

塔宾曲霉液态发酵葡萄皮渣复配普洱茶的工艺优化及成分变化

殷元斌, 潘玲玉, 余致远, 王秋萍*

(云南农业大学食品科学技术学院, 云南昆明 650201)

摘要: 为了探讨葡萄皮渣对塔宾曲霉液态发酵普洱茶风味特性的影响, 该研究基于大叶晒青绿茶与葡萄皮渣速溶粉的复配体系, 通过单因素试验和响应面法优化发酵工艺参数, 并系统考察了发酵过程中 pH 值、色差、总糖、蛋白质、总多酚及茶褐素等关键理化指标的动态变化规律。该文确定最佳工艺为: 速溶葡萄皮渣粉添加量 $0.03 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$, 料液比 $1:30 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 发酵时间 144 h, 孢子接种量 $1 \times 10^6 \text{ CFU/mL}$ 。在该优化条件下, 经 144 h 发酵后, 茶汤 pH 值由 4.66 升至 5.73; 茶褐素含量由 $1.89 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 增至 $5.40 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 蛋白质含量由 $0.06 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 增至 $0.10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 均呈上升趋势; 而总多酚含量由 $6.10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 降至 $2.76 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 总糖含量由 $1.78 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 降至 $0.96 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 均呈下降趋势。茶汤 L^* 值降低, a^* 值和 b^* 值升高, 颜色变深变红。该研究为塔宾曲霉液态发酵高效制备葡萄皮渣复配普洱茶提供理论基础。

关键词: 塔宾曲霉; 液态发酵; 葡萄皮渣; 普洱茶; 工艺优化; 理化指标

文章编号: 1673-9078(2026)05-64-71

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.5.0393

Liquid-state Fermentation of Pu-erh Tea Blended with Grape Pomace by *Aspergillus tubingensis*: Process Optimization and Compositional Changes

YIN Yuanbin, PAN Lingyu, YU Zhiyuan, WANG Qiuping*

(College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: To investigate the effects of grape pomace addition on the flavor-related composition of Pu-erh tea fermented by *Aspergillus tubingensis* under liquid-state fermentation, a blended system consisting of sun-dried green tea leaves and instant grape pomace powder was established. Fermentation parameters were optimized using single-factor experiments and response surface methodology. Under the optimal conditions, dynamic changes in key physicochemical indices, including pH, color parameters, total carbohydrates, proteins, total polyphenols, and theabrownins, were systematically examined during fermentation. The optimal fermentation conditions were determined as follows: instant grape pomace powder at $0.03 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$, a solid-to-liquid ratio of $1 \text{ g}:30 \text{ mL}$, a fermentation duration of 144 h, and an inoculum size of $1 \times 10^6 \text{ CFU/mL}$. Under these conditions, the pH of the tea infusion increased from 4.66 to 5.73 after 144 h of fermentation. Theabrownin content increased from $1.89 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ to $5.40 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, and protein content increased from $0.06 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ to $0.10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, both showing continuous upward trends. In contrast, total polyphenol content decreased from $6.10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ to $2.76 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$.

引文格式:

殷元斌,潘玲玉,余致远,等.塔宾曲霉液态发酵葡萄皮渣复配普洱茶的工艺优化及成分变化[J].现代食品科技,2026,42(5): 64-71.

YIN Yuanbin, PAN Lingyu, YU Zhiyuan, et al. Liquid-state fermentation of Pu-erh tea blended with grape pomace by *Aspergillus tubingensis*: process optimization and compositional changes [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(5): 64-71.

收稿日期: 2025-03-19; 修回日期: 2025-05-08; 接受日期: 2025-05-12

基金项目: 国家自然科学基金项目(32260577); 云南省重大科技专项计划(202102AE090027); 云南省基础研究计划项目(2019FB051); 云南省科技型中小企业技术创新基金(202304B/090032-23)

作者简介: 殷元斌(1999-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 茶叶生物技术, E-mail: 1043901183@qq.com

通讯作者: 王秋萍(1987-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 茶叶化学、功效及其活性成分生物制造, E-mail: qpwang@ynau.edu.cn

2.76 g·L⁻¹, and total carbohydrate content declined from 1.78 g·L⁻¹ to 0.96 g·L⁻¹. Color analysis revealed a decrease in the *L** value and increases in the *a** and *b** values, indicating a darker and redder appearance of the tea infusion during fermentation. These findings demonstrate that grape pomace addition significantly influences the compositional evolution of Pu-erh tea during liquid-state fermentation and provides a scientific basis for the development of flavor-enhanced Pu-erh tea products through the valorization of grape pomace.

Key words: *Aspergillus tubingensis*; liquid-state fermentation; grape pomace; Pu-erh tea; process optimization; physicochemical indices

普洱茶是以地理标志保护范围内的云南大叶种晒青茶为原料 (*Camellia sinensis* var. *assamica*), 并采用特定的加工工艺制成的茶叶。作为一种具有深厚文化底蕴和独特风味的茶类, 因其丰富的健康益处和独特的陈化特性而备受关注^[1]。近年来, 液态发酵技术逐渐被引入普洱茶的生产中, 助力其现代化加工和品质提升^[2]。液态发酵通过精确控制发酵条件 (如温度、湿度、pH 值和菌种组合), 能够加速普洱茶中化学成分的转化, 显著提升茶叶的风味、色泽和功能性成分含量^[3,4]。与传统固态发酵相比, 液态发酵不仅缩短了发酵周期, 还能有效提高茶褐素 (评价普洱熟茶品质的重要指标^[5,6]) 等有益成分的积累, 同时赋予普洱茶更加醇厚的口感和丰富的香气层次^[7-9]。

目前, 普洱茶的液态发酵工艺及品质形成机制受到广泛关注。研究表明, 塔宾曲霉 (*Aspergillus tubingensis*) 作为普洱茶固态发酵中的优势微生物, 能够快速促进茶多酚向茶褐素的转化, 但液态发酵普洱茶茶汤仍存在不足, 如: 茶汤滋味苦涩、菌味浓、香气淡等^[10]。复配型发酵茶是一种结合了多种原料、微生物菌种或发酵工艺的创新型茶产品, 通过将不同来源的植物原料 (如茶叶、水果、花卉、谷物等) 进行复配, 并利用微生物发酵技术, 开发出具有独特风味、口感和健康功效的新型茶饮品^[11-13]。葡萄皮渣是葡萄酒酿造的副产物, 其中红葡萄皮渣富含多酚、芳香物质和膳食纤维等生物活性成分, 具有较高的保健价值^[14], 但目前其综合利用主要集中在多酚提取和动物饲料开发上, 仍有较大的开发潜力^[15-17]。因此, 基于复配型发酵茶的开发理念, 将红葡萄皮渣与普洱茶相结合, 借助红葡萄皮渣所含的天然风味成分, 改善塔宾曲霉液态发酵制备普洱茶的感官品质, 提高葡萄皮渣的综合利用价值。

本研究以大叶晒青绿茶和制备成速溶粉的红葡萄皮渣为原料, 采用塔宾曲霉进行液态发酵, 制备葡萄皮渣复配普洱茶。通过响应面法优化发酵条件^[18], 分析发酵过程中茶褐素的形成、多酚类物质的转化以及其他成分的变化, 系统研究葡萄皮渣粉与普洱茶结合后的品质特征。同时, 采用感官评价和理化分析相结

合的方法^[19], 对葡萄皮渣复配普洱茶的风味、口感和理化成分进行综合评估。本研究将为葡萄皮渣与普洱茶的结合应用提供理论基础, 为开发新型茶饮产品提供技术支持, 进一步拓展茶饮产业的发展方向。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

大叶晒青绿茶, 由普洱澜沧古茶股份有限公司提供; 菌种为从普洱茶固态发酵中分离纯化的塔宾曲霉 CGMCC.10022, 保藏于中国普通微生物菌种保藏管理中心; 酿酒后的红葡萄皮渣速溶粉, 由陕西海益斯生物科技有限公司提供。

BS210S 电子天平, 奥豪斯仪器有限公司; HH-8 数显恒温水浴锅, 国华电器有限公司; ELX808 酶标仪, 美国博腾公司; LABFORS 5 L 发酵罐, 瑞士 Infors HT; Ecotron 组合式全温震荡培养箱, 瑞士 Infors HT; CM-5 分光色差仪, 日本 Konica Minolta 公司; GR85DA 高压灭菌锅, 上海申安医疗器械厂; SZX7 显微镜, 莱特生物检验有限公司; InPro3030 pH 电极, 瑞士梅特勒托利多。

1.2 实验方法

1.2.1 工艺流程

大叶晒青绿茶 + 葡萄皮渣粉 → 热水浸提 → 过滤 → 滤液杀菌
→ 冷却接种 → 发酵 → 产品

1.2.2 操作要点

热水浸提: 称取一定比例葡萄皮渣粉和大叶晒青绿茶, 按一定料液比加入 85 °C 超纯水, 混匀充分搅拌, 85 °C 水浴加热浸提 30 min。

滤液杀菌: 将封瓶后的三角瓶, 置于高压灭菌锅中 80 °C 杀菌 30 min^[8]。

孢子悬浮液制备: 在无菌操作台中吸取一定量的无菌水注入塔宾曲霉培养皿菌落外延表面, 待接种环冷却后, 用其刮取菌落表面的塔宾曲霉孢子。用移液枪将塔宾曲霉孢子悬浮液定量转移到 10 mL 的灭菌离心管中, 并用血球计数板在显微镜下观察塔宾曲霉孢

子悬浮液数目并记录。依据所得的数目，无菌水稀释塔宾曲霉孢子悬浮液到一定浓度^[20]。

发酵：将三角瓶置于组合式全温震荡培养箱，在150 r·min⁻¹、40 ℃条件下进行液态发酵。

1.2.3 单因素实验

1.2.3.1 葡萄皮渣粉添加量

在料液比 1:30 g·mL⁻¹、发酵时间 168 h、孢子接种量 1×10⁷ CFU/mL 的条件下，研究不同葡萄皮渣粉添加量（0.01、0.03、0.05、0.07 g·g⁻¹，葡萄皮渣粉与总投料的质量比）对葡萄皮渣复配普洱茶感官的影响。

1.2.3.2 料液比

采取上述最适宜的葡萄皮渣粉添加量，在发酵时间 168 h、孢子接种量 1×10⁷ CFU/mL 的条件下，研究不同料液比（1:20、1:30、1:40、1:50，g·mL⁻¹）对葡萄皮渣复配普洱茶感官的影响。

1.2.3.3 发酵时间

采取上述最适宜的料液比、葡萄皮渣粉添加量，在孢子接种量 1×10⁷ CFU/mL 的条件下，研究不同发酵时间（96、120、144、168 h）对葡萄皮渣复配普洱茶感官的影响。

1.2.3.4 孢子接种量

采取上述最适宜的发酵时间、料液比和葡萄皮渣粉添加量，研究不同孢子接种量（1×10⁵、1×10⁶、1×10⁷、1×10⁸ CFU/mL）对葡萄皮渣复配普洱茶感官的影响。

1.2.4 响应面试验设计

依据单因素试验结果，利用 Design-Expert 13 软件^[21,22]，选取葡萄皮渣粉添加量（A）、料液比（B）、发酵时间（C）和孢子接种量（D）4 个因素为自变量，以感官评分（Y）为响应值，对葡萄皮渣复配普洱茶进行 4 因素 3 水平的 Box-Behnken 试验设计。响应面因素与水平设计见表 1。

表 1 响应面因素与水平设计

Table 1 Response surface factors and horizontal design				
水平	因素			
	A: 葡萄皮渣粉添加量/(g·g ⁻¹)	B: 料液比(g·mL ⁻¹)	C: 发酵时间/h	D: 孢子接种量/(CFU/mL)
-1	0.01	1:20	120	1×10 ⁵
0	0.03	1:30	144	1×10 ⁶
1	0.05	1:40	168	1×10 ⁷

1.2.5 感官评分标准

发酵结束后将发酵液过滤，滤液 121 ℃，15 min 高压灭菌，冷却后进行感官评分。取 40 mL 茶汤于洁净的陶瓷茶杯中，优选 10 名人员（男女各 5 名）组

成感官评价小组，在光线充足的品鉴室感官评审，参考杨子玺等^[20]和李晓彤等^[21]复配发酵茶的感官评分标准，研究团队自主设计了汤色（30 分）、香气（30 分）和滋味（40 分）三方面评价标准进行打分，以平均值为最终结果。葡萄皮渣复配普洱茶感官评分标准见表 2。

表 2 葡萄皮渣复配普洱茶感官评分标准

Table 2 Sensory scoring criteria for Pu-erh tea blended with grape pomace		
项目	评分标准	感官评分/分
汤色（30 分）	红褐明亮，剔透饱满	21~30
	暗红微黄，光泽透亮	11~20
	橙黄混杂，暗淡无光	0~10
香气（30 分）	陈香馥郁，香气持久	21~30
	清新果香，微甜之感	11~20
	略有怪味，令人不悦	0~10
滋味（40 分）	醇厚适口，回味清甘	26~40
	顺滑细腻，整体柔和	13~25
	入口苦涩，后有甘甜	0~12

1.2.6 葡萄皮渣复配普洱茶理化成分分析

在 Labfors 5 L 发酵罐中，采用上述响应面优化后的最佳条件，在 40 ℃、150 r·min⁻¹、通气量 2 L·min⁻¹ 条件下发酵茶汤 144 h，每隔 12 h 取样测定发酵液理化成分。

菌体生物量（以干重计）采用烘干恒重法^[23]；茶汤色差参数采用色差仪测定；发酵过程中茶汤 pH 用 pH 电极进行实时监测；蛋白质含量用考马斯亮蓝比色法测定^[24]（标准曲线方程为 y=2.342x，R²=0.997，λ=590 nm）；总多酚含量用福林酚比色法测定（GB/T 8313-2018）（标准曲线方程为 y=7.036 9x，R²=0.999 6，λ=765 nm）；总糖含量用苯酚硫酸比色法测定^[25]（y=3.513 6x，R²=0.999 7，λ=490 nm）；茶褐素含量采用萃取比色法测定^[4,26]。

1.3 数据分析

使用 Design-Expert 13 设计响应面实验。所有实验均为三重复，数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，所有数据先进行 Grubbs 检验，以排除过失误差；经 G 检验合格的数据，使用 SPSS 26.0 的邓肯氏法进行显著性分析，并用 Origin 2021 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果分析

由图 1a 可知，葡萄皮渣粉添加量在 0.01~0.07 g·g⁻¹

时, 感官评分呈先上升后降低趋势, 当葡萄皮渣粉添加量为 $0.03 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ 时, 其感官评分显著高于其它组别 ($P < 0.05$), 对茶汤品质具有积极影响, 茶汤中的多酚物质在酶促和湿热作用下可发生氧化、聚合、转化等反应^[27], 增强茶汤的口感, 使口感更丰富多元, 葡萄皮渣粉中的天然风味物质也为茶汤增添果香。由图 1b 可知, 感官评分随料液比增加呈先上升后降低趋势, 当料液比为 $1:30 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 感官评分最高。料液比较高时, 茶汤中儿茶素、单宁和生物碱等成分浓度较高, 导致茶汤口感较强烈, 滋味过于苦涩; 料液比较低时, 茶汤中所含组分浓度较低, 导致葡萄皮渣复配普洱茶的香气不足, 滋味更清淡。由图 1c 可知, 发酵进行到第 144 小时, 感官评分升到峰值, 此时口感醇厚柔和并有明显的陈香。在发酵过程中, 茶汤中的物质逐渐代谢和转化, 改善了茶叶的滋味和口感, 使茶汤更加醇厚、柔和。但发酵时间超过 144 h, 茶汤的味道会变得平淡, 失去原有的醇厚感和层次感, 这可能与茶汤中有机酸含量增加, 氨基酸含量下降等有关^[28]。由图 1d 可知, 当塔宾曲霉孢子接种量为 $1 \times 10^6 \text{ CFU/mL}$ 时, 茶汤感官评分最好, 这是由于过高的孢子接种量可能使得塔宾曲霉增殖过度, 使得茶汤中的苦涩成分被过度分解或转化, 使得茶汤口感变得淡薄, 失去原有的苦涩平衡。根据上述单因素试验结果, 后续响应面设计的葡萄皮渣粉添加量、料液比、发酵时间和孢子接种量的范围分别选择 $0.01 \sim 0.05 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ 、 $1:20 \sim 1:40 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $120 \sim 168 \text{ h}$ 和 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^7 \text{ CFU/mL}$ 。

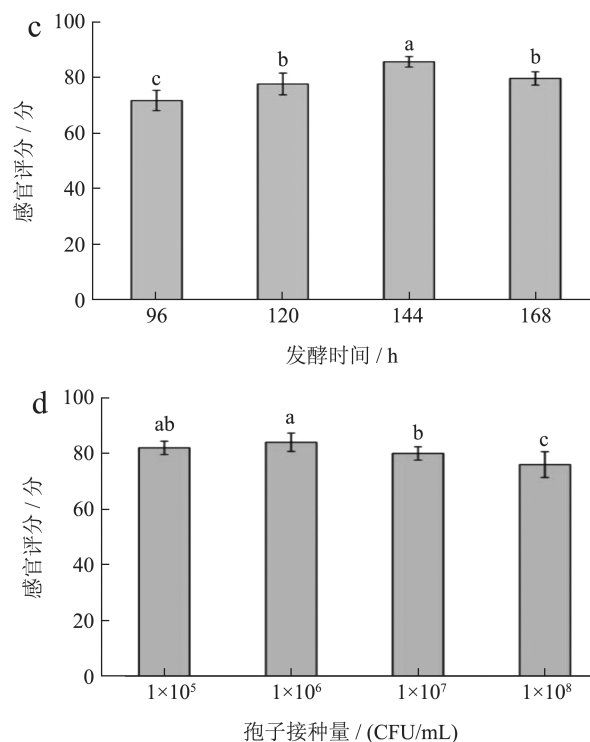
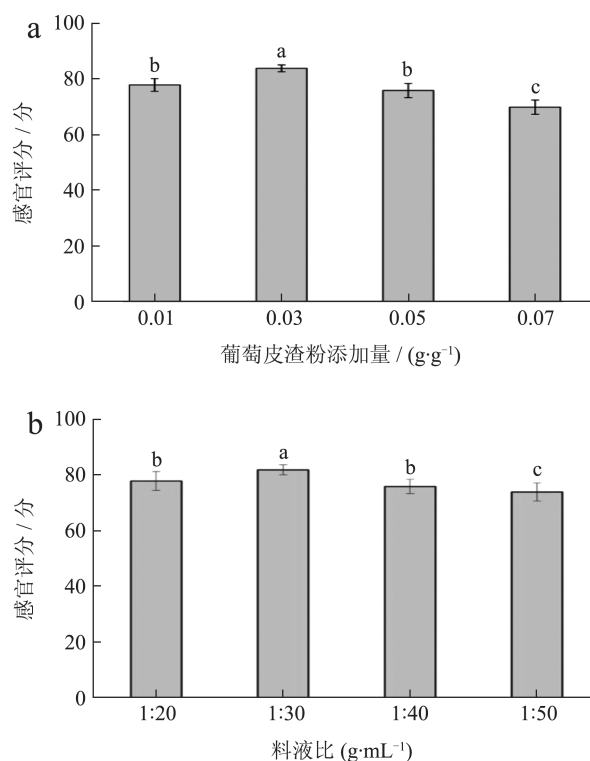


图 1 不同单因素下葡萄皮渣复配普洱茶感官评分

Fig.1 Sensory evaluation scores of Pu-erh tea blended with grape pomace under various single-factor conditions

注: 图中字母不同表示组间差异显著 ($P < 0.05$)。

2.2 响应面试验结果分析

2.2.1 响应面优化结果

根据单因素试验结果, 葡萄皮渣粉添加量、料液比、发酵时间和孢子接种量均对葡萄皮渣复配普洱茶感官产生影响。选择葡萄皮渣粉添加量 (A)、料液比 (B)、发酵时间 (C) 和孢子接种量 (D) 作为自变量, 以感官评分为响应值。在此基础上, 设计 4 因素 3 水平共 27 组试验, 采用 Box-Behnken 响应面优化的方法寻求最优的发酵工艺。响应面优化结果见表 3。

2.2.2 回归方程的建立与方差分析

试验结果通过使用 Design-Expert 13 软件的方差分析 (ANOVA) 程序, 执行二次回归分析, 得到葡萄皮渣复配普洱茶感官评分 (Y) 与影响因素自变量葡萄皮渣粉添加量 (A)、料液比 (B)、发酵时间 (C) 和孢子接种量 (D) 的二次多项回归方程为:

$$Y = 84.30 - 0.0583A + 0.6917B + 0.2417C + 0.3917D + 0.4750AB + 0.4750AC - 0.9250AD + 0.2750BC - 1.13BD - 0.4250CD - 2.57A^2 - 2.55B^2 - 2.22C^2 - 0.8458D^2$$

响应面试验回归模型的方程分析见表 4, 模型的 P 值小于 0.001, 失拟项的 P 值大于 0.05, 模型对数据的拟合合适。B、D、AD、BD、 A^2 、 B^2 、 C^2 和 D^2 均

显现极显著性差异 ($P<0.01$)；C、AB、AC、CD 显著性差异 ($P<0.05$)；A、BC 则无显著性差异。4 个单因素对葡萄皮渣复配普洱茶的感官评分的影响程度从高到低依次为 $B>D>C>A$ ，即料液比>孢子接种量>发酵时间>葡萄皮渣粉添加量。该回归模型系数 R^2 的修正系数为 0.981 5，系数 R^2_{Adj} 的修正系数为 0.960 0，表明模型与实测值拟合较高，能够反应因素与响应值之间的相关性。

表 3 响应面优化葡萄皮渣复配普洱茶感官评分
Table 3 Response surface optimization results of Pu-erh tea
blended with grape pomace

试验号	A	B	C	D	感官评分/分
1	1	-1	0	0	77.7 ± 4.61
2	1	0	0	-1	81.3 ± 1.68
3	0	0	1	-1	81.4 ± 1.56
4	0	0	0	0	84.3 ± 1.79
5	0	0	-1	1	81.8 ± 1.94
6	0	-1	0	1	82.0 ± 2.19
7	-1	0	0	-1	79.3 ± 1.55
8	0	0	1	1	81.1 ± 1.45
9	1	0	-1	0	78.7 ± 3.20
10	-1	0	0	1	82.0 ± 2.79
11	0	-1	0	-1	78.8 ± 1.94
12	0	0	0	0	84.6 ± 1.96
13	0	-1	1	0	78.9 ± 2.70
14	-1	0	1	0	79.8 ± 2.93
15	1	0	1	0	80.4 ± 1.74
16	0	1	0	-1	82.5 ± 2.87
17	-1	-1	0	0	78.8 ± 3.12
18	1	1	0	0	80.4 ± 2.29
19	1	0	0	1	80.3 ± 2.61
20	0	1	1	0	80.4 ± 2.42
21	0	0	-1	-1	80.4 ± 3.85
22	0	-1	-1	0	78.9 ± 3.62
23	0	0	0	0	84.0 ± 1.90
24	0	1	0	1	81.2 ± 2.14
25	0	1	-1	0	79.3 ± 2.90
26	-1	1	0	0	79.6 ± 3.20
27	-1	0	-1	0	80.0 ± 2.76

表 4 响应面试验回归模型的方程分析
Table 4 Equation analysis of regression model of response
surface test

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	80.25	14	5.73	45.56	<0.000 1	显著
A	0.040 8	1	0.040 8	0.324 5	0.579 4	
B	5.74	1	5.74	45.62	<0.000 1	**
C	0.700 8	1	0.700 8	5.57	0.036 1	*
D	1.84	1	1.84	14.63	0.002 4	**
AB	0.902 5	1	0.902 5	7.17	0.020 1	*
AC	0.902 5	1	0.902 5	7.17	0.020 1	*
AD	3.42	1	3.42	27.20	0.000 2	**
BC	0.302 5	1	0.302 5	2.40	0.147 0	
BD	5.06	1	5.06	40.23	<0.000 1	**
CD	0.722 5	1	0.722 5	5.74	0.033 8	*
A ²	35.25	1	35.25	280.12	<0.000 1	**
B ²	34.75	1	34.57	274.70	<0.000 1	**
C ²	26.30	1	26.30	209.04	<0.000 1	**
D ²	3.82	1	3.82	30.32	0.000 1	**
残差	1.51	12	0.125 8			
失拟项	1.33	10	0.133 0	1.48	0.469 9	不显著
纯误差	0.180 0	2	0.090 0			
总和	81.76	26				

注：* 表示显著性差异， $P<0.05$ ；** 表示极显著性差异， $P<0.01$ 。

2.2.3 响应面交互作用分析

由图 2 可知，葡萄皮渣粉添加量 (A)、料液比 (B)、发酵时间 (C) 和孢子接种量 (D) 之间的相互作用，均对葡萄皮渣复配普洱茶感官评分产生影响，但对感官评分的影响力并不相同。AD 和 BD 的等高线呈现椭圆形，说明 AD (葡萄皮渣粉添加量和孢子接种量) 和 BD (料液比和孢子接种量) 之间的交互作用对葡萄皮渣复配普洱茶感官有显著影响。其中，BD (料液比和孢子接种量) 之间的交互作用对感官评分影响最大。AB、AC 和 CD 的等高线近似椭圆形，响应面曲面坡度陡峭，随着自变量因素增多逐渐上升后逐渐下降，说明感官评分存在极大值。

2.2.4 响应面实验最优条件的验证

通过 Design-Expert 13 软件分析，预测得到最优发酵工艺条件为：葡萄皮渣粉添加量为 $0.03\text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$ ，料液比为 $1:30(\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$ ，发酵时间为 144 h，孢子接种量

为 1×10^6 CFU/mL, 预测感官评分为 84.37 分。按照上述最优发酵工艺条件, 进行三重复试验, 得到实测感官评分为 84.05 分。实测值与预测值之间的误差较小, 仅为 0.38%, 说明该模型具有可靠性。

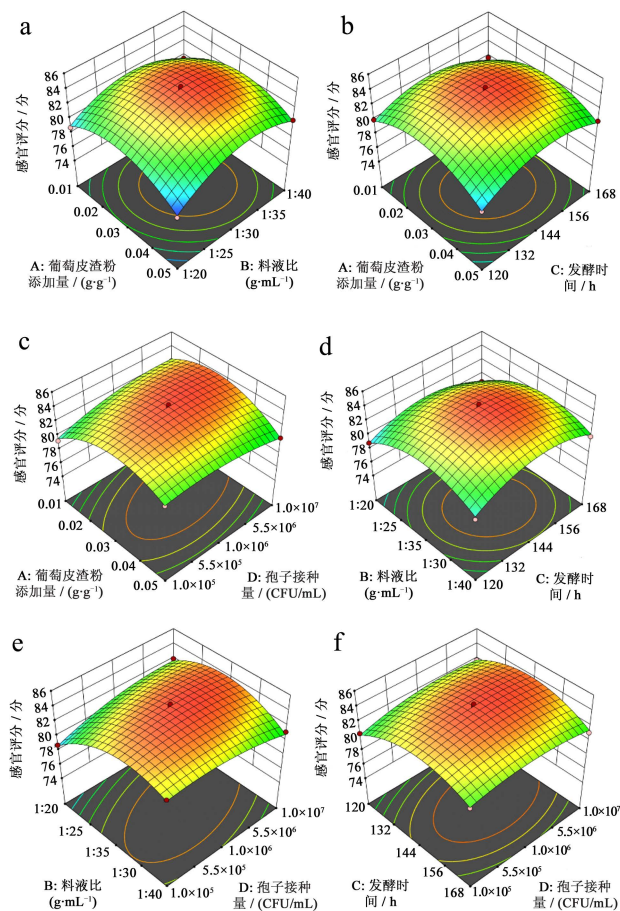


图 2 各因素交互作用对茶汤感官评价的影响

Fig.2 The impact of interactive effects of various factors on the sensory evaluation of tea soup

值得一提的是, 本研究是将发酵液过滤, 滤液 $121\text{ }^{\circ}\text{C}$, 15 min 高压灭菌, 冷却后进行感官评分。而高温灭菌可能会对茶汤的感官品质和活性成分产生一定的负面影响, 导致感官评分值偏低。陈明明等^[29]探究了桑葚红茶饮料的制作工艺, 发现产品灭菌温度为 $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时, 口感优于灭菌温度为 $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $115\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的产品。陈玉琼等^[30]研究了灭菌对灌装绿茶水品质的影响, 研究结果表明, 经 $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 高温灭菌后, 茶汤中茶多酚和氨基酸含量下降, 咖啡碱含量相对稳定。孙其富^[31]对绿茶茶汤进行了不同温度灭菌处理, 研究表明随着灭菌温度增加, 茶汤总多酚含量显著下降, $126\text{ }^{\circ}\text{C}$ 灭菌后, 茶汤中多酚损失率达到 2.68%。为有效提升产品的感官品质并维持茶多酚、氨基酸等活性物质的稳定性, 在后续研究中可采用微滤等冷杀菌技术对成品进行灭菌处理。

2.3 发酵过程中理化成分分析

在 5 L 发酵罐中, 采用上述最优发酵工艺, 在 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $150\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、通气量 $2\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ 条件下发酵 144 h, 研究发酵过程中理化成分的动态变化。

2.3.1 发酵过程中菌体生物量和 pH 值变化

由图 3 可知, 菌体生物量呈现先上升后趋于平稳的趋势。在发酵前期, 茶汤提供了丰富的营养物质 (糖分、氨基酸等), 塔宾曲霉能够迅速生长和繁殖, 呈对数生长, 并于 60 h 时菌体生物量达到最高。发酵 60 h 后, 茶汤营养物质逐渐减少, 塔宾曲霉的生长速度逐渐减缓, 菌体生物量相对稳定。

发酵液初始 pH 值为 4.66, 在发酵前期 (0~12 h) 保持较稳定, 平均 pH 值为 4.67; 随着发酵进行 (12~42 h), pH 值逐渐下降, 在 42 h 时达到最低 pH 值 3.86; 42~64 h 发酵液 pH 值维持在 3.88~3.98 之间, 平均 pH 值为 3.91。这是由于发酵前期塔宾曲霉的生长处于对数生长期, 通过代谢茶汤中的碳源氮源, 产生了一系列有机酸^[32], 使发酵液 pH 值逐渐降低。随着发酵时间的进一步延长 (64~136 h), pH 值逐步上升, 在 136 h 时达到最高 pH 值 6.14, 此期间微生物生长处于稳定期。

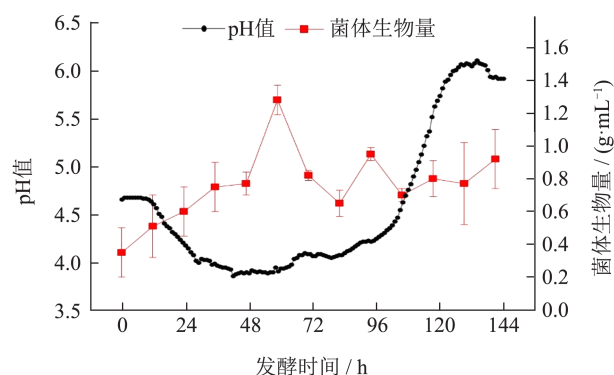


图 3 发酵过程中菌体生物量和 pH 值变化

Fig.3 Change of microbial biomass and pH during fermentation

2.3.2 发酵过程中总糖和蛋白质含量变化

由图 4 可知, 总糖含量整体呈下降趋势, 总糖含量在发酵前 48 h 由 $1.78\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 下降至 $0.93\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 降低了 47.75%, 这是由于塔宾曲霉利用茶汤中的糖类物质作为碳源进行生长繁殖。

蛋白质含量总体呈上升趋势, 在发酵 12~36 h 发生了一定程度下降 (下降至 $0.06\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), 这可能与塔宾曲霉利用茶汤中的蛋白质作为氮源, 进行生长繁殖有关。在 36 h 后, 塔宾曲霉增殖到一定数量 (图 3) 并开始分泌胞外酶, 使蛋白质含量上升, 最终含量为 $0.10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

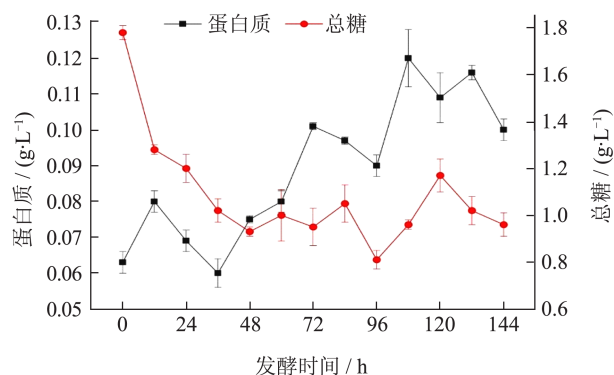


图4 发酵过程中总糖和蛋白质含量变化

Fig.4 Change of total carbohydrate and protein during fermentation

2.3.3 发酵过程中总多酚和茶褐素含量变化

发酵过程中茶多酚和茶褐素含量变化如图5所示, 茶多酚含量在发酵初期含量迅速下降, 经过24 h由 $6.10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 下降至 $3.54 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 后续下降速度减缓, 经过144 h发酵后, 茶多酚含量最终下降至 $2.76 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 共降低了54.75%。在发酵前中期(0~108 h), 茶褐素含量变化不明显, 保持在 $2.38 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ (108 h)以下。从108 h以后, 茶褐素含量呈现出明显的上升趋势, 发酵144 h时上升至 $5.40 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 是发酵初始的2.86倍。茶褐素的合成是普洱茶发酵过程中的关键生化反应^[4,33], 塔宾曲霉液态发酵法有效促进了茶多酚向茶褐素的转化。

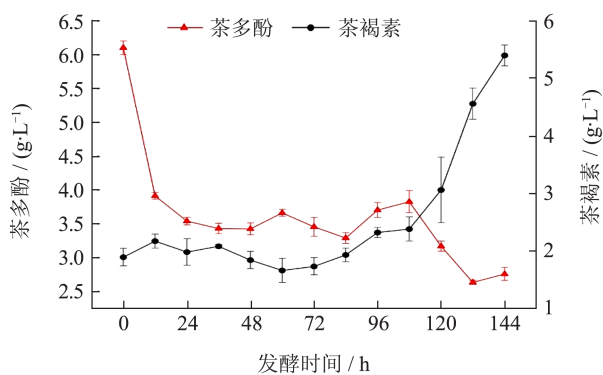


图5 发酵过程中茶多酚和茶褐素含量变化

Fig.5 Change of tea polyphenols and theabrownin during fermentation

2.3.4 发酵过程中色差和茶汤颜色变化

发酵过程中色差和茶汤颜色变化见图6, 茶汤 a^* 和 b^* 值呈上升趋势, 发酵初始 a^* 和 b^* 值分别为10.06和67.67, 发酵结束时 a^* 和 b^* 值分别上升至42.77和91.73, 表明茶汤颜色从浅黄向红褐转变; 亮度 L^* 值整体呈下降趋势, 从初始的72.73下降至发酵结束时的53.61, 表明茶汤亮度降低, 颜色变深。这与发酵过程中多酚氧化有关^[34], 图5也表明了发酵过程

中茶多酚含量降低, 茶褐素含量升高。

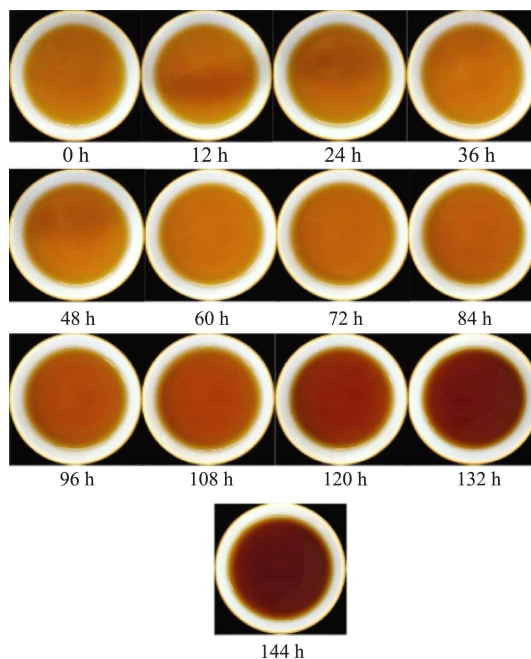
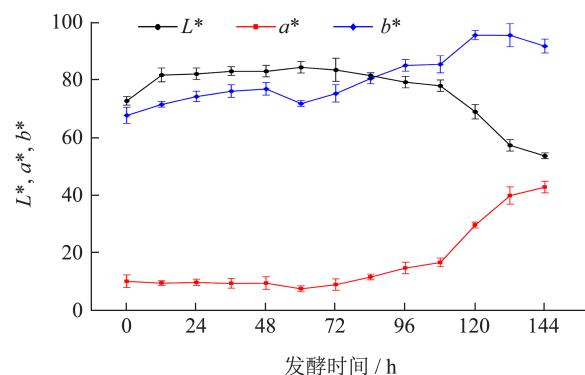


图6 发酵过程中色差和茶汤颜色变化

Fig.6 Change of color difference and tea infusion color during fermentation

3 结论

该研究采用塔宾曲霉液态发酵技术制备葡萄皮渣复配普洱茶, 通过单因素试验和响应面法优化了发酵工艺条件, 在葡萄皮渣粉添加量 $0.03 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$, 料液比1:30 ($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), 发酵时间144 h, 孢子接种量 $1 \times 10^6 \text{ CFU/mL}$ 的条件下, 茶汤感官评价最优。经此条件发酵144 h后, 茶汤pH值升高, 茶褐素和蛋白质含量分别增加了1.86和0.67倍, 茶多酚和总糖含量分别下降了54.75%和46.07%, 茶汤颜色变深变红。该研究为塔宾曲霉液态发酵高效制备葡萄皮渣复配普洱茶提供了理论基础, 也为开发新型茶饮产品提供了技术支持。

参考文献

- [1] 周红杰, 郭红芳, 曾燕妮, 等. 陈香普洱茶品质特点分析[J]. 茶叶,

- 2001,3:31-34.
- [2] 冉苒,蒋洁琳,潘淑康,等.液态发酵茶饮研究进展[J].中国茶叶加工,2023,1:31-35.
- [3] 吴恩凯,王秋萍,龚加顺,等.发酵方法对普洱茶茶褐素样品组成的影响[J].食品科学,2019,40(4):215-221.
- [4] 白健,龚加顺,艾桃屹,等.茶树修剪老叶成分分析及利用塔宾曲霉制备茶褐素的条件优化[J].中国食品学报,2023,23(7):250-258.
- [5] 陈亭亭,王永勇,黄逢阳,等.茶褐素的制备理化表征及功效研究进展[J].食品研究与开发,2023,44(11):217-224.
- [6] LONG P, LI Y, HAN Z, et al. Discovery of color compounds: Integrated multispectral omics on exploring critical colorant compounds of black tea infusion [J]. Food Chemistry, 2024, 432: 137185.
- [7] 李桃,杜丽平,肖冬光,等.普洱茶与液态发酵普洱茶粉中茶褐素的比较研究[J].现代食品科技,2014,30(11):93-97.
- [8] WANG Q P, GONG J S, CHISTI Y, et al. Fungal isolates from a Pu-erh type tea fermentation and their ability to convert tea polyphenols to theabrownins [J]. Journal of Food Science, 2015, 80(4): M809-M817.
- [9] WANG Q P, ŠARKANJ B, JURASOVIC J, et al. Evaluation of microbial toxins, trace elements and sensory properties of a high-theabrownins instant Pu-erh tea produced using *Aspergillus tubingensis* via submerged fermentation [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2019, 54(5): 1541-1549.
- [10] WANG Q P, BELŠČAK-CVITANOVIĆ A, DURGO K, et al. Physicochemical properties and biological activities of a high-theabrownins instant Pu-erh tea produced using *Aspergillus tubingensis* [J]. LWT, 2018, 90: 598-605.
- [11] ZOU C, XU Y Q, CHEN J X, et al. Fermentation process optimization and chemical composition analysis on black tea wine [J]. E3S Web of Conferences, 2021, 233:02052.
- [12] 刘琨毅,罗慧,安江珊,等.米香型乌龙茶酒生产工艺优化[J].食品与发酵工业,2021,47(23):334-340.
- [13] JOSHI V K, KUMAR V. Influence of different sugar sources, nitrogen sources and inocula on the quality characteristics of apple tea wine [J]. Journal of the Institute of Brewing, 2017,123(2):268-276.
- [14] 聂小伟,何粉霞,毕可海,等.酿酒葡萄皮渣多酚开发利用现状研究[J].农产品加工,2020,2:74-75,78.
- [15] ANTONIA L, JAIME C. Dietary fiber content and antioxidant activity of Manto Negro red grape (*Vitis vinifera*): pomace and stem [J]. Food Chemistry, 2007, 101: 659-666.
- [16] 王虹玲,吴优,于子箫,等.酿酒葡萄皮渣中白藜芦醇的提取及抗氧化抗肿瘤活性研究[J].中国酿造,2018,37(7):112-116.
- [17] 王璐璐,孙云开,王清明,等.葡萄多功能开发利用研究综述[J].现代农业科技,2022,4:199-202.
- [18] 聂增宇,胡文林,尚学平,等.响应面法优化红曲菌液态发酵产莫纳可林K工艺[J].食品与发酵科技,2022,58(6):72-76,82.
- [19] 周心如,范苏行,张田芳,等.晒青毛茶与普洱熟茶茶汤中的滋味物质比较[J].中国茶叶加工,2023,2:56-61.
- [20] 杨子玺,朱圆敏,谢燕霞,等.HS-SPME-GC-MS结合化学计量学分析曲霉液态发酵对晒青毛茶汤挥发性成分的影响[J].现代食品科技,2025,41(2):292-308.
- [21] 李晓彤,贾有青,童一江,等.黄桃乌龙复合发酵茶饮料的研制与开发[J].粮食与食品工业,2019,26(2):41-46,49.
- [22] RIGOU P, MEKOUÉ J, SIECZKOWSKI N, et al. Impact of industrial yeast derivative products on the modification of wine aroma compounds and sensorial profile: A review [J]. Food Chemistry, 2021, 358: 129760.
- [23] 赖长龙,曹余,杨玉,等.植物乳杆菌发酵动力学及高密度培养研究[J].食品与发酵工业,2022,48(20):137-144.
- [24] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein -dye binding [J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72(1): 248-254.
- [25] 汪江.茶树菇多糖和多酚降血糖功效评价和相关产品开发[D].南昌:南昌大学,2023.
- [26] ROBERTS E, SMITH R. The phenolic substances of manufactured tea. IX-the spectrophotometric evaluation of tea liquors [J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 1963, 14(10): 689-700.
- [27] MA Y, JIANG B, LIU KY, et al. Multi-omics analysis of the metabolism of phenolic compounds in tea leaves by *Aspergillus tuchuensis* during fermentation of Pu-erh tea [J]. Food Research International, 2022, 162: 111981.
- [28] DONG H, LI Y, LAI X, et al. Effects of fermentation duration on the flavour quality of large leaf black tea based on metabolomics [J]. Food Chemistry, 2024, 444: 138680.
- [29] 陈明明,葛丹丹,马泉来,等.桑葚红茶饮料制作工艺的研究[J].保鲜与加工,2012,12(5):28-30,34.
- [30] 陈玉琼,张家年.灭菌对罐装绿茶水品质的影响[J].食品科学,2001,11:40-43.
- [31] 孙其富.绿茶饮料挥发性化合物保持和相关工艺参数研究[D].杭州:浙江大学,2004.
- [32] 杨子玺,朱圆敏,谢燕霞,等.基于pH高效定量判断普洱茶发酵程度的研究[J].食品安全质量检测学报,2023,14(1):74-80.
- [33] WANG Q P, GONG J S, CHISTI Y, et al. Production of theabrownins using a crude fungal enzyme concentrate [J]. Journal of Biotechnology, 2016, 231: 250-259.
- [34] CHEN Z, JIANG Y, YE Z, et al. Innovative manufacturing process to enhance the taste and color of Ancha tea: A comprehensive analysis using sensory evaluation, chemometrics, and metabolomics [J]. Food Bioscience, 2025, 66: 106208.