

花香绿茶饮料的生化成分变化及物性特征

马梦君¹, 常睿¹, 罗理勇^{1,2}, 曾亮^{1,2,*}

(1.西南大学食品科学学院, 重庆 400715; 2.西南大学茶叶研究所, 重庆 400715)

摘要: 研究以花香绿茶为原料的茶饮料在高温灭菌前后及分别在37℃和4℃条件下贮藏7 d后, 茶汤色差、透光率、粒径、沉淀量和沉淀微观结构以及茶多酚、氨基酸、蛋白质、黄酮、水溶性总糖、咖啡碱和儿茶素组分常规化学成分含量的变化规律。结果表明: 1) 4℃贮藏在一定程度上可有效缓解茶饮料色泽的劣变和保持较好的澄清度, 37℃贮藏则加速汤色黄化和浑浊; 2) 不同的贮藏方式对生化成分含量的影响差异显著, 4℃贮藏能够保持较高的生化成分含量, 37℃贮藏易使品质风味显著劣变, 生化成分含量显著减少; 3) 4℃贮藏生成的沉淀量要比37℃贮藏少, 4℃贮藏生成的沉淀由许多小分子颗粒聚集而成, 而37℃贮藏生成的沉淀则是由大块的分子团聚集而成。

关键词: 花香绿茶; 生化成分; 物性特征; 沉淀

Changes in Biochemical Components and Physical Characteristics of Fragrant Green Tea Infusion during Sterilization and Storage

MA Mengjun¹, CHANG Rui¹, LUO Liyong^{1,2}, ZENG Liang^{1,2,*}

(1. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China;

2. Tea Research Institute, Southwest University, Chongqing 400715, China)

Abstract: Fragrant green tea infusion was prepared and studied for changes in color, light transmittance, particle size and the amount and morphology of tea cream as well as the contents of polyphenols, amino acids, protein, flavonoids, total sugar, caffeine and catechin components before and after sterilization with high temperature as well as during subsequent storage at 37 or 4℃ for 7 d. The results showed that: 1) storage at 4℃ could effectively alleviate the color deterioration and turbidity of the tea infusion to a certain extent while storage at 37℃ could accelerate its etiolation and turbidity; 2) different storage temperatures had significant impact on the biochemical components, which could be maintained at higher levels at 4℃ whereas the flavor could be deteriorated at 37℃; and 3) lower amounts of tea cream was formed at 4℃ from the small molecular particles than at 37℃ from the large molecular clusters.

Key words: fragrant green tea; biochemical composition; physical characteristics; tea cream

中图分类号: TS272

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2015)06-0109-05

doi:10.7506/spkx1002-6630-201506020

近20 a来, 茶饮料产品在国际市场上获得快速增长, 特别是日本和中国台湾地区的茶饮料已成为饮料市场的主角^[1]。茶饮料以其天然、营养、保健的特点备受世人青睐, 成为最受欢迎的饮品之一。茶饮料含有丰富的茶多酚, 其不仅是一种新型的天然抗氧化剂, 还具有明显的抗衰老、清除自由基、去脂减肥、降低血糖血脂和胆固醇、预防心血管疾病、抑制肿瘤细胞等生理功能^[2-5]。

2011年中国茶饮料总产量超过1 400万 t, 产值超过500亿元^[6], 成为国际上最大的茶饮料生产地区, 其中绿茶饮料在中国茶饮料中所占的份额最大。然而饮料在加

工及储藏过程中, 存在色泽稳定性的保持、澄清或浑浊度稳定性的保持、营养和功能成分的损耗三大技术难题^[7], 如何保证茶饮料的稳定性、保留丰富的营养和功能成分及延长茶饮料的货架期已成为一个突出的问题。

冷后浑(又称茶乳酪)是指茶汤在冷却后形成的浑浊现象。Roberts^[8-9]于1962年率先开展红茶茶乳酪方面的研究, 研究表明茶黄素、茶红素及咖啡碱是红茶茶汤沉淀的主要化学成分。梁月荣等^[10]率先开展了绿茶沉淀的相关研究, 认为在没有茶黄素和茶红素存在的情况下绿茶茶汤也会产生沉淀, 之后研究^[11]认为咖啡碱、没食子

收稿日期: 2014-06-15

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(31100500); 重庆市科学技术委员会自然科学基金计划资助项目(cstc2013jcyjA80021); 中央高校基本科研业务费专项(XDJK2013B036)

作者简介: 马梦君(1990—), 女, 硕士研究生, 研究方向为茶饮料研究开发。E-mail: 164021307@qq.com

*通信作者: 曾亮(1980—), 女, 副教授, 博士, 研究方向为茶资源综合利用。E-mail: zengliangbaby@126.com

儿茶素 (gallocatechin, GC) 和表没食子儿茶素没食子酸酯 (epigallocatechingallate, EGCG) 是组成绿茶冷后浑最主要的化学成分。许勇泉等^[12]在研究绿茶冷后浑特性时, 通过逐步回归分析发现, 咖啡碱与酯型儿茶素是绿茶茶乳酪形成的关键化学成分。

花香型绿茶是近年来开发出来的另一款极具特色的茶叶产品, 但目前对花香绿茶饮料的品质状态以及制成茶饮料后品质风味的转变规律尚无研究。本实验以花香型绿茶为原料, 系统地研究了将其制成饮料后在不同贮藏条件下感官状态、物化性质及理化成分的变化规律, 获知冷后浑的发生与茶汤中各生化成分的关系, 以期对花香绿茶饮料的制作改进提供理论依据, 并根据实验结果和前期研究技术, 提出可行的品质改进方式。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

表没食子儿茶素 ((-)-epigallocatechin, EGC)、儿茶素 (catechin, C)、EGCG、表儿茶素 (L-epicatechin, EC)、没食子儿茶素没食子酸酯 ((-)-gallocatechingallate, GCG)、表儿茶素没食子酸酯 ((-)-epicatechingallate, ECG)、咖啡碱标准品 成都普瑞法科技开发有限公司; 甲醇、冰乙酸 (均为色谱纯) 重庆滴水实验仪器有限公司; 超纯水 美国 Millipore 公司。

1.2 仪器与设备

LC-20 高效液相色谱、UV-2450 紫外-可见分光光度计 日本岛津公司; PWC124 分析天平 上海京工实业有限公司; TOMY ES-315 高压灭菌锅 上海艾高德生物科技有限公司; ZEN3690 Zeta 电位分析仪 英国 Malvern 公司; 5810 台式高速离心机 德国 Eppendorf 公司; ALPHA1-4LSC 真空冷冻干燥机 德国 Christ 公司; JSM-6510LV 扫描电子显微镜 日本电子公司。

1.3 方法

1.3.1 茶饮料制备

花香绿茶自制: 鲜叶→晒青→摊放→杀青→揉捻→干燥^[13]。

茶饮料制备工艺: 茶叶→浸提 (茶水比 1:50 (g/mL), 温度 70 °C, 时间 10 min)→粗滤 (双层滤布, 300 目)→冷却 (用水冷却至室温)→精滤 (10 °C、4 000 r/min 离心 15 min)→分析茶汤理化成分→灭菌 (100 °C, 10 min)→分析茶汤理化成分→灌装, 密封。

贮藏: 4 °C 冰箱及 37 °C 恒温箱→7 d 后取出→离心分离沉淀 (50 mL 离心管中保留 30 mL, 8 000 r/min, 4 °C, 离心 30 min)→上清液 (分析茶汤理化成分), 底

部沉淀 (茶汤总沉淀)。以上每个处理制备的 6 支离心管茶汤样品, 其中 3 支离心管茶汤样品离心后用于分析上清液茶汤理化成分和总沉淀量, 3 支离心管茶汤样品用于分析色差、透光率和粒径。

1.3.2 物理性状测定

色差测定: 室温条件下, 用 UltraScan PRO 测色仪测定每个样品颜色的 L^* 、 a^* 、 b^* 值。其中 L^* 代表明度; a^* 代表红绿色程度, 正值表示红色程度, 负值表示绿色程度; b^* 代表黄蓝色度, 正值表示黄色程度, 负值表示蓝色程度。

透光率测定: 在 640 nm 波长条件下, 用紫外-可见分光光度计测定透光率, 超纯水做空白^[14-15]。

粒径测定: 室温条件下, 采用 Zeta 电位仪检测不同质量浓度溶液的粒径。

沉淀量测定: 室温条件下, 采用高速离心机离心茶饮料, 弃掉上清液, 冷冻干燥沉淀称其质量^[15]。

微观结构测定: 取冷冻干燥后的沉淀粉末, 用双面胶固定于金属台上, 置于扫描电子显微镜内, 抽真空, 并于 10.0 kV 的电场进行扫描, 观察沉淀颗粒的微观结构^[16]。

1.3.3 茶汤与上清液中理化成分分析

1.3.3.1 茶多酚、黄酮化合物和水溶性总糖含量测定

茶多酚含量测定采用酒石酸亚铁比色法^[17]; 黄酮化合物总量测定采用三氯化铝比色法^[18]; 水溶性总糖含量采用蒽酮比色法^[18]。

1.3.3.2 茶汤游离氨基酸和蛋白质含量测定

氨基酸含量测定采用茚三酮比色法^[19]; 蛋白质含量测定采用凯氏定氮法^[20]。

1.3.3.3 咖啡碱和儿茶素单体含量测定

样品用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 滤液采用高效液相色谱检测。

色谱柱: Hypersil BDS C_{18} 柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 流速: 0.9 mL/min; 检测波长: 278 nm; 柱温: 35 °C; 进样量: 10 μL ; 流动相: A: 2% 冰乙酸, B: 纯甲醇, 儿茶素采用梯度洗脱, 梯度见表 1。

表 1 儿茶素各组分检测梯度洗脱表
Table 1 Linear gradient elution for catechins components

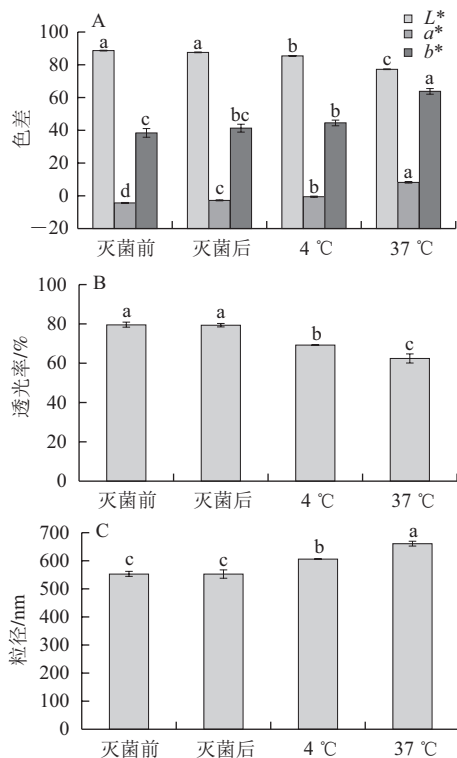
时间/min	A 体积分数/%	B 体积分数/%	持续时间/min
0.01	82	18	25
25.00	75	25	5
30.00	65	35	2
32.00	85	15	5
37.00	停止		

1.4 数据处理

数据均为 $\bar{x} \pm s$, 方差分析采用 SPSS 19.0 软件进行运算, 处理间平均数的比较用最小显著差数法。

2 结果与分析

2.1 花香绿茶饮料色差及澄清度变化分析



柱形上小写字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。下同。

图1 不同贮藏条件下溶液色差 (A)、透光率 (B)、粒径 (C) 的变化
Fig.1 Changes in color (A), light transmittance (B) and particle size (C) of tea infusion under different conditions

从图1A可以看出,花香绿茶饮料经高温灭菌后,色差 a^* 值显著上升,色差 b^* 值显著上升,色差 L^* 值略有下降,但没有达到显著水平;经37 °C贮藏7 d后,色差 a^* 值和 b^* 值都有显著上升,色差 L^* 值显著下降;4 °C贮藏和37 °C贮藏7 d后的色差 L^* 、 a^* 值变化趋势一致,其中37 °C贮藏的变化更显著,一方面原因可能是高温和潮湿条件下,酚类化学性质相当活泼,很易氧化成为邻醌,而邻醌有非常强烈的亲电子基团,极易与亲核基团进行许多不同的反应,容易自动氧化成各种有色物质^[21];也可能是高温对叶绿素等呈色物质破坏性较强的缘故^[22]。陆建良等^[23]研究表明,绿茶感官汤色评分和总分与色度 a^* 、 b^* 值均呈极显著负相关,即茶汤 a^* 值和 b^* 值越小,绿色程度越深,黄色程度越浅,其感官评分越高;同时汤色评分、总分与明度 L^* 值呈显著或极显著正相关,即绿茶明度越高,其感官评分也高。可见,为保持茶饮料良好的感官效果,4 °C贮藏较37 °C贮藏好。

茶饮料汤色澄清度从透光率和粒径两方面进行分析。从图1B、C可以看出,茶汤经过高温灭菌处理后短

时间内,透光率和粒径没有显著性变化;经37 °C贮藏7 d后,透光率显著降低,降低率达到了21%,粒径显著增大,增大了20%;经4 °C贮藏7 d后,透光率和粒径的变化趋势与37 °C贮藏变化趋势一致,但透光率和粒径分别仅降低了13%和增加了10%。可见从透光率和粒径来看,低温更适合贮藏茶饮料。

2.2 花香绿茶饮料常规化学成分含量变化分析

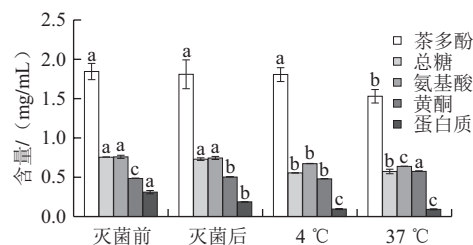


图2 不同贮藏条件下溶液生化成分含量的变化

Fig.2 Changes in contents of biochemical compositions of tea infusion under different conditions

生化成分是茶汤特异性感官风味以及功能特性的物质基础,其保留与转化对茶饮料品质稳定至关重要。从图2可以看出,花香绿茶饮料经高温灭菌后,蛋白质含量显著下降,黄酮含量显著上升,而茶多酚、氨基酸和总糖含量变化不显著。4 °C贮藏7 d后,茶多酚和黄酮化合物含量则没有明显变化;氨基酸、蛋白质和水溶性总糖含量显著减少,变化幅度明显比37 °C贮藏7 d小。

花香绿茶饮料经37 °C贮藏7 d后,茶多酚含量显著下降,可能是多酚类物质之间或是与其他物质发生积聚或转化反应,这与茶多酚是茶汤沉淀形成主要物质的研究结论以及茶汤透光率降低、粒径增大相对应;水溶性总糖、蛋白质及氨基酸含量也显著下降;黄酮化合物含量显著上升,这与许勇泉等^[24]的研究类似,可能与儿茶素等多酚类物质的氧化转变有关,有待进一步明确。

2.3 花香绿茶饮料儿茶素组分和咖啡碱含量变化分析

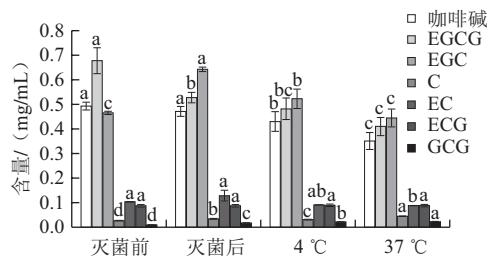


图3 不同贮藏条件下溶液儿茶素和咖啡碱含量的变化

Fig.3 Changes in contents of catechins and caffeine in tea infusion under different conditions

咖啡碱在灭菌处理过程中稍有下降但变化不太明显(图3),说明咖啡碱比较稳定,高温灭菌处理过程对其影响相对较小。随着贮藏时间的延长,饮料中咖啡碱

含量呈现逐渐稳步降低趋势,说明咖啡碱是茶汤茶乳酪物质的组成成分之一,这一结论也在本课题组已建立的茶多酚-咖啡碱互作模型对茶乳酪的影响实验中得到了证实。咖啡碱的变化趋势与透光率的变化相似,这也间接证明了咖啡碱在贮藏过程中参与了茶汤沉淀的形成;并且37℃贮藏比4℃贮藏降低得更明显。岳鹏翔^[25]在研究咖啡碱对速溶茶浊度的影响时发现,咖啡碱含量与茶汤浊度呈显著正相关,降低茶叶中咖啡碱的含量可以显著降低茶汤中产生浑浊的几率,但完全去除咖啡碱也不能彻底解决茶汤冷后浑问题。由于咖啡碱在茶汤中是苦涩味的主要构成成分之一,并且其含量对于茶汤澄清度会产生影响,由此选择咖啡碱含量较低的原料对于获得优良的饮料风味及品质具有一定作用。

儿茶素是茶叶中的重要特征性成分,约占绿茶干质量的8%~15%,其中最主要包括EGC、ECG、EGCG、EC、C、GCG,且儿茶素含量及其组分比例对茶叶感官品质有显著影响。Wang等^[26]研究表明,绿茶饮料灭菌和贮藏过程中的感官品质变化主要是由EGCG和EGC含量变化引起的。从图3可以看出,EGCG含量在实验过程显著减少;与此相反,GCG含量在实验过程中一直增加。ECG、EGC、EC、C等组分含量在整个过程中变化不明显。儿茶素组分及咖啡碱含量大幅度减少,特别是EGCG含量的大量减少,是绿茶沉淀大量产生的主要原因。

2.4 花香绿茶饮料茶乳酪分析

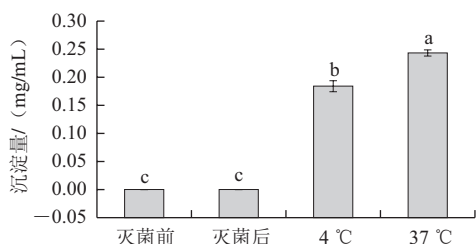


图4 不同贮藏条件下沉淀量的变化

Fig.4 Changes in content of tea cream in tea infusion under different conditions

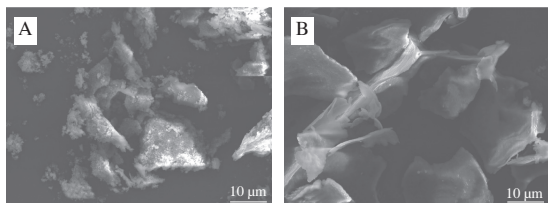


图5 4℃(A)和37℃(B)茶汤沉淀的扫描电镜图

Fig.5 Scanning electron microscope of tea cream after storage at 4℃(A) and 37℃(B)

花香绿茶制成茶饮料在4℃贮藏7 d后,沉淀量为0.184 mg/mL,而在37℃贮藏7 d后,沉淀量为

0.243 mg/mL;37℃贮藏7 d产生的沉淀要比4℃贮藏多0.059 mg/mL,增加比率为32%(图4)。冷后浑是经沉积产生的可逆沉淀,结合已有研究^[10-12]结果,可知茶多酚、水溶性总糖、蛋白质、氨基酸和咖啡碱等化学成分易参与绿茶沉淀的形成。

从沉淀物的扫描电镜图来看,茶汤中的沉淀物呈松散的碎片状聚集,规整性不强(图5),是由沉淀中多种分子或分子团聚集而成的不同形状颗粒,体现了绿茶沉淀物的无定形微观结构。4℃贮藏7 d后的茶乳酪扫描电镜图(图5A)与37℃贮藏7 d后(图5B)的差异显著;4℃贮藏7 d后的茶乳酪由许多小分子颗粒聚集而成,而37℃贮藏7 d后的茶乳酪则是由大块的分子团聚集而成,这可能是温度不同导致。

3 讨论

目前茶类饮料制备生产中主要存在香低、色变和沉淀三大关键问题评价。制备茶饮料的原料茶关键指标在于将其制成茶饮料后,汤色和澄清度能长时间保持,尽量避免茶乳酪的产生;并能保持较好的香气。此外,化学成分是茶汤特异性感官风味以及功能特性的物质基础,其保留与转化对茶饮料品质稳定也是至关重要的。花香绿茶与一般绿茶的差异表现为,与烘青绿茶相比,花香绿茶多酚类含量高0.93%、儿茶素含量高7.89%、氨基酸总量高4.82%、叶绿素总量高14.72%、水溶性总糖含量高4.94%、茶黄素含量高3.03%、茶红素含量低0.96%、茶褐素含量低3.22%^[13];且袁海波等^[1]研究了纯正和高火两种比较常见香型的茶饮料适制性,高火香型茶饮料宜在短期内饮用,纯正香型茶饮料则可使用低温方式保存。鉴于花香绿茶与一般绿茶存在着差异,且不同香型的绿茶的茶饮料适制性也存在差异,所以开展花香绿茶茶饮料沉淀的研究工作是非常有必要的。

本研究探究了花香绿茶制成的茶饮料在贮藏过程中,茶汤主要化学成分的变化规律以及茶乳酪的形成量和特性。4℃贮藏在一定程度上可有效缓解茶饮料色泽的劣变,37℃贮藏则加速汤色黄化;茶饮料在贮藏过程中透光率下降、粒径增大,这与茶乳酪的生成相关。花香绿茶饮料的主要化学成分含量在贮藏过程中变化较显著,多酚类、水溶性总糖、氨基酸和蛋白质等大分子物质含量在贮藏过程中一直呈现下降趋势持续降低;通过高效液相色谱分析,儿茶素组分及咖啡碱含量大幅度减少,特别是EGCG含量的大量减少,是绿茶沉淀大量产生的主要原因。从沉淀物的扫描电镜图上看,茶汤中沉淀物呈松散的碎片状聚集,规整性不强。

茶饮料在加工及贮藏过程中,仍存在保色、保香和防沉淀3个关键问题有待解决。传统茶饮料往往采用离

心、过滤等方法保持饮料澄清,除去沉淀的同时也减少了茶多酚之类功能成分的含量,这就降低了茶饮料的保健功能,因此,采用新型的包埋技术对饮料澄清至关重要。实验室在本研究数据基础上,采用包埋茶多酚的方法,在尽可能多保留茶多酚含量的前提下,解决花香绿茶饮料沉淀问题,此方法实验室已有理论基础^[27];并且也就花香绿茶制成饮料后的色泽、香气问题同时开展了研究工作,拟为花香绿茶饮料保色、保香和防沉淀问题提供系统的研究思路与解决办法。

参考文献:

- [1] 袁海波,许勇泉,邓余良,等.两种香型原料茶饮料适制性研究[J].茶叶科学,2010,30(1):544-550.
- [2] YANG C S, LAMBERT J D, SANG S. Antioxidative and anti-carcinogenic activities of tea polyphenols[J]. Archives of Toxicology, 2009, 83(1): 11-21.
- [3] LI Kaikai, SHI Xianggang, YANG Xiaorong, et al. Antioxidative activities and the chemical constituents of two Chinese teas, *Camellia kucha* and *C. pilophylla*[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2012, 47(5): 1063-1071.
- [4] MITRA K, SHIN J A, LEE J H, et al. Antioxidative activities of mao feng tea (*Camellia* spp.) and kamtae (*Ecklonia cava*) extracts and their effects on structured lipid from corn and perilla oil[J]. Food Science and Biotechnology, 2011, 20(5): 1399-1406.
- [5] BHATTACHARYA U, MUKHOPADHYAY S, GIRI A K. Comparative antimutagenic and anticancer activity of three fractions of black tea polyphenols thearubigins[J]. Nutrition and Cancer, 2011, 63(7): 1122-1132.
- [6] 陈宗懋.茶叶的多方位利用在茶产业转型中的作用[J].茶博览,2012(10):26-27.
- [7] 江春柳,孙云,岳鹏翔,等.不同水质对绿茶饮料储藏特性的影响[J].茶叶科学,2010,30(增刊1):561-566.
- [8] ROBERTS E A H. Economic importance of flavonoid substances-tea fermentation[D]. Oxford: Pergamon, 1962: 468-512.
- [9] ROBERTS E A H. The phenolic substances of manufactured tea. X.—the creaming down of tea liquors[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1963, 14(10): 700-705.
- [10] 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.
- [11] LIANG Yuerong, LU Jianliang, ZHANG Lingyun. Comparative study of cream in infusions of black tea and green tea [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze][J]. International Journal of Food Science and Technology, 2002, 37(6): 627-634.
- [12] 许勇泉,尹军峰.绿茶茶汤冷后浑特性研究[J].茶叶科学,2010,30(1):527-532.
- [13] 周春明.花香绿茶的香气成分分析[D].重庆:西南大学,2002:10-11.
- [14] 阎守和,金盾.茶多酚-生物碱的聚沉与转溶[J].茶叶,1981(2):27-30.
- [15] 陈洁,刘张虎,杨登想,等.绿茶饮料的低温萃取工艺研究及冷后浑控制[J].食品科学,2012,33(4):47-51.
- [16] 戴前颖,夏涛,朱博,等.绿茶提取液沉淀形成机理的研究[J].食品与发酵工业,2008,34(2):1-6.
- [17] 中国国家标准化管理委员会. GB/T 21733—2008 茶饮料[S].北京:中国标准出版社,2008.
- [18] 钟萝.茶叶品质理化分析[M].上海:上海科学技术出版社,1989:99-102.
- [19] 中国国家标准化管理委员会. GB/T 21733—2013 茶:游离氨基酸总量的测定[S].北京:中国标准出版社,2013.
- [20] 卫生部. GB 5009.5—2010 食品中蛋白质的测定[S].北京:中国标准出版社,2010.
- [21] CHEYNIER V, RICARDO D A, SILVA J M. Oxidation of grape procyanidins in model solutions containing trans-caffeoyltartaric acid and polyphenol oxidase[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1991, 39(6): 1047-1049.
- [22] 倪德江,陈玉琼,袁芳亭,等.绿针茶加工过程中叶绿素的变化与色泽品质的形成[J].华中农业大学学报,1996,15(6):594-597.
- [23] 陆建良,梁月荣.茶汤色差与茶叶感官品质相关性研究[J].茶叶科学,2002,22(1):57-61.
- [24] 许勇泉,刘平,陈根生,等.茶多酚浓度对绿茶饮料稳定性的影响研究[J].茶叶科学,2011,31(6):525-531.
- [25] 岳鹏翔.咖啡碱含量对速茶浊度的影响[J].饮料工业,1999,2(2):31-34.
- [26] WANG L F, KIM D M, LEE C Y. Effects of heat processing and storage on flavanols and sensory qualities of green tea beverage[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(9): 4227-4232.
- [27] 蒋洁琳.纳米EGCG制备及其对MCF-7肿瘤细胞的抑制功效评价[D].重庆:西南大学,2013:26-36.