

基于 pH 高效定量判断普洱茶发酵程度的研究

杨子玺^{1,2,3}, 朱圆敏^{1,2,3*}, 谢燕霞^{1,2,3}, 陈雪敏^{1,2,3}, 余龙江^{1,2,3*}

(1. 华中科技大学生命科学与技术学院, 武汉 430074; 2. 分子生物物理教育部重点实验室, 武汉 430074;
3. 湖北省食药两用资源工程技术研究中心, 武汉 430074)

摘要: **目的** 探索一种方便、快捷的方法来判断普洱茶的发酵程度。**方法** 使用目标容量的发酵罐, 对普洱茶原料进行接种发酵, 收集多组茶叶 pH, 没食子酸(gallic acid, GA)和茶褐素(theabrownin, TB)含量的动态变化数据, 基于上述数据分别进行线性拟合并组合, 得到 TB 含量随茶叶 pH 变化的回归模型。**结果** 在普洱茶发酵过程的特定阶段, 分别建立了 TB-GA、GA-茶叶 pH 的一元线性回归模型; 然后将两个一元线性回归模型线性组合, 最终建立了 TB 含量与茶叶 pH 的回归模型, 只需根据测得的茶叶 pH, 即可快速对普洱茶发酵体系中 TB 含量进行预测, 从而判定普洱茶发酵程度。**结论** 基于 pH 定量高效判断普洱茶发酵程度, 保证了发酵过程参数调控的时效性和准确性, 使产品稳定生产。

关键词: 普洱茶; 发酵程度; pH; 没食子酸; 茶褐素; 回归模型; 预测

Study on the quantitative and efficient determination of the degree of fermentation of Pu-erh tea based on pH

YANG Zi-Xi^{1,2,3}, ZHU Yuan-Min^{1,2,3*}, XIE Yan-Xia^{1,2,3}, CHEN Xue-Min^{1,2,3}, YU Long-Jiang^{1,2,3*}

(1. College of Life Science and Technology, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China;
2. Key Laboratory of Molecular Biophysics, Ministry of Education, Wuhan 430074, China; 3. Hubei Engineering Research Center for Both Edible and Medicinal Resources, Wuhan 430074, China)

ABSTRACT: Objective To explore a convenient and rapid method to determine the degree of fermentation of Pu-erh tea. **Methods** Raw materials of Pu-erh tea were inoculated and fermented with a fermenting tank with target capacity, and the dynamic change data of pH, gallic acid (GA) and theabrownin (TB) content were collected from several groups of tea. Based on the above data, linear fitting combination was carried out respectively to obtain the regression model of the change of TB content with pH of tea. **Results** In the specific stage of fermentation of Pu-erh tea, the unary linear regression models of TB-GA and GA-tea pH were established, respectively. Then the linear combinations of the 2 unary linear regression models were used to establish the regression model of TB content

基金项目: 中央高校基本科研经费项目(2019kfyXKJC049、2020kfyXJJS120)、湖北省食药两用资源工程技术研究中心项目(2018BEC463)、华中科技大学研究生创新基金项目(YCJJ202203005)

Fund: Supported by the Fundamental Research Funds for the Central Universities (2019kfyXKJC049, 2020kfyXJJS120), the Hubei Engineering Research Center for both Edible and Medicinal Resources (2018BEC463), and the Fundamental Research Funds for the Central Universities, Huazhong University of Science and Technology (YCJJ202203005)

***通信作者:** 朱圆敏, 博士, 讲师, 主要研究方向为微生物技术与发酵工程。E-mail: zhuyuanmin@hust.edu.cn

余龙江, 博士, 教授, 主要研究方向为资源生物学与生物技术。E-mail: yulongjiang@hust.edu.cn

***Corresponding author:** ZHU Yuan-Min, Ph.D, Lecturer, Huazhong University of Science and Technology, No.1037 Luoyu Road, Wuhan 430074, China. E-mail: zhuyuanmin@hust.edu.cn

YU Long-Jiang, Ph.D, Professor, Huazhong University of Science and Technology, No.1037 Luoyu Road, Wuhan 430074, China. E-mail: yulongjiang@hust.edu.cn

and pH of tea. Only according to the measured pH of tea, the TB content in the fermentation system of Pu-erh tea could be predicted quickly, to determine the fermentation degree of Pu-erh tea. **Conclusion** Based on pH quantification to efficiently determine the degree of fermentation of Pu-erh tea, it ensures the timeliness and accuracy of fermentation process parameter regulation and enables stable production of products.

KEY WORDS: Pu-erh tea; fermentation degree; pH; gallic acid; theabrownin; regression model; predict

0 引言

普洱茶是云南地理标志产品,因其独特的滋味品质和良好的保健功效^[1-3],日益受到国内外消费者的欢迎。目前,普洱茶的加工方式主要分为传统渥堆发酵、小筐离地发酵和封闭式发酵罐发酵^[4-6],后两者发酵方式使发酵周期从60~70 d显著缩短至25 d左右,但发酵周期仍然相对较长,对普洱茶发酵程度的准确掌握是决定产品品质的关键。因此,亟需一种方便、快捷的方法来判断普洱茶的发酵程度,更有利于建立普洱茶精准控制的标准化生产。

目前,对普洱茶发酵程度的判断,主要采用以下两种方式,一种是依靠制茶人的感官评价来进行发酵程度判断^[7],此方式必须依赖有经验的制茶师,局限性强且主观性大,不能满足茶叶自动化、标准化、连续化生产的要求;另一种是对发酵过程中茶叶主要物质组分含量进行检测分析^[8-9],但步骤复杂,组分多,时间长,对发酵程度的判断不具有时效性。为此,部分研究者从机器视觉^[10]、近红外光谱^[11]、高光谱^[12]、电特性^[10]、香气传感器^[13]等方面进行判定,检测效率得到一定提高,但以上方式对设备依赖高,也存在不同的弊端。例如,图像信息在复杂背景条件下的稳定性、可获取性变差;计算机对图像信息的处理和传输速度慢,结果滞后限制了实时监测的应用效果;近红外光谱检测点为茶叶样品的表面,并不能反映样品的整体信息;香气传感器主要对高浓度香气挥发物产生瞬时响应,从而获取信息。此外,以上方法主要应用于红茶发酵程度的预测,而红茶发酵周期较短,物质成分变化与普洱茶发酵差异大,很难直接应用。黄进达等^[14]通过探索pH与茶多酚含量之间的关系,建立了一种快速判断六堡茶渥堆发酵程度的方法,即在一定范围内,随着pH的下降,茶多酚含量逐渐降低,根据茶多酚含量的范围确定六堡茶发酵程度,轻度发酵茶多酚含量约为23%~26%,中度发酵茶多酚含量约为20%~23%,重发酵茶多酚含量约为18%~20%,该方法无需昂贵设备,易于实现,但该方法主要建立了高含量茶多酚与pH线性关系,而对普洱茶来说,GB/T 22111—2008《地理标志产品 普洱茶》要求茶多酚含量低于15%,发酵前期茶多酚含量下降明显,而发酵中后期茶多酚含量变化不显著,无法通过pH与茶多酚的关系去指示普洱茶的发酵程度。茶褐素(theabrownin, TB)是普洱茶(尤其是普洱茶发酵茶)的主要物质,马泰等^[15]认为普

洱茶品质与茶褐素的含量呈正相关。苏静等^[16]主要是利用色差技术,建立了TB含量与色差值的相关性,从而判定不同普洱茶产品品质,该方法相对于TB的检测,更加简单、便捷,但是,该方法主要是针对TB含量较高的产品(速溶茶)去检测分析,而在普洱茶发酵过程中,TB含量随着茶黄素(theaflavins, TFs)和茶红素(thearubigins, TRs)逐渐转化而增加^[17],如何更有效且准确地表征TB含量,需要进一步探讨。因此,建立一种可高效准确预测TB含量的方法,对普洱茶发酵程度的判断具有重要的指导应用价值。

本研究通过大量文献调研^[18-20],结合实验室前期研究结果,发现在普洱茶发酵过程中,茶褐素含量持续增加,没食子酸(gallic acid, GA)作为TB合成的重要前体物质^[21],呈现先增后减的规律性变化,GA含量和TB含量之间具有一定的关联,但由于GA含量检测主要是采用液相色谱法^[22],检测周期相对较长,进一步调研文献发现,GA含量可以影响茶叶pH^[23]。因此,本研究针对普洱茶发酵过程中pH、GA和TB含量之间的变化关系进行重点研究,最终建立了通过pH定量高效判断普洱茶发酵程度的方法,显著节约了时间和经济成本,保证了普洱茶发酵过程参数调控的时效性,使产品稳定生产,为普洱茶标准化生产奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

大叶种晒青毛茶原料由云南省临沧市蚂蚁堆茶厂提供。黑曲霉分离自普洱茶发酵过程茶样,保藏于华中科技大学生命科学与技术学院资源生物学与生物技术研究。

草酸、乙二胺四乙酸(edetic acid, EDTA)(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);甲醇、正丁醇、无水乙醇、乙酸、乙腈(色谱纯,上海麦克林生化科技有限公司);GA标准品(纯度≥98%,上海源叶生物科技有限公司)。

1.2 仪器与设备

ME204E 电子天平(精度0.0001 mg)、FE20-FiveEasy Plus pH计(上海梅特勒-托利多仪器有限公司);ZNCL-GS 水浴锅(巩义市予华仪器有限责任公司);Agilent 1260 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司);UV-1600 紫外分光光度计(上海美普达仪器有限公司);0.5 m³/5 m³卧式固体发酵罐(ZL201621477335.3, ZL201920366567.9 华中科技大学生命科学与技术学院

和机械科学与工程学院联合设计,机械科学与工程学院加工组装完成)。

1.3 实验方法

1.3.1 菌种制备

将黑曲霉接种于PDA固体平板培养基(马铃薯200 g,蔗糖20 g,琼脂20 g,加水至1000 mL,pH自然)中,在28℃条件下培养5~7 d。使用适量无菌水制备成孢子菌悬液,使孢子个数的浓度约为 1×10^6 CFU/mL。

1.3.2 普洱茶原料预处理及接种发酵

将普洱茶原料进行紫外预处理,然后与5%的孢子菌悬液混匀后转入灭菌后的发酵罐,整个发酵过程维持罐压为正压;发酵过程中,控制发酵罐内温度(20~45℃),通气量(0.5~30.0 L/min)和含水量(25%~30%);每次取样前进行搅拌,分别从发酵罐两端和中间进行取样,混匀后进行检测。

1.3.3 理化成分检测

GA含量的测定参照GB/T 8313—2018《茶叶中茶多酚和儿茶素类含量的检测方法》;采用系统比色法^[24]测定TB含量。

1.3.4 pH测定

参考文献^[23]并适当修改。取发酵过程普洱茶样品1.00 g,用碾钵粉碎,放入50 mL小烧杯中,加入10 mL的100℃去离子水、搅拌均匀,自然冷却至24~26℃,然后,将预先校准好的pH计插入冷却茶汤进行pH测定。发酵过程茶叶pH等于pH测得值减去1。

1.4 一元线性回归模型

一元线性回归分析是根据自变量 X 和因变量 Y 的相关关系,建立 X 与 Y 的线性回归方程进行预测的方法。在普洱茶发酵过程中,发酵时期进入特定阶段后,GA含量随着茶叶pH的增加而线性减小,同时TB含量与GA含量也呈线性关系。因此,本研究采用分步一元线性回归建模,最后将两个模型线性组合,得到最终回归模型。

一元线性回归分析法的预测模型如公式(1):

$$Y_i = aX_i + b \quad (1)$$

式中, $i=1,2,\dots,n$, n 为数据 (X_i, Y_i) 的组数; X_i 和 Y_i 分别代表第 i 组数据中自变量和因变量的值; a 代表回归系数,计算如公式(2), b 代表回归常数,计算如公式(3)。

$$a = \frac{n \sum X_i Y_i - \sum X_i \sum Y_i}{n \sum X_i^2 - (\sum X_i)^2} \quad (2)$$

$$b = \frac{\sum Y_i}{n} - a \frac{\sum X_i}{n} \quad (3)$$

1.5 数据处理

采用Excel 2019软件进行实验数据整理,每个样品重复3次理化检测,计算平均值和标准差;采用SPSS 26.0软件进行成对样本 t 检验;采用Origin 2022软件中Correlation Plot工具包进行相关性分析和绘制相关图表。

2 结果与分析

2.1 普洱茶发酵过程pH、GA和TB含量动态变化

对普洱茶发酵过程中pH、GA和TB含量的动态变化进行了研究,结果如图1所示。随着发酵时间的延长,pH呈现先下降后上升的变化规律,在发酵0~6 d,pH先下降,主要原因,一方面是茶叶中有机酸的含量会不断增加,另一方面是蛋白质水解生成氨基酸,酯型儿茶素水解生成GA等^[23];在发酵7~18 d,pH逐渐增加,可能是多酚、有机酸等物质与咖啡碱和蛋白质等物质络合形成茶色素。GA含量先上升后下降,在发酵0~4 d,GA含量逐渐增加,主要来源于酯型儿茶素的水解^[23],以及茶叶中的没食子单宁在微生物的单宁酶作用下的水解^[25]。然而,在发酵5~18 d,GA含量逐渐降低,主要是由于GA作为多羟基化合物,化学性质活泼,与其他酚类化合物发生氧化聚合而使得含量降低。此外,也有研究者证明了GA参与3种茶色素的合成^[26]。发酵过程中的TB含量整体呈上升趋势,主要是茶多酚在微生物、水分和热量的作用下被氧化成TFs和TRs,TFs和TRs会进一步氧化聚合,与多糖、蛋白质、脂质等化合物结合,形成大量的TB^[27]。当GA含量达到最大值后,pH达到最小值,且TB处于开始快速合成阶段(将GA含量达到最大值后的阶段定义为特定阶段)。对pH、GA和TB含量进行相关性分析(图2),结果表明,pH与GA含量呈显著负相关,而与TB含量呈显著正相关,这一结果与报道一致^[6,18,21]。但三者之间是否存在特定的相关性,需要进一步深入分析研究。

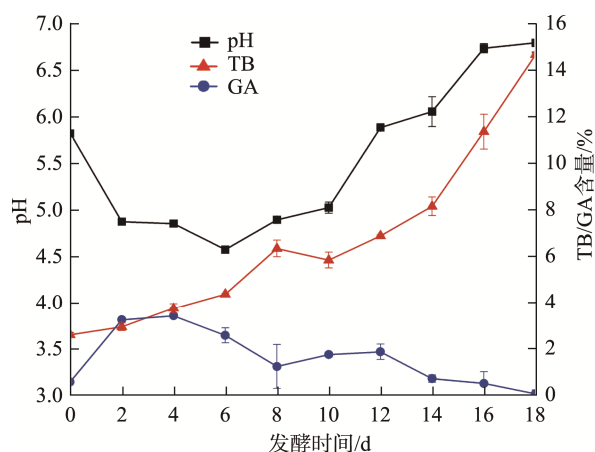


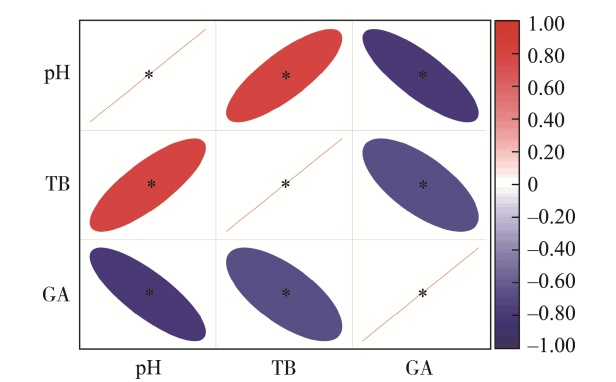
图1 普洱茶发酵过程pH、GA和TB含量变化

Fig.1 Changes in pH, GA and TB content during the fermentation of Pu-erh tea

2.2 建立TB与GA含量回归模型

在5 m³发酵罐,普洱茶发酵过程中TB与GA含量变化如表1所示。GA含量在第7 d时达到最高值,发酵结束后GA含量较普洱茶原料提升了122%。根据表1结果,在

发酵 21 d 时, TB 含量达到 12.12%, 在发酵结束时, 较普洱茶原料提升了 440%。普洱茶中 TB 含量的高低是评价普洱茶品质的重要指标^[28]。罗龙新等^[29]研究发现, 茶褐素含量为 5.12% 时, 汤色呈橙红明亮, 被认为渥堆发酵不充分, 传统的渥堆发酵普洱茶中茶褐素含量一般在 8.33%~13.65%^[30]。以上结果表明, 在 5 m³ 发酵罐生产的普洱茶产品, 不仅可以达到与渥堆发酵普洱茶同样的品质, 而且大大地缩短了发酵周期。同时, 结果发现在发酵第 7 d 时, TB 合成速率加快。为了避免发酵不充分和发酵过度, 亟需精准控制发酵程度。根据表 1 数据建立 TB 与 GA 含量的变化关系, 其线性回归方程为 $T=-0.1656G+17.3266$, $r^2=0.9397$, 式中, T 为 TB 含量(%), G 为 GA 含量(mg/g)。



注: *代表显著相关, $P<0.05$ 。
图 2 pH、GA 和 TB 含量相关性分析
Fig.2 Correlation analysis of pH, GA and TB content

为提高线性回归方程的泛化能力, 将其进一步应用在 0.5 m³ 发酵罐, 对线性回归方程进行适当修正^[31]。

表 1 5 m³ 发酵罐普洱茶发酵过程 GA 与 TB 含量变化
Table 1 Changes in GA and TB content during the fermentation of Pu-erh tea in 5 m³ fermentation tank

发酵时间/d	GA 含量/(mg/g)	TB 含量/%
0	3.66±0.02	3.15±0.05
1	31.6±0.24	4.31±0.02
5	70.56±0.24	4.42±0.12
7	72.52±0.06	6.41±0.39
10	54.92±0.04	7.43±0.43
17	46.77±0.07	9.21±0.21
21	24.92±0.07	12.12±0.29
25	8.12±0.05	17.15±0.02

修正方法如下: $T=aG+b$; 对每一个已知数据, 自变量 G , 都有一个拟合值 T_i' , $T_i' = b + aG_i$; T_i' 与实际值的差便是回归余项 e_i , $e_i = T_i' - T_i$; 令: $b_i = b - \bar{e}_i$ ($\bar{e}_i$ 为回归余项平均值), 得到预测回归方程式: $T=aG+b_i$ 。

0.5 m³ 发酵罐结果见表 2, 普洱茶发酵过程 GA 与 TB 含量回归模型为 $T=-0.1656G+9.05$ 。即通过 GA 含量可以直接预测 TB 含量, 进而预测发酵程度。然而, 目前 GA 的检测方法存在提取、分离、纯化等前处理过程复杂, 检测时间漫长, 仪器昂贵等弊端^[21,32-33], 迫切需要一种简单灵敏的方法来定量 GA。因此, 本研究进一步探索 GA 与 pH 之间的关系, 以期通过 pH 简单快速预测发酵程度。

2.3 TB 与 GA 含量回归模型验证

结果如表 3, 测定 GA 含量后, 根据线性方程计算出的 TB 预测值和 TB 实测值之间统计量 $|t|=0.027$, $P=0.979>0.05$ 。因此, 基于测定 GA 含量后, 根据修正后的线性方程计算出的 TB 预测值和 TB 实测值之间无显著性差异, 即测定 GA 后, 根据修正后的线性方程计算 TB 含量是可行的。

表 2 0.5 m³ 发酵罐普洱茶发酵过程 GA 与 TB 含量变化
Table 2 Changes in GA and TB content during fermentation of Pu-erh tea in 0.5 m³ fermentation tank

发酵时间/d	GA 含量/(mg/g)	TB 含量实测值/%	5 m ³ 发酵罐回归方程 TB 含量预测值/%	回归方程修正后 TB 含量预测值/%	e_i	$-\bar{e}_i$
0	5.66±1.02	2.59±0.10	\	\	\	
2	32.32±2.96	2.93±0.16	\	\	\	
4	34.04±1.69	3.74±0.21	11.69	3.41	7.95	
6	25.62±0.32	4.36±0.04	13.08	4.80	8.72	
8	12.29±0.94	6.33±0.36	15.29	7.01	8.96	8.28
10	17.38±0.10	5.83±0.34	14.45	6.17	8.62	
12	18.55±0.33	6.87±0.05	14.25	5.97	7.38	
14	7.08±0.16	8.14±0.40	16.15	7.87	8.01	

注: \ 为无此项; e_i 为回归余项, $-\bar{e}_i$ 为回归余项。

表 3 回归方程修正后茶褐素含量预测值和实测值的成对样本检验

Table 3 Paired sample test of the theabrownin content predicted and measured values after modified regression equation

	配对差值					<i>t</i>	自由度	Sig.(双尾)
	平均值	标准偏差	标准误差平均值	差值 95%置信区间				
				下限	上限			
回归方程修正后茶褐素含量								
预测值%-茶褐素含量测量实测值%	-0.00667	0.59382	0.24243	-0.62985	0.61651	-0.027	5	0.979

2.4 建立 GA 与 pH 回归模型

根据发酵过程中特定阶段茶叶 pH 和 GA 含量之间的关系,间接判定普洱茶发酵程度。如表 4 所示,GA 含量达到最高值时,对应的是发酵过程的第 4 d,此后即进入特定阶段。基于以上实验数据可以看出,在普洱茶发酵过程中,当 GA 含量达到最高点后,茶叶 pH 与 GA 含量存在线性关系,为 $G=-9.913P+59.024$, $r^2=0.9526$ (接近于 1,说明拟合程度较好),式中, G 为 GA 含量(单位: mg/g), P 为茶叶 pH。

表 4 0.5 m³发酵罐发酵过程茶叶 pH 与 GA 含量变化

Table 4 Changes in pH and GA content of tea during fermentation in 0.5 m³ fermentation tank

发酵时间/d	茶叶 pH	GA 含量/(mg/g)
0	4.82±0.04	5.66±1.02
2	3.87±0.00	32.32±2.96
4	3.85±0.00	34.04±1.69
6	3.57±0.00	25.62±0.32
8	3.89±0.01	12.29±0.94
10	4.02±0.06	17.38±0.10
12	4.88±0.04	18.55±0.33
14	5.05±0.16	7.08±0.16
16	5.73±0.05	5.01±0.50
18	5.79±0.10	0.54±0.17

2.5 建立 TB 含量与 pH 回归模型

在 0.5 m³发酵罐,普洱茶发酵过程中 TB 和 GA 含量线性回归方程 $T=-0.1656G+9.05$, GA 含量和茶叶 pH 线性回归方程 $G=-9.913P+59.024$,将两个方程进行组合,得到 0.5 m³普洱茶发酵罐 TB 含量与茶叶 pH 的线性关系为 $T=-1.64P-0.7244$,式中, T 为 TB 含量(%), P 为茶叶 pH。由此可见,在普洱茶发酵特定阶段 TB 的含量与茶叶 pH 呈线性正相关,为评价该回归模型的可行性,进一步通过多批次发酵进行验证。

2.6 TB 含量与茶叶 pH 回归模型验证

取 0.5 m³发酵罐不同批次发酵普洱茶样本进行 TB 含量检测,跟踪监测 4 个批次,样本量共 17 个。结果如表 5

和表 6,测定茶叶 pH 后,根据线性方程计算出的 TB 预测值和 TB 实测值之间统计量 $|t|=0.080$, $P=0.938>0.05$,说明测定茶叶 pH 后根据线性方程计算出的 TB 预测值和 TB 实测值之间无显著性差异,即测定茶叶 pH 后根据线性方程计算 TB 含量是可行的。

表 5 0.5 m³发酵罐普洱茶发酵过程茶叶 pH 与 TB 含量的变化关系

Table 5 Relationship between pH and TB content of tea during fermentation of Pu-erh tea in 0.5 m³ fermentation tank

样本号	茶叶 pH	TB 含量 预测值/%	TB 含量 实测值/%
1	3.97±0.13	5.79	5.84±0.20
2	4.25±0.02	6.25	5.51±0.27
3	4.12±0.09	6.04	6.24±0.03
4	4.48±0.10	6.63	6.44±0.41
5	4.61±0.02	6.84	5.95±0.39
6	4.83±0.04	7.20	7.35±0.70
7	4.31±0.12	6.35	7.00±0.11
8	4.42±0.04	6.53	6.17±0.44
9	4.18±0.06	6.14	6.28±0.90
10	4.00±0.15	5.84	6.59±0.13
11	4.25±0.13	6.25	6.54±0.64
12	5.29±0.04	7.95	7.88±0.39
13	4.12±1.10	6.03	5.08±0.43
14	4.44±3.10	6.56	7.21±0.27
15	4.85±0.13	7.23	6.89±0.35
16	4.75±0.03	7.07	7.67±0.80
17	4.96±0.03	7.41	7.29±0.38

3 讨论与结论

普洱茶汤色主要由 TFs, TRs 和 TB 决定^[34]。在普洱茶发酵过程中,TFs 和 TRs 的含量都会相对降低,而 TB 含量保持上升,使普洱茶具有特征性的棕褐色^[35],在最终产品的质量中起着重要作用。因此, TB 含量是判断普洱茶发酵程度的关键指标^[27]。本研究通过分析普洱茶发酵过程中 pH, GA 和 TB 含量的变化规律,发现当 GA 含量达到最大值之

表 6 茶褐素含量预测值和实测值的成对样本检验
Table 6 Paired sample test for predicted and measured values of the theabrownin content

	配对差值					<i>t</i>	自由度	Sig.(双尾)
	平均值	标准偏差	标准误差平均值	差值 95%置信区间				
				下限	上限			
茶褐素含量预测值/%-茶褐素含量实测值/%	0.1023	0.52951	0.12843	-0.26202	0.28248	0.080	16	0.938

后, pH 达到最小值, 且 TB 开始处于快速合成阶段。通过三者相关性分析发现, pH 与 GA 含量呈显著负相关, 而与 TB 含量呈显著正相关, GA 与 TB 含量呈负相关。同时, 通过多批次研究发现, TB 容易在弱酸性条件下合成。由于 GA 作为 TB 的重要合成组分, 同时作为有机酸类物质直接影响 pH 的变化。因此, 建立了 TB-GA 回归模型 $T=-0.1656G+9.05$ 和 GA-pH 回归模型 $G=-9.913P+59.024$, $r^2=0.9526$, 而发酵过程中 GA 含量存在检测困难, 将两个模型进行耦合, 得到 TB 含量-pH 模型 $T=-1.64P-0.7244$ 。并且, 在 0.5 m³发酵罐中, 通过改变发酵参数(温度, 通气量), 采用 11 组数据进行验证, 结果表明, 预测值与实测值之差均在±1%, 可见基于本研究预测方法, TB 含量-茶叶 pH 线性关系准确可靠, 且泛化能力强。此外, 如果本研究模型应用于普洱茶传统渥堆发酵或其他发酵方式, 可根据实际情况进行调整取样时间间隔或修正模型等。总之, 针对待预测的普洱茶发酵体系, 利用对应的拟合关系, 只需根据测得的茶叶 pH, 即可对待预测的普洱茶发酵体系其 TB 含量进行预测。

综上, 本研究建立的方法, 能够快速, 有效, 准确地判定普洱茶的发酵程度, 显著节约了时间和经济成本, 保证了普洱茶发酵过程参数调控的时效性, 使产品稳定生产, 为普洱茶标准化生产奠定基础。

参考文献

[1] HU SS, HU CH, LUO LY, *et al.* Pu-erh tea increases the metabolite cinnabarinic acid to improve circadian rhythm disorder-induced obesity [J]. Food Chem, 2022, 394: 133500.

[2] YE J, ZHAO Y, CHEN XM, *et al.* Pu-erh tea ameliorates obesity and modulates gut microbiota in high fat diet fed mice [J]. Food Res Int, 2021, 144: 110360.

[3] WANG S, QIU Y, GAN RY, *et al.* Chemical constituents and biological properties of Pu-erh tea [J]. Food Res Int, 2022, 154: 110899.

[4] PANG BW, HUANG L, TENG JW, *et al.* Effect of pile fermentation on the cells of Chinese Liupao tea: The first record of cell wall of Liupao tea on transmission electron microscope [J]. Food Chem, 2021, 361: 130034.

[5] 田海霞, 魏珍珍, 马跃, 等. 普洱茶立体小罐发酵加工工艺技术的研究[J]. 茶叶科学, 2022, 42(4): 577-587.

TIAN HX, WEI ZZ, MA Y, *et al.* Study on the application of three-dimensional vial fermentation technology of Pu-erh tea [J]. J Tea Sci, 2022, 42(4): 577-587.

[6] 李云贵. 普洱熟茶数控化立体小罐发酵技术研究[J]. 新农业, 2021, (6):

27-28.

LI YG. Research on digitalized controlled three-dimensional small basket fermentation technology of ripe Pu-erh tea [J]. New Agric, 2021, (6): 27-28.

[7] WANG C, LI J, WU XJ, *et al.* Pu-erh tea unique aroma: Volatile components, evaluation methods and metabolic mechanism of key odor-active compounds [J]. Trends Food Sci Technol, 2022, 124: 25-37.

[8] 龙飘飘. LC-MS 非靶标和靶标代谢组学分析普洱茶渥堆过程中关键标记物[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2019.

LONG PP. LC-MS based non-targeted and targeted metabolomics analysis revealed the marker compounds of Pu-erh tea during pile-fermentation processing [D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2019.

[9] 唐平. 普洱茶主要滋味物质分析及发酵过程变化研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2018.

TANG P. Analysis of main taste substances in Pu-erh tea and changes in the fermentation process [D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2018.

[10] DONG CW, LIANG GZ, HU B, *et al.* Prediction of congou black tea fermentation quality indices from color features using non-linear regression methods [J]. Sci Rep-UK, 2018. DOI: 10.1038/s41598-018-28767-2

[11] SONG Y, WANG XIZ, XIE HL, *et al.* Quality evaluation of Keemun black tea by fusing data obtained from near-infrared reflectance spectroscopy and computer vision sensors [J]. Spectrochim Acta A: Mol Biomol Spectrosc, 2021, 252: 119522.

[12] AN T, HUANG WQ, TIAN X, *et al.* Hyperspectral imaging technology coupled with human sensory information to evaluate the fermentation degree of black tea [J]. Sens Actuators B Chem, 2022, 366: 131994.

[13] JIANG H, XU WD, CHEN QS. Evaluating aroma quality of black tea by an olfactory visualization system: Selection of feature sensor using particle swarm optimization [J]. Food Res Int, 2019, 126: 108605.

[14] 黄进达, 温立香, 林家威, 等. 基于 pH 变化的六堡茶发酵程度判断方法的探讨[J]. 农业研究与应用, 2020, 33(2): 33-36.

HUANG JD, WEN LX, LIN JW, *et al.* Determination method of fermentation degree of Liupao tea based on pH change [J]. Agric Res Appl, 2020, 33(2): 33-36.

[15] 马泰, 李旭, 王嘉. 普洱茶茶褐素的含量与品质评价关系的研究[J]. 农村实用技术, 2020, (3): 101-103.

MA T, LI X, WANG J. Study on the relationship between the content of Pu-erh tea theabrownin and quality evaluation [J]. Pract Rural Technol, 2020, (3): 101-103.

[16] 苏静, 李长文, 梁慧珍, 等. 色差技术在普洱茶品质控制中的应用研究[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(20): 148-151.

SU J, LI CW, LIANG HZ, *et al.* Application and research of chromaticity

- technology in quality control of Pu-erh tea [J]. Food Res Dev, 2017, 38(20): 148–151.
- [17] XIAO Y, HUANG YN, LONG FW, *et al.* Insight into structural characteristics of theabrownin from Pingwu Fuzhuan brick tea and its hypolipidemic activity based on the *in vivo* zebrafish and *in vitro* lipid digestion and absorption models [J]. Food Chem, 2023, 404: 134382.
- [18] 张水花, 史俊友, 李艳丽. 云南普洱茶茶褐素的理化性质[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(12): 335–337.
- ZHANG SH, SHI JY, LI YL. Physicochemical properties of theabrownin in Yunnan Pu-erh tea [J]. Jiangsu Agric Sci, 2016, 44(12): 335–337.
- [19] JIANG J, ZHANG MY, AN TT, *et al.* Preparation of instant dark tea by liquid-state fermentation using sequential inoculation with *Eurotium cristatum* and *Aspergillus niger*: Processes optimization, physiochemical characteristics and antioxidant activity [J]. LWT-Food Sci Technol, 2022, 162: 113379.
- [20] LIU KY, WANG LY, JIANG B, *et al.* Effect of inoculation with *Penicillium chrysogenum* on chemical components and fungal communities in fermentation of Pu-erh tea [J]. Food Res Int, 2021, 150: 110748.
- [21] 龚加顺, 陈一江, 彭春秀, 等. 普洱茶发酵过程中不同添加物对茶褐素及其形成机制的影响[J]. 茶叶科学, 2010, 30(2): 101–108.
- GONG JS, CHEN YJ, PENG CX, *et al.* Effect of different additives on the theabrownin and its formation mechanism during Pu-erh tea fermentation [J]. J Tea Sci, 2010, 30(2): 101–108.
- [22] LI YJ, ZHANG SA, SUN YM. Measurement of catechin and gallic acid in tea wine with HPLC [J]. Saud J Biol Sci, 2020, 27(1): 214–221.
- [23] 潘科, 沈强, 申东, 等. 红茶通氧发酵过程中发酵叶相变化分析[J]. 食品科学, 2014, 35(15): 198–201.
- PAN K, SHEN Q, SHEN D, *et al.* Changes in sensory and physicochemical characteristics of tea leaves during aerobic fermentation for black tea [J]. Food Sci, 2014, 35(15): 198–201.
- [24] HUANG YY, XIAO XD, CONG L, *et al.* A fermented tea with high levels of gallic acid processed by anaerobic solid-state fermentation [J]. LWT-Food Sci Technol, 2016, 71: 260–267.
- [25] ZHU M, LI N, ZHOU F, *et al.* Microbial bioconversion of the chemical components in dark tea [J]. Food Chem, 2020, 312: 126043.
- [26] 高力, 刘通讯. 不同年份普洱茶儿茶素等组成及含量变化研究[J]. 食品工业, 2013, 34(8): 175–178.
- GAO L, LIU TX. Study on the composition and content of catechins of pu-er teas stored at different years [J]. Food Ind, 2013, 34(8): 175–178.
- [27] HU SM, LI XL, GAO CC, *et al.* Detection of composition of functional component theabrownins in Pu-erh tea by degradation method [J]. Food Sci Hum Well, 2022, 11(3): 643–647.
- [28] 杨小平, 赵晓, 罗跃新, 等. 黑茶陈化工艺研究进展[J/OL]. 食品与发酵工业: [2022-10-09]. DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.032715
- YANG XP, ZHAO X, LUO YX, *et al.* Research progress on aging technology of dark tea [J/OL]. Food Ferment Ind: [2022-10-09]. DOI: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.032715
- [29] 罗龙新, 吴小崇, 邓余良, 等. 云南普洱茶渥堆过程中生化成分的变化及其与品质形成的关系[J]. 茶叶科学, 1998, (1): 53–60.
- LUO LX, WU XC, DENG YL, *et al.* Changes of biochemical components in Yunnan Pu-erh tea during the aging process and its relationship with the quality formation [J]. J Tea Sci, 1998, (1): 53–60.
- [30] XIE GX, YE M, WANG YG, *et al.* Characterization of Pu-erh tea using chemical and metabolic profiling approaches [J]. J Agric Food Chem, 2009, 57(8): 3046–3054.
- [31] 王业建. 一元线性回归法瓦斯压力预测值的修正研究与应用[J]. 湖南安全与防灾, 2020, (10): 48–49.
- WANG YJ. Study and application of correction of gas pressure prediction value by one-dimensional linear regression method [J]. Hunan Saf Disaster Prev, 2020, (10): 48–49.
- [32] PATEL AA, AMIN AA, PATWARI AH, *et al.* Validated high performance thin layer chromatography method for simultaneous determination of quercetin and gallic acid in *Leea indica* [J]. Rev Bras Farmacog, 2017, 27(1): 50–53.
- [33] BABU KS, PADMANABAN A, NARAYANAN V. Surface tuned Au-ZnO nanorods for enhanced electrochemical sensing ability towards the detection of gallic acid [J]. Inorg Chem Commun, 2022, 139: 109400.
- [34] LI YC, HAO J, ZHOU JT, *et al.* Pile-fermentation of dark tea: Conditions optimization and quality formation mechanism [J]. LWT-Food Sci Technol, 2022, 166: 113753.
- [35] LI J, WU J, XU NF, *et al.* Dynamic evolution and correlation between microorganisms and metabolites during manufacturing process and storage of Pu-erh tea [J]. LWT-Food Sci Technol, 2022, 158: 113128.

(责任编辑: 韩晓红 黄周梅)

作者简介



杨子玺, 博士研究生, 主要研究方向为微生物发酵。

E-mail: zixi_yang@hust.edu.cn



朱圆敏, 博士, 讲师, 主要研究方向为微生物技术与发酵工程。

E-mail: zhuyuanmin@hust.edu.cn



余龙江, 博士, 教授, 主要研究方向为资源生物学与生物技术。

E-mail: yulongjiang@hust.edu.cn