Fig.10 Effects of inoculation amount on acetic acid

fermentation

2.4.3 装瓶量对醋酸发酵的影响

醋酸发酵过程为有氧发酵，装瓶量的多少直接决定发酵过程中的氧气供应量。装瓶量过高，供氧量不足，醋酸菌的生长受到抑制，红茶果醋酸度低，酒味浓；装瓶量过低，红茶果醋 pH 值低，口感刺激，发酵快，不利于风味物质的形成。由图 9 可知，当装瓶量为 20%~40%时，酸度稳定在 5.5 g/100 mL 左右；当装瓶量超过 40%时，酸度急剧下降，到 60%时，酸度只有 3.48 g/100 mL。综合考虑，选择装瓶量 20%~40%

进行醋酸发酵。

2.4.4 接种量对醋酸发酵的影响

接种量与发酵效果密切相关。接种量过少，发酵缓慢，醋酸菌不能完全将乙醇氧化为醋酸<sup>[29]</sup>；接种量过多，发酵快，品质差，加大了原料的投入。如图 10 所示，在醋酸菌接种量为 3%~9%范围内时，酸度呈上升趋势；在 9%~15%范围内时，酸度呈下降趋势。在接种量 9%和 12%时，酸度变化不大，且在 9%时酸度达到最大值 5.94 g/100 mL。综合考虑，选择接种量 6%~12%进行醋酸发酵。

2.5 醋酸发酵正交实验

表 6 醋酸发酵正交实验结果

Table 6 Orthogonal experiment results of acetic acid

fermentation				
试验号	初始酒精度 (A)/(% vol)	醋酸菌接种量(B)/%	发酵温度(C)/°C	酸度/(g/100 mL)
1	1	1	1	6.38
2	1	2	2	5.20
3	1	3	3	4.95
4	2	1	2	5.85
5	2	2	3	5.64
6	2	3	1	6.48
7	3	1	3	4.74
8	3	2	1	5.70
9	3	3	2	5.80
-----				
K <sub>1</sub>	16.53	16.97	18.56	
K <sub>2</sub>	17.97	16.55	16.86	
K <sub>3</sub>	16.24	17.22	15.32	
k <sub>1</sub>	5.51	5.66	6.19	
k <sub>2</sub>	5.99	5.52	5.62	
k <sub>3</sub>	5.41	5.74	5.11	
R	0.58	0.22	1.08	

表 7 醋酸发酵正交实验结果方差分析

Table 7 Analysis of variance of orthogonal experimental results

of acid fermentation					
差异来源	平方和	自由度	均方	F 值	显著性
-----					
A (初始酒精度) /(%vol)	0.57	2	0.29	1.38	
-----					
B (醋酸菌接种量) /%	0.08	2	0.04	0.18	
-----					
C (发酵温度) /°C	1.75	2	0.87	4.20	*
-----					
总和	2.40				

注：\*为显著，\*\*为及其显著。

表8 醋酸发酵工艺验证实验理化指标

Table 8 The physical and chemical indexes of the experiment were verified by acetic acid fermentation

理化指标	pH	SSC/%	总酸/(g/100 mL)	氨基酸态氮/(g/100 mL)	茶多酚/(mg/L)	还原糖/(g/L)	残留酒度/(% vol)
红茶果醋	3.11	9.60	6.48	0.31	397.85	13.15	0.06

由表6可知,  $R_C > R_A > R_B$ , 即发酵温度 ( $R=1.08$ ) 对醋酸发酵的影响最大, 其次是初始酒精度 ( $R=0.58$ ), 影响最小的是接种量 ( $R=0.22$ ), 最优组合是  $A_2B_3C_1$ , 即初始酒精度 7% vol, 醋酸菌接种量 12%, 发酵温度 30 °C。

为了进一步验证所得正交实验结果, 进行了方差分析。从表中可以看出发酵温度 C 达显著水平, 初始酒精度 A 和醋酸菌接种量 B 不显著, 但还是有一定影响, 与极差分析所得结果一致。因此, 在红茶果醋醋酸发酵过程中, 对发酵温度要严格控制; 初始酒精度和醋酸菌接种量以及其他因素也要根据实际情况加以控制。

## 2.6 醋酸发酵工艺验证

在正交试验结果得出的工艺条件下, 进行 3 次平行验证后发现, 所得红茶果醋产品质量指标较好。

### 2.6.1 感官指标

色泽: 呈琥珀色; 滋味: 口感佳, 酸甜比例适中, 无异味, 无涩味; 香气: 具有茶香、醋香和果香, 香气协和, 无刺激性气味; 体态: 澄清, 透明, 沉淀少。

### 2.6.2 理化指标

各理化指标如表 8 所示。

### 2.6.3 微生物指标

菌落总数: 11 cfu/mL, 大肠菌群: 未检出, 致病菌: 未检出。微生物指标均符合“GB/T 2719-2018 食品安全国家标准食醋”<sup>[30]</sup>的要求。

### 2.6.4 氨基酸含量

通过氨基酸全自动分析仪法, 对红茶果醋中的各种氨基酸含量进行检测, 所得氨基酸种类和含量如表 9 所示。

氨基酸对维系人体生命活动具有重要意义, 它不仅具有各种生理功能, 而且能缓冲醋中的酸味, 使红茶果醋口感更加柔和、鲜美、醇厚<sup>[31]</sup>。由表 9 可知, 红茶果醋中含有 16 种氨基酸, 氨基酸总量为 5.93 mg/mL, 明显高于张露<sup>[32]</sup>等人的研究。其中谷氨酸、丙氨酸、天冬氨酸的含量较高, 分别为 1.12 mg/mL、0.60 mg/mL、0.43 mg/mL; 含有必须氨基酸 6 种, 共 2.28 mg/mL, 占所含氨基酸总数的 38.45%, 其中赖氨酸、亮氨酸、缬氨酸的含量较高, 分别为 0.50 mg/mL、0.42 mg/mL、0.40 mg/mL, 这些氨基酸的存在, 丰富了红茶果醋营养成分和口感风味。

表9 茶果醋中各种氨基酸含量测定结果

Table 9 Results of determination of various amino acids in tea fruit vinegar

序号	名称	含量/(mg/mL)
1	天冬氨酸 (Asp)	0.43
2	苏氨酸 (Thr)	0.37
3	丝氨酸 (Ser)	0.32
4	谷氨酸 (Glu)	1.12
5	甘氨酸 (Gly)	0.32
6	丙氨酸 (Ala)	0.60
7	胱氨酸 (Cys)	0.07
8	缬氨酸 (Val)	0.40
9	异亮氨酸 (Ile)	0.33
10	亮氨酸 (Leu)	0.42
11	酪氨酸 (Tyr)	0.25
12	苯丙氨酸 (Phe)	0.26
13	组氨酸 (His)	0.13
14	赖氨酸 (Lys)	0.50
15	精氨酸 (Arg)	0.28
16	脯氨酸 (Pro)	0.13

## 3 结论

本实验以红茶和石榴为原料, 对红茶果醋的发酵工艺进行研究和优化。通过单因素实验和正交试验得到红茶果醋最佳生产工艺条件为: 微波浸提 4 min, 茶水比 5:100, 茶果汁比 1:5, 酵母菌接种量 0.2%, 加糖量 16 g/100 mL, 于 28 °C 下酒精发酵; 醋酸发酵条件为装液量 30%, 初始乙醇含量 7% vol, 发酵温度 30 °C, 醋酸菌接种量 12%。所得到的红茶果醋富含 16 种氨基酸, 总含量为 5.93 mg/mL, 其中必须氨基酸为 6 种, 占总含量的 38.45%; 颜色呈琥珀色, 兼具茶香、醋香和果香, 具有独特风味。优化发酵工艺后的红茶果醋对后续的研究和工业化生产具有一定参考价值。

## 参考文献

- [1] 吴学进, 陈克, 揭国良, 等. 红茶加工过程萎凋和发酵工序技术研究进展[J]. 中国茶叶加工, 2018, 154(4): 19-25  
WU Xue-jin, CHEN Ke, JIE Guo-liang, et al. Effect of withering and fermentation process on the quality of black tea [J]. China Tea Processing, 2018, 154(4): 19-25

- [2] 丁泽雨,瞿朝霞,李玉莲,等.红茶蓝莓饼干制作配方优化[J].湖南农业科学,2019,12:67-69  
DING Ze-yu, QU Zhao-xia, LI Yu-lian, et al. Formulation optimization of black tea and blueberry biscuit [J]. Hunan Agricultural Sciences, 2019, 12: 67-69
- [3] 卫一夫.红茶加工发酵工艺创新初探[J].农技服务,2019,36(9):28-29  
WEI Yi-fu. Innovation of black tea fermentation process [J]. Agricultural Technology Service, 2019, 36(9): 28-29
- [4] Sur S, Panda C K. Molecular aspects of cancer chemopreventive and therapeutic efficacies of tea and tea polyphenols [J]. Nutrition, 2017, 43-44: 8-15
- [5] Kiran R, Tyagi S, Abbas S, et al. Immunomodulatory role of black tea in the mitigation of cancer induced by inorganic arsenic [J]. ArXiv E-prints, 2020, 135(9): 394-424
- [6] GAO Ying, XU Yong-quan, RUAN Jian-yun, et al. Selenium affects the activity of black tea in preventing metabolic syndrome in high-fat diet-fed sprague-dawley rats [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2020, 100(1):225-234
- [7] Bahorun T, Luximon-Ramma A, Neergheen-Bhujun V S, et al. The effect of black tea on risk factors of cardiovascular disease in a normal population [J]. Preventive Medicine, 2012, 54(supp-S): S98-S102
- [8] Pan Shun-shun, Deng Xu-ming, Sun Shi-li, et al. Black tea affects obesity by reducing nutrient intake and activating AMP-activated protein kinase in mice [J]. Molecular Biology Reports, 2018, 45(5):689-697
- [9] 邓建梅,余传波,甘雨薇.响应面法优化石榴皮果胶微波辅助提取工艺[J].食品工业,2020,41(9):127-131  
DENG Jian-mei, YU Chuan-bo, GAN Yu-wei. Optimization of microwave-assisted extraction process of pectin from pomegranate peel by response surface methodology [J]. The Food Industry, 2020, 41(9): 127-131
- [10] 闫恒,张辉.石榴化学成分及其药理作用研究进展[J].中国处方药,2016,14(2):18-19  
YAN Heng, ZHANG Hui. Research progress on chemical composition and pharmacological effects of pomegranate [J]. Journal of China Prescription Drug, 2016, 14(2): 18-19
- [11] Chaves F M, Pavan I C B, Silva L G S D, et al. Pomegranate juice and peel extracts are able to inhibit proliferation, migration and colony formation of prostate cancer cell lines and modulate the Akt/mTOR/S6K signaling pathway [J]. Plant Foods for Human Nutrition, 2019, 75(13): 1-9
- [12] Uddand Rao V V S, Parim B, Nivedha P R, et al. Anticancer activity of pomegranate extract: effect on hematological and antioxidant profile against ehrlich-ascites-carcinoma in swiss albino mice [J]. Oriental Pharmacy and Experimental Medicine, 2019, 19: 243-250
- [13] Yang J, Zhang S, Henning S M, et al. Cholesterol-lowering effects of dietary pomegranate extract and inulin in mice fed an obesogenic diet [J]. Journal of Nutritional Biochemistry, 2017, 52: 62-69
- [14] 尹乐斌,周娟,李立才,等.石榴五味子保健酒发酵工艺优化及抗氧化活性研究[J].食品与机械,2019,35(3):202-208  
YIN Le-bin, ZHOU Juan, LI Li-cai, et al. The optimization of fermentation process and antioxidant activity of pomegranate and schisandra health wine [J]. Food & Machinery, 2019, 35(3): 202-208
- [15] 张芳.发酵型茶果醋加工工艺研究[D].合肥:安徽农业大学,2012  
ZHANG Fang. Studies on the processing technology of fermented tea fruit vinegar [D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2012
- [16] 柏旭,袁唯.云南酸木瓜风味果醋的研制[J].饮料工业,2011,14(12):27-30  
BAI Xu, YUAN Wei. Preparation of chaenomeles lagenaria koidz-flavored fruit vinegar [J]. Beverage Industry, 2011, 14(12): 27-30
- [17] 张芳,李立祥,陶涛,等.发酵型茶醋生产工艺研究[J].茶业通报,2012,34(2):77-80  
ZHANG Fang, LI Li-xiang, TAO Tao, et al. Study on fermentation tea vinegar production technology [J]. Journal of Tea Business, 2012, 34(2): 77-80
- [18] 张学良,李志西,邵东燕,等.绿茶桑椹醋饮料的研制及其减肥试验研究[J].西北农业学报,2008,2:293-296  
ZHANG Xue-liang, LI Zhi-xi, SHAO Dong-yan, et al. Preparation of mulberry vinegar beverage mixed green-tea and its reducing weight function [J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2008, 2: 293-296
- [19] GB/T 5009.41-2003,食醋卫生标准的分析方法[S]  
GB/T 5009.41-2003, Method for Analysis of Hygienic Standard of Vinegar [S]
- [20] GB/T 21733-2008,茶饮料[S]  
GB/T 21733-2008, Tea Beverages [S]
- [21] GB/T 5009.235-2016,食品安全国家标准食品中氨基酸态氮的测定[S]  
GB/T 5009.235-2016, Food Safety National Standard Determination of Amino Acid Nitrogen in Food [S]
- [22] GB 4789.2-2016,食品安全国家标准食品微生物学检验菌落总数测定[S]

- GB 4789.2-2016, Food Safety National Standard Determination of Total Bacterial Colonies in Food Microbiology [S]
- [23] GB 4789.3-2016, 食品安全国家标准食品微生物学检验大肠菌群计数[S]
- GB 4789.3-2016, Food Safety National Standard Food Microbiological Examination Coliform Count [S]
- [24] GB 29921-2013, 食品安全国家标准食品中致病菌限量[S]
- GB 29921-2013, Food Safety National Standard Food Limit Pathogenic Bacteria in Food [S]
- [25] 黄德娜,代虹镜,李锋.超声辅助提取都匀毛尖绿茶与红茶中茶多酚的工艺研究[J].云南化工,2020,47(6):56-58,61
- HUANG De-na, DAI Hong-jing, LI Feng. Ultrasound-assisted extraction of tea polyphenols from duyun maojian green tea and black tea study of technologies [J]. Yunnan Chemical Technology, 2020, 47(6): 56-58, 61
- [26] 邱新平.茶酒发酵工艺研究[D].合肥:安徽农业大学,2010
- QIU Xin-ping. Studies on the fermentation technology of tea wine [D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2010
- [27] YU Yuan-shan, XIAO Geng-sheng, XU Yu-juan, et al. Effects of dimethyl dicarbonate (DMDC) on the fermentation of litchi juice by *Lactobacillus casei* as an alternative of heat treatment [J]. Journal of Food Science, 2014, 79: M947-M954
- [28] 张海玲,程倩倩,尹新雅,等.山药-梨复合型果醋发酵工艺[J].食品与发酵工业,2019,45(19):188-193,199
- ZHANG Hai-ling, CHENG Qian-qian, YIN Xin-ya, et al. Brewing technology of a compound fruit vinegar with Chinese yam and pear [J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(19): 188-193, 199
- [29] 李彩霞,张睿睿.葡萄枸杞复合果醋发酵工艺的研究[J].中国酿造,2018,37(10):181-185
- LI Cai-xia, ZHANG Rui-rui. Fermentation technology of compound fruit vinegar of grape and wolfberry [J]. China Brewing, 2018, 37(10): 181-185
- [30] GB/T 2719-2018, 食品安全国家标准食醋[S]
- GB/T 2719-2018, Food Safety National Standard Vinegar [S]
- [31] 潘丽军,孙潇雅,姜绍通.紫薯复合饮料的质量指标、营养成分及抗氧化性分析[J].食品科学,2013,34(20):165-169
- PAN Li-jun, SUN Xiao-ya, JIANG Shao-tong. Quality indicators, nutritional composition and antioxidant activities of blended purple sweet potato beverage [J]. Food Science, 2013, 34(20): 165-169
- [32] 张露,吕立堂,赵德刚.三种发酵型茶醋生产工艺研究[J].山地农业生物学报,2019,38(4):86-92
- ZHANG Lu, LYU Li-tang, ZHAO De-gang. Study on the production technology of three kinds of fermented tea vinegar [J]. Journal of Mountain Agriculture and Biology, 2019, 38(4): 86-92

## (上接第 114 页)

- [19] 赵清宇,李利民,张杰,等.小麦谷蛋白溶胀指数与面团特性及面条品质相关性分析[J].食品与机械,2011,27(6):43-46
- ZHAO Qing-yu, LI Li-min, ZHANG Jie, et al. Relationship between swelling index of gluten in and dough characters, noodle quality [J]. Food & Machinery, 2011, 27(6): 43-46
- [20] Dangi P, Chaudhary N, Khatkar B S. Rheological and microstructural characteristics of low molecular weight glutenin subunits of commercial wheats [J]. Food Chemistry, 2019, 44(12): 210-216
- [21] 钟耕,陈宗道,闵燕萍,等.小麦面筋蛋白及其化学改性研究[J].粮食与饲料工业,2001,24(5):41-43
- ZHONG Geng, CHEN Zong-dao, MIN Yan-ping, et al. Studies on wheat gluten and its chemical modification [J]. Cereal & Feed Industry, 2001, 24(5): 41-43
- [22] Anjum F M, Khan M R, Din A, et al. Wheat gluten: high molecular weight glutenin subunits-structure, genetics, and relation to dough elasticity [J]. Journal of Food Science, 2007, 47(3): 56-63
- [23] Peighambardoust S H, Dadpour M R, Dokouhaki M. Application of epifluorescence light microscopy (EFLM) to study the microstructure of wheat dough: a comparison with confocal scanning laser microscopy (CSLM) technique [J]. Journal of Cereal Science, 2009, 51(1): 21-27
- [24] Li M, Luo L J, Zhu K X, et al. Effect of vacuum mixing on the quality characteristics of fresh noodles [J]. Journal of Food Engineering, 2012, 110(4): 525-531