

单宁酶优化绿茶浸提液品质的工艺比较

申润凡^{1,2}, 马泽祥^{1,2}, 尹淑涛^{1,2*}

(1. 中国农业大学四川现代农业产业研究院, 四川成都 611400)

(2. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

摘要: 绿茶浸提液沉淀物中主要含有多酚。酚类物质和咖啡碱、蛋白质等大分子物质结合会造成茶溶液的冷后浑现象。沉淀物出现在绿茶浸提液中不仅影响产品外观, 还会损害浸提液的口感和香气品质。其中主要与咖啡碱、蛋白质等结合的物质为酯型儿茶素表没食子儿茶素没食子酸酯 (Epigallocatechin Gallate, EGCG)、表儿茶素没食子酸酯 (Epicatechin Gallate, ECG), 酯型儿茶素因为具有更多的没食子酰基和羟基, 相较于非酯型儿茶素更倾向于形成沉淀。本研究通过在茶浸提液的澄清步骤中添加单宁酶来改善滋味并降低冷后浑现象, 通过单因素实验与正交实验结合的方法, 得出单宁酶降低绿茶浸提液沉淀率的最佳工艺。结论为: 在 30 ℃ 温度条件下, 单宁酶添加量 0.15% (质量分数), 酶解 60 min 的最佳工艺, 此时得到的绿茶酶解液苦涩味轻、回甘程度高、沉淀量低。综上, 添加了单宁酶的绿茶浸提液具有更好的口感。本研究探索出单宁酶优化绿茶浸提液品质的最佳工艺, 为获得高品质的绿茶浸提液产品, 满足市场需求提供了新思路。

关键词: 绿茶浸提液; 单宁酶; 沉淀物; 酯型儿茶素; 工艺优化

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.9.1048

Process Study of Tannase to Optimize the Quality of Green Tea Infusion

SHEN Runfan^{1,2}, MA Zexiang^{1,2}, YIN Shutao^{1,2*}

(1.CAU-SC Advanced Agricultural & Industrial Institute, Chengdu 611400, China)

(2.College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract: Green tea infusion sediments mainly contain polyphenols. The combination of phenolic substances, caffeine, proteins and other large molecules will cause the phenomenon of tea solution after cold muddy. Sediment in green tea infusion will not only affect the appearance of the product, but also damage the taste and aroma quality of the infusion. The main substances that bind to caffeine and proteins are the ester catechins EGCG and ECG, and the ester catechins have more galloyl and hydroxyl groups, which tend to form precipitates compared with the non-ester catechins. In this study, tannase was added to the clarification step of tea infusion to improve the taste and reduce the phenomenon of after-cooling turbidity, and the optimal process of tannase to reduce the precipitation rate of green tea infusion was concluded by combining a one-way experiment with an orthogonal experiment. The best process to optimize the green tea infusion was under the temperature of 30 ℃, the addition of tannase was 0.15%, and the enzymatic hydrolysis was carried out for 60 minutes. The obtained green tea enzymatic solution had light bitterness and astringency, high degree of sweetness and low sedimentation. In conclusion, the tea infusion with added tannase has better taste. This study explores the process of tannase to optimize the quality of green tea extract, which provides a new idea for high quality green tea extract products and market demand.

Key words: green tea infusion; tannase; precipitate; ester catechin; process optimization

茶浸提液是由成品茶经过浸提、净化、浓缩、罐装和灭菌等工序制成的茶原汁^[1]。在茶饮料生产中, 它被用作原浆, 是一种新型茶叶深加工产品^[2,3]。茶乳酪, 又称冷后浑, 是指茶汤在冷却后由澄清变为浑浊的现象^[4]。在加工和贮藏过程中, 容易发生冷后浑现象, 严重影响茶饮料或浓缩茶的外观品质以及风味特征。茶乳酪主要是由于茶多酚与蛋白质、咖啡碱和金属离子的络合形成的^[5]。为了阻止冷后浑的形成, 保证茶浸提液产品的清澈透亮, 需要充分利用澄清工艺达到阻止或抑制茶沉淀的形成的作用^[6,7]。

单宁酶具有水解单宁类化合物中的酯键的能力, 在茶叶加工中, 主要用于去除茶乳酪, 提升茶汤口感等。EGCG

收稿日期: 2024-07-21; 修回日期: 2024-09-21; 接受日期: 2024-09-26

作者简介: 申润凡 (1998-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品质量安全控制, E-mail: Srunfan@163.com

通讯作者: 尹淑涛 (1984-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 营养与食品安全, E-mail: yinshutao@cau.edu.cn

与 ECG 是茶叶中主要的酯型儿茶素,单宁酶通过催化水解酯型儿茶素酯键,从而达到改善口感,降低茶汤沉淀形成量的作用。Wang 等^[8]的研究发现单宁酶可以显著降低绿茶浸提液的沉淀量。单宁酶应用在茶叶中,可以显著减少茶汤的冷后浑现象^[9]。许勇泉等^[10]利用单宁酶处理绿茶浸提液的沉淀,将复溶物回填至茶浸提液中有效促进了沉淀的回收利用。单宁酶还可用于提高绿茶发酵红茶汁中的茶红素的含量,茶叶生产中单宁酶的使用使茶红素含量(质量分数)增加了 4.7 倍^[11]。

茶饮料的加工始终面临着三大挑战,沉淀物的形成、颜色的褐化和香气质量的下降^[12-14]。本研究选取四川绿茶开展研究,针对茶浸提液存在的易形成沉淀等问题,利用单宁酶提高非酯型儿茶素和没食子酸的含量(质量分数),减缓茶乳酪沉淀的形成,初步探索出一套适合于四川茶浸提液生产的酶处理工艺路线,获得高品质的茶浸提液产品,在四川茶相关茶企应用。

1 材料与方法

1.1 原料

1.1.1 实验原料

雅安炒青毛峰,四川蜀茶实业集团有限公司提供,采摘时间在 2023 年 5~6 月;食品级单宁酶(酶活 300 U/g),沧州夏盛酶生物技术有限公司;没食子酸、茶氨酸、可可碱、表儿茶素、儿茶素、表没食子儿茶素、表儿茶素没食子酸酯、表没食子儿茶素没食子酸酯(均为标准品),上海源叶生物科技有限公司;咖啡因标准品,坛墨质检科技股份有限公司;去离子水,实验室自制;超纯水,杭州娃哈哈集团有限公司;甲醇,上海易恩化学技术有限公司;二水乙二胺四乙酸二钠,成都市科隆化学品有限公司;无水碳酸钠,上海易恩化学技术有限公司;碱式醋酸铅,艾览(上海)化工科技有限公司;福林酚,上海麦克林生化科技有限公司;L(+)-抗坏血酸,成都市科隆化学品有限公司;水合茚三酮,北京雪杰特科技有限公司;十二水磷酸氢二钠,上海易恩化学技术有限公司;磷酸氢二钾,上海易恩化学技术有限公司;二水合氯化锡(II),上海麦克林生化科技有限公司;无水乙醇,天津市津东天正精细化学试剂厂;氯化钾、酒石酸、氢氧化钾,上海易恩化学技术有限公司;硫酸、盐酸,西安三浦化学试剂有限公司;冰乙酸(色谱纯),成都市科隆化学品有限公司;乙腈(色谱纯),赛默飞世尔科技公司。除标注外所有化学试剂均为国产分析纯。

1.1.2 实验原料

LC-40 液相色谱仪,日本岛津公司;HH4 数显恒温水浴锅,上海力辰邦西仪器科技有限公司;MGL-16MA 高速冷冻离心机,上海美瑞克仪器有限公司;DSH-50A-1 水分测定仪,上海佑科仪器仪表有限公司;BSA124S-CW 万分之一分析天平,德国赛多斯公司;Feyond-A300 酶联免疫分析仪,杭州奥盛仪器有限公司;UV756 紫外可见分光光度计,上海佑科仪器仪表有限公司;KQ-400DE 数控超声波清洗仪,数控超声波清洗仪;DHG-9140A 电热恒温鼓风干燥箱,常州迈科诺仪器有限公司;LINGSUM 多功能粉碎机,多功能粉碎机;SCJ-20 隔膜真空泵,绍兴市苏珀仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品制备

单宁酶解茶浸提液的制备 茶水比采用 1:20,将称量好的茶叶 10 g 放入三角锥形瓶中,并注入与提取温度相同的去离子水,并添加食品级 Vc 调节 pH 值为 5,用保鲜膜密封锥形瓶口,在恒温水浴锅中按照浸提温度 50 ℃、浸提时间 70 min,每隔 15 min 搅拌一次进行浸提。提取完成后,取出锥形瓶,用双层脱脂棉迅速过滤于烧杯中,拧干茶渣后,迅速冷却至室温,摇匀备用。添加一定量的单宁酶(按茶叶质量计),在恒温水浴锅中酶解一定时间后,迅速转移至沸水浴中水浴 5 min 以灭活单宁酶,将水浴后的绿茶浸提液取出,迅速冷却至室温,待测。

1.2.1.1 单宁酶含量条件

单宁酶解茶浸提液的制备 茶水比采用 1:20,将称量好的茶叶 10 g 放入三角锥形瓶中,并注入与提取温度相同的去离子水,并添加食品级 Vc 调节 pH 值为 5,用保鲜膜密封锥形瓶口,在恒温水浴锅中按照浸提温度 50 ℃、浸提时间 70 min,每隔 15 min 搅拌一次进行浸提。提取完成后,取出锥形瓶,用双层脱脂棉迅速过滤于烧杯中,拧干茶渣后,迅速冷却至室温,摇匀备用。添加一定量的单宁酶(按茶叶质量计),在恒温水浴锅中酶解一定时间

后，迅速转移至沸水浴中水浴 5 min 以灭活单宁酶，将水浴后的绿茶浸提液取出，迅速冷却至室温，待测。

1.2.1.2 酶解时间条件

制备好的茶浸提液放入恒温水浴锅中迅速冷却至 35 ℃，单宁酶添加量（按茶叶质量计）为 0.15%（质量分数），酶解时间分别为 15、30、45、60、75、90 min 的条件下，进行三次重复实验，分别测定绿茶浸提液的儿茶素组成。

1.2.1.3 酶解温度条件

制备好的茶浸提液放入恒温水浴锅中迅速冷却至设定温度（20、25、30、35、40 ℃），单宁酶添加量（按茶叶质量计）为 0.15%（质量分数），酶解时间分别为 60 min 的条件下，进行三次重复实验，探究不同对绿茶浸提液的儿茶素组成。

1.2.2 儿茶素组分的测定

样品前处理条件：参考 GB/T 8318-2018 标准中关于茶叶中茶多酚和儿茶素类含量（质量分数）的测定方法。在高效液相色谱（High Performance Liquid Chromatography, HPLC）分析中，流动相为 0.2%（体积分数）乙酸水溶液（A）和乙腈（B），采用线性梯度洗脱，柱温 35 ℃，流量 1 mL/min，0~12 min 10%~13% B，12~16 min 13%~17% B，16~22 min 17% B，22~25 min 17%~32% B，25~32 min 32% B，32~33 min 32%~10% B，33~40 min 10% B（%均为体积分数）。进样量为 10 μL，紫外检测波长为 278 nm。色谱柱为 Agilent ZORBAX SB-C18（4.6×250 mm，5 μm）。

1.2.3 沉淀量的测定

参考 Xu^[15]的方法，进行三次重复实验，将制备好的茶浸提液转移至 50 mL 离心管中，4 ℃下低温贮藏 10 天，高速离心 8 000 r/min，4 ℃，10 min，将得到的上清液与底部沉淀分离。然后向底部沉积物中加入适量的水，将沉淀物转移到蒸发皿中，然后在沸水浴中蒸发至完全干燥，最后在烘箱中 105 ℃烘烤至恒重。然后对沉积物进行称重。

1.2.4 单宁酶解茶浸提液的感官评价

参考 Zhang 等^[16,17]的感官评价方法，由中国农业大学四川成都产业研究院经过培训的 11 名品评员（男 6 例，女 5 例，年龄 22~28 岁）在室温下对单宁酶解液进行评分。团队中的每位成员都给出了不同味觉属性的评分，包括苦、涩、甜味、回甘和对茶汤的接受度。采用 10 点标度法，8~10 分为极强，6~8 分为强，4~6 分为中性，2~4 分为弱，0~2 分为很弱。各样品在口中保持旋转 7~8 s，记录苦味，然后吐出溶液，记录 3~4 s 内的涩味强度。记录涩味后，用纯水冲洗口腔，在 4~5 s 内记录甜味后味的强度。

表 1 绿茶浓缩液感官审评表

Table 1 Green tea sensory evaluation table

项目类型	评分标准	得分	
汤色（25 分）	绿明亮或黄绿明亮，澄清透明，无明显沉淀	17~25	
	尚绿明亮或黄明亮，较为澄清透明，无肉眼可见的明显沉淀	9~16	
	汤色深暗欠亮，液体浑浊，有肉眼可见的明显沉淀	0~8	
香气（25 分）	香气明显丰富，香气高爽有清香/栗香	17~25	
	香气尚纯，有较高程度茶香	9~16	
	香气低淡，失去原有香气特征，低沉带有焦味、霉味等异味	0~8	
滋味（50 分）	苦味	苦味较弱	17~25
		苦味较强	9~16
		苦味过强	0~8
	涩味	涩味较弱	17~25
		涩味较强	9~16
		涩味过强	0~8
	鲜味	鲜爽度适中，无厚味	17~25
		鲜爽度较弱，厚味较强	9~16
		无鲜爽度，厚味过强	0~8
回甘度	回甘度适中	17~25	

1.2.5 单宁酶酶解条件正交实验优化

以单宁酶添加量（A）、酶解温度（B）、酶解时间（C）为考察因素，选择非酯型儿茶素/酯型儿茶素的比值为响应值。对单宁酶酶解工艺进行 L9（33）正交试验优化。

1.3 数据分析

使用 Orgin 13 软件对试验数据进行分析与绘图；使用 SPSS 24.0 软件利用方差分析法（Analysis of Variance，ANOVA）分析数据显著性分析。

2 结果与分析

2.1 单宁酶水解条件对绿茶浸提液儿茶素组成的影响

2.1.1 单宁酶添加量对绿茶浸提液儿茶素组成的影响

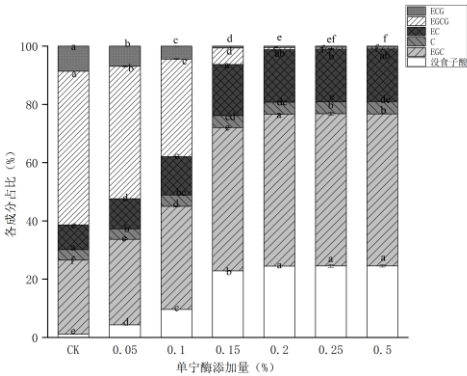


图 1 单宁酶添加量对绿茶浸提液儿茶素组成的影响

Fig.1 Effect of tannase addition on the concentrations of catechins in green tea extract

注：单宁酶添加量（%）为质量分数。不同小写字母表示有显著差异（ $P<0.05$ ）。下图同。

由图 1 可以看出，随着单宁酶添加量的增加，绿茶浸提液中没食子酸、非酯型儿茶素表儿茶素（Epicatechin，EC）、表没食子儿茶素（Epigallocatechin，EGC）的含量（质量分数）逐渐增加，酯型儿茶素 EGCG、ECG 的含量（质量分数）逐渐降低。单宁酶添加量增加到 0.25%（质量分数）以上时，绿茶浸提液中的没食子酸、非酯型儿茶素 EC、EGC、酯型儿茶素 ECG、EGCG 之间无显著性差异（ $P<0.05$ ），表明绿茶浸提液中的酯型儿茶素已经被完全分解为非酯型儿茶素和没食子酸^[18]。

2.1.2 单宁酶酶解时间对绿茶浸提液儿茶素组成的影响

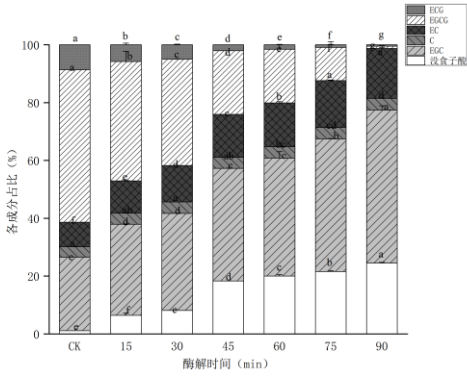


图 2 单宁酶酶解时间对绿茶浸提液儿茶素组成的影响

Fig.2 Effect of tannase hydrolysis time on the concentrations of catechins in green tea extract

由图 2 可以看出,随着单宁酶酶解时间的增加,绿茶浸提液中没食子酸、非酯型儿茶素 EC、EGC 的含量(质量分数)显著增加($P<0.05$),酯型儿茶素 EGCG、ECG 的含量(质量分数)逐渐降低($P<0.05$)。儿茶素(Catechin, C)的含量(质量分数)无较大变化,EC 的含量由 19.21 $\mu\text{g/g}$ 增加到了 32.3 $\mu\text{g/g}$,EGCG 的含量由 119.94 $\mu\text{g/g}$ 降低到了 1.51 $\mu\text{g/g}$,ECG 的含量由 19.55 $\mu\text{g/g}$ 降低到了 0.84 $\mu\text{g/g}$ 。即酶解时间越长,非酯型儿茶素与没食子酸的含量与酯型儿茶素的比值越大增加。

2.1.3 单宁酶酶解温度对绿茶浸提液儿茶素组成的影响

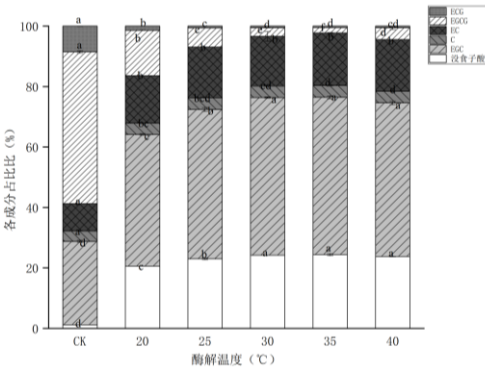


图 3 单宁酶酶解温度对绿茶浸提液儿茶素组成的影响

Fig.3 Effect of tannase hydrolysis temperature on the concentrations of catechins in green Tea extract

由图 3 可以看出,单宁酶酶解温度由 20 $^{\circ}\text{C}$ 上升到 30 $^{\circ}\text{C}$ 时,随着单宁酶酶解温度的升高,绿茶浸提液中没食子酸、非酯型儿茶素 EGC 的含量(质量分数)显著增加($P<0.05$),酯型儿茶素 ECG 的含量显著降低($P<0.05$),C 与 EC 的含量无显著性变化。单宁酶酶解温度由 30 $^{\circ}\text{C}$ 上升到 40 $^{\circ}\text{C}$ 时,酯型儿茶素 EGCG 的含量呈现先减少后增加的趋势,其余儿茶素及没食子酸的含量无显著变化。在单宁酶酶解温度上升到 35 $^{\circ}\text{C}$ 时,EGCG 的含量最低,表示在此单因素实验中此温度下单宁酶的酶活性较优。

2.2 单宁酶水解条件对绿茶浸提液感官品质的影响

单宁酶添加量、酶解时间、酶解温度同 2.1 中相同,分别测定绿茶浸提液的感官评价得分,结果见图 4。

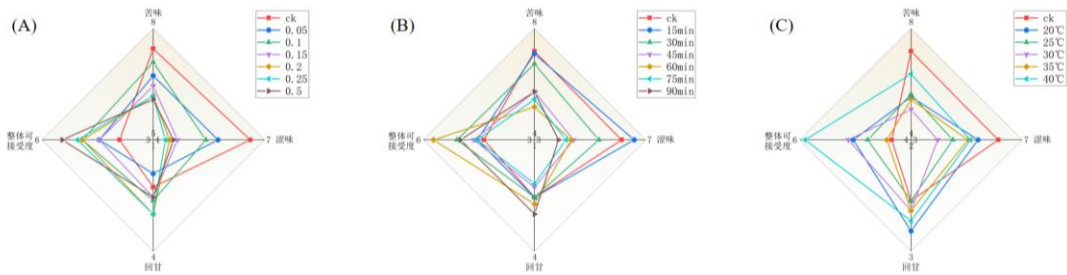


图 4 单宁酶水解条件对绿茶浸提液感官滋味品质的影响

Fig.4 Effect of tannase hydrolysis conditions on the sensory taste quality of green tea extracts

由图 4A 可以看出,未经单宁酶酶解的处理组整体苦涩味最重,整体可接受度最低,回甘程度较低,随着单宁酶添加量的增加,酯型儿茶素被分解,生成非酯型儿茶素与没食子酸,苦涩味逐渐降低^[19],回甘程度增加,在单宁酶添加量为 0.5% (质量分数) 时,整体可接受度最高。这是因为非酯型儿茶素 EC 和 EGC 的苦味与涩味的阈值高于 EGCG 和 ECG,并且 EC 和 EGC 有助于绿茶茶汤回甘的形成^[20]。随着单宁酶添加量的增加,酯型儿茶素 EGCG 和 ECG 被分解为 EC 和 EGC,绿茶浸提液的苦涩度降低,回甘度增加,整体可接受度上升^[21-24]。

由图 4B 可以看出,酶解时间 60 min 时得到的绿茶浸提液整体可接受度最高,甜味回味较高。无单宁酶添加处理组与单宁酶酶解 15 min 的处理组苦味、涩味最高,之后随着单宁酶酶解时间的延长,单宁酶与酯型儿茶素结合,将 EGCG 与 ECG 水解为 EGC 和 EC,从而使绿茶浸提液的苦味、涩味逐渐降低,回甘度增加。Zhang 等^[16]的之前研究表明,当 EGC/EC 配比为 2.5: 1 时,回甘程度最佳。单宁酶酶解 60 min 时,EGC/EC 的配比为 2.69,

接近 2.5。适宜的酯型儿茶素与非酯型儿茶素的比值这可能是单宁酶解 60 min 时绿茶浸提液整体可接受度最高的原因^[25]。

由图 4C 可以看出, 未经单宁酶解的苦涩味最重, 回甘与整体可接受度最低。整体可接受度最高的为 40 °C 下的绿茶酶解液, 但 40 °C 下的绿茶酶解液的苦涩味较重, 回甘度较高。30 °C 下的绿茶酶解液苦涩味最低, 回甘与整体可接受度也较高。30 °C 下, EGC/EC 的配比为 3.17, 而酶解温度为 20 °C 下绿茶酶解液的 EGC 含量(质量分数)为 82.17 µg/g, EC 含量为 29.72 µg/g, EGC/EC 的配比为 2.76, 更接近于 2.5, 因此在此条件下酶解液的甜味回味更佳。

2.3 宁酶水解条件对绿茶浸提液沉淀量的影响

单宁酶添加量、酶解时间、酶解温度同 2.1 中相同, 分别测定绿茶浸提液在 4 °C 冷藏 10 天形成的沉淀量, 结果见图 5、6、7。

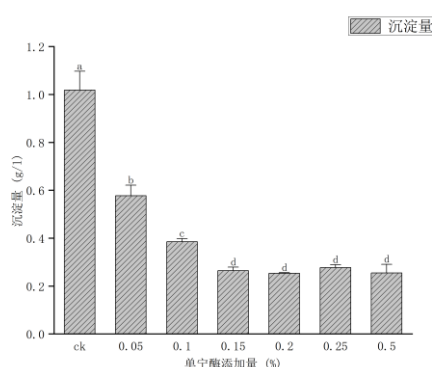


图 5 单宁酶添加量对绿茶浸提液沉淀量的影响

Fig.5 Effect of tannase addition on the sediment formation of green tea extracts

在图 5 中, 单宁酶添加量增加到 0.15% (质量分数) 以上后, 沉淀量无显著性差异 ($P<0.05$), 不再进一步增加。这是因为形成绿茶浸提液沉淀的主要成分是儿茶素与咖啡碱、蛋白质等大分子物质形成的络合物, 其中酯型儿茶素因为具有更多的没食子酰基和羟基, 具有更复杂的非共价键作用, 相较于非酯型儿茶素更倾向于形成沉淀^[26,27]。随着单宁酶添加量的增加, 酯型儿茶素与单宁酶结合分解为非酯型儿茶素与没食子酸, 导致酯型儿茶素含量下降, 使其不易与咖啡碱等大分子物质形成络合物, 从而降低了沉淀的形成^[28]。

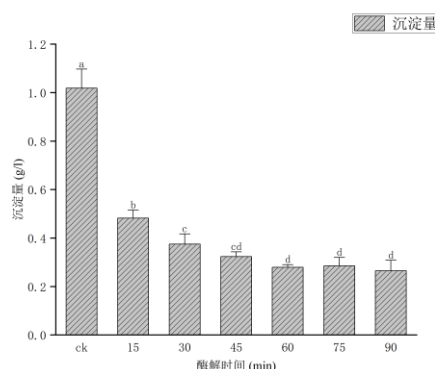


图 6 单宁酶酶解时间对绿茶浸提液沉淀量的影响

Fig.6 Effect of tannase hydrolysis time on the sediment formation of green tea extracts

图 6 中, 当单宁酶酶解时间达到 45 min 以上时, 沉淀量无显著性差异 ($P<0.05$)。此时绿茶澄清液中酯型儿茶素总量为 50.66 µg/g。表明当酯型儿茶素总量下降到 50 µg/g 时, 4 °C 下冷藏 10 天的沉淀量无显著性差异 ($P<0.05$)。这可能是由于绿茶浸提液中的沉淀已被加入的单宁酶完全分解, 即使时间增加沉淀量也不会发生较大变化。

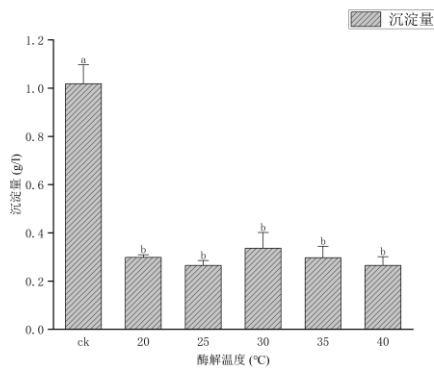


图 7 单宁酶酶解温度对绿茶浸提液沉淀量的影响

Fig.7 Effect of tannase hydrolysis temperature on the sediment formation of green tea extracts

由图 7 和附表 1，可以看到在酶解温度 20~40 °C 时，绿茶酶解液中没食子酸含量在 38.81~43.31 μg/g，EGC 含量在 82.17~92.82 μg/g，EC 含量在 29.72~31.31 μg/g，EGCG 含量在 3.21~28.36 μg/g，ECG 含量在 0.81~2.56 μg/g 之间，沉淀量无显著性差异 ($P<0.05$)。这可能是由于在此温度范围内，已经达到单宁酶的最适温度，此时单宁酶活性最高，温度再继续增加，部分酶可能会出现活性降低情况，使得分解沉淀的能力下降。即最佳酶解温度范围为 20~40 °C。

2.4 相关性热图分析与拟合曲线

根据上述单因素试验结果可以看出，绿茶澄清液中儿茶素组分含量的变化与感官滋味特征和沉淀量之间存在一定的相关性，对相关指标进行 Pearson 相关性分析，分析结果见图 8。

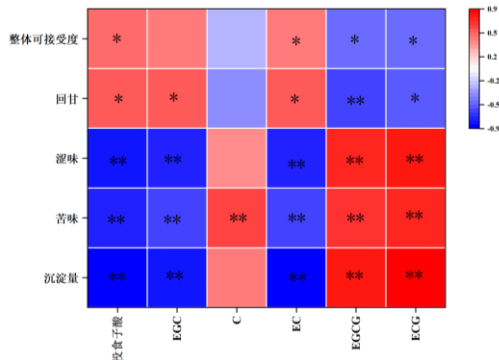


图 8 皮尔逊热图

Figure.8 Pearson heat map

注：*表示 $P<0.05$ ，**表示 $P<0.01$ 。

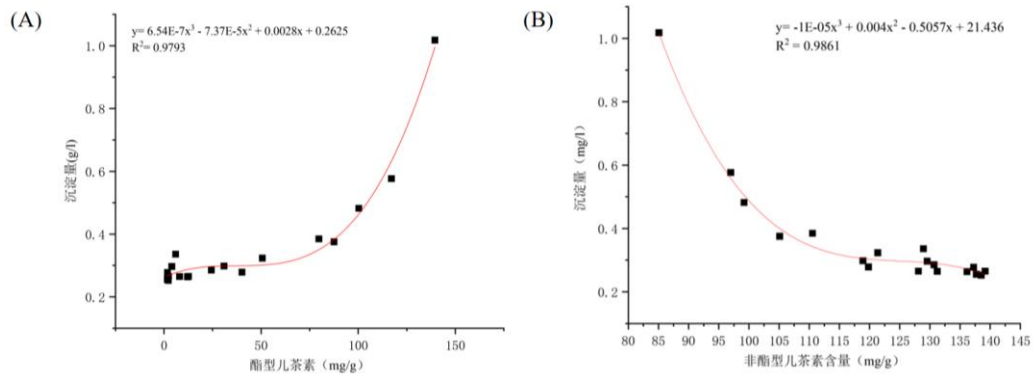


图 9 酯型儿茶素和非酯型儿茶素与沉淀量之间的拟合曲线

Fig.9 Fitting curves between ester catechins and non-ester catechins and the amount of precipitation

由 Pearson 相关性热图分析结果可知，酯型儿茶素 ECGG、ECG 与沉淀量之间极显著正相关，非酯型儿茶素 EGC、EC 与沉淀量之间极显著负相关^[29,30]，因此进一步对酯型儿茶素、非酯型儿茶素与沉淀量之间进行非线性拟合分析，得到的拟合曲线如图 9 所示。

由图 9 可以看出，酯型儿茶素、非酯型儿茶素与沉淀量的拟合性较好。当非酯型儿茶素含量在 120 μg/g 以上，酯型儿茶素含量在 50 μg/g 以下时，沉淀量较低；此外，随着非酯型儿茶素含量的增加与酯型儿茶素含量的减少，绿茶浸提液的沉淀量不会产生显著下降，因此，在使用单宁酶水解绿茶浸提液时，应控制绿茶浸提液的非酯型儿茶素含量在 120 μg/g 以上，酯型儿茶素含量在 50 μg/g 以下。结合感官评分指标，在 EGC/EC 的含量接近 2.5:1，可得酯型儿茶素含量在 20 μg/g 以下，非酯型儿茶素含量在 130 μg/g 以上的条件下，茶浸提液整体可接受度较高、苦涩味较轻、回甘程度较高。

2.5 单宁酶酶解条件正交实验优化结果

表 2 3 因素 3 水平正交试验设计表
Table 2 Three-Factors Three-Levels Orthogonal Table

水平	因素		
	A 单宁酶添加量/%（质量分数）	B 酶解温度/℃	C 酶解时间/min
1	0.05	30	30
2	0.1	35	45
3	0.15	40	60

表 3 正交试验结果
Table 3 Results of orthogonal experiments

	A	B	C	非酯型儿茶素/酯型儿茶素
1	1	1	1	0.99
2	1	2	2	2.05
3	1	3	3	1.70
4	2	1	2	6.17
5	2	2	3	5.86
6	2	3	1	1.38
7	3	1	3	20.2
8	3	2	1	1.82
9	3	3	2	9.03
K1	4.74	27.33	4.202	
K2	13.41	9.72	17.25	
K3	31.02	12.12	27.72	
k1	1.58	9.11	1.40	
k2	4.47	3.24	5.75	
k3	10.34	4.04	9.24	
R	26.28	17.61	23.52	

由表 2 可知，极差是决定因素主次的变量，反应实验指标在特定列上的变化范围，极差值越大，说明该因素对实验指标的影响越大。通过对指标的比较发现，影响非酯型儿茶素/酯型儿茶素比值的因子主次顺序为 A>C>B，最佳组合为 A3B1C3，即选择单宁酶添加量 0.15%（质量分数），酶解温度 30℃，酶解时间 60 min，得到的非酯型儿茶素/酯型儿茶素比值最大，对确定的最优条件进行验证试验，试验结果见表 3，在该酶解条件下，酯型儿茶素的含量为 8.26 μg/g，非酯型儿茶素的含量为 133.15 μg/g，非酯型儿茶素/酯型儿茶素比值为 16.1，结合沉淀与感官分析指标可知，在此条件下得到的绿茶酶解液苦涩味轻、回甘程度高、沉淀量低。

表 4 验证试验结果
Table 4 Verification test results

成分	没食子酸	EGC	C	EC	EGCG	ECG
含量 (μg/g)	44.91±0.98	93.75±1.27	7.68±0.05	31.72±0.26	7.30±1.34	0.96±0.03

注：单宁酶添加量 0.15%（质量分数），酶解温度 30℃，酶解时间 60 min

3 结论

本研究通过对单宁酶添加量、单宁酶酶解时间、单宁酶酶解温度 3 个单因素试验，检测三个因素对绿茶浸提液儿茶素组成、沉淀量及感官品质的影响。Pearson 相关性热图表明，非酯型儿茶素(EC、EGC)、酯型儿茶素(EGCG、ECG)与绿茶浸提液的苦味、涩味、回甘、沉淀量有显著相关性，相关系数在 0.9 以上。通过酯型儿茶素、非酯型儿茶素含量与沉淀量的拟合曲线，表明当非酯型儿茶素含量在 120 μg/g 以上，酯型儿茶素含量在 50 μg/g 以下时，绿茶提取液沉淀量较低，此时 EGC/EC 的含量比值接近 2.5:1；当酯型儿茶素含量低于 20 μg/g，非酯型儿茶素含量高于 130 μg/g 时，绿茶浸出液整体可接受度与回甘程度较高、苦涩味较轻。在此基础上，通过 3 因素正交试验，得到了单宁酶解的最佳工艺条件：单宁酶添加量为 0.15%（质量分数），酶解时间为 60 min，酶解温度为 30℃。此时酯型儿茶素的含量为 8.26±1.37 μg/g，非酯型儿茶素的含量为 133.15±1.58 μg/g，非酯型儿茶素的含量是酯型儿茶素的 16.1 倍。在此条件下，茶浸提液的沉淀量最少，感官品质最佳。

应用单宁酶优化茶汤品质的研究还有很多，Cao 等^[31]研究发现，用单宁酶处理绿茶茶叶和绿茶茶汤均可增强绿茶茶汤的甜味回味，并且随着非酯型儿茶素 EGC、EC 含量的增加，苦味和涩味均有所降低。单宁酶应用在红茶中，也可以显著减少红茶中沉淀及乳酪的形成，单宁酶处理后茶乳酪含量减少了 70%左右^[32]。

参考文献

[1] 肖文军,刘仲华,龚志华,等.茶叶深加工中膜法浓缩技术研究[J].膜科学与技术,2006,1:55-60.

[2] 于欣洋,岳鹏翔,黄志龙,等.茶浸提液浓缩方法的研究进展[J].福建茶叶,2009,31(2):4-5+9.

[3] 杨晓丽.复合酶水解技术改善绿茶浓缩液品质的研究[J].中国茶叶加工,2021,2:48-53.

[4] 马梦君,常睿,罗理勇,等.花香绿茶饮料的生化成分变化及物性特征[J].食品科学,2015,36(6):109-113.

[5] 许勇泉,尹军峰.茶汤沉淀形成及其调控方法研究进展[J].茶叶科学,2016,36(4):337-346.

[6] 田小军,余丹丹,叶田,等.不同澄清工艺对茶饮料风味和理化品质的影响研究[J].粮食与食品工业,2018,25(5):36-40.

[7] 毛晓峰.我国液体茶饮料的种类及工艺现状[J].饮料工业,2020,23(6):71-74.

[8] WANG J Q, HU X F, DU Q Z, et al. Effect of tannase on sediment formation in green tea infusion [J]. Journal of Food Measurement and Characterization, 2020, 14(4): 1957-1965.

[9] YAN J, LU A, KUN J, et al. Characterization of triterpenoids as possible bitter-tasting compounds in teas infected with bird's eye spot disease [J]. Food Research International, 2023, 167: 112643.

[10] 许勇泉,胡雄飞,陈建新,等.基于单宁酶处理的绿茶茶汤沉淀复溶与回收利用研究[J].茶叶科学,2015,35(6):589-595.

[11] ZHOU B, MA C, WU T, et al. Classification of raw pu-erh teas with different storage time based on characteristic compounds and effect of storage environment [J]. LWT, 2020, 133: 109914.

[12] RAGHUNATH S, BUDARAJU S, GHARIBZAHEDI S M T, et al. Processing technologies for the extraction of value-added bioactive compounds from tea [J]. Food Engineering Reviews, 2023, 15(2): 276-308.

[13] 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.

[14] 李永章.深度开发夏秋茶充分利用茶资源[J].茶叶,2007,1:46-47.

[15] XU Y Q, CHEN G S, DU Q Z, et al. Sediments in concentrated green tea during low-temperature storage [J]. Food Chemistry, 2014, 149: 137-143.

[16] ZHANG Y N, YIN J F, CHEN J X, et al. Improving the sweet aftertaste of green tea infusion with tannase [J]. Food Chemistry, 2016, 192: 470-476.

[17] ZHANG L, CAO Q Q, GRANATO D, et al. Association between chemistry and taste of tea: a review [J]. Trends in Food Science & Technology, 2020, 101: 139-149.

- [18] 胡雄飞.绿茶浓缩汁沉淀调控技术研究[D].杭州:浙江工商大学,2015.
- [19] 李梦迪.黑曲霉单宁酶 TahA 在茶饮料品质提升中的作用[D].天津:天津科技大学,2018.
- [20] LIANG S, WANG F, CHEN J, et al. Optimization of a tannase-assisted process for obtaining teas rich in theaflavins from *Camellia sinensis* leaves [J]. Food Chemistry: X, 2022, 13: 100203.
- [21] ANNA M, EWA C, MALGORZATA L, et al. Antioxidant and antiradical properties of green tea extract compounds [J]. International Journal of Electrochemical Science, 2017, 12: 6600-6610.
- [22] HE G, HOU X, HAN M, et al. Discrimination and polyphenol compositions of green teas with seasonal variations based on UPLC-QTOF/MS combined with chemometrics [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2022, 105: 104267.
- [23] FANG Z T, SONG C J, XU H R, et al. Dynamic changes in flavonol glycosides during production of green, yellow, white, oolong and black teas from *Camellia sinensis* L. (cv. Fudingdabaicha) [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2019, 54(2): 490-498.
- [24] XIAO W, ZHANG Y, FAN C, et al. A method for producing superfine black tea powder with enhanced infusion and dispersion property [J]. Food Chemistry, 2017, 214: 242-247.
- [25] KOCADAGLI T, ÖZDEMİR K S, GOKMEN V, et al. Effects of infusion conditions and decaffeination on free amino acid profiles of green and black tea [J]. Food Research International, 2013, 53(2): 720-725.
- [26] PARVEZ S, WANI I A, MASOODI F A, et al. Extraction optimization of green tea beverage (Noon Chai) for yield, polyphenols and caffeine using response surface methodology [J]. Arabian Journal for Science and Engineering, 2022, 47(1): 227-239.
- [27] 章港.绿茶乳酪中“儿茶素—咖啡碱”络合机理及生物活性研究[D].杭州:浙江大学,2023.
- [28] 陈一凡,阚新意,蒋晓岚,等.茶树单宁酶 CsTA 的理化性质及其在绿茶饮料中的应用[J].茶叶科学,2023,43(1):124-134.
- [29] 罗晓莉,高彦祥.茶饮料色泽劣变及护色技术研究进展[J].中国食品添加剂, 2022,33:218-229.
- [30] 许伟,彭影琦,张拓,等.绿茶加工中主要滋味物质动态变化及其对绿茶品质的影响[J].食品科学,2019,40:36-41.
- [31] CAO Q Q, ZOU C, ZHANG Y H, et al. Improving the taste of autumn green tea with tannase [J]. Food Chemistry, 2019, 277: 432-437.
- [32] YUCEL E E, KAYA C. Effect of extraction conditions and tannase enzyme application on catechin content and cream formation in Turkish black tea extracts [J]. Journal of Food Measurement and Characterization, 2024, 18(1): 834-844.