

项丽慧, 林清霞, 王丽丽, 等. 不同固样方法对茶鲜叶主要品质成分的影响 [J]. 福建农业学报, 2018, 33 (5): 525—529.

XIANG L H, LIN Q X, WANG L L, et al. Effect of Preservation Methods on Retention of Main Quality Components in Fresh Tea Leaves [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2018, 33 (5): 525—529.

不同固样方法对茶鲜叶主要品质成分的影响

项丽慧¹, 林清霞¹, 王丽丽¹, 陈林^{1*}, 余文权^{2*}

(1. 福建省农业科学院茶叶研究所, 福建 福安 355015; 2. 福建省农业科学院, 福建 福州 350002)

摘要: 为准确反映茶鲜叶生化成分的组成特征, 对 11 个茶树品种鲜叶分别进行冷冻固样、热风固样和微波固样, 并通过二维“点集”分布视图和主成分分析, 对不同固样方法所获得供试样品的茶多酚总量、游离氨基酸总量、咖啡碱含量、主要儿茶素和游离氨基酸组分进行比较分析。结果表明: 热风固样与冷冻固样样品存在较明显的类群区分, 且热风固样样品中的茶多酚总量、表没食子儿茶素没食子酸酯、表儿茶素、表儿茶素没食子酸酯、天冬氨酸、精氨酸、丝氨酸、胱氨酸均显著低于冷冻固样; 微波固样与冷冻固样无明显的样品类群区分。综合考虑简便性、保真性、节能性等方面, 微波固样更适用于茶鲜叶取样制备, 其样品生化检测结果可为茶鲜叶质量的化学评价提供参考依据。

关键词: 茶鲜叶; 冷冻固样; 热风固样; 微波固样

中图分类号: TS 272

文献标识码: A

文章编号: 1008—0384 (2018) 05—525—05

Effect of Preservation Methods on Retention of Main Quality Components in Fresh Tea Leaves

XIANG Li-hui¹, LIN Qing-xia¹, WANG Li-li, CHEN Lin^{1*}, YU Wen-quan^{2*}

(1. *Tea Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fu'an, Fujian 355015, China*;

2. *Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou, Fujian 350002, China*)

Abstract: Fresh leaves plucked from tea bushes of 11 varieties were preserved by freezing, hot-air drying or microwave heating to compare the retention of polyphenols, free amino acids and caffeine in the leaves. The two-dimensional point set distribution and principal component analyses were performed to determine the data variances among the samples. The results showed that the contents of polyphenols, EGCG, EC, ECG, aspartate, arginine, serine and cystine were significantly lower in the tea leaves treated by hot-air than by freezing. Either microwaved or frozen leaves could largely retain the original composition. However, being convenient and efficient in handling and for preservation, the microwave method was recommended for the application.

Key words: fresh tea leaves; freezing; hot-air drying; microwave heating

茶鲜叶样品的采集和保存是茶学实验的重要环节, 样品质量决定了研究结果的可靠性。蒸青固样、热风固样(热空气固样)、微波固样、冷冻固样(真空冷冻干燥)、冰箱保存是茶学研究常用的固样方法^[1]。21 世纪以前, 茶叶固样方法一直沿用蒸青固样^[1~3], 由于设备不同、原料差异等因素, 蒸青固样时间不易掌握, 往往很难达到很好的固样要求^[4~6]。随着新技术的发展, 冷冻固样、微

波固样和热风固样技术日益成熟^[6~9]。大部分研究表明, 冷冻固样效果最佳^[10~11], 胡云玲^[5]比较了 6 种固样方法发现, 与不经任何处理的鲜叶相比, 真空冷冻干燥的茶多酚、游离氨基酸、咖啡碱等含量差异不大, 香气成分的种类和含量大幅度减少, 而冰箱保存(温度低于-20℃)各成分含量差异不大。李立祥等^[4]对鲜叶、萎凋叶、做青叶和发酵叶进行了微波和蒸青固样研究, 表明微波样的多酚类

收稿日期: 2018—03—07 初稿; 2018—04—17 修改稿

作者简介: 项丽慧(1991—), 女, 硕士, 研究实习员, 主要从事茶叶生物化学与分子生物学研究(E-mail: xlh1991@foxmail.com)

* 通讯作者: 陈林(1975—), 男, 博士, 副研究员, 主要从事茶叶加工、茶叶生物化学及综合利用研究(E-mail: chenlin_xy@163.com); 余文权(1972—), 男, 博士, 教授级高级农艺师, 主要从事茶学研究(E-mail: 825938828@qq.com)

基金项目: 福建省科技计划重大专项(2017NZ0002-1); 福建省自然科学基金项目(2016J01121); 福建省财政专项——福建省农业科学院科技创新团队建设项目(STIT2017-1-3)

化合物含量均高于蒸青样, 游离氨基酸保留量则相反, 可溶性糖和叶绿素的保留量微波样稍高于蒸青样, 咖啡碱含量差异较小。但这些固样方法的研究所选茶树品种数量较少, 且仅比较其主要品质组分含量的高低, 未对这些数据进行多元统计分析, 无法较好地呈现不同固样方法对品质组分的影响。为准确反映茶鲜叶生化成分的组成特征, 本研究以11个茶树品种鲜叶为试验材料, 分别进行冷冻固样、热风固样和微波固样, 通过测定样品中的茶多酚总量、游离氨基酸总量、咖啡碱含量、主要儿茶素和游离氨基酸组分, 采用二维“点集”分布视图和主成分分析, 直观呈现了不同固样方法对茶鲜叶主要品质组分的影响, 以期为茶鲜叶质量的化学评价提供参考依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

鲜叶原料: 茗科1号(金观音)、黄观音、紫牡丹、铁观音、金凤凰、北斗、白鸡冠、奇丹、矮脚乌龙、白芽奇兰、紫鹃茶鲜叶(一芽二叶)。试验材料均采自福建省农业科学院茶叶研究所试验茶园春季第一轮新梢(2017年3月下旬至4月下旬)。

标准品: 表儿茶素(EC)、表没食子儿茶素(EGC)、表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)、表儿茶素没食子酸酯(ECG)和咖啡碱(CAF)购自阿拉丁(试剂)上海有限公司, 纯度均>98%。天冬氨酸(Asp)、谷氨酸(Glu)、丝氨酸(Ser)、组氨酸(His)、苏氨酸(Thr)、精氨酸(Arg)、丙氨酸(Ala)、胱氨酸(Cys)、赖氨酸(Lys)均购自美国Agilent公司, 茶氨酸(Thea)购自瑞士Adamas Reagent公司, 纯度均>99%。

1.2 茶样制备

固样方法主要参考文献[4, 10-11]的方法。采用冷冻、热风、微波3种方式分别对茶鲜叶(一芽二叶)进行固样, 每种固样处理的样本数为11个(见表1)。具体固样方法如下:

(1) 冷冻固样: 将5 g鲜叶整齐摆放在带1根棉绳(40 cm)铝箔样品纸上(10 cm×10 cm, 背面写好编码), 包裹成球形(注意不损伤叶片组织), 用提桶将样品放入液氮罐。待样品在液氮中浸泡至完全玻璃化后, 转移到-80°C冰箱保存。待真空冷冻干燥机(美国LABCONCO FreeZone. 12)温度降至-40°C, 再将样品放入真空冷冻干燥机(用布袋将样品隔离), 真空冷冻干燥24 h, 由

此制得冷冻固样样品。

(2) 热风固样: 将50 g鲜叶置于不锈钢盘(39.5 cm×29.5 cm), 放入已预热105°C的烘箱, 烘10~15 min, 转80°C烘至足干, 由此制得热风固样样品。

(3) 微波固样: 将25 g鲜叶放入微波炉[广东格兰仕G80F23CN2L-Q6(R0)微波炉], 450 W(中火档)微波70 s, 然后将微波杀青后的鲜叶放入烘箱, 80°C烘至足干, 由此制得微波固样样品。

表1 3种固样方法茶叶样品
Table 1 Codes for samples of 3 preservation methods

茶树品种	冷冻固样	热风固样	微波固样
茗科1号	F1	H1	M1
黄观音	F2	H2	M2
金凤凰	F3	H3	M3
矮脚乌龙	F4	H4	M4
北斗	F5	H5	M5
铁观音	F6	H6	M6
紫牡丹	F7	H7	M7
白鸡冠	F8	H8	M8
奇丹	F9	H9	M9
白芽奇兰	F10	H10	M10
紫鹃	F11	H11	M11

1.3 茶样检测

茶样干物质含量: 参照GB/T 8303-2013, 采用120°C烘干法测定。茶多酚(TPs)总量: 参照GB/T 8313-2008, 采用福林酚(FolinCiocalteu)氧化法测定。游离氨基酸(FAAs)总量: 参照GB/T 8314-2013, 采用茚三酮显色法测定。主要儿茶素组分及咖啡碱含量: 采用TSKgel ODS-100Z色谱柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm, 日本Tosoh公司), 以0.1%甲酸水溶液(v/v)和甲醇为流动相, 并参照文献[12]中的分析方法进行高效液相色谱检测分析。主要游离氨基酸组分含量: 采用Agilent Zorbax Eclipse-AAA色谱柱(4.6 mm I. D. × 150 mm, 5 μm, 美国Agilent公司), 通过邻苯二甲醛(OPA)柱前衍生化, 并以40 mmol·L⁻¹ NaH₂PO₄(pH7.8)和乙腈: 甲醇: 水(45: 45: 10, v/v/v)为流动相, 参照文献[13]中的分析方法进行高效液相色谱检测分析。

1.4 数据处理

运用PAST 3. X(奥斯陆大学)对供试样品的

茶多酚总量、游离氨基酸总量、咖啡碱含量进行二维“点集”分布视图的绘制;运用ChemPattern 2017 [科迈恩(北京)科技有限公司]对供试样品的主要儿茶素组分和游离氨基酸组分含量进行主成分分析;使用SPSS18.0(IBM公司)对供试样品的茶多酚总量、游离氨基酸总量、咖啡碱含量、主要儿茶素和游离氨基酸组分进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 不同固样方法对供试茶样茶多酚总量、游离氨基酸总量及咖啡碱含量的影响

不同固样方法制备茶样的茶多酚总量、游离氨基酸总量、咖啡碱含量测定结果见表2。多重比较分析结果显示,3种固样方法样品的游离氨基酸总量和咖啡碱含量差异不显著,微波固样样品的茶多酚总量和冷冻固样样品无显著性差异,而热风固样样品茶多酚总量极显著低于冷冻固样样品。由此可见,就茶多酚总量、游离氨基酸总量及咖啡碱而言,微波固样与冷冻固样效果较为相似。

茶多酚与游离氨基酸的比值(酚氨比)可作为茶树品种茶类适制性鉴别的主要指标^[14],咖啡碱是茶树中含量最高的嘌呤碱,呈苦味。从图1-A、B中可看出,基于茶多酚×咖啡碱(TPs×CAF)、

茶多酚×游离氨基酸(TPs×FAAs)含量绘制的二维“点集”分布视图可将热风固样与另2种固样方法进行一定的样品类群,即全部试样可划分为2个主要群类:Ⅰ热风固样样品;Ⅱ微波固样样品和冷冻固样样品。热风固样对茶鲜叶(TPs×FAAs)、(TPs×CAF)含量的化学模式影响较大。另外,在基于游离氨基酸×咖啡碱(FAAs×CAF)含量绘制的二维“点集”分布视图(图1-C)中,3种固样方法较为相似,说明固样方法对(FAAs×CAF)含量的化学模式影响较小。

表2 不同固样方法样品茶多酚总量、游离氨基酸总量、咖啡碱含量

Table 2 Effect of preservation methods on contents of polyphenols, free amino acids and caffeine in tea leaves
[单位/(mg·g⁻¹)]

固样方式	茶多酚	游离氨基酸	咖啡碱
冷冻固样	216.69±18.11Aa	31.75±5.39	32.98±3.15
热风固样	144.99±19.74Bb	34.38±4.21	31.35±3.7
微波固样	204.13±15.77Aa	32.36±3.35	31.25±5.08

注:同列数据后不同大、小写字母表示差异达极显著($P<0.01$)或显著($P<0.05$)水平,无字母标记表示差异不显著,下表同。

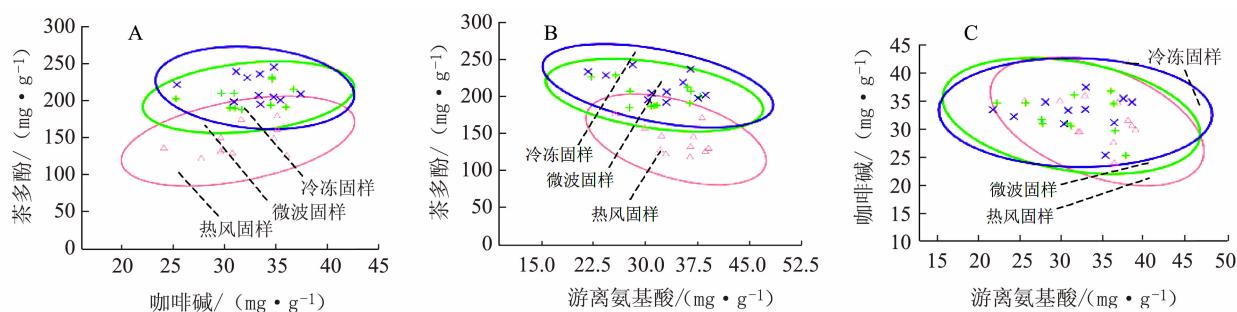


图1 固样方法对茶多酚总量、游离氨基酸总量及咖啡碱含量的影响

Fig. 1 Effect of preservation methods on contents of polyphenols, free amino acids and caffeine in tea leaves

注:△、+、×分别代表冷冻固样、热风固样、微波固样。TPs为茶多酚总量,FAAs为游离氨基酸总量,CAF为咖啡碱含量。

2.2 不同固样方法对供试茶样主要儿茶素组分和游离氨基酸组分的影响

儿茶素类是茶多酚的主体成分,占多酚类总量的60%~80%,主要包括EGCG、ECG、EGC、EC^[15~16]。游离氨基酸约为茶叶干重的1%~4%^[17],目前发现并已鉴定的游离氨基酸有26种^[18]。本文主要考察平均含量高于0.01 mg·g⁻¹的游离氨基酸,如茶氨酸、谷氨酸、丝氨酸、组氨酸、苏氨酸、天冬氨酸、精氨酸、丙氨酸、胱氨酸、赖氨酸。

酸、赖氨酸。

多重比较分析结果(表3)显示,热风固样样品中的EGCG、EC、ECG、Asp、Arg、Ser、Cys显著低于冷冻固样样品,其中EC、ECG、Arg、Cys差异达极显著水平。微波固样样品Thr显著高于冷冻固样,Cys显著低于冷冻固样,其余指标与冷冻固样无显著性差异。与热风固样相比,微波固样样品中主要儿茶素和游离氨基酸组分含量更接近冷冻固样结果。

表3 供试样品的主要儿茶素和游离氨基酸组分含量
Table 3 Contents of main catechins and free amino acids in tea samples [单位/(mg·g⁻¹)]

处理	EGC	EGCG	EC	ECG	Thea	Asp	His
冷冻固样	38.27±9.94Aa	114.84±20.75a	9.67±2.51Aa	33.09±7.99Aa	11.60±3.91 Aa	1.81±0.68a	2.21±0.82 Aa
热风固样	40.29±8.94 Aa	90.90±22.53b	6.44±2.6Bb	24.91±5.89Bb	11.65±2.77 Aa	1.14±0.66b	2.56±0.84 Aa
微波固样	35.47±9.06 Aa	105.30±17.30ab	9.16±2.92ABa	29.88±6.63ABab	10.84±4.06 Aa	2.00±0.87a	2.10±0.57 Aa
处理	Arg	Ala	Glu	Ser	Thr	Cys	Lys
冷冻固样	4.76±2.42Aa	0.09±0.04Bb	1.12±0.75 Aa	0.55±0.12a	0.30±0.05b	1.17±0.25Aa	0.01±0.01b
热风固样	1.63±1.55Bb	0.31±0.20Aa	0.99±0.67 Aa	0.36±0.23b	0.32±0.04ab	0.03±0.08Bb	0.04±0.03a
微波固样	3.49±2.05ABa	0.07±0.08Bb	0.86±0.45 Aa	0.51±0.10a	0.35±0.03a	0.14±0.13Bb	0.01±0.02ab

采用基于变量 UV-scaling 标度化预处理的主要成分分析 (PCA) 对不同固样方法样品的主要儿茶素和游离氨基酸组分进行分析。从图 2-A 中可看出, 第 1 主成分 (PC1) 和第 2 主成分 (PC2) 分别解释了主要儿茶素组分总变异的 45.24% 和 33.45%, 累积方差变异贡献度达 78.69%。微波固样与冷冻固样样品的质心较靠近, 而热风固样与冷冻固样样品质心距离较远, 即微波固样与冷冻固样样品类群区分不明显, 而热风固样与冷冻固样样

品存在较明显的类群区分。从图 2-B 中可看出, 第 1 主成分 (PC1) 和第 2 主成分 (PC2) 分别解释了主要游离氨基酸总变异的 27.04% 和 19.82%, 累积方差变异贡献度达 46.86%。微波固样与冷冻固样样品的质心几乎重叠, 而热风固样与冷冻固样样品质心相距较远。此外, 微波固样样品分布比冷冻固样样品更为离散, 表明微波固样样品的主要游离氨基酸具有更大的组成变化。

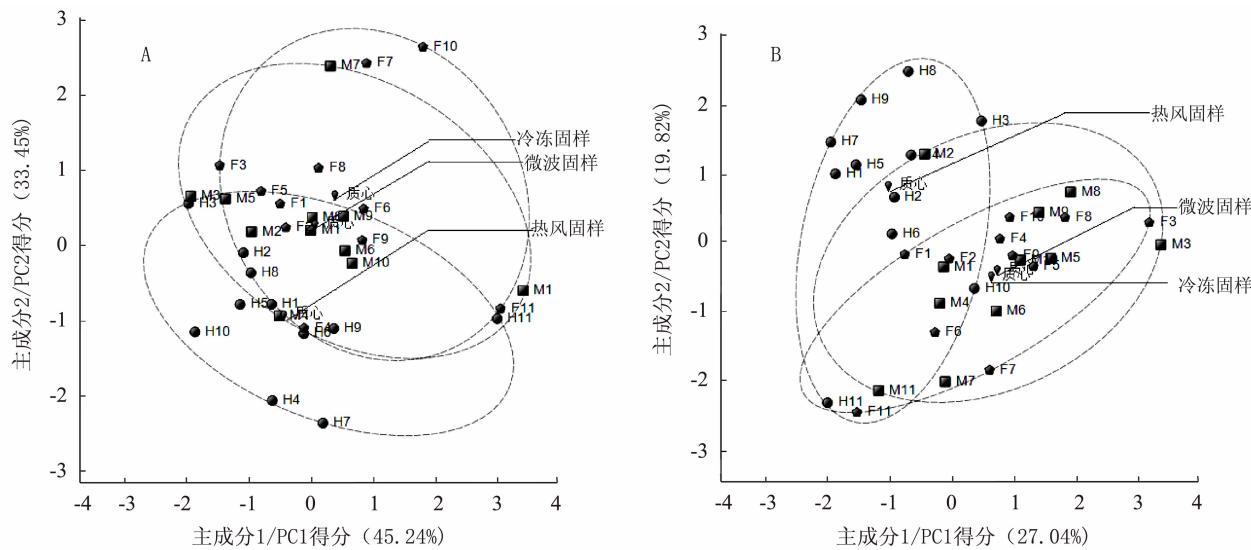


图2 基于供试茶样主要儿茶素和游离氨基酸组分的主成分分析

Fig. 2 Scatter plot of PCA scores on main catechins and free amino acids in tea samples

注: A 为主要儿茶素组分得分图, B 为主要游离氨基酸组分得分图。

3 讨 论

冷冻固样采用液氮淬灭茶鲜叶中酶的生物学活性, 结合真空冷冻干燥的方法, 可使茶鲜叶的细胞液结冰破损细胞, 通过直接升华方式失去水分。在

这种低温真空状态下, 茶鲜叶的内含成分几乎没有发生任何变化, 其测定值最能客观反映茶鲜叶中各内含成分的真实含量^[19]。在本研究中, 微波固样受热均匀, 升温迅速, 相比热风固样, 其所受热力作用较小, 故微波固样样品与冷冻固样样品各品质

成分含量较为接近。龚志华等^[10]研究显示,就游离氨基酸和茶多酚而言,以热空气165℃的固样效果最好,但本研究显示热风固样法会降低茶鲜叶的茶多酚含量,其可能与本试验所采用热风杀青温度(105℃)及干燥方法有关。

多酚类化合物是茶鲜叶主体可溶性物质,它对成品茶色香味的形成影响很大^[20]。茶鲜叶自采摘后多酚类化合物趋向减少^[4]。除了茶鲜叶原有的游离氨基酸,其他游离氨基酸是由蛋白质经水解酶作用而产生的。其受热的影响易发生裂解,或与糖类发生美拉德反应、焦糖化反应等而消耗^[17]。由于热力作用(热风固样最高温度为105℃),在热风固样过程中茶鲜叶的茶多酚、儿茶素及游离氨基酸降解可能性极大,本文结果与之相互印证。咖啡碱是茶叶中含量最高的嘌呤碱,主要受高温作用而有所损耗(120℃升华),本试验的3种固样温度均低于120℃,可较好地保留茶鲜叶的咖啡碱。本试验在品种覆盖度和统计方法上优于其他试验研究,但检测成分较为有限,今后有待采用先进的代谢组学分析手段,进一步阐明固样方法对茶鲜叶整体化学轮廓的影响。

参考文献:

- [1] 中国农业科学院茶叶研究所. 茶树生理及茶叶生化实验手册 [M]. 北京: 农业出版社, 1983: 20—49.
- [2] 杨如兴. 一芽二叶蒸青固样时间对茶叶主要组分含量的影响 [J]. 福建茶叶, 2002, 24 (4): 8—9.
- [3] 周国兰. 蒸青固样方式对茶叶主要生化成分的影响 [J]. 贵州农业科学, 2009, 39 (7): 199—200.
- [4] 李立祥, 童梅英. 固样方法对茶叶化学成分及品质的影响 [J]. 安徽农业大学学报, 2000, 27 (4): 394—399.
- [5] 胡云铃. 茶鲜叶固定方法研究及不同杀青方式对绿茶品质形成的影响 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2009.
- [6] 陈金华, 黄建安, 宁静. 茶叶微波固样技术研究 [J]. 茶叶通讯, 2006, 33 (1): 14—18.
- [7] 靖翠翠, 杨秀芳, 谭蓉, 等. 微波制样对茶叶内质成分的影响 [J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6 (4): 1265—1270.
- [8] 林平, 朱海翔, 李远志, 等. 热风和微波预脱水对胡萝卜真空冷冻干燥效果的影响 [J]. 现代食品科技, 2010, 26 (4): 380—382.
- [9] AYDIN E S, YUCEL O, SADIKOGLU H. Modelling and simulation of a moving interface problem: freeze drying of black tea extract [J]. *Heat & Mass Transfer*, 2017, 53 (6): 1—12.
- [10] 龚志华, 肖文军, 蔡利娅, 等. 茶叶固样方法研究 [J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2006, 32 (1): 45—48.
- [11] 杨伟丽, 揭国良. 固样方法对茶鲜叶化学成分的影响 [J]. 广东茶业, 2004, 4 (1): 22—23.
- [12] 王丽丽, 陈键, 宋振硕, 等. 茶叶中没食子酸、儿茶素类和生物碱的HPLC检测方法研究 [J]. 福建农业学报, 2014, 29 (10): 987—994.
- [13] 宋振硕, 王丽丽, 陈键, 等. 茶鲜叶萎凋过程中游离氨基酸的动态变化规律 [J]. 茶叶学报, 2015, 56 (4): 206—213.
- [14] 叶乃兴. 茶叶品质性状的构成与评价 [J]. 中国茶叶, 2010, 32 (8): 10—11.
- [15] BAILENTINE D A, WISEMAN S A, BOUWENS L C. The chemistry of tea flavonoids [J]. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 1997, 37 (8): 693—704.
- [16] HARA Y. Tea catechins and their applications as supplements and pharmaceuticals [J]. *Pharmacological Research the Official Journal of the Italian Pharmacological Society*, 2011, 64 (2): 100.
- [17] 李金辉. 不同处理对白茶游离氨基酸及主要生化成分含量影响的研究 [D]. 福州: 福建农林大学, 2010.
- [18] 宛晓春, 黄继乾, 沈生荣. 茶叶生物化学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2007: 9—39.
- [19] 张正竹. 茶叶生物化学实验教程 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2009: 20.
- [20] 邓志汇. 液氮提取茶鲜叶的茶多酚及其降血脂研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2012.

(责任编辑:张梅)