

浸提方式对绿茶沉淀胶体特性与理化组成的影响

李斌, 罗维, 陈忠正, 张媛媛, 高雄, 李晓玲, 林晓蓉

(华南农业大学食品学院, 广东广州 510642)

摘要: 为探究浸提方式对绿茶沉淀形成的影响及其可能机制, 本研究采用微波、超声波、水浴浸提云南大叶种绿茶, 利用动态光散射等技术分析茶汤胶粒与沉淀颗粒的胶体特性, 利用高效液相色谱等技术测定其理化组成, 利用逐步回归法分析各组分沉淀浓度与茶汤浓度的线性相关性, 发现: 微波浸提茶汤胶粒数目仅约为沸水浴的 57%, 但其沉淀总量、总沉淀率均显著高于后者, 微波浸提绿茶沉淀总量主要与茶汤酯型/非酯型儿茶素、酯型儿茶素/生物碱比例呈显著正相关 (R^2 为 0.972), 而水浴浸提绿茶沉淀总量与茶汤生物碱浓度呈显著正相关 (R^2 为 0.969); 超声波浸提显著降低茶汤胶粒与沉淀颗粒直径, 但其沉淀总量、总沉淀率均与水浴浸提相当, 且沉淀总量仅与茶汤蛋白质、生物碱浓度呈较弱正相关 (R^2 为 0.632)。浸提方式不仅影响绿茶沉淀胶体特性与理化组成, 并可能改变沉淀形成的量效机制。

关键词: 绿茶; 茶沉淀; 微波浸提; 超声波浸提; 水浴浸提

文章编号: 1673-9078(2016)07-115-123

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.7.019

Effects of Extraction Method on the Physicochemical Profiles and Colloidal Properties of Green Tea Cream

LI Bin, LUO Wei, CHEN Zhong-zheng, ZHANG Yuan-yuan, GAO Xiong, LI Xiao-ling, LIN Xiao-rong

(College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: To explore the effects of extraction method on the formation of green tea cream and the potential underlying mechanisms, Yunnan “large-leaf” green tea samples were extracted using a water bath, a microwave, and ultrasonography. The colloidal properties of the particles in original infusions and the green tea cream were analyzed using dynamic light scattering and other techniques, and corresponding physicochemical profiles were determined with high-performance liquid chromatography. The linearity between the cream concentration and infusion concentration in each fraction was analyzed by stepwise regression analysis. The results showed that the number of the infusion particles extracted by ultrasonography was only 53% that of the infusion particles extracted by the water bath. However, the ultrasound-assisted extraction gave higher total cream amount and total creaming rate compared with those by water bath extraction. The amount of total cream in green tea extracted with the microwave was linearly correlated with the ratios of gallated catechins to nongallated catechins and of gallated catechins to methylxanthine alkaloids in the original infusions ($R^2 = 0.972$). In contrast, the amount of total cream in green tea extracted using the water bath was significantly correlated with the original concentration of methylxanthine alkaloids ($R^2 = 0.969$) in infusions. Ultrasound-assisted extraction significantly reduced the diameters of colloidal particles in infusions and cream particles, but did not alter the total cream amounts or total creaming rates relative to those of water bath extraction. Additionally, the amount of total cream in the ultrasound-assisted extract exhibited a weak linear correlation ($R^2 = 0.632$) with the concentrations of protein and methylxanthine alkaloids in the infusion. In conclusion, extraction methods can not only affect the colloidal properties and physicochemical profiles of green tea cream, but also alter the concentration-dependent mechanisms of cream formation.

Keywords: green tea; tea cream; water bath extraction; microwave-assisted extraction; ultrasound-assisted extraction.

茶沉淀是制约茶饮料产业发展的三大技术瓶颈

收稿日期: 2015-04-27

基金项目: 农业部现代茶叶产业技术体系专项资金 (GARS-23); 高等学校博士学科点专项科研基金联合资助项目 (20124404110015)

作者简介: 李斌 (1960-), 女, 博士, 教授, 茶叶精深加工与饮料植物功能活性研究

通讯作者: 林晓蓉 (1986-), 女, 博士, 茶饮料加工与茶叶多组分互作研究

之一, 是热浸提茶汤冷却时自发形成浑浊与沉淀的现象, 其物理化学过程表现为胶粒间相互絮凝或聚沉, 其化学本质是茶汤理化成分的分子相互作用逐渐增强的结果, 广泛存在于红茶^[1]、乌龙茶^[2]和绿茶^[3-4]等茶类, 但近年来以绿茶沉淀特性研究最受关注。绿茶沉淀胶粒呈球状, 直径为 0.4~3.5 μm ^[3], 表面带负电荷^[5], 并以儿茶素、蛋白质和生物碱为主体成分^[6-7]。由儿茶

素、茶汤蛋白质和咖啡碱混合模拟的绿茶饮料,其体系透光率取决于儿茶素、蛋白质浓度及相对比例^[8];向绿茶汤外加生物碱不仅增加绿茶沉淀总量,并显著促进儿茶素、蛋白质等沉淀^[6]。可见,绿茶茶汤儿茶素、蛋白质、生物碱浓度和相对比例对沉淀胶体特性和理化组成均具有重要影响。在茶饮料生产中,改变绿茶原料品种^[9]、采摘部位^[10]、浸提温度^[11]、茶汤固形物含量^[12]以控制茶汤理化组成,均可显著影响绿茶沉淀形成。水浴浸提是传统茶叶浸提方式,但近年来,微波浸提以其加热时间短、提取率高、能耗低等特点在茶叶高温浸提方面备受重视,超声波浸提利用其空化效应加速溶剂扩散、促进组分浸出,在茶饮料低温浸提上展现优势。相较于水浴浸提,微波、超声波浸提绿茶的茶多酚、氨基酸和咖啡碱浸提率更高^[13]。说明改变茶叶浸提方式可调控绿茶茶汤理化成分的浓度与相对比例,但不同浸提方式对绿茶沉淀形成的影响仍鲜见报道。

为探究浸提方式对绿茶沉淀形成的影响及其可能机制,本研究以云南大叶种绿茶为原料,以微波(640 W、3 min)、沸水浴进行高温浸提,以超声波(225 W、40 °C、30 min)、40 °C水浴进行低温浸提,对原始茶汤和沉淀:①利用动态光散射与激光多普勒测速技术分析胶粒直径、表面电荷等参数,探讨浸提方式对绿茶沉淀胶体特性的影响;②采用高效液相色谱等技术测定儿茶素、生物碱、蛋白质等浓度,研究浸提方式对绿茶沉淀理化组成的影响;③系统分析不同微波功率与时间、超声波功率与时间、水浴温度条件下绿茶原始茶汤、沉淀的理化组成,采用逐步回归法分析各理化成分沉淀浓度与茶汤浓度、相对比例的线性相关性,探讨浸提方式影响绿茶沉淀形成的量效机制,以期在茶饮料生产中更好应用微波、超声波技术,解决茶饮料沉淀难题,奠定胶体化学与化学理论研究基础。

1 材料与amp;方法

1.1 原料

1.1.1 绿茶原料

云南大叶种蒸青绿茶购自广东省华海糖业发展有限公司,磨碎筛取20~30目粒径茶样。

1.1.2 主要试剂

儿茶素(C, ≥98%)、表儿茶素(EC, ≥98%)、没食子儿茶素(GC, ≥98%)、表没食子儿茶素(EGC, ≥98%)、儿茶素没食子酸酯(CG, ≥98%)、表儿茶素没食子酸酯(ECG, ≥98%)、没食子儿茶素没食子酸酯(GCG,

≥98%)、表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG, ≥95%)、可可碱(TB, ≥99.0%)和茶碱(TP, ≥99.0%)购自Sigma-Aldrich(上海)贸易有限公司。咖啡碱(CAF, 99.9%)购自上海生工生物工程有限公司。色谱纯甲酸购自韩国Honeywell Burdick & Jackson公司。色谱纯甲酸(96%)购自美国Tedia有限公司。牛血清蛋白组分V与福林酚试剂(2 mol/L)购自北京普博欣生物科技有限公司。所有实验用水均为Milli-Q超纯水(电阻率≥18.2 MΩ·cm)。

1.1.3 主要仪器设备

Agilent 1200 高效液相系统(包括G1322A真空脱气装置、G1311A四元泵、G1329A标准自动进样器及G1315D二极管阵列检测器)与Agilent Eclipse XDB-C18色谱柱(4.6×250 mm, 5μm)购自美国Agilent公司;Centrifuge 5804R冷冻离心机购自德国Eppendorf A G公司;Milli-Q Integral 3超纯水系统购自Merk-Millipore公司;UV-2102C紫外可见分光光度计购自上海尤尼科有限公司;Zetasizer Nano ZS 90纳米粒度仪购自英国Malvern公司;G80W23CSL-A6家用微波炉(800 W)购自格兰仕集团;SB-5200DTD超声波清洗仪(300 W, 40 kHz)购自宁波新芝生物科技股份有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 绿茶浸提与沉淀分离

称取9.0 g磨碎绿茶样:

①水浴浸提:加入90 mL经30、40、50、60、70、80、90、100 °C预热水,并于对应温度水浴中浸提30 min;

②微波浸提:加入90 mL水(40 °C),分别以微波功率160、480、640 W浸提3 min,另以微波功率800 W浸提1、3、5 min;

③超声波浸提:加入90 mL水(40 °C),分别以超声波功率165、225 W浸提30 min,另以功率285 W浸提10、20、30 min。

经定量滤纸分离茶渣,取茶汤备测。

取50 mL茶汤,于4 °C静置12 h,经4 °C、10000 g离心30 min分离沉淀,所得沉淀采用沸水溶解、备测。

1.2.2 茶汤与沉淀胶体特性分析

参考Lin等(2015)方法^[5],采用动态光散射、激光多普勒测速技术,于25 °C下测定微波(640 W、3 min)、沸水浴、超声波(225 W、30 min)、40 °C水浴四种浸提方式绿茶的原始茶汤与沉淀总光强、胶粒的粒径分布、平均水合直径(D_H)、多分散系数(PDI)和Zeta电位。

相同条件下,体系总光强与胶粒直径六次方成正比,与胶粒数目成正比,胶粒直径越大、粒子越多,总光强越高。

1.2.3 茶汤与沉淀理化成分测定

茶汤与沉淀的水浸出物总量采用 103 ± 2 °C 恒重法测定;茶多酚采用福林酚比色法测定;可溶性蛋白质采用 Bradford 考马斯亮蓝 G-250 比色法测定;8 种儿茶素单体(EGCG、ECG、EGC、EC、GCG、CG、GC、C)、3 种生物碱单体(CAF、TB、TP)采用高效液相色谱技术测定^[5]。根据同一理化组分沉淀浓度占其茶汤浓度的比例计算其沉淀率。

1.2.4 数据分析

所有实验平行 2~3 次,重复 2 次,图表数据以平均值 \pm 标准偏差表示。采用 Fisher 最小显著差数法分析样品组间差异显著性,不同大写字母表示组间差异极显著($p < 0.01$),不同小写字母表示组间差异显著($p < 0.05$),相同小写字母表示组间差异不显著($p > 0.05$)。

采用逐步回归法分析微波、超声波、水浴浸提绿茶沉淀形成与茶汤理化组成的线性相关性,即以各理化成分的茶汤浓度和相对比例为自变量,沉淀浓度为因变量,拟合各理化成分沉淀浓度与茶汤浓度、相对比例的多重线性回归方程;根据相关系数 R^2 大小评价线性相关程度高低;“***”表示因变量与该自变量具有极显著线性相关性($p < 0.01$),“*”表示因变量与该自变量具有显著线性相关性($p < 0.05$),“-”表示因变量与该自变量无显著线性相关性($p > 0.05$);根据所得方程的参数估计值正负与数值,评价自变量对因变量的影响,正值表示线性正相关,负值表示线性负相关,且数值越大,自变量对因变量的线性影响越大。

2 结果与分析

2.1 浸提方式对绿茶沉淀胶体特性的影响

茶汤胶粒大小、数目和表面电荷是影响茶饮料物理化学稳定性的主要因素,胶粒直径越大、数目越多、表面静电排斥作用越小,胶粒间越容易聚集、絮凝而形成沉淀。本研究采用动态光散射、激光多普勒测速技术,分析微波(640 W、3 min)、沸水浴、超声波(225 W、30 min)、40 °C 水浴浸提绿茶原始茶汤、沉淀胶粒的粒径分布(如图 1 所示)、总强度、平均直径、Zeta 电位和电导率(如表 1 所示),从茶汤胶粒形成和沉淀胶粒稳定性两方面,探讨不同浸提方式对绿茶沉淀胶体特性的影响。

由图 1a 和表 1 茶汤各物理化学参数分析可知:

①在高温浸提条件下,微波浸提绿茶胶粒的粒径分布

曲线与沸水浴浸提茶汤相近,但后者胶粒直径分布更集中;微波浸提绿茶总光强极显著低于沸水浴浸提,但二者胶粒平均直径、Zeta 电位和电导率均无显著差异,表明微波浸提绿茶胶粒数目远低于沸水浴浸提,仅约为后者的 57%。②在低温浸提条件下,超声波浸提绿茶总光强显著低于 40 °C 水浴,其胶粒平均直径极显著低于后者,但二者 Zeta 电位、电导率相当。③相较于微波、沸水浴浸提,超声波、40 °C 浸提绿茶总光强低、胶粒直径大、表面电荷和电导率略高,这与 Liang 等(2003)对不同浸提温度红茶茶汤浊度与胶粒直径的分析结果一致^[14],即:随浸提温度升高,茶汤胶粒直径减小、数目增大。说明低温浸提可显著抑制茶汤胶粒形成、提高胶粒的静电稳定性。

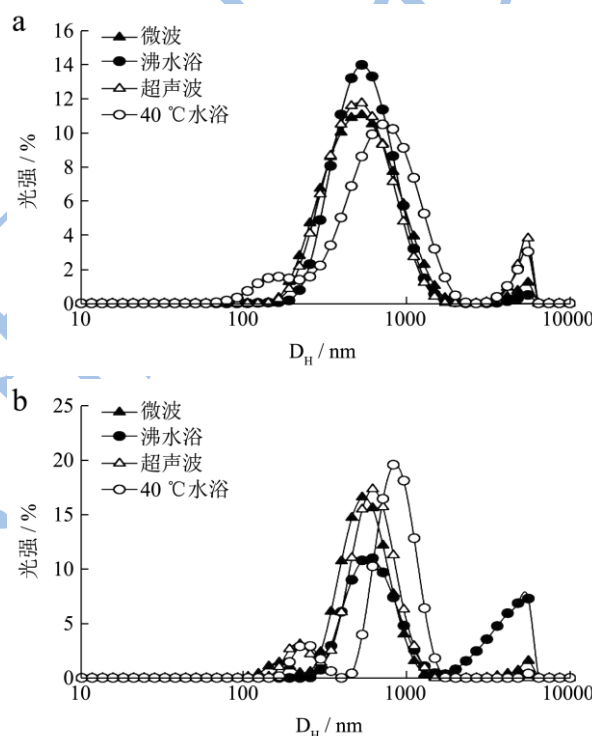


图 1 不同浸提方式绿茶原始茶汤(a)、沉淀(b)胶粒水合直径(D_H)光强分布曲线

Fig.1 Light intensity distribution curves of the hydrodynamic diameter (D_H) of colloidal particles in original infusions (a) and tea cream (b) of green tea extracted with different methods

由图 1b 和表 1 沉淀各物理化学参数分析可知:

①在高温浸提条件下,微波浸提绿茶沉淀以直径 250~1300 nm 胶粒为主,另含少量 $D_H < 250$ nm 胶粒;沸水浴浸提绿茶沉淀含 $250 \text{ nm} < D_H < 1300 \text{ nm}$ 和 $D_H > 1300 \text{ nm}$ 两类胶粒,各占总光强 67.61%和 32.39%;微波浸提绿茶沉淀胶粒总光强、平均直径和电导率均极显著低于沸水浴浸提,但其胶粒 Zeta 电位极显著高于后者,表明微波浸提绿茶形成的沉淀胶粒直径较小、胶粒间静电排斥作用较大。②在低温浸提条件下,超

声波浸提绿茶沉淀以 250 nm<D_H<1300 nm 胶粒为主, 40 °C 水浴浸提绿茶沉淀主要由 500 nm<D_H<1500 nm 胶粒组成, 超声波浸提绿茶沉淀胶粒总光强显著低于 40 °C 水浴浸提绿茶, 其胶粒平均直径极显著低于后者, 但其 Zeta 电位和电导率均极显著高于水浴浸提茶汤, 表明超声波浸提绿茶所形成的沉淀胶粒直径较小, 胶粒间静电排斥作用、带电离子比例均高于 40 °C 水浴浸提茶汤。③微波、超声波浸提绿茶沉淀胶粒分布

曲线十分相近、胶粒平均直径相当, 但微波浸提绿茶沉淀胶粒数目更大、Zeta 电位更小。④沸水浴浸提绿茶的沉淀胶粒总光强极显著高于 40 °C 水浴茶汤, 胶粒平均直径和 Zeta 电位极显著低于后者, 而电导率极显著高于 40 °C 水浴浸提茶汤, 说明与 40 °C 水浴浸提相比, 高温浸提绿茶的沉淀胶粒直径更小、数目更多、静电排斥作用更弱、带电离子比例更高。

表 1 不同浸提方式绿茶原始茶汤、沉淀物理化学特性

Table 1 Physicochemical profiles of original infusions and tea cream of green tea extracted with different methods

体系	浸提方式	总光强/kcps	平均直径/nm	Zeta 电位/mV	电导率/(mS/cm)
茶汤	微波	2813.10 ± 33.70 ^{Bb}	466.90 ± 19.79 ^{Cc}	-14.00 ± 0.92 ^{ABab}	4.25 ± 0.27 ^{Bb}
	沸水浴	4936.70 ± 112.30 ^{Aa}	475.0 ± 27.77 ^{Cc}	-13.10 ± 1.49 ^{Bb}	4.20 ± 0.29 ^{Bb}
	超声波	1694.70 ± 19.70 ^{Cd}	547.30 ± 17.75 ^{Bb}	-15.10 ± 1.07 ^{Aa}	5.05 ± 0.33 ^{Aa}
	40°C 水浴	1784.28 ± 46.41 ^{Cc}	622.20 ± 20.32 ^{Aa}	-15.27 ± 0.76 ^{Aa}	4.84 ± 0.28 ^{Aa}
沉淀	微波	1610.30 ± 121.98 ^{Bb}	662.33 ± 12.93 ^{Cc}	-28.85 ± 0.74 ^{Bb}	0.06 ± 0.00 ^{Bb}
	沸水浴	2177.83 ± 140.75 ^{Aa}	910.50 ± 100.76 ^{Bb}	-26.67 ± 0.79 ^{Cc}	0.08 ± 0.01 ^{Aa}
	超声波	980.80 ± 0.85 ^{Cd}	706.70 ± 6.51 ^{Cc}	-32.80 ± 1.51 ^{Aa}	0.06 ± 0.00 ^{Bb}
	40°C 水浴	1138.62 ± 116.20 ^{Cc}	1081.83 ± 33.96 ^{Aa}	-28.50 ± 0.82 ^{Bb}	0.05 ± 0.01 ^{Cc}

注: 不同大写字母表示组间差异极显著($p < 0.01$), 不同小写字母表示组间差异显著($p < 0.05$), 相同小写字母表示组间差异不显著($p > 0.05$).

表 2 不同浸提方式绿茶原始茶汤主要理化成分浓度 (mg/mL)

Table 2 Concentrations of major physicochemical components in green tea infusions extracted with different methods (mg/mL)

理化指标	微波	沸水浴	超声波	40 °C 水浴
水浸出物	25.96 ± 0.15 ^{Aa}	26.29 ± 0.89 ^{Aa}	21.83 ± 0.21 ^{Bb}	22.83 ± 0.76 ^{Bb}
蛋白质	2.44 ± 0.69 ^{Aa}	2.52 ± 0.22 ^{Aa}	2.25 ± 0.47 ^{Aa}	1.00 ± 0.20 ^{Bb}
总生物碱	2.07 ± 0.05 ^{Aa}	2.13 ± 0.09 ^{Aa}	1.30 ± 0.11 ^{Bb}	1.42 ± 0.09 ^{Bb}
CAF	1.95 ± 0.06 ^{Aa}	1.99 ± 0.09 ^{Aa}	1.21 ± 0.10 ^{Bb}	1.31 ± 0.10 ^{Bb}
TB	0.09 ± 0.01 ^{Bb}	0.11 ± 0.00 ^{Aa}	0.06 ± 0.01 ^{Cd}	0.08 ± 0.00 ^{Bc}
TP*	0.03 ± 0.00 ^{ABb}	0.03 ± 0.00 ^{Aa}	0.02 ± 0.00 ^{Bc}	0.03 ± 0.00 ^{Aab}
总儿茶素	8.37 ± 0.55 ^{Ab}	9.07 ± 0.42 ^{Aa}	5.66 ± 0.47 ^{Cd}	6.73 ± 0.33 ^{Bc}
酯型儿茶素	4.93 ± 0.43 ^{Ab}	5.39 ± 0.22 ^{Aa}	2.90 ± 0.21 ^{Cd}	3.60 ± 0.16 ^{Bc}
非酯型儿茶素	3.45 ± 0.13 ^{ABa}	3.69 ± 0.20 ^{Aa}	2.76 ± 0.26 ^{Cc}	3.13 ± 0.18 ^{BCb}
顺式儿茶素	7.18 ± 0.50 ^{Aa}	6.73 ± 0.29 ^{Aa}	4.87 ± 0.40 ^{Bc}	5.59 ± 0.43 ^{Bb}
反式儿茶素	1.20 ± 0.05 ^{Bb}	2.34 ± 0.14 ^{Aa}	0.79 ± 0.07 ^{Cc}	1.14 ± 0.11 ^{Bb}
焦酚型儿茶素	5.24 ± 0.24 ^{Bb}	5.79 ± 0.19 ^{Aa}	3.51 ± 0.30 ^{Dd}	4.18 ± 0.13 ^{Cc}
儿茶酚型儿茶素	3.14 ± 0.31 ^{Aa}	3.29 ± 0.23 ^{Aa}	2.15 ± 0.17 ^{Bc}	2.55 ± 0.21 ^{Bb}
EGCG	3.16 ± 0.19 ^{Aa}	3.03 ± 0.11 ^{Aa}	1.92 ± 0.15 ^{Bc}	2.16 ± 0.11 ^{Bb}
ECG	1.47 ± 0.22 ^{Aa}	1.39 ± 0.08 ^{Aa}	0.85 ± 0.05 ^{Bb}	0.92 ± 0.13 ^{Bb}
EGC	1.40 ± 0.04 ^{Aa}	1.30 ± 0.05 ^{ABa}	1.14 ± 0.11 ^{Bb}	1.40 ± 0.07 ^{Aa}
EC	1.15 ± 0.07 ^{Aa}	1.01 ± 0.06 ^{Abc}	0.97 ± 0.09 ^{Ac}	1.10 ± 0.12 ^{Aab}
C	0.47 ± 0.02 ^{Bb}	1.71 ± 0.10 ^{Aa}	0.31 ± 0.03 ^{Cc}	0.50 ± 0.04 ^{Bb}
GCG	0.26 ± 0.02 ^{Cc}	0.79 ± 0.03 ^{Aa}	0.11 ± 0.01 ^{Dd}	0.49 ± 0.08 ^{Bb}
GC	0.42 ± 0.01 ^{Bb}	0.67 ± 0.01 ^{Aa}	0.35 ± 0.03 ^{Cc}	0.12 ± 0.02 ^{Dd}
CG	0.04 ± 0.02 ^{Bb}	0.17 ± 0.01 ^{Aa}	0.02 ± 0.00 ^{Cc}	0.03 ± 0.01 ^{BCbc}

注: *微波浸提绿茶 TP 浓度为 0.026 ± 0.002 mg/mL, 沸水浴浸提绿茶 TP 浓度为 0.031 ± 0.000 mg/mL, 超声波浸提绿茶 TP 浓度为 0.023 ± 0.002 mg/mL, 40 °C 水浴浸提绿茶 TP 浓度为 0.028 ± 0.003 mg/mL。不同大写字母表示组间差异极显著($p < 0.01$), 不同小写字母表示组间差异显著($p < 0.05$), 相同小写字母表示组间差异不显著($p > 0.05$)。

综上所述, 茶叶浸提方式显著影响绿茶的茶汤胶粒与沉淀胶粒的形成, 微波、低温(超声波、水浴)浸提均可减少绿茶胶粒形成、提高胶粒静电稳定性; 与相同温度水浴浸提茶汤相比, 微波、超声波浸提绿茶的沉淀胶粒直径小、胶粒间静电排斥作用较强。本团队前期研究表明, 绿茶胶粒以蛋白质和可溶性糖为主体成分, 儿茶素和生物碱含量较低^[15], 但其沉淀胶粒以儿茶素浓度最高、蛋白质和生物碱次之^[6], 说明蛋

白质可能是绿茶胶粒核心组分, 但在胶粒絮凝、聚沉过程中, 儿茶素和生物碱或起关键作用。因此, 阐明不同浸提方式绿茶原始茶汤与沉淀理化组成的差异, 是探讨浸提方式如何影响绿茶沉淀胶体特性的重要研究内容。

2.2 浸提方式对绿茶沉淀理化组成的影响

表 3 不同浸提方式绿茶沉淀主要理化成分浓度 (mg/mL)

Table 3 Concentrations of major physicochemical components in tea cream from green tea extracted with different methods (mg/mL)

理化指标	微波	沸水浴	超声波	40°C水浴
水浸出物	4.34 ± 0.43 ^{Aa}	3.70 ± 0.43 ^{Ab}	1.46 ± 0.02 ^{Bc}	1.54 ± 0.11 ^{Bc}
蛋白质	0.94 ± 0.12 ^{Aa}	0.86 ± 0.17 ^{Aa}	0.29 ± 0.06 ^{Bb}	0.19 ± 0.04 ^{Bb}
总生物碱	0.90 ± 0.06 ^{Aa}	0.74 ± 0.10 ^{Bb}	0.23 ± 0.01 ^{Cc}	0.18 ± 0.05 ^{Cc}
CAF	0.87 ± 0.07 ^{Aa}	0.71 ± 0.10 ^{Bb}	0.22 ± 0.01 ^{Cc}	0.18 ± 0.05 ^{Cc}
TB	0.03 ± 0.00 ^{Aa}	0.03 ± 0.00 ^{Bb}	0.01 ± 0.00 ^{Cc}	0.01 ± 0.00 ^{Cc}
TP*	0.00 ± 0.00 ^{Aa}	0.00 ± 0.00 ^{ABb}	0.00 ± 0.00 ^{Cc}	0.00 ± 0.00 ^{BCb}
总儿茶素	1.86 ± 0.17 ^{Aa}	1.59 ± 0.25 ^{Ab}	0.49 ± 0.01 ^{Bc}	0.44 ± 0.11 ^{Bc}
酯型儿茶素	1.56 ± 0.16 ^{Aa}	1.35 ± 0.22 ^{Ab}	0.39 ± 0.00 ^{Bb}	0.09 ± 0.01 ^{Cc}
非酯型儿茶素	0.30 ± 0.02 ^{Aab}	0.24 ± 0.03 ^{Ab}	0.10 ± 0.00 ^{Bc}	0.35 ± 0.10 ^{Aa}
顺式儿茶素	1.64 ± 0.18 ^{Aa}	1.21 ± 0.18 ^{Bb}	0.43 ± 0.01 ^{Cc}	0.29 ± 0.06 ^{Cc}
反式儿茶素	0.22 ± 0.01 ^{Bb}	0.37 ± 0.07 ^{Aa}	0.06 ± 0.00 ^{Cd}	0.14 ± 0.04 ^{BCc}
焦酚型儿茶素	1.21 ± 0.09 ^{Aa}	1.06 ± 0.16 ^{Ab}	0.33 ± 0.01 ^{Bc}	0.16 ± 0.04 ^{Bd}
儿茶酚型儿茶素	0.65 ± 0.08 ^{Aa}	0.52 ± 0.08 ^{Ab}	0.17 ± 0.00 ^{Bd}	0.27 ± 0.07 ^{Bc}
EGCG	0.96 ± 0.07 ^{Aa}	0.70 ± 0.12 ^{Bb}	0.24 ± 0.00 ^{Cc}	0.03 ± 0.00 ^{Dd}
ECG	0.52 ± 0.08 ^{Aa}	0.39 ± 0.07 ^{Bb}	0.13 ± 0.00 ^{Cc}	0.04 ± 0.01 ^{Cd}
EGC	0.11 ± 0.02 ^{Aa}	0.08 ± 0.01 ^{Bb}	0.04 ± 0.00 ^{Cc}	0.01 ± 0.00 ^{Dd}
EC	0.06 ± 0.01 ^{Bb}	0.05 ± 0.00 ^{Bb}	0.02 ± 0.00 ^{Bb}	0.21 ± 0.06 ^{Aa}
C	0.06 ± 0.02 ^{Aa}	0.04 ± 0.00 ^{ABb}	0.01 ± 0.00 ^{Cc}	0.02 ± 0.01 ^{BCc}
GCG	0.08 ± 0.01 ^{Bb}	0.21 ± 0.03 ^{Aa}	0.01 ± 0.00 ^{Cc}	0.01 ± 0.00 ^{Cc}
GC	0.07 ± 0.00 ^{ABb}	0.07 ± 0.03 ^{ABb}	0.03 ± 0.00 ^{Bc}	0.11 ± 0.03 ^{Aa}
CG	0.01 ± 0.00 ^{Bb}	0.05 ± 0.01 ^{Aa}	0.00 ± 0.00 ^{Bc}	0.00 ± 0.00 ^{Bc}

注: *沸水浴浸提绿茶 TP 沉淀浓度为 0.003 ± 0.001 mg/mL, 微波浸提绿茶 TP 沉淀浓度为 0.004 ± 0.000 mg/mL, 40 °C 水浴浸提绿茶 TP 沉淀浓度为 0.002 ± 0.000 mg/mL, 超声波浸提绿茶 TP 沉淀浓度为 0.001 ± 0.000 mg/mL。不同大写字母表示组间差异极显著($p < 0.01$), 不同小写字母表示组间差异显著($p < 0.05$), 相同小写字母表示组间差异不显著($p > 0.05$)。

为探讨浸提方式影响绿茶沉淀形成的化学机制, 分别测定微波(640 W、3 min)、沸水浴、超声波(225 W、30 min)、40 °C 水浴浸提绿茶原始茶汤(见表 2)和沉淀(见表 3)水浸出物、蛋白质、生物碱与儿茶素浓度, 比较分析四种浸提方式对绿茶原始茶汤理化组成与沉淀形成的影响。

由表 2 可知: ①高温浸提条件下, 微波浸提绿茶

的水浸出物、蛋白质、总生物碱与非酯型、顺式、儿茶酚型儿茶素浓度均与沸水浴浸提茶汤相当, 但其总儿茶素与酯型、反式、焦酚型儿茶素浓度显著低于后者, 表明微波浸提显著降低绿茶原始茶汤儿茶素浓度和酯型/非酯型、反式/顺式、焦酚型/儿茶酚型比例, 且微波浸提可能促进绿茶中其他未测组分的浸出。这与向胜沅(2005)的研究结果一致, 即微波浸提绿茶儿

茶素浓度低于沸水浴浸提，特别是反式儿茶素^[16]，这可能与其加热时间较短、顺式儿茶素热异构化的比例较低有关。②低温浸提条件下，超声波浸提绿茶水浸出物、总生物碱浓度与 40 °C 水浴相当，其总儿茶素和各类型儿茶素浓度均显著低于后者，但其蛋白质浓度显著高于 40 °C 水浴，约为后者的 2.25 倍。③微波、沸水浴浸提绿茶的水浸出物、生物碱和儿茶素浓度显著高于两种低温浸提方式，但超声波浸提绿茶蛋白质浓度与两种高温浸提方式相当。肖文军等(2006)研究也发现，超声波浸提对蛋白质浸出的促进作用是酯型儿茶素的 3 倍以上^[17]。说明超声波浸提显著促进绿茶蛋白质浸出。

由表 3 可知：①高温浸提条件下，微波浸提绿茶沉淀水浸出物、总生物碱及其单体、总儿茶素与顺式、焦酚型或儿茶酚型儿茶素浓度均显著高于沸水浴浸提茶汤，但其蛋白质、酯型与非酯型儿茶素沉淀浓度与后者相当，而反式儿茶素沉淀浓度显著低于沸水浴浸提。②低温浸提条件下，超声波浸提绿茶沉淀水浸出物、蛋白质、总生物碱、总儿茶素与顺式儿茶素浓度均与 40 °C 水浴浸提绿茶相当，但其酯型、焦酚型儿茶素沉淀浓度显著高于后者，而非酯型、反式与儿茶酚型儿茶素沉淀浓度显著低于 40 °C 水浴浸提。③微波、沸水浴浸提绿茶沉淀水浸出物与各理化成分浓度均显著高于两种低温浸提方式。可见，与相同温度水浴浸提相比，微波浸提浸提绿茶更易形成沉淀，而超声波浸提对绿茶沉淀形成影响较小。

为进一步探讨四种浸提方式对绿茶各理化成分沉淀倾向的影响，计算并比较四种浸提方式绿茶水浸出物、生物碱等理化成分沉淀率，结果如图 2 所示。

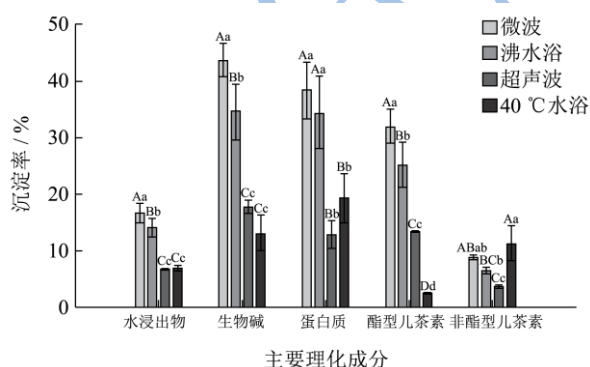


图 2 不同浸提方式绿茶主要理化组分沉淀率

Fig.2 Creaming rate of major physicochemical components in green tea infusions extracted with different methods

注：不同大写字母表示组间差异极显著($p < 0.01$)，不同小写字母表示组间差异显著($p < 0.05$)，相同小写字母表示组间差异不显著($p > 0.05$)。

由图 2 可知：①高温浸提条件下，微波浸提绿茶

水浸出物、生物碱、酯型儿茶素沉淀率均极显著高于沸水浴浸提，但蛋白质、非酯型儿茶素沉淀率与后者相当，表明微波浸提显著提高绿茶生物碱和酯型儿茶素沉淀倾向。②低温浸提条件下，超声波浸提绿茶水浸出物、生物碱和蛋白质沉淀率均与 40 °C 水浴浸提相当，但其酯型儿茶素沉淀率极显著高于后者，而非酯型儿茶素沉淀率显著低于 40 °C 水浴浸提，表明超声波浸提促进绿茶酯型儿茶素沉淀，但不利于非酯型儿茶素沉淀。③微波、沸水浴浸提绿茶水浸出物、生物碱、蛋白质和酯型儿茶素沉淀率均极显著高于超声波、40 °C 水浴浸提，表明高温浸提利于绿茶酯型儿茶素、蛋白质、生物碱沉淀。

综上，浸提方式对绿茶原始茶汤理化成分浓度与相对比例、沉淀总量及其理化组成、理化成分沉淀倾向均具有显著影响。微波浸提绿茶原始茶汤主要理化成分浓度与沸水浴浸提绿茶相近，但其主要理化成分沉淀浓度与沉淀倾向显著高于后者。与 40 °C 水浴相比，超声波对绿茶水浸出物、蛋白质、生物碱沉淀浓度与沉淀倾向无显著影响，但其显著提高了绿茶酯型儿茶素沉淀浓度与沉淀倾向、降低非酯型儿茶素沉淀浓度与沉淀倾向。研究表明，儿茶素与茶汤蛋白质浓度和相对比例是影响绿茶沉淀形成的首要因素^[5,8]，超声波浸提对酯型儿茶素沉淀的促进作用可能与其茶汤蛋白质浓度较高有关，但其抑制非酯型儿茶素沉淀的可能机制仍有待深入研究。

2.3 浸提方式影响绿茶沉淀形成的量效机制

在分析发现不同浸提方式绿茶沉淀化学特性的差异可能与茶汤理化组成有关的基础上，为探究不同浸提方式影响绿茶沉淀形成的量效机制，本研究系统分析不同微波功率及处理时间、超声波功率及处理时间、水浴温度等条件下，茶汤与沉淀水浸出物、儿茶素、蛋白质、生物碱浓度，计算酯型/非酯型儿茶素、酯型儿茶素/蛋白质、酯型儿茶素/生物碱和蛋白质/生物碱比例，采用逐步回归法拟合各理化成分沉淀浓度与茶汤浓度、相对比例的线性回归方程，通过比较相关系数 R^2 和拟合方程的参数估计值(见表 4-6)，探讨绿茶沉淀形成与茶汤理化组成的线性相关性。

由表 4 可知，①微波浸提绿茶水浸出物沉淀浓度与其茶汤浓度和酯型/非酯型儿茶素呈极显著正相关，与酯型儿茶素/生物碱比例呈显著正相关，且尤以酯型/非酯型儿茶素比例影响最大；②酯型儿茶素沉淀浓度与茶汤水浸出物浓度和酯型/非酯型比例呈极显著正相关，且后者影响较大；③非酯型儿茶素沉淀浓度与茶汤水浸出物、酯型儿茶素浓度呈极显著正相关；④

蛋白质沉淀浓度与茶汤水浸出物浓度和酯型/非酯型、蛋白质/生物碱比例呈极显著正相关，但以酯型/非酯型儿茶素比例影响最大；⑤生物碱沉淀浓度与茶汤水浸出物浓度、酯型/非酯型儿茶素比例呈极显著正相关，且后者影响较大。可见，茶汤酯型、非酯型儿茶素相对比例对微波浸提绿茶沉淀形成具有关键影响，

降低茶汤酯型/非酯型儿茶素比例可有效抑制绿茶沉淀形成，说明酯型、非酯型儿茶素在绿茶沉淀过程中可能存在竞争作用。利用单宁酶将茶汤酯型儿茶素降解为非酯型儿茶素，可降低酯型/非酯型儿茶素比例，有效抑制绿茶沉淀形成^[18]。

表4 微波浸提绿茶理化成分沉淀浓度与茶汤浓度、相对比例线性相关性的逐步回归分析

Table 4 Results from stepwise regression analysis of the linear correlation of the creaming concentrations of major physicochemical components with their original infusion concentrations and relative ratios in green tea infusions extracted with the microwave

沉淀浓度	R ²	茶汤浓度				
		水浸出物	酯型儿茶素	酯型/非酯型儿茶素	酯型儿茶素/生物碱	蛋白质/生物碱
水浸出物	0.972	0.26**	-	3.51**	1.19*	-
酯型儿茶素	0.912	0.07**	-	1.95**	-	-
非酯型儿茶素	0.940	0.02**	0.02**	-	-	-
蛋白质	0.984	0.05**	-	1.20**	-	0.12**
生物碱	0.906	0.04**	-	0.99**	-	-

注：各理化成分沉淀浓度与茶汤蛋白质、生物碱、非酯型儿茶素浓度及酯型儿茶素/蛋白质相对比例均无显著线性相关性。“**”表示组间差异极显著(p<0.01)，“*”表示组间差异显著(p<0.05)，“-”表示组间差异不显著(p>0.05)。

表5 超声波浸提绿茶沉淀浓度与茶汤浓度相关性逐步回归分析

Table 5 Results from the stepwise regression analysis of the correlation between the creaming concentrations of tea components and their original concentrations in green tea infusions extracted with ultrasonography

沉淀浓度	R ²	茶汤浓度						
		水浸出物	蛋白质	生物碱	酯型儿茶素	非酯型儿茶素	酯型/非酯型儿茶素	蛋白质/生物碱
水浸出物	0.632	-	0.38*	1.30**	-	-	-	-
酯型儿茶素	0.889	-	0.15**	0.32**	-	-	0.81*	-
非酯型儿茶素	0.910	0.01*	-	-	0.05**	-	-	0.04**
蛋白质	0.815	-	0.09*	-	-	-	1.45**	-
生物碱	0.903	-	0.08**	0.71**	-	0.23*	-	-

注：各理化成分沉淀浓度与酯型儿茶素/蛋白质、酯型儿茶素/生物碱相对比例均无显著线性相关性。“**”表示组间差异极显著(p<0.01)，“*”表示组间差异显著(p<0.05)，“-”表示组间差异不显著(p>0.05)。

表6 水浴浸提绿茶沉淀浓度与茶汤浓度线性回归方程的相关系数(R²)与参数估计值

Table 6 Correlation coefficient (R²) and parameter estimates of the linear regression equation for creaming concentrations of tea components and their original concentrations in green tea infusions extracted with a conventional boiling water bath

沉淀浓度	R ²	茶汤浓度			
		水浸出物	蛋白质	生物碱	酯型/非酯型儿茶素
水浸出物	0.969	-0.15**	-	4.45**	-
酯型儿茶素	0.962	-0.06**	-	1.50**	0.38*
非酯型儿茶素	0.919	-0.01**	-	0.24**	-
蛋白质	0.940	-	0.11**	0.56**	0.26*
生物碱	0.963	-0.05**	-	1.10**	-

注：各组分沉淀浓度与茶汤酯型、非酯型儿茶素浓度及酯

型儿茶素与蛋白质、生物碱和蛋白质与生物碱比例无显著线性相关性。“**”表示组间差异极显著(p<0.01)，“*”表示组间差异显著(p<0.05)，“-”表示组间差异不显著(p>0.05)。

由表5可知，①超声波浸提绿茶沉淀水浸出物浓度与茶汤蛋白质呈显著正相关，与生物碱浓度呈极显著正相关，但线性相关程度(相关系数 R²)较低；②酯型儿茶素沉淀浓度与茶汤蛋白质、生物碱浓度呈极显著正相关，与酯型/非酯型儿茶素比例呈显著正相关，且以该比例影响最大；③非酯型儿茶素沉淀浓度与茶汤水浸出物、酯型儿茶素浓度和蛋白质/生物碱比例呈极显著正相关；④蛋白质沉淀浓度与其茶汤浓度呈显著正相关，与酯型/非酯型儿茶素比例呈极显著正相关，且后者影响较大；⑤生物碱沉淀浓度与茶汤蛋白质、生物碱呈极显著正相关，与茶汤非酯型儿茶素浓度呈显著正相关，但以生物碱原始茶汤浓度的影响最

大。可见,降低原始茶汤蛋白质、生物碱浓度,可显著抑制超声波浸提绿茶沉淀形成。结合前述理化分析结果可知,超声波浸提对绿茶蛋白质浸出的促进作用并不利于对绿茶饮料沉淀形成的控制。

由表6可知,①水浴浸提绿茶沉淀水浸出物浓度与其茶汤浓度呈极显著负相关,与茶汤生物碱浓度呈极显著正相关,但后者影响远大于茶汤水浸出物浓度;②酯型儿茶素沉淀浓度与茶汤水浸出物浓度呈极显著负相关,与茶汤生物碱浓度呈极显著正相关、且其影响最大,与茶汤酯型/非酯型儿茶素比例呈显著正相关;③非酯型儿茶素沉淀浓度与茶汤水浸出物浓度呈极显著负相关,与茶汤生物碱浓度呈极显著正相关,且以后者影响较大;④蛋白质沉淀浓度与茶汤蛋白质、生物碱浓度呈极显著正相关,与茶汤酯型/非酯型儿茶素比例呈显著正相关,但以茶汤生物碱浓度影响最大;⑤生物碱沉淀浓度与茶汤水浸出物浓度呈极显著负相关,与其原始茶汤呈极显著正相关、且其影响较大。可见,茶汤生物碱浓度对水浴浸提绿茶沉淀形成具有重要影响,降低茶汤生物碱浓度可抑制绿茶沉淀形成;提高茶汤水浸出物浓度可抑制绿茶沉淀形成。研究表明,脱咖啡碱可有效降低绿茶沉淀总量^[7],外加生物碱可能通过促进酯型儿茶素、蛋白质和非酯型儿茶素等沉淀,从而显著提高绿茶沉淀总量^[6];随茶汤水浸出物浓度提高,茶汤粘度增大、减缓绿茶胶粒沉降^[12]。

上述研究结果说明,不同浸提方式影响绿茶沉淀形成的量效机制存在较大差异,降低茶汤酯型/非酯型儿茶素比例可有效抑制微波浸提绿茶沉淀形成,降低茶汤蛋白质、生物碱浓度可减少超声波绿茶沉淀量,降低茶汤生物碱浓度、提高水浸出物浓度可抑制水浴浸提绿茶沉淀形成。可见,采用不同的浸提方式,不仅显著影响绿茶的沉淀量与沉淀倾向,并且可能改变绿茶沉淀的形成机制。

3 结论

本研究通过比较微波等不同浸提方式对绿茶沉淀胶体特性与理化组成的影响,得出如下基本结论。与水浴浸提相比:①物理化学分析显示,微波、低温水浴浸提可有效抑制绿茶茶汤胶粒形成、提高沉淀胶粒稳定性;②化学分析表明,微波浸提绿茶更易沉淀、沉淀量更大,超声波浸提显著提高绿茶酯型儿茶素沉淀浓度与沉淀倾向,但其同时抑制非酯型儿茶素沉淀;③原始茶汤酯型/非酯型儿茶素比例对微波、超声波浸提绿茶沉淀形成具有关键影响,降低茶汤该比例或可抑制绿茶沉淀形成。本研究揭示了微波、超声波和水浴浸提方式对绿茶沉淀胶体特性与理化组成的影响,

并初步阐释三种浸提方式影响绿茶沉淀形成的量效机制,为未来深入探究茶叶浸提方式影响茶饮料沉淀形成的构效机制奠定研究基础,为应用微波、超声波浸提茶饮料、有效控制茶饮料沉淀等生产实践提供了理论依据。

参考文献

- [1] JÖBSTL Elisabeth, FAIRCLOUGH J Patrick A, DAVIES Alan P, et al. Creaming in black tea [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53 (20): 7997-8002
- [2] CHAO Yuh Chung, CHIANG Been Huang. Cream formation in a semifermented tea [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1999, 79: 1767-1774
- [3] 梁月荣,罗德尼 毕.绿茶冷后“沉降物”粒子形态的研究[J]. 浙江农业大学学报,1992,18(4):17-20
- LIANG Yue-rong, BEE Rod. A study on morphology of green tea cream particles [J]. Acta Agriculturae Universitatis Zhejiangensis, 1992, 18 (4): 17-20
- [4] 许勇泉,陈根生,胡雄飞,等.绿茶浓缩汁中不可逆沉淀形成的研究[J].现代食品科技,2014,1:33-37
- XU Yong-quan, CHEN Gen-sheng, HU Xiong-fei, et al. Irreversible sediment formation in green tea concentrate [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 1: 33-37
- [5] LIN Xiaorong, CHEN Zhongzheng, ZHANG Yuanyuan, et al. Comparative characterization of green tea and black tea cream: physicochemical and phytochemical nature [J]. Food Chemistry, 2015, 173 (15): 432-440
- [6] LIN Xiaorong, CHEN Zhongzheng, ZHANG Yuanyuan, et al. Interactions among chemical components of cocoa tea (*Camellia ptilophylla* Chang), a naturally low caffeine-containing tea species [J]. Food & Function, 2014, 5 (6): 1175-1185
- [7] KIM Youngmok, TALCOTT Stephen T. Tea creaming in nonfermented teas from *Camellia sinensis* and *Ilex vomitoria* [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60 (47): 11793-11799
- [8] 陆建良,梁月荣,孙庆磊,等.蛋白质与儿茶素和咖啡因互作对模拟茶汤透光率的影响[J].中国食品学报,2006,6(4): 34-40
- LU Jiang-liang, LIANG Yue-rong, SUN Qing-lei, et al. Effects of interactions of protein with catechins and caffeine on the transmittance of simulate tea liquor [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2006, 6 (4): 34-40
- [9] 许勇泉,尹军峰.绿茶茶汤冷后浑特性研究[J].茶叶科学,

- 2010, S1:527-532
- XU Yong-quan, YIN Jun-feng. Study on the characteristics of cream formation in green tea infusion [J]. Journal of Tea Science, 2010, S1: 527-532
- [10] YIN Jun-feng, XU Yong-quan, YUAN Hai-bo, et al. Cream formation and main chemical components of green tea infusions processed from different parts of new shoots [J]. Food Chemistry, 2009, 114: 665-670
- [11] 许勇泉,陈根生,刘平等.浸提温度对绿茶茶汤沉淀形成的影响[J].茶叶科学,2012,1:17-21
- XU Yong-quan, CHEN Gen-sheng, LIU Ping, et al. Effect of extraction temperature on tea sediment formation in green tea infusion [J]. Journal of Tea Science, 2012, 1: 17-21
- [12] XU Yong-quan, CHEN Gen-sheng, YUAN Hai-bo, et al. Analysis of cream formation in green tea concentrates with different solid concentrations [J]. Journal of Food Science and Technology, 2011, 49 (3): 362-367
- [13] 夏涛,时思全,宛晓春.微波、超声波对茶叶主要化学成分浸提效果的研究[J].农业工程学报,2004,6:170-173
- XIA Tao, SHI Si-quan, WAN Xiao-chun. Effects of microwave and ultrasound assisted extraction of main chemical components of tea [J]. Transactions of the CSAE, 2004, 6: 170-173
- [14] LIANG Yuerong, XU Yuerong. Effect of extraction temperature on cream and extractability of black tea [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze] [J]. International Journal of Food Science and Technology, 2003, 38: 37-45
- [15] 林晓蓉,陈忠正,张媛媛,等.绿茶天然纳米聚集体的分离与分析[C]//中国食品科学技术学会第十一届年会论文摘要集,浙江杭州,2014:317-319
- LIN Xiao-rong, CHEN Zhong-zheng, ZHANG Yuan-yuan, et al. Natural nano-aggregates in green tea: physicochemical and phytochemical nature [C] // Abstracts of 11th Annual Meeting of CIFST, 2014, 317-318
- [16] 向胜沅.微波技术在绿茶浸提中的应用研究[D].湖南农业大学,2005
- XIANG Sheng-yuan. Application of microwave technology on extraction of green tea [D]. Hunan Agricultural University, 2005
- [17] 肖文军,唐和平,龚志华,等.茶叶超声波辅助浸提研究[J].茶叶科学,2006,1:54-58
- XIAO Wen-jun, TANG He-ping, GONG Zhi-hua, et al. Study on ultrasonic wave-assisted extraction of tea [J]. Journal of Tea Science, 2006, 1: 54-58
- [18] 苏二正,夏涛,张正竹,等.共固定化单宁酶和 β -葡萄糖苷酶对茶饮料增香和除混效果的研究[J].食品与发酵工业,2005,5:125-129
- SU Er-zheng, XIA Tao, ZHANG Zheng-zhu, et al. The effects of co-immobilized tannase and β -glucosidase on the aroma-increasing and haziness removing in tea beverage [J]. Food and Fermentation Industries, 2005, 5: 125-129